
www.klinikmikrobiyoloji2011.org
KLİMUD
TÜRK MİKROBİYOLOJİ CEMİYETİ
1931
I. ULUSAL
KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ
KONGRESİ
12 - 16 Kasım 2011
WOW Otelleri, Antalya
BİLİMSEL SEKRETERYA
KLIMUD Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
Strazburg Caddesi Murat Apt.
No: 5/4 Sıhhiye - ANKARA
Tel / Faks: 0 312 230 78 18
klimud@gmail.com
www.klimud.org
www.tcm-online.org
ORGANİZASYON SEKRETERYASI
global
Turizm Organizasyon
Mecidiye Mah. Muallim Naci Cad.
No: 25 A Ortaköy - İstanbul
T. 212 282 92 32
F. 212 268 18 41
klinikmikrobiyoloji@globalturizm.com.tr
www.globalturizm.com.tr

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

KURULLAR

BİLİMSEL PROGRAM

KONFERANS, MİNİ SEMPOZYUM

VE PANEL SUNULAR

SÖZLÜ BİLDİRİLER

POSTER BİLDİRİLER

DİZİN

DESTEKLEYEN KURULUŞLAR

ÖNSÖZ

Değerli Meslektaşlarımız,

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneğimizin (KLİMUD) düzenlediği **I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresine HOŞGELDİNİZ…**

Bu kongrede, Tıbbi(Klinik) Mikrobiyoloji uzmanlık alanının gerek yönetsel gerekse rutin laboratuvar uygulamaları ve eğitime yönelik öne çıkan konularına özellikle yer verilirken, mikrobiyolojinin diğer alanları ile ilgili gelişmeler de tartışılacaktır. Gerek klinik mikrobiyoloji uzmanlarının gerekse klinisyenlerin karşı karşıya kaldığı antimikrobiyal direnç sorunu ve olası sonuçları bu kongrede ele alacağımız bir diğer önemli başlığı oluşturmaktadır.

Tabiidir ki, geçen yıldan başlamak üzere Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC) ile gerçekleştirdiğimiz birliktelik bu kongrede de artan bir güç ve şevkle devam edecektir. Bu birliktelik; bir taraftan Tıbbi(Klinik) Mikrobiyoloji uzmanlarının, bir taraftan da mikrobiyolojinin veterinerlik, diş hekimliği, eczacılık, gıda gibi farklı alanlarındaki akademisyen ve uygulayıcılarının bilgi ve deneyimlerini paylaşarak ülkemizde mikrobiyoloji bilimini hak ettiği düzeye taşıyacaktır. Çünkü mikrobiyolojide farklı disiplinler arasındaki iletişimin artmasının, hem rutin uygulamada hem de temel araştırmalarda tıp dünyasındaki gücümüzü arttıracağına gönülden inanıyoruz. Bunun yanı sıra bu birlikteliğin yansımaları, özellikle dirençli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların üstesinden gelmek için yoğun çaba harcayan enfeksiyon hastalıkları uzmanlarının tedavi başarılarına önemli katkı sağlayacaktır.

Bu vesileyle, gerek mikrobiyolojinin tüm disiplinlerini gerekse enfeksiyon hastalıkları camiamızı oluşturan meslektaşlarımızla kongrede buluşmak dileğiyle saygılarımızı sunarız.

Düzenleme Kurulu adına

Prof. Dr. Nezahat Gürler
Türk Mikrobiyoloji Derneği
Başkanı

Prof. Dr. Güner Söyletir
Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
Başkanı

KONGRE DÜZENLEME KURULU

Başkan : Prof. Dr. Güner SÖYLETİR
Başkan Yardımcıları : Prof. Dr. Yurdanur AKGÜN
Prof. Dr. Faruk AYDIN
Sekreterler : Prof. Dr. Ahmet BAŞUSTAOĞLU
Doç. Dr. Z. Ceren KARAHAN
Sayman : Doç. Dr.Berrin ESEN
Üyeler : Prof. Dr. Neriman AYDIN
Prof. Dr. Zeynep GÜLAY
Prof. Dr. Deniz GÜR
Prof. Dr. Nezahat GÜRLER
Prof. Dr. Ufuk HASDEMİR
Prof. Dr. Z. Çiğdem KAYACAN
Prof. Dr. Bülent SÜMERKAN
Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE
Doç. Dr. Nilay ÇÖPLÜ

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU

Hakan ABACIOĞLU
Cibali AÇIKGÖZ
Ali ADİLOĞLU
Sebahat AKSARAY
Mustafa ALTINDİŞ
Teoman APAN
Buket ARIDOĞAN
Gönül ASLAN
Derya AYDIN
F.Yüce AYHAN
Ahmet AYYILDIZ
Neriman BALABAN
İclal BALCI
Banu BAYRAKTAR
Rukiye BERKEM
Mustafa BERKTAŞ
Füsun CAN
Füsun CÖMERT
Mustafa ÇAĞATAY
Gülden ÇELİK
Nilgün ÇERİKÇİOĞLU
Meltem Y. ÇIRAK
Melek DEMİR
Mustafa DEMİRCİ
Mine DOLUCA
Nizami DURAN
Belma DURUPINAR
Gürol EMEKDAŞ
Beyza ENER
Gül ERDEM
Selda ERENSOY
Sibel ERGÜVEN
Nuran ESEN
Duygu FINDIK
J. Sedef GÖÇMEN
Selma GÖKAHMETOĞLU
Güher GÖRAL
Murat GÜNAYDIN
Bülent GÜRLER
Nezahat GÜRLER
Gülşen HASÇELİK
İlknur KALELİ
Aydın KARAASLAN
Aynur KARADENİZLİ
Esra KARAKOÇ
Tekin KARSLIGİL
Demet KAYA
Nuri KİRAZ
Tanıl KOCAGÖZ
Nedret KOÇ
Esra KOÇOĞLU
Fatih KÖKSAL
Pınar Z. KÖŞKER
Semra KURUTEPE
Semra KUŞTİMUR
Kenan MİDİLİLLİ
Zeki Ülgen OK
Müşerref OTKUN
Barış OTLU
Betigül ÖNGEN
Tijen ÖZACAR
Cüneyt ÖZAKIN
Tuncer ÖZEKİCİ
H.İbrahim ÖZEROL
Candan ÖZTÜRK
Cumhur ÖZKUYUMCU
Ömer POYRAZ
Duygu PERÇİN
Seyyal ROTA
Arzu SAYINER
Nedim SULTAN
İdris ŞAHİN
Tamer ŞANLIDAĞ
Burçin ŞENER
Mehmet TANYÜKSEL
Aynur TOPKAYA
Kurtuluş TÖRECİ
Murat TUĞRUL
İnci TUNCER
Semra TUNÇBİLEK
Ferda TUNÇKANAT
Alper TÜNGER
Dürdal US
Tercan US
Gülhan V. ÜNLÜ
Nurver ÜLGER
Tümer VURAL
Ayşegül YAĞCI
Mustafa YILMAZ
Fadile Y. ZEYREK

13 Kasım 2011
Pazar

BİLİMSEL PROGRAM

SALON A

09:15 - 10:00 KONFERANS
Oturum Başkanı: Güner SÖYLETİR

21. Yüzyılda Klinik Mikrobiyoloji
Hakan ABACIOĞLU

10:00 - 10:15 ARA

10:15 - 11:15 YUVARLAK MASA
Oturum Başkanları: Hakan ABACIOĞLU, Duygu FINDIK

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi: Beklentiler - Öneriler

Tartışmacılar:
Yeşim BEŞLİ; Asistan gözüyle,
Deniz B AKGÜN; Uzman gözüyle,
Cibali AÇIKGÖZ; Eğitici gözüyle (Eğitim Araştırma Hastanesinden Bakış)
Selda ERENSOY; Eğitici gözüyle (Üniversiteden Bakış)

11:15 - 12:45 PANEL
Oturum Başkanları: Çiğdem KAYACAN, Murat AKOVA

Avrupa ve Türkiye'de Uzmanlık Eğitimi: Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji Enfeksiyon Hastalıkları

UEMS ve Avrupa'da Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji
John Edward DEGENER
UEMS Tıbbi Mikrobiyoloji Bölüm Başkanı

UEMS ve Avrupa'da Enfeksiyon Hastalıkları
Mario MONDELLİ
UEMS Enfeksiyon Hastalıkları Bölüm Başkanı

ESCMID Perspektifi: Nasıl Beraber Çalışmalı? Kim Ne Yapmalı?
Gunnar KAHLMETER
ESCMID Başkanı

Bakanlığın Yaklaşımı
Sağlık Bakanlığı Temsilcisi

12:45 - 13:45 ÖĞLE ARASI & POSTER YÜRÜYÜŞÜ

13 Kasım 2011
Pazar

BİLİMSEL PROGRAM

SALON A

13:45 - 14:45 UYDU SEMPOZYUM

14:45 - 15:45 MİNİ SEMPOZYUM
Oturum Başkanı: Yurdanur AKGÜN

Hastanelerde Klinik Mikrobiyoloji Uzmanının Sorumlulukları: Mevzuat ve Gerçekler

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlığı ile İlgili Sağlık Bakanlığı Mevzuatı
Sağlık Bakanlığı Temsilcisi (Laboratuvarlar Daire Başkanlığı)

Hastanelerde Klinik Mikrobiyoloji Uzmanının Yaşadığı Gerçekler
Demet CANYILMAZ

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanının Sorumlulukları Ne Olmalı?
Aynur TOPKAYA

15:45 - 16:00 ARA

16:00 - 17:30 YUVARLAK MASA
Oturum Başkanı: Erdal AKALIN

Klinik Mikrobiyolojide Hizmet Sunumunda Paydaşlar
Sağlık Bakanlığı Temsilcileri, SGK Temsilcileri, Özel Sektör Temsilcileri, KLİMUD Temsilcisi

14 Kasım 2011 Pazartesi

BİLİMSEL PROGRAM

	SALON A	SALON B	SALON C
08:00 – 09:15	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Klinik Bakteriyoloji: Sindirim Sistemi** Tartışmacılar: Betigül ÖNGEN, Aynur KARADENİZLİ, Sebahat AKSARAY	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Klinik Viroloji (Normal immünitede)** Tartışmacılar: Gülden ÇELİK, Selma GÖKAHMETOĞLU, Nilgün KAŞİFOĞLU	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Klinik Mikoloji** Tartışmacılar: Nedret KOÇ, Mine DOLUCA, Ş. Taner YILDIRAN
09:15 – 10:00	KONFERANS Oturum Başkanı: Tercan US **Aşı Teknolojisinde 3G** Murat ERTÜRK	KONFERANS Oturum Başkanı: Ahmet AYYILDIZ **Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı Tasarımı** Mustafa BERKTAŞ	
10:00 – 10:15		ARA	
10:15 – 11:15	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Yurdanur AKGÜN **2011 Türkiye'sinde Aşılar** Aşılamada Temel Prensipler Selim BADUR Erişkinde Aşılama Serhat ÜNAL	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanları: Berrin ESEN, Ray SANDERS **Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı Yönetimi** Laboratuvar Yönetiminin Temel Unsurları Tuncer ÖZEKİNCİ İyi Bir Laboratuvar Yönetimi Neden Gereklidir? Şöhret AYDEMİR Türkiye'de Laboratuvar Yönetiminin Güçlendirilmesi için Atılacak Adımlar Ray SANDERS *(Dünya Sağlık Örgütü Uzmanı)*	SÖZLÜ SUNUMLAR
11:15 – 12:45	PANEL Oturum Başkanları: Nezahat GÜRLER, Nilay ÇÖPLÜ **Aşı ile Önlenebilen Hastalıklar Gerçekten Önleniyor mu? Difteri-Boğmaca-Kızamık** Kızamık Gülay KORUKLUOĞLU Difteri ve Boğmaca Selin Nar ÖTGÜN Aşılama ve Klinik Yansımaları Mustafa BAKIR	PANEL Oturum Başkanları: Neriman AYDIN, Arzu SAYINER **Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar Akreditasyonu ve Kalite Yönetimi** Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Derya AYDIN Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Akreditasyon ve Yeterlilik Testleri Dolunay GÜLMEZ Sağlık Bakanlığı Klinik Mikrobiyoloji Ulusal Eksternal Kalite Kontrol Programı İsmail CEYHAN	
12:45 – 13:45	ÖĞLE ARASI & POSTER YÜRÜYÜŞÜ		

14 Kasım 2011
Pazartesi

BİLİMSEL PROGRAM

	SALON A	SALON B	SALON C
13:45 – 14:45	UYDU SEMPOZYUM		
14:45 – 15:45	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: İclal BALCI	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Tanıl KOCAGÖZ	SÖZLÜ SUNUMLAR
	Tüberküloz Tanısında Yeni Yaklaşımlar ve *Mycobacterium tuberculosis*'te Direnç Sorunu	**Mikroorganizmaların Tanımlanmasında Yeni Yaklaşımlar**	
	Tüberküloz Tanısında Yeni Yaklaşımlar Gönül ASLAN	MALDI TOF ile Mikroorganizmaların Tanımlanması Tanıl KOCAGÖZ	
	Mycobacterium tuberculosis'te Direnç Sorunu Fatih KÖKSAL	Mikroorganizmaların Tanımlanmasında Spektroskopik Yöntemler Çağrı ERGİN	
		Nükleik Asit Temelli Mikroorganizma Tanımlama Yöntemleri Barış OTLU	
15:45 – 16:00		ARA	
16:00 – 17:30	PANEL **Antibiyotik Duyarlılık Testleri: CLSI'dan EUCAST'a Geçerken** Tartışmacılar: Deniz GÜR, Zeynep GÜLAY, Bülent SÜMERKAN (ADTS Çalışma Grubu)	PANEL Oturum Başkanları: Aydın KARAASLAN, Nedret KOÇ **Türkiye'de Mantar Epidemiyolojisi: İzolatların Klinik Önemi** *Candida* Enfeksiyonları Beyza ENER *Aspergillus* Enfeksiyonları Ayşe KALKANCI Zigomikoz ve Diğer Mikozlar Nilgün ÇERİKÇİOĞLU	

15 Kasım 2011
Salı

BİLİMSEL PROGRAM

	SALON A	SALON B	SALON C
08:00 – 09:15	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Klinik Bakteriyoloji: Antibiyotik Duyarlılık Testleri Yorumları** Tartışmacılar: Dilara ÖĞÜNÇ, Gülçin BAYRAMOĞLU, Onur KARATUNA	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Mikobakteriyoloji** Tartışmacılar: Nuran ESEN, Mete EYİGÖR, Cengiz ÇAVUŞOĞLU	UZMANIYLA TARTIŞMA **Olgularla Enfeksiyon Serolojisi** Tartışmacılar: Dürdal US, Güher GÖRAL, İnci TUNCER
09:15 – 10:00	KONFERANS Oturum Başkanı: Güner SÖYLETİR **Anaerop Bakterilerde Antibiyotik Direnci ve Bunun Klinik Önemi** Elizabeth Nagy *ESCMID Anaerop Çalışma Grubu (ESGAI) Başkanı*	KONFERANS Oturum Başkanı: Faruk AYDIN **Merkezi Sterilizasyon Ünitesi** Mehmet Ali ÖZİNEL	
10:00 – 10:15		ARA	
10:15 – 11:15	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Erdal AKALIN **Antimikrobiyal Yönetimi: Klinisyen Ne Yapmalı? Laboratuvar Ne Yapmalı?** Klinik Yaklaşım Dilek ARMAN Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Yaklaşımı Cüneyt ÖZAKIN	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Bülent GÜRLER **Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon: İyi Laboratuvar Uygulamaları (İnteraktif)** Tartışmacılar: Duygu PERÇİN, Ayşegül YAĞCI, Murat GÜNAYDIN	SÖZLÜ SUNUMLAR
11:15 – 12:45	PANEL Oturum Başkanları: Nezahat GÜRLER, Güven KÜLEKÇİ **Rutinde Anaerop Bakteriyoloji: Ne Zaman, Ne Kadar?** Ağız Mikrobiyolojisi ve Anaeroplar Güven KÜLEKÇİ Gastrointestinal Sistem ve Batın İçi Enfeksiyonlar ve Anaeroplar Ferda TUNÇKANAT Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları ve Anaeroplar Hrısi BAHAR Steril Vücut Bölgelerinde Gelişen Enfeksiyonlar ve Anaeroplar Nurver ÜLGER	PANEL Oturum Başkanları: Serhat ÜNAL, Ufuk HASDEMİR **Hastane Enfeksiyonları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı** Nozokomiyal Patojenler ve Antibiyotik Direnci: Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı Neler Yapabilir? Esra KARAKOÇ Nozokomiyal Salgın: Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı Neler Yapabilir? J. Sedef GÖÇMEN Hastane Enfeksiyonlarında Klinisyenin Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarından Beklentileri Bilgin ARDA	
12:45 – 13:45	ÖĞLE ARASI & POSTER YÜRÜYÜŞÜ		

15 Kasım 2011
Salı

BİLİMSEL PROGRAM

	SALON A	SALON B	SALON C
13:45 – 14:45	UYDU SEMPOZYUM		
14:45 – 15:45	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Orhan Cem AKTEPE	MİNİ SEMPOZYUM Oturum Başkanı: Cüneyt ÖZAKIN	SÖZLÜ SUNUMLAR
	Tanısal İmmünoloji: Kalite ve Güvenilirlik IFA Testlerinde Kalite ve Güvenilirlik Derya MUTLU Diğer İmmünolojik Testlerde Kalite ve Güvenilirlik Neşe KAKLIKKAYA	**LİS : Neyi Ne Kadar Biliyoruz?** Laboratuvar Bilgi Sistemi Nedir, Çalışma Prensipleri Nelerdir? Gül ERDEM Laboratuvar Bilgi Sistemini Mikrobiyolojide Ne Kadar Uygulayabiliyoruz? Alper AKÇALI	
15:45 – 16:00		ARA	
16:00 – 17:30	PANEL Oturum Başkanları: Gürol EMEKDAŞ, Murat ERTÜRK	PANEL Oturum Başkanları: Ramazan ULUHAN, Rukiye BERKEM	
	Moleküler Yöntemlerin Klinik Mikrobiyolojide Kullanımı Ne zaman? Nerede? Ne kadar? Klinik Bakteriyoloji Füsun CÖMERT Klinik Mikoloji Mehmet Ali SARAÇLI Klinik Viroloji Kenan MİDİLLİ Klinik Parazitoloji Metin KORKMAZ	**Kan Bankacılığı ve Klinik Mikrobiyoloji** Rehber ve Standartlar Rukiye BERKEM Test Çeşitliliği Nil Banu PELİT Yöntem Seçimi F. Yüce AYHAN Sifiliz ve Sıtma Taramalarında Güncel Durum Pınar Zarakolu KÖŞKER	
20:00	**GALA YEMEĞİ**		

16 Kasım 2011
Çarşamba

BİLİMSEL PROGRAM

	SALON A	SALON B
11:15 – 12:45	PANEL	PANEL
	Oturum Başkanları: Ahmet BAŞUSTAOĞLU, Müjgan İZGÜR	Oturum Başkanları: Selda ERENSOY, İlknur KALELİ
	Türkiye'de Gıda Güvenliği ve Mikrobiyoloji	**HPV Moleküler Tanısında Güncel Durum**
	Mikrobiyoloji Dünyası (Tıp, Veteriner, Farmasötik, Çevre, Su, Gıda Mikrobiyolojisi) ile İletişim: Ne Kadar Başarılıyız, Neler Yapmalıyız? Ahmet BAŞUSTAOĞLU	Sitolojik Testler Sevgen ÖNDER
	Gıda Güvenliğinde Dünyadaki Eğilimler ve Türkiye'deki Durum Mustafa AKÇİÇEK	DNA Bazlı Testler Koray ERGÜNAY
	Gıda Kaynaklı Enfeksiyonların Küresel ve Ulusal Boyutu Ahmet KOLUMAN	mRNA Bazlı Testler Ahmet PINAR
	Gıda Güvenliği ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı Mustafa ERTEK	
12:45	KAPANIŞ	

KONFERANS
MİNİ SEMPOZYUM
VE
PANEL SUNULARI

21.YÜZYILDA MİKROBİYOLOJİ: BİLİM VE DEĞİŞİM ÜZERİNE BİR DENEME

Hakan ABACIOĞLU
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Geleceği, bugüne bakarak öngörebilir miyiz? Teknolojideki hızlı değişim bunu zorlaştırsa da, geleceğin bizlere neler getireceğine yönelik ipuçlarından yola çıkarak bazı öngörülerde bulunabiliriz. Bu öngörülerden biri yeni ve yeniden önem kazanan infeksiyonlarda, özellikle de zoonozlarda artış olasılığıdır. Küresel ısınma, nüfüs artışı, yabanıl yaşamla insan temasının artması, insan ve hayvan taşımacılığının artması gibi nedenler yanısıra toplum sağlığı programlarında yaşanan sorunlara bağlı olarak ciddi tehditlerle karşı karşıyayız. İkinci bir öngörü, bir bilim alanı olarak mikrobiyolojide yaşanmakta olan paradigma değişikliğinin infeksiyon hastalıklarına yönelik anlayışımızı derinden etkileyeceğidir. Genomik ve proteomik alanındaki teknolojik olanaklar, metagenomik araştırmaların önünü açmış ve mikrop-insan-çevre etkileşimlerine çok farklı açılardan bakmamıza neden olmaktadır. Bu değişimin klinik mikrobiyoloji uygulamalarına yansımaları olacaktır. Bunlar arasında genomik ve proteomik yöntemler yanı sıra yeni kültür yöntemlerinin de rutin uygulamalar içinde yer alma olasılıkları sayılabilir. Geleceğin bugünden farklı olacağı açıktır. Klinik mikrobiyologların bu değişimin neresinde olacakları ise bugün yapacakları tercihlerle ilişkili olacaktır.

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANLIK EĞİTİMİ: BEKLENTİLER- ÖNERİLER (UZMAN GÖZÜYLE)

Deniz Bahar AKGÜN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi , Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi Uzman gözüyle değerlendirmesi; Üniversite ve Eğitim Araştırma Hastanelerinde dört yıl asistanlık sürecini tamamlamış, çeşitli hastaneler ve özel laboratuvarlarda çalışan Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlarına sunulan bir anket sonucu yapılmıştır.

Ankette 20 soru sorulmuştur. Ankete 51 Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı katılmıştır. Eğitimlerini 30'u Üniversite Hastanelerinde, 11'i Eğitim Araştırma Hastanelerinde, 1'i Refik Saydam Hıffzısıhha Merkez Başkanlı'ğında tamamlamıştır. Dokuz kişi mezun olduğu yeri belirtmemiştir.

Ellibir Klinik Mikrobiyoloji Uzmanının 27'si Devlet Hastanelerinde, 10'u Eğitim Araştırma Hastanelerinde, 10'u Üniversite Hastanelerinde ve 4'ü ise Özel Laboratuvarlarda çalışmaktadır. Onaltı kişi tek uzman olarak çalışmaktadır.

Asistan karnesinde belirtilen işlemleri 15 uzman uygulayabildiğini, 28 uzman kısmen uygulayabildiğini, üç uzman uygulayamadığını, dört uzman eğitimi sürecinde karne olmadığını belirtmişir. Bir uzman cevap vermemiştir.

Uzman olarak çalışmaya başlandığında en çok sıkıntı yaşanılan bilim dalları sorulduğunda; 29 uzman Mikoloji, 20 uzman Parazitoloji, 14 uzman Viroloji, 9 uzman Mikobakteriyoloji, 2 uzman da Bakteriyoloji bilim dallarını işaretlemiştir. Yedi uzman bir sıkıntı yaşamadığını belirtmiştir.

Uzman olarak hangi testlerin çalışılması, raporlanması ve/veya yorumlanması konusunda yaşanılan sıkıntı veya eksiklikler sorulduğunda; 25 uzman Mantar identifikasyonu ve antifungal duyarlılık testleri, 15 uzman Moleküler testler, 7 uzman Serolojik testler, 2 uzman Mikroskopik incelemeler, 2 uzman Bakteri identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testlerinde sıkıntı yaşadığını belirtmiş, 6 uzman ayrıca Parazitoloji, İmmünfloresan testler, Hematoloji, Androloji testlerinde sıkıntı yaşadıklarını ifade etmişlerdir. On uzman hiçbir sıkıntı yaşamadığını belirtmiştir.

Bir uzman olarak laboratuvar işletimi ve yönetimininde kendinizi yeterli buldunuz mu, Hayır ise en çok hangi konularda eksiklik hissettiniz sorusuna; dört uzman hayır, 20 uzman evet, 27 uzman kısmen cevabını vermiştir. Bu konuda eksiklik ve öneriler olarak idari işler, ihaleler, teknik şartname hazırlama, satın alma işlemleri, kalite/ akreditasyon işlemleri, cihazlarla ilgili teknik bilgi eksikliği, test ve malzeme seçimi, stok takibi konularında eksiklik duyulduğu ve bu konularda eğitime ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı olarak çalıştığınız hastanede, tanı konması, test sonuçlarının yorumlanması, antimikrobik tedavinin yönlendirilmesi gibi konulardaki konsültanlıkta kendinizi yeterli hissediyor musunuz sorusuna 34 uzman evet, 14 uzman kısmen, 2 uzman hayır cevabını vermiştir. Kliniklerden uzak eğitim alınması nedeniyle yönlendirmede eksiklik hissedildiği, test sonuçlarının ait olduğu hastaları görülemediği bunun için klinik durumlarının hiç incelenemediği, Enfeksiyon Kontrol Komitelerinde daha geniş yetkiler verilerek, sterilizasyon dezenfeksiyon gibi konularda ve yine diğer servislerde yatan enfeksiyon hastalıklarının takibinde konsültan görevi üstlenilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Dış rotasyonlar incelendiğinde; 48 uzman 2 hafta-3ay süre ile Nükleer Tıp, 14 uzman 1-6 ay süre ile Enfeksiyon Hastalıkları, 6 uzman 1-2 ay süre ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, 6 uzman 15 gün-1 ay süre ile Kan Merkezi, 4 uzman 1 ay süre ile Biyokimya, 3'er uzman 1 ay süre ile Halk Sağlığı ve Hematoloji, 1 uzman 1 ay süre ile Parazitoloji rotasyonu yapmış, 3 uzman hiç rotasyon yapmadığını belirtmiştir.

Kan Bankası yönetimi, testleri vb. konusunda bir eğitim alınıp alınmadığı araştırıldığında; 36 uzman eğitim almadığını, 15 uzman eğitim aldığını ancak ya kısa süreli ya da bu eğitimin çok yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Bir kısmı, uzman olduğunda kendi imkanları ile Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği'nin kurslarına katıldıklarını belirtmişlerdir. Bu konuda mutlaka asistanlık döneminde ve şu an uzman olanlar içinde ayrıca bir eğitim programı, rotasyon ve kurslar düzenlenmesi istenmektedir.

Merkezi Sterilizasyon Ünitesi işletimi-yönetimi konusunda 10 uzman eğitim aldığını, bir bölümü bu eğitimi Dezenzenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon Derneği'nin kurslarına giderek aldığını ifade etmiştir. Bir uzman kısmen eğitim aldığını, 40 uzman ise eğitim almadığını ve bu eğitimin kesinlikle eğitim programımıza dahil edilmesi gerektiğini ya da bu kurslara katılımın zorunlu hale getirilmesi gerektiğini, asistanlıkta Merkezi Sterilizasyon Ünitelerinde aktif rol alınması gerektiğini, rotasyon gerekliliğini ifade etmişlerdir.

Eğitiminiz sırasında Hastane Enfeksiyonları Kontrol Komitesinde Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanının yeri, görevleri konularında çalıştınız mı sorusuna 8 uzman evet, 43 uzman hayır cevabını vermiştir. Eğitim programına dahil edilmesi ve Enfeksiyonları Kontrol Komitesinde görevli Mikrobiyoloji Uzmanı ile asistanların dönüşümlü olarak toplantılara katılması önerisi getirilmiştir.

Laboratuvarınızda hangi tanı testlerini ve hangi düzeyde çalışacağınıza karar verme konusunda bir eğitim alınıp alınmadığı sorgulandığında 20 uzman evet, 29 uzman hayır cevabını vermiş, iki uzman da cevap vermemiştir. Bu konuda da eğitimin yetersiz olduğu ve üzerine düşülmesi gerektiği ifade edilmiştir.

Malzeme seçimi, takibi konusunda 7 uzman eğitim aldığını, 2 uzman kısmen eğitim aldığını, 42 uzman ise eğitim almadığını ifade etmiştir. Eğitim eksikliği bu soruda da vurgulanmıştır.

Uzmanlık eğitiminizde bölümünüzün satın alma işlemleri aşamalarında yer aldınız mı? Aldıysanız hangi aşamalarda bulundunuz sorusuna 44 uzman hayır, 1 uzman evet, 6 uzman tez aşamalarında kendi malzemelerini alırken ya da laboratuar görevlendirmesi ile çeşitli aşamalarında görev aldıklarını bildirmişlerdir.

Teknik şartname hazırlanması için eğitim aldınız mı? Bu konuda zorluklar yaşadınız mı? sorusuna 49 uzman hayır, 2 uzman evet cevabı vermiştir. Hayır cevabı verenler uzmanlıkta kendi çabalarınla veya bir önceki Mikrobiyoloji Uzmanından öğrendiklerini ifade etmiştir.

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı yetki ve sorumlulukları ile ilgili mevzuatı asistanlık döneminde öğrenmiş miydiniz? Dört uzman evet, 47 uzman hayır cevabı vermiştir. Asistanlığın son döneminde devlet hastanelerinde staj yapılabileceği önerisi getirilmiştir.

Hastanelerde Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı yetki ve sorumlulukları ile ilgisi olmayan konularda yaşanılan sıkıntılar araştırıldığında; 24 uzman Hastane İdari ve/veya Acil Servis nöbetleri, 16 uzman Mikrobiyoloji dışı test sorumlulukları, 11 uzman Biyokimya Laboratuvarı vb. diğer bölüm sorumlulukları, 9 uzman da genetik testlerin onayının istenmesi , Kan merkezi sorumluluğu, Laboratuvar örnek kayıtları ve sonuçlarının faturalandırılması için kullanılan bilgi sistemlerinin hazırlanmasının kontrolü, kalite bölümünün sorumluluğu, ilgisiz ihale görevleri gibi konularda sıkıntı yaşadıklarını bildirmiştir.

Aldığınız uzmanlık eğitimini yeterli buluyor musunuz sorusuna; 2 uzman hayır, 14 uzman evet, 35 uzman da kısmen cevabını vermiştir. Bilimsel anlamda oldukça iyi eğitim alındığı ifade edilirken, uzman olarak bizleri çok farklı görevlerin beklediğinden habersiz olunduğu, laboratuvarlarda yapılan tüm işlemleri tam ve eksiksiz öğrenme sağlanmıyorsa o zaman ihtisası iyi bir üniversitede yapmanın veya en donanımsız eğitim hastanesinde yapmanın arasında bir fark kalmadığı ifade edilmiştir. Laboratuvar yönetimindeki yetki ve sorumlulukların etik yönü kadar hukuki yönlerinin de ayrıntılı bir şekilde öğretilmesi, bölümümüzün hasta tanı ve takibindeki öneminin yeterince anlatılması, klinikler ile işbirliğinin ve Mikrobiyolojinin vazgeçilmez bir bölüm olduğunun anlatılması, klinik uygulamaların arttırılması, tüm asistan öğrencilerine eşit, bölümlerin sahip oldukları tüm donanımı asistanlarına aktarabildiği bir sistem kurulması öneri olarak sunulmuştur.

Bir Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı olarak, asistanlık eğitiminizden kaynaklandığını düşündüğünüz sıkıntılarınızdan sizce en başta gelen 3 tanesini yazılması istendiğinde, sırasıyla;

Teknik şartname hazırlama, İhale, Satın alma prosedürleri eğitim eksikliği,

Kan Merkezi testleri ve yönetimi yetersiz eğitimi (Öneri: En az 4 ay rotasyon olmalı),

Merkezi Sterilizasyon Ünitesi yönetimi, Sterilizasyon yetersiz eğitimi (DAS okuluna gönderilmeli),

Hastane enfeksiyonları eğitimi (Enfeksiyon Hastalıkları konusunda rehberlik ve Enfeksiyon Kontrol Komitesi görevleri ve organizasyonu konusundaki belirsizlikler, Enfeksiyon Kontrol Komitesi'nde aktif rol almamak),

Laboratuvar yönetimi, test seçimi, hizmet alımı, cihazların iç-dış kalite kontrolleri, kalibrasyonları, kit takibi konusunda deneyim sahibi olunması sağlanmalı (Pratik açıdan iyi eğitim var ama kendi başına karar verme, seçme ve değerlendirme yapılamıyor, bu konuda Üniversite Hastaneleri'nden mezun olanlar daha çok sıkıntı yaşıyor),

Mikoloji, Mikobakteriyoloji eğitim eksikliği,

Viroloji,Seroloji Moleküler testlerde, İmmünfloresan testlerde hakimiyet eksikliği,

Standart eğitim programı yok (Teorik dersler düzenli değil),

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı olarak klinikten uzak bir eğitim almış olmak,

Rotasyonlar yetersiz uygulanıyor (Parazitoloji rotasyonu yapamamış olmak),

Asistanlar arası rotasyon ve ihtisas süreleri arasında eşitsizlik,

Dış rotasyonların olmaması ya da yetersiz uygulanması (Enfeksiyon hastalıkları, Biyokimya, Halk Sağlığı, Çocuk Hastalıkları),

Laboratuvarda ve hastane içi yetki ve sorumlulukların bilinmesi,

Eğitim Araştırma Hastaneleri'nin araştırma finansmanı yok, dolayısı ile asistanların araştırma rotasyonları eksik kalıyor,

Rutin işlerin yoğunluğu,

Bilimsel çalışmalara yeterince zaman ayıramamak,

Asistan sayısı yetersizliği,

Hemogram, periferik yayma, spermiyogram gibi testlerin değerlendirilmesinde yaşanan sıkıntılar,

Yasal haklarımız konusunda eksiklik, yönetmelikler ve genelgelerden nasıl faydalanabilirim, mevzuatı bilmemek,

Üniversitedeki Hocaların Devlet ve Özel Hastane Laboratuvar sorumluluğu hakkında bilgi sahibi olmamaları,

Hocaların yayın kaygısının çok yüksek olması,

Kliniklerle yeterli iletişim kurulamadığından, hasta konsültasyonlarında zorluk çekilmesi,

Araştırma yayın hazırlama eksikliği,

Devlet hastaneleri işleyiş sistemi de göz önüne alınarak eğitim planı düzenlenmeli,

Bu konulardaki eğitim eksiklikleri göz önüne alınarak eğitim programımız düzenlenmeli veya daha iyi uygulanmalıdır.

TTB-UDEK Asistan ve Genç Uzman Hekimler Çalışma Grubu Mecburi Hizmet Zirvesi
KLİMUD GENÇ UZMAN KOMİSYONU GÖRÜŞLERİ

Devlet Hizmet Yükümlülüğü uygulaması şu an yapılan programlama ile çok çeşitli sıkıntılara yol açmaktadır. Bu sıkıntılar şu şekilde özetlenebilir;

İl ve İlçelere göre değişen mecburi hizmet sürelerinde adaletsizlik bulunmaktadır, özellikle Doğu illerinde mecburi hizmet süreleri tekrar değerlendirilmelidir ve en fazla bir yıl olmalıdır. Resmi günler ve haftasonları hariç kullanılan, bizlere yasal olarak verilen yıllık izinler, mecburi hizmet süresine eklenmektedir, bu uygulama kaldırılmalıdır. Doğu illerine gidenler maaş konusunda teşvik edilmelidir, performans sistemi bu iller için değiştirilmelidir. Yine daha çok Doğu illerinde yaşanan bir sıkıntı olduğu için Hekimevleri ya da lojmanlar özellikle yeni başlayan uzmanlar için iyileştirilmeli ya da olmayan yerlere yapılmalıdır. Eş durumları esnetilmelidir, özellikle Devlet Memuru ise eş durumu kabul edilmelidir. Özellikle laboratuvarlara malzeme alımında çok sıkıntı yaşanmaktadır, bu konu İl Sağlık Müdürlükleri'nin daha yakın takibinde olmalıdır.

"KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANLIK EĞİTİMİ: BEKLENTİLER – ÖNERİLER/ EĞİTİCİ GÖZÜYLE (EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİNDEN BAKIŞ)"

Ziya Cibali AÇIKGÖZ
Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ,Ankara

Tıbbi mikrobiyoloji (TM) uzmanlık eğitimi ile ilgili sorunların/ beklentilerin çok büyük bir kısmı Eğitim Araştırma Hastaneleri (EAH) ile üniversiteler için hemen hemen aynıdır ve bunlar, konuyu üniversiteler açısından irdeleyen meslektaşlarımızca dile getirilmektedirler. Dolayısıyla, bu sunumda ağırlıklı olarak EAH açısından özellik arz eden sorunlara değinilmeye çalışılmıştır.

Türkiye sathında çok sayıda EAH varsa da bunların sadece 7'si ile Refik Saydam Hıfzıssıhha ve Araştırma Enstitüsü'nde (RESAMEN) TM, şeflik olarak yer almakta; yani üniversite dışında toplam 8 birimde TM uzmanlık eğitimi verilmektedir.* EAH TM kliniklerinin en eskisi Ankara Numune EAH'de 1983, en yenisi Ankara Atatürk EAH'de 2005 yılında açılmıştır. TM eğitimi veren tıp fakültelerinin sayısı düşünüldüğünde EAH'lerdeki TM kliniği sayısı hayli sembolik görünebilir. Ancak söz konusu birimlerden, ağırlık RESAMEN ve Haydarpaşa Numune Hastanesi'nde olmak üzere, bugüne kadar 540'ı aşkın uzman mezun edilmiştir ve bu rakam hiç de azımsanacak gibi değildir.

EAH'ler lisansüstü yüksek öğretim verdiği halde YÖK'e bağlı olmayan kurumlardır. Bu kurumların eğitimcileri de 2547 sayılı yasaya tabi öğretim üyeleri değil, 657 sayılı yasaya tabi memurlardır; nitekim akademik (Prof., Doç. Yrd.Doç., PhD.) değil, idari ünvanlarla (Şef, Şef Yrd., Başasistan) anılırlar; çünkü bağlı bulundukları Sağlık Bakanlığı'ında "akademik kadro" yoktur. EAH eğiticileri eğer hayatlarının bir bölümünde üniversitelerde 2 yıl akademisyen olarak çalışmamışlarsa, akademisyen özlük haklarına da sahip değildirler. Önemsiz ayrıntılar gibi görülebilecek bu gerçeklikler aslında EAH'lerin işleyiş mantığına dair önemli ifşalar içermektedir. Bu hastaneler pratikte öncelikli olarak hizmet kurumlarıdır. İsimlerinde yer alan "eğitim ve araştırma", özellikle de "araştırma", resmen dillendirilmese de, sürecin "esas ürün"ü değil "yan ürünü"dür. Bu bir şikâyet değil, objektif bir tespittir. EAH eğiticilerinin çoğunun ortak görüşü; gerek öğrenci gerekse eğiticinin neredeyse tüm mesailerini rutin hizmetin doldurduğu; eğitim ve araştırma için yeterli zaman bulunmadığı şeklindedir.

EAH'lerde şefliklerin bugün için geçerli standart eğitim kadrosu bir şef, 2 şef yardımcısı, 4 de başasistandan oluşur. Bu kadrolar her zaman dolu değildir. Öte yandan dolu kadrolar genellikle ofis sıkıntısı anlamına gelmektedir. Zira EAH'ler genellikle hizmet hastanelerinden dönüştürülmüş kurumlardır; TM de dahil olmak üzere, buralardaki klinikler birer eğitim birimi olarak planlanmamıştır. Bakanlığın birimlerin taleplerini -usulen sorsa da- dikkate almadan belirlediği sayılarla, ortalama 5 (3-11) asistanla çalışıldığı düşünülürse dolu kadro, bir asistan başına birden fazla eğitici anlamına gelecektir; yani tersine çevrilmiş bir piramit ve israftan söz etmek yanlış olmayacaktır. Doğrusu, mevcut karamsar tabloda; meslek alanımızın geleceği bu derece belirsizliğe bulanmışken; asistan talebi de, eğiticiler için derin bir tereddüt kaynağıdır.

EAH TM ünitelerinin hizmet verdikleri mekânlara baktığımızda, bu ünitelerin 30–120 m^2 ofis, 180–450 m^2 çalışma alanı kullandıklarını görmekteyiz. Hemen tüm EAH eğiticileri "mekân" darlığından şikâyetçidir ve ilginç biçimde hepsi mevcudun iki katına taliptir. Bunun büyük ölçüde mevcut EAH'lerin birer hizmet hastanesi olarak planlanmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Ancak bazı eğiticiler gerek mekân gerekse cihaz ve personel ihtiyaçlarının sağlanmasında idarenin ağır davrandığı; kuruma gelir getiren bir birim olmasına rağmen laboratuara yatırım yapmaktan kasıtlı olarak geri durduğu algısına sahiptir.

EAH TM birimlerinin çoğunda mikoloji, parazitoloji ve viroloji gibi "bağımsız" alt birimler yoktur. Bu alanlara ilişkin testler genelde diğer testlerle aynı mekânın bir bölümünde gerçekleştirilmektedir. Birkaç test istisna edilirse, RESAMEN dışında rutin dışı ileri/özel inceleme yapan EAH laboratuarı da yoktur. Bu bir handikap olarak görülebilir; ancak eğitim verilen TM uzmanının hizmet vereceği hiçbir devlet hastanesi EAH'lerden daha yüksek, karmaşık test taleplerinde bulunmayacaktır. Ayda yılda bir istenecek bir testi ise böyle bir uzmanın, eğitimini almış olsa dahi, yapması söz konusu değildir; hem bunun için gerekli alt yapıyı muhtemelen bulamayacağı için hem de bu sıklıkta çalışılacak bir testin "accuracy" ve "precision" gibi parametrelerine güvenilemeyeceği için.

Bazı EAH TM klinikleri uzman fazlalığından yakınır; uzmanlarını oturtacak ofis bulamazken; bazıları uzman kıtlığı çekmektedirler. Uzman sayılarının ya vaktiyle iyi planlanmadığı; ya da güncellenmesi gerektiği açıktır. Uzman sayısının eğitimle ne ilgisi vardır? Uzman yetersizliği eğiticilerin ve asistanların uzman işlerine koşulmalarına; dolayısıyla eğitimleri, tezleri, çalışmaları için yeterli vakit ayıramamalarına yol açmaktadır.

Camianın, en azından temel konularda görüş birliği içinde olmaması da; TM eğitiminin, TM uzmanlığının sorunlarının çözülememesinde kuşkusuz bir pay sahibidir. Belki de sebep, bugüne kadar eğiticilerin bu konuları böyle platformlarda tartışamaması, ikili üçlü özel sohbetlerde konuşmakla yetinmesi; kongre müfredatlarının salt bilimsel konulara hasredilmesidir. Hepi topu 8 birimde çalışan EAH eğiticileri, hatta aynı birimde çalışan eğiticiler dahi, birçok konuda taban tabana zıt görüşleri dile getirmişlerdir.

Örneğin zorunlu rotasyon içerikleri ve sürelerini tamamen uygun ve yeterli bulanlar yanında hem içerik hem süre konusunda keskin itirazlara sahip olanlar vardır. Yine de çoğunluğun rotasyon süre ve içeriklerini onaylamadığını; özellikle tıp kökenli olmayanların klinik rotasyonlarını problematik olarak değerlendirdiklerini belirtmek gerekiyor. Klinik rotasyon süreleri çok uzun ve gereksiz olarak değerlendirilmekte; kan bankası ve hematoloji rotasyonlarına ihtiyaç olduğu belirtilmektedir. EAH TM birimlerinin çoğu asistanlarını zorunlu rotasyonlar dışında da rotasyona göndermektedir. Bu rotasyonların yapıldığı yerler arasında örnek çeşitliliği nedeniyle gidilen çocuk sağlığı ve kadın doğum hastanelerinin TM bölümleri yanında; seyrek görülen etkenlerin ve seyrek uygulanan yöntemlerin eğitimini almak gibi daha özgül amaçlarla gidilen RESAMEN vardır. Kan bankası ve hematoloji laboratuarları da tercih edilen rotasyonlar arasındadır.

Tıp kökenli olmayanların Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlığı, fazlasıyla "dikenli ve sorunlara gebe bir mevzu" olarak orta yerde durmaktadır. Olası reaksiyonları göze almak pahasına mevzuya burada değinilecektir; çünkü aksi tutumların, başını kuma gömmekten öte anlamı yoktur. Geçmişte temel bilim/laboratuar uzmanlıklarına itibar etmeyen tıp fakültesi mezunlarının, hekim sayısı artıp uzmanlık pastası küçülünce ve önlerine TUS barajı dikilince bu branşları adeta başkalarına kaptırılmış alanlar gibi algıladığı bir gerçektir. Öte yandan son yıllara kadar bu branşların yükünü taşımış, eğitim ve hizmet anlamında muazzam katkıları olmuş tıp dışı kökenlere sahip akademisyenlerin haklı olarak kapıldığı bir vefasızlığa uğramışlık, hakkı yenmişlik duygusu mevcuttur. Bugüne kadar lisans üstü alternatifleri arasında yer alan TM uzmanlığını müktesep hak olarak görüp elinden kaçırmak istemeyen veterinerlik ve biyoloji mezunları ile mutsuzlar üçgeni tamamlanmaktadır. Kimin haklı olduğu bir yana, fiili durum tam bir çelişki yumağıdır. Sağlık Bakanlığı'nın TUEY'in son şeklinde koştuğu, tıpta uzmanlık için tıp kökenli olma şartı yargıya götürülmüş ve yürürlüğü durdurulmuştur. Ne var ki TUK tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji için belirlenen zorunlu dış rotasyonlar içinde 6 ay Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, 1 ay da Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları rotasyonu vardır. Hekim olmayan uzmanlık öğrencilerinin bu klinik rotasyonları "nasıl yapacağı"; bu rotasyonlarda "ne yapacağı", henüz makul cevapları bulunmayan sorulardır. Sağlık Bakanlığının oluşturduğu müfredat komisyonunda da konu gündeme getirilmiş ancak üyelerin çoğu üniversitelerden olduğu için olsa gerek üzerinde yeterince durulmamıştır. Durulsa ne olurdu? Bunu bilemiyoruz. Çünkü TUK, müfredat komisyonunun belirlediği süre ve içeriktekileri değil; kendi belirlediği süre ve içerikteki rotasyonları karara bağlamıştır.

EAH eğiticilerinin tıp kökenli olmayan uzmanlık öğrencilerine ilişkin kanaatlerine gelince: Ortak kanaat bu arkadaşlarımızın oldukça çalışkan ve başarılı; hatta bazılarına göre, tıp kökenli öğrencilerden daha çalışkan ve başarılı bir profile sahip olduğu yolundadır. Ancak gerek farklı –ve daha kolay- bir TUS sınavına tabi olmalarından dolayı tıp kökenli meslektaşlarıyla; gerekse klinik nosyonlarının eksikliği ve sair psikolojik unsurlara bağlı olarak klinik hekimleri ile bir takım sorunlar yaşamaktadırlar. Orta ve uzun vadede bu sorunların şiddet ve yoğunluğunun artacağı öngörülebilir. Laboratuarda başlayıp biten süreçler için tıp eğitimi ve nosyonunun gerekli olmadığı şeklinde bir iddia ileri sürülebilir. Ancak, o zaman tıp kökenli olmayanların örneğin neden patoloji ve radyoloji uzmanlığına da kabul edilmediği sorusu cevapsız kalacaktır. Dahası, aynı diploma ve yetkileri kazandıran bir uzmanlık alanı için üniversitelere farklı, EAH'lere farklı "fiili" kuralların uygulanması da açıklanamaz bir ikilik arz etmektedir.

Mezuniyet sonrası uzmanların geri dönüşlerinde öne çıkan yakınma "Bilimsel olarak yeterliyim ama idari konularda (yönetim, satın alma v.b.) sıkıntı çekiyorum" şeklindedir. EAH'de TM öğrencilerinin idari süreçlere daha fazla katıldığı ve dolayısıyla bu konularda daha yetkin oldukları şeklindeki kanaatin doğrulanmaya muhtaç olduğu ve idari konularda asistanlara daha yeterli bir eğitim verilmesi gerektiği söylenebilir.

EAH ile üniversite hastanelerinin örgütlenme ve işleyiş mantığı bir hayli farklıdır; bunun uzmanlık eğitimine yansıması da kaçınılmazdır. EAH'leri eğitim açısından avantajlı gören bakış açıları vardır. Örneğin bazı cerrahi klinikleri, aynı branştan birden fazla klinik olan hastanelerde asistanların bu kliniklerde dönüşümlü olarak eğitim görmesini zorunlu kılan bakanlık uygulamasına, "buraları da fakülte hastanelerine döndüreceksiniz; eğitim kalitesi düşecek" diye tepki göstermişlerdir!

Tıbbi Mikrobiyoloji uzman adayları –seçerek gelmişlerse- neden üniversiteler yerine EAH'leri seçerler? Tıp kökenli olmayan adayların zaten başka seçeneği yoktur. Tıp kökenlilere gelince; iki önemli yönlendiriciden biri, bu hastanelerin tamamının büyük merkezi şehirlerde (Ankara, İstanbul, İzmir) bulunuşudur. Diğer sebep de üniversitelere göre performans ödemelerinin dolgun olması veya öyle varsayılmasıdır. İdealist TM öğrencileri de vardır elbette ama istisnalar kaideyi bozmaz.

EAH'lerin TM öğrencisini rutinle daha sık iç içe bulundurması, işlemleri birebir icra şansı tanıması ya da buna öğrenciyi mecbur etmesi önemli bir avantaj olarak değerlendirilmektedir. Böylece öğrenci pratik hayatta hemen hiç ihtiyaç duymayacağı teorik ayrıntılar yerine mesleğini icra ederken vereceği hizmetin neredeyse birebir simülasyonu ile eğitilmektedir. Öte yandan hizmetin yoğunluğu yanında gerek finans gerekse literatür desteğinin kısıtlı oluşu, EAH TM öğrencilerini araştırma ve teorik donanım açısından dezavantajlı kılıyor denebilir.

EAH eğiticilerine uyguladığımız ankette, üzerinde ittifak edilen birkaç cümleden birine göre; TM uzmanının genel teorik ve pratik nosyonu her düzeydeki (üniversite, yan dal, referans) hastanede laboratuar hizmetlerini yürütmeye elverişli bulunmalı; ancak asıl donanımı, Türkiye sathındaki devlet hastanelerinde rutin laboratuar hizmetini yürütmeyi sağlayacak yeterlikte olmalıdır. Eğiticilerin yarısının, EAH'de verilen TM eğitiminin düzeyi ile ilgili bir anket sorusuna verdikleri cevap şıkkında yer alan şu cümle de aslında önemli bir gerçeğe ışık tutmaktadır: "Pratikteki klinik/ laboratuar uygulaması o kadar düşük düzeydeki bizim mezunlarımızın düzeyi gereğinden yüksek bile sayılabilir." Uzmanlığını alıp taşraya mecburi hizmete giden laboratuar uzmanının pratik hayatta yaşadığı hayal kırıklıkları; öğrendikleri ile uygulayabildikleri, hatta uygulamaya zorlandıkları arasında duran derin uçurumlar çoğumuzun bildiği şeylerdir. Mükemmel TM uzmanının tedavülde yeri olmadığı, mevcut şartlarda mükemmelliğin israf olduğu bile söylenebilir. Çünkü, "Marifet iltifata tabidir/ Müşterisiz meta zayidir". TM uygulamasının önemi ve değeri konusunda farkındalık yaratmaya tıp fakültesi sıralarından, bu hizmeti talep edecek ve kullanacak klinisyen ve idareci adaylarından başlamak kaçınılmazdır; başarı şansı düşük de olsa.

EAH'lerin de en güncel sorunu ve en temel huzursuzluk kaynağı EH bölümü ile olan ilişkilerimiz; mevcut durumun adaletsiz ve absürd mahiyeti; bakanlığın çeşitli saiklerle TM'yi üvey evlat konumuna iterek alanını daraltıcı ve EH'yi hak etmediği yetkiler bahşederek kayırıcı karar ve uygulamalarıdır. İlginç olan, neredeyse tüm EAH eğiticilerinin, kendi kurumlarında TM ve EH birimleri arasındaki ilişkilerin "dostane, dayanışmacı ve mesleki

profesyonelliğe karşılıklı saygı çerçevesinde" cereyan ettiğini dile getirmeleridir. EH mensupları açısından tipik bir "karakolda doğru söyler, mahkemede şaşar" durumunun yaşandığı açıktır. "EH mensupları" diye bir kişilik kategorisi, bir "öz" elbette yoktur; ama çıkarlar söz konusu olduğunda bireyler, grup psikolojisi ile davranma eğilimindedir; mesele budur.

Görünen o ki EAH TM klinikleri tıp fakültesi TM anabilim dallarından bir hayli farklı olduğu gibi kendi içlerinde de homojen değildirler; tıpkı tıp fakültelerinin TM anabilim dallarının kendi içlerinde homojen olmayışları gibi. Bu heterojenliğin standart uzmanlar üretmesinin, ancak ülke gerçeklerini ve ihtiyaçlarını merkeze alarak üretilecek, uygulanabilir bir "asgari/ standart eğitim müfredatı" ile sağlanabileceğini düşünmekteyiz. Bu müfredatın çerçevesini de yukarıda ittifakla kabul gördüğünü ifade ettiğimiz cümle belirlemelidir. Bu cümleyi bir kez daha tekrarlayarak sunumu sonlandırabiliriz: "TM uzmanının genel teorik ve pratik nosyonu her düzeydeki (üniversite, yan dal, referans) hastanede laboratuar hizmetlerini yürütmeye elverişli bulunmalı; ancak asıl donanımı, Türkiye sathındaki devlet hastanelerinde rutin laboratuar hizmetini yürütmeyi sağlayacak yeterlikte olmalıdır".

*Bu sunumun hazırlanmasında ilgili anketi cevaplayarak katkılarını esirgemeyen ve sorumlularına teşekkür borçlu olduğum, EAH TM kliniklerinin bulunduğu kurumlar şunlardır: Ankara EAH, Numune EAH, Atatürk EAH (Ankara), Yıldırım Beyazıt Dışkapı EAH, RESAMEN, Haydarpaşa EAH, Şişli-Etfal EAH, Atatürk EAH (İzmir).

TIBBİ (KLİNİK) MİKROBİYOLOJİ UZMANLIK EĞİTİMİ. ÜNİVERSİTEDE - EĞİTİCİ GÖZÜYLE

Selda ERENSOY
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Tıp alanında uzmanlık eğitiminin temel amacı, toplumun sağlıkla ilgili gereksinmelerine yanıt verebilecek ve toplum sağlığının geliştirilmesine katkı sağlayacak yetkin uzmanlar yetiştirmek ve sağlık hizmetinde kaliteyi artırmaktır. Bu bağlamda, Tıbbi Mikrobiyoloji'de uzmanlık eğitiminin amacı; çağdaş eğitim ve bilim kriterlerine uygun olarak, infeksiyon hastalıklarının doğru ve zamanında tanısı, etkin antimikrobiyal tedavilerin planlanması ve hastalık patogenezlerinin anlaşılması için mikroorganizmaların temel yapıları, donanımları ve davranışlarını teorik ve pratik olarak bilen, bilgi ve becerisini eğitim, araştırma ve rutin hasta hizmetleri doğrultusunda uygulayan, organize eden, ülke kaynaklarını etkin ve verimli kullanarak sağlık sorunlarına çözüm üretebilen uzmanlar yetiştirmektir.

Nitelikli sağlık hizmeti sunabilmesi için, hekimde bulunması beklenen özellikler Klinik-Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlığına uyarlandığında; uzmanlık eğitimi sonunda, Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanının sahip olması beklenen yetkinlikler şu şekilde özetlenebilir.

1. **İyi laboratuvar uygulayıcısı.** Gereksinim ve koşullara uygun olarak Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarı organize edebilmeli, gereksinimleri saptayabilmeli, hasta yönetiminde ve toplum sağlığının korunmasında anlamlı laboratuvar cihazlarını, teknikleri, testleri seçebilmeli, uygulayabilmeli ve sonuçların etkin bir şekilde ulaştırılmasını sağlayabilmelidir.
2. **Bilim insanı.** Meslek alanı ile ilgili bilgi ve beceriler ile bilgi kaynaklarını eleştirel olarak değerlendirebilmeli, bağımsız bir şekilde öğrenerek, deneyimlerinden ders alarak kendisini geliştirebilmeli, bilimi ve bilimsel yöntemi etik kurallar çerçevesinde meslek uygulamalarında kullanabilmelidir. Tıbbi bilişim teknikleri konusunda yetkin olmalıdır.
3. **Lider ve yönetici.** Bilgi, görgü ve deneyimlerinden yola çıkarak laboratuvar hizmetlerinin planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi süreçlerinin etkinliğini artırmayı hedeflemelidir. Laboratuvar çalışanlarını, iş bölümünü, görev tanımlarını planlayabilmeli, organize edebilmeli, laboratuvar kaynaklarını yönetebilmelidir.
4. **Ekip Üyesi.** Disiplin içi ve disiplinler arası ekiplerde ekibin başarısını önde tutarak uzlaşma sağlamak üzere mesleksel sorumluluklarını yerine getirmelidir.
5. **İletişimci.** Etkin tanısal test stratejileri ve sonuçların yorumları hakkında klinisyenlere danışmanlık yapabilmeli, yönlendirebilmelidir (konsültasyon). Meslektaşları, laboratuvar çalışanları, klinisyenler, hastalar, hasta yakınları ile karşılıklı saygı, güven ve anlayışa dayalı nitelikli bir iletişim zemini oluşturabilmeli, mesleksel literatürü anlayıp yorumlayarak uygulamalara taşıyabilmelidir.
6. **Sağlık savunucusu.** Sağlığa etki eden tüm ulusal ve uluslar arası politika ve uygulamaların, süreçlerin farkında olarak, görev ve sorumluluk alanı çerçevesinde, bilim ve toplumsal gereksinimler zemininde gereken girişim ve uygulamaları yerine getirebilmelidir.

Bir Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji uzmanının; **tanı koyucu, konsültasyon, eğitici** ve **araştırmacı** rolleri bulunmaktadır.

Uzmanlık eğitimi sonunda hedeflere erişilmesini sağlamak ve bu yönde uzmanlık öğrencilerini değerlendirmek eğiticilerin görevidir. Belirlenen hedeflerin sağlanması için eğitim programının, ortamlarının, araçların, kaynakların ve değerlendirme yöntemlerinin tanımlanması gereklidir. Bu tanımlamalar meslek kuruluşları ve Devlet tarafından yapılmaktadır. Tıp ve diş hekimliği alanlarında uzmanlık eğitiminin usul ve esaslarını düzenleyen Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmelikleri (TUEY) yayımlanmaktadır. Yenilenen yönetmelikler ve kanun ekleri ile yapılan düzenlemelerin eklenmesi ile Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimi süresi ve rotasyonlarda da değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu düzenlemelerin izlenerek uzmanlık öğrencilerinin mağdur olmaması sağlanmalıdır.

Uzmanlık eğitiminde tanımlamalar birinci rolü hedef alacak şekilde kuramsal ve uygulamalı eğitim programı temelinde yapılmaktadır. Tutum ve davranış geliştirmeye yönelik çalışmalar ise kurumsal ve kişisel çabalara kalmaktadır. Eğiticilerin doğru bir rol model olması, olumlu bir çalışma, eğitim, araştırma, bilim ve hizmet ortamı yaratılması bu anlamda önemlidir.

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji Yeterlilik Kurulu tarafından hazırlanan "Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi Asistan Karnesi"nde eğitim amaçları, hedefleri, temel programı tanımlanmıştır. Rotasyonların, kuramsal bilgi ve beceri hedeflerinin bulunduğu karnenin her anabilim dalı /klinik şefliğinin bağlı bulunduğu yönetim ve esasları doğrultusunda düzenlenip uygulanması önerilmektedir.

Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimi süresi (4 yıl) 26.04.2011 tarihli 6225 sayılı kanunla belirlenmiştir. Uzmanlık öğrencilerinin diğer dallarda almak zorunda oldukları rotasyon eğitimleri TUEY'in (18 Temmuz 2009) ilgili hükümleri gereği, TUK'un kararı (3 Mayıs 2011) ile tanımlanmıştır: Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji (6 ay; 2 ayı Hastane Enfeksiyonları Komitesinde), Tıbbi Biyokimya (1 ay), Çocuk sağlığı ve Hastalıkları (1 ay; Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları), Halk Sağlığı (1 ay). TUEY uyarınca, Sağlık Bakanlığı Tıpta Uzmanlık Kurulu (TUK) uzmanlık alanları, hedefleri, eğitim programı, rotasyonlar, yan dallar, görevler ve değerlendirme yöntemleri üzerinde çalışmaktadır.

"Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi: Beklentiler – Öneriler" oturumunda " Eğitici gözüyle Üniversiteden Bakış" değerlendirmesi için iki anket çalışması yapılmıştır.

1. Tıp Fakültelerinde uzmanlık eğitimi veren Tıbbi Mikrobiyoloji anabilim dallarının uzmanlık eğitimi ile ilgili koşullarına ait veri toplamak üzere bir anabilim dalı anketi

2. Öğretim üyelerinin konu ile ilgili görüş ve algılarını belirlemek üzere bir eğitici (öğretim üyesi) anketi

Anketlerdeki sorular ve gelen cevaplara göre ön veriler aşağıda sıralanmaktadır (24 anabilim dalı ve 72 eğitici anketi). "Kesinlikle katılıyorum" ve "katılıyorum" seçenekleri "OLUMLU/EVET"; "katılmıyorum" ve "kesinlikle katılmıyorum" seçenekleri ise "OLUMSUZ" yanıtlar olarak değerlendirilmiştir. %80 ve üzerindeki oranlar "çoğunluk" olarak tanımlanmıştır.

Anketlerin toplanması devam ettiği için saptamalar ön veri şeklinde belirtilmektedir.

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi - Anabilim Dalı Anketi

1. Öğretim üyesi sayısı: 1 – 15 arasında (bir doçent olan var.)
2. Asistan eğitiminden sorumlu öğretim üyesi var mı? Çoğunluk "evet".
3. Her asistana bir eğitim danışmanı atanıyor mu? Çoğunluk "evet".
4. Asistan sayısını yazınız. 0 – 9.
5. İç rotasyon süreleri. Değişken. Çoğunluk tüm laboratuvarları kapsıyor. Merkez laboratuvarı olup, rutin çalışmalarla ilgili eğitimin merkez laboratuvar sorumluluğunda yürütüldüğü anabilim dalları var (2). Sistemlerle ilgili örnekler bazında organizasyon var (1). İş yüküne göre düzenleyenler var (3).
6. Dış rotasyonlar ve süreleri. Değişken. Çoğunluk yeni TUK düzenlemesine göre organize olmuş, eski tüzüğe bağlı asistanlara Nükleer Tıp rotasyonu yaptırılıyor.
7. Asistanlar eğitimleri için kurum dışı bir merkeze gidiyorlar mı? Çoğunluk "hayır", ama üniversite dışına veya özellikli laboratuvarlar (hücre kültürü, moleküler, anaerop gibi) için gidenler var.
8. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin "Uzmanlık Eğitimi Programı" uygulanabiliyor mu? Çoğunluk uyuyor.
9. Asistanlar, "Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi" çalışmalarında bulunuyor mu? Çoğunluk "evet".
10. "Laboratuvar yönetimi" konusunda eğitim alıyorlar mı? Çoğunluk "evet".
11. Teknik şartname hazırlanması ve satın alma konularında eğitim alıyorlar mı? Çoğunluk "evet".
12. Nöbet tutuluyor mu? Çoğunluk "evet".
13. Asistanlar rutin testlerin çalışılmasına bizzat katılıyor mu? "Evet".
14. Asistanlar rutin testlerin yorumlanması ve raporlanması işlemlerine bizzat katılıyor mu? "Evet".
15. Belirli aralıklarla değerlendirme yapılıyor mu? "Evet".
16. Asistanlara eğitimleri süresince yeterlilikleri – eksiklikleri hakkında düzenli olarak yapılandırılmış (standart) geri bildirim veriliyor mu? Çoğunluk "evet".
17. Asistan karnesi uygulanıyor mu? Çoğunluk "evet". Merkez laboratuvarı olanlarda sorun oluyor. Yönetimlere göre farklı değerlendirme ve izleme yapanlar var.
18. Asistan tezi asistanlığın kaçıncı yılında belirleniyor? Genelde ikinci veya üçüncü yılda.
19. Asistan tez çalışmaları için kurumdan maddi destek sağlanıyor mu? Çoğunluk "evet".

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi -Eğitici Anketi

(17. - 20. soruların yanıtları tema bazında toplanıp özetlenerek, belirtme sıklığına göre sıralanmıştır.)

1. Uzmanlık eğitimi programında kaç yıldır eğitici olarak görev alıyorsunuz? 6 ay – 20 yıl (çoğunluk 6 yıldan fazla)
2. Eğitim sorumlusu olarak görev aldınız mı? Çoğunluk "evet".
3. Uzmanlık tezi danışmanlığı yaptınız mı? Çoğunluk "evet".
4. Bir öğretim üyesi başına kaç asistan düşmelidir? "İki" (uzlaşı sağlanmış).
5. Anabilim dalınızdaki asistan sayısı uygun mu? "Az – uygun".
6. Uzmanlık eğitiminde asistanlara yeterli zaman ayırabiliyor musunuz? %77 oranında "evet"
7. Ülkemizde Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitim programının hedefleri bir uzmandan beklenen yetkinlikler doğrultusunda belirlenmiş midir? %75 oranında "evet".
8. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti tarafından hazırlanan "Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi ASİSTAN KARNESİ kapsamındaki "Çekirdek Eğitim Programı" ve iç rotasyonların süreleri uygun mu? %70 oranında "uygun"; %10 oranında "bilgim/fikrim yok"; %20 oranında "uygun değil". İç rotasyonların daha ayrıntılı yapılandırılması, araştırma laboratuvarı rotasyonu olması önerilmektedir. Bazı bölümlerle ilgili (Mikoloji, Viroloji, İmmünoloji) "süre uzunluğu" ve "süre kısalığı" konusunda farklı görüşler vardır. Uzmanlık hedeflerine yönelik olarak revizyon ve süre düzenlemeleri gerektiği belirtilmiştir.
9. Anabilim dalınızdaki uzmanlık öğrencileri Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimi konusunda istekli mi? %77 oranında olumlu, %23 oranında olumsuz yanıt bildirilmiştir. Bilim alanı ile ilgili son zamanlardaki belirsizlik ve olumsuz gelişmeler, TUS ile bölüm değiştirme isteği, okuma ve araştırma alışkanlığı eksikliği sorun olarak belirtilmiş.
10. Anabilim dalınızdaki laboratuvar alt yapı olanakları uzmanlık eğitimi verilmesi için yeterli mi? Çoğunluk olumlu yanıt vermiş. Anabilim dalından bağımsız merkez laboratuvarı yapılanması ve hücre kültürü laboratuarı eksikliği sorun olarak bildirilmiştir.
11. Anabilim dalınızdaki laboratuvar alt yapı olanakları asistanların tez çalışmaları için yeterli mi? Çoğunluk olumlu yanıt vermiş.
12. Uzmanlık eğitimleri süresince belirli aralarla sınavlar yapılmalı mı? Olumlu yanıt verilmiş (görüş birliği).
13. Uzmanlık eğitimleri süresince asistanlara yeterlilikleri – eksiklikleri hakkında düzenli olarak yapılandırılmış (standart) geri bildirim verilmeli mi? Olumlu yanıt verilmiş (görüş birliği).
14. Asistan karnesi uygulanmalı mı? Olumlu yanıt verilmiş (görüş birliği).

15. Tıpta Uzmanlık Kurulu tarafından belirlenen; Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimindeki **dış rotasyonlar ve süreleri** uygun mu? Üçte iki oranında olumlu yanıt verilmiş. Enfeksiyon Hastalıkları rotasyonunun fazla olduğu (onların rotasyona gelmediği vurgulanmış), Tıbbi Biyokimya rotasyonunun kısa olduğu, Kan bankacılığı, Sterilizasyon merkezi rotasyonlarının eksik olduğu belirtilmiş. Karşıt olarak T. Biyokimya rotasyonunun gerekli olmadığını düşünen de var (1). Konsültasyon hizmeti, Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme Birimi, Laboratuvara Dayalı Surveyans Birimi, Kanıta Dayalı Laboratuvar Tıbbı gibi rotasyonların gerekliliği eklenmiş. Halk Sağlığı ve klinik rotasyonların gereksiz olduğunu belirten olmuş. Rotasyonların hedeflerinin net olarak açıklanmasının sorunları azaltacağı açıklanmış.
16. Asistanlar uzmanlık eğitimi sonunda Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvar uygulamaları ve yönetimi konusunda yeterli düzeye geliyorlar mı? Çoğunluk olumlu yanıt vermiş. Satın alma işlemleri, laboratuar yönetimi, test validasyonu ve verifikasyonunda yetersizlik olduğu belirtilmiş.
17. Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitiminde Tıp fakültelerinin **güçlü yönleri (avantajları)** nelerdir?
    Eğitim kadroları
    Akademik eğitim ortamı
    Laboratuvar altyapısı
    Bilimsel proje ve kongre desteği
    Uluslararası çalışma olanakları
    Klinikler – laboratuvarların entegre çalışması
18. Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitiminde Tıp fakültelerinin **zayıf yönleri (dezavantajları)** nelerdir?
    Toplumun ve dış piyasanın gerçeklerine uzak olma
    Anabilim dalından bağımsız merkez laboratuvarları
    Fakülteler arası olanak farklılığı ve standardizasyon olmaması
    Asistan kadro sıkıntısı
    Öğretim üyelerinin farklı iş yükleri ve çeşitli alanlarda görevleri
    Otomasyon
    Danışmana bağımlı eğitim verilen yerlerde asistanların tek yönlü deneyim kazanması
19. Günümüzde Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimini **olumlu** etkileyen dış faktörler nelerdir?
    "Olumlu yön yok"
    Bilim, teknoloji ve bilişim alanındaki gelişmeler
    Board sınavlarının başlamış olması
    Uluslararası çalışma olanakları
    Giderek artan sağlıkta kalite talepleri
    Uzmanlık derneklerinin kurulmuş olması
    Meslek derneklerinin olumlu çaba ve çalışmaları
    Meslek eğitim toplantıları
    Meslektaşlar arası iletişim ve paylaşımın artması
    Yan dallar olması (güçlendirilmeli)
20. Günümüzde Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimini **olumsuz** etkileyen dış faktörler nelerdir?
    Enfeksiyon Hastalıkları uzmanlığına Klinik Mikrobiyoloji uzmanlığı verilmesi
    Özlük haklarının yetersizliği
    Ekonomik kaygı, iş kaygısı, kadro kaygısı
    Performans sistemi
    Sürekli değişen mevzuat
    Tıbbi laboratuvar yönetmeliği
    Periferde uzmanlık alanı dışında görevlerin verilmesi
    Sağlıkta ticarileşme
    Özel laboratuvar sektöründeki konsolidasyon ve büyük ölçek hizmet eğilimi; mevzuatlara yansımaları
    Sağlık Bakanlığı'nın Üniversite hastanelerini devralma çalışmaları
    Eklemek istediğiniz öneri ve görüşlerinizi lütfen yazınız.

Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlığının geleceğinin belirsizliği eğiticilerde motivasyon kaybına yol açmaktadır.
Uzmanlık eğitimi verenlerden beklentiler belirlenmelidir. Eğitimin ve eğiticilerin ölçme değerlendirilmesininin yapılandırılması gerekmektedir.
Doktora eğitimi ile uzmanlık eğitimi netleşmelidir.
Teknik personelin sorumluluğunda olan testler ve yöntemlerin eğitimi de öğretim üyelerinin sorumluluğunda verilmelidir.
Uzmanlık eğitimi ile ilgili alınan ortak kararlar tüm eğitim birimlerine duyurulmalıdır.
Üniversite dışı kurumlara rotasyona gidilmelidir.
Asistanların kongre katılımlarına destek sağlayıcı düzenlemeler yapılmalıdır.

Anketlerden de anlaşılacağı üzere, deneyim süreleri, çalışma koşulları farklı olmasına karşın, eğitimcilerin farkındalıkları, güçlü, zayıf yönleri, tehditleri ve fırsatları algılamaları paralellik göstermektedir.

Rotasyon süreleri konusunda farklı görüşlerin olmasında kişisel deneyimlerin etkisi olabilir. Eğitim sonu hedeflerinin uzlaşı ile açık ve net bir şekilde çıkarılmasının ardından, bu hedeflere ulaşmak için gerekli eğitim

programı, yöntemler, araçlar ve olanaklara göre sürelerin önerilmesi ve gerekçelendirilmesi uzlaşmaya yardımcı olabilir. Mezuniyet sonrası uzmanlık eğitimi ulusal standartlarının belirlenmesi gerekmektedir.

Tıbbi (Klinik) Mikrobiyoloji uzmanlık hedeflerinde tanımlanan yetkinlik ve özelliklerin eğiticilerde de bulunması beklenir. Olumlu yönlerin geliştirilerek zayıf yönlerin güçlenmesi, fırsatların kullanılarak tehditlerle baş etme stratejilerinin geliştirilmesi, önerilerde ve girişimlerde bulunulması sorumluluğunu da eğiticiler taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Klinik (Tıbbi) Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi Asistan Karnesi
2. European Union of Medical Specialists. UEMS 2006/18. Budapest Decleration on Ensuring the quality of Medical Care. www.uems.net.
3. Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği. Resmi Gazete 18.07.2009; 27292.
4. Tıpta Uzmanlık Kurulu 23.06.2010 tarihli 82 numaralı kararı. www.tuk.saglik.gov.tr/rotasyonlar.pdf.
5. Hekimlik ve Diş Hekimliğinde uzmanlık dalları ve yan dalları ile eğitim süreleri. 1219 sayılı Kanunun eki olarak düzenleyen 6225 sayılı Kanun. Resmi Gazete 26.04.2011; 27916.
6. Thomson RB, Doern GV. What will the role of the Clinical Microbiology director be in 2015? J Clin Microbiol. 2011; 49:S68-S71.
7. Boelen C. The five-star doctor: An asset to health care reform. Human Resources for Health Development Journal 1997;1(1):6-12.
8. Frank J. The CanMEDS 2005 physician competency framework. Better standards. Better physicians. Better care. Ottawa: The Royal College of Physicians and Surgeons of Canada 2005.

UEMS AND CLINICAL (MEDICAL) MICROBIOLOGY IN EUROPE

J.E. DEGENER

Department of Medical Microbiology, University Medical Center Groningen and University of Groningen, Groningen, The Netherlands

An inquiry in the training in the different main fields of clinical and scientific interest in microbiology (see fig. 1), held in 2010, revealed that , although these fields are generally covered, the differences in time spent for training are showing a wide variety.
This presentation aims at trying to discover the common goal in this diversity.Which competences do we think we need to be able to perform the specialty at an optimal level, appropriate to EU standards?
Where did microbiology start in medicine? It started with fundamental studies of the origin of microbial diseases, the search for diagnostic methods and for options in prevention and treatment. The founding fathers were of many medical and non medical backgrounds. Semmelweiss was an obstetrician, Lister a surgeon, Pasteur was a chemist, Ehrlich a physician as well as a chemist, Fleming was, by training, a surgeon. When microbiology started as a profession in the diagnosis of microbial diseases, it was often performed together with other activities in the clinical laboratory and practised in a multidisciplinary fashion, named "clinical pathology" or "laboratory medicine". Thus, when the European Union was founded and as a result the Union Européenne des Médecins Spécialistes (UEMS) was established in 1958, within this organisation a Specialist Section of Laboratory Medicine was created in 1962. In 1992 this Section was renamed Medical Biopathology and under this umbrella of diagnostic specialties a sub-discipline of Medical Microbiology was formed. This was well accepted at the time when microbiology was a small specialty and practiced together with clinical pathology in the majority of the six member states (Belgium, France, Germany, Italy, Netherlands, Luxemburg). This picture has changed dramatically in the following decades when many other countries joined the EU, in which medical microbiology had been recognized as a full specialty since many years.
In the mean time microbiologists in the UEMS had concentrated themselves on formulating the profile of the specialty and terms for training. In 1996 the eight main tasks of the specialist were defined during a Section meeting in Helsinki. These tasks (see table 1) are the backbone of the ensuing training programme and the detailed logbook. Because of the fact that the status of medical microbiology was inconvenient for the traditional delegates and incomprehensible for the new members in the EU family a plea was made in the direction of the UEMS Council to become an independent Section and a fully recognized specialty. Because the requirement was fulfilled that 18 of the 27 member states, which is more than one third of the countries, were recognizing medical microbiology as a full specialty, and after a voting procedure of the Council, a new Section was born on April 19th 2008 in Brussels. According to EU directives the Section is named the Section of Medical Microbiology (1, 2, 3). During the first official meeting of the Section it was realized that tasks and practices in the specialty of medical microbiology may partly overlap with activities as performed by specialists in infectious diseases and the group of specialists trained in general laboratory medicine with sub-specialisation in microbiology. These professions are represented in the Section of Infectious Diseases and in the Section of Medical Biopathology. Ways have to be found to communicate with these specialists, e.g. by delegating observers by each Section to the other Section. According to UEMS Chapter on Training of medical Specialists in the European Community (4) the training programme and the logbook have to be implemented and standards and assessment of the quality of training centers and trainers have to be developed. Very recently agreement on the requirements for the specialty of Medical Microbiology has been reached by the delegates in the Section. The draft of a UEMS Chapter 6 containing these requirements for a five year training program has been submitted for scrutiny to the UEMS Council and brought on the agenda of the Council meeting on October 6 2011 in Naples (5).
During the meeting of the ESCMID Professional Affairs Workshop in Rome on October 9th 2008 a proposal was presented for modernizing the training programme for clinical microbiology including the CanMEDS competence based model (6). The CanMEDS model defines seven competences which are applicable to any practicing medical specialist (see table 2). For implementing such a model it will be needed to define more in detail the main themes in the specialty of clinical microbiology (see fig. 1). The next step will be to create a matrix format in which competences and specialty specific themes can be detailed. In parallel a scheme should be made in which can be shown how an assessment of theme specific competences can be made between trainer and trainee.
In a number of countries experience has been gained at different levels with such an approach. The UEMS Section of Medical Microbiology will explore the possibilities of implementing this model on a broader scale. According to the UEMS Chapter 6 document a Central Monitoring Authority has to be established, which will lay down and monitor general standards for specialty recognition and quality assessment, including developing a European exam. Since all begins with defining the standards for training, the Section will focus on a modern training model in the first place. ESCMID and the Section of Medical Microbiology could very well be partners in the Central Monitoring Authority to be.

References

1. ESCMID News 2007; issue 2: 14-17
2. ESCMID News 2007; issue 3: 10-12
3. ESCMID News 2008; issue 2: 23
4. UEMS Charter on Training of Medical Specialists in the European Community, October 1993

5. UEMS Charter on Training of Medical Specialists in the EC-Medical Microbiology, Naples, October 2011
6. http://rcpsc.medical.org/canmeds/CanMeds-summary_e.pdf

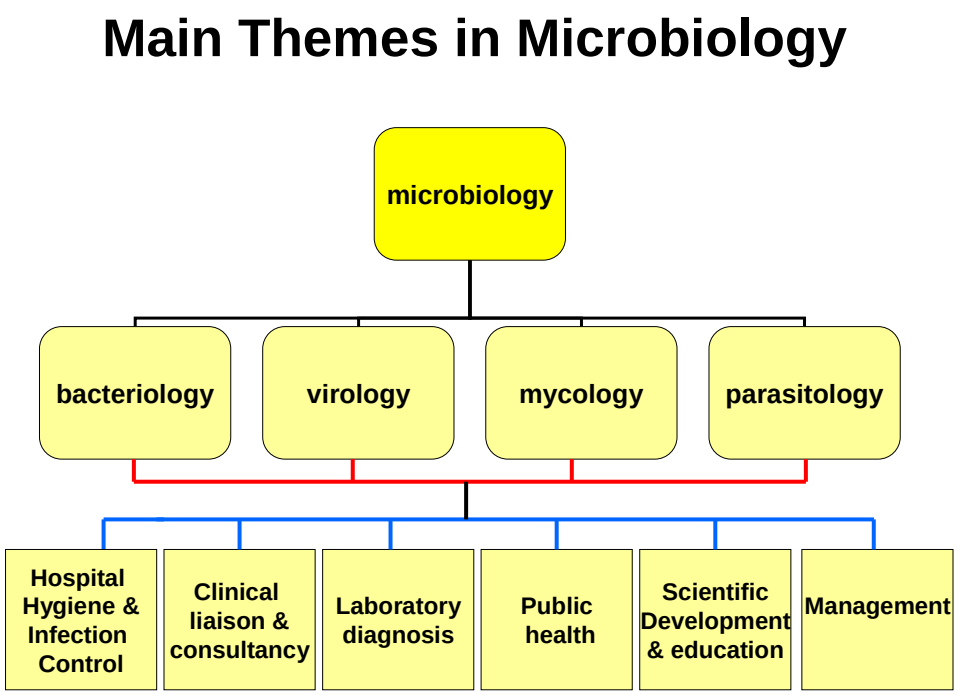
Table 1.
8 Main Tasks in the Specialty of Clinical Microbiology Defined by the UEMS Section of Medical Pathology, Microbiology Commission, Helsinki 1996

- Giving advice on diagnosis, treatment and prevention
- Providing a scientific basis for laboratory diagnosis
- Undertaking management responsibilities
- Taking charge of infection control
- Implementing antibiotic policy
- Providing surveillance data
- Participating in training for residents, infection control practitioners and other experts
- Undertaking research and development activities

Table 2.
General Core Competencies of the Medical Specialist

- Medical Proficiency: having the knowledge and skills essential to the profession.
- Communication: being able to communicate well with the patient, family, professionals and colleagues.
- Knowledge & Science: having knowledge of evidence-based medicine, providing education, informing the general public, performing scientific study.
- Co-operation: co-operating with colleagues and health care employees inside and outside the clinic.
- Organization: working with others in a purposeful manner; optimizing health care logistics.
- Social Interaction: preventive action, knowledge and application of the legal framework, risk management, coping with errors.
- Professional Conduct: ethics, reflection, being aware of one's own limitations.

Fig. 1



Karşıyaka Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, İzmir

Bu yazıyı çalışma süresinin tamamını laboratuvar içinde veya laboratuvar işleri ile ilgilenerek geçiren ve bu işe gönül veren tıbbi(klinik) mikrobiyoloji uzmanlarına saygı ve sevgilerimle sunarım

Laboratuvar uzmanları için hasta güvenliği; hastanın düşmemesi, yanlış taraf cerrahisine gitmemesi uğraşlarından farklı olarak analiz öncesi (%32-75), analiz sırası(%32) ve analiz sonrasında(%9-47) olabilecek hataların önlenmesi şeklinde sağlanmış olacaktır.

Analiz öncesi hasta güvenliği; hastaların testlerle ilgili doğru bilgilendirilip, doğru hazırlığı yapmalarının sağlanması, doğru örnek türünün doğru örnek kaplarına yeterli miktarda alınması, uygun ısı ve süre içinde laboratuvara transportunun sağlanması ile gerçekleşecektir. Analiz sırasında hasta güvenliği ise; istenmiş tetkiklerin çalışılmasında başarısızlık veya gecikme; laboratuvar uzmanı ve personelin kalite ve güvenlik kurallarının gereğini yerine getirmeleri ile en aza indirilebilecektir. Analiz sonrasında olabilecek hatalar ise; klinisyen tarafından sonuçların yanlış yorumlanması, takibi ve yeniden tetkikindeki başarısızlıklar olup laboratuvar uzmanının klinisyenle kuracağı iletişim ile en aza indirilmeye çalışılacaktır.

Hasta güvenliğinin önemi ve tıbbi tanıların % 70 inin laboratuvar sonuçları üzerinden konulmakta olduğu gerçeğinden yola çıkarsak laboratuvarların sağlık hizmetindeki rolünün önemini vurgulamış olabiliriz. Bu gerçekliğin çok farkında olan biz klinik(Tıbbi) Mikrobiyologlar için aşağıda adı geçen yönetmelikler(1 ve 2) çok şaşırtıcı ve üzücü olmuştur:

YÖNETMELİK 1- TDUEY-18.07.2009 yönetmeliğine göre, Tıbbi (Klinik) Mikrobiyoloji laboratuvar ana dal uzmanlığımız **4** yıl eğitim süresi ile yer almasına rağmen, ayrıca "Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji "adı ile ana dal uzmanlığımızı da içeren bir birleşik uzmanlık **5** yıl eğitim süresi ile yer almaktadır. Bu yasal düzenleme ile, farklı eğitim müfredatı ve farklı eğitim süreleri ile aynı yetkiye sahip olunacak "mikrobiyoloji laboratuvar uzmanlık" belgesi verilmiş olmaktadır. Yönetmelikte sadece "MİKROBİYOLOJİ" uzmanlığı için böyle bir mükerrerlik söz konusudur.(Başka hiçbir uzmanlık dalında böyle bir durum söz konusu değildir.) Tıbbi Klinik Mikrobiyoloji uzmanları, 5 yılda alınan bu birleşik uzmanlığı, ilave 3 yıllık bir eğitim ile 7 yılda alabileceklerdir.

YÖNETMELİK 2- Tıbbi laboratuvarlar Yönetmeliği- **Laboratuvar personelinin görevlendirilmesi ile görev ve sorumlulukları**

> **MADDE 18 –**(1) Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji uzmanları **VE/VEYA TIBBİ MİKROBİYOLOJİ UZMANLARI**, tıbbi biyokimya laboratuvarlarında tıbbi biyokimya uzmanları ve tıbbi patoloji laboratuvarlarında tıbbi patoloji uzmanları çalışmaya yetkilidir.

ŞİMDİ DİĞER GERÇEKLERE DÖNELİM

MİKROBİYOLOJİ UZMANININ HASTANEDEKİ 1 GÜNÜNE ÖRNEK (18.12.2009)

1. Mesaiye başlar başlamaz merkezi sterilizasyon ünitesi-otoklav cihazı bakım onarım hizmet alımı aylık kontrol evrakları geldi, incelendi, imzalandı.
2. Merkezi sterilizasyon ünitesi-etilen oksit cihazı bakım onarım hizmet alımı aylık kontrol evrakları geldi, incelendi, imzalandı.
3. Hastanede yapılamayan tetkikler için dış laboratuvardan alınan hizmet alımı evrakları geldi, incelendi, imzalandı.
4. Hasta R.Ç; .koroner yoğun bakıma gece yatmış. Koagülometrik test sonuçları çift ve dilüsyonlu çalışıldı. Sonuçlar:
   PT : 179.6, APTT: 170.1, INR: 14.57, PT% : 4
   Koroner yoğun bakım arandı. Hemşire ….ile konuşuldu. Hastanın dahiliyeye yattığını söyledi. Dahiliye doktor odaları arandı. Cevap vermeyince hemşire odası arandı. …hemşire ile görüşüldü. Gece hastayı ….isimli doktorun yatırdığını bugün de nöbet izninde olduğunu söyledi. Dahiliye 2 deki doktorun sorumlu olduğunu söyledi. Dahiliye 2 polikliniği arandı. Sorumlu doktor ile görüşüldü. Hastadan haberinin olmadığını söyledi. O an haberinin olduğunu söyledi. Değerler doktora aktarıldı. İlgileneceğini söyledi. Rapor çift ve dilüsyonlu çalışıldı. Tekrarı uygundur, diye onaylandı. Hemşire tekrar arandı. Yeni kan örneği istendi. Sonuç olarak bir hastaya ait kritik limit bildirimi yapmak için 7-8 telefon görüşmesi yapıldı. (Not: Uzun uğraşlardan sonra koagülometrik test sorumluluğu biyokimyaya verildi. BİZ MİKROBİYOLOGLAR; SADECE BİZE AİT OLANI İSTERİZ, BİZE AİT OLMAYAN İŞLERİ İSE İSTEMEYİZ, SAHİBİNE BIRAKIRIZ.)
5. Eczanede çalışan stok yönetiminde görevli biyolog……...ile sarf malzeme miktarları gözden geçirildi.
6. Enfeksiyon kontrol hemşireleri geldi. Temizlik kontrol teşkilatına yeni görevlendirmem ile ilgili görüşüldü. Onların korkusu EKK görevimin aksayabileceği idi. Korkuları doğruydu. Çünkü yeni görevi ancak diğer görevlerimden 1-2 sini bırakarak alabileceğimi başhekimliğe bildirmiştim. Nitekim çok uzun süredir yaptığım EKK üyeliğini ve transfüzyon kontrol komite başkanlığını bıraktım.
7. Bu görüşmeler ve işler süresinde onayı gereken birikmiş test sonuçları onaylandı.

8. Nihayet laboratuvara girildi. 18 aylık yapılan laboratuvar hizmet alımı kapsamında alınan otomatik bakteri identifikasyon cihazı ile ilgili sorun olduğu söylendi. Firma yetkilisi arandı, yapılabilecekleri söyledi. Kültürler değerlendirildi, .hazırlanması gereken gram preparatlar laboratuvar teknisyenine anlatıldı. Boyandıktan sonra değerlendirildi.
9. Biriken test sonuçları onaylandı.
10. Laboratuvardan sorumlu başhekim yardımcısı ile laboratuvar teknisyenlerinin isteği üzerine acil farkı alması konusu ile ilgili toplantı yapıldı.
11. Bir grup hasta sonucu daha onaylandı.
12. Öğle yemeğine gidildi. Öğle aralığı dinlenilmedi. Laboratuvara dönüldü. Çünkü aynı gün gelen heyet hastalarının sonuçları değerlendirilip, onaylanıp saat 13.00 e yetiştirilmesi gerekiyordu. (Haftanın 4 günü heyet var)
13. Temizlik kontrol teşkilatı başkanı başhekim yardımcısı ile toplantı yapıldı. Bazı kararlar alındı. Firma yetkilisine yapmaları gereken işler anlatıldı.
14. Biriken hasta sonuçları onaylandı.
15. Laboratuvar teknisyenlerine acil farkı almaları konusunda yapılan toplantı aktarıldı. Tekrar toplanmak istediklerini bildirdiler. Başhekim yardımcısına durum aktarıldı.
    Gün bitmemişti ama yazdıklarımın içeriğinden sıkılmış olduğumdan devamını yazmadım……..

MİKROBİYOLOJİ UZMANININ HASTANEDEKİ 1 GÜNÜNE 2. ÖRNEK (05.09.2011)

1. Acilden gelen hasta sonuçları onaylandı.
2. Satın alma birimi aradı. 2011 yılı kit karşılığı alınacak(artık hizmet alımı yapmıyoruz, denendi ve bitti.) cihazlarda çalışılacak testlerin yaklaşık maliyet hesaplamaları için çağırdı. **Ayrı** binadaki bu birime gidildi. Evraklar incelendi. Memurun yaptığı, SUT'ta bizim istediğimiz testin karşılığı olan teste ait olmayıp başka teste ait hatalı alınan fiyatların iptali, yazım hataları v.s. denetlenip, yapılması gerekenler anlatılıp düzeltildikten sonra tekrar incelenmek üzere birimden laboratuvara dönüldü.
3. Biriken hasta sonuçları onaylandı. Kültürler değerlendirildi. Periferik yaymalar değerlendirildi. Bu işleri yaparken biriken hasta sonuçları onaylandı. Tekrarı gerekenler bildirildi.
4. Serolojik testlere ait dış kalite kontrol sonuçları çalışıldı. İnternet üzerinden dış kalite kontrol programına sonuçlar girildi.
5. Başhekim ile organ transplantasyonu için donörde yapılması gereken testlerin, hafta sonu da mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılabilmesi için neler yapılabileceği görüşüldü.
6. Laboratuvara dönüldüğünde 100 hemogram test sonucu birikmişti. Onaylandı.
7. Hastanemizde otomasyonda yeni yazılım kullanılmaya başlandığı için; yazılım firması elemanları ile tetkik-sonuç kağıdı formatı düzenlemeleri soruldu, öğrenildi, isteklerimiz aktarıldı.
8. Öğle aralığında dinlenilmedi, çalışıldı, heyet hastalarının sonuçları tamamlandı. .Onaylandı.
9. Embriyolog izinli olduğu için 3 adet spermiogram değerlendirildi.
10. Merkezi sterilizasyon ünitesi sorumlu hekimi olduğum için sterilizasyon ünitesi ihtiyaçlarını tespit etmek ve sağlık müdürlüğü çerçeve ihalesinde olan, ünite ile ilgili malzeme miktarlarını bildirmek için MSÜ sorumlu hemşiresi ile toplantı yapıldı. İhtiyaçlar stok birimi sorumlusuna satın alma sipariş defteri yazılarak teslim edildi.(Listede olmayan malzemeler, şartnameleri yazılarak ayrıca talep edilecek.)

Günlüğe yazılmayan; sık sık çalan telefonlar, yanlış telefonlar, biyokimya testlerini mikrobiyolojiden sormalar, bizimle ilgili değil dediğinizde bozulmalar, yurtiçi-yurt dışı bazı raporlarda mutlaka doktor imzası isteyenler, ne zaman geleceği belli olmayan o imzalar için, eğer toplantı v.s de iseniz geldiğinizde çok bekledik yakınmaları, süresi dolmadan sonuç sormalar, en küçük aksaklıkta klinik birimlerdeki hekimlerin hedefi olmak..v.s.de günün kalan boşluklarını dolduruyor.

BAŞLIKLAR VE ÖRNEKLERLE YAŞANAN GERÇEKLER-SORUNLAR

1. Hastanelerde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında alt yapı eksikliği, tıbbi laboratuvarlar yönetmeliğinde belirtilen fiziki şartlara sahip olmaması (teknik alan, destek alanları-örnek kabul birimi, ,örnek alma odası, malzeme deposu- , ofis alanları); ortak ve sık yaşanan sorunlardan biridir.

   İdareye bu konuda verilmiş bir dilekçe örneği : Hastanemizin mikrobiyoloji laboratuvarı hastane bahçesinde yerleşmiş olup çalışma koşulları yönüyle(yer, mekan, ısı, ses, toz, kapılarının yola açılması..) mikrobiyoloji laboratuvarının taşıması gereken koşulları taşımamaktadır. Bu durum hastalar açısından da zorluk yaşanmasına neden olmaktadır. Bu laboratuvarın hastane içerisinde diğer laboratuvarlara yakın bir yere alınması ve yakınında bir doktor odası düzenlenmesi için gereğini ivedilikle ve saygılarımla arz ederim…Mikrobiyoloji Uzmanı Dr..Demet Canyılmaz……

   Dilekçeye cevap: Hastanemizde uygun fiziki yer oluşturulunca alınacaktır….

. **Gerçek sonuç:** Yıllar sonra uygun bir ortamda çalışılmaya başlandı.

2. ……...Uygulama Merkezinde mikrobiyoloji uzmanı olarak çalışmaktayım. 20 yıllık devlet memuruyum 12 yıllık uzmanım. .1.5 yıldır yaşadıklarım kabus gibi . Hizmet alımı yapan firmanın sahte hak ediş cetvelleri ile bizlerin imzasını kullanılarak, bazen renkli fotokopisini çekerek devleti zarara uğrattığı söz konusu . Bu konuyu idareye bildirdik, müfettişlere anlattık ,işleyiş değişti ama .....burada yoruma girecek çok şey var .Altında imzası bulunan 15 hastane personeli ben de dahil (bu sahtelikleri bulmama rağmen) 3 gün göz altına alındık .Savcının karşısına çıktık. Firma tutuklandı ama mahkemelere çıkacağız. Artık komisyonlarda görev almak istemediğimi idareye yazdım kabul edilmedi. Yine muayene kabul komisyonunda imza atıyorum. Biz uzmanlar testlerimizi biliriz, teknik çalışmayı biliriz, bize muhasebecilik yaptırıyorlar. Hatta benim hazırlamadığım bir şartnamede yer alan her ay değişen birim fiyatın formülasyonundaki hesaplamayı anlamadığımı yazdım buna rağmen bu Kamu İhale Kurumu'na göre sizin görevinizdir diye bir yazı geldi. Şu an hem müfettişler hem de mahkemeye ifadeler hazırlıyorum, ceza avukatına dünya para vereceğim. İşime konsantre olamıyorum. Mikrobiyoloji uzmanı Dr……..

   SORU: Hak edişleri hesaplamak bizim işimiz mi? Görevlendirme doğru mu?
3. …….Hastanesinde taşınır kayıt ve kontrol görevlisi olarak görevlendirildim. Bu görevi yapamayacağım ile ilgili dilekçe yazınca hakkımda memuriyet vakarına yakışmayan davranışta bulunmak, emirleri yerine getirmemek, görevi ihmalden soruşturma başlatıldı. Mikrobiyoloji Uzm.Dr. ……..

   SORU: BU mikrobiyoloji uzmanı; 350 yataklı, 70 yeni doğan bakım yatağı ve 5 anestezi yoğun bakım yatağı olan bir hastanede 2 kişilik kadroda 2 kişi olarak çalışmaktadır. Taşınır kayıt ve kontrol görevlerini yerine getirirken mikrobiyoloji laboratuvar uzmanını ilgilendiren (Hastane Kalite Performans Kriterleri, Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliği Kriterleri, Sağlık Bakanlığına Bağlı Kurumlarda Görev Yapan Laboratuvar Uzmanlarının Ek Ödemelerine Esas Sayıların Belirlenmesine Dair Yönerge' de belirtilen kriterler ve bu hastanenin rutin laboratuvar hizmeti..) konulardaki aksamalardan kim sorumlu olacak? Uzmanın eğitimini almadığı, yani bilmediği konu ile ilgili bu ek görevi veren idarenin sorumluluğu ne kadar olacak?
4. Hastaya ait kritik limitler konusunda ilgililere ulaşmak zor ve zaman alıcı olmaktadır ve hastane içi yapılan görüşmeler telefon kayıtlarına girmemektedir.(Bakınız; MİKROBİYOLOJİ UZMANININ HASTANEDEKİ 1 GÜNÜNE ÖRNEK madde 4)
5. Performans yönetmeliğinde ve değişikliklerinde, riskli birimler arasında birçok birimin adı sayılmış, hastaya ait klinik örneklerle iç içe olan laboratuvar çalışanlarının adı ise riskli birimler arasında hiç geçmemiştir.
6. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının işletiminde karşılaşılan idari ve mali sorunlar vardır.

   …… Hastanesinde malzeme alımında cerrahi branşlar başta olmak üzere diğer bölümlere öncelik tanınmaktadır. Satın alma işlemleri çok yavaş ilerlemektedir. Mikrobiyoloji bir nevi 2. planda tutulmaktadır. Ancak yoğun bakım açılmak istendiğinde apar topar kan kültürü cihazı alınabilmiştir. Mikrobiyoloji Uzm. Dr…….

   SORU: Kan kültürü cihazı sadece yoğun bakım olan hastanelere mi alınmalıdır? Yoğun bakımı olan hastanelere dahi alınmıyorsa çözüm ve standart ne olmalıdır?
7. Hastaneye yeni kazandırılacak(Laboratuvar uzmanının isteğine veya klinisyenlerin ihtiyaç ve isteklerine istinaden) cihazlarla ilgili onayın il sağlık müdürlüklerinden alınması, ilçe hastanelerine onay verilmiş cihazların il merkezlerindeki hastanelere onayının verilmemesi..
8. Sağlık Bakanlığı genelgelerini takip etmek, uygulamak artık bir tıbbi sekreterya gerektirmektedir.
9. Laboratuvarlarda idareler tarafından hizmet alımına karar verilmesi (hastanede daha önce kit karşılığı cihaz alımı uygulaması yapılmakta iken ve yeterli sayıda laboratuvar teknisyeni varken), hatta doktorlu yapılmak istenmesi, laboratuvar uzmanlarının bu konuda yaptığı itirazlar, sonuçta laboratuvar hizmet alımının doktorsuz yapılması, laboratuvar çalışma düzeninin değişmesi, 1,5 yıl sonra bu uygulamadan vaz geçilmesi, tekrar eski sisteme dönülmesi
10. Sağlık Bakanlığı pdc kadrolarında yetersizlik, kadro fazlası yerleştirmeler veya ilan edilen kadroların atanmaması ve buna bağlı iş yükünün tek kişi üzerinde kalması ve bunun performans karşılığının olmaması. Her ne kadar hastane yatak sayısı –kadro sayısı kriterlerine göre mikrobiyoloji uzmanlarına yapılan ve hak kaybına neden olan döner sermaye uygulaması 21 Eylül 2011 tarihli resmi gazetede "Sağlık Bakanlığı Taşra Teşkilatı Yatak ve Kadro Standartları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik" ile yeni pdc kadroları açıklansa ve hastane yatak sayısı baz alındığı için yaşanan eksik döner sermaye ödemesi mağduriyeti giderilse de **sayılar direkt olarak PDC ye bağlansaydı, pdc kadroları daha sonraki yıllarda arttırıldığı zaman aynı mağduriyet tekrar yaşanmaz, sorun kökten çözümlenmiş olurdu.**

    SORU : * Laboratuvar uzmanları dışında hangi branşlarda yönerge ile döner sermaye ödemesi PDC sayısına bağlanmıştır?
11. İhalelerimizin biyokimya ihaleleri veya transfüzyon merkezi ihaleleri ile birleştirilmesi sonucu diğer ihalelerden de sorumlu tutulmamız veya sterilizasyon malzemelerinin cerrahi sarf ihalesi ile birleştirilmesi sonucu bilmediğimiz cerrahi malzeme ihalesinden de sorumlu tutulmamız, yine itirazlarımız…sonuçta çoğunlukla bu birleştirilmiş ihalelere girmemiz…hep itiraz eder pozisyonunda kalmamız…..
12. İdari şartnamelerde görevlendirmeler… Bu görevlendirmelere itirazlarımız ….. İdarelerin teknik şartnameye imza atmadığı gibi bizlerin de idari şartnameye imza atmayacağımızı, bu işin adı üzerinde idari yönetime ait olduğunu belirtmemiz……

13. Performans sisteminde ek görevlerden sadece birine % 10 verilmesi. O ay kaç çeşit(adet) görev yerine getirilmişse **o kadar kat % 10 ödenmelidir**. Çünkü alınan (verilen) her görev ek görevdir , sorumluluk gerektirir ve "asıl uzmanlık mesleki sorumluluk sigortası'na dahil edilmemektedir.
    Oysa bir ay içinde bir ay süreyle mikrobiyoloji laboratuvarı işlerinden başka, yapmış olduğumuz merkezi sterilizasyon ünitesi sorumluluğu (veya transfüzyon merkezi sorumluluğu), enfeksiyon kontrol komitesi üyeliği, anlaşmalı başka bir hastaneden gelen kültür örneklerinin işlenmesi, raporlanması,, diğer gelen kan örneklerinin çalışılması, raporlanması işi, hastaneye bağlı iki ayrı semt polikliniğinden gelen kültür ve kan örneklerinin çalışılması, bir çok hizmet alımı işinin aylık muayene kabul komisyon görevleri, getirdiği sorumlulukları, o aya düşen ihaleler, yaklaşık maliyet hesaplamaları işi,…..3 kişilik kadroda bütün bunların 1 mikrobiyoloji uzmanı tarafından yapılması…yani 3 kat çalışılması, fakat 1 kişilik döner sermaye alınması…Ortalamadan alınan bu döner sermayenin yıllık izin, rapor v.s. sürecinde ödenmemesi ve bu 1 kat ödenecek döner sermayenin de kriterlere bağlanması..
    Bütün bunların yanı sıra performans uygulamasında " laboratuvar performans kriterlerinin" uygulanacak olması çoğu rutinde yaptığımız iş olsa da gerçekten bunca işin arasında artık bir **sekreterya** gerektirmekte ve tüm klinik branşlara getirilmeyen kliniği ile ilgili kriterler neden laboratuvar uzmanlarına uygulanmaktadır, diye bizleri olumsuz düşüncelere itmektedir.
    (Bu daha önceki döner sermaye uygulamasında da böyle idi. Klinik uzmanlar için 2.5 çarpan kullanılıyor laboratuvar uzmanları için bir çok madde yerine getirilirse 2.0 olan çarpan 2.5 oluyordu.)
    SORULAR : Hangi Branş hekimleri izinli olduğu gün kadar eksik döner sermaye almaktadır?
    - Hangi branş uzmanları için döner sermaye alma oranları için ek kriterler konmuştur?
    - Neden laboratuvar uzmanlarına, ortalamanın altında kalan klinisyen hekimlere uygulanan ortalamanın % 70' ine kadar ek ödeme yapılır hükmü uygulanmamaktadır?
      ***Her bir birim sorumluluğu (Merkezi sterilizasyon ünitesi, kan bankası veya transfüzyon merkezi) için ortalama performansın dışında sabit ek ödeme planlanabilir mi?**

    Hastanelerde" kalite" ile ilgili ilk çalışmalar başladığında bizim hastanemizde kalite geliştirme ekibinde çalışan tek uzman mikrobiyoloji uzmanı(ben) idi. Klinik uzmanları bu işleri angarya görüp pek zaman ayırmak istemiyordu. Kalite geliştirme ekibinin gönüllü çalışmaları ile hastanelerin (hastane kalite standartları yayınlanmadan önce)kalite ve güvenliğini arttığı gerçeği tartışmasızdır.
14. Mikrobiyoloji uzmanlarının bazı hastanelerde **acil serviste görevlendirilmesi** önemli ve sık bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.
    ……Hastanesinde acil nöbet sorununu bizler de yaşadık ve halen farklı bir şekilde yaşıyorum. Uzmanlık eğitimim sırasında bundan 4 sene önce 2 ay acilde çalıştım, Tek yapabildiğim dua etmek ve mümkün olduğunca hastalarla iyi diyalog kurarak işi götürmekti, çünkü başka elimizden bir şey gelmiyordu. Biz bu konuda birlik olup birşey yapamadık. Şu an ise büyük bir şehirde 700 yataklı bir hastanede çalışıyorum. Burada acil nöbeti tutmuyorum ama acil şef nöbeti adı altında nöbet tutuyoruz. İdari nöbet tutmak görevlerimiz arasında buna itiraz etmiyorum ama bu nöbet sırasında bizi mavi koda gönderiyorlar. Mavi Kod Ekibi**,** hastanede Kardiyo Pulmaner Resüsitasyon (CPR) konusunda deneyimli ve eğitimli belirli uzman hekim ve hemşirelerden oluşur. Böyle çok açık bir görev tanımlaması varken ve hastanemizde anestezi uzmanı, dahiliye uzmanı ve cerrahi bölüm uzmanı nöbet tutarken ben mikrobiyoloji uzmanı olarak hasta resüstasyonuna gönderiliyorum. Bu konuda da bence çok büyük maddi ve manevi sorunlarla karşılaşabileceğimi düşünüyorum. Mikrobiyoloji Uzmanı Dr……
    …….. Üniversite hastanesinde Temel bilim asistanlarına acil nöbeti yazılmaya başlandı ve sadece aylık kişi başına düşen acil nöbeti yönünden bakıldığında temel bilimciler , neredeyse dahiliye branşlarından daha çok acil nöbeti tutuyor. Mikrobiyoloji Uzmanı Dr……

SORULAR:

- Mali mesuliyete ilişkin mevzuat gereğince de insani görevler yerine getirilirken hukuki sorunlar yaşamak istemeyen bir mikrobiyoloji uzmanının yapacağı tıbbi hatalardan kim sorumlu olacaktır?
- Mali mesuliyet sigortasının acil servis hizmetlerini de kapsayacak şekilde başhekimlik tarafından yaptırılması ve maliyetinin saymanlıkça ödenmesi mümkün müdür?
- Acil servisteki hasta kendisine bir mikrobiyoloji uzmanının müdahale ettiğini veya servisteki CPR ile geri döndürülemeyen hastanın yakını, hastasına bir mikrobiyoloji uzmanının müdahale ettiğini öğrenir ve şikayet ederse ne olacaktır?
  Acilden yazılacak order ve reçetelerin; mikrobiyoloji uzmanları medula sisteminde gözükmediği için, eczane çıkışlarında sorunlar yaşanacaktır.
  Gereksiz ve uygunsuz görevlendirmelere karşı yapılacak itirazlar yine idare ile arzu edilmeyen gerilimlerin yaşanmasına neden olacaktır.
  TTB nöbet hizmetleri broşürü, Bakanlık mesleki sorumluluk (malpraktis) yasa uygulama tebliği, yataklı tedavi kurumları yönetmeliği gibi yönetmelikler nöbetlerle ilgili başvurulacak kaynaklardır.

15. Kongre izinlerinde bazı hastanelerde döner sermaye kesintisi yapılması, bu ve bunun gibi yapılan yanlışlara itiraz edilmesi, olan enerjimizin gereksiz harcanmasına neden olmaktadır.
16. Yine zorunlu mesleki sigorta; mikrobiyoloji uzmanlarını kan merkezi sorumluluğuna, transfüzyon merkezi sorumluluğuna, merkezi sterilizasyon ünitesi sorumluluğuna, enfeksiyon kontrol komitesi üyeliği

sorumluluğuna, satın alma sorumluluklarına karşı korumakta mıdır? Eğer korumuyorsa mikrobiyoloji uzmanları ne yapmalıdır?
Hastane Kalite Performans Kriterleri'ni, Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği Kriterleri'ni, Sağlık Bakanlığına Bağlı Kurumlarda Görev Yapan Laboratuvar Uzmanlarının Ek Ödemelerine Esas Sayıların Belirlenmesine Dair Yönerge'de belirtilen kriterleri yerine getirip, çok özel zamanlarını ayırarak bir de yayın yapabilen uzmanlara klinik şefliği olmayan devlet ve eğitim-araştırma hastanelerinde bulunan meslektaşlarımızın "bilimsel çalışma destek puanını" klinik şefi olması kaydına bağlamış. Önceki performans yönetmeliğinde şeflik olmadan da alınabilen %10 ek ödemenin verilmemesi bu hastanelere değer verilmediği izlenimini uyandırmaktadır.

17. Mikrobiyoloji laboratuvarına ait küçük miktarlarda(1000-2000 TL gibi) avans ayrılması, yıl içinde öngörülen miktar üzerinde harcanan(hasta sayısının artması, yeni poliklinikler açılması v.s .nedenlerle) sarf malzemelerinin hızlı alınmasını sağlayıp, laboratuvar uzmanının biten malzeme nedeniyle zor durumda kalmasını önlemiş olacaktır.
18. Kan bankası/Transfüzyon merkezi sorumluluğu- merkezi sterilizasyon ünitesi sorumluluğu ve bu konudaki tecrübe eksikliği önemli bir sorundur. Eğitim müfredatlarına bu konular kapsamlı olarak eklenmeli, çalışan uzmanlar için öncelikli, hizmet içi uygulamalı kurslar düzenlenmeli ve uzmanlar bu kurslara katılmalıdır.
    SORU: Yalnızca kan bankasında çalışan mikrobiyoloji uzmanları için laboratuvar performans kriterleri nasıl uygulanacaktır?
19. **HAK KAYIPLARI-MAĞDURİYETLER**:

…….. özel hastanesinde çalışırken enfeksiyon hastalıkları uzmanlarının laboratuvara girebilmesi nedeniyle hastaneden ayrılmak zorunda kalan bir sektör çalışanıyım. .Mikrobiyoloji Uzm..Dr. …..

……..özel hastanesinde çalışıyorum. 6 yıl Tıp fakültesi okudum, 10 yıl pratisyen hekimlik yaptıktan sonra, EÜTF de Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ihtisası yaptım. 2008 Nisan ayından bu yana özel bir tıp merkezinde Mikrobiyoloji laboratuarında uzman hekim olarak çalışıyorum. 2009 yılında çalıştığım kurum tarafından yerime enfeksiyon hastalıkları uzmanı alınıp iki yönlü (poliklinik ve laboratuar) yararlanma adına işten çıkarılma girişiminde bulunuldu, fakat bu hizmeti verecek kişilerin yüksek ücret istemesi üzerine işten çıkarılmamdan vaz geçildi. Kuruma bir enfeksiyon hastalıkları uzmanı alındı, o sadece hasta baktı. O günden beri laboratuvarımda çalışırken , bugün öğlen tıp merkezinin kantinine gittiğimde müdürümüz " medimagazinde yeni tıbbi laboratuvarlar yönetmeliği yayınlanmış, okudun mu? " diye bir cümleyle karşılaştım. Yorumunu sorduğumda bir şey söylemedi, ama şu anda tetikte bekliyorum. Lütfen bir şeyler yapalım. Ben EÜTF Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalında ihtisas yaparken 6 ay enfeksiyon hastalıklarında, 2 ayda acilde rotasyon yaptım. Ama hasta bakma yetkim yokken nasıl oluyor da mikrobiyoloji laboratuvarına resmi rotasyonu olmayanların laboratuvarı yönetme yetkisi oluyor. Ya bize de hasta bakma yetkisi verilsin yada enfeksiyon hastalıkları uzmanları eğer laboratuvarda çalışıyorsa hasta bakamasın. Mikrobiyoloji Uzm .Dr…….

……..Hastanesinde çalışıyorum. Enfeksiyon hastalıkları uzmanı başhekim yardımcısıyla anlaşamıyoruz. Manüpilasyonlar sonucu bana ve birlikte çalıştığım uzman arkadaşlarıma birer aylığına il içi geçici görevlendirme çıkartıldı. Mikrobiyoloji Uzm.Dr…….

……Hastanesinde çalışıyorum. 2011 Ağustos ayında hastanemizdeki otomasyon sisteminin başka bir firmaya geçmesiyle o gün benim yaşadıklarım şunlardı: Barkodsuz gelen kanlar, klinik örnekler, bunların takibinin yapılarak cihazlara verilmesi ,firma eğiticilerinin sayısının yetersi olması, ne yapacağımızı bilememiz, kültür kayıtlarının yapılamaması, acil sonuçlarının yetiştirilmesi, yüzlerce hastaya sonuçların elden verilmesi, hasta ismi okunarak elden verilen sonuçların yedeklerinin alıkonulması..v.s.
ve bütün bunlar olurken yanımda başka unvanlı bir uzmanın olmaması, o günü hayatımdaki en kötü 10 gün arasına yerleştirmem ve eve gittiğimde halının üzerine uzanışım ve uyuyup kalmam...ve birilerinin bu hazırlara konması….
Bir o gün yaşadıklarıma bakıyorum bir de Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliği 18. Madde'ye….ve vicdanı olanlara seslenebildiğimi görmek istiyorum…

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANININ SORUMLULUKLARI NE OLMALI?

Aynur EREN TOPKAYA
Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Klinik mikrobiyoloji uzmanlığı, sürekli gelişerek varlığını devam ettirecektir. Bir yandan yeni etkenler ortaya çıkarken, diğer yandan önemli bir çok infeksiyon hastalığının etkeninin en doğru ve en hızlı şekilde nasıl tanımlanabileceği hala tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Örneğin kan dolaşımı infeksiyonlarının etkenini doğru bir şekilde ortaya çıkarmak için, alınan örneğin miktarı, alınış zamanı, inkübasyon koşullarıyla ilgili yapılan sayısız çalışmaya rağmen, klinik laboratuvarlarının % 90'ının etkeni tanımlamakta başarısız olduğu bilinmektedir. Klinik laboratuarlara, en çok gelen örnek olan idrar kültürlerinin yorumunda bile zorluklarımız devam ederken, tüberküloz tanısında moleküler testlerin yeri tartışılırken, invaziv mantar infeksiyonlarıyla ilgili tartışmalarımız sürerken, klinik mikrobiyolojinin gelişmeye devam eden, çözüm bekleyen soruları olan, zorlukları çok ama heyecan verici bir uzmanlık alanı olmaya devam edeceği açıkça görülmektedir (1).
Klinik mikrobiyoloji uzmanlarının çalıştığı mikroorganizmalar; tedavide kullanılan ilaçlara direnç geliştirmeye eğilimli, hızla çoğalabilen, bölgesel, ulusal ve dünya çapında salgınlar oluşturan, biyoterörizmde kullanılan, yeryüzünde bizden önce var olmuş ve bizden sonra da varlıklarını sürdürebilecek canlılardır.
Klinik mikrobiyoloji uzmanlarının çalışmaları, hem infeksiyon hastalığı etkeni olan bu mikroorganizmaları tanımlamayı, hem de onların insan vücudunda oluşturdukları her türlü değişimin kanıtlarını ortaya koymayı kapsar.
İnsan sağlığı ile ilgili hizmetleri bir bütün olarak kabul ettiğimizde, klinik mikrobiyoloji uzmanının kendi çalıştığı laboratuvarda ve laboratuvarın dışındaki sağlıkla ilgili diğer alanlarda çok geniş kapsamlı sorumlulukları vardır.
Klinik mikrobiyoloji uzmanları, laboratuvarda, infeksiyon hastalıklarının tanısı için, bakteriyolojik, virolojik, parazitolojik, mikolojik, immunolojik, hematolojik ve moleküler testleri yaparlar. Laboratuvardaki sorumlulukların yerine getirilmesi, hastalara ait örneklerin doğru işlenmesi, yorumlanması ve raporlanmasını sağlar.
Bunlar:

- Yapılan testlerin doğru ve güvenilir olmasını sağlamak,
- Laboratuvar çalışanları açısından güvenli bir laboratuvar ortamını düzenlemek,
- Laboratuvara alınacak cihaz ve sarf malzemeleri ile ilgili, gereklilik, maliyet analizi, bakım-tutum ve kontrol ile ilgili değerlendirmeler yapmak ve satın alınması için gerekli prosedürleri yerine getirmek,
- Kullanılacak test yöntemlerini seçmek ve sonuçları değerlendirmek; testlerin kurum politikaları ve düzenlemelerine uygun şekilde standartlara uygunluğunu, doğruluğunu ve güvenilirliğini değerlendirmek,
- Hasta örneklerinin laboratuvara kabulü, laboratuvardaki işlem sırası ve takibi, stoklanması ve tibbi atık olarak uzaklaştırılması sürecini izleyebilmek,
- Laboratuvarda yapılan testler ile ilgili kalite kontrollerini yapmak,
- Laboratuvarın işleyişini denetlemek ve hatalarla ilgili önlemler almak,
- Laboratuvarda uygulanan test yöntemleriyle ilgili standartlar geliştirmek ve bunları güncellemek,
- Çalışanların görev tanımını yapmak ve
- Laboratuvar çalışanlarının yetkinliğini sağlamak için hizmet içi eğitim programları yürütmek ve eğitimin etkinliğini denetlemek,
- Hasta memnuniyetini ölçmek için yöntem geliştirmek,
- Kayıtların doğru tutulduğunu denetlemek ve arşivlenmesini sağlamak,
- Laboratuvar bilgi sisteminin (LİS) oluşturulması ve yönetilmesi konusunda etkin olmak. LİS' in yerel ve ulusal halk sağlığı laboratuvarlarıyla çift yönlü iletişime olanak tanımasını sağlamak ve böylece testlerin pozitiflik oranları, antibiyotik direnci gibi konuları izlemek.

  Klinik mikrobiyoloji uzmanının yukarıda sayılan ve laboratuvar içi çalışmalar olarak kabul edilen, doğru, güvenilir ve hızlı bir şekilde hasta raporu üretebilmek için yerine getirmesi gereken sorumluluklarının yanı sıra, laboratuvar dışında da bazı sorumlulukları vardır. Hatta bu sorumluluklar zaman zaman klinik mikrobiyoloji uzmanının günlük mesaisi içinde daha çok yer tutabilir. Laboratuvar dışı sorumluluklar, çalışılan kurumun niteliği ve uzmanın ilgi alanlarına göre de değişebilir. Bu sorumluluklar aşağıda sıralanan gruplar içinde değerlendirilebilir:

  1. Kliniklerle İlgili Sorumluluklar:
  a. Konsültasyon; bunun için toplantılar ve diğer iletişim yolları da kullanılmalıdır (Tele- mikrobiyoloji kıtalararası konsültasyona olanak sağlar).
  b. Örnek alınışı ile ilgili hasta başı pratik eğitim
  c. Direkt mikroskopik incelemenin kültür sonucunu beklemeksizin birkaç saat içinde yorumlanması,
  d. Test sonuçlarının yorumu,

  2. İdari Sorumluluklar:
  a. Kurum içindeki laboratuvarların koordinasyonu,
  b. Komitelerdeki görevler; İKK (infeksiyon kontrol), AKK (antibiyotik kontrol), TK (transfüzyon), SDK (sterilizasyon-dezenfeksiyon), KKK (kalite koordinasyon), SK (satın alma)
  c. LİS ve HİS uygulamalarına katkıda bulunmak,
  d. Belirlenmiş programlar için prosedür, politika ve rehberlerin geliştirilmesini sağlamak,
  e. Kurum içi ve kurum dışı yazışmaları düzenlemek

f. Hastane yöneticilerine ve sağlıkla ilgili otoritelere, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının infeksiyonların tanısında olduğu kadar kontrolünde de önemli rolleri olduğunu anlatmak ve bu laboratuvarlarda maliyet etkin bir hizmeti optimize etmek için uzman hekimlerin çalıştırılması gereğine inandırmak.
g. Rektörlük, Dekanlık, Başhekimlik, Enstitü Müdürlüğü, Bölüm Başkanlığı, Anabili Dalı Başkanlığı, Eğitim Hastanesinde Şeflik ve bunların yardımcılığı gibi idari görevlerde bulunmak

3. Akademik ve araştırma:
a. Editörlük,
b. Diğer kurum ve kuruluşlarla iletişim ve işbirliği sağlamak,
c. Sanayi ile işbirliği (AR-GE); Yeni tesler geliştirmek. Sanayi ve kamu kurumlarına teknik danışmanlık hizmeti vermek ve projeler yürütmek. Uygulamada gereksinim duyulan konularda yönlendirici olmak. Bu şekilde klinik mikrobiyoloji laboratuvarları yalnızca kit tüketicisi olmaktan çıkarak, farmasötik ve tanısal mikrobiyoloji alanlarından ülke ekonomisine de katkı sağlayacaktır.
d. Aşı ve immunglobulinler gibi biyolojik ürünlerin üretim ve güvenilirlik testlerine katılmak.
e. Gıda, tarım, veya sanayi ürünlerinin mikrobiyolojik testleri ve analizlerini yapmak,
f. Araştırma projeleri yürütmek

4. Eğitim:
a. Klinik mikrobiyoloji uzmanlarının eğitimi; uzmanlık alanıyla ilgili eğitim programları için öneriler oluşturmak, planlar geliştirmek ve uygulamak
b. Laboratuvar teknisyenlerinin eğitimi; laboratuvardaki standart uygulamalar ve yeni test teknikleriyle ilgili personelin eğitimini koordine etmek
c. Lisans eğitimi (tıp fakültelerinde çalışanlar için)
d. Lisanüstü eğitim,
e. Seminer ve konferans gibi bilimsel toplantılar düzenlemek ve bu toplantılarda sunum yapmak

5. Gönüllü çalışmalar:
a. Uzmanlık Derneğinin çalışmalarına katılmak,
b. Sivil Toplum Kuruluşlarına danışmanlık yapmak
c. Yeterlilik (bord) sınavlarının gerçekleştirilmesine katkı sağlamak,
d. Uzmanlık alanının geleceği ile ilgili yasal düzenlemelere katkıda bulunmak,
e. Adli soruşturmalarda bilirkişi olmak

Kaynaklar

1. The Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Selected
2. Infectious Processes. JCM, Sept. 2011, p. S25 VOL. 49, NO. 9 SUPPL.
3. Clinical Microbiology in the 21st Century. A report from the American Academy of Microbiology
4. Michigan civil service commission. Job specification of Microbiologist specialist
5. Clinical Microbiology in the Year 2015. J Clin Microbiol, Sept. 2011, p. S61 VOL. 49, NO. 9 SUPPL.
6. The Business of Clinical Microbiology. J Clin Microbiol. Sept. 2011, p. S77 VOL. 49, NO. 9 SUPPL.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA KLİNİK BAKTERİYOLOJİ: SİNDİRİM SİSTEMİ

OLGU-1
DR. BETİGÜL ÖNGEN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul

Altı yaşındaki erkek hasta, son üç gündür geçmeyen bulantı, kas ağrısı, karın krampları ve ishal (günde 10-15 kere) şikayetiyle hastaneye götürülüyor. Hastanın öyküsünde ailesiyle beraber hafta sonu mangal yapmak üzere pikniğe gittiği, ailenin diğer bireylerinde herhangi bir şikayet olmadığı belirleniyor. Fizik muayenesinde ateş: 38.2 °C, nabız: 106/dakika, kan basıncı 95/65 mmHg olan hastada orta derecede dehidratasyon saptanıyor. Abdominal muayenede barsak seslerinin artması dışında diğer sistem muayenelerde herhangi bir bulguya rastlanmıyor. Kan sayımı ve biyokimyasal incelemeler için kan ve mikrobiyolojik incelemeler için dışkı örneği alınıyor. Dışkı mikroskobisinde lökosit saptanıyor. Hastanın patolojik laboratuvar bulguları: hemoglobin 11,8 g/dl, hematokrit % 32,7, lökosit 12,3 103/µl (nötrofil %: 82.4), sodyum 130 mmol/L, postasyum 3.3 mmol/L, klorür 95 mmol/L olarak saptanıyor. Şikayetleri ve klinik tablosu ile akut gastroenterit kabul edilen ve sıvı-elektrolit tedavisi başlanan hastanın ertesi gün şikayetlerinde gerileme olmaması üzerine hastaneye yatışı yapılıyor.

OLGU-2
DR.SEBAHAT AKSARAY
Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, İstanbul

Özel bir kutlama nedeniyle büyük bir ziyafet düzenlenir. Yemekler özel bir şirketten ısmarlanır. Açık büfe yemeklerden yiyen konuklardan bazıları yemekten yaklaşık 14 saat (9.5-95.5 saat) sonra ateş, karın ağrısı, kanlı ishal, kas ağrısı şikayetleri ile hastaneye başvurur. Hastalardan ve yemek şirketi çalışanlarından dışkı örnekleri alınır ve mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilir.

OLGU-3
DR. AYNUR KARADENİZLİ
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi , Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

29 yaşındaki kadın hasta, halsizlik, karın ağrısı ve kanlı diyare şikayeti ile hastaneye başvuruyor. İshal önce sulu, sonra kanlı ishale dönüşmüş ve günde 7-8 kez oluyormuş. Hastanın 2-3 gündür hafif ateşi varmış.
Luxemburg'tan 3 gün önce yurda dönen hasta, seyahati sırasında hamburger ya da deniz ürünleri yememiş. Hasta vejeteryanmış.

Hikayesinde;
Sistemik herhangi bir hastalığı yok.
Antibiyotik kullanımı yok.

Muayene bulguları
Ateş:37.7ºC, Nabız: 92/dk, TA: 120/80mmHg
Karın hassas, defans yok.

Yapılan işlemler:
Hastaya hemen damar yolu açılıp sıvı replasmanı yapılıyor.
Rutin tetkikler için kan örneği alınıyor.
Taze nativ preparat ve kültür için dışkı örneği alınıyor.

Patolojik Laboratuvar sonuçları:
Serum kreatinin: 4,2 mg/dl
BUN: 35,4 mg/dl
Hb: 9,2g/dl
Platelet 19 000/mm3
Retikülosit %5,4
Periferik yayma: Polikromazi, anizositoz ve şistosit saptanıyor.
Taze native preparat: Bol eritrosit ve lokosit var, parazite ait herhangi bir yapı görülmüyor.
Bu bulgular sonucunda hasta kliniğine yatırılıyor. ..

AŞI TEKNOLOJİSİNDE 3G
(Dendritik hücrelerin keşfi çalışmaları Nobel Ödülü ile taçlandırılan ancak 30 Eylül 2011'de kaybettiğimiz R. Steinman'ın anısına)

Murat ERTÜRK
Ati Teknoloji Hücre ve Gen Tedavileri Laboratuarı, Trabzon

Hastalıkların tedavisinde yüzyıllardır uygulanan ve vazgeçilebilmesi mümkün görülmeyen 'ilaç' ve 'cerrahi' yöntemler yanında, şimdilerde 'hücresel tedavi' adı verilen bir diğer tedavi yönteminin uygulandığına şahit olmaktayız. Yöntemin esasını 'bağışık yanıt' adını verdiğimiz sisteme ait hücresel elemanlar (dendritik hücre, kök hücre, T lenfosit, NK hücresi vb) veya destek doku hücrelerinin (kondrosit, fibroblast vb) vücut dışında, sorunu giderecek şekilde yeniden programlanması/eğitilmesi ve tekrar kişiye verilmesi teşkil etmektedir.
Bu yazıda amaçlanan; okuyucuyu hücresel tedavi yöntemin rasyonalitesi, hücre kaynakları, ürün imalat yöntemleri ve üretim şartları, özelde de aşı tasarımında yeni paradigma hususunda bilgilendirmektedir.

Neden 'hücresel tedavi'?

Yaşam boyunca organizmanın tüm parçaları ve elemanlarının bir harmoni içerisinde çalışmasını organize eden 'bağışık yanıt' ve hormonal sistem sayısız kereler tehdit unsurları (enfeksiyon, kanserojenler vb) ile karşılaşmakta ve çoğunlukla da tehditleri önlemeyebilmekte veya hasıl olan hasarı başarı ile tamir edebilmektedir. Tehdit unsurlarının özellikle mikroorganizmalar açısından insan organizmasında yaşam hakkı (!) bulabilme çabası bitmek tükenmek bilmeyen bir mücadele örneğidir ve kimi zaman başarılı olabilmektedir. Başarı, çoğunlukla 'bağışık yanıt sistemi'nin baskılanması, amiyane tabirle 'uyutulması' ile elde edilmektedir. Mutasyonlar ve bunlara neden olan çevresel etkenler, tehdit unsurlarının moleküler benzerlikler geliştirebilme becerileri gibi birçok açıklamalarla gerekçelendirilebilecek bu durumun organizmada sebep olduğu hâl 'hastalık'dır ki hücresel elemanların işlevsizleştirilmesi neticesinde gelişmiş ise, geleneksel tedavi yöntemlerinin başarısı şansı hemen hemen hiç yoktur.
İşte tam burada, bilim insanlarının ilk akıl yürütmesi, organizmaya teorik olarak hemen her türden hücreye dönüşme potansiyeli olan 'kök hücre' verilebileceği veya işlevsizleştirilen hücre türünün örneklerinin laboratuarda sayıca çoğaltılarak veya yeniden programlandıktan sonra veya tehdit unsuruna karşı eğitilerek tekrar organizmaya geri verilebileceği olmuştur. Diğer taraftan, bağışık yanıt sistemi veya destek doku hücrelerinin tamir yeteneğini aşan travmatik hasar olguları her ne kadar organik veya inorganik implant tekniklerinden fayda görse de, doğal hücrenin gücünün sınırlarını burada da zorlamak akılcı bir yol olarak görülmüştür.
Neticede, deneysel çalışmalar ve potansiyeli sınırsız ve fakat şimdilik iki tarafı keskin bıçak olarak kabul edilen 'embriyonik kök hücreler' bir tarafa bırakılırsa 'erişkin kök hücresi' adı verilen 'mezenkimal kök hücreler' (yeni isimlendirme ile 'mezenkimal stromal hücreler'), diğer taraftan da dendritik hücreler veya destek dokusu hücreleri (fibroblast, kondrosit vb) geleneksel tedavinin yetersiz kaldığı olgularda bir tedavi seçeneği olarak geliştirilmiştir. Uygulandığı olgu türleri her geçen gün artan (Tablo 1) bu yeni yönteme akut miyokard enfarktüsünde enfarkt alanına kalp kası hücresine dönüşebilen mezenkimal hücre enjeksiyonu, özellikle yüz bölgesinde şekillenen kırışıklık hattı içerisine kollajen sentez yeteneği güçlendirilmiş fibroblast enjeksiyonu veya tümör hücre proteinleri ile laboratuar ortamında tanıştırılmış antijen sunan 'dendritik hücreler'in (DH) etkin sitotoksik hücre yanıtını artırmak amacıyla kanser/virus aşısı olarak uygulanması; hasar gören eklem kıkırdak alanının in vitro yetiştirilen kondrositlerle tek başına veya dokumsu maddelerle birlikte verilerek tamiri bunlara birer örnek olarak verilebilir (Tablo 1).

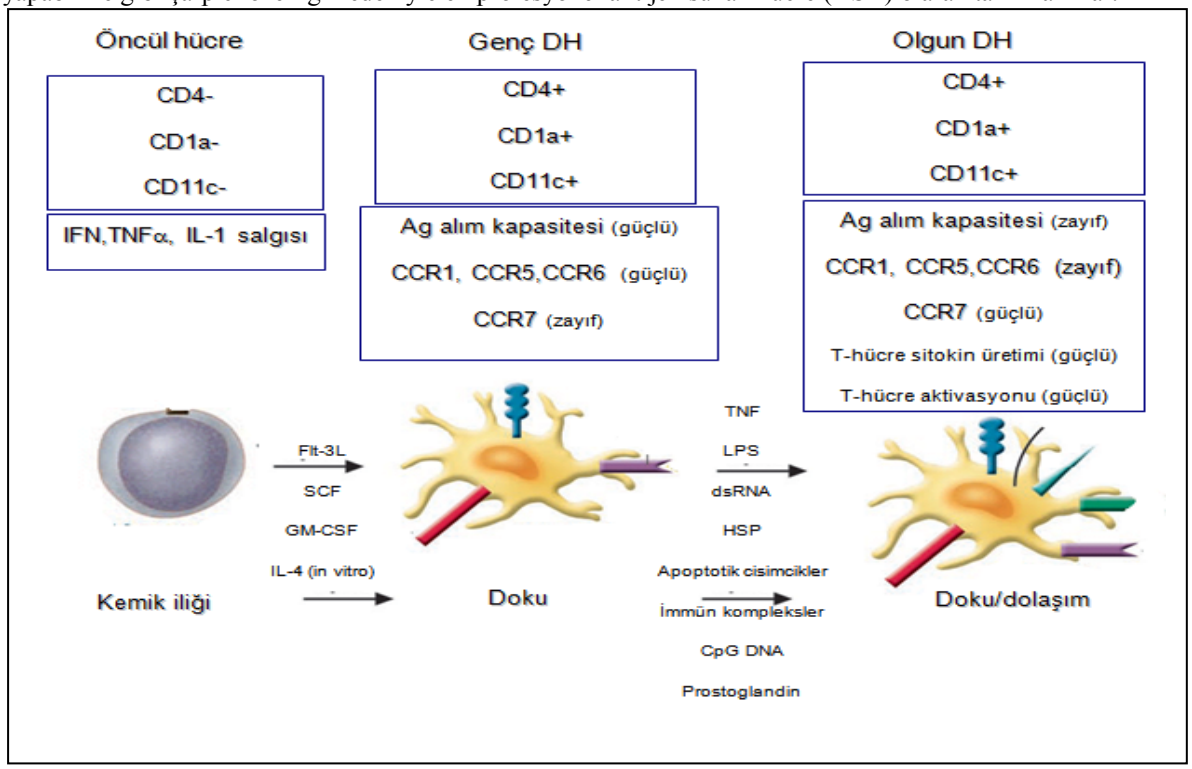
Tablo 1. Hücresel tedavi uygulamalarına örnekler

Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi	Dendritik Hücre Tedavisi	Destek Hücre Tedavisi
• Akut Miyokard Enfarktüsü • Graft Versus Host Hastalığı (GVH) • Burger Hastalığı • Crohn Hastalığı • Parkinson, MS, ALS • Spinal Cord Yaralanmaları	• Renal Cell Carcinoma • Multiple Myeloma • Maling Melanoma • Glioblastomalar • Viral aşılar	• Yüz kırışıklıkları (Fibroblast enjeksiyonu) • Kartilaj defektleri (Kondrosit implantasyonu)

Aşı tasarımında hücresel tedavinin yeri

Yukarıda özetlenen ve hücresel tedavinin muhtemel veya hâlihazırda kullanım seçenekleri arasında geçen ve dendritik hücrelerle tedavinin aşı tasarımı bağlamındaki yerini irdelemek bu yazının esas konusunu teşkil edecektir.
Dendritik hücreler (DH) T hücre uyarıcısı bağlamında bilinen en güçlü profesyonel antijen sunan (ASH) hücrelerdir; özelde konak dışı antijenik yapılara karşı bağışık yanıt oluşturmada önemli bir konuma sahiptirler. Bugün Langerhans Hücresi olarak bildiğimiz bir DH tipinin keşfi 19. yüzyıla gitmekle beraber, DH terimi ilk kez 1973 de kullanılmıştır (Steinman ve Cohn 1973). Yüzeyinde dışa doğru çıkıntılara (dendrites) sahip bu hücrelerin varlığı önce dalakta daha sonra tüm lenfoid system ve çoğu lenfoid dışı sistemlerde de gösterilmiş; morfolojik betimleme çalışmalarını takiben DH'lerin antijen sunma özellikleri ortaya konmuştur. DH'ler, diğer birçok kan hücresi gibi kemik iliği kök hücrelerinden neşet eder ve öncülleri (progenitor pDH) kan yoluyla periferal dokulara göçer. Yerleştikleri yere göre alt tiplere ayrılırlar (örneğin Langerhans, intertitial (doku), kan, interdigitating, timus ve foliküler dendritik hücreler).
DH'leri diğer hücrelerden ayıran (örneğin B lenfositlerin CD19'u veya NK hücrelerin CD56'sı gibi) özel bir belirteçleri bulunmamaktadır. Antijenik uyarım öncesi ve sonrasında (fonksiyonel özellik kazanma süreci ile ilgili olarak) DH'ler i) öncül (progenitor), ii) genç (immature) ve iii) olgun (mature) şeklinde gelişme sahalarına göre

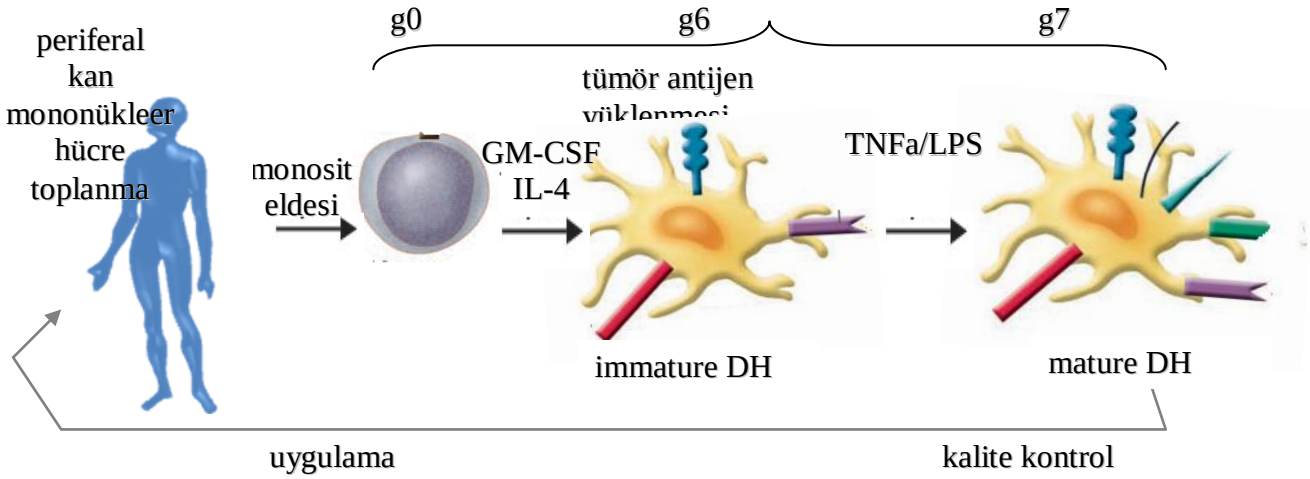
yüzeylerinde ayırt edici yardımcı uyarıcı (co-stimulator) protein bulundurmaları (expression) söz konusu olmakla birlikte, genel olarak sadece linage negatif, HLA-DR pozitif hücre oldukları söylenebilir (Şekil 1). Diğer taraftan, bağışık yanıt sürecinde sağladıkları katkı bağlamında CD11c, CD123, Langerin ve Toll-like reseptör (TLR) bulundurma düzeylerine göre iki alt tipi tanımlanabilmektedir: myeloid (DH1) ve plasmacytoid (DH2) dendritik hücreler. DH1 ve DH2 ayrımı, daha çok özgün bir bağışık yanıt oluşturma bağlamında, myeloid veya lenfoid kökenli öncüllerin (pDH1 ve pDH2) Th hücre uyarıcısı olarak salgıladıkları sitokin türüne (IL-12 veya INF) göre yapılmaktadır. Bu anlamda DH1'ler Th1 DH2'ler ise Th2 yanıt oluşturucu olarak bilinirler (Rissoan et al. 1999).
Yüzeylerinde farklı protein oluşturma ve farklı uyarılara göre değişken bağışık yanıta yol açma özellikleri ile DH'ler, üç farklı işlev görürler: (i) antijen sunumu ve T hücre aktivasyonu, (ii) tolerans oluşturma ve (iii) foliküler tip DH olarak B lenfositlerle işbirliği içinde bağışık yanıt hafızası sağlamak.
Konumuzla ilgili olarak bahsedeceğimiz işlev T hücre aktivasyonuna yol açan özellikleri olacaktır. Klasik anlayışa göre DH'ler periferde antijenleri fagosite eder, parçalama işlemi ve sitokin etkisiyle olgunlaşarak lenfoid folüküllerde antijene ait peptid fragmanlarını CD4+ ve CD8+ T hücrelere sunar. DH'ler, naif T hücrelere sunuş yapabilme gibi çarpıcı özelliği nedeniyle en profesyonel antijen sunan hücre (ASH) olarak tanımlanırlar.



Şekil 1. Dendritik hücre gelişimi sürecinde değişik sinyallere göre farklı yüzey molekül oluşturma safhaları (Stockwin 2004 ve Gilboa 2007'den uyarlanmıştır).
T lenfositler hücre membranlarındaki T hücre reseptörleri (TCR) ile DH üzerindeki MHC moleküllerine bağlı olarak sunulan antijen fragmentlerini tanırlar. Peptid bağlayan proteinler; i) sitotoksik T lenfositlerle (CTL) etkileşen ve uyaran MHC klas I ve ii) Th hücrelerle etkileşen ve uyaran MHC klas II moleküller olmak üzere iki tiptir. Dendritik hücreler mikroorganizmaları içlerine aldıklarında sitozollerinde mikroorganizmayı yapı taşlarına kadar ayrıştırarak kimi antijenlerini (Ag) peptidler halinde MHC molekülleri ile birleştirirler ve hücre membranında MHC+Ag kompleksi olarak T hücrelerine sunarlar. MHC-I ile kompleks halinde sunulan antijenler CTL'ler tarafından tanınır ve neticede her bir spesifik Ag ile uyarılmış bir seri farklı farklı CTL klonları gelişir. Spesifik CTL'ler oluşmalarına neden olan antijeni bulunduran konak doku/hücrelerle (örneğin virusla enfekte hücre, tümör hücresi) karşılaştıklarında doku/hücreyi parçalarlar. Diğer taraftan, antijenlerin MHC-II molekülleri ile sunulduğu durumlarda etkinleştirilen hücre tipi T-helper hücrelerdir ve aktive edildiklerinde bağışık yanıtın düzenlenmesinde etkin rol oynayan bir yanıt türü gelişir. MHC yanında, şüphesiz tüm bu T hücre uyarım safhasında önem arz eden bir diğer özellik yardımcı uyarıcı (örneğin CD40, CD 86 gibi) moleküllerin DH/T hücre etkileşmesindeki rolüdür (Banchereau ve Steinman 1998)
Savunma bağlamında başta hücre içi mikroorganizmalar olmak üzere hemen tüm enfeksiyon etkenlerine karşı özel CTL ve immünglobulin yanıt oluşturma mekanizmasının temelini oluşturan yukarıdaki süreç yanında DH'ler ayrıca bazı enfeksiyon hastalıklar, alerji, otoimmün hastalıklar, transplantasyon ve kanser olgularında da önemli rol oynarlar. Bu rol kimi zaman 'etkin olamama' kimi zaman hastalığın gelişmesi ve şiddetinin artırılması şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Örneğin: HIV DH içerisinde latent kalabilmekte, bu şekilde DH trafik yolunu kullanarak CD4+ T lenfosit enfeksiyonunu daha da olanaklı kılacak lenfoid dokulara ulaşabilmektedir (Mauser et al.1998); HSV, EBV ve CMV DH'lerin etkin bir CTL yanıt oluşturmasını engellemekte; hatta Histoplasma, Leischmania ve

Mycobacterium'un DH'lerin Th1 yönlendirici sitokin salınımını engellediği, Salmonella'ların HIV gibi DH içerisinde yaşayabildiği ve böylece mukozal alan dışına geçebildikleri bildirilmektedir (Marriot et al.1999). Kanser olgularında da benzer bir durum söz konusudur: Kanser hücrelerinin tanınması ve ortadan kaldırılmasında CTL önemli bir bağışık sistem yanıtıdır; T hücre uyarımı için profesyonel ASH olarak DH'lerin işlevi burada da önemlidir ve birçok kanser olgularında DH'lerin kanser dokularına yoğun olarak infiltre olması ile metastazların önlenmesi/sağ kalım arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Zeid ve Muller.1993). Bunun yanında, çoğu tümörlerin antijen sunumunu olumsuz etkileyecek şekilde bağışık yanıtı baskılayıcı yolakları harekete geçirdiği de bilinmektedir: örneğin in vitro şartlarda renal cell carcinom hücrelerin salgıladığı faktörlerin CD34+ öncül hücrelerden DH oluşmasını engellediği gösterilmiş, bu faktörlerin daha sonra IL-6 ve M-CSF olduğu belirlenmiştir (Stockwin et al. 2000).

Gerek konak savunmasındaki bağışık yanıtı yönlendirici (yukarıda belirtildiği gibi olumlu veya olumsuz) özellikleri gerekse anti-kanser yanıt oluşturmada anahtar rol oynamaları nedeniyle, DH'lerin en çok da kansere karşı (deneysel ve klinik olarak) kullanılabilme potansiyelleri uzun zamandır çalışılmaktadır (Volker et al. 2004). Burada temel yaklaşım, kanser olgularında bir şekilde etkisiz kalan DH'ler yerine in vitro şartlarda oluşturulan ve tümör antijenleri ile yüklenmiş DH'lerin özgün CTL yanıt oluşturma beklentisi ile hastalara tekrar verilmesidir. Bu maksatla da sırası ile DH oluşturulması, antijen yüklenmesi ve olgunlaştırma aşamalarının her birinin kontrollü şartlarda gerçekleştirilmesi ve daha sonra hastaya verilmesi gerekmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Dendritik hücre aşısı hazırlama safhaları.

DH elde edilmesi

DH'ler çeşitli sitokin desteğiyle CD34+ hücreler ile periferal kan monositler veya neoplastik haematopoietik hücrelerden elde edilebilmektedir.

1. CD34 pozitif öncül hücre kaynaklı DH eldesi: Kemik iliği, kordon kanı veya G-CSF ile mobilize edilmiş periferal kandan aferez ile toplanan CD34+ hücrelerin in vitro kültür ortamında Flt3L, GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-3 ve IL-6 gibi sitokinlerle muamelesiyle elde edilebilmektedir.
2. Monosit kökenli DH eldesi: En yaygın olarak kullanılan bu yöntemde periferal kan mononükleer hücreler arasından CD14+ monositler önce plastik yüzeye yapışmaları özellikleri ile diğer hücrelerden ayırt edilir; monositler daha sonra GM-CSF ve IL-4 varlığında immature DH'lere dönüştürülür .
3. Neoplastik hematopoietik hücrelerden DH eldesi: Burada da CD34+ hematopoietik neoplastik hücreler TNF-a ve CD40 ile birlikte GM-CSF, IL–4 ile DH'lere dönüştürülür.

DH'lerin antijenle yüklenmesi

İn vitro şartlarda elde edilen ve idame ettirilen DH'ler CD11c+, MHC-I/II+ ve CD40, 80 ve 86 yardımcı uyarıcı protein düzeyi düşük immature (iDH) ve antijen alım düzeyi en yüksek olan hücre durumundadırlar. iDH'ler reseptör-yönetimli endositoz, makropinositoz veya fagositoz yolu ile ortama eklenen antijenik yapıları kabul edebilirler; alış mekanizmalarının hangisinin uygulanacağı genellikle antijenin doğası ile ilgilidir. DH'lerin anti-kanser özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda çok değişik türden tümör antijen yüklemeleri denenmektedir: Bunlar arasında tümör spesifik peptidler, tüm protein, tüm tümör lizatı ve tümör kaynaklı exomlar, DNA veya RNA'lar sayılabilir (Zhou et al 2002).

DH'lerin olgunlaştırılması

Antijen yüklenmiş DH'lerin uygulama öncesinde verildikleri yerden lenfoid dokulara göç ve T hücre aktivasyon sağlayıcı özellik kazandırılmış olarak verilmesi düşüncesiyle, antijen yüklü DH'ler kültür ortamında CD40L, TNFα, PGE2, IL-6, IL-1β, IFN γ veya kalsiyum ionophor gibi ajanlardan hazırlanan değişik kokteyllerle inkübe edilirler.

Olgunlaştırma olarak adlandırılan bu safhada kısa sürede CD40, CD80 ve CD86'yı oldukça yüksek düzeyde bulunduran olgun DH'ler elde edilmiş olur (Gilboa 2007).

DH'lerin uygulanması

Optimal doz, sıklığı ve veriliş yolu araştırmadan araştırmaya büyük farklılıklar arz etmektedir. Birden fazla enjeksiyonların yapıldığı uygulamalarda 1 ila 25 milyon hücre verildiği görülmektedir ((Volker et al. 2004).

Sadece otolog kullanımı mümkün olan ve 'tümör antijen yüklenmiş DH aşısı' veya genel olarak 'DH-tabanlı immünoterapi' olarak isimlendirilen bu yaklaşımın deneysel hayvan çalışmalarında ve bazı kanser hastalarında yarar sağladığı gösterilmiş; halen birçok faz 1/2 ve 3 çalışmaları devam etmektedir (Volker et al. 2004; Gilboa 2007).

DH aşılarının Enfeksiyon Hastalıklarda Uygulanması

Özellikle anti-kanser çalışmalarda elde edilen bulgulara dayanarak DH'lerin in vitro şartlarda mikroorganizmalara karşı konak savunmasını güçlendirici veya daha çok kronik tabiatlı mevcut bir enfeksiyonları tedavi edici özellik kazandırılarak; özellikle HBV, HCV hepatitleri, papilloma veya kronik CMV gibi enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür (Ludewing et al. 1998). Enfeksiyon etkenlerine karşı DH aşısı örneği, ilk kez 1997 yılında Mbow ve arkadaşları tarafından, kenelerle bulaşan spiroketlere karşı uygulanmış olup deney hayvanlarında Borrelia burgdorferi yüklenmiş DH'lerle spesifik koruyucu bağışık yanıt oluşturulduğu bildirilmiştir (Mbow et al. 1997)

Ludewig ve ark. tarafından **LCMV** (lymphocytic choriomeningitis virus) spefisifik peptidlerle yüklenen DH'lerle farelerde, peptid-yüklü DH aşısının çok kısa bir sürede (2 gün) gelişen güçlü ve uzun (>60 gün) süreli bir antiviral yanıt oluşturulduğu bildirilmiştir (Ludewig et al. 1998). Takip eden deneysel modellerde **influenza** virus (Lopez et al. 2000;) ve **HSV-2** proteinleri ile yüklenmiş DH aşılarının (Schon et al. 2001) spesifik T hücre ve koruyucu yanıt oluşturdukları gösterilmiştir.

ilk kez 2004 yılında Lu ve ark. tarafından kronik **HIV enfeksiyonunda** DH aşısı insanlarda uygulanmış; emniyet açısından kayda değer sorunun saptanmadığı klinik çalışmada çoğu hastalarda güçlü bir T hücre yanıtı oluştuğu ayrıca viral yükde düşüş sağlandığını bildirilmiştir (Lu et al. 2004). Bu çalışmanın akabinde iki farklı grup araştırmacı tarafından biri HIVgag peptidleri ile diğerinde ısı ile inaktive virus yüklenerek hazırlanmış DH'ler, HAART tedavisi altında olan hastalara uygulanmıştır (Garcia et al. 2005;Ide et al. 2006;). DH aşılarının iyi tolere edildiği ve sadece hafif lokal ve genel semptomlara yol açtığı belirtilmiştir. HIVgag peptid yüklü DH aşısının HAART kullanılan hastalarda viral reboundu baskılamada yetersiz kalsa da spefifik yanıt oluşturulduğu (Ide et al 2006), ısı ile inaktive virusun DH yüklenmesinde kullanıldığı çalışmada ise spesifik hücresel yanıtın zayıf ve geçici olduğu bildirilmiştir (Garcia et. al 2005). Son olarak çok yakın zamanda HIV-1gag, env ve pol peptidleri ile yüklenmiş bir DH' aşısının HIV-1+ hastalarda faz 1 çalışması şeklinde uygulandığı; aşının iyi tolere edildiği ve ayrıca kısa sürede HIV spesifik IFNg+ lenfosit yanıtının oluştuğu bildirilmiştir (Connoly et al. 2007).

Enfekte kişilerde DH olgunlaşması ve fonksiyonlarının engellenildiğinin çoğu kez ileri sürüldüğü **HCV hepatitinde**, CD4+ Th lenfositlerin yetersiz uyarısı sebebiyle HCV spesifik CTL yanıtının yetersizliği söz konusudur. Nitekim IFN'ye kalıcı yanıt veren hastalarda HCV core-spesifik Th öncüllerin kalıcı veya hiç yanıt vermeyenlere göre daha fazla oluştuğu gösterilmiştir (Lasarte et al. 1998). Bu sebeple, HCV proteinleri ile yüklenmiş DH aşılar kullanarak HCV spesifik hücresel yanıt oluşturulabileceği ileri sürülmektedir (Gowans et al. 2004). Bu görüşü destekleyici ilk veriler çıkmaya başlamıştır; yakın zamanda bildirilen bir çalışmada, örneğin rekombinant HCV core protein ve peptidleri ile yüklenmiş DH'lerin kullanıldığı bir çalışmada güçlü bir humoral ve hücresel yanıt elde edilmiş (Encke et al. 2005) bir diğerinde HCV NS3 protein geni taşıyan adenovirus ile transfekte DH'lerin farklı fare türlerinde CD4 Th1 ve CD8 T hücre yanıtı oluşturulduğu gösterilmiştir (Zabelata et al.2007).

Kronik **hepatitis B virus** enfeksiyonunda da klinik yanıt açısından HCV'ye benzer bir durum söz konusudur ve HBV persistansından yetersiz spesifik hücresel yanıt sorumlu tutulmakta; DH'lerin virusla enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen DH disfonksiyonunun T ve B lenfosit yanıtsızlığına neden olduğu ileri sürülmektedir (Beckebaum et al. 2003; Tavakoli et al. 2004 Molen et al. 2004). Hepatitis B Virus yüzey antijeni (HBsAg) ile yüklenmiş otolog DH'lerle sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan faz 1/2 iyi klinik çalışmalarda DH aşısısının güvenli bir uygulama olduğu bazılarında anti-HBs geliştiği bildirilmiştir (Akbar 2004). Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda HBsAg ile yüklenmiş DH'lerin kullanıldığı bir diğer çalışmada, DH aşının HBV replikasyonunu baskıladığı, serum viral yükü azalttığı, HBe-Ag'nin kaybolması ve anti-HBe gelişimini sağladığı bildirilmiştir (Chen et al. 2005). Duan ve ark. kronik hepatit B hastalarında yetersiz DH aktivitesinin, HBcAg ve HBsAg yüklenmiş DH aşısı ile yeniden kazandırılabileceğini; uygulama ile otolog T lenfosit proliferasyon ve antijen spesifik IFNg üretiminin artırılabildiğini göstermişlerdir (Duan et al. 2006). Yakın zamanda da, HBV kaynaklı karaciğer kanserli hastalardan elde edilen DH'lerin HBcAg ve HBsAg ile yüklenmesi durumunda, DH'lerin güçlü bir yardımcı uyarıcı molekül (CD40, 80, 86) sentezi gösterdikleri, in vitro testlerde otolog T hücre proliferasyon ve IFN salınımını yine güçlü bir şekilde uyardıkları; dolayısıyla DH aşısının HBV kaynaklı karaciğer kanser hastaları için yeni bir tedavi yöntemi olabileceği bildirilmektedir (Shi et al. 2006).

Antijen yüklü DH aşılarının ilk kez **bakteriyel enfeksiyon** modellerinde uygulandığı yukarıda belirtilmişti. 1997'de kenelerle bulaşan spiroketlere karşı deney hayvanlarında Borrelia burgdorferi yüklenmiş DH'lerle spesifik koruyucu bağışık yanıt oluşturma çalışmasından sonra çok fazla olmamakla beraber , DH aşı modelinin C.trachomatis (Sue et al., 1998) ve M. tuberculosis (Demangel et al.ç 1998; Nakano et al.ç 2006) deneysel modellerde kullanıldığı, her iki çalışmada da spesifik ve koruyucu bağışık yanıt oluşturulduğu görülmektedir. Diğer taraftan DH aşılarının deneysel

parazit (Flohe et al. 1998; Berberich et al. 2003; Remer et al. 2007; Beauvilliain et al 2007) ve deneysel **mantar enfeksiyon** modellerinde de (Bozza et al. 2004) başarılı bir şekilde uygulandığı bildirilmektedir.

Sonuç

Antijen yüklü DH aşı yönteminin daha çok kanserle ilgili olarak kullanılma potansiyeli araştırılmakta, yüzlerce faz 1-3 çalışması yürütülmektedir. FDA ve Avrupa Topluluğu yasal organları tarafından 'DH-tabanlı immünoterapi' klavuzları dahi yayınlamaktadır. Diğer taraftan, DH'lerin enfeksiyon hastalıklarındaki rolünün daha da iyi anlaşılmasına paralel olarak, deneysel ve klinik şartlarda antijen yüklü DH aşıların özellikle kronik viral enfeksiyonlar için de hızla değerlendirildiğini görmekteyiz.

Kanser immunoterapisinde tartışılan DH aşı yöntemi sorunlarının enfeksiyon hastalıkları içinde geçerli olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda; en uygun DH kaynağının seçimi, en uygun antijenlerin belirlenmesi ve uygun şekilde DH'lere yüklemesi, antijen yüklü DH'lerin en uygun şekilde, hangi sayıda ve hangi yoldan enjekte edilmesi gerektiği gibi temel konuların kapsamlı bir şekilde çalışılmasına ihtiyaç vardır. Diğer taraftan deneysel çalışmalarda sorun teşkil etmemekle beraber, klinik uygulamalar için hazırlanan DH'lerin yasal mevzuata göre Good Manufacturing Practice (GMP) şartlarında hazırlanmış olmaları gereği de unutulmamalıdır.

Kaynaklar

1. Akbar F et al. Safety and efficacy of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in human volunteers Hepatology Research 2004: 29; 136–141
2. Banchereau, J., Steinman, R.M., 1998. Dendritic cells and the control of immunity. Nature 392, 245–252.
3. Beauvilliain et al. A vaccine based on exosomes secreted by a dendritic cell line confers protection against T. gondii infection in syngeneic and allogeneic mice. Microbes and Infection 2007;1-9 (in print)
4. Beckebaum et al. Hepatitis B virus-induced defect of monocyte-derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape. Immunology. 2003:109;487-495.
5. Berberich et al. Dendritic cell (DC)- based protection against an intracellular pathogen is dependent upon DC-derived IL-12 and can be induced by molecularly defined antigens. J. Immunol. 2003:170; 3171–3179.
6. Bozza et al. Dendritic cell-based vaccination against opportunistic fungi. Vaccine.2004:22; 857–864
7. Chen et al. Therapeutic effect of autologous dendritic cell vaccine on patients with chronic hepatitis B: A clinical study. World J Gastroenterol 2005;11:1806-1108
8. Connoly et al. Therapeutic immunization with HIV-1 peptide-loaded dendritic cells is safe and immunogenic in HIV-1-infected individuals. Clin Vaccine Immunol. 2007 Oct 17; EOP
9. Duan et al. Restoration in vitro of impaired T-cell responses in patients with chronic hepatitis B by autologous dendritic cells loaded with hepatitis B virus proteins (R2). Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2006:21; 970–976
10. Encke et al. Prophylactic and therapeutic vaccination with dendritic cells against hepatitis C virus infection Clin and Exp Immunol. 2005:142: 362–69
11. Flohé, S. B., Bauer, C., Flohé, S., Moll, H.: Antigen-pulsed epidermal Langerhans cells protect susceptible mice from infection with the intracellular parasite Leishmania major. Eur. J. Immunol. 1998:28; 3800–3811
12. Garcia et al. Therapeutic immunization with dendritic cells loaded with heat-inactivated Autologous HIV-1 in patients with chronic HIV-1 Infection. J Infec Dis 2005; 191:1680–5
13. Gilboa E. DC based cancer vaccines. J. Clin. Invest. 2007:117;1195–1203
14. Gowans et al. Prospects for dendritic cell vaccination in persistent infection with hepatitis C virus. J Clin Virol 2004:30; 283–90
15. Ide et al. Peptide-loaded dendritic-cell vaccination followed by treatment interruption for chronic HIV-1 infection: a phase 1 trial.. J. Med Virol. 2006;78:711-8
16. Lasarte et al. Cellular immunity to hepatitis C virus core protein and the response to interferon in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 1998;28:815–22
17. Lopez et al. A mouse model for immunization with ex vivo virus-infected dendritic cells. Cell. Immunol. 2000; 206:107–15
18. Lu et al. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection. Nat. Med.2004; 10:1359–1365
19. Ludewig et al. Dendritic cells efficiently induce protective antiviral immunity J Virol. 1998: 72;: 3812-3818
20. Mauser et al. Dendritic cells route Human immunodeficiency virus to lymp nodes after vaginal or intravenous administration to mice. J. Virol.1998; 72:7822-7829
21. Marriot et al. Salmonella efficiently enter and survive within cultured CD11c+ dendritic cells initiating cytokine expression. Eur. J. Immunol 1999; 29: 1107-1115
22. Mbow et al. Borrelia burgdorferi-pulsed dendritic cells induce a protective immune response against tick-transmitted spirochetes. Infect. Immun. 1997; 65: 3386–3390
23. Molen et al. Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic Cells of patients with chronic hepatitis B. Hepatology 2004;40:738 –746
24. Remer et al. Vaccination with plasmacytoid dendritic cells induces protection against infection with Leishmania major in mice. Eur. J. Immunol.,2003; 37; 2463-2473
25. Rissoan et al. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. Science 1999;283:1183–116.

26. Schon et al. Dendritic cell vaccination protects mice against lethality caused by genital herpes simplex virus type 2 infection. J. Reprod. Immunol.2001: 50;87–04
27. Shi et al. Hepatitis B virus (HBV) antigen-pulsed monocyte-derived dendritic cells from HBV-associated hepatocellular carcinoma patients significantly enhance specific T cell responses in vitro. Clinical and Experimental Immunology. 2006:147; 277–286
28. Steinman RM and Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. J Exp Med. 1973:37;1142-1162.
29. Stockwin et al. Dendritic cells: Immunological sentinels with central role in health and disease. Immunology and Cell Biology 2000; 78; 91-102
30. Tavakoli et al. Phenotype and function of monocyte derived dendritic cells in chronic hepatitis B virus infection. J Gen Virol 2004: 85; 2829–2836
31. Volker et al. Dendritic cells in vaccination therapies of human malignant disease. Blood Reviews (2004) 18, 235–243
32. Zabelata et al. Vaccination against hepatitis C virus with dendritic cells transduced with an adenovirus encoding NS3 Protein. Mol Ther. 2007 EOP
33. Zeid and Muller. S100 positive dendritic cells in Human lung tumors associated with cell differentiation and enhanced survival. Pathology 1993; 25: 338-43
34. Zhou et al. Current Methods for Loading Dendritic Cells With Tumor Antigen for the Induction of Antitumor Immunity. Journal of Immunotherapy 2002: 25;289–303

Selim BADUR
İstanbul Tıp Fakültesi, Viroloji ve Temel İmmünoloji BD, İstanbul

Tıp tarihindeki önemli gelişmelere bakıldığında, 20. yüzyılın kazanımları listesinin ilk sırasında aşılar konusunun geldiğini söylemek abartılı bir yaklaşım olmaz. Nitekim Jenner ve Pasteur'ün öncülük ettikleri "izole et, inaktive et ve aşıla" şeklinde özetlenecek uygulama sonucu, geçtiğimiz yıllarda aşı ile önlenebilen bulaşıcı hastalıkların morbidite ve mortalite oranlarında önemli düşüşler kaydedilmiş; bazılarının dünyadan (çiçek örneğindeki gibi), bazılarının ise belirli bir bölgeden (Dünya sağlık Örgütü-Avrupa bölgesinden polio örneğindeki gibi) eradikasyonu gerçekleştirilmiştir. Ancak devrim niteliğindeki bu gelişmelere karşın, ekonomik olanaksızlıklar nedeniyle her yıl dünyada altı aydan küçük yaklaşık 4 milyon çocuğun yaşamını yitirdiğini, diğer bir tanımlamayla aşıya erişim olanağı bulamadıkları için saatte 450 çocuğun kaybedildiğini biliyoruz (1). 21.yüzyıla girdiğimizde, bir yandan ekonomik nedenlere bağlı bu olumsuz tablonun değiştirilmesine çalışıldığını; öte yandan klasik etkenlere karşı daha etkili aşılama yaklaşımlarına paralel olarak, kronik ve bulaşıcı olmayan hastalıklarla (örneğin kanser, diyabet, mültipl skleroz, ateroskleroz ve Alzheimer hastalığına ya da ilaç bağımlılığına karşı) bağışıklama ile tedavi ve mücadele yöntemlerinin araştırıldığını görmekteyiz (2).

Bu yazıda klasik anlamda aşıların immünolojik özellikleri, konu ile ilgili yeni gelişmeler ve evrensel anlamda bağışıklama işlemlerini olumsuz yönde etkileyen aşı-karşıtı söylevler irdelenmiştir.

Farklı yapıdaki aşı antijenlerine karşı antikor yanıtı:

Antikor üretecek B hücrelerinin aktivasyonu, ana hatlarıyla iki farklı biçimde gerçekleşmektedir. Protein yapısındaki antijenler söz konusu ise B ve Th hücrelerinin aktive olmaları; B lenfositlerinin ikincil lenfoid organların germinal merkezlerinde (GM) çoğalmaları ve antikor üreten plazma hücreleri ile bellekli B hücrelerine farklılaşmaları gerçekleşir. Polisakkarid yapıdaki antijenler ise T hücreleri uyarmaksızın, GM dışında daha kısa süreli ve daha düşük titrede antikor yanıtına yol açarlar; ayrıca bu modelde bellek özelliğinin sağlanması söz konusu değildir (3).

- Protein yapısındaki aşılara karşı timus bağımlı (TD) özellikte yanıt: Bu tip bir uyarı, hem ekstrafoliküler alanda, hem de GM'lerde gerçekleşir**.** Kemik iliğinden kaynaklanan B hücreleri karşılaştıkları antijeni IgM yapısındaki yüzey reseptörleri aracılığı ile yakalarlar; antijenin bağlanması sonucu uyarılan B lenfositi aktive olur ve yüzeyindeki kemokin reseptörü (CCR7) sayısı artar. Bu reseptör, aktive hücrenin ikincil lenfoid dokulardaki T hücre bölgelerine doğru yönlenmesinde rol oynar. Burada antijene özgü B hücresi, uyarı aldıkları için B' lerin gereksinimi olan aktivasyon sinyallerini gönderecek dendritik hücreler (DH) ve T hücreleri ile ilişki kurar. Sonuçta B hücrelerinin, düşük afiniteye sahip antikor sentezleyecek **kısa ömürlü plazma hücrelerine** dönüşümleri gerçekleşir: ekstrafoliküler reaksiyon (4).

Immünoglobülin (Ig) izotip dönüşümü (IgM'ler den IgG, IgA veya IgE'ye dönüşüm), aktivasyonu uyaran deaminaz enziminin (activation-induced deaminidase enzyme; AID) etkisi ile B hücre farklılaşması aşamasında gerçekleşir. Ekstrafoliküler alanda

gerçekleşen bu dönüşümde Th1 ve Th2 tipi $CD4^+$ hücrelerin katkısı vardır ve CD40L'leri ile B hücrelerinin CD40 yüzey moleküllerinin etkileşimi farklı izotip ve alt sınıftan Ig'lerin üretimini sağlar.

Ekstrafoliküler reaksiyon süratle gelişen bir olaydır ve bağışıklamayı izleyen birkaç gün içinde IgM'ler ile az sayıda IgG ortaya çıkar. Ancak bu aşamada sentezlenen antikorlar hipermutasyona uğramazlar, kısa ömürlüdürler ve süratle apoptoz uyarınca yıkıma uğradıklarından aşının etkinliğinde önemli bir rolleri yoktur. Bu arada bir grup B lenfositi GM'de antijene özgü T hücrelerinden yardım alarak çoğalır ve plazma hücrelerine dönüşürler. Bu yerleşim alanına göçen az sayıdaki B lenfositinin yüzeyinde CXCR5 ekspresyonu artmıştır ve CXCL13 taşıyan fDH'ler tarafından B hücre folikülleri adı verilen alanda yoğunlaşırlar. fDH'ler antijeni uzun süre içlerinde barındırmaları ve antijene özgü B/T lenfositlerini kendilerine çekebilme özellikleri ile B hücre yanıtında önemli rol oynarlar. fDH'lerin yanı sıra Tfh hücrelerinden de gerekli sinyalleri alan B lenfositleri yoğun klonal proliferasyona uğrarlar. Bu gelişme sonunda Ig izotip dönüşümü (IgM'ler den IgG, IgA veya IgE dönüşümü) ve B hücrelerinin spesifik antijenlerine karşı afinite olgunlaşması gerçekleşir. Bu hücreler fDH'lerin yüzeyindeki aşı antijenlerine bağlanırlar, antijeni içlerine alıp işleyerek onları küçük peptidlere ayırırlar ve MHC-II molekülleri eşliğinde yüzeylerine taşırlar. Artık B hücrelerince pMHC-II kompleksinin özel bir $CD4^+$ T hücre grubuna sunum aşamasına gelinmiştir. Reseptörleri, transkripsiyon faktörleri ve ürettikleri interlökinler açısından Th1 ve Th2 hücrelerinden ayrı bir grup hücre olan Tfh'ler, sahip oldukları yapısal özellikler uyarınca (CD40L, ICOS, IL-10 ve IL-21 taşımaları/üretmeleri gibi) asıl görevleri olan B lenfositlerini uyarma işlevini güçlü biçimde gerçekleştirirler (5). Sonuçta: GM'de yer alan antijene özgü B lenfositlerinin, antijeni taşıyan fDH'ler ve antijene özgü Tfh hücrelerinin işbirliği ile yüksek afiniteye sahip B lenfositlerinin etkin hale geçmeleri; antikor üreten plazma hücreleri ve bellek hücrelerine farklılaşmaları söz konusu olacaktır. GM'deki tüm bu gelişmeler birkaç haftalık süre gerektirir ve protein yapısındaki aşı antijenlerine yüksek afinite gösteren IgG sınıfı antikorlar, uyarıdan 10-14 gün sonra kanda belirirler. Antijene özgü plazma hücrelerinin yeterince üretilmelerini takiben, ilk uyarıdan 3-6 hafta sonra GM'deki gelişmeler son bulur; böylece primer bağışıklamanın 4-6. haftasında aşının oluşturduğu IgG sınıfı antikorlar en yüksek düzeylerine erişmiş olacaktır.

- Polisakkarid yapısındaki aşılara karşı TI özellikte yanıt: S. pneumoniae, N. meningitidis, H. influenzae gibi bakterilerin polisakkarid (PS) antijenleri söz konusu olduğunda, dolaşım yoluyla dalak ve lenf nodüllerinin makrofajlarca zengin marjinal bölgelerine ulaşan antijenler bu bölgede B lenfositleri ile ilişki kurarlar**.** Yinelenen yapıtaşları aracılığı ile B hücrelerinin BHR'lerine tutunan bu yapılar, ekstrafoliküler bölgede B hücre aktivasyonuna

yol açıp, bağışıklamayı izleyen bir hafta içinde bu hücrelerin plazma hücrelerine dönüşümlerine neden olurlar. Böylece kısmi izotip dönüşümü (IgM'lerden, IgG, IgA'ya) ve düşük afiniteye sahip antikor üretimi gerçekleşir (4).
Sonuçta PS yapısındaki antijenlere özgü, düşük titrede ve bellek özelliği bulunmayan timus bağımsız (TI) tipi yanıt ortaya çıkmış olur. Genel olarak somatik mutasyonların GM'de gerçekleştiği kabul edildiğinden, PS aşılamasında mutasyona uğramış antikor üretimi söz konusu olmaz; ancak aynı antijenler bir şekilde protein moleküllerine bağlanmış iseler, bu durumda GM yanıtının gerçekleşmesi ve bellekli hücrelerin sentezi mümkün olur. Bu gelişmede PS uyarısı sonunda ortaya çıkan IgM^+, IgD^+, $CD27^+$ bellekli B hücrelerinin, dalağın marjinal bölgesinde belirip dolaşıma katılmış B hücrelerinden kaynaklandığı düşünülmüştür (6).
Ekstrafoliküler ortamdaki farklılaşmalarını takiben PS spesifik plazma hücreleri dalağın kırmızı pulpasına geçer, kısa bir süre burada kalır ve apoptoz uyarınca yıkıma uğrarlar. Belirtilen bu özellik, dalak marjinal bölgeleri henüz olgunlaşmamış olan çocuklarda bakteri PS aşılarının yeterince immünojen olmamasını açıklamaktadır. Sonuçta bu tip bir uyarı ile oluşacak antikorların ancak aylarla ifade edilen kısa bir zaman diliminde varlıklarını sürdürmeleri söz konusu olmaktadır ve GM aşamasını yaşamayan PS antijenlerinin bellek uyarısı yapmadıkları kabul edilir (3). İşte bu nedenle, aynı PS antijeni ile yinelenen uyarılarda ilk kez aşılanmış naif bireylerde gözlenen primer yanıt tipi bir gelişme gözlenmektedir. Saf bakteri PS'leri ile protein konjügelerinin yanıt farkı ekstrafoliküler ve GM reaksiyonlarının oluşup oluşmamasından kaynaklanmaktadır. Taşıyıcı protein molekülüne bağlanan PS modelinde spesifik B hücreleri GM aşamasından geçip, taşıyıcıya spesifik Tfh hücre yardımı alırlar ve yüksek afiniteli antikor üretimi ile karakterize **uzun ömürlü plazma hücreleri** ve **bellek hücrelerine** dönüşürler**.**

Aşı ile oluşacak antikor yanıtını etkileyen faktörler:

Aşılama sonucu oluşacak hümoral yanıtın niteliklerini belirleyen faktörlerin başında **aşının tipi** gelmektedir. Uyarı sonrasında dalak ya da lenf nodüllerinde sentezlenen antijen spesifik plazma hücrelerinin yaşam süreleri sınırlıdır ve oluşturacakları antikorların titresi haftalarla ifade edilen kısa bir süre sonunda belirgin biçimde azalır. Ancak oluşacak plazma hücrelerinin küçük bir bölümü GM'de farklılaşırlar ve kemik iliğine göçerek yıllarca sürecek biçimde çok daha uzun süreyle antikor üretimini gerçekleştirirler (7). Kemik iliğindeki stromal hücrelerin rol oynadığı bu gelişme sonucunda gerçekleşen antikor yanıtının süresi, bağışıklama sonunda belirecek uzun ömürlü plazma hücrelerinin sayısına bağlıdır. Nitekim antijen uyarısı ortadan kalktıktan sonra antikorların ne kadar süreyle sentezlenmeye devam edecekleri konusu, ilk uyarı sonunda ortaya çıkacak olan antikor titresi ile orantılıdır. Aşılama ile oluşturulan antikorların süresi, yukarıda belirtildiği gibi, aşının tipine göre farklılık gösterir: örneğin canlı-atenüe aşıların, on yıllarla tanımlanan uzun sürelerle antikor yanıtını sağladıkları bilinmektedir. GM aşamasının söz konusu olmadığı ve bu nedenle kemik iliğine göç eden plazma hücrelerinin devreye girmediği polisakkarid yapısındaki aşılar söz konusu olduğunda ise, kısa süreli antikor yanıtı gerçekleşir.
Antikor kalıcılığında **aşı şemasının** da rolü bulunmaktadır. Süratli bir korumanın sağlanmasını gerektiren durumlarda başvurulan kısa aralıklarla (1-2 hafta ara ile) bağışıklama şemaları söz konusu olduğunda (örneğin endemik bir bölgeye seyahat öncesinde), derhal yükselecek olan antikor düzeyi uzun süre varlığını korumaz ve rapel doz uygulama gereği doğar (8). Bu arada aşı yanıtının kalıcılığının yaş ile de ilintili olduğu ve bazı metabolik hastalıkların da antikor yanıtında aksamalara yol açtığı gösterilmiştir (9).
Canlı viral aşılar örneğini bir yana bırakırsak, genel anlamda aşılama sonucu ortaya çıkan antikor yanıtı, yinelenen antijenik uyarıların olmadığı durumlarda bir süre sonra azalarak ortadan kalkma eğilimindedir. TD antijenler söz konusu olduğunda, GM aşamasında plazma hücrelerinin yanı sıra ortaya çıkan bellekli B hücreleri bir süre sonra dalak ve lenf nodüllerinin ekstrafoliküler bölgelerine göçerler. Antikor oluşturma özelliği bulunmayan bu hücreler, rapel doz şeklinde gerçekleşen antijen ile tekrar karşılaşma durumunda prolifere olup, bol miktarda yüksek afinite özelliğinde antikor sentezleyen yeni plazma hücrelerine farklılaşırlar. İşte bu nedenle **rapel doz** ile gerçekleştirilen uyarı sonunda, GM aşamasına gerek olmadığından, primer yanıta oranla daha hızlı biçimde antikor yanıtı ortaya çıkar. Bu yanıt daha güçlü biçimde gerçekleşir ve yüksek afinite özelliğinde antikorlar ile karakterizedir. Afinite olgunlaşması olarak tanımlanan ve GM'deki gelişmeyi izleyen birkaç aylık süreçte gerçekleşen mekanizma nedeniyle, primer uyarı ile rapel doz arasında belirli bir zaman diliminin geçmiş olması gerekir. Bu nedenden ötürü optimal yanıt için primer ve rapel doz arasında 4-6 aylık bir zaman dilimi uygun süre olarak kabul edilmekte ve "0-1-6 aylık" bağışıklama şeması ideal aşı takvimi olarak değerlendirilmektedir (10).
Bellekli B hücre yanıtının oluşumunda **antijen miktarı** belirleyici bir faktördür. İlk uyarı sırasında yüksek antijen miktarı plazma hücrelerinin oluşumunu sağlarken, düşük antijen miktarı immün belleğin oluşumunu kolaylaştırır. Bu nedenle eğer süratli bir yanıt oluşturmak gerekmiyor ise, genelde ilk aşılamada antijen miktarı düşük tutulmalıdır. Ayrıca rapel dozun uygulanacağı dönemde, mevcut primer antikor yanıtının düzeyi, ikinci uyarının başarısını etkileyen bir faktör olarak karşımıza çıkar. Özellikle canlı atenüe viral aşılar söz konusu olduğunda, ilk aşılamadan kalan antikorlar nötralizan özellikleri nedeniyle rapel doz antijeninin in vivo replikasyonunu engelleyebilir. İnaktif aşılarda ise, var olan antikorlar nedeniyle oluşacak antijen-antikor kompleksleri, B hücre yanıtının uyarılmasında gerekli olan serbest antijen miktarında azalmaya yol açmak suretiyle olumsuz bir duruma yol açar (11).
İdeal bir aşının, B hücre uyarısının yanı sıra T hücrelerin aktivasyonunu da gerçekleştirmesi gerekir. Polisakkarid aşılar dışında tüm aşıların $CD4^+$ T hücrelerinin aktivasyonunu sağladığı; sonuçta Th1 ve Th2 farklılaşması ile B ve $CD8^+$ lenfositlerin uyarılmasının sağlandığı görülmektedir. $CD4^+$ ve $CD8^+$ hücre uyarısının MHCI/II üzerinden gerçekleşmesi söz konusu olduğundan bu moleküllerin özelliklerine bağlı olarak, oluşacak yanıtın bir bireyden diğerine farklılık göstermesi olasıdır (3). Bu arada T hücre uyarısına yol açan aşıların Treg hücreleri de aktive

edebileceği ve buna bağlı olarak yeni aşı geliştirme çalışmalarında Treg'ler den kaynaklanacak olumsuzlukların dikkate alınması gereklidir.

İmmünolojik açıdan geleceğin aşıları:

Klasik aşıların daha etkili kılınmasının yanı sıra, terapötik aşıların geliştirilmesini hedefleyen çalışmalar, aşıdaki immünojen-immün sistem ilişkisinin daha ayrıntılı irdelenmesini gerekli kılmıştır. Nitekim konak immün sisteminin tehlike sinyalini algılama yetisini ya da oluşacak bellek özelliğinin daha güçlü kılınmasını hedefleyen arayışlar sürmekte; farklı immünizasyon yolları araştırılmakta ve genetik mühendisliğinin katkısı ile bu güne dek yeterli uyarıyı sağlayamayan etkenlere karşı güçlü bir yanıt eldesi için araştırmalar yoğunlaştırılmaktadır. Örneğin son 10 yıldır aşılamayı daha güçlü kılacak **adjuvanlar** listesinin gittikçe uzadığını (12); **vektör** çeşitliliğinin arttığını (13); **mukozal immünitenin** uyarılmasını sağlayan arayışların ivme kazandığını (14); özellikle **intradermal yol** örneğinde olduğu gibi farklı ve daha efektif yanıtı sağlayacak bağışıklama tekniklerinin geliştirildiğini gözlemekteyiz (15).

Bu çalışmalar sonucunda immünojeniteyi arttırmak amaçıyla ilk aşamada geliştirilen grip aşısı örneğinde olduğu gibi lipozomlar içine yerleştirilen viral proteinlerin **virozomlar** şeklinde uygulandığını; hepatit ya da HPV aşılarında olduğu gibi **virüs benzeri partiküllerin** (VLP) kullanıma girdiğini görmekteyiz. Bu alandaki çalışmalar PLG, ISCOM, kitosan, polianhidritler, hiyalüronik asitler ve nihayet polistiren gibi sentetik yapılar içine yerleştirilen **nanopartikül** ya da **mikropartikül** şeklindeki formatların geliştirilmesi hedeflenerek devam etmektedir (16).

Yeni aşı uygulama arayışlarında, verilen immünojenin ASH'lerce alınarak işlenişi aşamasından başlayarak, doğal bağışıklık yanıtının daha güçlü çalıştırılmasını hedefleyen incelemelerin son yıllarda ağırlık kazandığı görülmektedir. Nitekim **TLR** üzerinden sağlanacak uyarının daha güçlü kılınması ile edinsel yanıtın kuvvetlendirilme yaklaşımı konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiş; **dendritik hücrelerin** alt gruplarının aşıya yanıttaki rolleri incelenerek bu hücrelerin işlevlerinin daha güçlü kılınması için çalışmalar gerçekleştirilmiştir (17, 18). Ayrıca rapel doz uygulamasının farklı bir biçimi olarak homolog ya da heterolog **prime-boost** çalışmalarının katkıları, HIV örneğinde olduğu gibi bir dizi aşı için ümit kaynağı olmuştur (2). Ve nihayet yaşamın erken ve geç dönemlerinde uyarılacak B hücre yanıtını daha güçlü kılma çalışmaları, söz konusu yaş gruplarında aşılamanın daha etkin hale getirilmesinde önem taşıyan yaklaşımlardır (19). Aşıların etkinliği ölçülürken, uygulamadan sonra elde edilecek **antikor titresinin tek kriter olarak değerlendirilmesi yetersiz bir yaklaşımdır.** Oluşacak B hücre yanıtı ürünlerinin afinite ve avidite özellikleri; bellek hücre sentezleme oranları gibi, kısaca antikorun kalitesi şeklinde tanımlayacağımız özellikleri önemlidir ve etkinlik belirlenmesinde bu tip niteliklerin saptanmasının gereği unutulmamalıdır (20). Son olarak "revers vaccinology" ve sistem biyolojisi kavramları gündeme gelmiş; ilk yaklaşım uyarınca patojen etkenlerin genomlarını hedef alan biyoinformatik analizler ile aşıda yer alacak daha güçlü immünojenlerin belirlenmesi yolunda önemli adımlar atılmıştır (21). Sistem biyolojisi yaklaşımı uyarınca ise, biyolojik etkileşimlerin mikroçevresel faktörlerle birlikte değerlendirilmesi gündeme gelmiş; genomik ve proteomik'den sonra transkriptomik ve metabolomik kavramlarının irdelendiği çalışmalar ile modern aşılama arayışları farklı bir boyut kazanmıştır (22, 23).

Geleceğin aşıları konuşulurken, MHC eşliğinde sunumu yapılan antijenik epitopların sunum özellikleri; DH alt-tiplerinin işlevlerinin daha iyi anlaşılması; kostimülatör ve adhezyon moleküllerinin antijen sunum sürecinde ve lenfositler başta olmak üzere immünokompetan hücrelerin göç aşamalarındaki rollerinin belirlenmesi; sitokin üreten hücre davranışlarının ve bu üretim sürecinin daha iyi kavranması; Treg ve Tfh hücrelerin işlevlerinin daha iyi anlaşılması; B ve T bellek hücrelerinin kalıcılığının sağlanarak bu hücrelerden daha efektif biçimde yararlanılması ve nihayet tüm bu verilerin sağlanması için antijenin yapısı ve formülasyonunun daha yoğun araştırılması gibi noktalar dikkate alınmalıdır. Bu konuda mikroorganizmanın farklı proteinleri arasından korunmuş bölgelere ait epitopların seçiminin; aynı aşı içine, istenen özelliklere sahip farklı epitopların yerleştirebilme olanaklarının ve nihayet sadece korunmayı sağlayacak güvenilir epitopların seçiminin önemli olduğu unutulmamalıdır. Bu arada henüz kuramsal aşamada da olsa, aşılama yoluyla immün sistemin uyarılmasında, yanıtın güçlü biçimde gerçekleşmesine yönelik yeni bazı ilkeler üzerinde durulmaktadır. $CD8^+$ hücreleri güçlü biçimde uyarılabilmek için MHC-I molekülü ile peptidlerin bağlanmasına müdahale etmek, DH'lerin daha güçlü uyarısını sağlamak için TLR ligandlarından yararlanmak, antijenin sunumunu daha kuvvetli kılmak için klorokinler gibi bazı ilaçları kullanmak, antijenin işlenme aşamasında TAP kanalındaki süreci daha efektif hale getirmek ve nihayet bellekli B hücrelerinin oluşumundaki rolleri daha iyi anlaşılan Tfh hücrelerinin daha güçlü uyarılmalarını sağlamak gibi bir dizi yaklaşımdan söz edilmektedir (24, 25). Örneğin, Cytomegalovirus (CMV)-spesifik T hücrelerinin, immünosüpresyona bağlı reaktivasyonları kısıtlayıcı rolü olduğu anlaşıldığından beri, bu hücrelerin uyarılamasını sağlayacak aşı modelleri üzerinde çalışılmakta; benzer şekilde HIV, tüberküloz ya da sıtmaya karşı aşı hazırlanmasında hücresel bağışıklığı hedefleyen stratejilere ağırlık verilmektedir (25).

Aşı karşıtı söylevler ve "doğrular":

Yukarıda belirtilen tüm olumlu gelişmelere karşın uzun yıllardan beri bazı çevreler aşı kavramına kuşkuyla yaklaşmışlar; etkinliğini tartışmanın yanısıra ciddi olumsuzluklara neden olabileceğini savunarak, özellikle etiyolojisi bilinmeyen bazı patolojilerden aşıları sorumlu tutmuşlar ve sonuçta sistematik olarak aşılama kavramına karşı çıkmayı sürdürmüşlerdir. Günümüzde aşıların olası yan etkilerinin özenle izlendiğini; aşıya bağlı gerçek olumsuzluklar ile raslantısal gelişmelerin yakından takip edildiğini biliyoruz. Bu bağlamda ABD'de yılda 11.000 kadar yan etki bildirimi yapılmakta; söz konusu olumsuzlukların aşılama ile ilişkileri bilimsel verilerle irdelenerek gerçek durumun ortaya çıkartılmasına çalışılmaktadır (26). Böyle bir çaba sonucunda ve ancak toplumun doğru bilgilendirilmesi ile aşılama konusunda güven ortamı

sağlanabilir. Nitekim yukarıda değinilen ve sistematik biçimde aşıları suçlayan anti-aşı kampanyalarının, özellikle ebeveyinlerin aşılara kuşkuyla yaklaşmalarına yol açtığı ve aşılama oranlarını etkilediği yadsınamaz. Bu olumsuzluğun giderilmesi ve büyük oranda söylentilere dayanan haberlerin etkisini ortadan kaldırmak için aşılar konusundaki suçlamalara objektif biçimde yaklaşmak doğru olacaktır.

Anti-aşı konusu ilk olarak İngiltere'de, E. Jenner'in çalışmaları sırasında gündeme gelmiş; bu dönemde bir din bilgini olan E. Massey, hastalıkların tanrı tarafından bir ceza olarak insanlara gönderildiğini; bu nedenle de hastalıkları önlemeye çalışmanın, tanrıya karşı gelmekle eş anlamlı olduğunu ileri sürmüş ve aşılama girişimlerini şeytana uymak olarak nitelendirmiştir. 1853 yılında çocukların zorunlu aşılanması uygulamasına geçildiğinde ise, böyle bir yaklaşımın insan haklarına karşı bir girişim olduğu öne sürülmüş; İngiltere'de ki bu gelişmeyi, 1907 tarihinde ABD'de J. Pitcairn'in ilk Anti-Aşı konferansını düzenlemesi ve bir yıl sonra Philadelphia'da Amerikan Anti-Aşı Derneğini (Anti-Vaccination League of America) kurması izlemiştir. Aynı dönemde bu kez Brezilya'da O. Cruz benzer bir kampanyaya öncülük etmiş ve aşılara karşı direniş (Revolta da Vacina) hareketini başlatmıştır. Tüm bu tarihsel sürecin ilginç yanı, 19. yüzyıldaki anti-aşı söylevlerinin, 21. yüzyıldakiler ile büyük oranda örtüşmesidir (27).

Günümüzde aşı karşıtı aktivistler modern çağın olanaklarından yararlanarak internet aracılığı ile toplumu etkilemeyi sürdürmektedirler. Nitekim elektronik ortamda yapılacak kısa bir araştırmada, aşı karşıtı söylevler içeren 31.400.000 kadar sitenin bulunduğu görülmekte; abartılı ve yanlış haberlerle dolu olan bu kaynaklara örneğin ABD'de erişkinlerin %55'inin rağbet ettiği belirtilmektedir (28). Söz konusu sitelerde hangi tip haberlerin yer aldığının araştırıldığı bir çalışmada, aşıların idiopatik hastalıklara neden olduğu; aşılanmanın immün sistemi olumsuz biçimde etkilediği; yan etki görülme sıklığının kasıtlı olarak gizlenmekte olduğu ve aşı politikalarının ticari kaygılar sonucu hazırlandığı gibi başlıklar altında toplayacağımız abartılı suçlamaların ön plana çıkartıldığı bildirilmiştir (29). Bu yaklaşımlar dışında rutin aşılama programlarının insan haklarına ve bazı grupların inançlarına ters düştüğünü; aşılamanın özgürlükleri kısıtladığını; alternatif tıp uygulamalarının hastalıklardan korunmak için yeterli olduğunu savunan ve genellikle yaşanmış bazı dramatik öyküleri ele alarak duygu sömürüsü yapan haberler bu sitelerde sıklıkla yer almaktadır (30, 31). Son olarak 2009 yılında yaşanan H1N1 pandemisi sürecinde internet sitelerinde yukarıda belirtilen haberlere yenileri eklenmiş; gündeme gelen pandemi aşısının hazırlık sürecinin çok çabuk gerçekleştiğine dikkatler çekilerek, yeterince kontrolleri yapılmamış ürünlerin uygulamaya konduğu; aşının içerdiği adjuvanların ya da koruyucuların zararlı olduğu gibi bir dizi gerçek dışı olumsuzluk gündeme getirilmiş ve bu haberler ülkemizde de bazı kesimlerce dillendirilmiştir. Burada, aşılara yöneltilen suçlamalarla ilgili olarak sosyal nedenler dışında kalan ve aşı içeriğinin oluşturduğu öne sürülen olumsuzluklara ait bazı örnekler ele alınarak, konu ile ilgili yapılan çalışmalar özetlenecektir.

Aşıların yol açtığı varsayılan sorunların başında **otoimmün hastalıklara** neden oldukları suçlaması gelmektedir. Günümüzde genetik özelliklerin yanısıra çevresel faktörlerin de tetikleyici rolleri olduğu kabul edilen otoimmün hastalıkların yaygın biçimde görüldüğünü ve batı toplumlarında nüfusun ortalama %5'inin bu tip bir sağlık sorunu yaşadıkları bilinmektedir (32). Otoimmün reaksiyonlar, kalıtsal predispozisyon eşliğinde, immün sistemin antijene özgü uyarısı ve antijen sunan hücrelerin (ASH'ler) non-spesifik aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan kombine olaylar temelinde gerçekleşmektedir. Söz konusu gelişmeler genellikle klinik bulgulara neden olmazken, doku düzeyinde lokalize inflamatuar yanıt örneğinde olduğu gibi bazı ilave gelişmelerin tabloya eklenmesi, belirtilerin ortaya çıkmasına yol açar. Diğer bir tanımlamayla otoimmün reaksiyonların sıklıkla gerçekleşmesine karşın, bu sürecin sonunda otoimmün hastalıklara bağlı klinik bulguların oluşumu göreceli olarak ender görülen bir gelişmedir.

Otoimmün hastalıkların ortaya çıkışında bazı enfeksiyon etkenlerinin ilave tetikleyiciler olarak rol oynadığı gösterilmiştir: Streptococcus pyogenes grup A enfeksiyonlarını takiben gözlenen ve kardiak miyozin yapısı ile antijenik benzerliğe sahip bu bakterinin neden olduğu **kalp hastalıkları** ya da Campylobacter jejuni enfeksiyonları sonrası beliren ve anti-bakteriel lipopolisakkarid antikorları ile gangliosidlerin etkileşiminden kaynaklanan **Guillain-Barré sendromu (GBS)** gibi.

Bu tip gelişmelerde mikroorganizmalara ait bazı moleküller ile konak antijenleri arasındaki benzerliğin (antigenic mimicry) yanısıra doğal bağışıklığı harekete geçiren enfeksiyon ile ilintili uyarılar ve nihayet regülatör mekanizmaların baskılanması rol oynamaktadır. Antijenik benzerlik sorunu, mikrobiyal peptidler ile self-antijenler arasındaki sekans homolojisi sonucu ortaya çıkan bir durumdur. Bu konuda T hücre uyarısı ile sonlanan Hepatit B virüsü (HBV) polimeraz peptidi ile tavşan miyelin bazik proteini arasındaki altı amino asitlik bölgeyi kapsayan homolojiyi (33); Neisseria türleri ya da Haemophilus influenzae lipopolisakkaridleri ile insan glikofosfolipidleri arasındaki B hücre uyarısına neden olan benzerliği örnek olarak gösterebiliriz (34). Mikrobiyal antijenlerin direkt etkisinin yanısıra, herhangi bir enfeksiyon sürecinde oluşacak doku hasarı sonrası açığa çıkan self-antijenlerin otoreaktif T hücrelerini uyarması ile indirekt yoldan da otoimmünitenin kamçılanması mümkündür (35). Benzer gelişmeler lokal inflamatuar reaksiyonu takiben dendritik hücre (DH) aktivasyonu sonunda; mikrobiyal ürünlerin TLR'leri abartılı biçimde uyarmasını takiben; ya da tek bir self-antijen epitopunun, "epitop saçılımı" şeklinde isimlendirilen bir mekanizma uyarınca abartılı T hücre uyarısını kamçılaması ile gerçekleşebilir (36). Ve nihayet IL-12, IL-23 gibi bazı sitokinlerin bellekli T hücrelerini ve özellikle Th17 alt-tipini uyarması; otoreaktif T hücrelerini denetleyen Treg hücre etkinliğinin IL-6 gibi mediatörlerce baskılanması sonucunda da otoimmün reaksiyonların oluştuğu gösterilmiştir (37). Kısaca özetlemeye çalıştığım bu veriler, enfeksiyon hastalıklarında farklı mekanizmalar uyarınca otoimmün reaksiyonların kamçıladığını göstermektedir.

Bu durumda aşılama sonrasında da benzer gelişmelerin oluşup oluşmayacağı; aşılama sırasında verilen immünojenik özellikteki epitopların otoimmün reaksiyonları kamçılayıp kamçılamayacağı; aşı içeriğinde yer alan bazı adjuvanların non-spesifik uyarıdan sorumlu olup olmadığı soruları akla gelmektedir. Ancak gerçek otoimmün patolojilerin ender görülmesi nedeniyle belirtilen sorulara yanıt aranması genellikle epidemiyolojik çalışmalar ile irdelenmektedir ve bulgulardan hareketle bir genelleme yapmak oldukça zordur.

Aşılama sonucu otoimmün hastalıkların tetiklenebileceğine dair ilk veriler, 1976 yılında ABD'de domuz gribi salgını sırasında gerçekleştirilen aşılama sürecinde saptanan GBS olgularına dayanmaktadır (38). Bu dönemde söz konusu aşının uygulandığı kişiler arasında 1/100.000 oranında GBS sorunu yaşandığı rapor edilmiş; ancak daha sonraki araştırmalar aşı sonrası saptanan bu patolojinin toplumdaki GBS rastlanma sıklığının altında olduğunu; aşılanmamış olup grip geçirenlerde daha yüksek oranda GBS sorunu yaşandığını ortaya koymuştur (39). Benzer bir tablo kızamık-kızamıkçık-kabakulak (KKK-MMR) aşılaması sonrasında idiyopatik trombositopeni gelişimi konusunda da ortaya atılmış; ancak aşı sonrası 1/30.000 oranında saptanan bu sorunun, doğal kızamıkçık ya da kızamık enfeksiyonları sonrasında daha sık biçimde gerçekleştiğinin (1/3.000 ve 1/6.000) gösterilmesi ile önemini yitirmiştir (39). Bu kapsamda üzerinde en çok gürültü kopartılan bir diğer konu, ilk olarak Fransa'da yaşanan ve hepatit B aşılamasına bağlı olarak geliştiği iddia edilen mültipl skleroz (MS) olgularıdır. Bu ülkede 1991-1997 yılları arasında sekiz hafta süren aşılama sonrası 35 MS olgusunun saptandığının öne sürülmesi ile başlayan süreç, demiyelizan sorunların hepatit B aşılaması ile ilişkisinin olmadığının kanıtlanması ile tamamlanmış; ancak geçen sürede bir çok aile çocuklarını aşılatmaktan kaçındığından, çocuk yaş grubunda akut HBV enfeksiyonlarının görülme sıklığında artış gözlenmiştir (40). Benzer bir olumsuzluk ilişkisi aşılanan bireylerde diayabet tablosunun gelişimi ile ilintili olarak ortaya atılmış; ancak uygulanan aşıların diyabet oluşumuna etkisi olmadığı saptanmıştır (41). Sonuçta aşılama-otoimmün hastalık gelişimi ilişkisinin karmaşık ve multifaktöriyel bir konu olduğu unutulmamalı; bazı özel gruplarda gözlenen ancak birebir ilişkinin tam olarak kanıtlanamadığı durumların ender olarak gözlendiği ve tüm bu verilere dayanılarak güncel aşı politikalarında herhangi bir değişikliğe gidilmesine gerek olmadığı kabul edilmektedir (42).

Aşılamanın etiyolojisi bilinmeyen hastalıklarla ilişkilendirilmesinde en fazla suçlanan molekül, aşı preparatlarına koruyucu olarak eklenen **tiomersal**dir. Yaklaşık 70 yıldır aşıların yanısıra çeşitli kozmetik ve farmasötik preparatlara ilave edilen ve bir organik civa türevi olan tiomersalin otizme, hiperaktivite sorununa ya da ender görülen akut lenfoblastik lösemiye (ALL) yol açtığı ısrarla dillendirilmişsede, zehirlenmelere yol açan metil merkürün aksine, tiomersalin vücuttan süratle atılan etil merküre metabolize olduğu bilinmektedir. Bu özelliği nedeniyle organizmada yığımı ve toksik etki oluşturması söz konusu olmayan tiomersalin herhangi bir risk oluşturmadığı; fetus, prematüre ve düşük doğum ağırlığındaki bebeklerde yapılmış çalışmalar bulunmuyorsa da, toksisiteye yol açabilecek civa miktarının vücutta birikmesine yol açmadığı gösterilmiştir (43). Bu arada, ilk olarak KKK aşılaması sonrası otizme yol açtığı iddia edilen tiomersalin bakterisidal/fungisidal özelliği nedeniyle çok dozlu flakon tipi aşı preparatlarına eklendiğini; tek doz şeklindeki aşıların genelde bu tip bir koruyucu içermediklerini de belirtmek uygun olacaktır. Üzerinde çok sayıda spekülasyonun yapıldığı bir diğer aşı komponenti, adjuvan özelliği bilinen **skualen**dir. Özellikle 1991-körfez savaşında görev yapan Amerikalı askerlerin ülkelerine döndüklerinde yaşadıkları kronik multisemptomatik hastalıklardan, kendilerine uygulanan ve skualen içeren aşıların sorumlu olduğu iddia edilmiş; ancak ileri tetkikler ile skualenin bu tip bir soruna yol açtığına dair herhangi bir kanıt bulunmamasına karşın, bu yaklaşım pandemik aşılar konusunda ülkemizde de dile getirilmiştir (44). Adjuvanlardan söz edildiğinde yaygın olarak uzun yıllardan beri kullanılan **aluminyum bileşiklerine** ait suçlamalara da değinmek gerekir**. Bu grup adjuvanların** miyalji, artralji ve yaygın kas ağrıları ile karakterize makrofajik miyofasitise (MMF) neden olduğu ileri sürülmüşse de, sonuçta ender görülen bu durumun aluminyum tuzlarının depolanmasından kaynaklandığı; deltoid biyopsilerinde gözlenen MMF mikrolezyonlarının bir patoloji olarak kabul edilemiyeceği konusunda konsensüse varılmıştır (45). Ve nihayet pandemi aşılarının uygulanmasından sonra oluştuğu söylenen **narkolepsi** tablosu ile uygulanan aşılar arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (46).

Sonuç olarak aşıların kullanıma girdiği yıllardan başlayarak bazı kesimler farklı gerekçelerle aşılama olgusunu karalamakta; raslantısal nedenlerle açıklanacak bulgulara dayanarak aşıları zararlı ilan etmektedirler. Elbette aşı konusunda "sıfır risk" den bahsetmek olası değildir ve düzenli biçimde gerçekleştirilen izlemlerle yan etki sorununun yakından takip edilmesi gereklidir. Bu süreçte aşılamanın getirileri düşünüldüğünde, herhangi bir olumsuzluk konusunda ortaya atılacak savların özenle irdelenmesi; hem basın organlarının hem de sağlık çalışanlarının konunun hassasiyetini unutmaksızın söylevlerinde daha dikkatli ve duyarlı olmaları gerektiği bilinmelidir. Sonuçta bu güne dek aşılar konusunda gündeme getirilen olumsuzlukların büyük oranda bilimsel verilere dayanmadığı ve bu tip haberlerle ailelerin aşıdan soğutulma riskinin bulunduğu unutulmamalı, konuya özenle yaklaşılmalı ve aşılama programlarının değiştirilmesine gerek olmadığının kabul edildiği göz ardı edilmemelidir (44).

Kaynaklar

1. Prabhudas M, Adkins B, Gans H, et al. Challenges in infant immunity: implications for responses to infection and vaccines. Nature Immunol 2011;12: 189.
2. Plotkin SA. Vaccines: past, present and future. Nature Med (Suppl.) 2005;11: S5.
3. Siegrist CA. Vaccine immunology. In "Vaccines, Eds: S Plotkin, W Orenstein, P Offit" kitabında, s.17, 5. baskı, Saunders Elsevier, China, 2008.

4. MacLennan IC, Toellner KM, Cunningham AF, et al. Extrafollicular antibody responses. Immunol Rev 2003;194: 8.
5. Vinuesa CG, Tangye SG, Moser B et al. Follicular B helper T cells in antibody responses and autoimmunity. Nature Rev Immunol 2005;5: 853.
6. Weller S, Reynaud CA, Weill JC. Vaccination against encapsulated bacteria in humans: paradoxes. Trends Immunol 2005;26: 85.
7. Shapiro-Shelef M, Calame K. Regulation of plasma-cell development. Nature Rev Immunol 2005;5: 230.
8. Nothdurft HD, Dietrich M, Zuckerman JN et al. A new accelerated vaccination Schedule for rapid protection against hepatitis A and B. Vaccine 2002;20: 1157.
9. Siegrist CA, Aspinall R. B-cell responses to vaccination at the extremes of age. Nature Rev Immunol 2009;9: 185.
10. McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Antigen-specific memory B cell development. Annu Rev Immunol 2005;23: 487.
11. Ubol S, Halstead SB. How innate immune mechanisms contribute to antibody-enhanced viral infections. Clin Vac Immunol 2010;17: 1829.
12. Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. Immunity 2010;33: 492.
13. Liu M. Immunologic basis of vaccine vectors. Immunity 2010;33: 504.
14. Chen K, Cerutti A. Vaccination strategies to promote mucosal antibody responses. Immunity 2010;33: 479.
15. Kenney RT, Frech SA, Muenz LR, Villar CP, Glenn GM. Dose sparing with intradermal injection of Influenza vaccine. N Engl J Med 2004;351: 2295.
16. Bachmann MF, Jennings GT. Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. Nature Rev Immunol 2010;10: 787.
17. Duthie MS, Plessner-Windish H, Fox CB, Reed SG. Use of defined ligands as adjuvants within human vaccines. Immunol Rev 2011;239: 178.
18. Palucka K, Banchereau J, Mellman I. Designing vaccines based on biology of human dendritic cell subsets. Immunity 2010;33: 464.
19. Szabo P, Zhao K, Kirman I et al. Maturation of B cell precursors is impaired in thymic-deprived nude and old mice. J Immunol 1998;161: 2248.
20. Lambert PH, Siegrist CA. Can successful vaccines teach us how to induce efficient protective immune responses?. Nature Med (Suppl) 2005;11: S54.
21. Sette A, Rappuoli R. Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. Immunity 2010;33: 530.
22. Pulendran B, Li S, Nakaya HI. Systems vaccinology. Immunity 2010;33: 516.
23. Buonaguro L, Pulendran B. Immunogenomics and system biology of vaccines. Immunol Rev 2011;239: 197.
24. Yewdell JW. Designing $CD8^+$ T cell vaccines: it's not rocket science (yet). Curr Opinion Immunol 2010;22: 402.
25. Pulendran B, Ahmed R. Immunological mechanisms of vaccination. Nature Immunol 2011;12: 509.
26. Chen RT. Vaccine risks: real, perceived and unknown. Vaccine 1999;17: S41-S46.
27. Wolfe RM, Sharp LK. Anti-vaccinationists past and present. Brit Med J 2002;325: 430-423.
28. Davies P, Chapman S, Leask J. Antivaccination activists on the world wide web. Arch Dis Child 2002;87: 22-25.
29. Wolfe RM, Sharp LK, Lipsky MS. Content and design attributes of antivaccination web sites. JAMA 2002;287: 3245-3248.
30. Kata A. A postmodern Pandora's box: anti-vaccination misinformation on the internet. Vaccine 2010;28: 1709-1716.
31. Bean SJ. Emerging and continuing trends in vaccine opposition website content. Vaccine 2011;29: 1874-1880.
32. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR et al. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. Clin Immunol Immunopathol 1997;84: 223-243.
33. Fujinami RS, Oldstone MB. Amino acid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: mechanism for autoimmunity. Science 1985;230: 1043-1045.
34. Harvey HA, Swords WE, Apicella MA. The mimicry of human glycolipids and glicosphingolipids by the lipooligosaccharides of pathogenic neisseria and haemophilus. J Autoimmun 2001;16: 257-262.
35. Horwitz MS, İlic A, Fine C et al. Presented antigen from damaged pancreatic beta cells activates autoreactive T cells in virus-mediated autoimmune diabetes. J Clin Invest 2002;109: 79-87.
36. Wucherpfennig KW. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. J Clin Invest 2001;108: 1097-1104.
37. Theil DJ, Tsunoda I, Rodriguez et al. Viruses can silently prime for and trigger central nervous system autoimmune disease. J Neurovirol 2001;7: 220-227.
38. Schonberger LB, Bregman DJ, Sullivan-Bolyai JZ et al. Guillan-Barré syndrome following vaccination in the National Influenza Immunization Program, United States, 1976-1977. Am J Epidemiol 1979;110: 105-123.
39. Chen RT, Pless R, Destefano F. Epidemiology of autoimmune reactions induced by vaccination. J Autoimmun 2001;16: 309-318.

40. Confavreux C, Suissa S, Saddier P et al. Vaccinations and the risk of relapse in multipl sclerosis. Vaccines in Multiple Sclerosis Study Group. N Engl J Med 2001;344: 319-326.
41. Karvonen M, Cepaitis Z, Tuomilehto J. Association between type 1 diabetes and Haemophilis influenzae type b vaccination: birth cohort study. Brit Med J 1999;318: 1169-1172.
42. Salemi S, D'Amelio R. Could autoimmunity be induced bu vaccination? Intern Rev Immunol 2010;29: 247-269.
43. Clements CJ. The evidence for the safety of thiomersal in newborn and infant vaccines. Vaccine 2004;22: 1854-1861.
44. Phillips CJ, Matyas GR, Hansen CJ, Alving CR, Smith TC, Ryan MAK. Antibodies to squalene in US Navy Persian Gulf War veterans with chronic multisymptom illness. Vaccine 2009;27: 3921-3926.
45. François G, Duclos P, Margolis H et al. Vaccine safety controversies and the future of vaccination programs. Pediatr Infect Dis J 2005;24:953-961.
46. Montastruc JL, Durrieu G, Rascol O. Pandemrix, (H1N1)v influenza and reported cases of narcolepsy. Vaccine 2011;29: 2010.

AŞI İLE ÖNLENEBİLEN HASTALIKLAR GERÇEKTEN ÖNLENİYOR MU? DİFTERİ VE BOĞMACA

Selin NAR ÖTGÜN
Refik Saydam Hıfzı Sıhha Merkezi , Ankara

İnsan sağlığının korunmasında çok büyük öneme sahip olduğu bilinen aşıların ülkelerin ulusal aşı programları kapsamında uygulanması ile aşıların geniş ölçekte ve sistematik olarak yapılmasına olanak tanınmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bunu dikkate alarak, gelişmekte olan ülkeler için minumum gerekli aşıları içeren "Genişletilmiş Bağışıklama Programı"nı yayınlamıştır. Sözkonusu program ilk olarak 1974 yılında difteri, boğmaca, tetanoz, polio, kızamık ve tüberküloz hastalıklarına karşı geliştirilmiştir. Ülkemizde 1980-85 yılları arasında başlayan ve zaman içinde ivme kazanan bağışıklama programı, herhangi bir değişiklik yapılmaksızın 2006 yılına kadar uygulanmıştır. İlerleyen süreçte de aşı sayısı ve aşılama oranları belirgin ölçüde artırılarak, oldukça gelişmiş bir ulusal aşı programı uygulanmaya başlamıştır. Ülkemizde difteri ve boğmaca aşı uygulamalarının geçmişine baktığımızda; difteri-boğmaca-tetanoz (DBT) aşısının ilk olarak 1937 yılında difteri-boğmaca, 1968 yılında ise kombine DBT olarak uygulanmaya başladığını görmekteyiz. Aşılama oranları incelendiğinde ise 1970'li yıllarda %20-30 olan 3 doz DBT aşı oranının, 2009 yılına gelindiğinde %97'ye ulaştığı gözlenmektedir.

Bilindiği üzere ülkemizde difteri ve boğmaca hastalıklarının kontrolü, Sağlık Bakanlığı'nın 2003 yılında yayınladığı saha rehberlerinin önerileri doğrultusunda yürütülen özel bir program dahilinde gerçekleştirilmekte olup, elde edilen veriler aşılama politikalarının belirlenmesine yardımcı olmaktadır.

Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü (TSHGM), Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı (RSHMB), Japan International Cooperation Agency (JICA) işbirliğinde 1997 - 2001 yılları arasında yürütülen "Türkiye'de Enfeksiyon Hastalıklarının Kontrolü Projesi" kapsamında RSHMB'nda Difteri ve Boğmaca Referans Laboratuvarları kurulmuştur. Türkiye'de difteri ve boğmaca hastalıkları için laboratuvara dayalı surveyans sisteminin güçlendirilmesi, patojen etken ve hastalık epidemiyolojilerinin araştırılması, laboratuvarlararası tanı standardizasyonunun sağlanması, uluslararası odak noktası olma gibi fonksiyonları olan laboratuvarlarımız referans düzeyde hizmet sunmaktadır. Bununla birlikte şu anda büyük ve dinamik bir nufusa sahip olan ülkemizde sınırlı sayıda laboratuvarın difteri ve boğmaca tanısına yönelik çalışmalar yürütüyor olması son derece düşündürücüdür. Bu durum ilk olarak 2003 yılında klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıklara yönelik tanı kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bir anket çalışmasıyla belgelenmiştir. Ankete kamu sektöründe hizmet veren yaklaşık 1000 laboratuvar katılmış olup sözkonusu laboratuvarların 840'ının tanı kapasitesi değerlendirmeye alınmıştır. Buna göre difteri hastalığının tanısına yönelik laboratuvar kapasitelerinin dağılımı incelendiğinde; laboratuvarların %96.6'sının difteri tanısı için herhangi bir şey yap(a)madığı, yalnızca %3'ünün izolasyon identifikasyon yaptığı, %0.5'inin toksin araştırma testi uygulayabildiği gözlenmiştir. Boğmaca tanısı için ise laboratuvarların %93.9'unun herhangi bir çalışma yap(a)madığı, sadece %6'sının izolasyon ve identifikasyona yönelik çalışmalar yürüttüğü, %0.1'nin ise referans düzeyde hizmet verdiği gözlenmiştir.

Hipokrat zamanından beri bilinen, belki de insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olan difteri; üst solunum yolları, deri ve bazen de konjuktivalar ile genital bölgede yerleşim gösterebilen akut bakteriyel bir enfeksiyondur. Difteri halen dünyanın hemen heryerinde görülebilen bir hastalıktır, ancak rutin bağışıklamanın başlamasını takiben pek çok bölgede hastalığın görülme sıklığında belirgin azalma olmuştur. Difteri, 1980'lerin sonlarında tarihe karıştığı varsayılan ve gerek klinik özellikleri gerekse laboratuvar tanısı unutulmaya yüz tutmuş bir hastalık olarak değerlendirilmekteydi. Ancak Rusya başta olmak üzere eski Sovyetler Birliğinden ayrılan devletlerde 1990'ların başında ortaya çıkan epidemi ile tekrar gündeme gelmiştir. Bu epideminin başlıca nedenleri arasında; bebek ve çocuklarda aşılama oranlarının düşmesi, erişkinlerde immünite azalması, göçmen hareketinde ve risk gruplarında (alkolikler, evsizler vb) artış, hastalık farkındalığın az oluşu yer almaktadır. Yıllar içinde salgın kontrol altına alınmış olsa da, gelinen noktada difterinin -aşı ile önlenebilir bir hastalık olmasına rağmen- halen insanlık için ciddi bir tehdit olduğu düşünülmektedir. Bunda 1980'lerde tanımlanan, hayvan kaynaklı olup insanda da difteriye neden olabildiği gösterilen başka bir türün (C.ulcerans'ın) daha varlığının keşfedilmesinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizdeki duruma bakıldığında; 1960'ların başlarında difteri morbiditesinin 100.000'de 20 dolayında olduğu, 1999 itibariyle ise 100.000'de 0.01'e kadar gerilediği görülmektedir. Avrupa'da gözlenen her iki epideminin (1982-85 ve 1990-95) Türkiye'yi de etkilediği; önceki yıllarla kıyaslandığında, belirgin vaka artışı olduğu gözlenmektedir. Ülkemizin bazı bölgelerinde aşılama ve bağışıklık düzeylerinin öngörülen hedeflerin altında kalması, duyarlı bir populasyonun varlığına işaret etmektedir. Öyle ki bu durum difterinin yeniden güncellik kazanmasına neden olabilir. Eliminasyon hedefine ulaşılabilmesi için bağışıklık düzeyinin çocuklarda en az %90, erişkinlerde ise %75 olması öngörülmektedir. DSÖ Avrupa Bölgesi'nde 2000 yılına kadar yerli (indigenous) difteri vakalarının eliminasyonu hedeflenmekte idi. Bu; bir ülkede toksijenik C.diphtheriae'nin neden olduğu yerli vaka bulunmayısı anlamına gelmektedir. Bugünün teknolojik ve bilimsel olanaklarına rağmen difterinin eradikasyonu (etiyolojik ajanın yeryüzünden yok edilmesi) henüz hedeflenememektedir. Bunun nedeni; toksoid aşı ile aşılamanın hastalığı önlemesine rağmen taşıyıcılık durumunu ortadan kaldıramamasıdır. Aşılama ile kazanılan bağışıklık yaşam boyu sürmemekte, destek doz yapılmadığında bağışıklık kaybedilmektedir. Serolojik araştırmalar difteriye karşı, özellikle erişkin populasyonda bir immünite azalması olduğunu ortaya koymaktadır. Toplum aşılanmış olduğunda

bile asemptomatik tasıyıcılık durumu ortaya çıkabilmektedir. Öte yandan, hastalığın düşük insidans gösterdiği ülkelerde vakalara kolayca yanlış tanı konabilmektedir.

Ülkemizde difteri sürveyansının temel sorunları arasında; bildirimlerin klinik gözleme dayalı olması, hekimlerin hastalığı akla getirmeyişleri, laboratuvarların difteri tanısında yeteneklerini kaybetmiş olmaları, toksijenik C.diphtheriae kökenlerinin dolaşımda olması, hastalığın erişkin bireylerde de gözlenmesi, bazı bölgelerimizde aşılama oranlarının düşük olması, serosurvey çalışmalarında erişkin populasyonda immünite düzeylerinin düşük bulunması sayılabilir.

Avrupa Difteri Laboratuvarları Çalışma Grubu (ELWGD) üyesi olan laboratuvarımızın da katıldığı, 2009 yılında Riga'da yapılan ELWGD toplantısında, 2000 yılında Avrupa'da ulaşılması beklenen difteri eliminasyon hedefine halen ulaşılamadığı ortaya konmuştur. Eliminasyon hedefine ulaşılabilmesi için ülkelerin yüksek aşılama oranlarına sahip olmaları, erişkinlerin aşılanma oranlarını yükseltmeleri, sürveyans ve laboratuvar kapasitelerini artırmaları ve risk grupları (evsizler, alkolikler, yaşlılar vb) üzerine yoğunlaşmaları gerektiğini vurgulanmıştır.

Ülkemizde difteri hastalığının kontrol altına alınması için erişkinlerin her 10 yılda bir aşılanmasına yönelik bir program başlatılması, sürveyans rehberinin güncellenmesi, vaka tanımlarının gözden geçirilmesi, seyahat öyküsü, çiğ süt tüketimi ve hayvan (çiftlik/ev) temasının sorgulanması, deri difterisinin de bildirimi zorunlu hale getirilmesi, C.ulcerans'a bağlı vakaların bildirimi zorunlu hale getirilmesi, temaslı ve taşıyıcıların bildirimi - sürveyansının yapılması, vaka bildirimlerinin hem klinikten hem de laboratuvardan yapılması, laboratuvar kapasitesinin artırılması, çeşitli saha araştırmalarının organize edilmesi sözkonusudur.

Boğmaca, her yaştaki duyarlı bireyi etkileyebilen özellikle bebeklik döneminde ağır seyreden akut bulaşıcı bir solunum sistemi enfeksiyonu olarak önemini korumaktadır. Dünyada her yıl 20-40 milyon boğmaca vakasının gözlendiği ve çoğu küçük çocuklar olmak üzere yaklaşık 400.000 ölüme neden olduğu bilinmektedir. Yaygın aşılama programları sonrasında aşılama öncesi dönemlere göre tüm dünyada boğmaca epidemiyolojisi belirgin ölçüde değişmiş, vaka sayılarında ve ölüm oranlarında önemli düşüşler izlenmiştir. Araştırmacılar aşılamanın koruyuculuğunun zaman içerisinde azaldığını, yaygın immünizasyonun toplumda doğal yoldan kazanılmış bağışıklığı engellediğini ve dolayısıyla özellikle aşılanma oranı yüksek toplumlarda ergen ve erişkin populasyondaki duyarlılığın giderek arttığını ileri sürmektedirler. Nitekim etkin aşılama programlarının uygulandığı ülkelerde çocuklar korunurken, erişkin populasyonda immünite azalmasına bağlı olarak 15 yaşın üzerinde ve anneden koruyucu antikorların geçişindeki azalma sonucu 1 yaşın altındaki bebeklerde hastalığın görülme sıklığında artış izlendiği yapılan çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir. Duyarlı yaş gruplarındaki bu epidemiyolojik kaymanın yanı sıra son yıllarda hastalık konusundaki farkındalığın artışı, tanıda gelişmiş yöntemlerinin uygulanması, suşların biyoevrimi ile yeni Bordetella pertussis kökenlerinin ortaya çıkması, boğmaca insidansındaki artışın önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Yapılan bildirimler sonucunda elde edilen verilerin, hastalığın durumunu beklenen ölçüde yansıtmadığı da söylenebilir. Öte yandan dünyada boğmacanın gerçek insidansının bildirilenden yaklaşık üç kat daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar vardır.

Hastalığın ortaya çıkışındaki heterojenite, ergen/erişkinlerde asemptomatik veya ılımlı enfeksiyonlardan yenidoğan/infantlarda yaşamı tehtid eden ciddi enfeksiyonlara uzanan geniş yelpazeli bir klinik tabloya neden olması, bağışıklama nedeniyle hastalığın tipik klinik bulgularında değişiklik gözlenmesi, karma enfeksiyonlar nedeniyle yanlış tanı konması, hastalıktan şüphelenme indeksinin az oluşu, laboratuvar kapasitesinin yetersizliği gerçek boğmaca insidansının saptanmasını etkileyen faktörler olarak dikkat çekmektedir.

Görülme sıklığı, aşı ve antibiyotik öncesi dönemlere göre çok azalmış olsa da, boğmaca; aşı ile önlenebilir bir hastalık olarak hemen her ülkenin sürveyans sistemi içinde siklik patern göstermeye devam eden, her 2-5 yılda bir epidemilere yol açan bir hastalık olarak yerini korumuştur. DSÖ, 2000'lerde boğmaca insidansını yüzbinde birin altına düşürmeyi hedeflemiş olmakla birlikte eldeki veriler bu hedefe ulaşılamadığını üstelik son 15 yıldır Arjantin, Avustralya, Kanada, İtalya, Japonya, Hollanda, İsviçre ve ABD gibi ülkelerde insidansın arttığını göstermektedir. Araştırmacılar, adolesan ve yetişkinlerde gözlenen enfeksiyonların hafif veya subklinik seyirli olmasına rağmen B.pertussis'in yayılımına yol açtığına, böylece henüz aşılanmamış veya tam aşılanmamış infantların korunmasını imkansız hale getirdiğine işaret etmektedirler. Özellikle infantil grupta boğmaca hastalık tablosu çok ağır seyirli olduğundan aşılamada primer amaç bu infantların korunmasıdır. Bu nedenle son yıllarda koza stratejisi geliştirilmiştir. Bu stratejiye göre infantları boğmacadan korumak için bebeklerle yakın teması olan anne, baba, kardeş ve sağlık personeline destek aşı dozu uygulanmaktadır. Bunun dışında ergenlerde destek dozunun rutin olarak uygulanmasının da riskli gruba yayılımı engelleyebileceği öngörülmektedir.

Ülkemizdeki duruma bakıldığında; boğmaca morbiditesinin 1970'lerde 100.000'de 21 dolayında olduğu, Sağlık Bakanlığı tarafından 1985 yılında başlatılan Ulusal Aşı Kampanyasını takiben morbidite ve mortalite oranlarında farkedilen oranlarda azalma gözlendiği dikkat çekmektedir. 1996-1997 yıllarında yeni bir artış eğilimi kaydedilmiş, ancak 2001 itibariyle morbidite oranı 100.000'de 0.27, 2005'de ise 100.000'de 0.38 olarak saptanmıştır. 2000'li yıllar boyunca Sağlık Bakanlığına bildirilmiş boğmaca olgularının yaş dağılımına bakıldığında hastalığın ülkemizde beş yaş altında sık görüldüğü, Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerindeki ergen ve erişkin olgularındaki belirgin artışın henüz ülkemizde olmadığı gözlenmektedir. Ancak bazı çalışmalar bu artışın varlığına işaret etmektedir. Öyle ki daha önceki yıllarda boğmaca vakalarının %6.5'u ergen ve erişkin yaş grubunda iken, 2005'de bu oranın %16.9'a yükseldiği gözlenmiştir.

Kantitatif perspektifin yanı sıra kalitatif perspektiften bakınca; en önemli nokta, etken patojenin populasyon immünitesine nasıl adapte olduğunun anlaşılmasıdır. Pek çok ülkede yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen

kanıtlar, B.pertussis'in dolaşan variantlarının aşı üretiminde kullanılan suşlardan aslında farklı olduğunu göstermiştir. Pulsed field gel elektroforez, serotip, toksin ve pertaktin tiplerinin incelendiği suş karakterizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen veriler B.pertussis populasyonunda yıllar içinde genetik shift oluştuğu yönündedir. Bazı klonların geniş olarak yayılım gösterdiği ve diğer suşlardan daha agresif yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir. Suş polimorfizminin aşı etkinliğini etkilediğine dair kanıtlar her geçen gün artmaktadır. Yakın dönemde pertussis toksini (PT) daha çok üreten suşlar gündeme gelmiştir. Bunlara P3 suşları denmektedir. İnsanlar için oldukça virulan özelliğe sahip olan P3 suşlarının tüm dünyaya yayıldığı ve aşılı çoğu toplumda baskın konumda olduğu bilinmektedir. Boğmacanın yeniden önem kazanmasında artmış PT üretiminin, major rolü üstlenmiş olduğu belirtilmektedir. Çoğu otoritenin hemfikir olduğu nokta, boğmaca aşılarının yeniden gözden geçirilmesi, protein variant içerecek şekilde yeniden update edilmesi yönündedir. DTaP5'in etkinliğinin de zaman içinde azaldığı öngörülmektedir. Bu konuda hipotetik bir açıklama; dolaşan suşlarda eksprese edilen fimbriaların Fim2'den Fim3'e değiştiği yönündedir. DTaP5 aşısının Fim2 suşların dominant olduğu çevrelerde daha etkin olabileceği hipotezi çeşitli verilerle desteklenmektedir. Öte yandan bağışıklığın azalması ile Fim2 eksprese eden suş variantlarında herhangi bir artış olup olmayacağı merak konusudur.

Ülkemizde boğmaca sürveyansının temel sorunları arasında bildirimlerin klinik gözleme dayalı olması, hekimlerin hastalığı akla getirmeyişleri, klinik materyal transportunda yaşanan güçlükler, yeterli sayıda yetkin laboratuvar bulunmayışı, hastalığın ergen ve erişkinlerde de gözlenmesine rağmen gözden kaçması, bazı bölgelerimizde aşılama oranlarının düşük olması ve mevcut durumu gösteren yeterli sayıda klinik çalışma olmayışı yer alır.

Ülkemizde boğmaca hastalığının kontrol altına alınması için öncelikli olarak farkındalığın artması, klinisyen-laboratuvar ve kurumlararası işbirliğinin geliştirilmesi, laboratuvarlararası tanı tekniklerinin standardizasyonu, tanıda yetkin laboratuvar sayısının artması, epidemiyolojik riskli bölgelerde laboratuvarların geliştirilmesi, sürveyans rehberinin güncellenmesi, vaka tanımlarının gözden geçirilmesi, hospitalizasyon öyküsünün sorgulanması, geniş ölçekli saha araştırmalarının yapılması, dolaşan suşların genetik karakterizasyonunun ve pertussis toksin üretme kapasitelerinin araştırılması, yeni aşılama stratejilerinin geliştirilmesi/uygulanması, mevcut bebek aşılamasının güçlenerek devamı, tüm ilköğretim birinci sınıflara beşinci doz aşı uygulamasının yaygınlaştırılması yanında, ergen destek dozlarının ulusal aşı takvimine eklenmesi, ayrıca bebekleri koruma için koza stratejisi içinde, yeni annelerin ve yenidoğanla sıkı temasta olanların aşılanması sözkonusudur.

Kaynaklar

1. Begg N Diphtheria: Manual for the Management and Control of Diphtheria in the European Region. Copenhagen: Expanded Programme on Immunization in the European Region of WHO, 1994
2. Difteri Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü - Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı - Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü. Mart 2003, Ankara.
3. Third Annual Meeting of the Diphtheria Surveillance Network: DIPNET and Eleventh International Meeting of the European Laboratory Working Group on Diphtheria: ELWGD, Riga, Latvia, 7-9 October 2009
4. Efstratiou A, Roure C, and Members of the European Laboratory Working Group on Diphtheria. The European Laboratory Working Group on Diphtheria: A Global Microbiologic Network. The Journal of Infectious Diseases 2000;181(Suppl 1):S146–51
5. Akbaş E, Buyurgan V. Bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıklar için klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının tanı kapasitelerinin değerlendirilmesi: bir anket çalısması. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Antalya
6. Boğmaca Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü - Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı - Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü. Mart 2003, Ankara.
7. Forsyth KD, Wirsing von Konig CH, Tan T, Caro J, Plotkin S. Prevention of pertussis: Recommendations derived from the second Global Pertussis Initiative roundtable meeting. Vaccine 2007; 25: 2634-42
8. Hallander HO, Gustafsson L. Efficacy and effectiveness of acellular pertussis vaccines:a 20 year Swedish experience. Expert Rev Vaccines 2009;8(10):1303-1307
9. EUVAC-NET Report of the 7th Annual Meeting. 25-26 January 2010. Athens, Greece
10. Control of pertussis-lessons learnt from a 10-year surveillance programme in Sweden. Vaccine 2009; (27):5709-5718
11. Kurugöl Z. Boğmaca aşısı ve sorunlar. ANKEM Derg 2011; 25(Ek 2): 212-217
12. Elomaa A, He Q, Tran Minh NN, Mertsola J. Pertussis before and after the introduction of acellular pertussis vaccines. Vaccine 2009;27:5443-5449
13. Bamberger ES, Srugo I. What is new in pertussis? Eur J Pediatr 2008;167:133-139
14. Dilli D, Bostancı I, Dallar Y Buzgan T, Irmak H. Recent findings on pertussis epidemiology in Turkey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008;27:335-41
15. Esen B, Coplu N, Kurtoglu D, Gozalan A, Akın L. Prevalence of high antibody titers of pertussis in Turkey: Reflection of circulation microorganism and threat to infants. Journal of Clinical Laboratory Analysis 2007; 21:154-161

16. Nar Otgun S, Durmaz R, Karagoz A, Esen B, Ertek M. Pulsed-field gel electrophoresis characterization of Bordetella pertussis clinical isolates circulating in Turkey in 2001–2009. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011;30: 1229–1236

AŞI İLE ÖNLENEBİLEN HASTALIKLAR GERÇEKTEN ÖNLENİYOR MU? AŞILAMA VE KLİNİK YANSIMALARI

Mustafa BAKIR
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi , Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları BD, İstanbul

Aşı bir mikroorganizmanın tümü veya bir kısmı veya bir ürünü (tokzoid, saflaştırılmış protein veya antjeni) ile doğal enfeksiyonu geçirmiş gibi bağışıklık elde edilmesini sağlayan ürünlerdir. Aşının bilinen tarihçesi eski çin tıbbında çicek aşısı için uygulamalar (Variolasyon) ile karşımıza çıkmaktadır. Lady Mary Wortley Montagu' 1716-1718 yılları arasında İstanbulda Osmanlıların çicekten korunmak için variolasyon yöntemini kullandıklarını ve bunda başarılı olduklarını fark etmiş ve bu metodu İngiltereye taşımıştır. Edward Jenner ise 14 mayıs 1796 tarihinde bu metoda dayanan ilk aşı uygulamasını James Phipps'e sütçü Sarah Nelmes'in elindeki sığır çiceği lezyonundan aldığı örneği uygulaması ile hayata geçirmiştir. Bu aşı uygulaması ile dünyada aşı çalışmaları başlamış ve günümüze dek gelmiştir. Edward Jenner'in başlatmış olduğu çicek savaşı dünya çapında aşılama ile 26 kasım 1977 yılında Somalili Ali Maow Maalin ile son bulmuştur. Bağışıklama öncesi dönemlerde ve hatta günümüzde binlerce insan aşı ile önlenebilen hastalıklardan ölmektedir. Örnek olarak 20. Yy başlarında çiceğe bağlı 50 bin, difteriye bağlı 175 bin, boğmacaya bağlı 150 bin, tetanoza bağlı 16 bin, poliyomiyelite bağlı 16 bin, ve kızamığa bağlı 500 bin insan ölümü rapor edilmiştir. Bu enfeksiyonlara bağlı morbidite 2004 yılında nerdeyse %100 azalmıştır. Louis Pasteur tarafından 1885 yılında kuduz aşısının keşfedilip uygulanması insanlığın tarihinde ikinci aşı olarak görülmektedir. Ülkemizde 1887'de Mirliva
Alexander Zoeros idaresinde, kuduz aşısı üretilip uygulanmaya başlanmıştır. Dr. Reşat Rıza Kor, dünyada
Tifus aşısını ilk bulan kişidir. 1915 yılında Erzurum'da ilk uygulayan kişi ise Dr. Tevfik Sağlam'dır.Ülkemizdeki aşılama tarihçesine baktığımızda 1930'lu yıllarda çicek aşınısının, 1937 yılında difteri boğmaca aşısının, 1952 yılında BCG aşısının, 1963 yılında oral polio aşısının, 1968 yılında Difteri-boğmaca-tetanoz aşısının, 1970 yılında kızamık, 1998 yılında hepatit B, 2006 yılında kızamık-kızamıkçık-kabakulak-Hemofilus influenza tip B, 2008 yılında Difteri-asellüler boğmaca-tetanoz-hemofilus influenza tip b-inaktif polio , konjuge pnömokok (7 valanlı) ve 2011 yılında 13 valanlı konjuge pnömokok aşısının ulusal bağışıklama takvimine eklendiğini görmekteyiz. Üşlemizdeki aşı uygulamalarına bakıldığında son yıllarda Avrupa bölgesinde hedef kitlede uygulama oranı %97'lerin üzerinde olması ile ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde son poliyo vakası 26 kasım 1998 yılında görülmüş ve 21 haziran 2011 yılında ülkemizinde dahil olduğu Avrupa bölgesi Dünya Sağlık Örgütü tarafından poliodan arındırılmış bölge olarak ilan edilmiştir. Yine ülkemiz geniş kapsamlı bağışıklama programı sayesinde 24 nisan 2009 tarihinde maternal ve neonatal tetanozun eliminde edildiği ülke olarak belgelenmiştir. Bunun yanında kızamık eliminasyon programı ile ülkemizde kızamığın eliminasyonu hedeflenmiştir. Aşılar ve toplum üzerine etkileri direk olarak toplum sağlığını ilgilendirmektedir. Dünya tarihi aşı ile önlenebilen enfeksiyonların salgınları ile doludur. Sadece grip yüzünden son yüzyılda binlerce insanın öldüğü düşünülür ise aşının koruyucu sağlık hizmetlerindeki önemi daha açık olarak görülebilecektir. Aşağıdaki tabloda ülkemizde uygulanan bağışıklama takvimi sunulmuştur.

ÇOCUKLUK ÇAĞI AŞI TAKVİMİ (2011)

	Doğumda	1. Ayın Sonu	2. Ayın Sonu	4. Ayın Sonu	6. Ayın Sonu	12. Ay	18...24 Ay	ilköğretim 1. Sınıf	ilköğretim 8. Sınıf
HEP – B	□	□□			□□□				
BCG			□						
DaBT-İPA-Hib			□	□□	□□□		R		
KPA			□	□□	□□□	R			
KKK						□		R	
DaBT-İPA						□		R	
OPA					□		□□	□	
Td (Adult)								□	R

TÜBERKÜLOZ TANISINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

Gönül ASLAN
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

Mycobacterium tuberculosis iki milenyumdan beri evrimsel olarak başarılı bir şekilde insan vücudunda varlığını sürdürmektedir (1). Günümüzde dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin M. tuberculosis ile enfekte olduğu, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2009 yılı verilerine göre 13.7 milyon aktif tüberküloz (TB)'lu hasta olduğu bunların 9.27 milyonunun yeni tanı konmuş vakalar olduğu bildirilmektedir. Enfeksiyon kaynaklı önlenebilir hastalıklardan biri olmasına rağmen zamanında tanısı konulmayıp uygun tedavi almadıkları için 2007 yılında 1.76 milyon kişinin TB'dan yaşamını kaybettiği bildirilmiştir (2, 3).

Son on yılda M. tuberculosis'un moleküler biyolojisi ve immünolojisi üzerinde yaşanan gelişmeler, enfeksiyona karşı gelişen konak cevabının tanımlanması ve saptanması üzerinde daha fazla bilgi sahibi olunmasını sağlamıştır. Bu yeni geliştirilen teknikler sayesinde DSÖ balgam yayması pozitif olan hastaların % 70'nin saptandığını ve %85'nin başarılı bir şekilde tedavi edildiğini bildirmiştir (1).

Aktif TB olgularının laboratuvar tanısındaki yetersizlikler, (a) hastalığın tanısının yapılamamasına, bu da bireysel morbidite/mortaliteye ve bulaşın devam etmesine; (b) yanlış tanı konularak, hastaların gereksiz yanlış tedavi almasına; (c) ilaç direncinin tanısının gecikmesi ise, başka dirençlerin gelişmesine, morbidite ve bulaştırıcılığın devam etmesine sebep olmaktadır(4).

TB hastalarının erken tanı ve tedavisi bu hastalıktan toplumun korunmasında en etkili yoldur. Bu nedenle mikobakteriyoloji laboratuvarlarının birincil amacı, insidansı düşürmek için akciğer TB'lu olguların en kısa sürede izolasyon ve identifikasyonun yapılarak tedavilerinin takip edilmesidir. Klinik belirtilere göre hastalık tanısı konabilse de TB'da kesin tanı için etkenin klinik örnekten konvansiyonel laboratuvar yöntemleri ile direkt bakıda tespiti ve kültürde üretilerek basilin tanımlanması esasına dayanmaktadır.

A. MİKROSKOBİK İNCELEME

Hızlı TB tanı yöntemlerinin geliştirilmesi için süren çalışmalara rağmen Ziehl-Neelsen boyama yöntemi klinik örneklerden M. tuberculosis saptanmasında hala yerini korumakta ve DSÖ tarafından kullanımı desteklenmektedir. Mikroskobik inceleme TB'un erken tanısında basit, hızlı, ucuz ve spesifitesi yüksek bir yöntem olması nedeniyle TB'un endemik olduğu ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda bu yöntemin duyarlılığının %20-80 arasında değişebildiği gözlenmektedir. Mikroskobik incelemede aside dirençli basil (ARB)'in görülebilmesi için hasta örneğinde en az 5.000/ml kadar basil bulunması gerekmektedir. Duyarlılık oranlarındaki farklılıklar genel olarak, kullanılan boyama yöntemi, örneğin türü, yaymanın kalınlığı, incelenmeyi yapan kişinin bu konudaki tecrübesi gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (1, 5, 6).

Mikroskobik inceleme öncesinde uygulanan boyama yöntemleri Ziehl-Neelsen boyama yöntemi, Kinyoun boyama yöntemi ve auramin-rodamin floresan boyama yöntemidir. Klinik örneklerden aside dirençli basillerin tespit edilmesinde auramin-O floresan mikroskopinin, Ziehl-Neelsen boyama yönteminden yaklaşık %10 daha duyarlı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca yayma negatif sonuç verilebilmesi için her lamın en az 5 dakika taranması tavsiye edilmektedir. Ancak rutin koşullar altında her lam için ayrılan süre tavsiye edilen minimum süreden daha az olmaktadır. Bu sebeple, olguların neredeyse %50'si rutin lam incelemesi sırasında kaçırılabilmektedir (7).

Bununla birlikte, hastalığın endemik olduğu bölgelerde floresan mikroskopinin yaygın kullanımı gerçekleştirilememektedir. Bunun primer sebebi, mikroskobun ve civa buharlı lambanın yüksek fiyatı, lambaların kullanım süresinin kısa olması (200-300 saat), sabit bir güç kaynağına ihtiyaç duyulması (düğmelerin tekrarlayan açıp kapanması lamba ömrünü kısaltmaktadır), karanlık odaya ihtiyaç duyulması ve laboratuvar personeli tarafından tercih edilmemesidir (7).

Son zamanlarda ise M. tuberculosis'in taranmasında floresan mikroskopi için, ışık emici diyod (Light emitting diodes, LED)'lar, kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde çeşitli ticari LED sistemleri bulunmaktadır ve bağımsız veya normal ışık mikroskobuna bir adaptör yerleştirilerek kullanılabilmektedir [Primostar iLEDTM (Carl Zeiss Microimaging, Oberkochen, Germany), LuminTM (LW Scientific, Lawrenceville, GA, USA), AFTERH ((Fraen SRL, Settimo, Italy)]. LED sistemleri ucuz ve daha uzun ömürlüdür (>50.000 saat), tekrarlayan açıp kapamalar ömrünü kısaltmamaktadır ve kullanım sırasında karanlık odaya gereksinim duyulmamaktadır. Hastalığın endemik olduğu bölgelerde TB olgularının belirlenmesinde ışık mikroskoplarının floresan mikroskop ile yer değiştirmesi oldukça önemlidir (7-9).

Mikroskobik incelemenin duyarlılığı düşük olmakla birlikte yeni tanı yöntemlerinden daha yüksek özgüllük ve pozitif prediktif değere sahip olması nedeniyle yıllar boyunca gelişen teknoloji karşısında vazgeçilmez tanı yöntemi olarak yerini korumuştur (6).

Gelişmiş ülkelerde atipik mikobakteri enfeksiyonları TB'dan iki-üç kat fazla gözlendiğinden mikroskobik incelemede ARB pozitif olgulara TB tedavisi başlanmadan M. tuberculosis için spesifik olan nükleik asit amplifikasyon test kitleri kullanılarak atipik mikobakteri enfeksiyonlarının TB'dan ayrımının yapılması gerekmektedir. Ancak ülkemiz gibi TB'un endemik olduğu ülkelerde mikroskobik incelemede ARB pozitifliği klinik uyumla TB lehine değerlendirilmektedir.

B. KÜLTÜR YÖNTEMLERİ

Mikobakteri kültürü mikobakterilerin saptanmasında ve ilaç duyarlılığının belirlenmesinde altın standart olarak yerini korumaktadır. Bu amaçla yumurta bazlı veya agar içerikli katı besiyerleri yada hızlı tanı sağlayabilmek amacıyla çoğunlukla ticari firmalar tarafından otomatize cihazlar ve sistemlerde kullanılan sıvı besiyerleri kullanılmaktadır. Kültür yöntemlerinin en önemli avantajları mikobakteri canlılığını doğrudan (örnekteki ≥10 canlı TB basilini) gösterebilme, mikroskobik inceleme ile ayrımı yapılamayan Mycobacterium tuberculosis Complex (MTC)/atipik mikobakteri ayrımını yapabilme, ilaç duyarlılığı belirleme ve tiplendirme gibi ek testler yapılabilmesine olanak sağlamasıdır. Günümüzde kültür amacıyla en yaygın kullanılan katı besiyeri Lowenstein-Jensen (LJ) besiyeri, sıvı kültür sistemleri radyometrik BACTEC 460 TB, florometrik MGIT 960, kolorimetrik MB/BacT ALERT'dir. Otomatize sıvı kültür sistemleri konvansiyonel katı kültüre (üreme 4-6 haftada gözlenmekte) göre daha duyarlı ve hızlı bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır ve bu sistemlerde kültür 1-3 hafta kadar sürmektedir (1, 5, 10, 11).

MGIT 960 sistemi (MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube-Mikobakteriyel gelişim indikatör tüpü), floresan veren bir indikatörün bulunduğu tüplerde bakterilerin üretilmesi prensibine dayalı çalışan otomatize mikobakteri tanı sistemidir. M. tuberculosis üredikçe tüpteki oksijeni kullanır ve böylece floresan birleşik otomatik olarak saptanabilmektedir. MGIT 960 sistemi hızlı ve standardize bir şekilde kültür ve ilaç duyarlılık (streptomisin, izoniyazid, rifampin ve etambutol'e karşı) sonuçlarının saptanmasını sağlamaktadır. Günümüzde, DSÖ ve TB stratejik ve teknik danışmanlık grubu ekonomik durumu zayıf olan ülkelerde sıvı kültür yönteminin kullanımını önermektedir (10, 12).

MB/BacT ALERT sistemi, besiyerindeki karbondioksit miktarının kolorimetrik olarak otomatize saptanması prensibiyle çalışmaktadır. Besiyeri tabanında bulunan silikona gömülü kolorimetrik algılayıcı, mikobakteri üremesine bağlı karbondioksit değişimiyle oluşacak pH farklılığı sonucunda renk değiştirir. Algılayıcının koyu yeşilden sarıya dönmesi kültür pozitifliğini göstermektedir. MB/BacT ALERT sistemi ile streptomisin, izoniyazid, rifampin ve etambutol'e karşı duyarlılık saptanabilmektedir (11).

MYCOLOR TK Kültür Sistemi, çoklu renk indikatörleri kimyasından yararlanılarak katı besiyerinde mikobakteri üremesini kolorimetrik prensiple erken dönemde saptayan bir sistemdir. Besiyerine ekilen örnekte mikobakteri üremesinde (inkübasyon süresince mikobakterilerin ürettiği metabolitlere ve enzimlere bağlı olarak) TK besiyerinin orijinal kırmızı rengi sarıya, diğer bakteri ve fungal türlerin üremesinde yeşile dönmektedir. Renk değişikliği hem gözle hem de otomatize MYCOLOR TK Kültür sisteminde izlenebilmektedir. Yine sistemde streptomisin, izoniyazid, rifampin ve etambutol'e karşı duyarlılık aynı test prensibi ile saptanabilmektedir (10, 11).

Kültürde mikobakterilerin izotermal mikrokalorimetri ölçümüyle hızlı tanısı

TB tanısında yeni yöntemlerden birisi de izotermal mikrokalorimetridir (isothermal microcalorimetry). Yöntemde izotermal mikrokalorimetri adı verilen alet kullanılarak bakterilerin üremeleri sırasında oluşan metabolik ısı µW olarak ölçülmektedir. İzotermal mikrokalorimetrinin belirleme sınırı yaklaşık olarak 200 nW'dur. Yöntemin biyogüvenlik düzeyi II olan laboratuvarlarda yapılabiliyor olması, çok düşük inokülasyonda bile (2 cfu) üremenin kantitatif olarak saptanabilmesi, katı veya sıvı besiyerlerinde uygulanabilmesi, tek kullanımlık cam ampullerin kullanılması ve tüm işlemin kapalı sistemde gerçekleşmesi nedeniyle kontaminasyona ve bulaşa izin vermemesi gibi özellikleri ile klasik kültür yöntemlerine göre üstünlükleri bulunmaktadır. Bu yöntemle M. tuberculosis de dahil olmak üzere Mycobacterium türleri tarafından oluşturulan ısının mikrokalorimetrik ölçümü türlere göre (hızlı ve yavaş üreyenler) farklılık göstermekle birlikte 20 ile 310 saat gibi kısa bir süre içinde tür düzeyinde identifikasyon gerçekleştirilmektedir. Yöntem aynı zamanda bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını belirlemede de kullanılabildiğinden mikobakterilerin çoklu ve yaygın ilaç direncinin ortaya çıkarılmasında da kolaylıkla uygulanabileceği belirtilmektedir. Özellikle TB insidansı yüksek olan az gelişmiş ülkelerde yöntemin kullanılabilirliğini artırmak için daha düşük maliyetli yeni yaklaşımların geliştirilmesi, bu yöntemi mevcut klasik yöntemlere karşı güçlü bir alternatif olarak sunmaktadır (13-16).

Microscopic Observation Drug Susceptibility (MODS) ve Thin-layer agar (TLA) ile mikrokolonilerin tespit edilmesi

MODS (microscopic observation drug susceptibility) ve Thin-layer agar (TLA), kolonilerin mikroskobik gözlenmesi ile mikobakteri varlığını tespit etmeye olanak sağlayan gelecek vadeden iki yöntemdir. Her iki yöntemde de 1-2 hafta içinde koloniler mikroskopik olarak belirlenebilmekte ve mikroskobik koloni morfolojisine göre identifikasyonları da yapılabilmektedir (17).

Microscopic Observation Drug Susceptibility

Mikobakteri üremesini daha hızlı tespit etmek için Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri kullanılarak invert ışık mikroskobunda değerlendirmeye dayalı düşük maliyetli (her örnek için üç dolardan daha az) alternatif bir yöntemdir. Bu teknikte, anti-TB ilaçları içeren Middlebrook 7H9 besiyerine balgam örnekleri direkt olarak ekildikten sonra, üremenin kontrolü invert mikroskopta yapılır. MODS yöntemi; (1) M. tuberculosis'in sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha hızlı üremesi, (2) kord formasyonu, sıvı besiyerinde mikroskop altında kolonilerin daha erken dönemde tespiti, (3) bakteriyel üreme ile birlikte eş zamanlı anti-TB ilaç duyarlılığının belirlenmesi prensibine dayanmaktadır (18-20).

Güney Peru'da üç merkezde Mendoza ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; % 80'ni ARB pozitif örneklerde MODS için duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD %95, kontaminasyon %1.0-2.3, ortalama üreme süresi 9.9-12.9 gün olarak bildirilmiştir. Coronel ve ark. 'nın yaptığı çalışmada ise, MODS/GenoType MTBDRplus

sonuçları RIF için %97.4, %97.9, %97.1, INH için %94.7, %95.7 ve %94.6 oranda uyumlu bildirilmiştir (18-20). Peru'da yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada da, MODS tekniğinin (duyarlılık %97) otomatize mikobakteri kültür sistemlerinden ve LJ besiyerinden %10 daha fazla duyarlı olduğu bildirilmiştir (19).

Mikroskobik inceleme sonucu ARB'si pozitif olan Multi Drug Resistance (MDR) TB olgularında MODS'un duyarlılığı %87, özgüllüğü %95, direkt nitrat redüktaz testinin duyarlılığı %97, özgüllüğü %98, MODS ve nitrat redüktez testlerinin ortalama sonuçlanma süresinin 10 gün, LJ için ise 64 gün olduğu, nitrat redüktaz testinin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek, maliyetinin düşük (3.58 $) olduğu belirtilmiştir (MODS; 5.56 $, LJ; 4.12 $) (21)

Etiyopya'da, MGIT 960 yöntemi ile karşılaştırıldığında, MODS tekniği ile MDR TB saptanmasının MGIT 960'a benzer şekilde yedi gün sürdüğü, duyarlılığın %95, özgüllüğün ise %100 olduğu bildirilmiştir. MODS DST için kullanıldığında, M. tuberculossi izolasyonunu yedi günde, ilaç duyarlılığını ise (izolasyon dahil) 10 gün içersinde saptadığı bildirilmektedir (20)

Thin Layer Agar

M. tuberculosis üremesini erken dönemde mikroskobik olarak belirlemeye dayalı bir yöntemdir. MODS yöntemine benzemekle birlikte bu yöntemde sıvı besiyeri yerine Middlebrook 7H11 agar besiyeri kullanılmaktadır. 5 ml otoklavlanmış 7H11 besiyerine %10 OADC (oleic acid, albumin, dextrose, catalase) ve piperasilin (0.05µg/ml), trimetoprim (0.02µg/ml) ve amfotersin (0.02µg/ml) antibiyotikleri ilave edildikten sonra 60 mm x 15 mm'lik plastik petri kaplarına ince bir tabaka halinde dökülmektedir. Konsantre edilen örnekten 0.1 ml her iki TLA besiyerine inoküle edilir. Bütün petriler yapışkan bant ile kaplanarak 2 cm'lik aralıklar ile etüve yerleştirilir, 37ºC'de %5-8'lik CO_2'li ortamda 6 hafta kadar inkube edilir. Petriler mikroskopta (x10 büyütme) haftada iki kez mikrokoloniler (kord oluşumu) yönünden incelenir (17, 22). Yapılan çalışmalarda ARB pozitif ve negatif örneklerde TLA duyarlılığı sırasıyla %94.1-89.1, LJ duyarlılığı %90.4-70.9 olarak belirtilmiştir. TLA ortalama 7-11 günde, LJ ise ortalama 26-30 günde M. tuberculosis kültür pozitifliğini belirleyebilmektedir. MODS tekniğinde olduğu gibi TLA yönteminde de anti-TB ilaç duyarlılık testi yapılabilmektedir (23). MODS/TLA teknikleriyle yapılan 12 çalışmanın (MODS yöntemi ile 9 çalışma ve TLA ile 3 çalışma) kıyaslandığı meta-analiz çalışmasında kültür pozitifliğinin MODS'da ortalama 9.9 günde, TLA'da 11.1 günde belirlendiği, kontaminasyon oranlarının MODS da %7.4, TLA da ise %1.4 olduğu belirtilmiştir. Her iki yöntemde de duyarlılık ve özgüllük %95 olarak belirlenmiş, maliyetinin ucuz olması yönüyle konvansiyonel hızlı yöntemlere alternatif olabileceği vurgulanmıştır (24).

Ayrıca TLA besiyerinden, 500 µg/ml PNB (paranitrobenzoic acid) içeren ikinci bir set daha hazırlanarak MTC'in non-tüberküloz mikobakterilerden (NTM) ayrımını yapabilmektedir (17).

C. İMMÜNOLOJİK TEMELLİ YÖNTEMLER

1. Serolojik Testler

Serolojik testler nispeten basit, kullanımı kolay, pahalı olmayan ve kolay değerlendirilebilen testlerdir. Enfeksiyon bölgesinden örnek almayı gerektirmediklerinden ekstrapulmoner TB tanısında ve çocuklar ile düşkün hastalar gibi örneğin elde edilmesi için invaziv girişimlerin gerektiği hastalarda avantaj sağlayabilir. Ayrıca ucuz olmaları ve basit teknoloji gerektirmesi avantaj sağlamaktadır. Ancak, bu testlerin duyarlılığı yayma pozitif hastalarda yüksek olmasına rağmen çocuklarda, ekstrapulmoner TB olan kişilerde, HIV ile enfekte kişilerde ve yayma negatif hastalarda daha düşüktür. Latent enfeksiyon ile aktif TB hastalığını veya M. tuberculosis'i atipik mikobakterilerden güvenilir bir şekilde ayıramaz. Bu özellikleri testlerin kullanımını sınırlamaktadır. DSÖ'ne göre, TB tanısında kullanılacak bir serolojik testin duyarlılığı %80'nin; özgüllüğü ise %95'in üzerinde olmalıdır (25).

2. T hücre Testleri; İnterferon-gama Salınım Testleri

Dünya popülasyonunun 1/3'ü M. tuberculosis ile enfektedir. TB enfeksiyonu insidansının belirlenmesinde yaklaşık 100 yıldır tüberkülin deri testi (TDT) kullanılmaktadır. TDT M. tuberculosis'e karşı hücresel immuniteyi ölçen, gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonuna dayalı bir testtir. Bu testte kullanılan PPD (Purified Protein Derivative-saflaştırılmış protein derivesi) M. tuberculosis'e ait çok sayıda antijenin bir karışımıdır. Bu antijenler M. bovis ve pek çok atipik mikobakteri için de ortaktır. Bu nedenle BCG aşılı kişilerde ve atipik mikobakteri ile enfekte olanlarda çapraz reaksiyonlara bağlı yalancı pozitif TDT sonuçları alınabilmektedir. Ayrıca TDT immunsuprese bireylerde ve çocuklar gibi yüksek risk altındaki kişilerde sıklıkla negatif sonuçlar verebilmektedir. TDT'nin tanı değerindeki bu sınırlamalar, duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olması nedeniyle M. tuberculosis enfeksiyonunu belirlemede daha güvenilir immünolojik tanı testleri ihtiyacı doğurmuştur. Bu nedenle tanı amacıyla kullanılabilecek immünolojik temelli testlerde, aktif hastalık ile latent enfeksiyonu birbirinden ayırabilmesi, yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar vermemeleri başlıca aranacak özelliklerdir. Günümüzde TDT'ne alternatif olarak M. tuberculosis antijenlerine karşı in vitro interferon-gama (IFN-γ) salınım testleri (İGST) gibi T hücre temelli yöntemler geliştirilmiştir. İGST önceden duyarlı hale gelmiş lenfositlerin M. tuberculosis'e spesifik ESAT-6 (early secretory antigenic target protein-6) ve CFP-10 (culture filtrate protein-10) proteinlerine cevaben ürettiği IFN-γ yapımını kantitatif olarak ölçülebilmektedir. Bu iki protein M. tuberculosis'in RD1 bölgesi (Region of difference 1) tarafından kodlanır ve M. bovis BCG suşu ile atipik mikobakterilerin çoğunda (M. marinum, M. szulgai, M. kansasii, M. flavescens hariç) yoktur (1, 10, 25, 26).

Günümüzde IFN-γ yapımını kantitatif olarak ölçebilen QuantiFERON-TB Gold (Cellestin Ltd, Avusturalya) testi ve T SPOT TB (Oxford Immunotec, Oxford, UK) testi olmak üzere FDA onaylı iki adet ticari kit bulunmaktadır. QuantiFERON-TB Gold kitleri tam kandan ELISA yöntemi ile IFN-γ düzeyini saptarken, T SPOT

TB'de ise IFN-γ üreten periferal kan mononükleer hücrelerini kullanarak antijene spesifik T hücrelerini tek tek sayan enzim-linked-immunospot (ELISPOT) tekniğini uygulamaktadır (25, 26).

İGST'inin en önemli avantajları BCG ile aşılanmadan etkilenmemeleri, önceden geçirilen atipik mikobakteri enfeksiyonundan çok az etkilenmeleri, önemli dezavantajı ise yüksek maliyeti, taze venöz kan gereksinimidir. İGST, TDT'de olduğu gibi latent TB ve aktif TB ayrımı yapmamakta ve aktif hastalığın seyrini izlemede yeterli fikir verememektedir (1, 27).

İGST'nin tanısal performanslarına yönelik çeşitli meta-analiz çalışmalarında bu testlerin TDT'ne göre daha yüksek özgüllüğe sahip olduğu M. tuberculosis'e maruz kalmayla daha iyi bir korelasyon gösterdiği bildirilmektedir. IGST'nin aktif TB tanısında özgüllüğü yüksek olmakla birlikte duyarlılığının düşük ya da değişken olduğu, rutin uygulamada tek başına kullanılabilecek düzeyde olmadığı (latent TB ve aktif TB ayrımını yapamamakta) sonucu vurgulanmaktadır (27).

D. MOLEKÜLER YÖNTEMLER

TB'un kesin tanısı hastalardan alınan örneklerde TB basilinin gösterilmesiyle konur. Bu çok uzun yıllardan beri mikroskopla inceleme ve kültüre dayanmıştır. Kültür ile sonucun 2-6 haftada alınması, mikroskopla incelemenin duyarlılığının düşük olması nedeniyle araştırmacılar yıllardır TB tanısı için hızlı ve duyarlı yeni inceleme yöntemleri geliştirmeye çalışmışlardır. TB'un asıl sorun olduğu ülkelerin, ekonomik düzeyi düşük, laboratuvar olanakları yetersiz ülkeler olduğu düşünüldüğünde TB tanısı için geliştirilen alternatif tanı yöntemlerinin hızlı, duyarlı, kolay uygulanabilir, güvenilir olması yanı sıra ucuz olması da gerekmektedir. Sıvı bazlı otomatize kültür sistemleri geleneksel kültür yöntemlerine göre daha kısa sürede sonuç verebildikleri için yaygın olarak kullanılsa da TB tanısının 1-2 gün gibi kısa bir sürede konulabilmesi tedavi açısından çok önemlidir. Center for Disease Control (CDC), 2010 yılına kadar TB vakalarının %75'inin 48 saat içerisinde tanısına yönelik halk sağlığı hedeflerine ulaşabilmesi için mikobakteriyoloji laboratuvarlarında kullanılan standart tanısal testlere ilaveten M. tuberculosis'in hızlı tanısı için mevcut en hızlı yöntemlerin kullanılmasını önermiştir. CDC'nin önerileri doğrultusunda üreticiler tarafından özellikle son 20 yıl içinde hasta örneklerinden ve kültür ortamlarından tanıya yönelik hızlı sonuç verebilen ve kolay uygulanabilir özelliğe sahip birçok tanı sistemleri ve test teknikleri geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Moleküler yöntemler hedeflenen ihtiyaçları karşılamak için ümit verici en iyi adaylar olarak değerlendirilmektedir. Bu amaçla en sık nükleik asit amplifikasyon (NAA) (seçilmiş bir gen bölgesinin dış ortamda kısa sürede çoğaltılması ve görüntülenmesi) temelli moleküler tanı yöntemleri uygulanmaktadır. Ancak rutin uygulamada klinik örnek türü, içerdiği basil sayısı testlerin tanısal performanslarını etkilemektedir. TB tanısında kullanılan moleküler yöntemlerin özgüllükleri birçok çalışmada yüksek bulunurken, duyarlılık sonuçları uygulanan yönteme göre farklılıklar göstermektedir. Duyarlılığı etkileyen en önemli parametreler; klinik örnek türü (solunum yolu örneklerinde duyarlılık yüksekken, solunum yolu dışı örneklerde duyarlılık düşük) ve örneğin yayma pozitif/negatif (yayma pozitif örneklerde duyarlılık yüksek, yayma negatif örneklerde duyarlılık düşük) olmasıdır. Konvansiyonel tanının yetersiz kaldığı örneklerde moleküler yöntemlerinde duyarlılığının düşük olması rutin laboratuvar tanıda moleküler yöntemlerin kullanımı tartışmalı hale getirmektedir. Yayma negatif solunum yolu örnekleri ile solunum yolu dışı örneklerde duyarlılıkların düşük olması, çok az basil içeren örneklerin dekontaminasyon sırasında basillerin kaybedilmesi bu testlerde yalancı negatif sonuçlara, tedavi alan hastalarda canlı/ölü basil ayrımını yapamadığı için yanlış pozitif sonuçlara neden olmaktadır (5, 28, 29, 30). Moleküler yöntemler; klinik örnekten M. tuberculosis varlığını araştırmak amacıyla, kültürde üreyen mikobakterilerin kısa sürede tür düzeyinde tanımlanmasında ve anti-TB ilaçlara karşı direnç ile ilişkili mutasyonların belirlenmesinde kullanılmaktadır. NAA temelli en eski ve bilinen yöntem laboratuvar koşullarında uygulanan polimeraz zincir reaksiyonu (in-house PZR) tekniğidir. Ticari NAA testlerinin dışında TB'lu hastaların erken tanısını desteklemek veya araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Ancak standardizasyon eksiklikleri ve alt yapı koşullarının birçok laboratuvarda yetersiz olmasından dolayı çoğunlukla referans laboratuvarlarda yada araştırma amaçlı uygulanmaktadır. Yayma pozitif solunum yolu örnekleri için FDA onayı almış ticari moleküler PZR temelli bir sistem AMPLICOR MTB (Roche Diagnostic System, Branchburg, NJ) testi ve yayma negatif solunum yolu örnekleri içinde FDA onayı almış Transkripsiyon temelli amplifikasyon (TMA) yöntemi Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test (Gen-Probe, San Diego) birçok kurumda konvansiyonel yöntemleri desteklemek ve M. tuberculosis'in hızlı tanısı amacıyla laboratuvar kullanımına girmiştir. Bunun yanı sıra FDA onaylı olmamakla birlikte uluslar arası kabul gören diğer kuruluşlardan onay almış (CE belgeli), izotermal Dizi Yer Değiştirme Amplifikasyonu (Strand Displacement Amplification-SDA) esaslı BD ProbeTecTMET MTB Direct Detection Test (Becton Dickinson, Sparks, Md) en yaygın olarak kullanımdaki diğer ticari moleküler tanı sistemidir. Benzer amaçla kullanımı gittikçe yaygınlık kazanmaya başlayan NAA esasına dayalı bir diğer yöntem olan Real Time PZR (LightCycler-Roche, iCycler iQ-BioRad, ABİ 7700-Applied Biosystem) sistemleri ile uyumlu ticari kitler ve DNA STRIP® teknolojisi ile üretilen, Nükleik Asit Dizi Bazlı Amplifikasyon (Nucleic Acid Sequence-based Aplification-NASBA) tekniği esasına dayalı GenoType® Mycobacteria Direct test stripleri (Hain Lifescience, Germany) günümüz laboratuvarlarında hasta örneğinden TB tanısı için kullanılmaktadır (1, 4). Son yıllarda TB'un rutin laboratuvar tanısında güvenle kullanılabilecek moleküler yöntem için arayışlar hızla devam etmektedir. Bunlardan hasta örneklerinden çalışılarak klinik tanıyı desteklemede büyük bir umut olmayı hedefleyen diğer yeni hızlı TB moleküler tanı testleri arasında Xpert MTB/RIF (GeneXpert, Cepheid) ilmiğe dayalı çoğaltma (loop mediated amplification-LAMP) testi, DNA Chip teknolojisi ürünleri (microarray, Infiniti) ile son yıllarda geliştirilen ve MTC'in 16S rRNA'larını hedef alan floresanla işaretli peptit nükleik asit propları kullanılarak doku ve klinik

örneklerde tür düzeyinde saptama ve tanımlama yapabilen "peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization" (PNA-FISH) yöntemi söylenebilir (1, 3)

Xpert MTB/RIF

TB tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve pahalı olmayan yöntemlerin geliştirilmesi amacıyla DSÖ'nün destekleriyle Foundation for Innovative New Diagnostic (FIND) kuruluşu University of Medicine and Dentistry of New Jersy ve özel bir şirket (Cepheid) işbirliği ile Xpert MTB/RIF test geliştirilmiştir. Son yıllarda geliştirilen TB PZR testleri içinde en umut vadeden yöntem olarak sunulmaktadır (1, 5).

Bu yöntem ile iki saat içerisinde örnekte M. tuberculosis varlığı ve aynı zamanda rifampin direnci olup olmadığı saptanabilmektedir. Cepheid GeneXpert sisteminde çalışılan Xpert MTB/RIF testi, "semi-kantitatif nested real-time PCR" yöntemi ile çalışmaktadır. Nükleik asit izolasyonu, amplifikasyon ve mutasyon saptama işlemleri tek bir kartuş içerisinde gerçekleşmektedir. Direkt veya homojenizasyon-dekontaminasyon sonrası konsantre edilen balgam örneklerinden MTC DNA'sını tespit edebilmektedir. Yayma negatif veya pozitif örneklerden çalışılabilmektedir. Test ayrıca rifampisin direnci yönünden risk taşıyan hasta örneklerinde etkenin rifampisin direnci ile ilişkili rpoB gen bölgesindeki mutasyonları tespit edebilmektedir. Xpert MTB/RIF testinde duyarlılığı arttırmak için, 3 spesifik primer ve beş farklı prob kullanılmaktadır. Primerler, 81 baz çift (base pair-bp)'lik kor bölgesini içeren rpoB genini amplifye etmektedir. Problar ise, kor bölgesindeki "wild"-tip dizileri ve RIF direnci ile ilişkili mutasyonları ayırabilmektedir. Üretici firma tarafından Xpert MTB/RIF sistemi ile bakteri varlığının saptanmasında alt sınır, 131 cfu/ml olarak bildirilmektedir. Ayrıca, sistem RIF direncinden yaygın olarak sorumlu olan 23 farklı mutasyonun test edilmesine olanak sağlamaktadır (30).

Xpert MTB/RIF testinin performansı üzerinde yapılan çalışmalarda testin duyarlılığı yayma pozitif TB'lu hastalarda %98.2 ve yayma negatif TB'lu hastalarda ise ilk örnekte %72.5, üç örnekte toplam %90.2; testin özgüllüğü %99.2 olarak bildirilmiş, kültür sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde genel olarak uyumu %89 olarak bulunmuştur. Testin solunum yolu dışı örneklerdeki performansına bakıldığında; duyarlılığı genel olarak %53-77.3, özgüllüğü %95.9-100 olarak bildirilmiştir (31).

Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

TB tanısında geliştirilen moleküler yöntemlerden biri de FISH yöntemidir. Yöntem rRNA'yı hedef alan floresanla işaretli problar kullanılarak hem direkt klinik örneklerden hem de kültürden Mycobacterium spp. identifikasyonuna olanak sağlayan hızlı, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan kolay bir yöntemdir. Son yıllarda FISH yönteminde kullanılan oligonükleotid probların yanı sıra peptit nükleik asit (PNA) problar kullanılarak cins düzeyindeki tanımlamaya ek olarak, türe spesifik prob çeşitliliğinde artış olmuş ve MTC,NTM, M. avium, M. leprae, M. kansasii ve M. immunogenum gibi türlerin identifikasyonu olanaklı hale gelmiştir. Yine yakın zamanda Kerns ve arkadaşları in vitro yaptıkları çalışmada biyofilmdeki M. tuberculosis basillerinin aktif ve aktif olmayan (dormant) şekillerini ayırt edebilen prob geliştirmişler ve düşük metabolik aktivitelerinden dolayı antibiyotik tedavisine dirençli olan bu basillerin metabolik olarak aktif basillerden ayırt edilebileceğini göstermişlerdir (32-34). Laboratuvarımızda otomatize kültür sistemi (MGIT 960) pozitif örneklerden Oligo ve PNA-FISH yöntemiyle yaptığımız identifikasyonda Oligo-FISH'in duyarlılığı %96.6, özgüllüğü, PPD ve NPD %100, PNA-FISH'in ise duyarlılığı %91.5, özgüllüğü ve PPD %100, NPV %91.4 olarak belirlenmiştir (35). Bu konuda in vivo yapılacak çalışmalar TB tanı ve tedavisine önemli katkı sağlayabilecektir.

E. İLAÇ DİRENCİNİN SAPTANMASINDAKİ GELİŞMELER

M. tuberculosis tanısında, en heyecan verici gelişmelerden birisi moleküler yöntemlerin kullanıldığı hızlı ilaç duyarlılık testleri (Drug Susceptibility Test-DST)'dir. M. tuberculosis yavaş üreyen bir organizma olup izolasyon ve geleneksel ilaç duyarlılık testleri en az üç hafta içinde sonuçlanabilmektedir. Bu sebeple son yıllarda mikobakterilerin tür identifikasyon ve ilaç duyarlılıklarının hızı tespiti için birçok moleküler yöntem geliştirilmiştir. Moleküler teknikler bir iş günü içinde M. tuberculosis klinik izolatlarında ilaç direncinin tahmin edilmesini sağlamaktadır (36).

TB tedavisinde artan MDR vakalardan dolayı DSÖ DST üzerinde yoğunlaşmıştır. MDR M. tuberculosis birinci seçenek ilaçlardan rifampin (RIF) ve izoniazid (INH) dirençlidir. Rifampin, rifamisin olup, DNA bağımlı RNA polimerazı inhibe eder ve RIF dirençli izolatların %96'sında 81 bp'de rpoB hotspot'u bulunmaktadır. INH mikolik asit sentezindeki yolakları inhibe ederek mikobakterilerin replikasyonunu durduran bir bakterisidaldır. INH MTB enzimi, katG, mikobakteriyel katalaz peroksidaz ile aktive edilir ve bunun sonucunda oluşan reaktif ara ürünler mikolik sentezini sağlayan inhA, anol açil taşıyıcı protein redüktaz gibi çeşitli bölgeleri inhibe eder (5).

Son yıllarda geliştirilen yöntemlerle direkt olarak klinik örneklerden de moleküler yöntemlerle ilaç direnci saptanabilmektedir. Bu nedenle konvansiyonel ilaç duyarlılık yöntemleriyle karşılaştırıldıklarında moleküler teknikler otomatize uygulanabilmekte ve testlerin sonuçlanması için geçen süre haftalardan saatlere kadar inmektedir. Birden fazla gen bölgesinin dirençten sorumlu olduğu durumlarda her bir direnç geni için ayrı işlem yapılmasının gerekmesi ve dirence yol açmayan sessiz mutasyonların saptanması, ilaç direncine yol açan bilinmeyen mutasyonların saptanamaması, pahalı olmaları ve cihaz gerektirmeleri bu tekniklerde görülen önemli dezavantajlardır. Bu nedenle hiçbir moleküler teknik fenotipik duyarlılık testlerin yerine kullanılmamalı ve moleküler yöntemlerle elde edilen sonuçlar mutlaka fenotipik duyarlılık testleriyle doğrulanmalıdır. Bu amaçla kullanılan genotipik yöntemlerde esas, genomik DNA'nın elde edilmesi, hedef DNA'nın çoğaltılması ve çoğaltılan bu DNA'daki mutasyonların saptanmasıdır.

M. tuberculosis'in ilaç direncinin moleküler temeli yeni hızlı tanısal testlerin ortaya çıkarılmasını olanaklı hale getirmiştir. INNO-LiPARif TB (Innogenetics, Ghent, Belgium) ve Genotype MTBDR (Hain Lifescience, Nehren, Germany) DNA strip testleri ticari olarak temin edilen hızlı testler olup, multipleks PZR ve (wild-tip ve spesifik mutasyona uğramış suşların ayrımını yapan) ters hibridizasyon temeline dayanmaktadır. Bu testler M. tuberculosis izolatlarında RIF direncine sebep olan mutasyonların çoğunluğunu ve INH direncine sebep olan mutasyonların büyük bir kısmının tespit edilmesini sağlamaktadır (36).

Genotype MTBDR testi rpoB ve katG gen bölgelerindeki nokta mutasyonlarının varlığını tespit edebilen ve multipleks PZR ile bu reaksiyon ürünlerinin spesifik DNA dizileri ile kaplı membran stipleri ile ters hibridizasyonuna dayanan hızlı moleküler bir testtir. Bu test rpoB geninin 81 bp'lik "hot spot" bölgesindeki en sık ortaya çıkarılan dört farklı mutasyonu (D516V, H526Y, H526D ve S531L) ve katG gen bölgesi kodon 315'deki iki farklı mutasyonu (S315T1/2) tespit edebilmektedir. Bu test dışında, PZR ve ters hibridizasyon temeline dayanan başka bir DNA membran strip testi olan INNO-LIPA Rif TB de son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu test ile sadece rpoB gen bölgesindeki mutasyonların varlığı değerlendirilebilmektedir. Bu sebeple Genotype MTBDR testi RIF ve INH'e karşı direnci aynı anda tespit edilebilme avantajına sahiptir (36).

TB insidansının yüksek olduğu bölgelerde kültür ve yayma pozitif klinik örneklerde, DSÖ LİPA yöntemini önermektedir. Ancak LİPA şu an FDA onaylı bir yöntem değildir.

MDR prevelansının yüksek olduğu bölgelerde farklı populasyonlarda tek başına RIF direnci oranı değişse de, INH direnci ile birlikte RIF direnci örneklerin %90'nında görülmektedir. Bu nedenle, INNO-LİPARif TB yöntemi RIF direnci üzerinde yoğunlaşmış olup MDR TB direncini belirlemede primer markır olarak kullanılmaktadır. Özellikle INNO-LİPARif TB kiti M. tuberculosis'i ve RIF direncini aynı zamanda saptayabilmektedir (5). Morgan ve ark. 15 araştırmayı dahil ettikleri meta-analiz çalışmasında duyarlılığı %82 ile %100 ve özgüllüğü %92 ile %100 olarak bildirmişlerdir. Bunun aksine, klinik örnekler direkt kitle incelendiğinde duyarlılık oranı % 80 ile % 100 iken özgüllük % 100 olarak saptanmıştır (37).

GenoTypeMTBDRplus tekniği, yüksek düzeyde dirençli katG ve inhA promotor bölgesinde de düşük direnci içeren hem RIF hem de INH direncini saptayabilmektedir. Ling ve ark. yaptığı meta-analiz çalışmasında hem birinci hem de ikinci kuşak MTBDR yöntemleri değerlendirilmiştir. Çalışmada kültür izolatlarının yanı sıra balgam izolatlarıda yer almaktadır. MTBDRplus yönteminde RIF direncinin belirlenmesinde duyarlılık %98.4, özgüllük %98.9 olarak bildirilmiştir. Bu oranların sadece klinik örneklerin değerlendirildiği çalışmalara bakıldığında değişmediği bildirilmiştir. Bunun aksine, MTBDRplus INH direncini saptamada daha fazlaçapraz heterojenite testi bulunmaktadır, bunlardaki duyarlılık %88.7, özgüllük %99.2 olarak bulunmuştur. MDRTB ve MTBDRplus teknikleri ile klinik örneklerde INH direncinin saptanmasında duyarlılık %84'e kadar yükselmektedir. Ling ve Barnard tarafından Cape Town, Güney Afrika gibi TB'un endemik olduğu bölgelerde yapılan çalışmalar önemini korumaktadır. Bu testin performansı bu bölgelerde mükemmel olarak bildirilmiş olup, duyarlık ve özgüllük %98/94 ve %99/99 olarak belirlenmiştir. Bunun aksine, Lacoma ve ark. tarafından İspanya'da yapılan çalışmada, GenoTypeMTBDRplus yönteminde INH duyarlılığı %73 olup, yanlış negatifliğin çeşitli izolatlarda direncin katG hotspot bölgesi dışındaki bir bölgeden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ancak, LİPA yöntemi ile ilgili iyimserlik devam etmekte olup, MTB prevelansının yüksek olduğu bölgelerde bu teknoloji üzerinde yapılan çalışmalar devam etmektedir (38).

İlaç direncinin hızlı bir şekilde saptanması için moleküler belirteçlerin kullanılması alternatif bir yöntemdir. Bu kolorimetrik indikatörler test sonuçlarının yorumlanmasını kolaylaştırdığı için dikkat çekicidir. Moleküler belirteçler, U şeklinde intrinsik florofor içeren DNA problarıdır. Bu problar komplementer bir diziye bağlandıklarında, florofor kısımda konformasyonel bir değişiklik olur ve florofor bağlı bulunduğu bölgeden salınarak kolorimetrik olarak sinyal alınır. Lin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, bu moleküler belirteçlerin balgam örneklerinde RIF direncini saptamadaki duyarlılığı ve özgüllüğü % 97 ve %100, INH direncini saptamadaki duyarlılığı ve özgüllüğü % 82 ve %100 olarak bildirilmiştir (39). Buna ek olarak yayma negatif, kültür pozitif olan klinik izolatlarda bilgi verici oldukları belirlenmiştir. Bu moleküler belirteçler araştırma aşamasında olup, FDA onaylı değillerdir. Xpert MTB/RIF sisteminde (Cepheid Inc. Sunnyvale,California, USA) iki saat içerisinde örnekte M. tuberculosis varlığı ve aynı zamanda RIF direnci olup olmadığını "semi-nested real-time PCR" yöntemi kullanarak saptayabilmektedir (30). Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda bu teknolojinin TB'un moleküler tanı ve tedavisinin yönlendirilmesinde mevcut testlerden daha yüksek tanısal performansa sahip olduğu bildirilmektedir.

Maalesef hiçbir laboratuvar testi %100 güvenilir değildir. Fenotipik, immunolojik ve moleküler testler de buna dahildir. Örneğin, direncin moleküler olarak tespiti, dirence sebep olan mutasyonların varlığına bağlıdır. Dirençte başka mekanizmalar gelişmiş olabilir veya mutasyonlar kullanılan testin tasarlandığı hedef bölgelerin dışında meydana gelmiş olabilir. Direncin fenotipik olarak belirlenmesi ise çok yavaştır ve kontaminasyonlara çok açıktır. TB tanısında mevcut durum göz önüne alındığında, floresan mikroskopi kullanarak yaymaların incelenmesi, sıvı kültür yöntemleri ve M. tuberculosis'i NTM'lerden hızla ayıran moleküler tespit yöntemleri gibi birden fazla testin kombinasyonu, hasta bakımından güvenilir ve doğru sonuçların alınması için gereklidir. Ayrıca MDR TB'un yaygın olduğu bölgelerde hızlı moleküler duyarlılık testlerinin kullanımı erken tedavi ve bulaşın önlenmesinde faydalı olacaktır.

TB tanısında konvansiyonel tanı yöntemlerine alternatif, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve pahalı olmayan yöntemlerin geliştirilmesi çalışmaları sürmekte olup önümüzdeki yıllarda bu

konuda umut verici tanı yöntemlerinin rutin laboratuvar uygulamalarında önemli yer alacağı, TB morbidite ve mortalitesini azaltacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Nyendak MR, Lewinsohn DA, Lewinsohn DM. New diagnostic methods for tuberculosis. Curr Opin Infect Dis.2009,22(2):174-82.
2. Lange C, Mori T. Advances in the diagnosis of tuberculosis. Respirology. 2010, 15(2):220-40.
3. Özyurt M. Akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısında moleküler yöntemlerin kullanımı. VI. Tüberküloz Sempozyumu 25-26 Mayıs 2011, İzmir s:108-118
4. Dorman SE. New diagnostic tests for tuberculosis: bench, bedside, and beyond. Clin Infect Dis. 2010, 3:173-7.
5. Parrish NM, Carroll KC. Role of the clinical mycobacteriology laboratory in diagnosis and management of tuberculosis in low-prevalence settings. J Clin Microbiol. 2011, 49(3):772-6.
6. Alp A. Tüberküloz laboratuar tanısında güncel durum. Hacettepe Tıp Dergisi 2011; 42: 28-33
7. Albert H, Manabe Y, Lukyamuzi G, Ademun P, Mukkada S, Nyesiga B, Joloba M, Paramasivan CN, Perkins MD. Performance of three LED-based fluorescence microscopy systems for detection of tuberculosis in Uganda. PLoS One. 2010 28;5(12):e15206.
8. Steingart KR, Henry M, Ng V, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, Urbanczik R, Perkins M, Aziz MA, Pai M. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2006, 6(9):570-81.
9. Hung NV, Sy DN, Anthony RM, Cobelens FG, van Soolingen D. Fluorescence microscopy for tuberculosis diagnosis. Lancet Infect Dis. 2007,7(4):238-9;
10. Dinnes J, Deeks J, Kunst H, Gibson A, Cummins E, Waugh N, Drobniewski F, Lalvani A. A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection. Health Technol Assess. 2007, 11(3):1-196.
11. Palomino JC, Martin A, Von Groll A, Portaels F. Rapid culture-based methods for drug-resistance detection in Mycobacterium tuberculosis. J Microbiol Methods. 2008 Oct;75(2):161-6. Epub 2008 Jun 25. Review.
12. Anonymous. Becton Dickinson: Package Insert BACTEC MGIT 960 SIRE KIT; 2007.
13. Braissant O, Wirz D, Göpfert B, Daniels AU. "The heat is on": rapid microcalorimetric detection of mycobacteria in culture. Tuberculosis (Edinb). 2010:90(1):57-9.
14. Braissant O, Wirz D, Göpfert B, Daniels AU. Use of isothermal microcalorimetry to monitor microbial activities. FEMS Microbiol Lett. 2010:303(1):1-8.
15. Von Ah U, Wirz D, Daniels AU. Rapid differentiation of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus from methicillin-resistant S. aureus and MIC determinations by isothermal microcalorimetry. J Clin Microbiol. 2008:46(6):2083-7.
16. Rodríguez D, Daniels AU, Urrusti JL, Wirz D, Braissant O. Evaluation of a low-cost calorimetric approach for rapid detection of tuberculosis and other mycobacteria in culture. J Appl Microbiol. 2011:111(4):1016-24.
17. Satti L, Ikram A, Abbasi S, Malik N, Mirza IA, Martin A. Evaluation of thin-layer agar 7H11 for the isolation of Mycobacterium tuberculosis complex. Int J Tuberc Lung Dis. 2010;14(10):1354-6.
18. Mendoza A, Castillo E, Gamarra N, Huamán T, Perea M, Monroi Y, Salazar R, Coronel J, Acurio M, Obregón G, Roper M, Bonilla C, Asencios L, Moore DA. Reliability of the MODS assay decentralisation process in three health regions in Peru. Int J Tuberc Lung Dis. 2011, 5(2):217-22
19. Coronel J, Roper M, Mitchell S, Castillo E, Gamarra N, Drobniewski F, Luna G, Mendoza A, Moore DA. MODS accreditation process for regional reference laboratories in Peru: validation by GenoType® MTBDRplus. Int J Tuberc Lung Dis. 2010, 14(11):1475-80.
20. Limaye K, Kanade S, Nataraj G, Mehta P. Utility of Microscopic Observation of Drug Susceptibility (MODS) assay for Mycobacterium tuberculosis in resource constrained settings. Indian J Tuberc. 2010 57(4):207-12.
21. Bwanga F, Haile M, Joloba ML, Ochom E, Hoffner S. Direct nitrate reductase assay versus microscopic observation drug susceptibility test for rapid detection of MDR-TB in Uganda. PLoS One. 2011, 6(5):e19565.
22. Robledo JA, Mejía GI, Morcillo N, Chacón L, Camacho M, Luna J, Zurita J, Bodon A, Velasco M, Palomino JC, Martin A, Portaels F. Evaluation of a rapid culture method for tuberculosis diagnosis: a Latin American multi-center study. Int J Tuberc Lung Dis. 2006, 10(6):613-9.
23. Martin A, Munga Waweru P, Babu Okatch F, Amondi Ouma N, Bonte L, Varaine F, Portaels F. Implementation of the thin layer agar method for diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in a setting with a high prevalence of human immunodeficiency virus infection in Homa Bay, Kenya. J Clin Microbiol. 2009, 47(8):2632-4.
24. Minion J, Leung E, Menzies D, Pai M. Microscopic-observation drug susceptibility and thin layer agar assays for the detection of drug resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2010, 10(10):688-98.
25. Erturan Z. Tüberkülozda diğer hızlı tanı testleri. Özkara Ş, Kılıçaslan Z (editörler) Tüberküloz. Toraks Kitapları Sayı 11; s134-148 Ekim 2010

26. Özkütük N. İnterferon gama salınım(IGRA) testlerinin prensipleri ve uygulamaları. VI. Tüberküloz Sempozyumu 25-26 Mayıs 2011, İzmir s:129-133
27. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Ann Intern Med. 2007, 6;146(5):340-54.
28. Kocagöz T. Tüberküloz tanısında moleküler yöntemler. Özkara Ş, Kılıçaslan Z (editörler) Tüberküloz.Toraks Kitapları Sayı 11; s:118-133 Ekim 2010
29. Boehme CC, Nabeta P, Henostroza G, Raqib R, Rahim Z, Gerhardt M, Sanga E, Hoelscher M, Notomi T, Hase T, Perkins MD. Operational feasibility of using loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of pulmonary tuberculosis in microscopy centers of developing countries. J Clin Microbiol. 2007, 45(6):1936-40.
30. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, Gler MT, Blakemore R, Worodria W, Gray C, Huang L, Caceres T, Mehdiyev R, Raymond L, Whitelaw A, Sagadevan K, Alexander H, Albert H, Cobelens F, Cox H, Alland D, Perkins MD. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. Lancet. 2011 30;377(9776):1495-505.
31. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, Allen J, Tahirli R, Blakemore R, Rustomjee R, Milovic A, Jones M, O'Brien SM, Persing DH, Ruesch-Gerdes S, Gotuzzo E, Rodrigues C, Alland D, Perkins MD.Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med. 2010, 9;363(11):1005-15.
32. Stender H, Mollerup TA, Lund K, Petersen KH, Hongmanee P, Godtfredsen SE. Direct detection and identification of Mycobacterium tuberculosis in smear-positive sputum samples by fluorescence in situ hybridization (FISH) using peptide nucleic acid (PNA) probes. Int J Tuberc Lung Dis. 1999:3(9):830-7.
33. Lefmann M, Schweickert B, Buchholz P, Göbel UB, Ulrichs T, Seiler P, Theegarten D, Moter A. Evaluation of peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization for identification of clinically relevant mycobacteria in clinical specimens and tissue sections. J Clin Microbiol. 2006:44(10):3760-7.
34. Selvaraju SB, Kapoor R, Yadav JS. Peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization (PNA-FISH) assay for specific detection of Mycobacterium immunogenum and DNA-FISH assay for analysis of pseudomonads in metalworking fluids and sputum. Mol Cell Probes. 2008:22(5-6):273-80.
35. Börekçi G, Aslan G, Aydın E, Fiandaca MJ, Stender H, Lee NM, Özkul Y, Emekdaş G. MGIT pozitif kültürlerden Mycobacterıum spp.'nin Oligo ve PNA-FISH yöntemiyle identifikasyonu. Trabzon Mikobakteri Günleri Sempozyumu, 04-07 Kasım 2009. Trabzon, s.148.
36. Miotto P, Piana F, Penati V, Canducci F, Migliori G B, Cirillo D M. Use of genotype MTBDR assay for molecular detection of rifampin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis clinical strains isolated in Italy. J Clin Microbiol 2006; 44(7): 2485–2491.
37. Morgan M, Kalantri S, Flores L, Pai M. A commercial line probe assay for the rapid detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2005, 28;5:62.
38. Ling DI, Flores LL, Riley LW, Pai M. Commercial nucleic-acid amplification tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis in respiratory specimens: meta-analysis and meta-regression. PLoS One. 2008 Feb 6;3(2):e1536.
39. Lin SY, Desmond E, Bonato D, Gross W, Siddiqi S. Multicenter evaluation of Bactec MGIT 960 system for second-line drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex. J Clin Microbiol. 2009, 47(11):3630-4.

ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİNDE EUCAST MI CLSI MI? GRAM NEGATİF BAKTERİLER

Zeynep GÜLAY
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT) Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarının, enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde yarar sağlaması beklenen en önemli uygulamalarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde ADT ile ilgili standartları belirleyen iki (uluslar arası) komite bulunmaktadır. Bunlardan ilki ABD'deki CLSI, diğeri de Avrupa'daki EUCAST'tır. Bu iki kuruluş, Duyarlı (S), Dirençli (R) ve Ortada (I) kategorileri için sınır değerlerini:

- MİK dağılım sıklığı analizi,
- Bilinen bir direnç mekanizması bulunan/bulunmayan izolatlarda MİK dağılımının saptanması,
- Antibiyotik tedavisi uygulanan hastalarda ulaşılacak antibiyotik düzeylerine göre MİK düzeylerinin değerlendirilmesi (yani ilacın farmakokinetik (PK) ve farmakodinamik (PD) özellikleri),
- Klinik korelasyon (hastadaki yanıt ve etken mikroorganizmanın MİK düzeylerinin karşılaştırılması) gibi kriterlere bakarak belirlemektedir.

Günümüzde bu iki standart arasında halen farklılık bulunmakla birlikte son yıllarda ortak toplantılar ile sınır değerleri ve uygulama standartları birbirine yaklaştırılmaktadır.

Bu konuşmada Gram negatif bakteriler için CLSI ve EUCAST standartları ile değişik durumlardaki yaklaşımları interaktif olarak ele alınacaktır. Bu amaçla olgu sunumları da kullanılarak birkaç soru üzerinde durulacaktır:

1. Belirlenen bir MİK veya inhibisyon zon değeri her iki standartta da aynı kategoriye mi karşılık gelmektedir ? Klinisyene raporlamada fark oluşmakta mıdır?
2. In vitro duyarlılık testinin klinik korelasyonu nedir? Bir başka deyişle ADT, tedavi sonuçlarını kesin olarak belirleyebilir mi?
3. Moleküler yöntemler ADT'nin yerini almalı mı?

Kaynaklar

1. CLSI. Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty –first Informational Supplement. CLSI Document M100-S21. Wayne PA: Clinical Laboratory Institute, 2011
2. www.eucast.org (serbest erişimli site)
3. Daikos GL, Markogiannis A. Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: (when) might we still consider treating with carbapenems?. Clin Microbiol Infect 2011; 17:1135-1141

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARININ TASARIMI

Mustafa BERKTAŞ
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları (KML); enfeksiyon hastalıklarının hızlı, doğru tanısını koymak ve doğru tanıya yönlendirmek için, örnek alımından sonuç verme aşamasına kadar klinisyenlerle işbirliği içerisinde ve hastane enfeksiyonlarının kontrolü için gerekli donanıma sahip bulundurulmalıdır. Tüm bunları gerçekleştirmek için klinik mikrobiyoloji laboratuvarları uygun şekilde tasarlanmış olmalıdır.

Yeni laboratuvar tasarlanırken veya var olan bir laboratuvar yeniden planlanırken çalışma zamanının tümünü veya çoğunu orada geçiren çalışanların gereksinimlerini de karşılamak zorundadır. İyi tasarlanmış bir laboratuvar, çalışanların moralini ve üretkenliğini arttırır, laboratuvar hatalarını azaltır, iş yerinde devamlılığı ve verimi arttırır. Bunun bir sonucu olarak sonuç verme süresi azalır.

Bir laboratuvar tasarlanırken laboratuvarın bugünkü ve gelecekteki gereksinimlerinin yanında, bu gereksinimleri karşılayacak kaynakları gerçekçi ve kesin olarak değerlendirmek gereklidir. Hastane laboratuvarı yapımı pahalı olup laboratuvarı önceden tasarlayıp, daha sonra bütçe ve yer tahsisindeki değişiklikler nedeniyle tamamını ya da bir kısmını yeniden projelendirmek maliyeti yükseltir. Bir binayı yenilemeye çalışmak, yeni bir bina yapmaktan daha pahalıya gelebilir. Bu nedenle baştan uygun bir projeye yatırım yapılması, işlevsel bir laboratuvar sağlamak bakımından en ekonomik yaklaşımdır.

Klinik Laboratuvarlar Yönetmeliği'nde belirtildiği şekilde bir klinik laboratuvarın yerleşim planı laboratuvar çalışma alanı, diğer laboratuvar alanları ve ofis alanları olmak üzere üç temel kısımdan oluşmalıdır.

Bu alanlardan; laboratuvar çalışma alanı veya alanları, laboratuvarın sınıfına göre en az Ek-1'de verilen temel laboratuvar modülü büyüklüğünde olmalıdır. Diğer laboratuvar alanları, en az bir örnek kabul odası ve/veya örnek alma odası, en az bir örnek ön işleme ve dağıtım ve/veya temel hazırlık odası, en az bir dekontaminasyon odası/alanı ve malzeme depolanması için en az bir oda/uygun alandan oluşmalıdır. Diğer laboratuvar alanları, laboratuvar çalışma alanı ile fonksiyonel bir bütün oluşturacak şekilde düzenlenir. Ofis alanları; hasta kabul, bekleme yeri, sekreterya, tuvaletler, uzman odası ve personel dinlenme bölümleri gibi bölümleri içerir. Ofis alanlarındaki bölümler, bir bölgede toplanabilir ve ortak kullanılabilirler ancak bu bölümler laboratuvar çalışma alanının içinde yer alamazlar.

Klinik Laboratuvarlar Yönetmeliği'nde laboratuvarlar; laboratuvarın sağlık sisteminde yer aldığı hizmet basamağı ile yerel, bölgesel veya ulusal amaçlar için kurulması ölçütleri ve çalışılan testlerin karmaşıklık düzeyleri temeline göre; sınırlı hizmet laboratuvarı, kapsamlı hizmet laboratuvarı, ileri düzey hizmet laboratuvarı ve referans laboratuvarlar şeklinde sınıflandırılır.

Sınırlı Hizmet Laboratuvarı (SHL), test sayısı ve iş yükünden bağımsız olarak, yaygın olarak kullanılan ve hizmet sınıfına göre tanımlanan testleri uygulayabilen laboratuvarlardır. Kapsamlı Hizmet Laboratuvarı (KHL), test sayısı ve iş yükünden bağımsız olarak belirli yüksek karmaşıklıkta test türlerini de içeren ve hizmet sınıfına göre tanımlanan testleri uygulayabilen laboratuvarlardır. İleri Düzey Hizmet Laboratuvarı (İDHL), test sayısı ve iş yükünden bağımsız olarak hizmet sınıfına göre tanımlanan testleri uygulayabilen, tanımlayıcı ve/veya referans yöntem kullanabilen, henüz rutine girmemiş öncü/ileri teknolojiyi kullanabilen, lisans, lisansüstü veya tıpta uzmanlık eğitimi verme kapasitesine sahip olan ve eğitim verme yetkisinde personel bulunduran, araştırma, geliştirme kapasitesine sahip olan laboratuvarlardır. Referans Laboratuvarlar (RL) ise; ileri düzey hizmet laboratuvarı şartlarını sağlamakla birlikte tıbbî bir önem veya öncelik arz eden bir durum veya uygulama gereksinimini karşılamak, doğrulama, veri paylaşımı için ulusal referans laboratuvarlarıyla işbirliği yapmak ve laboratuvar ağlarına katılmak, laboratuvarlar arası karşılaştırma testleri düzenlemek, alanıyla ilgili yeni yöntemlerin geçerli kılınması ve yeni metot geliştirmesi için çalışmalar yapan laboratuvarlardır.

1. Laboratuvarın Ölçüleri

İlk kez kurulacak olan bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarının büyüklüğü, bulunması gereken bölümler, bu bölümlerin alan ve düzeni laboratuvarının vereceği hizmeti büyüklüğü ve alanı düşünülerek planlanır.

Temel Laboratuvar Modülleri (TLM): Bir TLM, içinde en az bir uzun veya iki kısa duvar uzunluğu kadar laboratuvar çalışma bankosu bulunan toplam laboratuvar alanını ifade eder. A grubu küçük tip TLM = 20 m^2 (Eni ≥3m), B grubu büyük tip TLM = 32m^2 (Eni ≥3m)'den küçük olmamalıdır. Bir TLM, eni 3m'den dar olmamak kaydıyla, A ve B arasında olabilir. Bir TLM içinde otomatize cihazla çalışan personel başına net taban alanı gereksinimi 7.5 m^2, manuel çalışan personel başına net taban alanı gereksinimi 2m^2'dir. (Net taban alanı: Ekipmanlar hariç zemin alanıdır.)

Klinik laboratuvarlarda, çalışma alanının fizikî şartlarının tasarımı için TLM ölçütleri yeterlidir. Bununla birlikte, ideal çalışma koşulları sağlanmak istenirse, "laboratuvar çalışma alanı" hesabının yapılmasında, aşağıdaki ölçütlerden birinin uygulanması önerilir:

Ölçüt 1: Tam-zamanlı çalışan personel (TP) sayısına (TPS) göre minimum alan (A1=14m^2/TP) hesabı ölçütü = A1 x TPS (koridorlar, duvar kalınlıkları, hasta-ziyaretçi tuvaletleri vb. hariç) veya,

Ölçüt 2: Hasta yatağı (HY) sayısına (HYS) göre minimum alan (A2=2.5m^2/HY) hesabı ölçütü = A2 x HYS veya,

Ölçüt 3: Bir laboratuvar modülü alanı içinde, otomatize aygıtla çalışan personel (OP) sayısına (OPS) (A3=7.5m^2/OP) ve manuel çalışan personel (MP) sayısına (MPS) (A4= 2m^2/MP) göre minumum net taban alanı hesabı ölçütü = (A3 x OPS) + (A4 x MPS) dür.

Sınırlı Hizmet Laboratuvarı, "Laboratuvar çalışma alanı", her bir laboratuvar disiplini için ayrı ayrı olmak üzere en az küçük tip TLM kadar (en az 20 m^2) olmalıdır. "Diğer laboratuvar alanları"nın toplamı en az küçük tip TLM alanı kadar olmalıdır. "Ofis alanları" laboratuvar alanları toplamının en az %50'si kadar olmalıdır.

Kapsamlı Hizmet Laboratuvarı, "Laboratuvar çalışma alanı", her bir laboratuvar disiplini için ayrı ayrı olmak üzere en az büyük tip TLM kadar (en az 32 m^2) olmalıdır. "Diğer laboratuvar alanları"nın toplamı en az bir büyük tip TLM alanı kadar olmalıdır. "Ofis alanları", laboratuvar alanları toplamının en az %30'u kadar olmalıdır.

İleri Düzey Hizmet Laboratuvarı, "Laboratuvar çalışma alanı" her bir laboratuvar disiplini için ayrı ayrı, en az 3 küçük tip TLM kadar (en az 60 m^2) olmalıdır. "Diğer laboratuvar alanları"nın toplamı en az laboratuvar çalışma alanı kadar olmalıdır. "Ofis alanları" laboratuvar alanları toplamının en az %25'i kadar olmalıdır.

Referans Laboratuvarlar, Laboratuvar alanlarına gereksinimin belirlenmesinde ve diğer tasarım koşullarında İleri-düzey Hizmet Laboratuvarı için verilen ölçütler uygulanır.

Laboratuvarlar, var olan iş yükü ve sağlanan hizmet tipleri için gerekli alandan, daha fazla alan için tasarlanmalıdır. Çünkü etkin bir laboratuvar, her zaman o laboratuvar tarafından sağlanan hizmetlerin hacim ve tiplerinde kısa dönem süren genişlemelere yer sağlayacak alana ihtiyaç duyar. Fazladan alan, laboratuvarın bir bölümü yenilenir veya onarılırken kullanılabilir ve fazladan alan hizmetlerin gelecekte genişlemesinde kullanılabilir. Bir laboratuvarı var olan ihtiyaçları karşılayacak şekilde tasarlamak ve inşa etmek mantıklı değildir.

2. Laboratuvarın Konumu

KML'nin hastanenin ana laboratuvarıyla tamamen bütünleşmesi gereklidir. Hastane dışında hizmet veren laboratuvarların kullanımı, sonuçların zamanında verilmesi ve mikrobiyolojik tespiti olumsuz etkileyecek şekilde örneğin geç işlenmesine neden olabilir. Ayrıca mikrobiyolog ile klinisyen diyalogunu azaltabilir.

3. İş Akışı

Etkin laboratuvarlar, örneklerin tek yönde akacağı şekilde tasarlanır. Geleneksel mikrobiyolojik değerlendirmeden sonra, örneğin kabulü ve besiyerine ekilmesi, inkübasyonu, ayrıştırılan etkenin tanımlanması, antimikrobiyal duyarlılık değerlendirilmesi ve sonuçların bildirilmesi aşamaları gelir. Tek yönlü iş akışı moleküler mikrobiyoloji laboratuvarları için de önemlidir. Moleküler laboratuvarda etkinlikten çok, amplikonların taşınması ve örnek bulaşımn engellenmesidir. Bu tehlikelerin çoğu tek yönlü iş akışı ile engellense de laboratuvar fiziksel olarak bu sürecin gereksinimlerini karşılamak durumundadır.

4. Genel Kurallar

Laboratuvar, laboratuvar hizmetinin sürekliliğini sağlamak üzere gerekli enerji, güç kaynağı, su, iletişim, bilişim gibi ortam destek sistemlerini içerecek şekilde yapılandırılır.

Yerler kolayca silinip temizlenebilen, pürüzsüz ve antiseptiklerden etkilenmeyen nitelikte malzemelerle kaplanmalıdır.

Laboratuvar, giriş ve çıkış noktaları ile acil çıkışların normal çıkışlardan farklı olduğu durumlarda bu farklılığı gösterecek şekilde işaretlenirler. Tüm işaretlemeler, uluslararası kabul gören simgeler kullanılarak yapılır.

Duvarlar fayans kaplanmalı veya silinip temizlenebilecek kalitede yağlıboya ile boyanmalıdır. Doğrama ve eşyalar da kolay silinip temizlenebilecek gibi paslanmaz çelik, alüminyum veya yağlıboya ile boyanmış olmalıdır.

Bankoların üzerleri de antiseptiklerle kolayca silinebilecek nitelikte paslanmaz; çelik, fayans, formika kaplı veya yağlanmış ve cilalanmış sert ağaçla kaplanmış olmalıdır.

Bankoların yüksekliği rahat çalışılabilecek yükseklikte (0.75 m), enleri yerin durumuna bağlı olarak yeterli ende, ancak, 0.60 m den az olmayacak boyutlarda olmalı, orta bankoların enleri iki taraflı çalışılabilecek kadar (en az 1.20 m) olmalıdır. Bankoların altına dolap yaptırılacaksa rahat çalışmayı sağlamak ve dizlerin vurmaması için dolapların, banko kenarından 0.20 m içeriden başlatılması uygun olur.

Laboratuvar çalışma için uygun seviyede doğal veya yapay olarak aydınlatılır ve aşırı veya düşük aydınlatma ile parlama ve rahatsız edici yansımalar en aza indirilir

Laboratuvarlarda kullanılacak taburelerin yükselir alçalır türden olması rahat çalışmaya ayarlanması bakımından uygun olur.

Elektrik tesisatının daha inşaat esnasında hangi cihazın nereye konulacağının tesbit edilerek ona göre planlanıp yaptırılması, uygun yerlere bol sayıda priz konulması ve yeterli güçte elektrik sağlanması önemlidir.

Laboratuvarda kullanılacak yakma gazı tesisatının da kullanışlı olacak biçimde yaptırılması, eğer kullanılacak gaz, merkezi bir kaynaktan sağlanmıyorsa gaz tüplerinin bina dışında santralize edilmeleri güvenlik bakımından önemlidir.

Su muslukları, yıkanma odasında diz ile, diğer yerlerde dirsek ile açılır kapanır olmalıdır.

Laboratuvar, engelli kişilerin çalışacağı ve hizmet alacağı şekilde düzenlenir.

Laboratuvara giriş, acil durumda çıkışa engel olmayacak şekilde dışarı doğru açılan ve kilitlenebilir kapılar kullanılarak sınırlandırılır.

Laboratuvar için iç ortam gürültü seviyesi sınır değeri; 4 Haziran 2010 tarihli 27601 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Çevresel Gürültünün Değerlendirilmesi Ve Yönetimi Yönetmeliği ek-VII tablo-9 İç Ortam Gürültü Seviyesi Sınır Değerleri'ne göre, 45 (dBA)'tir.

Laboratuvar güvenliği ile bağlantılı olan diğer fiziki koşullar bu Yönetmeliğin 26. maddesinde belirtilmiştir.

5. El Yıkama, Su Kaynağı ve Borular

Laboratuvarın yapım aşamasında su tesisatı, kullanım suyu sistemleri ve boruların döşenmesi daha uygundur. Laboratuvarın yapımı tamamlandıktan sonra bu işe kalkışmak daha pahalı ve zaman alıcıdır. Boşaltma borularının laboratuvar içinde üretilen hacim ve tipteki sıvı atığı boşaltabilecek ölçülerde olması gereklidir. KML içinde el yıkama, atıklar ve boyama için yeterli sayıda lavabo gereklidir. Laboratuvardan ayrılırken kullanılması için çalışanların ve ziyaretçilerin ellerini yıkamada kullanacakları bir lavabonun hemen girişte yer alması gerekir.

6. Hava, Gaz ve Vakum Kaynakları

Birçok modern laboratuvarda özel gereksinimler dışında basınçlı hava, gaz ve vakum kaynaklarına gereksinim vardır. Açık alev kullanımı yasaklanmalıdır, bu nedenle yanıcı gaz gereçlerine hiçbir gereksinim yoktur. Birçok sağlık kuruluşu mikrobiyolojik inkübatörlerde kullanılan tüpte gaz desteğine sahip değildir.

7. İnkübatörler, Buzdolapları ve Santrifüjler

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları, inkübatörler, buzdolapları ve santrifüjler için yeterli alana sahip olmalıdır. Genel bir kural olarak, örneklerin işlendiği alanda bir buzdolabı ve santrifüj olmalıdır. Tüm bunların yerleşimi tek yönlü iş akışına uygun olmalı, kapı geçişlerini kapatmamalı ve yeterli geçiş alanı bırakılmalıdır. Gaz veya su gereçleri gibi, yeterli elektrik gücü de bu alan için düzenlenmelidir.

8. Elektrik Güç Kaynağı

Laboratuvar yapımı bittikten sonra elektrik güç kaynağını yükseltmeye çalışmak pahalı ve güç olması nedeni ile elektrik çıkışları çok sayıda ve o anki gereksinimden daha fazla olmalıdırlar. Tasarım evresindeki önemli işlerden bir tanesi, laboratuvarın elektrik gereksinimlerinin, özellikle de 110 ve 220 V güç kaynakları gereksinimlerinin kapsamlı bir denetiminin yapılmasıdır. Ayrı bir güç kaynağı gerektireceğinden, acil güç kaynaklarına duyulacak gereksinim de değerlendirilmelidir. Sadece kritik gereçler acil güç kaynağına bağlanmalıdır. Kritik gereçler merkezi bir alarm sistemine bağlanmalı ve herhangi bir güç kaybı durumunda uygun personelin haberdar edilmesi sağlanmalıdır.

9. Isınma, Havalandırma Sistemleri

Bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarında hava basıncı etraftaki alanlardan daha düşük olmalı, hava sıcaklığı dar bir yelpazede sabit tutulmalı, çıkan havanın bina içi dolaşımına geri dönmemesi ve koku kontrolü için özel gereksinimleri bulundurması nedeni ile zor ve yapılması en pahalı olan parçalarından biridir.

10. Bilgi İşlem

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında sağlık hizmetleri bilgi sistemi, laboratuvar bilgi sistemi, kurum içi internet bulunmalıdır. İdeal olarak bilgi işlem alt yapısı yüksek hızlı erişime göre tasarlanmalı, bol veri depolama alanı ve işleme kapasitesi bulunmalı, değişen teknoloji gereksinimlerini karşılayabilecek yeterli sayı ve tipte iş istasyonu (bilgisayar) bulunmalıdır. En etkin laboratuvarlar kâğıtsız çalıştığı için, bu tür bir çevreyi destekleyecek bilgi işlem alt yapısının bulunması önemlidir. Kablolama sisteminin tasarımı standartlara uygun olmalı, fiberoptik bir omurgası ve her laboratuvar çıkışına gelen fiberoptik kabloları bulunmalıdır.

11. Ofisler ve Yönetim Desteği

Ofis alanları laboratuvara yakın ama içinde olmamalıdır. Ofisler laboratuvarın yönetim, uygulama, araştırma ve eğitim işlevlerini yerine getirebilecek yeterlilikte olmalıdırlar. Klinik bir laboratuvarın klinikten uzakta olması ne kadar anlamsızsa, bir laboratuvarı destekleyen ofis alanının da laboratuvardan uzak olması o kadar anlamsızdır. Başarılı klinik ve öğretim üyesi personelinin işi tercih etmesi ve sürdürmesi bazen yeterli ofis alanının varlığına bağlıdır.

Ofis tasarım süreci de, klinik laboratuvarı tasarımına rehberlik eden aynı temel kuralları izlemelidir: ofisler özel, sessiz, verimli ve çalışması ya da ziyaret edilmesi keyifli yerler olmalıdır. Ofis büyüklüğü kullanılacak mobilyalara göre seçilmelidir. Laboratuvar yöneticileri ve denetleyicileri, toplantılar sırasında birçok kişiyi barındıracak büyüklükte ofisler kullanmalıdırlar.

12. Tezgâhlar

Laboratuvar tezgâhları yerleşik (geleneksel) veya modüler olabilir. Bir laboratuvar için seçilmiş tezgâhların tipi, büyük oranda laboratuvarın ölçüleri ile saptanır. Büyük bir laboratuvara geleneksel, yerleşik bir tezgâh yerleştirmek pahalıdır. Bir karar vermeden önce, karar vereceklerin her tezgâh tipinin avantaj ve dezavantajlarına aşina olması gerekir.

Tezgâh üstlerinin derinliği 60, yüksekliği 90 cm olmalı, uzunluğu 120-150 cm'den daha geniş olmamalıdır. Tezgâh üstleri kolaylıklı temizlenip dezenfekte edilebilecek, dayanıklı ve ihtiyaca göre yenilenip tamir edilebilecek maddelerden yapılmalıdır. Lavaboların yanındaki tezgâh üstlerinin suya dayanıklı maddelerden yapılması daha uygundur.

Bazı tezgâhlar, tezgâh üstü cihazların konulabilmesi için daha derin olmalıdır. Ağır cihazlar ayrı ve ağırlıklarım taşıyabilecek şekilde tasarlanmış masalarda durmalıdır. Santrifüj cihazlarının konulacağı tezgâhlar, titreşim güçlerini en aza indirebilecek şekilde ve ayrı tezgahlar şeklinde tasarlanmalıdır. Modüler tezgah ve tezgâh altı sistemleri, tüm laboratuvar tasarımına uygun olabilirler.

Genellikle yerleşik bir tezgâhın kurulması daha ucuzdur, kişisel zevklere uygun olacak şekilde malzeme şansı daha fazla olabilir, sağlam olabilir ve uzun süre dayanabilir. Yerleşik bir tezgâhın dezavantajları: kolayca yer değiştiremez, onarımlar daha pahalı ve zor olur, değişiklikler (örn: ek güç kaynağı ve iletişim hatları) daha zor ve daha pahalıdır ve çoğu yer için bir kez sökülürse bir daha başka yerde kullanılamaz.

13. Örnek Taşıma

Diğer laboratuvar hizmetleri gibi, klinik mikrobiyoloji hizmetlerini sağlamada etkin bir örnek taşıma sistemi çok önemlidir. Bugün hastanelerde elle taşıma, robotik sistemler ve pnömatik sistemler gibi birçok taşıma sistemi kullanılmaktadır. Pnömatik sistem eğer iyi tasarlanır ve bakımları iyi yapılırsa, taşıma maliyetlerim azaltmada, gecikmiş ve kayıp örneklerin sayısını azaltmada ve test sonuç süresini azaltmada önemli bir rol oynayabilir. Ancak genelde pnömatik tüp sistemleri, kimya ve hematoloji laboratuvarları için oldukları kadar KML'ları için kullanışlı değildir. Birçok pnömatik sistem tamamen dolu kan kültürü şişeleri kadar ağır örnekler ve pnömatik sistemler boyunca taşındığında kırılıp saçılmaya yatkın idrar örnekleri gibi örnekleri taşıyamaz.

14. Örnek Hazırlama Alanı

KML, örneklerin alımı ve işlenmesi için bir alana gereksinim duyar. Bu alan, laboratuvar girişine yakın yerleştirilmelidir, böylece örneklerin bırakılması için diğer laboratuvar çalışanları veya taşıyıcı kişilerin laboratuvarın geri kalan kısmına girmemiş olurlar. Örnek alımında kullanılacak alan geniş bir banko üstü olmalıdır. İlk örnek işlenmesi için kullanılan bu alanda bir veya daha fazla Sınıf II biyolojik güvenlik kabini (BGK) olmalıdır. Bilgi işlem için gerekli bütün alt yapı ve tele iletişim cihazları sağlanmalıdır. Bu alanda el yıkama, Gram boyama ve diğer doğrudan değerlendirmeler için bir lavabo olmalıdır. Bazı laboratuvarlar bu alanda incelemeler için mikroskop bulundururken, diğerleri bu incelemeler için ayrı bir alan kullanırlar. Örnekleri ve besiyeri saklamak için örnek alım alanında bir buzdolabı olmalıdır. Bazı laboratuvarlarda örnek işleme alanı için ayrı bir inkübatör yoktur, ekim yapılmış olan besiyerleri doğrudan ana laboratuvar inkübatörlerine yerleştirilir. Fakat örnekler bu inkübatörlere hemen yerleştirilemeyecekse, örnek işleme alanında koruyucu bir inkübatörde tutulabilir.

15. Çalışma Alanları

Birçok laboratuvarda U-şekilli modüler veya doğrusal bankolar temelinde yapılandırmaktadır.

Modüler yaklaşımın çeşitli avantajları vardır. Çalışma alanında gidiş-gelişler azalır, yeterli banko ve saklama alanı kazanılır, köşelerde kalan alanlar bilgisayarlar için kullanılır hale gelir (aksi takdirde köşe alanlar hep ölü alanlar olarak kalır), çalışanlar için daha özel bir alanları olduğu duygusu verir, geçiş ve koridorlar için daha az alan ayrılmış olur. Modüler tezgahlar daha kolay yer değiştirir ve daha düşük tasarı, yapım ve onarım maliyeti olur.

Doğrusal banko düzenlemesinin avantajları ise: kolay temizlenir, kolay taşınır, daha az karışıklık olduğuna dair öznel bir izlenim bırakır, inkübatör ve buzdolabı gibi büyük cihazlar daha kolay yerleşir. Birçok hastanede, binanın fiziksel yerleşimi ve sınırlılıklar nedeni ile, belli bir laboratuvar için en iyi seçimin hangisi olduğunu belirler.

Çalışma bankolarını çevreleyen alan, hem kâğıt hem de biyolojik olarak tehlikeli atık çöp kutuları için yeterli olmalıdır. Geçişler ölü alan bırakmayacak genişlikte, geçişler tıkanmamış ve kalabalık hale getirilmemiş olmalıdır.

Laboratuvarda tamamlanmamış kültürlerin, stok kültürlerin, kaynak kitapların ve eğitim malzemesinin (örn: parazitoloji lamları) saklanacağı alan olmalıdır. Tamamlanmış kültürlerin ve kaynak olarak kullanılacak malzemelerin çalışma bankolarına yakın olması daha etkin olacaktır.

16. Biyogüvenlik

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı tasarlanırken güvenlikten asla taviz verilmemelidir. Genel güvenlik açısından, tüm inşaat kuralları ve mimari standartları buna uygun şekilde tasarlanmalıdır. Göz yıkama istasyonları, güvenlik duşları, fiskiye sistemleri, yangın söndürücüler ve battaniyeler, yangın alarmları, saçılma kontrol kitleri, ve acil durum güç ve ışıklandırması, bina yönetmeliklerinde belirtildiği gibi sağlanmalıdır. İçilebilir su kaynaklarının kaza ile bulaşını önlemek için, su tesisatında ya geri akım önleyicileri, ya da vakum önleyici araçlar bulunmalıdır.

Diğer laboratuvarlardan farklı olarak KML; laboratuvar çalışanları için büyük tehlike oluşturan patojen organizmalardan korumak için en az biyogüvenlik 2 düzeyinde hizmet vermeli, kültür ve diğer mikrobiyolojik test sonuçlarının değerlendirilirken laboratuvarın mikrobiyal kontaminasyonu en aza indirilmeli ve laboratuvarda kullanılan gereçler oraya özgün olmalıdır.

Birçok mikobakteriyoloji, mikoloji ve viroloji laboratuvarları için biyogüvenlik düzeyi 3 ölçütlerinin karşılanması önemli bir tasarım gereksinimidir. Mycobacterium tuberculosis için biyogüvenlik konularına ek olarak, diğer KML laboratuvarlarında kullanılamayan soğutmalı santrifüj, özgün tanı gereçleri ve örnekleri çeşitli ısılarda tutabilecek inkübatörler gibi özgün gereçlere gereksinimi vardır. Mikoloji ve mikobakteriyoloji laboratuvarlanın en az biyogüvenlik düzeyi 2'yi karşılaması gereklidir.

17. Bakteriyoloji Laboratuvarı

Laboratuvarın işlevinin büyüklüğüne bağlı olarak bir bakteriyoloji laboratuvarında genel bakteriyolojik incelemelerinin yapıldığı bir ayrı banko veya oda, idrar bakteriyolojisinin yürütüldüğü bir ayrı banko veya oda, mikobakteriyoloji için ayrılmış bir banko veya oda, antibiyotik duyarlılık deneylerinin yapıldığı bir ayrı banko veya oda, karanlık alan mikroskopisi odası ve boyamaların yapıldığı bir bankosu bulunması uygun olur.

Laboratuvarın, işlerin çapına göre yeterli bir alanda kurulması zorunludur. Sıkışık çalışma, verimi düşürdüğü gibi her zaman laboratuvar enfeksiyonlarına yol açabilir. Çalışacak her eleman için yeteri bir alan hesaplanmalıdır. Ekim ve kültür incelemelerinin yapıldığı bankolarda bir kişi için yaklaşık 1 metre banko uzunluğu hesaplanması yeterlidir. Bu çalışma yerinde bir gaz beki konacak biçimde tesisat yapılır.

Boyama işlemleri genellikle bir evyenin yanında yapılır. Bu köşede boya küvetleri, lamların üzerine konulacağı paslanmaz çelik telden yapılmış lam taşıyıcıları, boya şişelerinin konulacağı cam raflar bulunur.

İşin çapına göre yeterli sayıdaki etüv ve benmari bankoların üzerine oturtulurlar. Büyük laboratuvarlarda oda etüvü yaptırılması düşünülebilir. Bakteriyoloji laboratuvarında ayrıca yeterli sayıda buzdolaplarının konulması için yer ayrılmalıdır.

Laboratuvarın kirlileri, bir kenarda bulundurulan tekerlekli kirli biriktirme ve paslanmaz çelikten taşıma raflı araba veya bloklarda toplanmalıdırlar.

Laboratuvardan çıkışla çalışanların ellerini dezenfekte edip yıkamaları için bir düzenleme ile çalışma gömleklerinin bırakılabileceği bir bölme bulunmalıdır. Bu bölmede kirli gömleklerin toplanması için bir dolap ve yeteri kadar askı bulunmalıdır.

Önemli kazalarda kontaminasyondan arınmak için yararlanılabilecek bir duş yerinin yaptırılması gereklidir.

18. Seroloji Laboratuvarı

Mikrobiyoloji laboratuvarlarının kurulması esnasında seroloji laboratuvarlarının ayrı bir birim olarak kurulması zorunludur. Seroloji laboratuvarlarında uygulanan manipülasyonlar, laboratuvar enfeksiyonlarının doğabilmesi bakımından önemli bir yer tutar. Seroloji laboratuvarlarının bakteriyoloji laboratuvarları ile bir arada bulunması bu tehlikeyi daha da arttırır.

Seroloji laboratuvarlannda işin hacmine ve çalışan personel sayısına göre yeterli sayıda çalışma bankoların bulunması, ayrıca etüvler, benmariler, rotatörler, santrifüjler ve diğer masa üstü apareyler için yeterli banko üstü alanının, buzdolapları, derin dondurucular vb. için gerekli yerlerin ayrılmasına özen gösterilmelidir. Floresanlı antikor deneyleri yapılıyorsa ayrı bir karanlık odanın yapılması gerekir.

19. Mikoloji Laboratuvarı

Mikolojik incelemeler az sayıda ise bakteriyoloji laboratuvarının bir bankosu bu amaç için kullanılabilir. Bu durumda mikolojik çalışmaların bir güvenlik kabininin içinde yürütülmesi uygun olur. Ancak mantar laboratuvarlarında aerojen enfeksiyonlar söz konusu olduğundan mikolojinin ayrı bir laboratuvar şeklinde kurulması yerinde olur. Bu laboratuvarda da çalışmaların güvenlik kabinleri içerisinde yapılmasının veya tüm laboratuvar havalanmasının içeriden dışarıya ve süzülerek atılabileceği biçimde düzenlenmesi yerinde olur.

Bir mikoloji laboratuvarında yeterli çalışma alanı bulunan ve etüvlerle mikroskop ve diğer aletlerin konulabileceği büyüklükte çalışma bankoları, buzdolapları ve derin dondurucuların konulabileceği kadar alanın ayrılması gerekir. Ayrıca mantar laboratuvarlarında doğrudan doğruya hasta başvurusu olabildiğinden içerisinde bir hasta masası, çalışma bankosu, Wood ışık kaynağının bulunacağı bir hasta kabul yerinin bulunması da yararlıdır. Mikoloji laboratuvarlarında tavana asılı ultraviyole lambalarının konulması ve her gün çalışmalardan sonra bir saat ışınlandırılması aerojen enfeksiyonların önlenmesi bakımından uygun olur.

20. Viroloji Laboratuvarı

Viroloji laboratuvarlarının kurulması ve yürütülmesi çok pahalıdır. Hastalık materyallerinde virüs izolasyonları yöntemleri özel eğitilmiş personeli gerektiren ve çok yavaş sonuç veren yöntemlerdir. Bu nedenle bu tür laboratuvarların ülkede belirli yerlerde kurulması yeterlidir. Son zamanlarda virolojik seroloji yöntemlerinin gelişmesi sonucunda virüs enfeksiyonlarının tanısında önemli bir yer almaları nedeniyle ayrı viroloji laboratuvarları kurulmaksızın seroloji laboratuvarlannda açılan bir virüs serolojisi biriminde virolojik tanı deneyleri yapılabilmektedir. Virüs izolasyonunu da kapsayacak olan viroloji laboratuvarları sunulması amaçlanıyorsa bunların geniş çapta bağımsız olarak kurulmaları gerekir, çünkü viroloji laboratuvarları için kullanılan gereçler, bunların yıkanma şekli, kullanılan üretim ortamları tamamen ayrı ve kendine özgüdür.

Viroloji laboratuvarlarında kurulması gereken ayrı kirli yıkama ve sterilizasyon odalarının düzeni bakteriyoloji laboratuvarları için kurulanlar gibidir. Burada önem taşıyan şey, kullanılan gereçlerin ve özellikle cam gereçlerin yıkama yönteminin değişik olmasıdır.

Doku kültürü odası: Virüslerin üretiminde kullanılan doku kültürlerinin hazırlandığı odalar olup 2,5 x 2,5 m boyutlarında küçük bir oda veya bir camekanlı bölme bu iş için yeterlidir. Önemli olan hava akımlarının az olduğu bir yer olmasıdır. Bu odada bir duvar boyunca yapılmış bir çalışma bankosu bulunur. Üzerinde UV lambası ile dezenfeksiyonu sağlanan bir çalışma kabini veya daha modern bir güvenlik kabini bulunur. Doku kültürleri bu kabinler içinde hazırlanırlar.

Virüs ekim ve inceleme odaları bakteriyolojik çalışmalar için açıklananlara benzer biçimde oluşturulurlar.

Aynı şekilde virüs serolojik deneylerinin yapıldığı ayrı seroloji laboratuvarlarının kurulması uygun olup özellikle hepatit B ve HIV çalışmalarında enfeksiyon ve konta- minasyonu azami derecede engelleyecek şekilde çalışma düzeni kurulmalıdır.

21. Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında nükleik asitlerin (DNA, RNA) kolayca ortama ve çevreye yayılabilmektedirler. Önceki deneylerde incelenmiş olan nükleik asitler (DNA ya da RNA'lar) kontaminant olarak sonraki deneylere bulaşarak yanlış sonuçlara yol açabilmektedirler. Nükleik asitler cam eşyalara, ayıraçlara, otoklava, diğer aygıt ve aletlere ve vantilasyon sistemlerine yapışıp kalabilirler. Bu nedenle moleküler tam laboratuvarı için üç ayrı bölümü olan ve birbirleri ile direkt irtibatlarının bulunmayan bir alan gereklidir. Üç ayrı alanın: biri reaktif hazırlama, diğeri örnek hazırlama, diğeri de çoğaltma için kullanılmalıdır. DNA veya RNA'nın genel analizi için özel gereçler yanında temel laboratuvar gereçleri de gereklidir. Otoklavın yanında, yüksek kalitede deiyonize su, ıslak buz ve kuru buz kaynakları gereklidir. Çözücüler ve yamalar için bir çeker ocak ve depo dolabı da gereklidir. Bir karanlık odanın varlığı avantajlıdır.

Reaktif hazırlama alanı çalışma alanlarının en temiz olanıdır ve ayrı bir odada bulunur. Bulaşı en aza indirmek için, hasta örnekleri, hazırlanmış DNA ve çoğaltılmış ürünler bu alana kesinlikle sokulmamalıdır. Gereçlere de DNA bulaşı olabileceği için, bu alanda yalnızca bu alan için ayrılmış gereçlerin kullanılması zorunludur. Laboratuvar ekibindekiler temiz eldivenler yanında bu alan için ayrılmış temiz bir laboratuvar önlüğü giymeli, taşınabilir araçları (örn: pens, bant, makas gibi) bu alanda bırakmalıdır.

İkinci alan örnek hazırlama alanıdır. Eşit olarak bölünmüş ana karışım tüpleri nükleik asit eklenmesi için bu alana alınmalıdır; bu tüpler ayıraç hazırlama alanına geri dönmemelidir, Bu alanda yapılacak işlemler açık bir laboratuvarda bir banko üzerinde olabileceği gibi, bir banko üstü kabinde veya güvenlik kabininde de yapılabileceği için ona göre tasarlanmalıdır. Bu alandan elde edilen ürün çıkartılınca, hiç açmadan 3. alana alınmalıdır.

Üçüncü alan, içinde en çok bulaş olan alandır. Laboratuvar çalışanları burada kullanılan laboratuvar önlüğü, eldiven, tüp taşıyıcıları ve diğer malzemenin kesinlikle reaktif ve örnek hazırlama alanlarına dönmemesi için en üst düzeyde dikkat göstermelidir. Bazı laboratuvarlar karanlık oda/jel elektroforez odası için, radyoaktif örneklerin işlenmesi için ve diğer işlevler için de ayrı birer odaya sahiptir.

22. Laboratuvar Deposu

Depo alanı ihtiyaca cevap verecek büyüklükte olmalıdır. Küçük bir depo alanı karışıklığa yol açarken, gereğinden fazla büyük olması da tozlu bir yer yaratır. Laboratuvar çalışanlarının günlük gereksinimlerini karşılayacak kısa süreli depo bulundurulmalıdır. Uzun süreli depolama ana laboratuvarın depo odasında olmalıdır. Depolama alanları, çalışanların hemen ulaşabileceği şekilde tasarlanmalıdır. Yine depolama alanı kolayca temizlenecek şekilde tasarlanmalıdır.

23. Besiyeri Hazırlama ve Sterilleme Odası

Bu bölümde bakteriyolojik incelemeler için gerekli besiyerleri hazırlama ayrıca laboratuvarlar için gerekli olan tüp, balon, petri kutusu, pipet ve şişelerin sterillenerek kullanıma sunulmaktadır. Kullanılmakta olan steril saf su, fizyolojik tuzlu su, tamponlu eriyikler vb. sıvıların da hazırlanıp sterilleneceği birim bu birimdir.

Malzeme dolabı, odanın uzak bir köşesinde duvara bağlı veya duvar içine yapılmış, sürgü kapaklı, yeteri kadar raflı bir dolaptır. Raflar arasındaki açıklıklarının bazısı az (15 cm) bazısında çok (30-35 cm) olacak olursa çeşitli boydaki şişe, kavanoz ve paketlerin yerleştirilmesi kolay olur.

Maddelerin tartılması için kullanılacak olan basit ve duyarlı terazilerin konulacağı sallamaz nitelikte bir masa olmalıdır. Aynı masa üzerinde pH ölçer aletinin de bulundurulması uygun olur.

Az miktarlarda besiyerinin pişirilmesi için bir havagazı veya elektrik ocağı ve paslanmaz tencereler kullanılır. Bu bankoda gerektiğinde süzme ile sterillemek için süzme apareylerinin kullanılması ve vakum musluğu veya küçük çapta bir vakum pompasının bulunması uygun olur.

Otoklavlar üretim kapasitesine uygun büyüklükte ve sayıda olmak üzere odanın uygun yerlerine yerleştirilirler.

Bir banko üzerinde kuru hava ile sterilleme fırını, sıcak havada pişirici (Koagülatör), hazırlanan besiyerlerinin steril olup olmadıklarının ve üreticilik özelliklerinin denetlenmesi amacı ile kullanılacak bir etüv bulunmalıdır.

Hazırlanmış olan besiyeri ve steril gereçlerin kullanıma sunulmasına kadar stoklanacakları uygun büyüklükte sürgü kapaklı dolap ve soğukta saklanması gerekenlerin bulundurulacakları bir buzdolabının yer alması gereklidir.

Besiyeri hazırlama odasında fazlaca buhar oluştuğundan üstten emici nitelikte bir vantilasyon sisteminin kurulması uygun olur.

24. Kirli odası, Yıkama ve Sterilizasyon Birimi

Kirli odasında tüm laboratuvarlarda kullanılmış mikroplu alet ve malzemelerin temizlenmesi amacı ile toplandığı odadır. Kirli odasında bulunması gereken başlıca aletler otoklavlardır. Her laboratuvarda uygun bir yerde duran, tercihan tekerlekli ve bir dizi raftan ibaret paslanmaz çelikten yapılmış kirli biriktirme ve taşıma arabasının bulunması gereklidir. Odanın bir yanında geniş bir yıkama evyesinin yaptırılması gereklidir. Kirli odası ile yıkama odası arasında bulunan bir geçitten otoklavlanmış malzeme ve aletler, dezenfektanlanmış arabalarla yıkama odasına geçirilirler.

Yıkama odası, otoklavlanmış ve mikropları öldürülmüş kirli cam ve diğer gereçlerin yıkanıp temizlendiği ve yeniden kullanmak için sterillendiği odadır. Burada olması gereken birimler şunlardır.

Burada tüp, petri kutusu, balon, şişe vb. gibi cam gereçlerin yıkanmasında kullanılan ve üzerinde dört adet paslanmaz çelikten yapılmış evyenin bulunması uygun olur. Birinci evye; 40 cm derinlikte, altında elektrik ısıtıcıları bulunan bölümdür. Ayrıca pipetlerin tıkaçlarının çıkartılması için basınçlı hava musluğu bulunması gerekir. İkinci evye cam gereçlerin deterjanlarla fırçalanıp temizlendiği evyedir. Üçüncü ve dördüncü evyeler çalkalama evyesidir. Dördüncü evye ilaveten iyonsuzlaştırılmış su ile son durulamanın yapılacağı evye olup bu evyenin musluğunun, deiyonize su üreten apareye bağlantılı olması gerekir.

Yıkama odasında ayrı bir bankoda asit içeren kapların yıkanması için porselenden yapılmış bir evyenin bulunmasında yarar vardır.

Yıkanan gereçlerin sularının süzdürülüp kurutulmaları için emici kağıt veya bez tabakalarının bulunduğu alan hazırlanmalıdır.

Yıkama odasının bir köşesinde deiyonize su üretim cihazının kurulması uygun olur.

Kaynaklar

1. Wilson ML, Reller LB (Çeviren: H.Baskın): Laboratuvarın Tasarımı. "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) (Çeviri ed: A.Başustaoğlu): Klinik Mikrobiyoloji, 9.baskı" kitabında, Atlas Kitapçılık, Ankara (2009).
2. Bilgehan H: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının kurulması. "Bilgehan H. (Ed): Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 4.baskı" kitabında s.3-14, Barış Yayınları, Ankara (2004).
3. Klinik Laboratuvarlar Yönetmeliği.

LABORATUVAR YÖNETİMİNİN TEMEL UNSURLARI VE İYİ BİR LABORATUVAR YÖNETİMİ NEDEN GEREKLİDİR

Tuncer ÖZEKİNCİ[1], Şöhret AYDEMİR[2]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarları'nın temel işleyişi ve etkin tanısal hizmetin verilmesi, önemli ölçüde üst düzey yöneticilerine, laboratuar sorumlularına ve çalışanlarına bağlıdır. Bir laboratuvarın iyi yönetimi, laboratuvarın işleyiş ve geleceği açısından yetenekli ve deneyimli mikrobiyoloji uzmanlarına sahip olmak kadar önemlidir. Klinik mikrobiyoloji yöneticisinin en önemli görevi laboratuvar kaynaklarının entegrasyonu ve koordinasyonudur. Ancak bu şekilde laboratuvar hizmetleri etkin ve verimli bir biçimde sunulmuş olur.

İyi laboratuvar yönetimi etkin laboratuvar hizmetlerinin sağlanması konusunda yılların deneyimine dayanan iyi tanımlanmış, uluslar arası düzeyde kabul gören bir dizi ilke ve uygulamadan oluşur. İyi laboratuvar yönetimi olmaksızın iyi laboratuvar uygulamalarına da sahip olunamaz. Mikrobiyolojide bir mikrobiyal patojeni doğru ve güvenli olarak tanımlayabilmek için beceri gereklidir. İyi laboratuvar yönetimi; uygun klinik örneklerin teslim alınmasını, klinik örneklerin doğru personele verilmesini, doğru izolasyon ve tanımlama yöntemlerinin kullanılmasını, doğru standartların uygulanmasını, test için gerekli tüm ekipman ve malzemelerin sağlanmasını ve sonuçların en uygun formatta rapor edilmesini sağlar. Ancak tüm bu süreçlerin organizasyonlarını başarmış olan laboratuarlar etkin ve verimli bir şekilde çalışabilir.

İyi laboratuvar yönetimi sorumluluğu, bir kurum ya da hastanenin üst yönetimine ve laboratuvar yöneticilerine aittir. İyi laboratuvar yönetimi, kurum ya da hastanenin en üst yönetimiyle başlar. Üst yönetimin iyi laboratuvar yönetimi ilke ve uygulamalarını benimsemesi çok önemlidir. Eğer üst yönetim kurumsal politikalarını oluşturamaz, kurumun politikalarına yönelik bütçe hazırlamaz, ekipman satın alımı ve bakımı, bina güvenliği ve temizliğini, iş güvenliğini sağlamassa laboratuvar yöneticisinin tek başına yapabileceği bir şey yoktur. Bu nedenle hastane yönetimi, iyi laboratuvar uygulamalarının bir parçası olduğu konusunda mutlaka bilgilendirilmelidir.
Laboratuvar yönetimini, dört temel fonksiyon üzerinden tanımlanabilir. Bunlar; planlama, organizasyon, yönlendirme ve kontroldür. Bu fonksiyonların etkin bir şekilde yürütülebilmesi için laboratuvar yöneticilerinin kurum yöneticileri ile diyalog halinde olması gerekir. Özellikle maliyet verimliliği ve kriterlerine uygun şekilde üst düzey kalitede alınması, laboratuvar alt yapı ve ekipmanlarının doğru şekilde kullanılması, düzenli uygun bakımın sağlanması ve laboratuvar bütçesinin hazırlanması konusunda kurum yöneticileri ile birlikte hareket edilmelidir.

İş akışında test süreci analiz öncesi, analitik ve analiz sonrası olmak üzere 3 ayrı evrede incelenir. Analiz öncesi evre; örneğin seçimi, alınması, laboratuara ulaştırılması ve laboratuvara kabulü gibi test başlamadan önceki olaylardan oluşur. Analitik evre testin yapıldığı aşamadır. Analiz sonrası evre; sonuçların raporlanması ve değerlendirilmesi gibi test sonrası işlemleri içerir.

Bu 3 evrede oluşabilecek değişimleri en aza indirmek ve laboratuvarın etkin bir biçimde yönetimi için kullanılacak stratejileri saptamak laboratuvar yöneticisinin sorumluluğundadır. Bu nedenle laboratuvar yöneticisi standart uygulama prosedürlerinin doğru olarak kullanılmasını, laboratuvar çalışmalarının kalite kontrolünü sağlamak üzere prosedürler oluşturulmasını, laboratuvar veri ve kayıtlarının tutulmasını, temel ve biyolojik güvenlik koşullarının uyulmasını, personelin iyi laboratuvar uygulamaları kurallarını uygulamasını ve personelin sürekli hizmet içi eğitim ihtiyaçlarını sağlamalıdır.

İyi laboratuvar yönetiminde laboratuvar personelide; standart uygulama prosedürlerine uygun çalışarak, güvenlik, ekipman bakımı, aletlerin ve odaların temizlenmesi gibi konularda laboratuvar standartlarına uyarak ve eğitim proğramlarına aktif olarak katılarak katkı sağlar.

İyi laboratuvar yönetimi son yıllarda kalite yönetimi ile birlikte değerlendirilmektedir. Kalite güvencesi ve kalite kontrolüne ilaveten veri yönetimi, laboratuvar güvenliği ve ekipman yönetimi iyi laboratuvar yönetimini kilit unsurlarını oluşturmaktadır.

Kaynaklar

1. Dunne MW, Larocco MT. Laboratory management. In: Murray P (Ed), Manuel of Clinical Microbiology. 2007, 9th ed. Washington.
2. Akbaş E. İyi laboratuvar yönetiminin ilkeleri. Laboratuvar eğitim proğramı kitapcığı. 2008, Ankara.
3. Berte LM. Laboratory quality management: A roadmap. Clin Lab Med 2007: 771-790.
4. Robert JG. Policy statement on consolidation of clinical microbiology laboratories. Clinical Infectious Diseases 2001; 32: 604.

"Temel Laboratuvar Yönetimi Eğitimi" kurs kitabı. RSHM Başkanlığı, 2007, Ankara

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA STANDARDİZASYON VE KALİTE YÖNETİMİ

Derya AYDIN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Laboratuvarlar yoğun teknik ve idari süreçlerin yer aldığı karmaşık (ama karmaşa yaşanmaması gereken) yapılardır. Klinisyenin test isteği ile başlayan süreç, örnek alımı, transportu, kabulü, testlerin uygulanması, değerlendirilmesi gibi oldukça ayrıntılandırılabilecek başlıklardaki süreçlerden geçerek rapora dönüşür. Bu süreçlerin tamamını veya bir kısmını direkt-indirekt etkileyen satınalma, bilgi-işlem gibi süreçler de bu karmaşık yapı içerisinde yer alır. Bu süreçlerin herbirinde çok farklı görev tanımı ve deneyimde laboratuvar çalışanı, kendine özgü koşulların yerine getirilmesi gereken ekipman ve tesisler söz konusudur.
Bu süreçlerin hasta ve çalışan güvenliğini gözeterek, kaynakları verimli kullanarak ve sürdürülebilir bir şekilde "doğru hasta örneği üzerinde, doğru yöntemle çalışarak, doğru zamanda, doğru sonucu raporlandırarak" sonlanması için kalite sistemi esasları (KSE) olarak adlandırılan bazı unsurların eşgüdüm içerisinde fonksiyon görüyor olmaları gereklidir. Ana başlıklarıyla KSE : Kurum, Personel, Ekipman, Satınalma ve Envanter, Süreç Yönetimi, Dökümanlar ve Kayıtları, Bilgi (Bilişim) Yönetimi, Uygunsuz Olay Yönetimi, Değerlendirme (İç-Dış), Süreç İyileştirme, Müşteri Odaklılık, Tesis ve Güvenlik olarak tanımlanmaktadır.
Bu esaslardan beklenenler özetle şunlardır:
Kurum: Laboratuvarın yönetici kadrosu, tıbbi - idari yöneticileri ve uzman kadroları iş süreçlerini ve kalite gerekliliklerini ilgili yasa ve akreditasyon (bağlı iseler) maddelerine uyumlu hale getirmekle yükümlüdürler. Laboratuvarın bütün KSE için süreçleri bulunmalıdır. Bu süreçlerin uygulanmasındaki engelleri kaldırmak yönetimin sorumluluğudur.
Personel: Laboratuvar yönetimi iş tanımlarını yapmakla yükümlüdür. Çalışanların uyumu, eğitimi, yeterlilik ve performans değerlendirmeleri için özel süreçler oluşturulmalıdır.
Ekipman: Ekipmanın yerleşimi, bakım-tamir ve kalibrasyonu; üretici önerileri, yasa ve akreditasyon (uygulanıyor ise) şartları ile uyumlu olmalıdır.
Satınalma ve Envanter: Satınalma, teslim alma ve saklama/depolama ile ilgili yazılı prosedürler ve her türlü malzemenin kalite kayıtları bulunmalıdır.
Süreç Kontrolü: İş akışı ve süreçler tanımlanmış, her bir sürecin ayrıntıları ve sorumluları belirlenmiş, ilgili dökümanlar oluşturulmuş olmalıdır.
Doküman ve Kayıtlar: Her bir KSE ve teknik iş için kontrollü dökümanlar (prosedür, talimat, form, vs.) hazırlanmış ve son versiyonları ilgili çalışanın ulaşabileceği noktalarda bulunduruluyor olmalıdır.
Bilgi Yönetimi: Kurum ve laboratuvar içerisinde bilgi ve duyuruların sorunsuz şekilde dolaşması için gerekli süreç ve prosedürler tanımlanmış olmalıdır. Saklanması gerekli bilgilerin güvenliği ve hasta bilgilerinin gizliliği sağlanmış olmalıdır.
Uygunsuz Olay Yönetimi: Hata, kaza, şikayet gibi istenmeyen/uygunsuz olayların saptanması, dökümantasyonu ve analizi yapılıyor olmalıdır.
Değerlendirmeler (iç-dış): Laboratuvar, süreçlerinin iç değerlendirmelerini yapabilmek için kalite indikatörlerini saptamış ve ölçüyor olmalıdır. İç ve dış değerlendirme sonuçlarında uygunsuzluklar saptandığında önlemler alınıyor olmalıdır.
Süreç İyileştirme: Sürekli iyileştirme olarak da adlandırılır. Şikayet, iç-dış değerlendirme, denetimler, kıyaslamalar, müşteri geri dönüşleri laboratuvarda iyileştirme gerektiren alanların saptanmasını sağlar. Uygun kalite araçları kullanılarak sorunun analizi ve çözümü için prosedürler bulunmalıdır.
Müşteri Odaklılık: İç ve dış hizmet alanların memnuniyetleri araştırılmalı ve ölçülmelidir.
Tesis ve Güvenlik: Çalışma ortamı gerek çalışanlar gerek ziyaretçiler için uygun ve güvenli olmalıdır. Atıkların depolanması ve imhasında standartlara uyulmalıdır.
KSE bir kısmıyla hiç şüphesiz bir çok laboratuvarda uygulanmaktadır. Bununla birlikte aslında bir bütünün parçaları olan bu elementlerin bir kısmının gözardı edilmesi, eksik veya yanlış uygulanması "sürekli olarak etkin ve verimli hizmet sunan laboratuvar" hedefinden uzaklaşılmasına yol açar. Laboratuvarın yönetilmesi ve kontrolünde kalitenin sağlanması ve sürdürülmesi amacıyla yukarıda sayılan esasların standartlara uygun ve eşgüdüm içerisinde uygulanmasını sağlayan planlı ve sistematik yaklaşım Laboratuvar Kalite Yönetim Sistemi (KYS) olarak adlandırılmıştır. Laboratuvar KYS, laboratuvar çalışmalarının uluslararası, ulusal, bölgesel ve organizasyonel şartlara uyumunun etkinliğini tanımlayan, dökümante eden, uygulayan, ölçen ve izleyen bir sistematik yaklaşımdır
Günümüzde ISO, CLSI, JCI, CAP, WHO gibi laboratuvar akreditasyonu yapan çeşitli kuruluşların KYS modellerinin temellerini, farklı başlıklar altında da olsa yukarıdaki KSE oluşturmaktadır.
Kalite süreçlerinin tarihi dört bölümde incelenebilir. 1-Sanayi devrimi öncesi: küçük işletmelerde üretici-müşteri arasında kalite kontrol uygulamaları 2- Sanayi devrimi sonrası: Fabrikalarla birlikte üretimin kontrolü 3- II. Dünya savaşı sonrası: Özellikle Japonya'da kalite uygulamalarının istatistik verilere dayandırılması (üründen çok süreci kontrol), Toplam Kalite Yönetimi (TKY) 4- 1980 sonrası: kalite akımı ve TKYnin dünyada yaygınlaşması.
Kalite kontrolünün, ürünü değil üretim sürecini denetleyerek daha ekonomik ve verimli sağlanabileceğinin görülmesiyle süreçlerin standardizasyonu gerekliliği doğmuş ve her alanda standartlar geliştirilmeye başlanmıştır.

20.yy başlarından itibaren çeşitli ülkelerde ulusal standartları belirleyen kurumlar oluşturulmaya başlanmış, 1930lu yıllarda ABD ve İngiltere'de ilk kalite kontrol kitapları yayınlanmıştır. II. Dünya Savaşı sonrasında bu alandaki çalışmalar giderek yoğunlaşmış ve 1947'de uluslarası bir standardizasyon örgütü olan International Organization for Standardization (ISO) kurulmuştur. Kalite uygulamalarının ve standartların giderek çeşitlenmesi-ayrıntılanması kalite yönetimi uygulamalarında uluslararası da kabul görecek rehber ve standartlara gereksinim doğurmuş ve ISO 1987 yılında ISO 9000 serisinin ilk rehberini yayınlamıştır. Bu gün bu seri, sadece kalite yönetim sistemi esaslarını tanımlamakla kalmayıp özel alanlardaki kalite yönetim sistemlerine de temel oluşturmaktadır.

Tıbbi laboratuvarlarda kalite çalışmalarının evrimine göz atıldığında benzer olarak Kalite Kontrol (KK) ve Kalite Güvencesi (KG) aşamalarını Kalite Yönetim Sistemi'nin (KYS) izlediği görülmektedir. KK ve KG'nden farklı olarak KYS laboratuvarın hasta sağlığına olan katkısını yükseltmekle kalmaz, tekrar ve etkisiz çalışma yoluyla kaynak kaybına yolaçan ve hasta ve çalışan güvenliğini riske eden hataları azaltmayı da hedefler.

Tıbbi laboratuvarlara özgü KYS için ilk standartlar CLSI (o tarihte NCCLS) tarafından 1999'da yayınlandı: A quality system model for health care; approved guideline GP26-A. Wayne (PA): NCCLS; 1999.)

ISO, ISO 9000 temelli iki önemli laboratuvar KYS dokümanı geliştirmiştir:

1. ISO-IEC 17025 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar (1999) ve
2. ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar - Kalite ve Yeterlilik için Özel Şartlar

İlk defa 2003'de, revize edilen şekliyle de 2007'de yayınlanan ISO15189 standardında kalite yönetimi ve teknik laboratuvar işlemlerinde kaliteye ulaşmak için gerekli elementler detaylı bir şekilde anlatılır. Birçok ülke bu standartları ulusal standartlar olarak uyarlamış ve çeşitli laboratuvar akreditasyon kurumları bu standartları temel alan programlar geliştirmişlerdir.

Laboratuvarın bir dizi teknik eylemiyle ortaya çıkacak olan "doğru ve güvenilir" rapor ile laboratuvar yönetiminin desteklemek zorunda olduğu kalite aktiviteleri arasında direkt bağlantı vardır. Günümüz tıp pratiğinde giderek bildirimi artan hatalar ve iyi – kötü uygulamaların maliyet kıyaslamaları, özetle süreçlerin tanımlanması ve dökümante edilmesi, personelin eğitilmesi-kalifiye edilmesi, sorunların saptanması ve süreçlerin iyileştirilmesi olarak tanımlanabilecek olan KYSne geçişin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

1. Anderson NL, Noble MA, Weissfeld AS, Zabransky RJ. Cumitech 3B, Quality Systems in the Clinical Microbiology Laboratory (Coordinating ed. D. L. Sewell). ASM Press, Washington, D.C. (2005)
2. Berte LM. Laboratory Quality Management: A Roadmap. Clin Lab Med 27: 771 (2007)
3. Clinical and Laboratory Standards Institute Quality Management System: A Model for Laboratory Services; Approved Guideline-Fourth Edition, GP26-A4, CLSI, Wayne, PA (2011).
4. Tıbbi Laboratuvarlar - Kalite ve Yeterlilik İçin Özel Şartlar TS EN ISO 15189. Türk Standardları Enstitüsü, Ankara (2009).

KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARINDA AKREDİTASYON VE YETERLİLİK TESTLERİ

Dolunay GÜLMEZ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Hastaya zarar vermeyecek şekilde çalışılması ve mümkünse sağlığının daha iyiye götürülmesi tüm sağlık çalışanlarının birincil amacıdır. Bu bağlamda, test sonuçlarının güvenilirliğinin sağlanması, laboratuvarın en önemli sorumluluklarından biridir. Bunu sağlayabilmek için ilk olarak laboratuvar testlerinin performansına odaklanan "kalite kontrol" kavramı geliştirilmiş ve testlerin standardize edilmesi, tekrarlanabilir olması ve kayıtlarının tutularak yapılan işlemlerin kanıtlanabilmesi sağlanmıştır[1-3]. Sonrasında, doğru laboratuvar sonuçlarının elde edilmesinde kliniğin rolü de göz önüne alınarak hasta odaklı bir kavram olan 'kalite güvencesi' geliştirilmiştir. ISO 17025'te belirtildiği şekliyle kalite güvencesi, laboratuvar sonuçlarının doğruluğunun kontrol çizelgelerine işlenen iç kalite kontroller, referans materyaller ve laboratuvarlar arası karşılaştırma yapılan dış kalite kontroller (yeterlilik testleri) ile uygun şekilde denetlenmesidir[4]. Sağlık kurumlarının kendi kendini değerlendirmesi için yeterlilik testleri ve iç kalite kontrolden oluşan 'kalite yönetimi' anlayışı gelişerek, yerini 'sürekli kalite gelişimi' olarak tanımlanan, personel eğitimini ve kalite göstergelerinin sürekli analizini içeren bir yaklaşıma bırakmıştır [1]. Bu amaçla bağımsız kurumlar tarafından yapılan belgelendirme işlemleri, laboratuvar işleyişi için de uygulanmaya başlanmıştır. Belgeleme sertifikasyon veya akreditasyon şeklinde olmaktadır. Sertifikasyon, belgelenmiş kalite seviyesidir. Kurum, ulaşmak istediği kalite seviyesini kendi belirlemekte ve bu standartlara ulaştığına dair bir belge almaktadır. Akreditasyon ise belgelenmiş yeterliliktir. Burada kurumun, belgeyi veren kurum tarafından belirlenmiş standartlara uygun olup olmadığı belirlenmektedir [5-6].

Sağlık kurumlarından beklentiler kuruma, hasta ve hasta yakınlarına ve ödeme yapan kurumlara göre değişmektedir. Her durumda, hizmet yeterliliğinin belgelenmesi için akreditasyon programlarına üye olunması beklentilerin karşılanabilmesi için önemli bir adımdır. Akreditasyon, kurumun verdiği hizmetlere dışarıdan bir bakış sağlayarak tek başına geliştirilmesi zaman alacak çözümlerin hayata geçirilmesine yardımcı olmaktadır. Böylece hizmet kalitesinin artırılması, performansın nesnel olarak değerlendirilmesi, kuruluşa duyulan güvenin artırılması ve yasal sorunlarda verilen hizmetin belgelenmesi mümkün olabilmektedir. Akreditasyon belgelerinin kalite gelişiminde istenen verimi sağlayabilmesi için personelin ve yönetimin eğitilmesi, personelin motive edilmesi ve netimin pozitif desteği gereklidir[6].

Sağlık kurumlarında kalitenin artırılması ve denetlenmesi gereğinin ilk olarak çalışanlar tarafından ortaya atılmış ve geliştirilmiş olması, sağlık çalışanları için gurur vericidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1917'de American Surgeons Association tarafından hastanelerde kalite kontrol programı başlatıldığı bilinmektedir[2]. ABD'deki hastanelerin çoğunun bu programa üye olması, yeni bir organizasyon kurulmasına yol açmış ve 1951'de Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) kurulmuştur. Bu kurum uluslararası alanda Joint Commission International (JCI) adıyla faaliyetlerini yürütmektedir. Günümüzde Joint Commission International (JCI), College of American Pathologists (CAP), Health Quality Services (HQS) gibi akreditasyon kurumları farklı ülkelerde gönüllü üyelik temelinde faaliyetlerini sürdürmektedirler [7-9]. Ülkemizde Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK), European co-operation for Accreditation'a (EA) üye olan tek akreditasyon kurumudur. Faaliyetlerini EA ve International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) belgelerini esas alarak devam ettirmektedir. Yasal düzenlemeler, çalışanların açtığı yolda ilerlemiştir. Kalite standardizasyonu ile ilgili ilk yasa 1967'de ABD'de sağlık skandallarının medyanın gündemine gelmesi ve bir kamuoyu oluşması ile kabul edilmiştir[1, 10]. Halen, akreditasyon belgesi edinebilmenin ilk şartı yasal zorunlulukların yerine getirilmesidir. Sonrasında, kuruma göre değişen ek standartların yerine getirilmesi istenmekte ve standartlar sürecin bir parçası olarak sürekli güncellenmektedir. Türkiye'de ise Sağlıkta Dönüşüm Programı'nın bileşenlerinden biri olarak 2005'te belgelendirme, eğitim ve yayıncılık hizmetleri vermeyi hedefleyen Ulusal Sağlık Akreditasyonu Sistemi (USAS) Yönlendirme Kurulu oluşturulmuştur [11]. Bu sayede, uluslararası standartların uyarlanması veya kendi standartlarımızın oluşturulması yoluyla ülkemize özgü standartların belirlenebilmesi amaçlanmaktadır.

Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu'nun (The International Organization for Standardization, ISO) yayınladığı standartlar sağlık kurumlarının akreditasyonu için kullanılabilmektedir ancak, her akreditasyon kurumu, sağlık kurumlarının belgelendirilmesi için farklı standartlar getirmektedir [7-9]. ISO, klinik laboratuvarlar için ISO17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar ve ISO15189 Tıbbi Laboratuvarlar-Kalite ve Yeterlilik için Özel Gereklilikler adı altında standartlar yayınlamıştır [4, 12]. Ülkemizde bu standartlar ile akreditasyon deneyimi olan laboratuvarlar bulunmaktadır[13]. Farklı bir akreditasyon kurumu olan JCI da buna paralel olan kendi standartlarını oluşturmuş, hastaneler için ve klinik laboratuvarlar için ayrıntılı standartlar yayınlamıştır [8]. Yapılan işin standardizasyonunun sağlanması için; işin ve amacının ne olduğunu, ne zaman, nerede, kim tarafından ve nasıl yapıldığını tanımlayan yazılı bir belge hazırlanmaktadır. İşin belgede yazılı olduğu şekilde yapılması ve/veya yapılanın yazılması temel kuraldır. Ayrıca yapılan işin denetlenmesi ve denetimlerin kaydının tutulması gereklidir [6]. Sağlık kurumunun bu kriterleri yerine getirip getirmediği düzenli olarak yapılan denetimlerle kontrol edilmekte ve saptanan aksaklıklar bildirilerek belirli bir zaman aralığında düzeltilmesi istenmektedir [10]. En sık görülen aksaklıklar; hazırlanan yazılı belgelerin yıllık olarak güncellenmemesi, gerekli denetimlerin yapılmaması

veya yapılan denetimlerin belgelenmemesi, kullanılan kimyasalların gerektiği gibi etiketlenmemiş olması gibi temel konulardan kaynaklanmaktadır [7].

Sağlık kurumlarının bütünü için yapılanlar sonrasında laboratuvarda kalitenin güvence altına alınmasıyla ilgili çalışmalar gelişmiş ve ayrıntılandırılmıştır. Laboratuvarda kalite yönetimi adına yapılan ilk atılımlar, klinik kimya laboratuvarlarında analitik ölçümlerdeki varyasyon ve ölçme belirsizliğinin hesaplanması ile sınırlıdır[1]. Sonrasında mikrobiyoloji laboratuvarlarında personel, ekipman ve malzeme kullanımının monitorizasyonu üzerine American Society for Microbiology'nin (ASM) 1965'teki genel toplantısında, Bartlett'in yaptığı bir sunum konuya ilgiyi artırmış, ASM 1967'de bu konuda bir eğitim düzenlenmiştir. Bu yıllarda ilk mikrobiyoloji kalite kontrol programları da yürürlüğe girmiştir[1]. Bu çabaların sonucu olarak Food and Drugs Administration (FDA) bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılıklarının saptanmasında kullanılan disk diffüzyon yöntemi için direnç eşiklerini belirlemiş, bu çalışmaları geliştiren National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS) 1972'de ilk standartları yayınlamıştır[1]. Kalite kontrol çalışmalarına yeterlilik testlerinin (Proficiency testing, dış kalite kontroller) eklenmesi 1970'lerde başlamış ve laboratuvar sonuçlarına olumlu etkisi gösterilmiştir. ABD'de Centers for Disease Control (CDC) 1974'te mikrobiyoloji laboratuvarları için kalite kontrol prosedürlerini yayınlamıştır [1]. Bu çalışmaların sonucunda, laboratuvarda kullanılan besiyerleri, ayıraçlar, kitler, ekipmanlar ve cihazların standardizasyonu ve kalite kontrolünün yapılması amaçlanmıştır[6]. Ayrıca test yöntemlerinin yazılı olarak bulundurulması, eğitimli ve deneyimli personelin çalıştırılması ve personelin sorumluluk ve yetkilerinin belirlenmesi için standartlar oluşturulmuştur [3, 6]. Clinical and Laboratory Standards (CLSI, eski adıyla NCCLS), British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) gibi özerk kurumlar ve American Society for Microbiology gibi meslek örgütleri standartların geliştirilmesi için çalışmalarını sürdürmektedirler. Günümüzde bir sağlık kurumunda kalite güvencesinin sağlanması dinamik bir süreç olup; yasal zorunlulukları yerine getirmenin yanı sıra, uygun personelin istihdam edilmesini ve sürekli bir eğitim programından yararlandırılmasını, yapılan testler için analiz öncesi ve sonrasını da kapsayan yeterlilik testlerinin, iç ve dış kalite kontrollerin gerçekleştirilmesini güvence altına almalıdır [6].

Kalitenin geliştirilmesi için yapılan çalışmalardan doğrudan hastalara yansıyan pek çok kazanım olmuştur. Bunlara örnek olarak antimikrobiyal duyarlılık testleri için geliştirilen standartlar verilebilir. Örneğin, Streptococcus pneumoniae penisilin duyarlılığının test edilmesinde 1 µg oksasilin diskinin kullanımının standart hale gelmesiyle birlikte penisilin dirençli pnömokokun doğru saptanma oranı 1981'de %15 iken 1982'de %78'e yükselmiştir [14]. CLSI, 2008'de yayınladığı standartlarla birlikte S. pneumoniae enfeksiyonlarında penisilin kullanımı için enfeksiyonun yerleşimine ve tespit edilen penisilin minimum inhibitör konsantrasyon değerine göre yeni önerilerde bulunmuştur[15]. Bu sayede, belirlenen standart ile klinik yanıtın tutarlılığının sağlanması ve direnç gelişiminin kontrol altına alınması amaçlanmıştır[16].

Kalite kontrol çalışmaları ile laboratuvar personelinin de kazanımları olmuştur. Bu çalışmalarla laboratuvarlarda uygulanması gereken biyogüvenlik kuralları, yangın ve deprem önlemleri geliştirilmiş ve personel sağlığının korunması için önemli adımlar atılmıştır.

Laboratuvarlardaki kalite kontrol çalışmaları başlangıçta yalnızca analitik faz ile sınırlanmıştır. Bu yaklaşım laboratuvardaki işlemlerle ilgili önemli gelişmelere yol açmışsa da sonuçların güvenilirliğinin sağlanmasında yetersiz kalmıştır. Gelinen noktada preanalitik ve postanalitik fazların da bütünün parçaları olarak önemleri anlaşılmış, klinisyen ile laboratuvarın işbirliği ön plana çıkmıştır [1, 5-6]. Klinisyenler için hangi testin ne zaman isteneceği, örneklerin nasıl alınacağı ve nakledileceği, istemin nasıl yapılacağı ile ilgili bilgilerin bulunduğu klavuzların hazırlanması ve gerektiğinde laboratuvarla iletişime geçilmesi çoğu hastanede preanalitik faza ait hataların azaltılmasında anlamlı rol oynamıştır [1, 5-6, 17]. Bu çalışmalar preanalitik fazda önemli gelişmelere yol açmıştır. Okunaksız istemlerden kaynaklanan hataların önlenmesi için basılı formların kullanılması, balgam kültüründe yaymadaki epitel sayısına bakarak tükürükle kontaminasyonun belirlenmesi, idrar kültürlerinde iki çeşitten fazla bakteri üremesinin enfeksiyon ile değil kontaminasyon olarak bildirilmesi, bakteriyemi tanısında alınması gereken kan kültürü sayısı, alınacak kan miktarı gibi standartlar geliştirilmiştir [1].

Laboratuvar hata oranı hastanenin diğer bölümlerine göre daha az olsa bile daha kolay göze çarpmakta, tedavinin yönlendirilmesinde etkili olmakta ve test sonuçlarının güvenilirliğinin sorgulanmasına neden olmaktadır [18]. Laboratuvarda kalitenin tam olarak sağlanabilmesi için preanalitik, analitik ve postanalitik fazların üçünün de denetlenerek gerektiğinde müdahale edilmesi gerekmektedir: (i)Preanalitik fazda test isteminin uygun klinik durumlarda yapılması, istemin doğru yapılması, örneğin uygun şekilde alınması ve laboratuvara uygun koşullarda nakledilmesi hataların önlenmesi açısından gereklidir. (ii)Analitik fazda örneğin laboratuvara kabul edilmesinden sonucun bildirilmesine kadarki aşamalarda ortaya çıkabilecek sorunlar sürekli denetlenmeli ve giderilmelidir. İstenen test yerine başka bir testin çalışılması, testin yanlış çalışılması, test koşullarının gerektiği gibi denetlenmemesi, sonuç verme süresinin hasta için anlamlı olacak süreden daha uzun olması bu aşamadaki sorunlar arasındadır. Ayrıca elde edilen sonucun kullanımı da sağlanmalıdır. Hastaya en kısa sürede müdahale edilmesini gerektiren veya hastaların tedavisinde önemli değişikliklere neden olabilecek kritik değerlerin, normal sonuç bildirim sistemine ek olarak klinik personeline bildirilmesi hastaların prognozu açısından önem taşımaktadır. (iii)Postanalitik fazda raporlama ile ilgili kriterler ön plana çıkmaktadır. Klinik laboratuvarlarda gerçekleştirilen testler sayısının artması ve farklı yöntemlerin kullanılması, klinisyenlerin tüm testlere hakim olmasını güçleştirmektedir [19]. Bu nedenle raporun anlaşılır şekilde düzenlenmesi ve bazı durumlarda klinik öneminin yorumlanması gerekmektedir.

Farklı aşamalardaki hatalarla ilgili verilerin incelenmesi, bu hataların azaltılması ve mümkünse "sıfır hata" düzeyine indirilmesine olanak sağlamaktadır. Yeni bir testin çalışmaya alınması için laboratuvarın kendisine ait bir onaylama (verification) sürecinden geçmesi ve çalışmaya alınan testlerin sonuçlarının sürekli bir doğrulama (validation) sonrası rapor edilmesi esastır [20]. Bunun sağlanabilmesi için laboratuvarın her test için uyguladığı 'iç kalite kontrol'lerin yanı sıra, periyodik olarak bağımsız ve güvenilir bir kaynaktan sağlanan 'dış kalite kontrol'lerin çalışılması ve sonuçların değerlendirilerek gerekli düzeltmelerin yapılması (proficiency testing) gerekmektedir [6]. Yeterliliğin değerlendirilmesi için; yapılan işlemlerin doğrudan gözlenmesi, kullanılan cihaz ve donanımın bakım ve işlevinin gözlenmesi, kayıt ve raporların monitorizasyonu, sorunlu test sonuçlarının değerlendirilmesi gibi yöntemler önerilmektedir [3]. Değerlendirme gereken alanların, izlenecek yöntemin, verileri toplayacak ve değerlendirecek kişinin seçilmesi ve kayıtların tutulması her laboratuvarın kendi koşullarına göre belirlemesi gereken değişkenlerdir[3].

Akreditasyon belgesi veren kurumlar da olası hataların önlenmesi için veri toplamaktadırlar. CAP tarafından 1989'dan beri sürdürülen izlem çalışmaları buna örnek olarak verilebilir. Hasta adının yanlış gönderilmesi gibi basit hataların yanı sıra örneklerin gerekli klinik durumda istenmemesi (örneğin digoksin kan düzeyinin belirlenmesi için yanlış zamanda kan alınması), klinik anlamı olmadığı halde aynı gün içinde iki örnek gönderilmesi, kan alımında yapılan hatalar (yanlış tüpe kan alınması, yetersiz miktarda kan alınması gibi) halen sorun olmaya devam etmektedir [21]. Laboratuvar hizmetlerinde hataların belirlenebilmesi ve gerektiğinde müdahale edilebilmesi için iç ve dış kalite kontrollerin takibi, müşteri ve çalışan memnuniyetinin izlenmesi, sonuç verme sürelerinin sürekli kontrol edilmesi, hasta kimliğinin doğrulanması, örneğin kabul edilebilir nitelikte olması, yeterlilik testlerinin yapılması ve belgelenmesi, kritik değerlerin bildirimi, kan kültürlerinde kontaminasyon oranlarının belirlenmesi gibi kriterlerin takibi önerilmektedir [19, 21]. Elbette, her laboratuvarın kendine göre kriterler belirlemesi en doğrusu olacaktır.

Sağlık kurumlarında ve bu kurumların önemli bir parçası olan laboratuvarlarda kalitenin güvence altına alınması hem yasal, hem de etik bir zorunluluktur. Ancak, bu süreç içinde hataya değil, amaca odaklanmanın önemli olduğu unutulmamalıdır. Sağlık hizmetleri, tıp bilimindeki gelişmeler sayesinde sürekli değişen bir süreç olup yeniliklerle birlikte farklı sorunların ortaya çıkması kaçınılmazdır. Hataların ortaya çıkmadan önlenmesi ideal olsa da her zaman mümkün olamamaktadır. Hatanın korkuyla görmezden gelinmesi değil, bulunup düzeltilmesi ve tekrarlanmaması amaçlanmalıdır. Böylece hizmet kalitesinin sürekli olarak daha iyiye götürülmesi sağlanabilir.

Kaynaklar

1. Bartlett RC, Mazens-Sullivan M, Tetreault JZ, Lobel S,Nivard J. Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. Clin Microbiol Rev, 1994; 7: 55-88.
2. JCI. History of The Joint Commission. http://www.jointcommission.org/about_us/history.aspx 2011 [cited 2011 16.09.2011].
3. Elder BL,Sharp SE. CUMITECH 39: Competency Assessment in the Clinical Microbiology Laboratory. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology, ed. Sharp S.E. 2003, Washington DC: American Society for Microbiology.
4. (ISO) TIOfS. TS EN ISO/IEC17025 Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar. Türk Standardı. 2005, Ankara: Türk Standatları Enstitüsü.
5. August MJ, Hindler JA, Huber TW,Sewell DL. CUMITECH 3A: Quality Control and Quality Assurance Practices in Clinical Microbiology. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology, ed. Weissfeld A.S. 1990, Washington DC: American Society for Microbiology.
6. Anderson NL, Noble MA, Weissfeld AS,Zabransky RJ. CUMITECH 3B: Quality Systems in the Clinical Microbiology Laboratory. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology, ed. Sewell D.L. 2005, Washington DC: American Society for Microbiology.
7. Hamlin WB. Requirements for accreditation by the College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program. Arch Pathol Lab Med, 1999; 123: 465-7.
8. JCI. Uluslararası Birleşik Komisyon Hastaneler İçin Akreditasyon Standartları. 2 ed. 2003.
9. EA/EURACHEM Working Group. EA-04/10: Accreditation for Microbiological Laboratories. 2002: European co-operation for Accreditation.
10. Sharp SE,Elder BL. Competency assessment in the clinical microbiology laboratory. Clin Microbiol Rev, 2004; 17: 681-94.
11. Kuş H. USAS hakkında önemli sorular. SB Diyalog, 2005; 15: 20-21.
12. (ISO) TIOfS. ISO 15189:2003. Medical Laboratories-- Particular requirements for quality and competence. 2003, London: European Committee for Standardization.
13. Akyar I. [ISO 15189 accreditation in clinical microbiology laboratory: general concepts and the status in our laboratory]. Mikrobiyol Bul, 2009; 43: 683-97.
14. Jones RN,Edson DC. Special topics in antimicrobial susceptibility testing: test accuracy against methicillin-resistant Staphylococcus aureus, pneumococci, and the sensitivity of beta-lactamase methods. Am J Clin Pathol, 1983; 80: 609-14.
15. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 18th Informational Supplement M100-S18. 2008: Clinical and Laboratory Standards Institute.

16. Dogan O, Gulmez D,Hascelik G. Effect of new breakpoints proposed by Clinical and Laboratory Standards Institute in 2008 for evaluating penicillin resistance of Streptococcus pneumoniae in a Turkish University Hospital. Microb Drug Resist, 2010; 16: 39-41.
17. Arora DR. Quality assurance in microbiology. Indian J Med Microbiol, 2004; 22: 81-6.
18. Kalra J. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical areas. Clin Biochem, 2004; 37: 1052-62.
19. Plebani M. Charting the course of medical laboratories in a changing environment. Clin Chim Acta, 2002; 319: 87-100.
20. Elder BL, Hansen SA, Kellogg JA, Marsik FJ,Zabransky RJ. CUMITECH 31: Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology LAboratory. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology, ed. McCurdy B.W. 1997, Washington DC: American Society for Microbiology.
21. Howanitz PJ. Errors in laboratory medicine: practical lessons to improve patient safety. Arch Pathol Lab Med, 2005; 129: 1252-61.

SAĞLIK BAKANLIĞI KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ULUSAL EKSTERNAL KALİTE KONTROL PROGRAMI

İsmail CEYHAN
Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Başkanlığı, Ankara

Kalite Güvence Sistemi laboratuvar hizmetlerinin verimliliğinin, güvenilirliğinin ve etkinliğinin yükseltilmesini sağlamak amacıyla oluşturulmuş düzenli izleme, denetim ve değerlendirme sistemidir. Laboratuvar, kalitesini güvence altına almak için sistemini doğru kurmak ve doğru şekilde uygulamak zorundadır. Çünkü laboratuvarın hatalı bir onucu her şeyi mahvedebilir. Dış Kalite Kontrol ve değerlendirme bu sitemin önemli bir parçası olmakla birlikte yeterli değildir. Tam ve eksiksiz biçimde işlemesi için testlerin preanalitik, analitik ve post analitik evrelerini içermelidir. Ayrıca sistem, yasal düzenleme veya mevzuata ihtiyaç duyar.

Klinik laboratuvarlarda uygulanabilecek kalite güvence sisteminin birbirine bağımlı 3 esas elemanı vardır:

1. Kalite kontrol,
2. Kalitenin geliştirilmesi
3. Yeterlilik testleri

1.Kalite Kontrol

Laboratuvar çalışmalarının ve test veriminin kabul edilebilir sınırlar içersinde olmasını sağlamak, laboratuvar veriminin etkili ve devamlı bir şekilde yükseltmek için kendi içinde sistematik olarak izlenmesidir. İç kalite kontrol (internal control/internal supervision) olarak da bilinir. Testlerin veya sistemin kendi iç dinamiklerinin kontrol edilmesini esas alır.

2.Kalitenin geliştirilmesi

Laboratuvar hizmetlerinin başarıya ulaşmasındaki problemlerin tespiti, engel ve darboğazların kaldırılması ile düzeltici faaliyetler yapılmasını esas alan düzenli bir izleme ve değerlendirme sistemidir. En önemli elemanlar veri toplama, veri analizleri ve yaratıcı çözüm üretimidir. Proje yönetim sistemlerindeki planla, uygula, değerlendir ve geliştir şeklinde çalışırı ise daha etkin bir işleyiş kazanabilir. Laboratuvar uygulamalarında hem iç kalite kontrol hem de dış kalite değerlendirme çalışmalarında kullanılabilir.

3.Yeterlilik testleri

Panel testler, kör tekrarlar ve denetim olmak üzere üç ayrı basamağı vardır. Test ve sonuçlarının referans standartlarla ve objektif olarak karşılaştırılması ve değerlendirilmesi sistemidir. Bu "dış kalite değerlendirme sistemi" olarak da ifade edilmektedir.

Panel testler: Referans bir merkez tarafından hazırlanan belirli sayıda referans test materyalinin periyodik olarak laboratuvara gönderilmesi şeklinde uygulanır. Sistemin doğru kurulup kurulmadığını göstertir. Laboratuvarın doğru sonuç ürettiğini göstermez ancak Kalite güvence sisteminin minimum ve en önemli basamağıdır. Laboratuvar dış kalite kontrol örneklerine rutin muamele yapması özel çalışma yapmamalıdır.

Kör tekrarlar: Rutin işleyişi ölçer. Belirli sayıda örneğin bir başka dış laboratuvarda, özellikle bir referans merkezde tekrar çalışılması şeklinde uygulanır. Uyumsuz olanlar tekrar değerlendirilir. Merkezin iş yükünü arttırması en önemli dezavantajıdır.

Denetim (Süpervizyon):

Kalite güvence sisteminin önemli elemanı denetimdir. Esas amacı eğitim, destekleme ve koordinasyon sağlamaktır. Doğrudan veya dolaylı denetim (supervizyon) olmak üzere iki şekilde uygulanabilir.

Laboratuvar kalitesini arttırma yönünde standardizasyon ve akreditasyon çalışmaları günden güne önem kazanmaktadır. Ülkemizde bugün için tam bir kalite güvence sistemi bulunmamaktadır. Klinik laboratuvarların bazısı gönüllü olarak, bazısı son yıllarda Sağlık Bakanlığının performans değerlendirme ölçütlerine uyum sağlamak bazısı ise akreditasyon sağlamaya yönelik çoğu yurt dışı kaynaklı "Dış Kalite Kontrol" programlarına katılmaktadırlar. Bazı dernek ve özel laboratuvarlar, hemen hemen tamamı tıbbi biyokimya alanında olmak üzere sınırlı sayıda Dış Kalite Kontrol programı yapmaktadırlar. Klinik Mikrobiyoloji alanında ise henüz düzenli bir program bulunmamaktadır.

Refik Saydam Hıfzıssıhha Başkanlığı olarak Bakanlığımızın stratejik hedeflerine uygun olarak çalışma başlatmış bulunuyoruz. Bu konuda bir birim oluşturduk. Dünya Sağlık Örgütünün teknik desteği ile 16-18 Mayıs 2011 tarihinde 5 farklı ülkeden modellerin tartışıldığı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Ulusal Dış Kalite Kontrol çalıştayı yapılmıştır. Ülkemizde de bir dış kalite değerlendirme sisteminin kurulmasının önemli bir ihtiyaç olduğunun altı çizilmiştir.

Sağlık Bakanlığı önümüzdeki dönem için tüm ileri ülkelerde olduğu gibi Dış Kalite Kontrol ve değerlendirme çalışmalarını gerekli yasal alt yapıyı da oluşturarak yürütmeyi öngörmektedir. Aslında zaten bu çalışmalar Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü bünyesindeki laboratuvar hizmetleri Daire Başkanlığı'nın bu yıl itibariyle kurulması sonrasında başlatılmış durumdadır. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı bu programda teknik destek oluşturmaya ve klinik mikrobiyoloji testlerinde programlar başlatmayı hedeflemiştir. Örneğin bugün için tüberküloz testlerinde Dünya Sağlık Örgütü ile 2005 yılında başlatılan ilaç direnç dış kalite kontrolünü 2011 yılı itibariyle mikroskopi ve kültür için yaygınlaştıracaktır. Avrupa Birliği Projesi kapsamında Ulusal Antibiyotik Mikrobiyal Direnç testleri başta olmak üzere laboratuvarlarda kalite sistemlerini gözden geçirerek ihtiyaç belirlemek ve uygulamaya koymak Başkanlığın hedefleri arasında yer almaktadır.

Kaynaklar

1. APHL, CDC, IUATLD, KNCV, RIT, WHO. External Quality Assessment for AFB Microscopy. 2002.
2. WHO, Quality Assurance in Bacteriology and Immunology. 2003.
3. Perovic, O. Microbiology NEQAS in South Africa: overview and presentation of the National Institute of Communicable Diseases Microbiology EQA programme. Consultation on the Establishment of Clinical Microbiology External Quality Assessment Programme in Turkey 16-18 Mayıs 2011. Ankara
4. WHO, 1991. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology
5. Isenberg, H D. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Volume 3. Second Edition. 2007.

MALDI TOF İLE MİKROORGANİZMALARIN TANIMLANMASI

Tanıl KOCAGÖZ
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

MALDI TOF ("Matrix assisted laser desorption/ionization time of flight") temel olarak bir kütle spektrometresidir (1). Son birkaç yıldır bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların türlerinin saptanmasında en önemli yöntemlerden birisi haline gelmiştir (2). İncelenecek örneğin içerisinde çözüldüğü maddeye matriks adı verilir ki bu madde genelde zayıf bir asittir ve inceleme sırasında proton vererek örnekteki moleküllerin iyonize olmasını sağlar. MALDI (matriks eşliğinde lazer dezorpsiyon ve iyonizasyon) yönteminde bir yüzey üzerine konmuş örneğe gönderilen mor ötesi lazer ışını, örneği oluşturan moleküllerin yüzeyden buharlaşarak havalanması sağlanır. Bu sırada örnekle birlikte buharlaşan matriks maddesi proton vererek moleküllerin iyonize olmasını sağlar. MALDI'nin çalışma temeli tam olarak anlaşılamamış olmasına karşın, lazer ışınlarının esas olarak matriks molekülleri tarafından tutulduğu, ısınan ve iyonize olan bu moleküllerin incelenen moleküllerin yüzeyden buharlaşarak kopmasını (dezorpsiyon) ve iyonize olmasını sağladığı düşünülmektedir. Başka iyonizasyon yöntemleri, DNA, protein gibi biyopolimer zincirlerini parçalayabilmektedir; buna karşın MALDI yumuşak bir iyonizasyon yöntemidir ve moleküllerin bütünlüğünü bozmadan iyonizasyon sağlar; bu sayede incelemelerin güvenilirliği artar. Kondukları yüzeyden buharlaşıp iyonize olan moleküller MALDI TOF aygıtının uzun tüpü içerisinde güçlü elektrik alanı sayesinde algılayıcıya doğru hızlandırılırlar. Uçuş sırasında moleküllerin hava molekülleri ile çarpışarak etkilenmemesi için tüp içerisindeki hava boşaltılarak vakum oluşturulur. Algılayıcıya dek olan uçuş süreleri (time of flight –TOF-) moleküllerin ağırlıklarına bağlıdır. Molekül ağırlığı ne kadar küçük ise algılayıcıya ulaşma süresi de o kadar kısadır. Algılayıcıya çarpan moleküller ile oluşturulan sinyaller bilgisayar ekranında tepeler oluşturan bir grafiğe dönüştürülür. Tepelerin geliş sırası ve süresi moleküllerin ağırlığına bağlı olarak küçükten büyüğe dizilirken tepelerin yüksekliği moleküllerin miktarını göstermektedir. Günümüzdeki ayrım gücü yüksek MALDI TOF aygıtlarında bir iyon aynası ("reflectron") bulunur. Aygıtın tüpünde bir uçtan diğerine ulaşan moleküller buradaki yansıtıcının yarattığı elektrik alanı ile yansıtılarak geri gönderilirler. Moleküller ne kadar ağır ise geri dönüşleri yansıtıcı içerisinde o kadar gecikir. Hem bu gecikme, hem de moleküllerin kat ettikleri uzaklığın iki katına çıkması MALDI TOF'un ayrım gücünü önemli ölçüde arttırır (1, 2).

MALDI TOF en fazla biyokimya, organik kimya, polimer kimyası ve mikrobiyoloji alanlarında kullanılmaktadır. Proteinlerin ayrıntılı incelemeleri iki boyutlu jel elektroforezi duyarlılığında çok kolay ve hızlı bir şekilde yapılabilmektedir. Polimerlerin büyüklüklerinin ölçümü yine bu yöntemle çok kolay hale gelmiştir. MALDI TOF hücreleri oluşturan tüm moleküllerin incelenmesinde de etkin olarak kullanılmaktadır. Hücre molekül profillerinin ayrıntılı ve duyarlı bir şekilde çıkartılabilmesi, hücreler arasındaki küçük değişimleri saptayabilme, biyolojik araştırmalarda ve tanıda büyük önem kazanmıştır. Mikrobiyoloji alanında MALDI TOF'tan en fazla yararlanılan konu bakteri ve mantarların türlerinin hızlı belirlenmesidir. MALDI TOF aygıtı pahalı olmasına karşın bir kez alındıktan sonra testler için kullanılan sarf malzemeleri çok ucuz olmaktadır.

Uygulama için kültürde saf olarak üretilmiş organizmalar, matriks çözeltisi içinde parçalandıktan sonra örnek tepsisine konarak kurutulur ve inceleme için MALDI TOF aygıtına yerleştirilir. Bir organizmanın incelenmesi saniyeler içerisinde gerçekleştirilir. MALDI TOF' dan elde edilen molekül profillerinin değerlendirilmesi oldukça karmaşık bir işlem olmasına karşın bunları değerlendiren bilgisayar programlarının geliştirilmesi ile bu işlem çok kolaylaşmıştır. Mikroorganizmaların türlerini belirleme için kullanılan MALDI TOF programlarının hazırlanması için çok sayıda mikroorganizma türünün MALDI TOF ile molekül profilleri çıkartılmış ve bu programların bilgi bankasına kaydedilmiştir. Türü bilinmeyen bir mikroorganizma incelendiğinde, elde edilen profil bilgi bankasındaki profillerle karşılaştırarak mikroorganizmanın türü belirlenir. MALDI TOF programlarının bilgi bankasına kaydedilen mikroorganizma sayısı her yıl hızla artmaktadır (3).

Son yıllarda kültürde üretilen çok sayıda mikroorganizmanın tür saptaması MALDI TOF ile yapılmaya başlanmıştır. Kullanılan yöntemler giderek daha kolaylaşmakta ve standart hale gelmektedir. Van Veen ve ark. 2010 yılında yoğun bir mikrobiyoloji laboratuvarında yaptıkları çalışmada hem bakterilerin hem de mayaların türlerini büyük bir doğruluk oranı ile saptayabilmişlerdir. MALDI TOF un doğru saptama oranı (%92), klasik biyokimyasal testlerin doğru saptama oranından (%83) daha iyi bulunmuştur. Bu çalışmada kültür için kullanılan besiyeri çeşidi ve inkübasyon sıcaklığı, kültür plağının buzdolabında beklemiş olması, inkübasyonun hava veya karbon dioksit ile yapılmış olması MALDI TOF ile tür saptama sonucunu etkilememiştir. Mayalar MALDI TOF öncesi yıkama ve parçalama işlemi gerektirirken bakterilerin doğrudan MALDI TOF tepsisine yüklenmesi yeterli olmuştur (2, 3). Bakterilerin önceden yıkama ve parçalama işlemi uygulanmadan doğrudan MALDI TOF plağına yüklenebileceğini doğrulayan birçok çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmalarda besiyerindeki kolonilerden öze ile alınarak MALDI TOF tepsisindeki örnek yükleme noktalarına sürülmüş daha sonra üzerlerine matriks çözeltisi konarak kurutulmuş ve doğrudan incelemeye alınmıştır (2, 3, 4).

Justesen ve ark. anaerop bakterilerin MALDI TOF ile tür saptanması üzerine yaptıkları çalışmada bu yöntemin alışılmış tür saptama yöntemlerinden daha doğru sonuçlar vermesine karşın doğru tür saptama düzeyi %67,2'de kalmıştır. Bu durumu, birçok anaerop bakteri türünden elde edilen MALDI TOF biçemlerinin aygıtın bilgi bankasına tanımlanmamış olmasına bağlamışlardır. Aslında bu söyledikleri tüm mikroorganizmalar için geçerlidir. Bir bakteri

türünden tanımlanan MALDI TOF biçemleri, değerlendirme programlarına ne kadar çok tanıtılırsa, bu bakteri türünün doğru tanımlanma oranı o ölçüde artmaktadır (5).
Birçok türünün kültürde üretilmesinin uzun sürmesi dolayısı ve başka yöntemlerle türlerinin saptanmasının zor olduğu mikobakteriler için MALDI TOF ile tür saptama çok önemli olabilir. Başta yapılan çalışmalar mikobakteri türlerinin saptanması için çok fazla mikobakteri gerektiğini düşündürse de yeni çalışmalar uygun protein özütleme yöntemlerinin kullanılması ile 10^5 mikobakterinin yeterli olduğunu göstermiştir. Bir kolonide 10^7-10^8 kadar bakteri olduğu düşünülürse bir koloninin yüzde ya da binde birinin tür saptama için yeterli olduğu hesaplanabilir. Mikobakteriler için de MALDI TOF biçemleri konusunda bilgi bankasının zenginleştirilmesi gerekmektedir (6).
Teel ve ark. gerçekleştirdikleri bir çalışma ile dermatofitleri MALDI TOF ile tiplendirebilmişler ancak onlar da tür saptama doğruluğunun arttırılabilmesi için, farklı dermatofit MALDI TOF değerlendirme biçemlerinin, bilgi bankasına tanımlanması gerektiğini bildirmişlerdir (7).
Mikroorganizmaların türünün saptanması yanında MALDI TOF ile hızlı antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması da kuramsal olarak olanaklı görünmektedir. Bir süre antibiyotiksiz ve antibiyotikli besiyerinde bekletilen bakterinin MALDI TOF biçemleri karşılaştırılarak aralarında farklılık olup olmadığı belirlenebilir. Biçemlerin farklılığı bakterinin antibiyotiğe duyarlı olduğunu gösterirken benzerliği dirençli olduğunu gösterebilir.
Sonuç olarak MALDI TOF kültürde üretilebilen mikroorganizmaların türlerinin saptanmasında alışılmış yöntemlerin hızla yerini almaktadır. Yakın zamanda MALDI TOF' a dayanan antibiyotik duyarlılık testlerinin geliştirileceği ve günlük kullanıma gireceği düşünülebilir.

Kaynaklar

1. Wikipedia:Matrix-assisted laser desorption/ionization: http://en.wikipedia.org/wiki/Matrix-assisted_laser_desorption/ionization
2. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D. Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. Clin. Inf. Dis. 2009, 49:543-551
3. Van Veen, SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. J. Clin. Microbiol. 2010, 48:900-907
4. Highly Efficient Classification and Identification of Human Pathogenic Bacteria by MALDI-TOF MS. Hsieh SY, Tseng CL, Lee YS, Kuo AJ, Sun CF, Lin YH, Chen JK. Molecular & Cellular Proteomics. 2007, 7.2:449-456
5. Justesen US, Holm A, Knudsen E, Andersen LB, Jensen TG,1 Kemp M, Skov MN, Gahrn-Hansen B, Møller JK. Species Identification of Clinical 1 Isolates of Anaerobic Bacteria: a Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Systems. J. Clin. Microbiol. 2011, 10 (doi:10.1128/JCM.05788-11)
6. El Khe´chine A, Couderc C, Flaudrops F, Raoult D, Drancourt M. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Identification of Mycobacteria in Routine Clinical Practice. PLOS, 2011, (6)9:e24720
7. Theel ES, Hall L, Mandrekar J, Wengenack NL. Dermatophyte Identification Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry. J. Clin. Microbiol. 2011, 9 (doi:10.1128/JCM.01280-11)

MİKROORGANİZMALARIN TANIMLANMASINDA SPEKTROSKOPİK YÖNTEMLER

Çağrı ERGİN
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli

Temel olarak ele alındığında spektroskopik analiz, çeşitli fizik sistemlerindeki enerji seviyeli yapıların (atom, molekül veya iyonların) farklı enerji düzeyleri arasındaki geçişleri sırasında oluşan absorbsiyon veya emisyon enerjisinin deneysel grafik haline getirilmesidir. Dalga boyları ve girişimsel olasılık çalışmaları astrofizik, plazma ve lazer fiziği gibi atom ve moleküllerin doğrudan incelenmesi aşamasında, temel veya teorik spektroskopi ile yapılırken, farklı teknik ve amaç nedenleri ile geliştirilmiş uygulamalı spektroskopik analiz yöntemleri (optik atomik absorbsiyon veya emisyon spektroskopisi, lazer dezorpsiyon/iyonizasyon (MALDI-SELDI/TOF) spektroskopisi, elektron spektroskopisi veya nükleer magnetik reasonans (NMR) vb) aralarında tıp ve sağlık bilimlerinin de bulunduğu farklı disiplinlerde uygulama imkanları bulabilmektedir (1-3).

Kimyasal analiz yöntemleri ile bir inorganik maddenin tanımlanması alanında kullanılan spektroskopik analiz yöntemleri birbirlerinden farklı teknik temellere dayanır ve/veya farklı yöntemler ile desteklenebilir. Ancak biyolojik bilimler alanında spektroskopik tekniklere dayalı teknikler henüz yeterli verinin bulunmadığı bir aşamadadır. Sağlık alanında spektroskopik yöntemlerin kullanımını halen farklı disiplinler içinde araştırılmaktadır. Tanısal mikrobiyoloji alanında mikrobiyal "parmakizi" kütüphanelerinin oluşturulması, metabolik son ürün ve/veya yaşamsal biyokimyasal reaksiyonların tanınması, endüstriyel mikrobiyoloji alanında sentez ve yıkım aşamasında ortay çıkan maddelerin tanımlanması, gıda mikrobiyolojisi alanında ürün üretiminde ara basamakların kontrolü gibi spektroskopik yöntemlerin hedefleri temel olarak farklı amaçlara göre biçimlenmektedir. Tıbbi mikrobiyoloji alanında ise hızlı, pratik ve doğru sonuçların alınmasına yönelik araştırmalar, geliştirilmekte olan tanısal cihazların kullanacakları teknikleri etkilemektedir (4-11).

Spektroskopik yöntemin seçimi, incelenecek veya araştırılması istenen maddelerin yapısı ile ilişkilidir. Bu nedenle tıp alanında sıklıkla kullanılan spektroskopik analiz yöntemi vibrasyonel (titreşimsel) spektroskopi temeline dayanan yöntemler olan NMR, kızılötesi (Infrared, IR) ve Raman spektroskopileridir. Farklı cihazlar ile elde edilen verilere gerekli olduğu durumlarda matematik dönüşümler (Örneğin Fourier dönüşümü) uygulanır. Aynı zamanda moleküller arasındaki reaksiyonların dolaylı yoldan belirlenmesinde kullanılan görünür dalga boyu spektrospisi de günümüzde ELISA tekniğinde hemen her tanısal laboratuvarda bulunmaktadır. Türbidimetri ve nefelometri laboratuvarlarda sık kullanılan, ancak temel olarak sınıflandırıldığında görünür dalga boyu spektrometresidir. Kemiluminesans, elektroluminesans (elektrokemoluminesans), biyoluminesans ve fotoluminesans ise uyarılmış atomun tekrardan eski enerji seviyesine dönmesi esnasında elde edilen spektroskopidir. Bu tekniklerin ayrımı, enerji uyaranının farklılığı ile ikili (fluoresans) veya üçlü (fosforesans) sistemden atomun eski haline dönmeye çalışırken elde edilen veriler sonucunda oluşur. Ancak görünür ışık ve fluoresans dalga boylarındaki spektroskopik veriler, mikrobiyoloji alanında da kullanılmakla birlikte, test ortamında bulunan maddelerin niceliğini saptayan sağlık disiplinlerinde (farmakoloji, biyokimya, fizyoloji vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır.

Günümüzde vibrasyonel spektroskopiler, mikrobiyoloji alanında üzerinde çok sayıda araştırmanın yürütüldüğü tekniklerdir. NMR tekniğinin daha karmaşık ve pahalı cihaz gerektirmesine rağmen IR spektroskopi cihazlarının daha kolay ulaşılabilen, uygulanabilen ve ucuz cihazlar olması, literatürde son zamanlarda hızla artan tanısal mikrobiyoloji alanında yöntem tanımlamalarına ve "parmakizi" yayınlarına yol açmaktadır (5-10). Raman spektroskopisi de vibrasyonel spektroskopiler arasında olmasına rağmen mikrobiyolojide nadiren kullanılmaktadır. IR spektroskopilerinin ATR (Attenuated Total Reflectance) IR işleminde ise teorik olarak aynı prensiblerle değerlendirilen teknik farklılık, hem zaman, hem de işlev açısından daha üstündür. Optik IR spektroskopilerde ise ışık mikroskobu yerine incelenen materyal kızılötesi ışınım ile değerlendirilmektedir. Bu tür mikroskoplarda hedeflenen, ışık mikroskoplarında alışıldığı şekilde yapının görnür hale getirilmesi değil, yapı içinde bulunan moleküler bağların dağılımının analiz edilmesidir. Bu yöntem optik mikrospektroskopi olarak da adlandırılabilmektedir (12-14).

Kızılötesi spektroskopisi (IR) tekniği Fourier dönüşüm (FT) yapılarak değerlendirilmektedir. Hemen her araştırma ve kimyasal analiz laboratuvarında bulunan Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) 20.yüzyılın başlarından itibaren biyolojik bilimlerde araştırmalarda kullanılmaktadır. Mikrobiyolojide polipeptidlerin ve proteinlerin yapısal analizlerinin FT-IR spektroskopik incelemesi 1950'lerde başlamıştır. Günümüzde kızılötesi spektroskopi uygulamalarının teknik olarak ilerlemesi ile birlikte nükleik asidler, lipidler ve karbohidratlar da incelenebilmektedir. FT-IR spektroskopinin tanısal mikrobiyolojide sıklıkla kullanım amacı mikroorganizmaların tanımlanması ve sınıflandırılmasıdır. Aynı zamanda mikrobiyal ürünlerin ve antimikrobiyal maddelerin tanınmasında da yaygın bir kullanım alanı vardır. Kızıl ötesi bölgesindeki soğurma, moleküllerin titreşme ve dönem düzeylerini uyarır. Teknik, bu uyarımının ölçümü esasına dayanır. Bu absorbsiyon, çeşitli titreşim ve dönme halleri arasındaki enerji farklarının küçük olması nedeniyle çoğunlukla moleküler yapılarla sınırlıdır. Dalga sayısı hem enerji hem de frekans ile doğru orantılı olduğundan FT-IR incelemelerinde dalga sayısı ölçek olarak kullanılır. FTIR ile yapılan mikrobiyolojik analizlerde orta (2.5-25 μm) kızılötesi ışığı ile 4000 cm^{-1} ve 400 cm^{-1} arasında kalan bölge incelenir (3-9, 12-14).

NMR ile inceleme ise FTIR tekniğine göre daha detaylı ve daha dinamik veriler verir. Mikroorganizmalarda ilk NMR incelemesi 40 yıla yakın süre önce bildirilmiştir. Çoğunlukla ^{1}H, ^{2}H, ^{13}C, ^{15}N, ^{23}Na, ^{19}F ve ^{31}P

mikrobiyolojide incelenen yapılardır. NMR analizleri için hedeflenen yapısal analizlerin ortaya konmasında sıvı veya katı faz ortamları seçilir. Sıvı ortam NMR araştırması mikrobiyoloji alanında daha yüksek duyarlılık ve doğru nicelik elde etmede daha başarılıdır. İn-vivo ortamlarda yapılan NMR araştırmaları ise eş-zamanlı ve kinetik değişimlerin elde edilmesinde, in-vitro ortamda bozulan moleküller ile (glikojen, polifosfat, intrasellüler polimer, transmembran değişim seviyeleri belirteçleri; Na^+ ve H^+ gibi..) çalışılmasına imkan sağlar. Hücre içi "In-cell" NMR terimi ise mikroorganizma içinde makromolekül, protein yapısı, protein dinamikleri ve proteinler arası ilişkinin açıklanmasında kullanılan NMR protokollerini kapsar. Hücre yüzey glikokonjugatlarının dinamiği de bakteriyel patogenez çalışmalarında kullanılmaktadır. Plesiomonas shigelloides, Yokenella regensburgei, Campylobacter jejuni, Neisseria meningitides, Mycobacterium türleri ve Staphylococcus aureus NMR ile hücre yüzey dinamikler en sık araştırılan modellerdir. Enerji metabolizması, metabolik yolağın tanımlanması, metabolik akım belirlemesi, ksenobiotik yapıtaşlarında biokataliz ve biyotransformayon, polimer sentez ve yıkımı, biyofilmler ve metobolomik araştırmaları NMR ile yapılmaktadır. NMR analizinin geniş bir inceleme alanında kullanımına rağmen kısıtlı merkezlerde bulunabilmesi, mikrobiyoloji alanında elde edilen verilerin kullanımında kısıtlılıklara neden olmaktadır (10, 11).

Kombine spektroskopik veri sistemlerinin NMR ile eş zamanlı kullanımı (aynı zamanda yüksek performanslı yağ kromatografisi (HPLC) ve kütle spektroskopisi (MS)) mikrobiyoloji alanındaki ilerlemelere önemli katkılar sağlayacaktır. Ancak NMR testleri, rutin kullanımın dışında çoğunlukla tanımlamaya yöneliktir. Bugün için NMR spektroskopi ile elde edilen veriler (son ürün tanımlaması, metabolik yolak basamakları vb) farklı mikrobiyolojik yaklaşımların (antibiyotik hedefinin saptanması, tanısal molekülün belirlenmesi, aktif yüzey reseptörünün tanınması, genom, traskriptom, proteom, fluksom sonuçları ..vb) yön belirlemesinde önemli bir yol göstericidir (10, 11).

Vibrasyonel spektroskopi ile moleküler tanımlaması yapılmış bakteriler üzerinde araştırmalar devam etmektedir. Aynı tür içinde değişmeyen veri alanlarının bulunması, türler arasında ayırım yaratan parmakizi bölgelerinin saptanması gereklidir. Elde edilen spektral analizler bölümler halinde basamaklı korelasyon analizleri ile incelenir ve benzer spektruma sahip olanlar dendrogram ile sınıflandırılır. Mikroorganizmaların yapılarının üreme dönemlerine ve ortamın fizyolojik farklılıklarına göre değişimler göstermesi spektroskopik yöntemler için önemli bir sorun oluşturmaktadır. Günümüzde spektroskopik mikrobiyal tanımlamada uygulama alanlarını sınırlayan en önemli parametre, incelenecek olan mikrobiyal materyalin bir saf kimyasal/bileşik olmayıp, bir organizma olması, komplike moleküler yapıları bulundurmasıdır. Doğal yapısındaki organizma gelişme sürecinin evrelerine göre yapısında farklı kimyasallar oluşturmakta (hücre duvarı, spor, kapsül, vb), aynı zamanda da ortama farklı metabolik atıklar çıkartmaktadır. Bu durum ise moleküler bağ yapısının incelenmesini veya atom yapılarının enerji seviyelerini esas alan spektroskopi esaslı ölçümlerin yorumlanmasını ve kullanılabilirliğini zorlaştırmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar, hızlı ve ucuz olan spektrospik analizlerin, mikrobiyoloji araştırmalarında, hatta rutin uygulamalarda da kullanılabileceğini göstermektedir. Henüz bu amaçla rutin kullanıma uygun cihaz bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Svanberg S. Atomic and molecular spectroscopy: Basic aspects and practical applications. 4.baskı (gözden geçilmiş), Springer-Verlag, 2004.
2. Seng P, Rolain JM, Fournier PE, La Scola B, Drancourt M, Raoult D. MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. Future Microbiol 2010; 5: 1733-54.
3. Erdik E. Kırmızı ötesi (İnfrared) spektroskopisi. "Organik kimyada spektroskopik yöntemler" kitabında, Gazi Büro Kitabevi, Ankara, 1993: 82-182.
4. Wharfe ES, Jarvis RM, Winder CL, Whiteley AS, Goodacre R. Fourier transform infrared spectroscopy as a metabolite fingerprinting tool for monitoring the phenotypic changes in complex bacterial communities capable of degrading phenol. Environ Microbiol 2010; 12: 3253-63.
5. Pistorius AM, DeGrip WJ, Egorova-Zachernyuk TA. Monitoring of biomass composition from microbiological sources by means of FT-IR spectroscopy. Biotechnol Bioeng 2009; 103: 123-9.
6. Fischer G, Braun S, Thissen R, Dott W. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. J Microb Method 2006; 64: 63-77.
7. Naumann D. FT-Infrared and FT-Raman spectroscopy in biomedical research. Appl Spect Rev 2001; 36: 239-98.
8. Toubas D, Essendoubi M, Adt I, Pinon JM, Manfait M, Sockalingum GD. FTIR spectroscopy in medical mycology: applications to the differentiation and typing of Candida. Anal Bioanal Chem 2007; 387: 1729-37.
9. Maquelin K, Kirschner C, Choo-Smith LP, et al. Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens recovered from blood cultures. J Clin Microbiol 2003; 41: 324-9.
10. Grivet JP, Delort AM. NMR for microbiology: In vivo and in situ applications. Prog Nucl Mag Res Spect 54: 2009; 1-53.
11. Grivet JP. NMR and microorganisms. Curr Issues Mol Biol 2001; 3: 7-14.
12. Orsini F, Ami D, Villa AM, Sala G, Bellotti MG, Doglia SM. FT-IR microspectroscopy for microbiological studies. J Microbiol Methods 2000; 42: 17-27.

13. Naumann A. A novel procedure for strain classification of fungal mycelium by cluster and artificial neural network analysis of Fourier transform infrared (FTIR) spectra. Analyst 2009; 134: 1215-23.
14. Li H, Doucette LD, Bousfield D, Tripp CP. Detection of spores using electric field-assisted FTIR-ATR. Anal Chem 2010; 82: 5053-9.

NÜKLEİK ASİT TEMELLİ MİKROORGANİZMA TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

Barış OTLU
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Malatya

Mikroorganizmaların "nükleik asit temelli yöntemlerle" (NAT) tanımlanması, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en hızlı gelişen alanlardan biridir. Bu yöntemler, klinik örnekteki patojen mikroorganizmanın varlığını tespit etmek için özgül nükleik asit dizilerini (DNA veya RNA) hedef alır. Hızlı ve duyarlı olmalarından dolayı, giderek klasik mikrobiyolojik metotların yerini almakta veya tamamlayıcısı olmaktadırlar (1, 2).

İlk nükleik asit temelli tanı testleri, restriksiyon endonükleaz ve revers transkriptaz'ların 1970'li yılların başlarında keşfedilmesinden sonra geliştirilmeye başlanmıştır (3). Bu gelişmeleri, blotlama (Northern blotting, Southern blotting, dot bloting) ve DNA dizileme yöntemlerinin tanıtılması takip etmiştir. Polimeraz zincirleme tepkimesinin (Polymerase Chain Reaction, PCR) 1983 yılında keşfedilmesi, moleküler biyolojinin hızla gelişmesini sağlamış ve nükleik asit temelli tanı testleri rutin laboratuvarlarda yerini almaya başlamıştır (3, 4). Bu testlerin tanı kabiliyetlerinin fark edilmesi ve dolayısıyla ticari başarıları, moleküler tanı teknolojisinde birçok inovatif gelişmenin yaşanmasına neden olmuştur. Nükleik asitlerin tespitinde temel olarak iki farklı strateji bulunmaktadır. Bunlardan ilki; hedef nükleik asitin, prob hibridizasyonu yöntemiyle direkt olarak tespit edilmesidir. Diğeri ise; in vitro amplifikasyon yöntemi ile hedef dizinin çoğaltılmasıdır. Bu yöntemlerin zaman içerisinde farklı avantajlara sahip birçok modifikasyonları yapılmıştır.

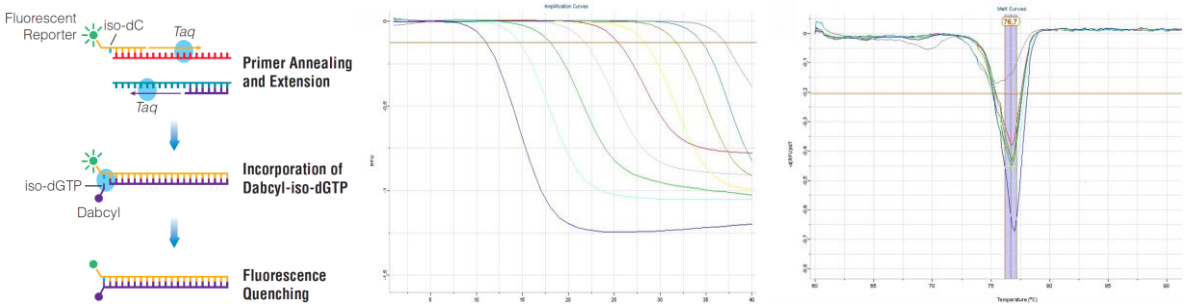
Direkt nükleik asit prob hibridizasyon testleri, özellikle kültür bazlı yöntemlerle birlikte mikroorganizmaların tanısında uzun süredir kullanılmaktadır. Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmış (1988 yılında) ilk nükleik asit temelli test, Chlamydia trachomatis ve Neissseria gonorrhoeae'nin tespiti için kullanılan nükleik asit hibridizasyon testidir (Gen-Probe PACE) (5). Direkt nükeik asit tanı yöntemlerinden bir diğeri de, hedef dizinin (genellikle 16S rRNA veya 23S rRNA) florensans problarla hibridize edildiği fluorescence in situ hybridization (FISH) yöntemidir. Bu yöntem genellikle kültür pozitif örneklerde mikroorganizmaların cins ve tür düzeyinde tanımlamaları için kullanılmıştır. Direkt tespit yöntemlerinin, önemli avantajı sofistike cihazlara ihtiyaç duymamasıdır (1, 5).

Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri; PCR, nucleic acid sequence-based amplification (NASBA), strand displacement amplificaiton (SDA), rolling circle amplification (RCA), loop mediated isothermal amplification (LAMP) olmak üzere bir çok farklı modifikasyona sahiptir. Klinik laboratuvarlarda kullanılan FDA tarafından onaylanmış ilk nükleik asit amplifikasyonuna dayanan test (1993 yılında), Chlamydia trachomatis (Amplicor CT, Roche) için geliştirilmiştir. Polimeraz zincirleme tepkimesi ile ilgili ilk gelişmeler, kullanılan polimeraz enzimi ve ısı döngü cihazlarında yaşanmıştır. Bugün gelinen noktada, nanolitre örnek miktarı ile çalışabilen microfluidic cihazlar ile birlikte mikrodalga ısıtma sistemleri kullanılmaya başlanmıştır (6).

Buraya kadar anlatılan yöntemler, konvansiyonel mikroorganizma tanı yöntemlerinde olduğu gibi tek bir hedefe yönelik olduklarından ilk jenerasyon nükleik asit tanı testleri olarak adlandırılmaktadır (1). Aynı anda çok sayıda hedef dizinin çoğaltılabildiği mulitpleks PCR yöntemlerinin geliştirilmesi ile birden fazla patojen mikroorganizmanın tespit edilmesi olanaklı hale gelmiştir. Real-time (eş zamanlı) PCR tekniklerinin geliştirilmesi, PCR'ın keşfinden sonraki en önemli gelişmedir. Klasik nükleik asit çoğaltma yöntemlerinden daha hızlı ve daha duyarlı olan real-time PCR yöntemlerinde, amplikonun analizi için reaksiyon tüpünün açılması gerekmediğinden kontaminasyon riski daha azdır. Bu yöntemlerde çoğaltılan amplikonlar; floresan işaretli probların kullanıldığı; TaqMan, molecular beacons, FRET (Floresans rezonans enerji transfer), Scorpions, Amplifluor™ gibi yöntemler ile özgül olarak, SYBR Green I, YO-PRO-1 ve etidyum bromür gibi DNA'ya bağlanabilen boyalar ile özgül olmayarak gösterilebilir. Farklı floresan moleküllerin, farklı dalga boylarında ışıma yapmaları real-time multipleks PCR uygulamalarının yapılmasına da olanak sağlamıştır. Sancho-Tello ve arkadaşları, ticari olarak geliştirilen real-time multipleks PCR yöntemini (LightCycler SeptiFast, Roche) kullanarak, piyojenik enfeksiyonlu hastaların eksüdalarında 25 patojeni aynı anda araştırmış ve kültür yöntemi göre daha duyarlı bulmuşlardır (7).

Günümüzde birbirinden küçük farklarla ayrılan birçok farklı real-time PCR sistemi mevcuttur. Bu sistemlerden biri olan Plexor™ teknolojisi (Plexor™ Techology, Promega) bazı yönleriyle dikkat çekicidir. Son derece yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olan bu yöntemde, isoguanin (iso-dG) ve 5'-methylisocytosine (iso-dC) olmak üzere iki modifeye baz kullanılmaktadır. Birbirleri dışında hiçbir bazla hibridize olamayan bu bazlardan, iso-dC florensans işaretlidir (reporter) ve sentezlenecek primerin 5' ucunun sonunda yer alır. Diğer modifiye baz iso-dG ise floresans sinyali baskılayan dabcyl (quencher) ile bağlıdır. Reaksiyonun zincir uzaması basamağında bu iki bazın hibridize olması, floresans molekülü baskılayacağından sinyal azalır ve dolayısıyla hedef nükelik asitin tespit edilmesini sağlar (şekil 1).

Son zamanlarda kullanılmaya başlayan bir diğer yöntem, real-time electrochemical PCR'dır. Bu metodun diğerlerinden farkı, PCR ile çoğaltılan hedef nükleik asitin optik olmayan yöntemlerle monitörize edilmesidir. Bu yöntemde, reaksiyon karışımında yer alan redox prop, çoğalan dsDNA'ya bağlanır (interkale olur) ve ortamın elektrokimyasal sinyal oranını azaltır. Hassas voltmetre cihazları ile ölçülen elektrokimyasal potansiyel fark, hedef nükleik asitin çoğaldığını gösterir. Halen geliştirilmekte olan bu sistem, diğerlerine göre çok daha ucuz ve duyarlı bir yöntemdir (8).



Şekil 1. Floresan sinyal, zincir uzaması sırasında dabcyl tarafından baskılanır (Plexor™ Techology, Promega).

Son yıllarda; genomik, biyoinformatik ve elektronik alanında yaşanan hızlı gelişmeler sonucu, hem mevcut yöntemlerin gücü arttırılmış hem de yüksek teknoloji ürünü yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu gelişmeler başlıca; -nükleik asit izolasyonunda, -kullanılan enzim ve kimyasallarda, -florometrik, luminometrik, spektrofotometrik ölçüm yapan cihazlarda, -biyoinformatik analiz programlarında olmuştur. Geliştirilen sistemlerden en göze çarpanlar; DNA mikroçip teknolojileri (DNA microarray) ve biyosensörlerdir.

DNA Mikroçip Tekonolojileri

İlk defa 1995 yılında tanıtılan DNA mikroçip teknolojileri, çevresel ve klinik örneklerden mikroorganizmaların tanısı için giderek artan oranda kullanılmaktadır. Bu teknoloji, moleküler biyoloji alanında özellikle hibridizasyon tekniklerindeki gelişmenin ürünüdür (1-3). Bunlara ek olarak, mikroorganizmalara ait ulaşılabilir genom bilgisinin giderek artması ve gelişen bilgisayar teknolojileri, bu yönteme son yıllarda önemli bir ivme kazandırmıştır. Yöntem kısaca; PCR ile elde edilen floresanla işaretli amplikonların çok sayıda farklı oligonükleotid prob içeren katı yüzeylerde, kendisine uyan probla hibridize olması temeline dayanmaktadır. Yüzeye bağlı problarla hibridize olan işaretli amplikonların yaydığı floresan sinyaller, daha sonra optik ya da lazer tarayıcı ile saptanarak bilgisayar ortamında değerlendirilmektedir. Geleneksel hibiridizasyon testleriyle arasındaki en önemli fark, mikroçip teknolojisi ile yüzlerce gen bölgesinin aynı anda hedeflenebilmesidir. Bu yöntemle aynı zamanda; gen ekspresyon profilleri, tek nokta mutasyonları gösterilebilir ve resquencing olarak adlandırılan yöntemle, yeni jenerasyon baz dizi analizi yapılabilir (2).

DNA mikroçip teknolojileri giderek moleküler tanı laboratuvarlarında yerini almaktadır. Staphychip ile metisilin dirençli S.aureus da dahil olmak üzere 15 farklı Staphylococcus türü tespit edebilmektedir (5). Kang X ve arkadaşları, geliştirdikleri pan-viral micrroarray yöntemi ile 32 farklı virüs tespit edilebilmektedir (9). Bakteriyel vajinozisin araştırıldığı bir çalışmada, kültürü ve tanımlaması zor olan (Gardnerella, Atopobium, Dialister, Leptotrichia, Megasphaera, Mobiluncus, Peptostreptococcus, Prevotella, Sneathia) dokuz farklı bakteri DNA mikroçip teknolojiyle gösterilebilmiştir (10).

Bu yöntem, direnç ve virülans genlerinin araştırılması alanında da geliştirilmektedir. Friedrich ve arkadaşlarının toplam 157 prob kullandıkları çalışmada, Enterobacteriaceae ailesi üyeleri hem tür düzeyinde tanımlanmış hem de aminoglikozid, tetrasiklin ve β-laktam gibi önemli antimikrobiyallere karşı direnç genleri aynı anda araştırılmıştır (11). Diğer bir çalışmada Gram negatif bakterilerde; TEM, SHV ve CTX-M gibi *GSBL* tipleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, 156 aminoasit değişikliğini tespit edebilecek 618 prob kullanılmış ve GSBL'ye neden olabilecek genler beş saatte tespit edilebilmiştir (12).

Bütün bu üstün özelliklerine rağmen, taşıdığı potansiyel göz önüne alındığında bu teknolojinin henüz erken dönemlerinde olduğu söylenebilir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı yüksek kurulum (hibridizasyon istasyonu, detektör, analiz programları) maliyetidir.

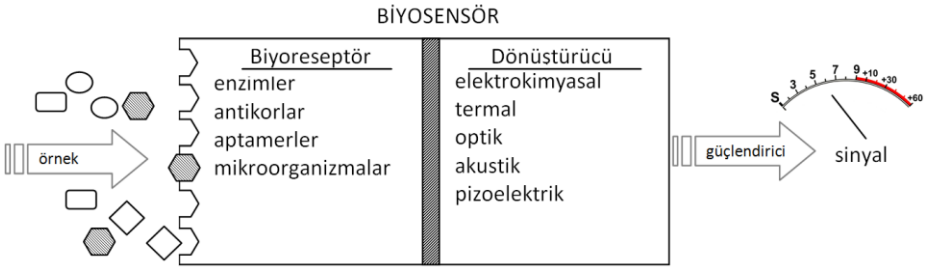
Biyosensörler (Biyoalgıyacılar)

Canlıların algılama ve yanıt verme mekanizması, biyosensörlerin geliştirilmesi için temel oluşturmuştur (13, 14). Biyosensörler; "International Union of Pure and Applied Chemistry" (IUPAC) tarafından, "kimyasal bir bileşiğe karşı verilen biyolojik yanıtı optik, termal ya da elektriksel sinyallere dönüştüren cihazlar" olarak tanımlanmaktadır (15). Glikoz oksidaz enziminin oksijen elektrotları üzerine sabitlendiği ve kandaki glikozu ölçmeye yarayan ilk biyosensör 1960'lı yıllarda tanıtılmıştır. Sonraki yıllarda mikroelektronik alanındaki gelişmeler ve biyolojik moleküllerin olağanüstü duyarlılıktaki yanıt verme kapasitelerinin keşfedilmesi, biyosensör teknolojisinin hızla gelişmesine neden olmuştur (15-17). Bunun sonucunda; tıp, eczacılık, gıda güvenliği, çevre kirliliği, askeri uygulamalar gibi bir çok alanda kullanılmak üzere farklı tipte biyosensörler geliştirilmiştir.

Biyosensörler ile mikroorganizmaların tespitine yönelik çalışmalar 1990'lı yıllarda başlamış ancak son beş yıl içerisinde büyük ivme göstermiştir (18). Çok az örnek gerektirmesi, kısa sürede sonuç vermesi ve taşınabilir olmaları gibi avantajlarından dolayı özellikle gıda kaynaklı patojenlerin tespitine yönelik biyosensörler hızla geliştirilmektedir.

Biyosensörlerin çoğu basit olarak iki kısımdan oluşmaktadır. Bunlardan ilki; biyoreseptör (ligand) olarak adlandırılan, hedef molekülün yakalandığı biyolojik bağlanma bölgesidir. Diğeri ise, gerçekleşen bağlanma sonucunda oluşan, biyokimyasal/fizikokimyasal etkileşimleri ölçülebilir elektronik sinyallere çeviren dönüştürücü (transducer) kısımdır (şekil 2) (19). Biyosensörlerin çoğu tipinde elektrokimyasal, elektrooptikal, akustik veya kütle

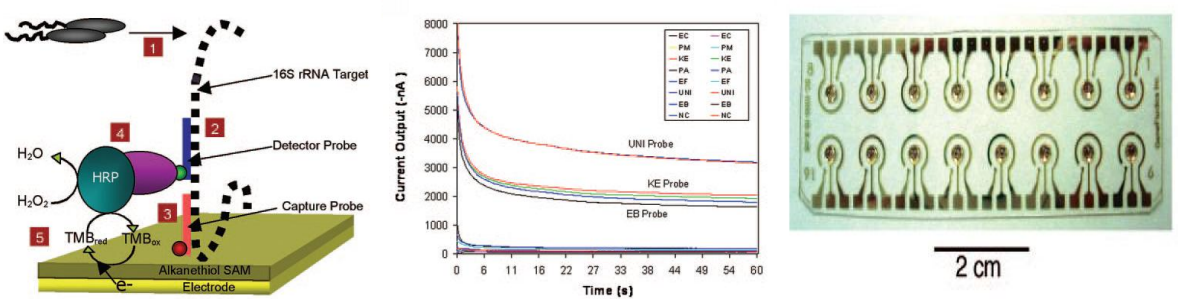
bazlı (piezoelektrik, magnetoelastik) dönüştürücüler kullanılmaktadır (20, 21). Bu dönüştürücülerden bazıları biyolojik etkileşimi gerçek zamanlı olarak gösterebilirken bazıları ikincil elementlerin varlığına (fosfataz veya işaretli antikorlar) ihtiyaç duyarlar.



Şekil 2. Biyosensörün çalışma mekanizması (19 nolu kaynaktan uyarlanmıştır).

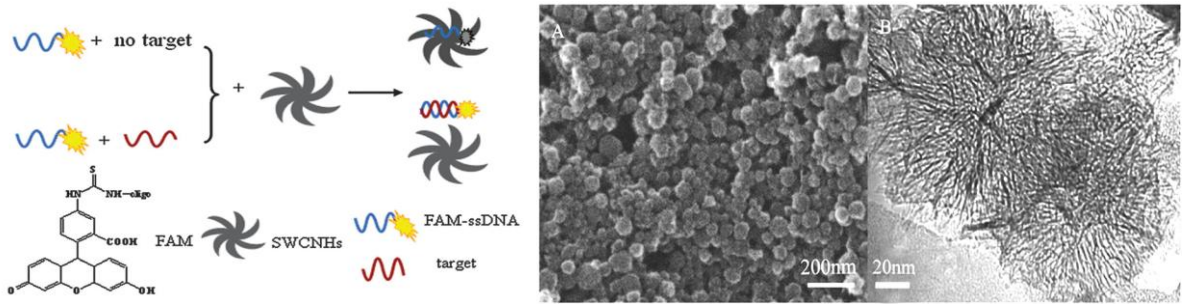
Biyoreseptör moleküller, analiz edilecek madde ile seçici olarak etkileşime giren oldukça duyarlı biyolojik moleküllerdir. Biyoreseptör olarak kullanılacak moleküllerin en önemli özelliği tespit edilmesi istenen hedef moleküle karşı yüksek afinite ve özgüllük göstermeleridir (15). Enzimler, antikorlar, aptamerler ve mikroorganizmalar biyoreseptör olarak en çok kullanılan biyolojik kaynaklardır (15, 16, 19).

Elektrokimyasal DNA sensörleri; oligonükleotid prob ve elektrokimyasal dönüştürücüden oluşmuşlardır. Bu tür sensörlerde hedef nükleik asit, önce sensör yüzeyindeki yakalama probu ile daha sonra sandwich ELISA tekniğine benzer bir şekilde detektör prob ile hibridize olur. Detektör proba oxidoredüktaz enzimi bağlıdır ve substratı ile reaksiyona girdiğinde, oluşan redoks sinyali bir amperometrik fark yaratır. Liao ve arkadaşları tarafından geliştirilen elektrokimyasal DNA sensör ile 16S rRNA hedef alınmıştır. Bu çalışmada, idrar örneklerinde Enterobactericeae ailesine ait bakteriler, yaklaşık 45 dakikada %100 duyarlılıkta tespit edilebilmiştir (22).



Şekil 3. a) Elektrokimyasal sensörün bilelenleri ve çalışma mekanizması. b) Direkt klinik örnekten Enterobactericeae ailesi bakteriler için ölçülen sinyal. c) Onaltı sensöre sahip, elektrokimyasal DNA sensörü (22).

Son yıllarda nanobiyoteknolojinin gelişmesi, moleküler tanı alanına da yansımıştır. Zhu ve arkadaşları, nükleik asitlerin tespiti için single-walled carbon nanohorn (SWCNH) kullanmışlardır (23). Bu yöntemde, hedef nükleik asit floresans işarteli probla hibridize olmaktadır. Hibridizasyon gerçekleşmediğinde, yani hedef olmadığı durumda ise floresans işaretli ssDNA prob SWCH ile yakalanıp uzaklaştırılmakta ve sinyal ölçülememektedir. Daha önce bir çok çalışmada, mikrobial nükleik asitlerin yakalanması için karbon nanotüpler kullanılmıştır.



Şekil. S*ingle-walled carbon nanohorn* temelli nükeik asit tespiti ve elektron mikroskobik resimleri (23).

Biyosensörler; örnek alımı ve sonuç verme arasındaki süreyi oldukça kısaltan, hızlı metotlardır. Çok az miktarda örnekle çalışabilmelerinin yanında, yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları en önemli avantajlarıdır. Ölçüm sistemlerinin otomasyona uygun ve taşınabilir olması değişik alanlarda kullanımlarına imkan vermektedir. Buna karşın biyosensörlerin geleceğini maliyet-etkin olmaları belirleyecektir.

Kaynaklar

1. Weile J, Knabbe C. Current applications and future trends of molecular diagnostics in clinical bacteriology. Anal Bioanal Chem 2009 Jun;394(3):731-742.

2. O'Connor L, Glynn B. Recent advances in the development of nucleic acid diagnostics. Expert Rev Med Devices 2010 Jul;7(4):529-539.
3. Csako G. Present and future of rapid and/or high-throughput methods for nucleic acid testing. Clin Chim Acta 2006 Jan;363(1-2):6-31.
4. Muldrew KL. Molecular diagnostics of infectious diseases. Curr Opin Pediatr 2009 Feb;21(1):102-111.
5. Mothershed EA, Whitney AM. Nucleic acid-based methods for the detection of bacterial pathogens: present and future considerations for the clinical laboratory. Clin Chim Acta 2006 Jan;363(1-2):206-220.
6. Shaw KJ, Docker PT, Yelland JV, Dyer CE, Greenman J, Greenway GM, et al. Rapid PCR amplification using a microfluidic device with integrated microwave heating and air impingement cooling. Lab Chip 2010 Jul 7;10(13):1725-1728.
7. Sancho-Tello S, Bravo D, Borras R, Costa E, Munoz-Cobo B, Navarro D. Performance of the LightCycler SeptiFast test Mgrade in detecting microbial pathogens in purulent fluids. J Clin Microbiol 2011 Aug;49(8):2988-2991.
8. Deféver T, Druet M, Evrard D, Marchal D, Limoges B. Real-Time Electrochemical PCR with a DNA Intercalating Redox Probe. Anal Chem. 2011 Jan 31. [Epub ahead of print]
9. Dols JA, Smit PW, Kort R, Reid G, Schuren FH, Tempelman H, et al. Microarray-based identification of clinically relevant vaginal bacteria in relation to bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 2011 Apr;204(4):305-307.
10. Friedrich T, Rahmann S, Weigel W, Rabsch W, Fruth A, Ron E, et al. High-throughput microarray technology in diagnostics of enterobacteria based on genome-wide probe selection and regression analysis. BMC Genomics 2010;11:591.
11. Leinberger DM, Grimm V, Rubtsova M, Weile J, Schroppel K, Wichelhaus TA, et al. Integrated detection of extended-spectrum-beta-lactam resistance by DNA microarray-based genotyping of TEM, SHV, and CTX-M genes. J Clin Microbiol 2010 Feb;48(2):460-471.
12. Arshak K, Mohamed Z, Souna E, Anthony T. Principles of Bacterial Detection:Biosensors, ecognition Receptorsand Microsystems 2008.
13. Ozlem H. Biyosensör hazýrlamada enzim kaynaðý olarak deðerlendirilmek üzere bazý bitkisel dokularýn incelenmesi 2008.
14. Rasooly A. Biosensor technologies. Methods 2005 Sep;37(1):1-3.
15. Bhunia AK. Biosensors and bio-based methods for the separation and detection of foodborne pathogens. Adv Food Nutr Res 2008;54:1-44.
16. Jennifer Q. Biosensors: microelectronics marries biology. The Industrial Physicist 1998;11-14.
17. Lazcka O, Del Campo FJ, Munoz FX. Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. Biosens Bioelectron 2007 Feb 15;22(7):1205-1217.
18. Chambers JP, Arulanandam BP, Matta LL, Weis A, Valdes JJ. Biosensor recognition elements. Curr Issues Mol Biol 2008;10(1-2):1-12.
19. D'Souza SF. Microbial biosensors. Biosens Bioelectron 2001 Aug;16(6):337-353.
20. Velusamy V, Arshak K, Korostynska O, Oliwa K, Adley C. An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors. Biotechnol Adv 2010 Mar;28(2):232-254.
21. Liao JC, Mastali M, Gau V, Suchard MA, Moller AK, Bruckner DA, et al. Use of electrochemical DNA biosensors for rapid molecular identification of uropathogens in clinical urine specimens. J Clin Microbiol 2006 Feb;44(2):561-570.
22. Zhu S, Liu Z, Zhang W, Han S, Hu L, Xu G. Nucleic acid detection using single-walled carbon nanohorns as a fluorescent sensing platform. Chem Commun (Camb) 2011 Jun 7;47(21):6099-6101.

KANDİDA ENFEKSİYONLARI

Beyza ENER
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Bursa

Candida cinsi; tek hücreli, tomurcuklanarak çoğalan, gerçek/yalancı hifler oluşturabilen maya morfolojisinde mantarlar olup, yaklaşık 200 civarında tür barındırır. Anamorfik türler, Cryptococcaceae ailesi içinde incelenir. Çeşitli Candida türlerinin teleomorfları gösterildikçe aslında farklı cinsler olduğu görülmüştür (Clavispora, Debaryomyces, Issatchenkia, Pichia gibi). Dolayısı ile Candida cinsi, ilişkisiz türlerin bir karışımıdır (1). İnsanda hastalık yapan türlerin sayısı her geçen gün artmakla beraber, C albicans, C glabrata, C krusei, C parapsilosis ve C tropicalis enfeksiyonların %95'inde izole edilen türlerdir (2).

Candida türleri doğada yaygın olarak bulunan maya mantarlarıdır. Birçok bitkide bulunabildikleri gibi, özellikle memelilerde, gastrointestinal sistem başta olmak üzere mukoutanöz membranlarda bulunurlar. Sağlıklı bireylerde gastrointestinal sistemdeki kolonizasyon, ağızdan kolona doğru gittikçe artmaktadır. Kolonizasyon oranlarını belirlemede örnekleme teknikleri çok etkili olmakla beraber yapılan çalışmaların çoğunda; orofarinksten %30-35, jejenumdan %50, ileumdan %60 ve kolondan %70'lere varan izolasyonlar saptanmıştır. İzolasyon oranları yaş gruplarına göre de değişmektedir. Bebeklik çağı ve ileri yaşlarda kolonizasyon artmaktadır. Hem ağız hem de gastrointestinal sistemin diğer kısımlarından en fazla izole edilen tür C albicans'dır (%50-70). Diğer türlere ise daha az rastlanır. (C tropicalis %2-7; C glabrata %7-9; C parapsilosis %2-5; C krusei %2-3; C kefyr %0.1-1; C guilliermondii %0.4-0.7) (3).

Bu yoğun kolonizasyon nedeniyle Candida türleri her türlü hasta örneğinden izole edilebilir. Her hangi bir klinik örnekteki varlığı çevresel kontaminasyon, kolonizasyon ya da aktif enfeksiyona bağlı olabilir. Bu nedenle örneğin cinsi, aynı hastadan alınan birden fazla örnekte aynı türün üremesi, üremelerde koloni sayısı değerlendirmelerde kritik noktalardır. Deri ve mukozalardan gelen sürüntü örneklerinde üremenin olması klinik bilgiler olmadan anlamlı kabul edilemez. Benzer şekilde balgam, bronkoalveolar lavaj (BAL), trakeal aspirat (TAS) gibi alt solunum yollarındaki üremeler de bu örneklerin üst solunum yolları florası ile kontamine olması nedeniyle değerli değildir. Dışkı örneklerindeki üremeler enfeksiyon göstergesi olamaz. Üriner sondası olan hastalarda, idrarda sıklıkla Candida türlerinin ürediği görülmekle beraber, bu üremelerinde %70'i sonda kolonizasyonudur. Dolayısı ile kandida enfeksiyonlarında en değerli örnekler kan, steril vücut sıvıları ve deri, mukoza ve iç organlardan alınabilen biyopsi örnekleridir ve kandida enfeksiyonlarının epidemiyolojisi bu örneklerdeki üremelere dayandırılmaktadır (1).

Kandida enfeksiyonları: Candida türleri ile gelişen enfeksiyonlara kandidoz denir. Kandidozların büyük çoğunluğu, etkenin normal florada (gastrointestinal sitem, vajina, deri) bulunması nedeniyle endojen kaynaklıdır. Ancak vajinal kandidozlu anneden bebeğine, eşler arasında cinsel ilişkiyle ve el taşıyıcılığının %70'lere ulaştığı hastane personelinden eller aracılığı ile kişiden kişiye bulaş da olabilir (4). Candida türleri deri ve deri eklerinde, mukozalarda hastalılar oluşturmakta ve özellikle immun sistemi zayıflamış kişilerde ciddi sistemik enfeksiyonlara yol açmaktadır. Tablo 1'de Candida türleri ile gelişen enfeksiyonlar özetlenmiştir (4).

Tablo-1: Candida türleri ile gelişen enfeksiyonlar

• Kutanöz kandida enfeksiyonları ➢ Erosia interdigitalis blastomycetica ➢ Intertrigo ➢ Paronişi ve onikomikoz
• Kronik mukokutanöz kandidoz
• Mukozaların kandida enfeksiyonları ➢ Pamukçuk (oro-faringeal kandidoz) ➢ Kandida özafajiti ➢ Mide-barsak kandidozu ➢ Kandida vajiniti
• Kandidemiler
• Derin organ kandidozları ➢ Lokal derin organ enfeksiyonları (Genellikle kateter ve şantlarla ilişkili) ➢ Yaygın enfeksiyonlar

Yüzeyel enfeksiyonlar genellikle toplum kaynaklıdır ve ciddi mortaliteye yol açmaz. Derin invazif enfeksiyonlar ise daha çok nozokomiyal orijinlidir. Kandidozlar genellikle risk faktörlerinin varlığında ortaya çıkar ve risk faktörleri oldukça farklıdır. Kutanöz kandidozlar ile Candida vajinitleri immunolojik olarak tamamen normal bireylerde gelişebilirken, orofaringeal kandidoz gibi mukoza enfeksiyonları daha çok hücresel immunite bozukluğunda görülür. Nozokomiyal enfeksiyonlardan cerrahi yarar enfeksiyonları, kateter ile ilişkili kandidüri, peritonit, menenjit gibi lokal enfeksiyonlar ciddi morbitite oluşturmakta ve giderek artan sıklıkta görülmekle beraber, en dramatik artış ciddi mortaliteye sebep olan kandidemi ve invazif kandidoz olgularında olmuştur. ABD, Kanada ve çeşitli Avrupa ülkelerinde yapılan pasif ve aktif popülasyona dayalı izlemlerde kandidemi ve invazif kandidoz insidansında farklılıklar olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Genel olarak ABD'de insidans daha yüksektir (6-

8.7 /100 000 popülasyon). Avrupa ülkelerinde ise Danimarka hariç biraz daha düşüktür (1,9-4,9 /100 000 popülasyon). Ülkemizde popülasyona dayalı izlem sonucu elde edilmiş insidans bilgisi yoktur.

Tablo 2: Değişik ülkelerde kandidemi ve invazif kandidoz insidansı

Ülke	**Dönem**	**100 000 popülasyonda görülme sıklığı**
ABD (NHDS) (pasif izlem)	1996-2003	22-24[3]
ABD (aktif izlemler)		
Iowa (EIEIO)	1998-2001	6,0[5]
San Francisco (CDC)	1992-1993	7,1[6]
Atlanta (CDC)	1992-1993	8,7[6]
Connecticut (CDC)	1998-2000	7,1[7]
Baltimore (CDC)	1998-2000	24[7]
Finlandiya	1995-1999	1,9[8]
Norveç	1991-1996	2,17[9]
	2001-2003	3,0[10]
İzlanda	1980-1999	2,85[11]
	1995-1999	4,9[11]
İspanya	1997-1999	3,5[12]
	2002-2003	4,4[13]
İngiltere	2003	2,53[14]
Danimarka	2003-2004	11,0[15]
Kanada	1999-2004	2,8[16]

Candida türleri ABD'de nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının %8-10'una sebep olurken, koagulaz negatif stafilokok, S aureus ve enterokoklardan sonra 4. sıraya oturmuştur. Kandidemi ve invazif kandidoza atfedilen mortalite ise %10-49 civarındadır (17).

Kandidemi ve invazif kandidoz olgularında endojen ve ekzojen faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında en önemli yeri granülositopeni tutar. Çoğunlukla hastalığa, hastanın kendi florası kaynak oluşturur. Gastrointestinal sistem kolonizasyonu çok önemli olmakla beraber, deri kolonizasyonu da özellikle damar içi kateteri olan hastalarda önemlidir. Ayrıca sağlık personeli ve hastadan hastaya geçiş yolu ile de gelişmiş olgular vardır. Bu nedenle hastanelerin enfeksiyon kontrolü açısından oranlarını bilmeleri gerekir. Tablo 3'de ülkemizdeki bazı merkezler de dahil olmak üzere 10 000 başvurudaki kandidemi oranları görülmektedir. Aynen insidans verilerinde olduğu gibi ABD'de 10 000 başvurudaki kandidemi oranları da daha yüksektir. Kandidemi görülme sıklığı ile ilgili ülkemizden iki merkezden veri bulunmaktadır ve birbirinden oldukça farklı oranlar vardır.

Tablo 3: Değişik merkezlerden 10 000 başvuruda kandidemi görülme oranı

Merkezler	**Görülme oranı**
ABD	
NHDS	19-20[17]
7 farklı çalışma	5-11[17]
Avrupa ülkeleri	
ECMM	2-3,8[18]
9 farklı çalışma	1,7-5,5[18]
Kanada	4,5[16]
Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi	5,6[19]
Uludağ Üniversitesi SUAM	18,9[20]

Kandidemi ve invazif kandidozda tür dağılımı: Candida cinsi içinde çok sayıda tür olmakla beraber hastalıkların çoğundan beş tür sorumludur ve bu türlerin görülme sıklığı çeşitli coğrafi bölgeler göre farklılıklar göstermektedir (Tablo 4). C albicans tüm bölgelerde en fazla izole edilen tür olmakla beraber görülme sıklığı bölgelere göre değişmektedir (21). Yapılan çalışmalarda yaş arttıkça azol kullanımına bağlı olarak C albicans görülme sıklığında azalma olduğu görülmüştür. C albicans'ın genellikle edojen bir patojen olduğu düşünülmekle beraber, hastadan hastaya sağlık personellinin elleri ile ekzojen geçiş de belirlenmiştir (22). Kuzey Amerika'da C glabrata, C albicans'dan sonra ikinci sırada kandidemi etkeni olarak izole edilen ve potansiyel olarak dirençli olabilen bir türdür (Tablo 4). Yoğun flukonazol kullanımının bu türün sık görülmesinde faktör olduğu ileri sürülmekle beraber, kesinlik kazanmamıştır. C glabrata ileri yaşlarda görülen bir tür olup, kanser hastalarında gastrointestinal sistemde kolonize olarak endojen yolla kandidemiye yol açar. Pediatrik yaş grubunda ise az rastlanılır(22).

Kuzey Amerika hariç diğer bölgelerde C parapsilosis, C albicans'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır (Tablo 4). Bu tür deri florasında bulunmakta ve özellikle damar içi kateteri olan hastalarda sorun oluşturmaktadır.

Yeni doğan ve pediatrik yaş grubunun önemli bir etkenidir. İnfeksiyon kontrol önlemleri ile görülme sıklığı azaltılabilir(22).

C tropicalis, Latin Amerika'da diğer bölgelerden daha fazla görülmektedir. Gastrointestinal sistemde kolonize olan bir tür olup, özellikle nötropenik hastalarda kolonizasyonun ardından kandidemi oluşma riski bu türde %80'lere kadar çıkar (22).

C krusei çok sık kandidemi etkeni olmayıp, %2-4 oranında tüm bölgelerde gastrointestinal sistemden kaynaklanan kandidemilere sebep olmaktadır. C krusei'nin flukonazole interensek dirençli olduğu bilinmekle beraber, amfoterisin B ve flusitozine de azalmış duyarlılığı vardır. C krusei ile gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarının yüksek mortalite ile gitmesi standart antifungal tedaviye kötü yanıt vermesindendir (22).

Tablo 4: Kandidemi etkeni türlerin bölgeler göre dağılımı (21)

Bölge	**Merkez sayısı**	**İzolat sayısı**	**CA***	**CG***	**CP***	**CT***	**CK***	**Diğer**
Asya-Pasifik	17	441	73,5	10,2	8,4	3,9	3,2	0,8
Avrupa	40	775	57,6	12,9	14,1	7,5	3,4	4,5
Latin Amerika	18	560	46,6	7,5	17,1	21,3	3,6	3,3
Kanada	8	623	58,9	20,1	10,3	5,9	2,4	2,4
ABD	167	3683	54,4	18,3	13,2	9,6	2,1	2,4
Total	**250**	**6082**	**58.9**	**16,2**	**13,1**	**9,6**	**2,5**	**2,7**

* CA: *C albicans*, CG: *C glabrata*, CP: *C parapsilosis*, CT: *C tropicalis*, CK: *C krusei*

Tablo 5'de ülkemizdeki bazı merkezlerdeki kandidemi olgularında tür dağılımı görülmektedir. Bu çalışmaların çoğu tek merkezli olup, kısıtlı bilgi vermekle beraber en bariz görülen bulgu C parapsilosis'in ülkemizde C albicans'tan sonra ikinci sırada olduğu ve C glabrata'nın şu an için ülkemizde önemli bir sorun oluşturmadığıdır. Ancak kesin yargılara varabilmek için prospektif sentinel izlemlere gerek vardır.

Çalışma Dönemi	**Merkez**	**CA***	**CP***	**CT***	**CG***	**CK***
1998	Kayseri (Koç ve ark)[23,24]	51,4 37	- -	11,1 5	23,6 17	5,6 4
1996-2000	İzmir (Hilmioğlu ve ark)[25]	31,8	-	36,7	-	-
1995-2000	Ankara (Saraçlı ve ark)[26]	42	32	10	-	4
1996-1998	Ankara (Bengisu ve ark)[27]	48,2	24,2	2,3	4,6	6,9
1996-2000	Ankara (Tekeli ve ark)[28]	65	16	4	1	3
1998-1999	İzmir (Yücesoy ve ark)[29]	**60**	17	10	-	-
1996-2007	Bursa (Gürcüoğlu 2008)[20]	45,1	26	6.8	3,5	7
2000-2003	İzmir (Yapar ve ark)[19]	**57,7**	12,3	20,2	3,8	1
1994-2000	İstanbul (Bakır ve ark)[30]	37,2	32,2	12,2	5	0,7

* CA: *C albicans*, CG: *C glabrata*, CP: *C parapsilosis*, CT: *C tropicalis*, CK: *C krusei*

Kandidemi ve invazif kandidoz olgularının %3-5'lik kısmı ise daha farklı türler ile gelişmektedir. Bu türler nadir etkenler olmakla beraber; ARTEMIS çalışmasından elde edilen verilere göre, 1997-2000'den günümüze gelindiğinde görülme sıklığında 3 ila 10 kat artış olmuştur (31). Bu artış kısmen gelişmiş identifikasyon

sistemlerinin daha yaygın kullanılması ile ilişkilidir, ancak azol ve amfoterisin B'ye azalmış duyarlılık gösteren nadir türlerin artması ileride sorun oluşturacaktır.

Candida türlerinde antifungal duyarlılık: C albicans, C parapsilosis ve C tropicalis amfoterisin B, flusitozin, azol grubu ve ekinokandinlere oldukça duyarlı türlerdir. Her ne kadar C parapsilosis'in ekinokandin MIK (minimal inhibitör konsantrasyon) değerleri, diğer ilaçlardan biraz daha yüksek olsa da bu yükseklik direnç sınırında değildir ve klinik olarak tedaviye yanıt vermektedir. C glabrata flukonazol ve amfoterisin B'ye diğer türlerden daha az duyarlı olup, en fazla sorun oluşturan türdür. ABD'de C glabrata görülme sıklığındaki yüksekliğe paralel olarak direnç oranları da yüksektir. Ayrıca flukonazole dirençli suşlar, vorikonazol ve diğer azollere de direnç geliştirmektedir. Yani bu türde belirgin çapraz direnç vardır. Bu türe en etkin olabilecek ilaç, günümüzde ekinokandinlerdir. C krusei flukonazolle interensek dirençli bir tür olup, amfoterisin B'ye de az duyarlıdır. Ancak, C glabrata'dan farklı olarak vorikonazole duyarlıdır. Yani çapraz direnç yoktur. Ekinokandinler de bu tür için etkindir. Nadir görülen türlerin duyarlılık patternleri hakkında yorum yapmak sayıca az olduklarından doğru değildir. Antifungal duyarlılık testi çalışılarak sonuçları kontrol edilmelidir (17,21,22).

Kaynaklar

1. de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of Clinical Fungi. 3rd edition, Utrecht: CBS, 2010:188-230.
2. Hazen KC, Howell SA. Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance. . In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Yolken RH eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington D.C.:ASM Press, 2007: 1762-1788.
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia London: Lea&Febiger, 1992: 280-336.
4. Edwards JE. Candida species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. London: Churchill Livingstone; 2010. 3225-40.
5. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, et al. Emidemiology of candidemia: 3 year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. JCM 2002; 40: 1298-1302.
6. Kao AS, Brandt ME, Pruitt WR, et al. The epidemiology of candidemia in two United State cities: results of a population-based active surveillance. CID 1999; 29: 1164-1170.
7. Hajjeh RA, Safari AN, Harrison IH, et al. Incidence of bloodstream infections due to Candida species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998-2000 in a population-based active surveillance program. JCM 2004; 42: 1519-1527.
8. Poikonen E, Lyytikainen O, Anttila VJ, Ruutu P. Candidemia in Finland, 1995-1999. Emerg Infect Dis 2003; 9: 985-90.
9. Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Gaustad P, Haukland HH, Steinbakk M. Constant low rate of fungemia in Norway, 1991 to 1996. JCM 1998; 36: 3455-9.
10. Sandven P, Bevanger L, Digranes A, Haukland HH, Mannsaker P, Gaustad P. Candidemia in Norway, 1991 to 2003:results from a nationwide study. JCM 2006; 44:1977-1981.
11. Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland JCM 2002; 40: 3489-92.
12. Peman J, Canton E, Orero A, Viudes A, Frasquet J, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species isolated from blood: results of a 2-year multicenter study in Spain. Eur J Clin Micrebiol Infect Dis 2005; 24:23-30.
13. Almirante B, Rodriguez D, Park BJ et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of Candida bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, 2002 to 2003. JCM 2005; 1829-35.
14. Health Protection Agency. Candidemia reports, England, Wales, and Northern Ireland: 2003. Commun Dis Rep CDR Wkly (serial online) 2004 (cited 21 October); 14(43). Available at http://www.hpa.org.uk/cdr/archives/2004/cdr4304.pdf.
15. Arendrup MC, Fuursted B, Gahrn-Hansen B et al. Seminational surveillance of fungemia in Denmark: notably high rates of fungemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. JCM 2005; 43: 4434-40.
16. Laupland KB, Gregson DB, Church DL, Ross T, Elsayed S. Invasive Candida species infections: a 5 year population-based assessment. J Antimicrob Chemother 2005; 56:532-537.
17. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 2007; 20: 133-163.
18. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H et al. Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance Study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 317-322.
19. Nur Yapar, Ülker Uysal, Mine Yücesoy, Nedim Çakır and Ayşe Yüce, Nosocomial bloodstream infections associated with Candida species in a Turkish University Hospital. Mycoses 2006; 49: 134-138.
20. Gürcüoğlu E, Ener B, Akalın H, Sınırtaş M, Evci C, Akçağlar S, Yılmaz E, Heper Y. Epidemiology of nosocomial candidemia in a Turkish University Hospital: 12-year study. Epidemiology and Infection 2010; 138: 1328-1335.

21. Pfaller, MA; Diekema, DJ; Rinaldi, MG, et al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of Candida and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. JCM 2005; 43: 5848-5859.
22. Pfaller MA, Papas PG, Wingard JR. Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends. CID 2006; 43(suppl 1): 3-14.
23. Koç AN, Erdem F, Çetin N: Kan kültürlerinde üreyen mayaların retrospektif olarak değerlendirilmesi ve antifungal duyarlılıkları, 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kitabı. Sayfa no 233, İzmir (1999).
24. Koç AN, Erdem F, Gündüz Z: Candida glabrata'nın neden olduğu nozokomiyal fungemi salgını. 1. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kitabı. Sayfa no 236, İzmir (1999).
25. Hilmioğlu S, İnci R, Hoşgör M, Burhanoğlu D, Tümbay E, Tünger A: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde beş yıllık dönemde fungemi epizotları: Non-albicans Candida türlerinde artış. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kitabı. Sayfa no 184, Ankara (2001).
26. Saraçlı MA, Gönlüm A, Yıldıran ŞT, Doğancı L: Altı yıllık bir dönemde fungemi olgularından izole edilen fungus türleri. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kitabı. Sayfa no 185, Ankara (2001).
27. Bengisu JS, Güriz H, Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Palabıyıkoğlu I: İnvazif infeksiyonlarda Candida türlerinin dağılımı ve bu türlerde iki farklı antifungal duyarlılık yönteminin karşılaştırılması, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001; 31 (1-2): 73-77.
28. Tekeli A, Dolapçı I, Bengisu S, Aysev D, Güriz H: Kan kültürlerinden izole edilen Candida türleri içerisinde Candida dubliniensis varlığının araştırılması. Flora 2001; 6 (4): 254-259.
29. Yücesoy M, Yuluğ N: Kan kültürlerinden soyutlanan Candida türlerinin antifungal ajanlara in vitro duyarlılıkları, ANKEM Dergisi 2000; 14 (2): 71-78.
30. Bakır M, Çerikçioğlu N, Barton R, Yağcı A. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. APMIS 2006; 114: 601-610.
31. Pfaller, MA; Diekema, DJ; Gibbs, DL, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of Candida species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. JCM 2007; 45: 1735-1745.

ASPERGİLLUS ENFEKSİYONLARI

Ayşe KALKANCI
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Epidemiyoloji bilimi toplumdaki sağlıkla ilgili bütün durumların görülme sıklığını ve bunları etkileyen faktörleri inceler. Enfeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisi ise ilgili mikroorganizmanın doğada nerelerde bulunduğunu, insan ve hayvanlara bulaşma yollarını, en sık görülen tür ve alt türleri ortaya çıkarır. Aspergillus cinsi bağışık sistemi normal insanlarda alerjik aspergilloz oluştururken, düşkün konaklarda fırsatçı enfeksiyonlar oluşturur. Burada enfeksiyon tablosu oluşturması açısından sadece düşkün konaklarda görülen aspergillozun epidemiyolojik özellikleri üzerinde durulacaktır.

Aspergillus türleri doğada yaygın olarak bulunurlar. Bu küf mantarı çok farklı çevre koşullarına uyum sağlayabilmiştir. Değişik ısılarda, farklı ortamlarda yaşayabilir ve konidyaları havada uzun süre asılı kalabilir. Enfeksiyon havadan konidyaların solunum yolu ile alınması sonucunda oluşur. Bağışık sistemi baskılanmış hastaların takip edildiği servislerde havadan alınan konidyalar, akciğerler başta olmak üzere bütün derin dokularda hastane enfeksiyonu oluşturabilirler. Aspergilloza bağlı klinik tablolar invaziv hastalık, invaziv olmayan hastalık ve aşırı duyarlılık sendromları olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir. İnvaziv hastalık akciğer aspergillozu, sinüzit, serebral enfeksiyon, endokardit, perikardit, miyokardit, kemik enfeksiyonu, göz enfeksiyonu, deri enfeksiyonu olarak ortaya çıkabilir. Bütün bunların dışında çok nadiren de olsa karaciğer, dalak, periton, ince ve kalın bağırsaklar gibi organların tutulduğu karıniçi enfeksiyonlar, larinks-trakea-bronş enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve lenf nodu enfeksiyonları da bildirilmiştir (1). İnvaziv olmayan aspergilloz tabloları aspergillom, sinüs hastalığı, otomikozdur. Aspergillus cinsi küf mantarları alerjik bronkopulmoner aspergilloz, alerjik sinüzit ve ekstrensek alerjik alveolit şeklinde aşırı duyarlılık sendromları oluşturabilirler (2).

Aspergilloz tanısı, klinik olarak şüphelenilen hastalardan alınan biyopsi örneklerinin patolojik incelenmesinde küf mantarlarına ait hiflerin görülmesi ile sınırlı kalmaktadır. Olguların bir çoğu mikrobiyolojik olarak doğrulanamamakta ve tür tanımı yapılamamaktadır. Bunun en önemli nedeni küf mantarlarının özellikle kan kültürlerinde üretilememesidir. Sadece patolojik olarak aspergilloz tanısı konulması bilimsel olarak mümkün değildir. Zira septalı hif oluşturan hiyalen küf mantarlarının tamamı dokuda aynı görüntüyü oluşturmaktadır. Kaynakların çoğunda 45 derecelik açı ile dallanan, septalı hifler aspergilloza özgül kabul edilmektedir. Olgu bildirimlerinde üreyen bir küf mantarı olmamasına rağmen tanı aspergilloz olarak sunulmaktadır (3).

Hastanelerde yapılan inşaat çalışmaları enfeksiyonun görülme sıklığını doğrudan arttırmaktadır. Hastanede kemik ve böbrek nakli üniteleri, hematoloji, onkoloji servisleri gibi riskli ünitelerde yatmakta olan hastalarda görülebilecek fırsatçı küf enfeksiyonlarını belirlemek ve inşaat çalışmalarının hastane havası üzerine etkisini saptamak amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada iç ve dış ortam hava örneklerinde en sık Penicillium ve Cladosporium cinsi küfler bulunmasına rağmen hastalarda enfeksiyon etkeni olarak en sık Aspergillus türleri izole edilmiştir. Nozokomiyal küf enfeksiyonlarında başlıca risk faktörü hastane havasındaki spor konsantrasyonudur. Son yıllarda spor konsantrasyonunun ölçümünde en çok kullanılan yöntem, otomatik hava örnekleme cihazları ile örnek alınmasıdır. Bu cihazlar ile standart hacimde hava örneği alınabilmekte ve kantitatif olarak spor sayısı ölçülebilmektedir. Eren ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada iç ve dış ortam havası arasında toplam koloni ve spor sayıları bakımından fark bulunmaması hastane çevresinde ve içerisinde yürütülen çeşitli inşaat çalışmalarının havadaki küf miktarını arttırmasına bağlanmıştır. Bu çalışma bize, özellikle hastane içerisinde ve çevresinde inşaat yapılanmalarının olduğu dönemlerde ve risk grubu hastaların bulunduğu çeşitli ünitelerde, gerek havadaki küf florasının, gerekse bu hastaların çeşitli örneklerindeki küf kolonizasyonunun zaman zaman incelenmesinin, olası fırsatçı küf enfeksiyonlarını önlemede önemli olduğunu göstermiştir (4).

Fırsatçı küf enfeksiyonlarının oluşmasını engellemek için inşaat çalışmaları sırasında gerekli önlemler alınmalı, inşaat çalışmaları başlamadan önce ve çalışmalar sırasında spor ve partikül sayımları yapılmalıdır. Çalışmalar sırasında pencereler mühürlenmeli, mümkünse hastane binaları yapılırken pencere olmamasına ya da en azından riskli ünitelerde HEPA filtreler bulunmasına dikkat edilmelidir. Ayrıca, hematoloji-onkoloji servisleri, kemik iliği ve böbrek nakil üniteleri, hastanenin giriş veya girişe yakın katlarına değil, daha üst katlara kurulmalıdır. Hasta odalarında bulunan HEPA filtreler etkinlik açısından belirli aralıklarla kontrol edilmeli, hastane enfeksiyon kontrol komiteleri bu konuda dikkatli davranmalıdır. Hastane dışında hava florasında yer alan küf mantarları alerjik hastalıklara sebep olmaları açısından önemlidir (4,5).

Aspergillus cinsi içinde 200'den fazla tür bulunmaktadır. Bu türlerden çok az bir kısmı enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiştir. Klinik aspergillozun % 95'i Aspergillus fumigatus, A. flavus, A. niger tarafından oluşturulmaktadır. Ayrıca A. nidulans, A. terreus, A. oryzae, A. ustus, A. versicolor klinik önemi olan türlerdir (6). Dünyada görülen bu tür dağılımı ülkemiz için de geçerlidir. Yapılan çalışmalarda ve olgu raporlarında en sık izole edilen türler bunlardır. Trakya Üniversitesinden yapılan bir çalışmada dört yıllık bir süre içinde fırsatçı mantar enfeksiyonu ön tanısı ile solunum yolu örnekleri incelenen 85 hastanın 22 tanesinde Aspergillus cinsi küf mantarları izole edilmiştir. Bu örneklerden sıklık sırası ile A. fumigatus, A. favus ve A. niger türleri izole edilmiştir (7). Aspergilloz tanısı "European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group" (EORTC/IFICG) kriterleri kullanılarak "kanıtlanmış, yüksek olası ve olası" olarak sınıflandırılmaktadır. Aspergillus cinsi küf mantarlarının kültürde üreme olasılıklarının düşük olması nedeniyle ülkemizden ve dünyadan yapılan

bildirimlerde kanıtlanmış olgu sayısı düşüktür. Olgular çoğu kez yüksek olası ve olası aspergilloz olguları olarak sunulmaktadır. Çocuk olguların derlendiği merkezimize ait bir çalışmada, 12 kandidoz olgusunun 10 tanesi kanıtlanmış, 2 tanesi yüksek olası iken, 9 aspergilloz olgusunun sadece 1 tanesi kanıtlanmış, 2 tanesi yüksek olası ve 6 tanesi ise olası olgular olarak sınıflanmıştır (8). Bir olgunun kanıtlanmış mikoz olarak tanımlanabilmesi için dokuda mantarın mikrobiyolojik olarak gösterilmesi esastır (9). Olguların bir kısmında ise tanı post-mortem incelemeler ile konabilmektedir (10). Bazen de kültürde Aspergillus cinsi küf mantarı etken olarak izole edilmesine rağmen Aspergillus'a ait serolojik belirteçler pozitifleşmemektedir. Kayseri'den yapılan bir olgu sunumunda, konka örneğinde A. fumigatus izole edilmesine rağmen galaktomannan antijeni ve beta glukan aktivitesi negatif bulunan bir maksiller sinüzit olgusu tartışılmıştır (11).

Aspergillus cinsi küfler santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları oluşturduğunda genellikle ölümcül bir klinik ortaya çıkmaktadır. Nadir görülmesi nedeni ile etkin tedavi edilemeyen olgular bulunmaktadır. Ülkemizden yapılan bir olgu sunumunda, SSS geçişi çok iyi olan vorikonazol gibi antifungaller varken, tedavide kaspofungin kullanıldığı bildirilmiştir (12). Öyle ise bu enfeksiyonun bütün yönleri ile tartışılması, tanı ve tedavi rehberlerinin yaygınlaştırılması gerekmektedir.

Ülkemizden otomikoz olguları ile ilgili bildirimler yapılmıştır. Bu klinik tablodan etken olarak Aspergillus cinsi küfler de izole edilmektedir. Manisa ve çevresindeki olguların derlendiği bir çalışmada, 433 ön tanılı hastanın 107 tanesinde kültürde üreme olmuştur. Üreyen mantarlar 54 olguda Aspergillus niger, 19 olguda Aspergillus fumigatus, 6 olguda Penicillium spp., 4 olguda Aspergillus terreus, 3 olguda Aspergillus flavus olarak sıralanmıştır. Geriye kalan 21 olguda etken olarak maya mantarları tanımlanmıştır (13). Yine ülkemizden yapılan bir başka otomikoz çalışmasında izole edilen toplam 67 mantardan 30 tanesi A. niger, 12 tanesi A. fumigatus, 12 tanesi A. flavus, 1 tanesi A. terreus, geri kalan 12 tanesi Candida cinsi mayalar olarak tanımlanmıştır (14). Bu iki çalışmada en sık izole edilen tür A. niger olduğu için diğer çalışmalardan ayrılmaktadır. Öyle ise invaziv enfeksiyonlarda en sık A. fumigatus türü izole edilir iken, otomikozda bu sıralama değişmektedir.

Ülkemizden elde edilen bütün bu veriler değerlendirildiğinde aspergilloz etkenlerinin sıralamasında dünya ile paralellik bulunduğu anlaşılmaktadır. Epidemiyolojik verilerin kliniğe en önemli katkısı olası etkenler göz önüne alınarak tedavinin düzenlenmesidir. Klinik bir örnekte direk incelemede küf mantarına ait yapılar görülmüş ise, etkenin en yüksek olasılık ile Aspergillus cinsi bir mantar olacağı düşünülerek ampirik tedavi başlanmalı, etken izole edildikten sonra tedavi tekrar düzenlenmelidir. Kültürde Aspergillus cinsi bir mantar ürediği zaman invaziv enfeksiyonlar için etkenin büyük olasılık ile A. fumigatus olabileceği düşünülmelidir. Tür tanımı yapılabilen merkezlerden, ayrıca duyarlılık testi yapılması istenebilir. Ancak, bu cins içinde A. terreus dışında belirgin direnç gösteren bir tür bulunmamaktadır. Bu nedenle klinik olarak küf mantarının üretilmesi, cins düzeyinde tanımlanması tedavi için yeterli olacaktır. Tür tanımı yapılması olgunun bütünüyle değerlendirilmesini sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Aktürk B, Çelebi S, Hacımustafaoğlu M. Aspergilloz. Güncel Pediatri 2007; 5: 62-69.
2. Ayberkin E, Çiftçi E. Çocuklarda Aspergillus enfeksiyonları. Çocuk Enf Derg 2009; 3: 118-125.
3. Güzel Tunçcan Ö, Akı ŞZ, Akyürek N, Sucak G, Şenol E. Isolated cutaneous aspergillosis in an acute lymphoblastic leukemia patient after allogeneic stem cell transplantation. J Infect Dev Ctries 2011; 5: 406-409.
4. Eren A, Kuştimur S, Kalkancı A, Ünverdi S, Aktaş F, Türköz Sucak G. Hastanede yapılan inşaat çalışmalarının immün sistemi baskılanmış hastaların bulunduğu çevre ve fırsatçı küf enfeksiyonları gelişimi üzerindeki etkisinin araştırılması. Mikrobiyol Bül 2008; 42: 83-93.
5. Menteşe S, Arısoy M, Rad YA, Güllü G. Bacteria and fungi levels in various indoor and outdoor environments in Ankara, Turkey. Clean 2009; 37: 487-493.
6. Richardson MD, Hope W. Aspergillus, In: Clinical Mycology, Second Ed. (Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA Eds.). Churchill Livingstone Elsevier, 2009: 271-296.
7. Gürcan S, Demir M, Altıay G, Tikveşli M, Kılıç H, Otkun M. Aspergillus spp. isolations from respiratory tract samples in Trakya University Hospital. Tuberk Toraks 2007; 55: 160-166.
8. Kaya Z, Gürsel T, Koçak Ü, Aral YZ, Kalkancı A, Albayrak M. Invasive fungal infections in pediatric leukemia patients receiving fluconazole prophylaxis. Pediatr Blood Cancer 2009; 52: 470-475.
9. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis 2008; 46:1813-1821.
10. Özatik MA, Tarcan O, Küçüker Ş, Küçükaksu DS, Şener E, Taşdemir O. Ortotopik kalp transplantasyonu sonrasında gelişen pulmoner Aspergillus infeksiyonu. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2004; 12: 47-49.
11. İnci M, Atalay MA, Kurnaz F, Koç AN, Kasap FF. Galaktomannan ve 1,3 beta-D Glukan negatifliği ile giden Aspergillus fumigatus suşunun neden olduğu maksiller sinüzit olgusu. İnfeks Derg 2009; 23: 137-140.
12. Sırmatel Ö, Sırmatel F, Gürsoy B, Peksel H, Tavşan Ö, Duygu F, Karaağaç L, Hamidanoğlu M, Unutmaz G. Diyabetik bir hastada atipik seyirli Aspergıllus meninjiti. İnfeks Derg 2008; 22: 59-64.
13. Değerli K, Akçalı S, Sezgin C, Ünlü H, Özbakkaloğlu B. Manisa ve çevresinde soyutlanan otomikoz etkenleri. İnfeks Derg 2002; 16: 211-213.

14. Özcan KM, Özcan M, Karaarslan A, Karaarslan F. Otomycosis in Turkey: predisposing factors, aetiology and therapy. J Laryngol Otology 2003; 117: 39-42.

ZİGOMİKOZ VE DİĞER MİKOZLAR

Nilgün ÇERİKÇİOĞLU
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD,İstanbul

GİRİŞ

Zigomikozlar ilk kez 19.yy. ın sonunda Almanya'da bir grup patolog tarafından tanımlanmıştır.Tanımlanan ilk olgu ,kanserli bir hastada Absidia corymbifera'nın neden olduğu enfeksiyondur (1).

Zigomiçetes grubu mantarlar insana, havadaki sporlarının solunması, kontamine besinler ya da sporların doğrudan deriye inokülasyonu ile bulaşırlar. Doğal bağışıklık sistemi sağlam insanlarda, kontamine topraktan yoğun travmatik inokülasyon dışında, enfeksiyon gelişmesi önlenir (2).Son yıllarda, solid organ nakillerindeki artışla paralel olarak; kaspofungin, itrakonazol ve vorikonazolün profilaktik tedavide kullanımı da zigomikoz gelişimi ile bağlantılı görülmektedir.

Zigomiçetes grubu mantarlara etkisiz antimikotik ilaçlarla kombine olarak, yoğun kemoterapi ve immünosupresyon uygulamaları , zigomikozlar için yeni risk faktörleridir. Öyle ki , aspergilloz tedavisi için verilen antifungal ilaçlar konkomitan dirençli zigomiçetlerin seçimini ve ölümle sonlanan enfeksiyonların gelişimini teşvik edebilir (1, 2). Ayrıca kazalar sonucunda ya da doğal felaketlere bağlı olarak mantarın travmatik ünokülasyonunu takiben ortaya çıkan Hindistan kökenli zigomikoz olgularında da artış vardır (3).

Zigomikoz olgularında , invazif enfeksiyonlardan sorumlu olan cinsler; Rhizopus, Lichteimia (Absidia), Rhizomucor başta olmak üzere , Mucor, Apophysomyces, Saksenaea, Cunninghamella, Cokeromyces ve Syncephalastrum olarak belirlenmiştir. Apophysomyces son 2 yıl içinde (2009-2011) tropikal ve subtropikal bölgelerde (Hindistan, Güney ABD, Avustralya, Meksika, Kolombiya) sıklıkla izole edilmektedir (4).

EPİDEMİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

Zigomikozlar, iyi tanımlanmış olan mukormikoz ve daha seyrek karşılaşılan enteromoftaromikoz etkenlerinin yol açtığı yüzeyel enfeksiyonlar ile ölümle sonlanan anjiyo-invazif enfeksiyonlar arasında dağılım gösterirler.Tek ya da çok merkezli çalışmalarda olguların insidansında artış gözlenmektedir.

Bu enfeksiyonlar da sağ kalma oranı ortalama %50 dir; ancak son dönemlerde bu oranın %85 'e kadar çıktığını belirten bildiriler mevcuttur.

Rinoserebral zigomikoz görece olarak erken tanımlanabildiği için sağ kalım oranı dissemine ya da pulmoner enfeksiyonlara göre daha yüksektir. Dahası bu enfeksiyonlarda cerrahi debridman ve altta yatan diyabetik ketoasidoz gibi bir hastalığın tedavi edilebilmesi gibi olanaklar, sağ kalıma katkıda bulunan faktörlerdir. Oysa pulmoner enfeksiyonda tanı koymak ve de nötropenik hastalarda cerrahi müdahelede bulunabilmek nadiren mümkündür ve bu hastalarda ölüm oranı %65/yıl olarak bildirilmiştir (1).

Dokuzyüzyirmidokuz hastayı içeren geniş kapsamlı bir çalışmada alınan sonuçlara göre sırasıyla zigomikoz prevalansı ve mortalite oranları ; diyabetlilerde %36 ve %44 , malignansili hastalarda %17 ve % 66 ve de altta herhangi bir başka hastalık saptanmayan grupta ise %19 ve %35 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada zigomikoz enfeksiyonlarının vücut bölgelerine göre dağılımı; sinüslerde %39, akciğerlerde %24, deride %19 ve disseminasyon %23 olarak saptanmıştır. Çalışılan hastalarda mortalite oranları ise dissemine hastalıkta %96, pulmoner enfeksiyonda %76 ve gasrointestinal enfeksiyonda ise %85 olarak belirtilmiştir (5).

Zigomikozların epidemiyolojisi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde de farklılık göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde görülen olgular en çok kemoterapi uygulanan hematolojik malignansili hastalarda, KİT hastalarında ve vorikonazol tedavisi veya profilaksisi alan hastalarda kaçak enfeksiyonlar olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak Hindistan gibi gelişmekte olan ülkelerde zigomikoz olguları artmakta olup; en fazla diyabetik hastalarda görülmektedir. Bunu hematolojik maningnansili hastalar ve daha da seyrek olarak transplant alıcıları izlemektedir.Hindistanda bir merkezde saptanan ve çoğu diabetik hastalarda gelişen kesin invazif mantar enfeksiyonu olarak tanımlanan (EORTC/MSG kriterlerine göre) olguların sayısı 1990-2001 arasındaki 10 yıllık sürede 129; 2001-2006 arasında 178 ve 2007-2009 arasında (1,5 yıl) 75 hasta olarak bildirilmiştir (6).

İspanya 'da zigomikozlu hastalarda mortalite için risk faktörlerini belirlemek üzere geriye dönük ve çok merkezli olarak hazırlanan ve kesin invazif enfeksiyon tanısı konmuş 25 olguyu kapsayan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu yeni çalışmanın sonuçlarına göre hastaların %80 i erkek ve ortalama yaş 46 dır. Altta yatan hastalıklar ise hematolojik malignansi (%52), diyabetes mellitus (%32), solid organ nakilleri (%12), travma ve solid tümörler (her biri %8), ve transplantlar (toplam %6) ve diğer hastalıklar olarak sıralanmıştır.çalışmada belirlenen enfeksiyonun yerleşim bölgelerine göre dağılımı ise; rinoserebral (%28), dissemine (%20), kutenöz/yumuşak doku (%20), GİS tutulumu (%12), sinüzit ve beraberinde rinoserebral hastalık (%8), ve diğer vücut bölgeleri olarak belirlenmiştir. Olguların tanısal kayıtlarına göre %44 'ü histopatolojik, %28'i mikrobiyolojik kültür ve %28'i ise histopatoloji ve kültür incelemeleri ile tanımlanmıştır (7).

Aynı çalışmada uygulanan ilaçlar 11 hastada (%44) preemptif veya ampirik olarak amfoterisin B tek başına ya da kaspofungin ile kombine olarak ; 13 hastada amfoterisin B/posakonazol, sadece posakonazol ve sadece amfotersin B ile hedefe yönelik tedavi olarak verilmiştir. Çalışmadaki ortalama mortalite hızı %72 'dir. Bu yüksek mortalite ile ilişkili risk faktörleri; hematolojik malingnansi, nötropeni ve monositopenidir. Amfoterisin B hastaların sadece %20 sinde (5 hasta) önleyici amaçla, diğerlerinde ise tedavi amaçlı kullanılmıştır; bu da yüksek mortaliteyi açıklayan bir uygulamadır.

Diğer bir deyişle erken tanı ve hedefe yönelik erken tedavinin başlatılması (uygun ilaç, cerrahi girişim, zemindeki diğer hastalıkların iyileştirilmesi gibi) zigomikoz olgularının kontrol altına alınıp iyileştirilmesinde ana unsurlardır. Bundan yola çıkarak bazı araştırıcılar tanı koymaktaki zorluğu da göz önüne alarak yüksek risk altındaki hastalara preemptif amfoterisin B başlanmasını önermektedirler.

2001 yılında seçilmiş merkezlerde özellikle transplant alıcılarında ileriye dönük sürveyans hazırlayarak, invazif fungal hastalık (İFH) için risk gruplarının daha iyi belirlenmesi ve alıcılardaki enfeksiyonların tanısı için yeni yaklaşımların oluşturulmasına yönelik olarak "Transplant Associated Infection Surveillance Network" (TRANSNET) kurulmuştur.

Bu programda;

a. Hastaların demografik bilgileri (yaş, cinsiyet, ırk, klinik bilgiler),
b. Klinik sonuçlar(hastanın ölümü İFH arası ilişkinin sorgulanması),
c. Enfeksiyon bölgesi(sinüzit-sinoplumoner, pnömoni , rinoorbitoserebral, dissemine, kütenöz, yumuşak doku),
d. Enfeksiyon tanısı sırasındaki altta yatan diğer koşullar ve APACHE ,
e. Risk faktörleri (transplantasyonun çeşidi, GVHD derecesi, immünosupresif tedavi uygulanması , CMV enfeksiyonu , DM tanısı, hiperglisemi tanısı: glukoz ≥200gr/dL , nötropeni tanısı :≤ 500 hücre/µL, lenfopeni, monositopeni, asidoz: pH<7.5 , malnutrisyon: serum albumin düzeyi ≤3 gr/dL ,kortikosteroid kullanımı , serum demir düzeyi , serum ferritin düzeyi , deferoksamin tedavisi) ,
f. Tanıdan önceki üç ay içinde profilaktik, preemptif , ampirik, veya hedefe yönelik antifungal tedavi,
g. Hastaya cerrahi debridman uygulanıp uygulanmadığı, sorgulanmaktadır.

Bu demografik ve klinik özelliklerin sonuçları ortalama ve standart sapma ölçümleri ve sıklık veya % kategorileri ile değerlendirilir. Verilerin istatistiksel kıyaslamaları ise çeşitli testlerle (Student's t test , ki kare testi , Fisher's exact test) ile belirlenir.

Regresyon analizleri ile de mortalite ile ilişkili ancak bağımsız olan değişkenler saptanır.

TRANSNET 2010 transplantasyon hasta analizleri sonuçlarına göre zigomikoz oranları hematopoietik hücre nakli yapılanlarda %8, solid organ alıcılarında % 2,3 'tür.

Zigomikoz enfeksiyonlarının ortaya çıkış süreleri ise birinci grupta hücre naklinden ortalama 100 gün sonra, ikinci grupta ise 312 gün sonradır. Nakil yapıldıktan sonraki 90 gün içinde gelişen enfeksiyonlar " erken enfeksiyon" olarak kabul edilmektedir.

Hematopoietik hücre nakillerinde bir yıllık zigomikoz insidansı 2001 yılında ‰1,7 hasta, 2004 yılında ‰6,2 hasta olarak belirlenmiştir.

İlaç kullanımı açısından irdelendiğinde hematopoietik hücre nakillerinde vorikonazol ve kaspofungin gibi yeni antifungallerin profilaktik kullanımı sürecinde kaçak enfeksiyonlar 2003 yılı öncesinde yüz binde 0,57 iken, 2003 yılı sonrasında yüzbin de 6,3 'e yükselmiştir.

Mortalite hızı hematopoietik hücre transplantasyonundan sonraki 3 ayda % 64 ve 12 ayda ise %72'dir (8, 9).

HASTALIK SÜRECİ

Zigomikozlarda invazif süreç :

Çok hızlıdır.Baş ağrısı akıntılı veya akıntısız burun tıkanıklığı, ateş, pitozis, burun muayenesinde erken dönemde grimsi renk bozukluğu ve daha sonra nekrotik türbinat veya eskar varlığı zigomikozu akla getirebilir. İnvazif sinüzitin intrakraniyel genişlemesi MSS enfeksiyonuna yol açabilir ve takiben beyin apseleri, kavernöz sinüs trombozu ve menenjit gelişebilir. MSS enfeksiyonu hematojen yayılım gösterirse, damar tıkanıklıkları ve enfarktüsler meydana gelebilir. Enfeksiyonun yayılması durumunda deri tutulumu, endoftalmit, kemik ve eklem enfeksiyonları ve GİS tutulumu ortaya çıkabilir.

Zigomikozların tanısı:

Klinik tanı : Hastanın öyküsü ve sergilediği klinik veriler ön tanıda önemlidir. MSS tutulumunda sinüzit , orbital kitle, duyu kaybı dikkat çekicidir. Pulmoner zigomikozlarda ise diğer küf mantarı enfeksiyonlarında görülen ateş , öksürük, kanlı balgam gibi özgül olmayan bulgular mevcuttur.

Radyolojik tanı: Akciğer mikozlarında aspergillus enfeksiyonları ile benzerlik gösteren görüntüler elde edilir.

Sinonazal semptomların varlığında BT yardımcı olabilir. Benzer şekilde MSS enfeksiyonu şüphesinde BT veya MRI tetkiki yapılmalıdır.

Histopatolojik tanı: Klinik ve radyolojik tetkikler sıklıkla diğer mantar enfeksiyonlarına benzer bulgular verir. Bu nedenle akciğer enfeksiyonlarında bronkoskopi ile ya da BT eşliğinde veya açık akciğer biyopsisi gibi materyallerin histopatolojik incelemesi önem taşır. Sinüslerin tutulumunda endoskopik inceleme ve biyopsi materyallerinin histopatolojik incelemesi acilen yapılmalıdır. Benzer olarak MSS enfeksiyonu şüphesinde apselerin veya yaygın fungal enfeksiyonun mikolojik tanısı için biyopsi incelemesi gereklidir.

Yüzeyel lezyonlardaki siyah görüntü zigomikoz enfeksiyonunu akla getirmeli ve alınan biyopsi materyali histopatolojik incelemeye tabi tutulmalıdır.

Sözü geçen klinik materyallerde tipik düzensiz dallanmalar yapmış, septasız, yer yer daralan ya da genişleyen hiflerin varlığı dokunun fungal invazyonunu gösteren ve kesin tanıyı kuvvetlendiren bulgulardır.

Gastrointestinal tutulum daha çok bebeklerde görülmekte olup nekrotizan enterokolit tarzında seyreder ve tanı sıklıkla otopside histopatolojik olarak konulur.

Mikrobiyolojik tanı: Bronkoskopi, endoskopi ya da diğer yöntemlerle alınan biyopsi ve apse materyalleri, BAL ve MSS şüphesinde kontrendike bir durum yoksa alınan BOS gibi klinik örnekler, kültür ve mikroskopik inceleme ile

mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmelidir. Üremeli kültürler her zaman enfeksiyonun varlığını göstermez. Besiyerlerinin çevreden kontaminasyonu sık rastlanan bir durumdur ve bu nedenle mümkünse tekrarlanan kültürlerde aynı mantarın üretilmesi önem taşır.

Pulmoner enfeksiyonda kültürler sıklıkla negatiftir. EORTC/MSG kriterlerine göre "kesin invazif mantar hastalığı" tanısı konulmuş olan olgularda kültürde üreme olabilir. Kültürün yanı sıra %10' luk KOH ile mikroskopik incelemede düzensiz septasız hiflerin gözlenmesi tanıyı kuvvetlendirir.

Zigomikoz şüpheli olguların histopatolojik ve üremeli kültür ile birlikte tanımlanması çok değerlidir. Ancak mikrobiyolojik ya da histopatolojik mikroskopi pozitif iken kültür negatif ise, etken organizmanın tanımlanması için mümkünse moleküler yöntemlere başvurulması önerilir (9).

DİĞER KÜFLERE BAĞLI MİKOZLARIN EPİDEMİYOLOJİSİ

1. Fusarium enfeksiyonları:

   Bu mantarın insanlara bulaşma yolları; toprakta bulunan sporlarının yaralara , korneaya tutunması veya doğrudan travmatik inokülasyonu , havadaki sporlarının inhalasyonu ve nadiren sporlarla kontamine yiyeceklerin tüketilmesi şeklindedir.

   Enfeksiyon için risk faktörleri; cilt lezyonları, yanık yaraları, kortikosteroid, uzamış nötropeni ve hematolojik malignansidir.

   Fusarium anjiyotropik ve anjiyoinvazif bir mantardır ve doku nekrozuna yol açar.

   En önemli türler : Fusarium solani (olguların % 50 sinden izole edilir), F.oxysporum ve F.moniliforme 'dir (10).

   Fuzaryoz olguları en sık ABD'den bildirilmiştir (tüm olguların %50-%80i), bunu Fransa, İtalya ve diğer bazı ülkeler izlemektedir. Bildirilen olguların %90'ından fazlası hematolojik malignasili nötropenik hastalarda ortaya çıkmıştır (11).

   Dissemine enfeksiyon ortalama olarak hematopoietik hücre transplantasyonundan ortalama 100 gün sonra gelişmektedir (10).

   Fuzaryoz hastalığının insidansı akut lösemilerde %0,06 ; otolog KİT hastalarında %0,2 ve allogeneik KİT uyglulanan hastalarda ise %1,2 olarak bildirilmiştir. Bu hastalarda mortaliteyi belirleyen en önemli faktörler öncelikle uzayan nötropeni ve kortikosteroid kullanımıdır.

   Hastalığın tedavisinde vorikonazol , posakonazol ve amfoterisin B' nin lipid formulasyonları etkili olabilmekle birlikte, çoklu ilaç direnci gösteren kökenler hızla artmaktadır (11).

2. Scedosporium enfeksiyonları:

   Toprakta, su birikintilerinde ve lağımda bulunan bir küftür. Scedosporium apiospermum (teleomorf: Pseudoallescheria boydii) su ile ilişkili ve S.prolificians toprak ile ilişkili mantarlar olup epidemiyolojik, morfolojik açıdan olduğu kadar antifungallere in vitro duyarlılık ve tedavi yaklaşımı açısından da farklılıklar göstermektedirler. Her ikisi de hem immünokompetan hem de immünosupresif kişilerde hastalık nedeni olabilirler.

   Scedosporium kökenleri, dokuda konidya oluşturarak enfeksiyonun hızla disseminasyonuna yol açabilirler. Mortalite hızı S.apiospermum için %65-75, S.prolificans için %85-100 olarak bildirilmiştir.

   Her iki tür de amfoterisin B ve ekinokandinlere karşı oldukça dirençlidir; S.prolificans kullanımda mevcut her bir antifungal ilaca karşı dirençli olabilen kökenler içermektedir. İn vitro verilere göre vorikonazol her iki tür için etkili bir ilaç gibi görünmekte ise de tedavide vorikonazol ve terbinafin kombinasyonu önerilmiketedir (11).

TÜRKİYE VERİLERİ

Eren A. ve arkadaşları tarafından Gazi Üniversitesi tıp fakültesinde gerçekleştirilen ve sürveyansın önemini ortaya koyan geniş kapsamlı bir çalışma mevcuttur (12).

Çalışma hastanenin yoğun bakım, KİT, böbrek transplantasyonu ünitelerinde ve hematoloji ve onkoloji servislerinde yapılmıştır. Risk altındaki hastaların bulunduğu servislerin iç ve dış ortamlarından toplanan hava örneklerinde Penicillium, Cladosporium, Aspergillus, Paecilomyces, Mucor, Alternaria, Rhizopus, Trichoderma ve Acremonium ve diğer bazı saprofit türler üretilmiştir. Bunlardan Aspergillus fumigatus üretilen ünitenin çok yakınındaki bir odada yatan hasta aynı mantara bağlı invazif enfeksiyon nedeniyle kaybedilmiştir. Bu enfeksiyon seroloji ve kültür ile doğrulanmış, EORTC/MSG kriterlerine göre "kesin invazif fungal hastalık" olarak değerlendirilmiştir. Bu olgu riskli ünitelerde yatmakta olan hastalarda görülebilecek fırsatçı küf enfeksiyonlarını önceden belirlemek ve önlemini almak üzere önceden yapılan sürveyans kültürlerinin önemini ortaya koymuştur. Nitekim filtre edilmemiş iç ve dış hastane ortamlarında spor sayısı havada 1-15 kob/m³ Aspergillus olarak belirlenmiştir. Oysa cerrahi yoğun bakım ve izolasyon odalarında bu sayı en fazla <5 kob/m³ olmalıdır. Çalışmada, odalardaki HEPA filtreler değiştikten sonra toplam spor sayısı istatistiksel açıdan anlamlı düşüş göstermiştir.

Kaynaklar

1. Meis JF, Chakrabarti A. Changing epidemiology of an emerging infection: zygomycosis. CMI 15 (SUPPL.5):10-14, 2009.

2. Bitar D, Cauteren D V, Lanternier F, et al. Increasing incidence of zygomycosis . France , 1997-2006. Emerging Infect Dis. 15:1395-1401, 2009. www. cdc. gov /eid
3. Chakrabarti A ,Ghosh A, Prasad GS , et al. An emerging zygomycete in India. J Clin Microbiol. 41:783-788, 2003.
4. Chakrabarti A, Shivaprakash MR,Curfs-Breuker I, et al. Apophysomyces elegans : Epidemiology Amplified Fragment Lenght Polymorphism Typing, and in vitro antifungal susceptibility pattern. J Clin Microbiol. 48: 4580-4585, 2010.
5. Roden MM, Zaoutis TE , Buchanan WL, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. CID 41:634-653, 2005.
6. Chakrabarti A,Das A, Sharma A , et al. Ten years experience in zygomycosis at a tertiary care centre in India. J Infect 42: 261-266, 2001.
7. Llorente A, Perez-Valero I, Garcia E , et al. Mortality risk factors in patients with zygomycosis: a retrospective and multicentre study of 25 cases. Enferm Infecc Microbiol Clin. 29.263-268, 2011.
8. Pappas PG,Alexander D,B, Andes DR, et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: Results of the Transplant –Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). CID 50:1091-1100, 2010.
9. Kriengkauykiat J , Ito JI , Dadwal SS. Epidemiology and treatment approches in management of invasive fungal infections. Clin Epidemiol. 3:175-191, 2011 .
10. Özkaya G, Shorbagi A, Akova M . Fusarium species as an emerging and life –threatening fungal pathogen in the immunocompromised host. In : US Infectious Disease, p: 75 , 2007.
11. Binder U , Lass –Flörl C. Epidemiology of invasive fungal infections in the Mediterranien area. Mediterr J Hematol Infect Dis. 3 : 2011.
12. Eren A, Kuştimur S, Kalkancı A, ark. Hastanede yapılan inşaat çalışmalarının immün sistemi baskılanmış hastaların bulunduğu çevre ve fırsatçı küf enfeksiyonları gelişimi üzerindeki etkisinin araştırılması . Mikrobiyol Bült. 42: 83-9, 2008.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA KLİNİK MİKOLOJİ

OLGU-1
Mine DOLUCA
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, İzmir

14 Yaşında erkek hasta, ilk hastaneye Ocak 2010 yılında propitoz, kan değerlerinde azalma, lökositoz ve işitme azlığı ile başvuruyor ve akut myeloid lösemi tanısı alıyor. Tanıya uygun sağaltımı planlanıyor. Daha sonra olgu Ocak 2011 tarihinde akciğer infeksiyonu (invavif aspergilloz) ve relaps tanısı alıyor ve yine uygun sağaltım başlanıyor. Bu sağaltım sonrasında hastanın genel durumu düzeliyor ve taburcu ediliyor. Son olarak olgu Haziran 2011 tarihinde HLA uyumlu kardeşi olması nedeniyle allojenik kök hücre nakli (KİT) için Üniversitemiz hastanesine gönderiliyor. Bu dönemde olguya siprofloksasin, trimetoprim-sulfometaksazol, prednizolon, siklosporin, asiklovir ve önceden invaziv aspergilloz geçirme öyküsü nedeniyle kaspofungin başlanıyor. Temmuz 2011 tarihinde kök hücre ürünü verilen hastaya, KİT dördüncü gününde ateş yüksekliği nedeniyle meropenem ve teikoplanin başlanıyor. Kan kültürlerinde üreme olmayan olgunun antibiyotik tedavisi nötropenisi uzun sürmesi nedeniyle 28 güne tamamlanıyor. Hastada daha sonra immun hemolitik anemi gelişiyor ve bunun üzerine metil prednizolon başlanıyor. KİT sonrası yedinci haftada hastada ateş yüksekliği izlenmesi üzerine kateter ve periferik kan kültür örnekleri alınıyor ve sonrasında piperasilin-tazobaktam ve teikoplanin başlanıyor.

OLGU-2
Şinasi Taner YILDIRAN
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

50 yaşındaki kadın hastada katarakt cerrahisinden yaklaşık bir hafta sonra orta şiddette anterior üveit tablosu gelişiyor. Bu tablodan iki gün sonra hipopiyon da tabloya eşlik ediyor. Oldukça yoğun topikal ve intravitreal antibiyotik (vankomisin ve amikasin) tedavisine rağmen ortaya çıkan endoftalmit tablosu düzelmiyor. Gelişen bu durum üzerine mikrobiyolojik değerlendirme için ön kamaradan parasentez örneği ve vitreus sıvısı alınıyor. Bu örneklerin mikrobiyolojik değerlendirmesinde negatif sonuçlar alınıyor. Hastadaki endoftalmit tablosunun daha da ciddileşmesi üzerine postoperatif üçüncü haftada hastaya total vitrektomi uygulanıyor ve lens kapsülüyle birlikte intraoküler lens de çıkarılıyor. Bu operasyona ait örnekler yeniden mikrobiyolojik değerlendirmeye alınıyor.

OLGU-3
Nedret KOÇ
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

25 yaşında erkek hasta, ateş, öksürük, balgam ve artan nefes darlığı şikayetleri ile hastaneye başvuruyor. Hastanın iki yıl önce akut lemfoblastik lösemi tanısı alıyor ve kemoterapi alarak tam remisyona giriyor. Hastanın fizik muayenesinde alt ve orta loplarda diffüz ralleri, ateşi (38.6ºC) ve şiddetli nötrepeni (nötrofil sayısı 430/mm^3) belirleniyor. Göğüs radyo grafisinde: plevral efüzyonu olmadan bilateral infiltrasyon var. Kemik iliği aspirasyonunda blast hücrelerde önemli artış olmadan myeloid supresyon saptanıyor. Hasta başlangıçta oksijen tedavisi ve yedi gün intravenöz klatromisin + sefemin alırken alerji gelişmesi nedeniyle klatromisin levofloksasine değiştiriliyor. Hasta nötrofil sayısı artana kadar G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) alıyor. Hastaya dispne ve ralleri için aminofilinli dekstrametaksazon başlanıyor. Bunlara rağmen hastanın durumu ağırlaşıyor ve ateşi devam ediyor. Hastanın kan, balgam, idrara kültürlerinde üreme olmuyor. Asit fast boyamalar negatif olarak belirleniyor. HIV için antikor negatif olarak bulunuyor. Bronkoskopi ile bronko alveoler lavaj yapılıyor ancak oksijen saturasyonu düşük olduğu için biyopsi yapılamıyor.

OLGU-4
Mine DOLUCA
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Yedi yaşındaki kız çocuk hasta halsizlik, iştahsızlık, solukluk ve bacaklarında morluklar nedeniyle Çocuk Hastalıkları Hematoloji Polikliniğine başvuruyor ve akut lenfoblastik lösemi (ALL-L1) tanısı alarak kemoterapiye başlanıyor. Yoğun sitotoksik kemoterapi alırken ateşinin yükselmesi (38.7^{o}C), lökopeni ve nötropeni saptanması üzerine kemoterapi kesiliyor ve santral venöz kateter ile periferik kan kültür örnekleri alınıyor. Fizik muayenedeki sol maksiller sinüs duyarlılığı nedeniyle sefepim, amikasin ve teikoplanin sağaltımı başlanıyor. Olgunun akciğer grafisi, batın ultrasonografisi, paranazal sinüs ve toraks bilgisayarlı tomografisinde odak izlenmiyor.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA KLİNİK BAKTERİYOLOJİ: ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ YORUMLARI

OLGU 1
Dilara ÖĞÜNÇ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya

65 yaşında erkek hasta, 10 yıldır Tip 2 diyabeti mevcut. Ateş, üşüme, titreme yakınmalarıyla acil servise başvuruyor. Hastanın öyküsünden bir hafta önce bulantı, kusma ve ishal yakınmalarının olduğu ve bu yakınmalarıyla başvurduğu bir dış merkezde siprofloksasin 2x500mg PO başlandığı öğreniliyor. Antibiyotik tedavisinin 6. gününde yakınmaları düzelmeyen hastanın sol dizinde şişlik, kızarıklık ve ısı artışı gelişiyor. Hastanın 10 gün önce tatil için gittiği Malezya'dan döndüğü, bu dönem içinde ateş veya başka bir yakınmasının olmadığı belirtiliyor. Hastanın fizik muayenesinde genel durumunun bozuk olduğu, ateşinin 38.5 ° C, sol dizinde şişlik hassasiyet ve ısı artışı olduğu tespit ediliyor. Eklem sıvısı ve kan kültürleri alınıyor.

OLGU 2
Gülçin BAYRAMOĞLU
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

29 yaşında kadın hasta, son bir haftadır devam eden ateş ve baş ağrısı nedeni ile hastaneye başvuruyor. 15 ay önce akut lösemi tanısı koyulan ve en son bir ay öncesinde kemoterapi alan hasta refrakter akut lenfoblastik lösemi (ALL) tanısı ile Hematoloji servisine yatırılıyor. Hastanın 5 gündür amoksisilin - klavulanik asit aldığı öğreniliyor. Fizik muayenede genel durum orta, bilinç açık, oryante ve koopere, ateş: 38.8°C, nabız 110 dk/ritmik dinlemekle solunum sesleri doğal ve diğer fizik muayene bulguları normal saptanıyor. Hastada nötropeni tesbit ediliyor. Hastanın boğaz, idrar ve kan kültürleri alınarak nötropenik ateş tanısıyla piperasilin-tazobaktam 4x4.5 g/gün başlanıyor ve tedavinin 3. gününde ateş kontrol altına alınıyor. Alınan kültürlerde üreme olmuyor. Hastanın kemik iliği aspirasyon sonucunun relaps ALL çıkması ile hastaya kemoterapi uygulanıyor. Piperasilin-tazobaktam tedavisinin 11. gününde yeniden 39^{o}C'ye çıkan ateşinin olması nedeni ile kan kültürü alınıyor ve piperasilin-tazobaktam tedavisi kesilerek ampirik antibiyotik tedavisi olarak imipenem (4x500 mg/gün) ve bacağında selülit ile uyumlu lezyonları nedeni ile teikoplanin (2x400 mg /gün, idame 1x400 mg /gün) ve amfoterisin B (50 mg/gün) başlanıyor. Üçlü antibiyotik tedavisinin 3. gününde hastanın solunum sıkıntısı olması, genel durumunun bozulması, ağzında herpetik lezyonların olması nedeni ile tedaviye trimetoprim/sulfametoksazol (3x160/800 mg/gün) ve asiklovir (5x250mg/gün) de ilave ediliyor. Hastanın yatışından itibaren alınan 5 set kan kültüründe ve 3 idrar kültüründe üreme olmazken, piperasilin-tazobaktam tedavisinin 11. gününde alınan kan kültüründe üreme oluyor.

OLGU 3
Onur KARATUNA
Batman Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Batman

81 yaşında kadın hasta, romatoid artrit ve yüksek tansiyon dışında bir hastalığı yok, sigara içme öyküsü yok, tatil ve tedavi amacıyla bir termal otelde konaklıyor, döndükten dört gün sonra ateşi yükseliyor (38.2°C) ve balgam çıkarmaya başlıyor. Göğüs hastalıkları polikliniğine başvuran hastanın kan sayımında; lökositoz (nötrofil %86) ve CRP yüksekliği (56 mg/L) saptanıyor, fizik muayenesinde ise sol akciğer üzerinde oskültasyonla krepitan ral alınıyor. Ampirik olarak amoksisilin-klavulanik asit tedavisine (3 x 1 gr, po) başlanıyor. Antibiyotik tedavisine başlanılan günün akşamında hastanın ateşi 39.3°C olarak ölçülüyor ve hastada ciddi derecede solunum sıkıntısı gelişmesi üzerine hasta acil servise getiriliyor. Hastanın çekilen PA akciğer grafisinde nodüler dansite gösteren bilateral pnömoni ile uyumlu görüntü elde ediliyor. Hastanın solunum sıkıntısının hızla derinleşmesi üzerine hasta yoğun bakım ünitesine alınıp, entübe ediliyor ve mekanik ventilatör cihazına bağlanıyor. Ampirik tedaviye başlanmadan önce hastadan bronkoalveolar lavaj, idrar ve kan kültürü örnekleri alınıyor.

TRENDS IN ANTIBIOTIC RESISTANCE AMONG ANAEROBIC BACTERIA AND THEIR CLINICAL SIGNIFICANCE

Elisabeth NAGY
Institute of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hungary

Anaerobic pathogens have become increasingly important in human infections over the past decades. They generally originate from the patient's indigenous flora and are therefore associated with a variety of infections in proximity to the mucosal surfaces where they reside. These endogenous infectious processes are most frequently polymicrobial, involving aerobic and anaerobic species, where the outcome of the infection is greatly influenced by the pathogenic features of the different species involved. Bacteroides fragilis and related species are the most frequent isolates in clinical laboratories among anaerobes not only involved in mixed infections, but also isolated in poor cultures from septic patients. To be able to treat severe anaerobic infections successfully it is needed their proper diagnostics and the correct determination of their antibiotic resistance. Several technical problems can impede to obtain correct and quick microbiological result in the case of anaerobic infections. The development and spread of resistance is a common problem among aerobic and facultative anaerobic bacteria. However, different surveillance studies show that resistance among anaerobes especially among Bacteroides isolates to beta-lactam antibiotics, erythromycin, tetracycline and clindamycin is increasing in different countries. The consequences of the overuse of tetracycline, erythromycin and clindamycin in acne patients can be well followed by the increasing number of resistant Propionibacter acnes isolates among acne patients and their close contacts. Induction of the macrolid-lincosamine resistance can also be found among clinical isolates of peptostreptococci. Microaerophilic streptococci are resistant to metronidazole, however some isolates of Peptostreptococcus assacharolyticus and Micromonas micros proved to be resistant as well. Fingoldia magna shows the highest resistance level of all Gram-positive anaerobic cocci and this species is the most often encountered in anaerobic infections involving this group of bacteria. Some antibiotics highly active against anaerobic bacteria were thought not to be influenced by the tendency of development of resistance. However, recently more and more publications confirm the spread of the resistance genes responsible for carbapenem, nitro-imidazole and 4th generation quinolon resistance among Bacteroides fragilis and related species and this may cause treatment failure in severe mixed infections involving anaerobes. The increasing importance of the nosocomial enteric infection caused by Clostridium difficile and the difficulties to treat them makes it mandatory to deal with the resistance development with these anaerobic bacteria as well. To investigate the genetic background of antibiotic resistance, and factors involved in the spread of these resistance genes in anaerobic bacteria seems to be mandatory in the future. Besides carrying out resistance surveillance studies among clinically important anaerobes it looks also mandatory in the case of sever infections involving anaerobic bacteria to select appropriate therapy on the bases of in vitro antibiotic resistance determination. The most accepted method for routine laboratories is the MIC determination of anti-anaerobic drugs using E test.

ANTİMİKROBİYAL YÖNETİMİ: KLİNİSYEN NE YAPMALI? LABORATUVAR NE YAPMALI? KLİNİK YAKLAŞIM

Dilek ARMAN
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi , Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji ABD, Ankara

Antimikrobiyal Yönetimi Neden Önemli?

Antimikrobiyal Yönetimi, maksimum düzeyde klinik yanıt sağlarken, antimikrobiyal kullanımının toksisite, direnç gelişimi veya belirli mikroorganizmaların seçilmesi gibi istenmeyen sonuçlarının en aza indirilmesi için gereklidir. Bu durumda da hasta güvenliğinin önemli bir kısmını oluşturur (1, 2).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar antimikrobiyal kullanımı ile direnç gelişimi arasındaki sebep sonuç ilişkisine işaret etmektedir: Antimikrobiyal kullanımındaki değişiklikler direnç oranlarına yansımaktadır; sağlık hizmeti ile ilişkili infeksiyon (SHİE) etkenleri arasında direnç, toplum kökenli infeksiyon etkenlerinden daha sık görülür; dirençli mikroorganzimalarla SHİE gelişen hastalarda öncesinde antibiyotik kullanımı kontrol hastalarına göre daha sıktır; hastanelerde en yüksek direnç oranlarının saptandığı kısımlar, aynı zamanda da en fazla antibiyotik kullanımının söz konusu olduğu birimlerdir; hastaların antimikrobiyal maruziyeti artışı ile dirençli mikroorganizma kolonizasyonu olasılığı artmaktadır (1, 2). Bu sonuçlar nedeni ile uygun olmayan antibiyotik kullanımı, direncin önlenebilirliği ile ilişkili dolaylı işaret olarak ele alınır.

Etkin antimikrobiyal yönetimi ile birlikte uygulanan infeksiyon kontrol programları direnç gelişimi ve yayılımının sınırlandırılmasında başarı sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda kurumsal uygulamaya yönelik kılavuzlar 2007'de geliştirilmiştir (3). Etkin uygulanan programlarla hem antimikrobiyal kullanımının %22–36 azlatıldığı ve hem de yıllık 200-900 bin $ kurumsal ekonomi sağladığı saptanmıştır (1-4) .

Antimikrobiyal Tedavi için Gereklilikler:

Akılcı Antibiyotik kullanımının temel prensipleri doğal olarak geçerlidir. Konu ayaktan tedaviyi de kapsıyorsa da esas sorun SHİE'da yaşanmakta ve eldeki veriler de bu alana yönelmektedir. Yine de temel prensipler tüm hasta grupları için geçerlidir (5).

Tek cümlede ifade edildiğinde; antimikrobiyal tedavi enfeksiyon hastalığı olduğu saptanan ya da kuvvetle şüphelenilen tablo karşısında, gereken mikrobiyolojik örnekleme sağlandıktan sonra, hasta özellikleri ve olası mikroorganizma bilgisi göz önüne alınarak, uygun antibiyotik, uygun dozda ve yolla başlanmalı, mikrobiyolojik tetkik sonuçları elde edildiğinde gereken değişiklik yapılmalı, gerekli sürece sürdürülmelidir. Antimikrobiyal tedavi için vazgeçilmez elemanlar olan yakın zamanda antibiyotik bakım paketi (antibiotic care bundle) olarak tanımlanmıştır (6). Paket içeriğinde yer alan elemanlar : a) tedavi etmesi olası en az sayıda ajan seçilmelidir; örneğin ikili üçlü kombinasyon yerine bir geniş spektrumlu ajanın seçilmesi floranın daha az etkilenmesini sağlayacaktır; b) başlangıç tedavisi kültür sonuçları ile birlikte ve en geç 3. Günde yeniden değerlendirilmelidir; c) Tedaviden sonuç alınabilmesi için optimal dozun, optimal sürede en uygun yolla verilmesi gereklidir.

Ampirik antimikrobiyal ajan seçiminin doğru olarak tamamlanabilmesi için Enfeksiyon hastalıkları Uzmanının öncelikle hastayı izliyor olması ve hastanın bulunduğu ünitenin sürveyans verilerine hakim olması, ilacın farmakokinetik farmakodinamik özellikleri doğrultusunda doğru dozu seçmesi ve ilaç etkileşimlerinin farkında olması önemlidir. Etkenleri ve direnci gösteren sürveyans verilerinin düzenli aralıklarla klinisyenle paylaşılması önemlidir; bu uygulamanın gerçekleştirildiği merkezlerde antibiyotik tüketiminin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir (7).

Klinisyen hastanede gelişen infeksiyonların çoğunda mortaliteyi azaltmak için hızla antibiyotik tedavisini başlamak, ama diğer yandan da gereksiz antibiyotik tedavisinden kaçınmak zorundadır. Kimi zaman ventilatör ilişkili pnömoni gibi klinik tanı yaklaşımının %20-60 yanlış olacağını bilerek başlayacağı tedavi öncesinde solunum yolu örneklerinin alınması ve mikroskopik değerlendirme yanı sıra kantitatif olarak değerlendirilerek yorumlanması tanıya yardımcı olacağı gibi başlanmış tedavinin gereksiz olduğu yorumu ile kesilmesini sağlayabilir. Bu noktada klinisyen ile laboratuar sorumlusunun iletişimi, işbirliği ve ortak dili konuşuyor olması, alınan örnek kalitesinin artırılması, işlemin gerektiği şekilde sürdürülmesi ve yorumlanması için önem taşımaktadır (7, 8).

Antibiyotik tedavisi uygulayan tüm hekimlerin infeksiyonlara yaklaşımı ve konu ile ilgili eğitim derinliği farklı olduğundan boğaz florasında bulunan S. aureus gibi klinik anlamı olmayan sonuçların bildirilmemesi de gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi için gereklidir.

Balgam veya trakeal aspiratın Gram boyalı preparatında; polimorf nüveli lökosit, makrofaj ve bakterilerin varlığının değerlendirilmesi, kültürde üretilen mikroorganizmanın etken olarak kabul edilmesini kuvvetle destekleyeceği için önemlidir. Ancak, nötropenik olgularda ve Legionella infeksiyonlarında nötrofil sayısı az olabileceğinden laboratuar inceleme sürdürülmelidir. Klinisyenin de böyle negatif bir sonucu yorumlarken nötropenik olgularda ve Legionella infeksiyonlarında nötrofil sayısının az olabileceğini değerlendirmesi önemlidir (9) . Son 72 saatte antibiyotik değişikliği yapılmayan entübe hastalarda; trakeal aspiratta bakteri ve inflamatuvar hücre görülmemesi de güçlü negatif prediktif değere sahiptir. Bu sonucu değerlendiren klinisyen diğer infeksiyon odaklarını araştıracak ve belki çok daha dar spektrumlu bir ajan ile tedaviye başlayabilecektir.

İzole edilen etkenin doğru tanımlanması, olası direnç mekanizmalarının göz önüne alınarak seçilecek tedavi ve tedavi izlemi sırasında ortaya çıkabilecek karışıklıkların değerlendirilmesi için önemli olacaktır. Örneğin penisilin grubu antibiyotik tedavisi alan hastada izole edilen etkenin Enterobacter spp. Olduğunun bilinmesi, başlangıçta yanıt

alınan ve sonrasında semptomları tekrarlayan hastada doğru değerlendirmeye yönlendirecektir. Yapılan bir araştırmada en fazla kolonizasyonun söz konusu olduğu yoğun bakım ünitesi hastasında yani en kömtü senaryoda dahi mikrobiyolojik tetkik sonuçlarının %11.5 olguda tedavinin optimizasyonuna katkı sağladığı gösterilmiştir (10).
Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının kısıtlı bildirimi de yine antibiyotik tüketiminin gereksinimlerle sınırlandırılması için önemlidir. Çoklu üreme veya patojen olarak kabul edilmesi tartışılabilecek izolasyonlarda yine klinisyenle iletişim önem kazanacaktır. Diğer yandan hastaya ait alerji ve kullandığı antibiyotik bilgisi laboratuarda uygulanacak duyarlılık testlerini yönlendirebilir. Özellikle tedavi problemlerinin yaşanabileceği hasta grubunun izleminde ise klinisyen rutin duyarlılık testleri yanı sıra e-test, sinerji araştırması gibi ek testlere gereksinim duyabilir. Veya rutin duyarlılık testi yapılmayan üriner kandida izolasyonu gibi bir durumda tedavi problemleri karşısında bu testlere gerek duyulabilir. Ek testlerin planlanmasında da klinisyenin laboratuar ile iletişimde olması ve izolatların ileri tetkik gereksinimi için belirli sürelerle stoklanması önemli olacaktır.
Günümüzde giderek artan oranda diğer tanısal testlerden yararlanılmaktadır. Hematolojik maligniteli hastalarda aspergilloz tanısına yönelik galaktomannan izlemi, invazif kandidiyaz tanısına yönelik beta-d glukan araştırılması ya da transplantasyon alıcılarında önemli bir problem olan CMV enfeksiyonu erken tanısı ve preemptif tedavi amacıyla yapılan viral yük izlemi karar verdirici testlerdir. Başta yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar olmak üzere prokalsitonin tayininin de antibiyotik kullanımını azaltabilecek karar verdirici bir test haline geldiğini belirtmek hata olmayacaktır. Güvenilir yöntemlerle çalışılması, hızla ve karar vermeye uygun zamanlamada sonuç verilmesi klinisyenin gereken erken tedavi başlama koşulunu yerine getirmesini sağlayacaktır.
Örnekler artırılabilirse de ; kısaca mikrobiyolojik tetkiki etkileyebilecek hasta özellikleri klinisyen tarafından laboratuara verilmeli laboratuar tarafından da bu bilgiler kullanılarak işlem sürdürülmeli ve elde edilen ara sonuçlar da hızla klinisyene ulaşabilmelidir. Özetle her hastanın antimikrobiyal tedavisi sürecinde Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanı ile Mikrobiyoloji uzmanı devamlı iletişim ve paylaşım içinde olmalı; uygun örneğin uygun koşullarda eldesi ile uygun testlerin uygun koşullarda kullanımı ve zamanlı sonuçlanarak klinisyene ulaşması sağlanmalıdır.
Klinisyen tüm bu koşullarda optimal antimikrobiyal tedaviyi sağlamak için farmakokinetik ve farmakodinamik parametreleri göz önüne alarak doğru doz ve doz aralığını seçebilmeli, tedaviyi özellikle mikrobiyolojik sonuçlarla gözden geçirmeli, gereken koşulda spektrum değişikliği veya uygulama yolu değişikliğini gerçekleştirmelidir. Bu kapsam Enfeksiyon Hastalıkları eğitiminin temelini oluşturmaktadır. Sipahi ve ark (11), gece ve hafta sonu çalışma saatlerinde araştırma görevlilerinin gerçekleştirdikleri konsültasyonları değerlendirdikleri araştırmalarında 262/270 konsültasyon sonunda seçim, doz, uygulama yolu ve planlanan süre açısından uygun önerilerde bulunulduğu saptanmıştır.
Antimikrobiyal Yönetim için Gereklilikler, Kurumsal Yaklaşım:
Konu ile ilgili geliştirilen kılavuzda Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanı, enfeksiyon hastalıkları üstihtisaslı klinik farmakoloji uzmanı desteği ile programın yöneticisi olarak tanımlanmaktadır (3). Mikrobiyolog, Enformasyon Sistemleri uzmanı ve Hastane Epidemiyologu da takım üyeleri olarak yer alırlar. Çoğu zaman ekipteki bir kişi birden fazla rolün gerkelerini yerine getirir (1). Klinik farmakolog için tanımlanmış olan, Ülkemizde Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanının yerine getirdiği sorumluluklar şu şekilde listelenebilir (3):

- Maliyet etkin tedavi seçimi ve gerçekleştirilmesi
- Antimikrobiyal tedavi değişikliklerinin tartışılması; gereğinde de-eskalasyon veya oral tedaviye geçiş
- Değişikliklerin uygulayıcılara bildirilmesi
- Antimikrobiyal tedavinin izlemi ve uygun kullanımın denetlenmesi
- Gereken şekilde farmakokinetik/farmakodinamik destek
- Taburculuk planlanmasına destek.

Kılavuzda tanımlanan yeni veya araştırılan antibiyotiklerin finansal boyutunu tartışmak; yeni antibiyotik kısıtlama/kontrol yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmek üzere araştırmak; kısıtlama/kontrol yönteminin belirlenmesi işlevleri ise ülkemizde geri ödeme kurumunun oluşturduğu kısıtlama kapsamında sürdürülmekte; yıllık duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesi ise infeksiyon kontrol komiteleri içinde klinisyen-mikrobiyolog işbirliği ile gerçekleştirilmektedir.
Bu kapsamda değerlendirildiğinde Antimikrobiyal Yönetimi ya da Yolgöstericiliği Stratejisinin planlanması ve yürütülmesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanının sorumluluğu olacaktır. Antimikrobiyal yönetimi çoğu zaman 2 temel uygulamadan biri üzerine kurulur (D,L).:

a. Kısıtlı kullanım ve kullanım öncesi onay alınması,
b. Sürekli denetim ve geribildirim

İnfeksiyon hastalıkları uzmanlarının antibiyotik kullanımının ve maliyetinin azaltılmasına katkısı gösterilmiştir (4, 12-15) . Kullanım öncesi onay alınması, en zahmetli ancak muhtemelen en etkili kontrol yöntemi olarak tanımlanmaktadır (2). Kısıtlama ile birlikte onay alınması ile ilgili son 40 yılda gerçekleştirilen çalışmalar antibiyotik kullanımı ve maliyet azalması sağladığını göstermiştir (1,3, 10,). Ülkemizde geri ödeme kapsamında gerçekleştirilen bu uygulama ile de benzer etkinliğin sağlandığını göstermiştir (16-19). Ancak Erbay ve arkadaşlarının 2001 ve 2002 yılında hastanelerinde 2ve 3 yıldır uygulanmakta olan kısıtlama ve onay stratejisinin etkinliğini değerlendirmek üzere yaptıkları çalışmalarda kısıtlanmayan antibiyotiklerin uygunsuz kullanımının arttığını ve bu stratejinin yeterli olmadığını göstermişler (20, 21). Aslen kısıtlama kurumların gereksinimlerine göre ve düzenli aralıklarla antibiyotik duyarlılık oranları değerlendirilerek yapılması gereken bir uygulamadır (1)

Sürekli denetim ve geribildirim ise tüm antibiyotik reçetelerinin gözden geçirilerek, reçete yazan hekime gerbildirim verilmesini kapsamaktadır.

Hangi strateji/ler belnimsenirse benimsensin, eğitim en önemli yapıtaşını oluşturmaktadır. İdeal yöntem konusunda fikirbirliği olmasa da bire-bir öneri, konferans-ders, bilgilendirici mesajlar, ilaç tüketim değerlendirmeleri, ve en önemlisi kılavuzların oluşturulması bu amaca hizmet edecektir. Kılavuzların güncellenmesi de oluşturulması kadar önemlidir (2).

Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanları ülkemizde Enfeksiyon Kontrol Komitelerinin temel elemanı konumundadır. Bu komite görevleri çerçevesinde sürveyans, kontrol önlemlerinin geliştirilmesi, salgın araştırması başlıca sorumluluklarını oluşturmaktadır. Bu sorumlulukları yerine getirirken tüm hastane personelinin eğitimi de önemli yer tutar. Tüm komponentlerin gerçekleştirilmesinde antimikrobiyal tedavi için söz konusu olan gereklilikler geçerli olduğu gibi salgın araştırmasında EHU mikrobiyolog işbirliği ve paylaşımı daha da önem taşıyacaktır. Mikroorganizma izolasyonu, tanımlanması ve duyarlılıklarının yanı sıra, gereken koşulda moleküler yöntemlerin kullanımı ve zamanlı şekilde sonuç eldesine yönelik kullanılması ancak iyi bir işbirliği ile mümkün olacaktır.

Kaynaklar

1. Fishman N. Antimicrobial stewardship. Am J Infect Control 2006;34:S55-63.
2. Drew RH. Antimicrobial Stewardship Programs: How to Start and Steer a Successful Program J Manag Care Pharm. 2009;15(2)(Suppl):S18-S23.
3. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. Clin Infect Dis 2007; 44:159–77
4. Bevilacqua S, et al. 15 years of antibiotic stewardship policy in the Nancy Teaching Hospital. Med Mal Infect (2011), doi:10.1016/j.medmal.2011.08.001
5. Niederman MS. Principles of appropriate antibiotic use. Int J Antimicrob Agents 2005; 26 (Suppl. 3): S170 S175
6. Isturiz RE. Optimizing antimicrobial prescribing. Int J Antimicrob Agents 2010; 36(Suppl 3): S19–S22.
7. MacKenzie FM, Gould IM, Bruce J, Mollison J, Monnet DL, Krcmery V, Cookson B, van der Meer JWM. The role of microbiology and pharmacy departments in the stewardship of antibiotic prescribing in European hospitals. J Hosp Infect 2007; 65(S2): 73–81.
8. Durmaz B. Klinik mikrobiyoloji laboratuarı antimikrobik reçetelerin geliştirilmesine nasıl yardımcı olabilir? ANKEM Derg 2006;20(Ek 2):191-194.
9. Kılınç O, Ece T, Arman D, Bacakoğlu F, Çakar N, Çakır N, ark. Türk Toraks Derneği Erişkinlerde hastanede gelişen pnömoni tanı ve tedavi uzlaşı raporu. Türk Toraks Dergisi 2009; Cilt 10, Sayı 2.
10. Schurink CAM, Hoitsma M, Rozenberg-Arska M, Joore JCA, Hoepelman IM, Bonten MJM. Do cultures contribute to optimisation of antibiotic therapy in the intensive care unit? International Journal of Antimicrobial Agents 2004; 23 :325–331
11. Sipahi OR, Tasbakan M, Pullukcu H, Arda B, Yamazhan T, Mizrakci S, et al. Accuracy of consultations performed by infectious diseases trainees and factors associated with adherence to them. International Journal of Infectious Diseases (2007) 11, 518—523
12. Borer A, Gilad J, Meydan N. Impact of regular attendance by infectious disease specialists on the management of hospitalised adults with community-acquired febrile syndromes. Clin Microbiol Infect 2004;10:911–6.
13. Byl B, Clevenbergh P, Jacobs F, et al. Impact of infectious diseases specialists and microbiological data on the appropriateness of antimicrobial therapy for bacteremia. Clin Infect Dis 1999;29:60–6.
14. Uçkay İ, Vernaz-Hegi N, Harbarth S, Stern R, Legout L, Vauthey L, et al. Activity and impact on antibiotic use and costs of a dedicated infectious diseases consultant on a septic orthopaedic unit. Journal of Infection 2009; 58: 205-212
15. Rattanaumpawan P, Sutha P, Thamlikitkul V. Effectiveness of drug use evaluation and antibiotic authorization on patients' clinical outcomes, antibiotic consumption, and antibiotic expenditures. Am J Infect Control 2010;38:38-43.
16. Arda B, Sipahi OR,Yamazhan T et al: Short-term effect of antibiotic control policy on the usage patterns and cost of antimicrobials, mortality,nosocomial infection rates and antibacterial resistance, J Infect 2007;55(1):41-8.
17. Azap A, Topçuoğlu A, Yeşilkaya A et al: The effect of a nationwide antibiotic restriction policy on antibiotic usage in a stem cell transplantation unit, Turk J Haematol 2005;22(2): 87-90.
18. Hoşoğlu S, Esen S, Öztürk R et al: The effect of a restriction policy on the antimicrobial consumption in Turkey: a country-wide study, Eur J Clin Pharmacol 2005;61(10):727-31.
19. Özkurt Z, Erol S, Kadanalı A, Ertek M, Özden K, Taşyaran MA: Changes in antibiotic use, cost and consumption after an antibiotic restriction policy applied by infectious diseases specialists, Jpn J Infect Dis 2005;58(6):338-43
20. Erbay A, Çolpan A, Bodur H, Çevik MA, Samore MH, Ergönül Ö. Evaluation of antibiotic use in a hospital with an antibiotic restriction policy. International Journal of Antimicrobial Agents 21 (2003) 308-312
21. Erbay A, Bodur H, Akıncı E, Çolpan A. Evaluation of antibiotic use in intensive care units of a tertiary care hospital in Turkey. Journal of Hospital Infection 2005; 59: 53–61.

ANTİMİKROBİYAL YÖNETİMİ: KLİNİSYEN NE YAPMALI? LABORATUVAR NE YAPMALI? MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARININ YAKLAŞIMI

Cüneyt ÖZAKIN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Bursa

Antimikrobiyal yönetim kavramının temelini, mikroorganizmaların kazandıkları ve giderek artan sayıdaki antibiyotiğe karşı direnç ve bunun yansıması olarak tedavi seçeneklerindeki zorluklar oluşturmaktadır. Sorunun ana unsuru antibiyotiklere karşı dirençli mikroorganizmalardır. Bu ana unsur ve özelliklerinin saptanmasında klinik mikrobiyoloji laboratuarının önemli görevi bulunmaktadır.
Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının temel görevlerine kısaca bakacak olursak;

1. Enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmanın tanımlanması,
2. Etken olarak yorumlanan mikroorganizmanın antibiyotiklere olan duyarlılığının tespiti,
3. Sonuçların uygun ve zamanında raporlanması,
4. Verilerin ve gerekli izolatların saklanması,
5. Verilerin dönemsel ve bölgesel analizinin yapılması,
6. Eğitim

gibi işlevlerin öncelikle karşımıza çıktığını görmekteyiz.
Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının başarısını etkileyen en önemli basamaklardan birisi preanalitik dönem olup, tanı amacıyla gönderilen örneklerin kalitesi bu basamak için başarının belirleyici faktörünü oluşturmaktadır. Bu basamak laboratuvarın tüm işlevlerinin doğru sonuçlanabilmesi açısından oldukça önemlidir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının klinisyen ile iletişiminde ele alınması gereken ilk basamakta bu olmaktadır. Klinik mikrobiyolog hastadan alınacak örneğin seçilmesi, uygun yer, zaman ve koşullarda, etkene ulaşabilmeyi sağlayacak miktarda alınması, laboratuvara iletilmesinde veya saklanmasında uyulacak koşullar konusunda klinisyeni bilgilendirmelidir. Klinik mikrobiyoloji laboaratuvarları bu bilgileri içeren ve klinisyenlerin ihtiyaç duyduğunda kolayca ulaşabilecekleri bilgilendirme kılavuz hazırlamalıdır. Bu kılavuzlarda başarısını olumsuz yönde etkileyecek örnekleri açıklamalı ve bu doğrultuda uygun olmayan örnekleri ret etmelidir.
Klinisyen ile klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en basit ve temel iletişimi test istem formu ile olmaktadır. Bu formda hasta hakkında ve örnek için yeterli açıklayıcı bilgiler yanı sıra örneğe laboratuvarın yapacağı işlemi belirlemesine olanak sağlaması açısından tetkik isteminin gerekçesinin, isteyen hekim ve klinik hakkında yeterli bilgiler yer almalıdır.
Laboratuvarda yapılan işlemlerin gerçekleştiği analitik dönem açısından bakıldığında, etkenlerin doğru tanımlanmasına yönelik çalışma sisteminin laboratuvara adapte edilmiş olması ön koşul olarak gereklidir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında analitik dönem örneğe göre ekimin yapılacağı besi yerinin seçimi, inkübasyon koşullarından, laboratuvarda kullanılan besi yeri, antibiyotik diskleri vb. sarflar ile cihaz ve aletlerin kalite kontrolünün sağlanması ve takibini de içeren kritik bir dönemdir. Bu basamağın uygun gerçekleşmesinde de klinik mikrobiyolog ile klinisyen arasındaki iletişim önemlidir. Sağlıklı iletişim örnekten beklenen etken olabileceği düşünülen mikroorganizmanın izole edilme şansını da artıracaktır.
İzole edilen mikroorganizmanın tanımlanmasını takiben örneğin alındığı hastanın klinik durumunun da değerlendirilmesi ile etken olup olmadığına karar vermek analitik dönemin en kritik basamağını oluşturmaktadır. Bu aşamada hastanın hekiminin hasta ve örnek hakkında laboratuvara ilettiği bilgilerin yeterliliği değerlendirmenin sağlıklı olmasında önemlidir.
İdantifikasyonda kullanılan ayıraç ve sistemlerinde kalite kontrollerinin yapılması ve dokümante edilmesi sunulan hizmetin güvenirliliği açısından önemlidir.
İzole edilen mikroorganizma etken olarak tanımlanır ise tedavi seçenekleri konusunda klinisyene bilgi vermek üzere duyarlılık testleri çalışılmalıdır. Bu çalışma laboratuvarın kabul ettiği bir standart (CLSI, EUCAST vb) çerçevesince yapılmalıdır. Etkene göre etkinliği test edilecek antibiyotikler ve duyarlılık sınırları laboratuvarın kabul ettiği standart doğrultusunda belirlenir.
Sonuçların raporlanmasında duyarlılığı çalışılan antibiyotiklerin bildirim kriterleri kabul edilen standart/lar ve hastane enfeksiyon kontrol komitesi veya antibiyotik kullanımı kontrol komitesi (ki klinik mikrobiyolog bu komitelerin doğal üyesidir) ile yapılan görüşmeler doğrultusunda belirlenmelidir.
Bu aşama antimikrobiyal yönetiminde klinik mikrobiyoloji laboratuvarının etkinliğinin en önemli aşamasıdır.
Klinik mikrobiyoloji laboartuvarında etken mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanması bile mikroorganizmaya temel olarak değişik antibiyotiklerin etkinliği konusunda fikir verebilecektir.
Kabul edilen standartlara göre duyarlılığı çalışılan antibiyotiklerin sonuçlarının bildiriminde klinisyeni en faydalı ve en ucuz olanını seçmesini sağlayacak, hastanede gereksiz antibiyotik kullanımı ve direnç gelişiminin artmasının önüne geçecek bir uygulama antimikrobiyal tedavinin yönetiminde laboratuvarın ana katkı noktasını oluşturacaktır (Tablo1-4).
Ülkemizde birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarının kabul ettiği CLSI standartları da etkene yönelik antibiyotik seçimimiz yanı sıra duyarlılık testlerinin uygulanmasına yönelik kurallar sunarak karşılaştırılabilir kaliteli bir test uygulamasını sağlamaktadır. Ayrıca kalite kontrolünün de yapılmasına yönelik sunduğu bilgiler ile elde edilen sonuçların doğruluğu ve güvenirliliğini de değerlendirme olanağı sunmaktadır. Yine antibiyotiklerin kısıtlı

bildirimine yönelik standardize edilmiş parametrelerin uygulana bilirliliğini sağlayarak hem klinisyenin antibiyotik seçimini laboratuvarın yönlendirmesine hem de direnç gelişiminin azaltılmasına katkı sağlamaktadır.

Tablo1. A grubu antibiyotikler, ilgili etkenle oluşabilecek enfeksiyonu tedavi edebilecek temel antibiyotik grupları

	Enterobacteriaceae	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus* spp.	*Enterococcus* spp.
GRUP A BİRİNCİL TEST VE BİLDİRİM	**Ampisilin**	**Seftazidim**	**Oksasilin**	**Penisilin veya ampisilin**
	Sefazolin Sefalotin	**Gentamisin**	**Penisilin**	
	Gentamisin	**Mezlosilin veya tikarsilin Piperasilin**		

Tablo2. B grubu antibiyotikler, primer olarak test edilen ve selektif olarak rapor edilecekler

	Enterobacteriaceae	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus* spp.	*Enterococcus* spp.
GRUP B BİRİNCİL TEST KISITLI BİLDİRİM	**Amikasin**	**Amikasin**	**Azitromisin veya klaritromisin veya eritromisin**	**Daptomisin**
	Amoksisilin/klav.asit veya ampisilin/sulbaktam Piperasilin/tazobaktam Tikarsilin/klav. asit	**Aztreonam Sefoperazon**		**Linezolid**
			Klindamisin	**Kinupristin/ dalfopristin**
	Sefamandol veya sefonisid veya sefuroksim		**Daptomisin**	**Vankomisin**
			Linezolid	
			Telitromisin	
	Sefepim	**Sefepim**	**Trimetoprim-sülfametoksazol**	
	Sefmetazol Sefoperazon Sefotetan Sefoksitin	**Siprofloksasin Levofloksasin**	**Vankomisin**	
	Sefotaksim veya seftizoksim veya seftriakson	**İmipenem Meropenem**		
	Siprofloksasin veya levofloksasin	**Tobramisin**		
	Ertapenem, İmipenem veya meropenem			
	Mezlosilin veya piperasilin Tikarsilin			
	Trimetoprim/ sülfametoksazol			

Tablo3. C grubu antibiyotikler, ek olarak test edilecek ve selektif raporlanacaklar

	Enterobacteriaceae	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus* spp.	*Enterococcus* spp.
GRUP C EK KISITLI BİLDİRİM	Aztreonam Seftazidim (Her ikisi de genişletilmiş spektrumlu β-laktamazlar için indikatördür.)	Netilmisin	Kloramfenikol	Gentamisin (yalnız yüksek direnç taraması için)
	Kloramfenikol		Siprofloksasin veya Levofloksasin veya Ofloksasin Gatifloksasin veya moksifloksasin	Streptomisin (yalnız yüksek direnç taraması için)
	Kanamisin		Kinupristin/dalfopristin	
	Netilmisin		Gentamisin	Kloramfenikol Eritromisin Tetrasiklin Rifampin (bu ilaçlar VRE için denebilir)
	Tetrasiklin		Rifampin	
	Tobramisin		Tetrasiklin	

Tablo4. C grubu antibiyotikler, sadece idrar örnekleri için ek olarak test edilecek ve raporlanacaklar

	Enterobacteriaceae	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus* spp.	*Enterococcus* spp.
GRUP U EK SADECE İDRAR İÇİN	Karbenisilin	Karbenisilin	Lomefloksasin veya Norfloksasin	Siprofloksasin veya Levofloksasin veya Norfloksasin
	Sinoksasin Lomefloksasin veya Norfloksasin veya ofloksasin	Lomefloksasin veya Norfloksasin veya ofloksasin	Nitrofurantoin	Nitrofurantoin
	Gatifloksasin			
	Lorakarbef			
	Nitrofurantoin		Sülfizoksazol	Tetrasiklin
	Sülfizoksazol		Trimetoprim	
	Trimetoprim			

Hastalara veya etken mikroorganizmalara özgü durumlar yine klinik mikrobiyolog ile klinisyen arasındaki iletişim ile şekillendirilerek standardın öngörüleri dışında değerlendirilebilir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuarının etkene yönelik tedavinin şekillenmesindeki rolü yanı sıra klinisyenin laboratuvardan çıkacak sonuçtan önce başlamak durumunda kaldığı ampirik antibiyotik tedavinin de belirlenmesinde önemli katkısı olmalıdır. Bu amaçla laboratuardan raporlanan tüm veriler analiz yapılmak üzere saklanmalıdır. Bu verilerin toplanması sırasında bile klinik mikrobiyolog bazı etken veya direnç profillerinin seyrini gözlemleyebilir. Toplanan veriler mutlaka etken dağılımı, direnç profilleri açısından dönemsel olarak analiz edilmeli ve bu analizler mutlaka klinisyenler ile hatta bölge içindeki karşılıklı hasta sevkinin sık olduğu sağlık birimleri ile paylaşılmalıdır. Analiz sonuçları, antibiyotik alımları başta olmak üzere, ampirik tedavi seçeneklerinin belirlenmesi, cerrahi profilaksinin şekillendirilmesinde kullanılmalıdır.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının antimikrobiyal yönetime katkısının optimal olabilmesi için iyi eğitilmiş klinik mikrobiyolog, laboratuvar - klinik arası karşılıklı iyi bir iletişim, süreklilik gösteren kalite kontrol, verilerin etkin analizi ve paylaşımının yapılması gerektiği aşikardır.

Laboratuvar hizmetlerinin maliyet etkinlik açısından merkezileştirilme çabaları, hizmet alımı şeklinde laboratuvar hizmetlerinin hastane dışında örnek nakli ile gördürülmek isteğinin günümüzde konuşulmaya ve kısmen uygulamaya alınmış olduğu dikkate alındığında, özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların yönetiminde, sürveyansta iyi donatılmış/donanmış klinik mikrobiyoloji laboratuarlarının hastane içinde olması gerekmektedir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına, kolay ulaşılabilir olması, örnek nakilinde yaşanacak sıkıntıların bertaraf edilmesi, klinik-laboratuvar arası bilgi paylaşımı ve eğitimin devamlılığının sağlanması, sürveyansın daha etkin yapılabilmesini sağlayarak antimikrobiyal yönetim açısından belirgin avantaj sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Aygün G. Klinik mikrobiyoloji laboratuarında klinik ve laboratuar iletişiminin önemi. Klinik Gelişim Dergisi 2007;20: 48-52.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement, M100-S20, Wayne: CLSI, 2010.
3. Gilchrist MJR. Laboratory support for infectioon control: optimization by policy and procedure. In Isenberg HD (ed.) Clinical Laboratory Procedures Handbook. ASM Press, Washington D.C. 2nd ed, 2004:13.2.
4. Kaygusuz A. Akılcı antibiyotik kullanımında klinik mikrobiyoloji laboratuvarının önemi. Klinik Gelişim Dergisi 2007;20: 53-67.
5. MillerJM, Bell M. Epidemiology and infection control microbiology. In Isenberg HD (ed.) Clinical Laboratory Procedures Handbook. ASM Press, Washington D.C. 2nd ed, 2007: 13.0.1.
6. Peterson LR, Hamilton JD, Baron EJ, et al. Role of clinical microbiology laboratories in the management and control of infectious diseases and the delivery of health care. Clin Infect Dis 2001;32: 605-11.

AĞIZ MİKROBİYOLOJİSİ VE ANAEROPLAR

Güven KÜLEKÇİ
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi , Ağız Mikrobiyolojisi BD, İstanbul

Özet
Ağız mikrobiyolojisi, anaerop bakteriyoloji tekniklerindeki ilerlemeyle hızlanmış olan mikrobiyolojinin genç bir dalıdır. Günümüzde diş hekimliği, ağız mikrobiyolojisi ile ilgili bir disiplin olarak tanımlanmaktadır. Dünyanın en yaygın kronik infeksiyon hastalıkları olan diş çürüğü ve periodontal hastalıklar bir biyofilm tabakası olan mikrop plağının neden olduğu özel tipte infeksiyon /inflamasyon hastalıklarıdır. Moleküler biyolojik yöntemlerle özellikle Human Oral Microbiome projesi çalışmalarıyla ağız mikrobiyolojisi bilgisinde büyük değişiklikler olmaktadır. Diş hekimliği hizmetinin hekimlik yönü ağırlık kazanarak "nedene" yönelik olması ilkesi doğrultusunda, ağız mikrobiyolojisi laboratuvarının ve ağız mikrobiyoloji bilgisinin önemi artmıştır. Günümüzde diş hekiminin günlük pratiğinde hem geleneksel hem moleküler biyolojik testler yer almaktadır.

Ağız mikrobiyolojisi ve tıp mikrobiyolojisi

Ağız mikrobiyolojisi, mikrobiyolojinin diş hekimliği ile ilgili dalıdır. Ağız mikrobiyolojisi 1683'de Leeuwenhoek'un bakterileri şekilleri ve hareketlerini diş plak biyofilminden çizmesiyle mikrobiyolojinin tam başlangıcında yer almasına karşın hala mikrobiyolojinin genç bir bilim dalıdır. Gelişmesi 1960'lı ve 1970'li yıllarda anaerop bakteriyolojik tekniklerin ve diş plak biyofilmlerinin daha iyi anlaşılmasıyla gerçekleşmiş; yakın zamanda moleküler biyolojik tekniklerle ve holistik (bütüncül) yaklaşımla sınırları ağız sağlığını aşmıştır.

1980'li yıllar dünyada ağız mikrobiyolojisi testlerinin diş hekimliği rutinine girdiği diş hekimliği hizmetinin "ustalık" değil "nedene" yönelik "tıbbi" ya da "çağdaş yaklaşım" adlandırmasıyla yapılmaya başlandığı yıllardır. 1980'li yıllara benzetilen 2000'li yıllar ise bu kez moleküler ağız mikrobiyolojisi testlerinin rutine girdiği, diş hekimliği hizmetini yakın gelecekte büyük boyutta etkileyecek ağız ve sistemik sağlık ilişkisi ile ilgili kanıtların test düzeyinde arttığı yıllardır.

Diş hekimliği ağız boşluğunda, normal koşullarda bile mikroorganizmalarla dolu bir ortamda yapılır. Başlıca uğraşı diş çürüğü, periodontal ve endodontal infeksiyonlar diş plak biyofilmlerinin sorumlu olduğu kronik infeksiyon / inflamasyon hastalıklarıdır. Bu nedenle diş hekimliği, ağız mikrobiyolojisi temeline dayalı bir disiplin ve bir anlamda "ağız infeksiyon hastalıkları uzmanlığı" olarak tanımlanabilir.

Ağız boşluğundaki mikroorganizmalar ve vücut arasındaki etkileşimlerin düzenekleri ve sonuçları, vücudun diğer bölgelerindekinden çok farklıdır. Ağız mikrobiyoloji testlerinin ne işe yaradığı, nasıl istenmesi gerektiği ve sonucun nasıl yorumlanacağı ve bu yoruma uygun koruyucu ya da tedavi edici uygulamalar özel bilgi gerektirir.

Türkiye'de diş hekimliği fakültelerinin, mikrobiyoloji / ağız mikrobiyolojisi eğitim ve araştırma gereksinimleri ağız mikrobiyolojisine özel çalışanı olmayan Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji / Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalları tarafından dökme suyla değirmen döndürmeye çalışarak karşılanmaktadır. Oysa tıbbi mikrobiyoloji ya da infeksiyon hastalıkları öğretim üye ve yardımcısı olmak kendiliğinden ağız mikrobiyolojisi bilmeyi ve öğretmeyi mümkün kılmamaktadır. Türkiye'nin çağına uygun ağız mikrobiyolojisi çalışmaları gerekliliği yönünde yeni akademik kararlara gereksinimi vardır.

Ağız mikroflorası / Ağız Mikrobiyomu ?

Ağız boşluğu dişler (supragingival yüzeyler), dişeti olukları ya da periodontal cepler (supragingival bölge), dil, yanaklar, sert ve yumuşak damaklar gibi özel çevrelerden oluştuğundan atmosfer oksijeninin girişine açık bir ortam olmasına karşın ağız mikroflorasında 1 aeroba karşı 10-100 anaerop bakteri bulunur. Ağız boşluğunu eşsiz kılan iki salgı, tükürük ve dişeti oluk sıvısıdır. Tükürük mikroflorası, tüm yüzeyler ve özellikle dildeki mikroorganizmalardan oluşur. Dil, düşük redoks potansiyelli papillarıyla anaerop bakterilerin kaynağıdır. Ağız mikroorganizmaları aile bireyleri ve çiftler arasında tükürük yoluyla edinilebilir.

Önceleri anaeropların ağız boşluğundaki varlığının dişlerin varlığına bağlı olduğu ve dişeti oluğu gibi oksijensiz bir ortam gerekliliği nedeniyle bebeklerin ağzında bulunmayacağı; anaeropların geç kolonize olduğu ve puberteye dek bulunmayacakları düşünülürdü. 1990'lı yıllarda Könönen ve arkadaşlarının çalışmalarıyla anaerop bakterilerin dişsiz bebeklerin ağız boşluğunda da bulunabileceği anlaşılmıştır. İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi'nde periodontal olarak sağlıklı karışık dişlenme dönemindeki ortalama 9 yaşında 41 çocuğun tükürük mikrofloralarında PCR'a dayalı teknikle Prevotella nigrescens (%80), Treponema denticola (%32), Aggregatibacter actinomycetemcomitans (%24) ve Porhyromonas gingivalis (%12) saptanmış; Prevotella intermedia ve Tannerella forsythia saptanmamıştır.

Ağız mikroflorası ile ilgili bilgiler, geçmiş 100 yıl boyunca kültüre dayalı çalışmalardan elde edilmiştir. Ancak kültür çalışmaları ile karmaşık mikrop topluluklarının tüm çeşitliliğini açıklamak mümkün olmamıştır. Ağız boşluğundaki bakterilerin %40-50'si kültür edilebilmiştir.

1998'de Socransky ve arkadaşları subgingival mikrofloranın periodontal sağlık ve hastalıkla ilgili karmaşık bakteri türlerini beş özel ilişkili bakteri tür birlikteliğine indirgemiş ve bunları renk kodları ile adlandırmıştır. Hastalık durumuyla ilgili türler kırmızı (P.gingivalis, T.forsythia, T.denticola) ve turuncu (Fusobacterium türleri, Prevotella türleri, Cmpylobacter rectus) birlikteliklerdir.

Son yıllarda herpes virus (HSV,CMV, EBV) infeksiyonlarının ağız anaerop bakterinin üremesini ve virulansını artarak periodontal ve endodontal infeksiyonlarının gelişmesinde rolü olabileceği üzerine kanıtlar artmıştır.

Kültürden bağımsız moleküler yöntemlerle tüm ağız boşluğunda bulunan yaklaşık 10^{10} bakterinin >700 filotip üyesi olduğu saptanmıştır; bunların 400 kadarı subgingival örneklerden tanımlanmıştır. Geri kalan 300'ü dil, ağız mukoza membranları, çürük lezyonları ve endodontik infeksiyonlar gibi diğer ağız bölgelerinden tanımlanmışlardır. Henüz kültür edilmemiş filotiplerin bazıların 'beklenmedik' organizmalar olarak metanojenik arkaeler (Methanobrevibacter oralis) olduğu saptanmıştır. Herhangi bir kişinin bu 700 türün yaklaşık 100-200'üne sahip olduğu düşünülmektedir.
ABD'de 2008 yılında başlayan beş yılda tamamlanması beklenen insan mikrofloralarının metagenomik yaklaşımla yeniden tanımlanacağı Human Microbiome Project (HMP) / insan mikrobiyom projesi kapsamında The National Institute of Dental and Craniofacial Research (NIDCR) desteğinde Human Oral Microbiome (HOM) projesi de yürümekte ve Human Oral Microbiome Database (HOMD) / insan ağız mikrobiyom veritabanı (www.homd.org) oluşturulmaktadır. Böylece insan ağız mikrobiyolojisi üzerine geliştirilmiş en kapsamlı veritabanı elde edilecektir. Bu proje doğrultusunda **mikroflora** yerine insan ile birlikte vücudu tam anlamıyla paylaşan, bir ortamda birlikte yaşayan tüm mikroorganizmaları ekolojik topluluk olarak belirtmek için **mikrobiyom** terimi kullanılmaya başlanmıştır. Mikrobiyom terimi, sağlık ve hastalığın tam olarak anlaşılabilmesinin bizimle yaşayan mikrorganizmalar ve insan vücudunun bir "süperorganizma" kompleks interaktif sistem olarak ele alınması görüşünden doğmuştur.
HOM projesinde ağız boşluğunda bulunan 619 taksonun filogenetik dağılımında 13 filum (filum 16SrRNA sekans benzerliği %98.5 olanlardan oluşur) alfabetik sırayla Actinobacteria, Bacteroidetes, Chlamydiae, Chloroflexi, Euryarchaeota, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochaetes, SR1, Synergistetes, Tenericutes ve TM7 belirlenmiştir. En çok rastlanan Firmicutes üyeleridir. Bu filum, Gram pozitif bakteri türlerini içeren cinslerden oluşurken (-) işaretlileri de içermesi şaşırtıcıdır: Abiotrophia, Anaerococcus, Anaeroglobus(-), Caryophanon, Catonella, Centipeda(-), Dialister(-), Enterococcus, Eubacterium, Filifactor, Finegoldia, Gemella, Granulicatella, Johnsonella, Lactobacillus, Leuconostoc, Megasphaera(-), Mitsuokella, Mogibacterium, Mycoplasma, Paenibacillus, Parvimonas, Peptococcus, Peptoniphilus, Peptostreptococcus, Pseudoramibacter, Schwartzia, Selenomonas(-), Shuttleworthia, Staphylococcus, Streptococcus, Veillonella(-). Bu durum aynı zamanda ders kitaplarındakinin tersine periodontal bölgelerde Gram negatiflerin değil Gram pozitif türlerin üstünlüğü anlamına gelmektedir. Ancak subgingival plak örneklerinin anaerop kültür incelemelerinde eski kültürlerde Gram pozitif çomakların Gram labil ve hatta Gram negatif boyanması ya da inkübasyon süresi uzadığında Gram pozitiflerin üstünlüğünün bildirilmiş olmasıyla da bağdaşır.
HOM projesinde saptanan yakın ilişkili türlerin ağız ekolojisi ve hastalık durumuyla çok farklı ilişkisi olabilir. Örneğin periodontitisle ilişki kırmızı kompleks bakterilerinden T.forsythia'ın filogenetik olarak en yakını sağlıkla ilişkili kültür edilmemiş Tannerella BU063'dür. Kommensal mikroflora ile konak arasında hastalığa neden olan etkileşimlerin temelinin de moleküler düzeyde açıklanması beklenmektedir. Ancak kültürden bağımsız moleküler analizlerle salt sekans bilgisi elde edilir; virulans incelemesi için kültür gereklidir. Bu nedenle geleneksel yöntemlerle kültür edilemeyen birçok bakteri için yeni kültür yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kültür edilemeyen filotipler dahil biyofilm toplulukları için in vitro ortak kültür çalışmaları yapılmaktadır.
HOM projesiyle birbirleriyle ilişkisi olmayan sağlıklı kişilerin ağızda bölgeden bölgeye farklılık gösterse de bakteri sekanslarının büyük oranda aynı olduğu saptanmıştır; bu "sağlıkta çekirdek bir mikrobiyom" (sağlıklı kişiler tarafından paylaşılan filotip seti) kavramını destekler.
Ağız mikroflorasının normal olarak sürekli bulunan yüksek sayılardaki mikroorganizmalar topluluğu içinde sayıca az 'ek mikroflora' olarak tanımlanan türler de bulunur. Bu türler çevre kendilerine uygun olarak değiştiğinde endojen mikrofloraya dahil olabilirler. Kommensal türler, çevredeki değişiklikler ya da kişinin yetersiz ağız hijyenine bağlı olarak patojen hale gelebilirler. Ağız mikroflorası ile konak arasındaki amfibiyoz ilişki olarak adlandırılan bu ilişki konak için zararlı (hastalıklı) ya da yararlı (sağlıklı) olabilir.
Ağız mikroflorasının topluluk dengesinin bozulması sonucu ekolojik kayma ile birlikte mikrobiyal kayma olur. Ağız diş hastalıklarının büyük çoğunluğu ağız biyofilmlerindeki ekolojik kaymadan kaynaklanır. Mikrofloranın sağlıklı durumdan hastalıklı duruma geçmesine yol açan değişiklikler farklı bakterilerin varlığı ve Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere değişmesi; özel türlerin artması; bakterilerin virulans faktörlerini değiştirmesi; genetik duyarlık nedeniyle konağın immun yanıtındaki değişiklikler; çevresel faktörler ya da yaş olarak sıralanabilir. Bakterilerin biyofilmlere neden girdiği ve çıktığı; kommensal halden patojen hale geçmelerini neyin tetiklediği soruları hala ortadadır.

Ağız ve diş infeksiyonları

Diğer normal vücut mikrofloraları gibi ağız mikroflorası da potansiyel patojen (firsatçı) özellikteki mikroorganizmaları ile endojen infeksiyonların kaynağını oluşturur. Ağız diş infeksiyonları endojen infeksiyonlardır. Diş çürüğü, endodontal ve periodontal infeksiyonların etiyolojisi başlangıçta non-spesifik, spesifik ve en son ekolojik plak hipotezleri ile açıklanmıştır. Bu infeksiyonların etkenleri aeroplara göre dört katı fazla sıklıkta anaerop bakterilerdir. Ağız diş infeksiyonları, klasik infeksiyonlar gibi tek bir patojenden ziyade bir biyofilmdeki mikroorganizmaların işbirliği ile oluşmaktadır; biyofilme dayalı, çok faktörlü, polimikrobiyal / karışık anaereop infeksiyonlardır; mikrobiyal kayma hastalığı olarak da adlandırılırlar. Yararlı olarak birlikte yaşayanların sayısında bir azalma ile ve/veya patojenlerin sayısında bir artış ile neden olunan hastalıklardır. Bu kavram disbiyoz (disbakteriyoz) olarak tanımlanmaktadır.
Ağız ve diş infeksiyonlar tek başına lokal / sistemik antimikrobiyal tedavi ile iyileştirilemez; hastalığa neden olan biyofilmin diş hekimi tarafından mekanik olarak uzaklaştırılması ve öğretilen ağız diş bakımı ile sürdürülmesi

esastır. Tedavi ile bakteri tür oranları bozulsa bile ekosistemin orijinal dengeye geri dönme eğilimi vardır. Patojenlerin kontrolü, kalan ekosistemde zararlı değişikliklere yol açmamalıdır.
Son yıllarda ağız diş infeksiyonları kronik inflamatuvar hastalıklar olarak tanımlanmaktadır ve salt ağız sağlığı değil genel sağlığa etkileri konusunda da kanıtlar artmaktadır.

Ağız mikrobiyoloji laboratuvarı rutininde anaerop bakteriyoloji

ABD, Avrupa, Avustralya ve hatta Johannesburg'daki bazı diş hekimliği fakültelerinin Ağız Mikrobiyolojisi Tanı Laboratuarları gibi İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi'nde de Ağız Mikrobiyolojisi Laboratuvar hizmeti hem kendi fakültesi hem diğer diş hekimliği fakülteleri, serbest diş hekimleri ve diş klinikleri için de kurye ve kargo aracılığıyla verilmektedir. Her testin özel istek formları, klinik örnek alınması, laboratuvara gönderilmesi, rapor ve sonucun değerlendirilmesi gibi her basamağı tanımlıdır. Ayrıca testlerin ne işe yaradığı, nasıl istenmesi gerektiği, raporun nasıl yorumlanacağı ve bu yoruma göre yapılması uygun koruyucu ya da tedavi edici uygulamalar için yol gösterici olunmaktadır. Bu hizmetlerin anaerop bakteriyoloji ile ilgili olanları subgingival plak biyofilm kültürü, kök kanalı kültürü, subgingival plak biyofilm mikroskop incelemesi, periodontal patojenlerin PCR ile tanısı, kök kanalı patojenlerinin PCR ile tanısı, ParoCheck® mikroarray testi, dentoalveolar abse cerahatinden kültür ve antibiyogram testleridir.

Subgingival plak biyofilm kültürü (antibiyogramsız):

Periodontal hastalıklardan sorumlu olan subgingival plak biyofilm örneklerinin anaerop kültür yöntemiyle değerlendirilmesidir. Subgingival plak biyofilm örnekleri tek tek hasta dişlerden ya da implantlardan bölgesel değerlendirme ya da hasta dişlerden ya da implantlardan toplama şeklinde genel değerlendirme amacıyla alınabilir. Zaman alıcı , zor ve masraflı bir test olduğu göz önüne alınarak antibiyotik seçimi, rekürrens ve prognoz bilgisi ve periodontal hastalık risk belirlenmesinde kullanılır. Bölgesel ya da genel değerlendirme için gönderilen örnek total bakteri sayısı, fakültatif ve anaerop bakteri sayısı, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia / nigrescens / pallens, Fusobacterium türleri, Tannerella forsythia, Capnocytophaga türleri, Eikenella corrodens, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Candida albicans, enterik çomaklar yönünden incelenir.

Periodontal patojenlerin PCR ile tanısı :

Subgingival plak biyofilm / tükürük / ağız içi doku örneklerinden istek üzerine her patojen için ayrı ayrı olmak üzere Porphyromonas gingivalis,Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens, Prevotella pallens,Tannerella forsythia,Treponema denticola, Dialister pneumosintes, Campylobacter rectus, Fusobacterium nucleatum, Filifactor alocis, Parvimonas micra, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Candida albicans türe özel 16SrRNA primerleriyle PCR yöntemiyle hızla tanımlanır.

Subgingival plak biyofilm mikroskop incelemesi:

Subgingival plak biyofilminde spiroket varlığı hastalık lehine bir bulgu olduğundan periodontal hastalık değerlendirilmesi ve tedavinin başarısını izlemek; ayrıca diş bakımını öğretmek için kullanılır.

Kök kanalı kültürü :

Zaman alıcı, zor ve masraflı bir test olduğu göz önüne alınarak kök kanalı tedavisine yanıt vermeyen inatçı olgularda, immun ve medikal yetmezlikli hastalarda, rekürrens ve prognoz bilgisi, antibiyotik seçimi için kullanılır. Örnek total bakteri sayısı, fakültatif ve anaerop bakteri sayısı, anaerop siyah pigmentli bakteri sayısı, Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis,Prevotella intermedia / nigrescens / pallens, Fusobacterium türleri, Enterococcus faecalis, Capnocytophaga türleri, Eikenella corrodens, Candida albicans, enterik çomaklar yönünden incelenir.

Kök kanalı patojenlerinin PCR ile tanısı :

Kök kanalı tedavisine yanıt vermeyen inatçı olgularda, immun ve medikal yetmezlikli hastalarda, rekürrens ve prognoz bilgisi, antibiyotik seçimi için hastanın klinik durumuna göre varlığının önemli olduğu düşünülen patojenlerin hızlı saptanması için kullanılır. Kök kanalı / Periapikal doku örneklerinde istek üzerine her patojen için ayrı ayrı olmak üzere Enterococcus faecalis , Fusobacterium nucleatum, Filifactor alocis, Campylobacter rectus, Parvimonas micra, Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens, Tannerella forsythia, Treponema denticola, Dialister pneumosintes, Aggregatibacter actinomycetemcomitans türe özel 16SrRNA primerleriyle PCR yöntemiyle hızlı tanımlanır.

Parocheck® mikroarray testi:

1. Antibiyotik seçimi için -Erken, agressif, inatçı ve atipik periodontitis olgularında; -Periodontal başlangıç tedavisi sonrası >5 mm derinlikli ya da cerahatli cepler sürüyorsa; -İmmun yetmezlikli hastalarda; -Medikal yetmezlikli hastalarda; - Peri-implantitiste;
2. Rekürrens ve prognoz bilgisi için -Tedavinin başarı kontrolünde; -Randevu zamanını belirlemede;
3. Risk belirlemek için -Yeni ve eski periodontitis hastalarında; -İmplant, protez ya da ortodontik tedavi öncesinde;
4. Kök kanalı tedavisine yanıt vermeyen inatçı olgularda kullanılır.

Tükürük/subgingival plak biyofilmi/ kök kanalı /doku örneklerinde 10 ya da 20 periodontal patojen semikantitatif olarak bir günde saptanır. **10 Patojen:** Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola, Campylobacter rectus/showea, Fusobacterium nucleatum, Parvimonas micra, Prevotella intermedia, Aggregatibacter actinomycetemcomitans a,b,c serotipleri, Eikenella corrodens, Actinomyces viscosus. **20 Patojen:** 10 patojendekine ek olarak Campylobacter gracilis, Eubacterium nodadum, Prevotella nigrescens, Streptococcus constellatus, Sreptococcus gordonii, Streptococcus mitis, Campylobacter concisus, Capnocytophaga türleri, Actinomyces odontolyticus, Veillonella parvula'dır.

Laboratuvarda örnekten DNA ekstraksiyonu, PCR, fluoresanla işaretlenmiş probların eldesinden sonra çip üzerine sabitlenmiş türe özel tamamlayıcı sekanslara hibridizasyon işlemi yapılır ve özel bir mikroarray skeynırda incelenir. Değerlendirme ParoCheck® analiz yazılımı ile yapılır. Rapora tedavi önerileri de eklenerek e-posta ile dişhekimine gönderilir.

Dentoalveolar abse cerahatinden kültür ve antibiyogram:

Diş ve çene kaynaklı abse tedavisinde akılcı antibiyotik kullanımı için etken mikroorganizma ve antibiyotik duyarlılığının saptanması için yapılır. Aktinomikoz kuşkusunda hızlı mikroskop incelemesi yapılır. Ağız dışından ya da ağız içinden aspirasyonla alınan en az 1 ml cerahat örneğinde total bakteri, fakültatif ve anaerop bakteri sayımları, tür tanısı ve antibiyogram yapılır.

Mikrobiyolojik tanının anlamlı olması için hastalığın tanısını ya da tedavi planını ya da her ikisini etkilemeli; tedavi sonuçlarını olumlu etkilemeli ya da hastaya ekonomik kazanç getirmelidir. Ağız mikrobiyolojisinde mikrobiyal testlerin yararını destekleyen kuvvetli bir kanıt olmadığı; bunun kısmen tanı laboratuvarları arasında standardizasyon olmamasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Bir çalışmada aynı bölgeden aynı anda alınan diş plak biyofilm örneklerinin aynı laboratuvarda aynı yöntemle yapılan kültür ve antibiyotik duyarlık inceleme sonuçlarının birbirinden farklı olduğu saptanmıştır. Aslında mikrobiyolojik inceleme üzerine etkili önemli bir nokta mikroorganizmalar arasında geniş çaplı genetik ve klonal çeşitlilik olmasıdır. Moleküler tekniklerle bu sınırlamanın üstesinden gelinebilmektedir.

Mikrobiyolojik testler doğru yer ve zamanda hekimlerin kanıta dayalı yaklaşımla hastalık riskine dayanan koruyucu ve tedavi edici önerilerine destek olur. Ancak bu yaklaşım bir sağlık stratejisi ve eğitim stratejisi gerektirir. Son yıllarda periodontal hastalıklar ve ilgili ağız patojenlerinin kardiyovasküler hastalık, inme, prematüre ya da düşük kilo ağırlıklı bebekler, pulmoner infeksiyonlar, diyabet, osteoporoz, şişmanlık, romatoid artrit, renal hastalıklar ve hatta Alzheimer hastalığı gibi sistemik durumlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde bu bilgi ile endişeli hasta sayısı artmıştır. Mikrobiyolojik testler aynı zamanda "kişiye özel yaklaşım" sağlamaktadır**.** Görmek daha inandırıcı olduğundan hastalar test yapılmasından çok memnun kalmakta ve diş hekiminin evde bakım ile ilgili önerilerini ya da kontrol randevularını aksatmamaktadırlar.

Kaynaklar

1. Conrads G. Testing for marker bacteria in progressive periodontitis : the Europian experience. Infect Dis Clin Prac 2001; 10:481-7.
2. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. Periodontol 2000 2011;55:36-47.
3. Darveau RP. Periodontitis : a polimicrobial distruption of host homeostatis. Nat Rev Microbiol 2010; 8:481-90.
4. Dewhirst, F.E., J. Izard, B.J. Paster, A.C. Tanner, W.G. Wade, W-H. Yu, and T. Chen. The Human Oral Microbiome Database. http://www.HOMD.org. (2008).
5. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Taner ACR, Yu W-H, Lakshmanan A,Wade WG. The Human Oral Microbiome. J Bacteriol 2010; 192(19): 5002-17.
6. Fernandez y Mostajo M, Zaura E, Crielaard W, Beertsen W. Does routine analysis of subgingival microbiota in periodontitis contribute to patient benefit? Eur J Oral Sci 2011; 119: 259–64.
7. http://www.istanbul.edu.tr/dishekimligi/akademikbirimler/temel/mikrobiyoloji/mikhiz.pdf
8. Jenkinson HF, Lamont R J. Oral microbial communities in sickness and in health. Trends Microbiol 2005; 13:589–95.
9. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold SM. Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manuel 6th ed. Star Publishing Co. Korea, 2002.
10. Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W: Pyrosequencing analysis of the oral microflora of health adults. J Dent Res 2008; 87: 1016-20.
11. Könönen E, Askainen S, Jousimies-Somer H: The early colonization of gram-negative anaerobic bacteria in edentulous infants, Oral Microbiol Immunol, 1992; 7: 28-31.
12. Külekçi G: Baş Boyun Bölgesi İnfeksiyonları. "Ulusoy S ve Leblebicioğlu H (eds): Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları" kitabında s:35-55, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
13. Külekçi G, Leblebicioğlu B, Keskin F, Çiftçi S, Badur S. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. Anaerobe, 2008;14:49-54.
14. Külekçi G. Periodontal mikrobiyoloji. "Çağlayan G (ed). Periodontoloji" kitabında s.40-82, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara (2010).
15. Külekçi G, Gökbuget A. Ağız mikroflorasının genel sağlığa etkisi. ANKEM Derg 2009;23(3):137-45.
16. Lederberg J, Mccray AT. 'Ome sweet 'omics—a genealogical treasury of words. Scientist 2001;15:8–10.
17. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res 1994; 8:263-71.
18. Paster B J, Boches S K, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 2001; 183:3770–83.
19. Rubby J, Golldner M: Nature of symbiosis in oral disease, J Dent Res 2007; 86:8-11.
20. Sathorn C, Parashos P, Messer HH. How useful is root canal culturing in predicting treatment outcome? J Endod 2007;33: 220–5.

21. Vartoukian S R, Palmer RM, Wade WG. Cultivation of a Synergistetes strain representing a previously uncultivated lineage. Environ Microbiol 2010; 12, 916–28.
22. Wade WG. Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis of periodontal disease? J Clin Periodontol 2011; 38 (Suppl. 11): 7–16.
23. Zaura E,Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. BMC Microbiol 2009;9:259.

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM VE BATIN İÇİ ENFEKSİYONLAR VE ANAEROPLAR

Ferda TUNÇKANAT
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM FLORASI

İnsan vücut florasında yüzlerce tür anaerop bakteri yer almaktadır. Anaerop bakterilerin en yoğun olarak bulunduğu bölgelerden birisi, gastrointestinal sistemdir. Bu nedenle buradan köken alan enfeksiyonlarda anaeroplar önemli bir yer tutar. Gastrointestinal sistemin üst bölgelerinde, mide ve ince bağırsak proksimalinde gastrik asidite, aktif peristaltizm ve nispeten yüksek oksido-redüksiyon potansiyali nedeniyle az sayıda bakteri bulunur. Distale doğru bu sayı giderek artar; terminal ileum florası kolon florasına benzer ancak burada kolona göre daha az sayıda bakteri yer alır (1). Gastrointestinal sisitemdeki bakteri sayısı kolonda en yüksektir. Kolon içeriğinin gramında 10^{12} bakteri bulunur. Bu sayının çok büyük bir bölümünü anaerop bakteriler oluştururlar. Kolonda aneropların aeroplara oranı 1000/1 dir. Burada bulunan anaeropların önemli bir kısmı kommensal olup "kolonizasyon direncinden" sorumludur. Bununla birlikte bazı cins ve türler çok iyi bilinen fırsatçı patojenlerdir. Kolon florasından köken alan enfeksiyonların önemli bir kısmından izole edilirler. Bacteroides fragilis bunların başında gelir. Bu bakteri kolon florasının yalnızca % 0.5'ini oluşturmakla birlikte batın içinde gelişen enfeksiyonların önemli bir kısmında etken olarak bulunur (2). Bacteroides thetaiotamicron, Parabacteroides distasonis (Bacteroides distasonis), Bacteroides vulgatus, Bacteroides ovatus ve Bacteroides uniformis kolon florasından köken alan enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen diğer Bacteroides türleridir . Bacteroides cinsinin yanı sıra Clostridium türleri, anaerop gram pozitif koklar ve Fusobacterium türleri ile diğer bazı anaerop gram negatif basiller gastrointestinal sistem florasında ağırlıklı olarak bulunan anaerop bakterilerdir (3).

BATIN İÇİ ENFEKSİYONLAR

Batın içi enfeksiyonlar apendisit, divertükilit, kolesistit gibi spesifik ve komplike olmayan enfeksiyonlardan, peritonit ve batın içi apseler gibi komplike ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlara kadar geniş bir spektrum içerisinde görülmektedir (4). Batın içi enfeksiyonların önemli bir kısmı gastrointestinal sistem florasından, özellikle de kolon florasından köken aldığı için fakültatif ve anaeropların birlikte rol oynadıkları polimikrobiyal enfeksiyonlar şeklinde görülür. Anatomik bütünlüğün bozulmasına neden olan perforasyon, cerrahi, travma ya da bağırsak duvarının zayıflamasına yol açan iskemi, inflamasyona ve tümör varlığı gibi durumlarda flora üyelerinin periton boşluğuna geçmesi sonucunda, önce vücut savunmaları harekete geçer. Periton boşluğuna geçen bu bakterilerin lenfatik klerens, fagositoz, fibrin sekestrasyonu ve enfeksiyonun lokalize edilmesi gibi savunma mekanizmalarından kurtularak özellikle apse oluşumu ile karakterize enfeksiyonlara yol açmalarında, anaerop ve fakültatif bakterilerin bir arada iken gösterdikleri "sinerjistik etki" büyük önem taşır. Anaeroplar sahip oldukları virülans faktörleri ile fakültatif bakterileri fagositoz ve diğer vücut savunmalarından korurken, fakültatif bakteriler de ortamdaki oksijeni kullanarak ortamın oksido-redüksiyon potansiyalini düşürmek suretiyle anaeropların üremelerini kolaylaştırırlar (4, 5).

Florada pek çok sayıda bakteri yer almasına rağmen bu şekilde gelişen enfeksiyonlardan fakültatif bakteriler de dahil olmak üzere ortalama 4-6 farklı tür bakteri izole edilmektedir. Bunun nedeni kuşkusuz etken bakterilerin sahip oldukları virülans faktörleridir. Goldstein ve arkadaşları (6) 427 klinik örnek ile yapmış oldukları bir çalışmada tek örnekten ortalama 3 (0-9) aerop, 2.3 (0-13) anaerop bakteri izole edildiğini göstermişlerdir. Anaerop izolat sayısı gangrenöz apendisit ve perfore apendisit olguları ile yapılan çalışmalarda daha yüksek bulunmaktadır. Bennion ve arkadaşları (7) 12 gangrenöz ve 18 perfore apendisit ile yaptıkları bir çalışmada tek örnekten ortalama 2.7 aerop bakteriye karşılık 7.4 anaerop bakteri izole etmişlerdir. Bunlardan en sık izole edilen bakteri Escherichia coli olmuştur. Bunu B.fragilis izlemektedir. Brook (8) çocuklarda yapmış olduğu çalışmasında benzer sonuçlar bildirmiştir. Gangrenöz ve perfore apendisit olguları ile yapılan bu ve benzeri çalışmaların anaerop bakteriyoloji açısından bir diğer önemi de Bilophila wadsworthia'nın ilk kez bu çalışmalarda tanımlanmış olmasıdır (7,9,10). Bugün B.wadsworthia'nın erişkinler ve çocuklarda batın içi enfeksiyonlarda sıklıkla etken olduğu gayet iyi bilinmektedir (11, 12).

Batın içi enfeksiyonlar periton boşluğunda ya da retroperitoneal bölgede görülebilir. Periton boşluğu oldukça geniş olup kompartmanlara ayrılmıştır. Pankreas, duodenum, çıkan ve inen kolonlar anterior retroperitoneal bölgede; böbrekler, üreterler ve adrenal bezler posterior retroperitoneal bölgede yer alırlar. Diğer organlar da bilindiği üzere intraperitoneal bölgede bulunmaktadırlar. Peritoneal enfeksiyonlar diffüz ya da lokalize olabilirler. Diffüz enfeksiyonlar peritonit şeklinde, lokalize enfeksiyonlar ise apse oluşumu şeklinde ortaya çıkmaktadır. Genel olarak apse oluşumu peritonite sekonder olarak gelişir.

Peritonit

Peritonit hayatı tehdit eden ciddi bir enfeksiyondur. Periton inflamasyonu kimyasal madde iritasyonu gibi enfeksiyon dışı nedenlerle de gelişebilir. Enfeksiyöz peritonit olguları primer ve sekonder peritonit şeklinde görülmektedir. Bu iki enfeksiyonda etken mikroorganizmalar ve klinik bulgular çok farklıdır. Primer ve sekonder peritonite ek olarak üçüncü bir grup peritonit ayaktan sürekli periton diyalizi yapılan hastalarda gelişen peritonittir.

Primer peritonit:

Primer peritonitte peritonite neden olan başka bir enfeksiyon odağı yoktur. Primer peritonite spontan bakteriyel peritonit (SBP) ismi de verilmektedir. SBP daha çok asit sıvısı birikmiş sirotik hastalarda ortaya çıkmaktadır (5).

Bunun dışında asit sıvısı birikmesine neden olan diğer hastalıklarda da görülebilir. Çocukluk yaş grubunda ise daha çok postnekrotik siroz ve nefrotik sendromlu hastalarda gelişir (13). Olguların büyük çoğunluğu asit sıvısı varlığı ile ilişkilidir. Asit sıvısı birçok mikroorganizmanın üremesi için çok uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra özellikle karaciğer hastalığı ile ilişkili durumlarda, peritoneal sıvıda düşük kompleman düzeyi, nötrofillerin opsonik ve fagositik aktivitelerinin azalması gibi nedenlerle buradaki savunmalar zayıflamıştır (5). SBP olgularında en sık görülen etkenler E. coli ve Klebsiella pneumoniae başta olmak üzere gram negatif enterik basiller, Streptococcus pneumoniae ve diğer strepokok türleri, enterokoklar ve daha az sıklıkta Staphylococcus aureus'tur. Primer peritonit nadiren anaerop bakterilere bağlı polimikrobiyal enfeksiyonlar şeklinde gelişir. Asit sıvısında Bacteroides türlerine etkili intrensek bakteriostatik aktivitenin varlığı, ortamdaki parsiyel oksijen basıncının nispeten yüksek oluşu gibi nedenler, anaeropların üremelerini zorlaştırmaktadır. Subakut ya da kronik olgularda Mycobacterium tuberculosis ve diğer bazı etkenleri de düşünmek gerekir (5,13).

Sekonder peritonit:

Genellikle gastrointestinal floranın periton boşluğuna geçmesine neden olan durumlara sekonder olarak gelişir. Bu nedenle bu enfeksiyonların önemli bir kısmı endojen kaynaklı, polimikrobiyal enfeksiyonlardır. Etken mikroorganizmalar peritonite neden olan patolojiye ve bu bölgenin florasına bağlı olarak değişir. Örneğin apendisit perforasyonuna bağlı olarak gelişen peritonit olgularının %80'den fazlasından anaeroplar izole edilirken, peptik ülser perforasyonu sonucunda gelişen enfeksiyonlarda bu oran çok daha düşüktür (4). İzole edilen türler de primer patolojiye bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte en sık izole edilen fakültatif bakteri E.coli, anaerop bakteri ise B.fragilis'tir. Goldstein ve arkadaşları (14) B.fragilis'i batın içi enfeksiyonların %46 sından izole etmişler ve bu bakterinin bakteriyemiye en sık neden olan anaerop olduğunu göstermişlerdir. Sekonder peritonit olguları ile yapılan çeşitli çalışmalarda en sık izole edilen anaerop bakterilerin B.fragilis başta olmak üzere Bacteroides türleri, Fusobacterium ve diğer bazı anaerop gram negatif basiller ile, bazı Clostridium türleri, anaerop gram pozitif koklar ve Eubacterium türleri olduğu gösterilmiştir (13). Sekonder peritonit daha nadir olarak ekzojen kaynaklı ve tek etkene bağlı olabilir. Bu durumda daha çok Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae, M. tuberculosis gibi patojen bakteriler etkendir. Bu mikroorganizmaların neden olduğu primer bir enfeksiyondan, periton ve periton boşluğuna yayılım sonucunda gelişebilirler.

Ayaktan sürekli periton diyalizi ile ilişkili peritonit:

Primer ve sekonder peritonite ek olarak üçüncü bir grup peritonit ayaktan sürekli periton diyalizi yapılan hastalarda görülür (continuous ambulatory peritoneal dialysis=CAPD). Peritonitin bu türü cilt florasından köken alır ve etken mikroorganizmalar ve patogenez açısından proteze bağlı enfeksiyonlarla aynı özelliği gösterir. Bu olgulardan en sık izole edilen bakteri koagülaz negatif stafilokoklar, S.aureus, difteroid basiller ve gram negatif enterik basillerdir (5)

İntraperitoneal apseler

Tedavi edilmeyen peritonit olgularında, hasta gram negatif sepsis ile kaybedilmediyse sıklıkla intraperitoneal apse gelişir. Tüm batın içi apselerin %74'ü intraperitoneal ya da retroperitonealdir. İntraperitoneal apseler çok çeşitli lokalizasyonlar gösterebilir. Omentumdan mezentere, pelvisten psoas kasına, subfrenik bölgeden karaciğer gibi bir iç organa kadar uzanan çeşitli yerleşimler gösterebilirler. İç organların yüzeyinde ya da içinde gelişebilirler. Periapendiküler ve divertiküler apseler sıklıkla görülen intraperitoneal apselerdir (5). Apse lokalizasyonu genellikle primer enfeksiyon bölgesi ile yakından ilişkilidir. İntraperitoneal apselerin lokalizasyonları yıllar içinde apse gelişimine neden olan primer enfeksiyon bölgesindeki değişimi yansıtacak şekilde değişiklik göstermiştir (15).Bu enfeksiyonlar tipik olarak polimikrobiyal enfeksiyonlardır. Çeşitli çalışmalarda, olguların %60-%70 inden anaerop bakteriler izole edilmiştir (15, 16). En sık izole edilen aneorop bakteriler B.fragilis, anaerop gram pozitif koklar ve klostridyum türleridir.

Viseral apseler

Batın içindeki çeşitli iç organlarda gelişebilir. En sık karaciğerde görülmektedir.

Karaciğer apseleri:

Karaciğer apsesi viseral apseler içerisinde en sık görülendir. Çünkü karaciğer, apse oluşumuna son derece uygun bir organdır. Karaciğer apseleri batın içinde gelişen tüm apselerin %13 ünü, viseral apselerin ise %48 ini oluşturmaktadır. Karaciğerde gelişen apseler soliter ya da çok sayıda olabilir. Hemotojen yolla veya batın içindeki başka bir enfeksiyon odağından yayılım sonucu gelişebilir. Günümüzde karaciğer apselerinin en sık nedeni komşuluğundaki bilier sistem enfeksiyonlardan yayılımdır. Ayrıca sıklıkla pelvik bir enfeksiyondan bazen de periton içindeki başka bir enfeksiyondan kaynaklanan supuratif filebit sonucu da gelişebilir (5). Karaciğer apselerinde etken mikroorganizmalar apseye zemin hazırlayan primer patolojiye göre değişir. Safra kesesi ve safra yollarından kaynaklanan enfeksiyonların en sık nedeni gram negatif enterik basiller ve enterokoklardır. Bu enfeksiyonlar cerrahi sonrası gelişmediği sürece anaeropların bu olgularda etken olması beklenmez. Karaciğer apsesinin pelvik veya peritoneal bir enfeksiyona sekonder olarak geliştiği durumlarda da tipik olarak polimikrobiyal enfeksiyonlar ortaya çıkar. Bunlarda beklenildiği üzere en sık izole edilen anaerop bakteri gene B.fragilis'tir. Bunun yanı sıra Fusobacterium türleri, anaerop gram pozitif streptokoklar Clostridium türleri ve laktobasiller de daha az sıklıkta izole edilen anaeroplardır (17). Hematojen yayılım sonrası gelişen apseler monomikrobiyaldir ve en sık S.aureus veya streptokoklara bağlı olarak gelişir. Bunların yanı sıra Entamoeba histolytica, Candida türleri de önemli etyolojik etkenler arasındadır. Özellikle ülkemizde amip apselerinin önemli bir yerinin olduğu hatırlanmalıdır.

Dalak apseleri:

Karaciğer apselerine göre çok daha nadir görülür. Klinik bulgular ve etken mikroorganizmalar açısından da karaciğer apselerine göre değişiklik gösterir. Dalak apsesi tanısının konması için
tanıda mutlaka akla getirilmelidir. Genellikle olguların önemli bir kısmının tanısı otopside konmaktadır. Çeşitli çalışmalarda otopsilerde dalak apsesine rastlanma oranları %0.14- %0.7 arasında değişmektedir (18). Dalak apsesi tanısını %37'si otopside konulmaktadır (5). Dalak apseleri olgularının %75'i endokardite bağlı olarak metastatik enfeksiyonlar şeklinde gelişmektedir. Ayrıca travma sonrası (%15) ya da başka bir enfeksiyon odağından yayılım (%10) sonucunda da gelişebilir. Altta yatan patolojiye bağlı olarak dalak apselerinden en sık izole edilen bakteriler streptokoklardır. Bunu S.aureus izler. Bu bakteriler endokardit etkenlerini, yansıtır. İkinci sıklıkta ise gram negatif enterik basiller yer alır. Anaerop bakteriler olguların ancak %5 inden izole edilmektedir. Ancak steril apse olarak bildirilen pek çok olguda anaerop çalışmanın eksik olması nedeniyle belki de bu oran daha yüksek olabilir. Orak hücreli anemisi olan hastalarda etken olarak Salmonella türlerini de akılda tutmak gerekmektedir.

Diğer:

Perinefritik ve renal apseler çok nadir görülür. Patogenezleri farklıdır. Genellikle üriner sistem enfeksiyonlarına sekonder olarak asendan yolla gelişir. Psoas apsesi hematojen yol ile ya da komşuluk yoluyla gelişir. Primer enfeksiyon bölgesine göre etkenler değişiklik gösterir (5).

Batın İçi Enfeksiyonlara Rutin Mikrobiyolojik Yaklaşım

Anaerop enfeksiyonların rutin mikrobiyolojik tanısı, güç ve zaman alıcı olması, eğitimli personel ve özel ekipman gerektirmesi gibi nedenlerle birçok hastane laboratuvarı tarafından gerçekleştirilememektedir (4). Öte yandan bazı özel durumlar dışında, anaerop enfeksiyonların tedavisinde ampirik yaklaşım önerilmektedir (19, 20). Ancak komplike batın içi enfeksiyonlar gibi ağır ve hayatı tehdit edici enfeksiyonların tedavisinde cerrahi yaklaşım kadar yeterli ve uygun antimikrobik tedavinin seçilmesi de büyük önem taşır (4, 20). Montravers ve arkadaşları (21) ampirik antibiyotik tedavisinin enfeksiyonun gidişine etkisini araştırmak amacı ile, cerrahi sonrası gelişen 100 peritonit olgusunda yapmış oldukları çalışmada, başlangıçta seçilen ampirik tedavinin yetersiz olması durumunda, hastalığın prognozunun kötüye gittiğini ve mortalitenin yükseldiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, uygulanan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre daha sonra yapılan gecikmiş tedavi değişikliğinin, sonucu değiştirmediği de ortaya konmuştur. Bu bulgular göz önüne alındığında batın içi enfeksiyonların laboratuvar tanısında yalnızca aeroplara değil anaeroplara da yönelik rutin kültür ve tanımlama yöntemlerinin uygulanması gerekliliği açıkça ortaya çıkmaktadır. Ancak bu, her enfeksiyon için geçerli değildir. Özellikle toplumdan kazanılmış batın içi enfeksiyonların mikrobiyolojik tanısında rutin anaerop kültüre gerek yoktur; ancak hastanede gelişen ve komplike enfeksiyonlar için böyle bir gereklilik söz konusudur (20).

Anaerobik kültür ve tanımlama yöntemleri ile klinik örneklerde özellikle virulansı yüksek ve dirençli türlerin varlığının gösterilmesi, uygun ve yeterli tedavinin seçilmesi açısından büyük önem taşır (19). Batın içi enfeksiyonlardan birinci sıklıkta izole edilen ve sıklıkla bakteriyemiye neden olan B.fragilis ve diğer Bacteroides türleri ile Prevotella, Fusobacterium, Sutterella ve bazı Clostridium türleri, yüksek virülanslı bakterilerdir. Bunların önemli bir bölümünde antibiyotik direnç oranlarının da yüksek olduğu düşünülürse, üniversite ve diğer hastane laboratuvarlarında anaeroplara yönelik rutin çalışmaların gerekliliği daha da iyi anlaşılabilir (19). Anaerop kültür, antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanmasını gerektiren durumlarda da, bakterilerin elde bulundurulması açısından ayrı önem taşır. Anaerop izolatlar için antibiyotik duyarlılık testlerinin rutin olarak uygulanması önerilmemektedir. Ancak ağır seyirli ve hayatı tehdit edici enfeksiyonlarda, ampirik tedaviye yanıt vermeyen olgularda ve bazı seçilmiş durumlarda en kısa sürede duyarlılık testlerinin uygulanması önerilmektedir (19). Böylece gerektiği durumlarda test sonuçlarına göre tedavi yönlendirilebilir (20).

Rutin mikrobiyolojik çalışmalarda izolatların tür düzeyinde tanımlanmaları her zaman mümkün olmayabilir. . Genel olarak kan, vücut sıvıları gibi steril bölgelerden ve tek etken olarak izole edilen anaerop bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması önemlidir. Karışık flora içeren enfeksiyon bölgelerinden alınan klinik örneklerdeki tüm anaerop izolatların tür düzeyinde tanımlanması her zaman gerekli değildir. Genel olarak batın içi enfeksiyonlar için de bu durum geçerlidir (22). Yeni türlerin tanımlanması, sıklıkla taksonomik değişikliklere gidilmesi, isimlendirme değişiklikleri gibi nedenler anaerop bakterilerin geleneksel yöntemlerle tanımlanmasında sıkıntı yaratmaktadır (23, 24). Ayrıca bu bakterilerin kesin tanımlanmasında kullanılan hızlı tanımlama sistemlerinin veri tabanlarında yeni türlerin yer almıyor olması, taksonomik ve isimlendirme değişikliklerinin bu sistemlere hemen yansıtılamaması gibi nedenlerle de söz konusu anaeropları her zaman tür düzeyinde tanımlamak mümkün olamamaktadır. Bütün bu nedenlerle, özellikle gram pozitif koklar ve anaerop gram pozitif sporsuz basiller başta olmak üzere bazı anaeropların kesin tanımlanmasında 16S rRNA gen dizilerinin saptanması ya da gaz likit kromatografi (GLK) ile yağ asiti profillerinin belirlenmesi gibi özel yöntemler gerekir. Son yıllarda MALDI-TOF (Matrix assisted laser desoption ionization-time of fligt) kütle spektrometresi yöntemi anaeropların hızlı tanısı amacı ile kullanılmaya başlamıştır (25). Ancak bu ileri tekniklerin hiçbirisi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin kullanım için uygun değildir.

Batın içi enfeksiyonlar,özellikle komplike olanlar yaşamı tehdit eden ve yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonların önemli bir kısmı fakültatif bakterilerle birlikte anaerop bakterilerin de etken olduğu polimikrobiyal etyolojiye sahiptir Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu bakterilerin rutin olarak izolasyon ve tanımlanmaları her durumda gerekli değildir. Ancak komplike batın içi enfeksiyonlarda enfeksiyon bölgesinden alınan örneklerin ve kan örneklerinin anaerop kültürlerinin yapılarak bakterilerin izole edilmesi ve tanımlanması, gerektiği durumlarda da antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulanması hayat kurtarıcı olmaktadır.

Kaynaklar

1. Hentges DJ. The anaerobic micoflora of the human body. Clin Infect Dis. 1993; 16 (Suppl 4) : S175-80.
2. Goldstein JC. Intra-abdominal anaerobic infections: bacteriology and therapeutic potential of newer antimicrobial carbapenem, fluoroquinolone, and desfluoroquinolone therapeutic agents. Clin Infect Dis. 2002; 35 (Suppl 1):S106-11.
3. Cohen-Paradosu R, Kasper DL. Anaerobic infections: general concepts, 3083-89. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell; Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2010, 7th ed.Churchil Livingstone Elsevier, Philadelphia.
4. Goldstein EJ, Syndman DR. Intra-abdominal infections:review of the bacteriology, antimicrobial susceptibility and the role of ertapenem in their therapy. J Antimicrob Chemother. 2004; 53 (Suppl 2) S29-36.
5. Baron MJ, Kasper DL. Intraabdominal infections and abscesses, Chapter 127. In Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine (Online). 2012, 18th ed. The Mac Graw- Hill Companies,
6. Goldstein EJ, Citron DM,Vreni Merriam C, et al. Comparative in vitro activities of ertapenem (MK-0826) against 1001 anaerobes isolated from human intr-abdominal infections. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2389-94.
7. Bennion RS, Baron EJ, Thompson JE, et al. The bacteriology of gangrenous and perforated appendicitis-revisited. Ann Surg 1990; 211: 165-71.
8. Brook I. Bacterial studies of peritoneal cavity and postoperative surgical wound drainage following perforated appendix in children. Ann Surg 1980; 192:208.
9. Bennion RS, Thompson JE, Baron EJ, et al. Gangrenous and perforated appendicitis with peritonitis: treatment and bacteriology. Clin ther 1990; 12 (Suppl C): 31-44.
10. Baron EJ, Curren M, Henderson G, et al. Bilophila wadsworthia isolates from clinical specimens. J Clin Microbiol 1992; 30: 1882-4.
11. Goldstein EJ, Citron DM, Warren YA, et al. In vitro activity of moxifloxacin against 923 anaerobes isolated from human intra-abdominal infections. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 148-55.
12. Goldstein EJ, Citron DM, Vaiya SA, et al. In vitro activity of 11 antibiotics against 74 anaerobes isolated from pediatric intra-abdominal infections. Anaerobe. 2006; 12: 63-66.
13. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and intraperitoneal abscesses, 1011-34. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell; Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2010, 7th ed.Churchil Livingstone Elsevier, Philadelphia.
14. Goldstein EJC, Citron DM. Annual incidence, epidemiology and comparative in vitro susuceptibilities to cefoxitin, cefotetan, cefmetazole and ceftizoxime against recent community-acquired isolates of the Bactereoides fragilis group. J Clin Microbiol 1988; 26: 2361-6.
15. Saini S, Kellum JM, O'Leary MP, et al. Improved localization and survival in patients with intra-abdominal abscesses. Am J Surg 1983; 145: 136-42.
16. Gorbach SL. Traetment of intra-abdominal infection. Am J Med. 1984; 76 (Suppl 5A):S107-S10
17. Sıfrı CD, Madoff LC. Infections of the Liver and Biliary system, 1035-44. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell; Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2010, 7th ed.Churchil Livingstone Elsevier, Philadelphia.
18. Al Haijar N, Graur F, Hassan AB, et al. Splenic ascesses. Rom J Gastroenterol 2002; 11: 57-9.
19. Clinical and Laboratory Standarts Institute Methods for antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standart 2008, 7th ed. CLSI document M11-A7. .Clinical and Laboratory Standarts Institute, Wayne, Pa.
20. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, et al. Diagnosisi and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. Surg Infect 2010; 11:79-109.
21. Montravers P, Gauzit R, Muller c, et al.Emergence of antibiotic resistant bacteria in cases of peritonitis after abdominal surgery affects the efficiacy of empirical antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 1996; 23: 486-94.
22. Hall GS. Suggestions for practical scheme fort he workup of anaerobic cultures 4.13. In Isenberg HD, Garcia LS (eds), Clinical Microbiology Procedures Handbook.. 2010, 3rd ed. ASM press, Washington D.C.
23. Ulger-Toprak N, Liu C, Summanen PH, et al. Murdochiella asaccharolytica gen. Nov., sp. Nov., a gram positive anaerobic coccus isolated from human wound specimens. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60: 1013-16.
24. Finegold SM. song Y, Liu C. Taxonomy- general comments and update on taxonomy of clostridia and anaerobic cocci. Anaerobe 2002; 8: 283-85.
25. Citron DM, Poxton IR, Baron EJ. Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, and other anaerobic gram negative rods 911-32. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Yolken RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. 2007, 9th ed. ASM press , Washington D.C.

DERİ VE YUMUŞAK DOKU ENFEKSİYONLARI VE ANAEROPLAR

Hrisi BAHAR
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi , Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji ABD , İstanbul

Deri ve deri altı dokuları , epidermis, dermis, deri altı yağ dokusu, fasiya ve kaslardan oluşmaktadır. Oksijensiz ortamlarda üreyebilen anaerop bakteriler ise, özellikle fasiya ve kaslarda , diğer bir deyişle derinin derinde kalan bölgelerinde enfeksiyon oluşturmaktadırlar.

Anaeropların oluşturduğu deri ve yumuşak doku enfeksiyonları için belirgin bir sınıflama yapılamamıştır. Önceleri, etken bakterilere göre, Clostridium türleri ile oluşan enfeksiyonlar ve Clostridium türleri dışındaki anaerop bakterilerle oluşan enfeksiyonlar şeklinde bir sınıflama yapılmıştır. Günümüzde bu sınıflamanın yerine, dokuda gaz oluşumunun varlığı /yokluğuna dayanan bir sınıflamaya doğru gidilmiştir.

Yeni sınıflamada deri ve yumuşak doku enfeksiyonları;

a-Gaz oluşumuna neden olan anaeroplarla gelişen enfeksiyonlar(Gazlı gangrenler)

b-Gaz oluşumu görülmeyen anaerobik enfeksiyonlar(Nekrotizan fasit) şeklinde gruplandırılmıştır.Birinci grupta Klostridiumlarla gelişen gazlı gangrenler ve klostridial olmayan gazlı gangrenlere , ikinci grupta ise nekrotizan fasiite yer verilmiştir.Bunun yanı sıra, hem gazlı gangren hem de nekrotizan fasiitin bir arada görüldüğü olgular, nadir rastlanan vakalar olarak tanımlanmıştır. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında, anaerop bakteriler, tek başına enfeksiyon etkeni olarak görülmezler. Enfeksiyon, çoğunlukla stafilokok ve streptokok türlerinin anaeroplarla simbiyotik bir ilişkiye girerek geliştirdikleri mikst enfeksiyon özelliğindedir..

1-Gaz oluşumuna neden olan anaerop bakterilerle gelişen enfeksiyonlar (Gazlı gangrenler) .

Bu tip deri ve yumuşak doku enfeksiyonları gaz oluşumu ile seyreden klostridial ve klostridial olmayan gazlı gangrenler şeklinde gruplandırılmıştır. Özellikle klostridial olmayan gazlı gangren olgularının günümüzde klostridial gazlı gangrenlere göre belirgin bir artış gösterdiği bilinmektedir.

a.Klostridial gazlı gangren: Diğer adıyla klostridial miyonekrozis , C. perfringens başta olmak üzere C. novyi, C. histolyticum, C. sporogenes, C. septicum ve C. fallax olarak bilinen altı farklı Clostridium türü tarafından oluşabilmektedir.

Klostridial gazlı gangren, bir travmanın ardından gelişebileceği gibi, ameliyat sonrası deride bulunan sütürlerin çıkarılmasını takiben, ya da cerrahi yaraların kontaminasyonu ile veya tonsillektomi ve düşük yapmanın ardından gelişebilmektedir.

Enfeksiyon, iki ila altı hafta süren bir latent dönem ardından genelde üst veya alt ekstremitelerde, gluteal bölgede,üreme organlarının dışa açılan bölgeleri ve boyunda tipik belirtlerle seyredebilmektedir.Enfekte bölgede ağrı yanı sıra lokal belirtilerden kızarıklık, akıntı, koyu mora doğru renk değişimi, nekroz, deri altı krepitasyon gözlenebilir.Yüzeyel deride gaz kabarcıkları ve yara insizyonunu takiben kötü kokulu bir akıntı gözlenir.Ancak hastalığın genel belirtileri yüksek ateş, kas ağrısı, mide bulantısı ve kusma, artralji, delirium ve şoktur.Klostridial gazlı gangrenlerde bakterilerin oluşturduğu ekzotoksin, trombüs oluşumuna neden olmakta, bu durum da yaygın intravasküler koagülasyon ve şoka neden olmaktadır.Hastalarda sedimentasyon hızı ve C-Reaktif protein yükselmiştir.Karaciğerde fonksiyon bozukluğu mevcuttur.

Laboratuar tanıda, nekrozlu bölgeden alınan akıntı ya da dokudan hazırlanan Gram preparasyonda, Gram pozitif sporlu bakterilerin görülmesi, klostridial gazlı gangrene yönelik tedavi başlatılması için yeterlidir. Anaerop kültür uzun süre aldığından, Gram preparasyon, hastaya zaman kaybetmeden tedavi başlanması için yol gösterici olması bakımından çok değerlidir.

Klostridial gazlı gangrenlerde , % 7-25 arası mortalite oranı bildirilmektedir.Elliot ve ark. üçü C.perfringens ve biri C.septicum'a bağlı olmak üzere dört klostridial miyonekroz olgusunun agresif cerrahi debridman, antibiyotik ve hiperbarik oksijen tedavisine rağmen kaybedildiğini bildirilmişlerdir. Antibiyotik tedavisinde intravenöz penisilin, ampisilin+klindamisin veya metranidazol önerilse de, Clostridium türlerinde bu antibiyotiklere karşı artan direnç,tedaviye karşı yanıtta sıkıntı oluşturmaktadır. Levofloksasinin de C.perfringens suşlarına karşı klindamisin ve/veya metranidazol ile kombinasyonunda sinerjik etki gösterdiğini bildiren yayınlar mevcuttur. Japonyadan, piperasilin (2 g x 4/gün) ve piperasilin + tazobaktam kombinasyonu (4.5 g x 4/gün) etken C.perfringens ise ampisilin (2 g x 4/ gün) veya sulbactam/ampicillin kombinasyonu (3 g x 4/gün) tedavi seçenekleri arasında sunulmuştur.

b.Klostridial olmayan gazlı gangren: Deri ve yumuşak dokuda, klostridium dışındaki anaerop bakterilerle oluşan gazlı gangren şeklinde seyreden bu enfeksiyonda etkenler, B. fragilis, Porphyromonas asaccharolytica, Peptostreptococcus anaerobius ve Eggerthella lenta. gibi zorunlu anaerop bakterilerdir. Fakültatif anaeroplardan genellikle Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Klebsiella türleri, Proteus türleri ve Staphylococcus aureus da etkenler arasına eklenerek mikst enfeksiyon geliştirirler. Diyabetik hastaların % 60 kadarında, başta diyabetik ayak olmak üzere deri ve yumuşak dokuda gelişen enfeksiyonlarda bu bakteriler etken olarak belirlenmiştir.

Diyabetik ayak yaraları, dekübitüs ülserleri, karsinomalar, pilonidal sinüs ve hidradenitis süpürativada , anaerop bakterilerle gelişen enfeksiyonlar, klostridial olmayan gazlı gangrenler başlığı altında toplanmıştır.Bu enfeksiyonlarda lokal ve genel belirtiler klostridial gazlı gangrenlerdekilerle benzerdir.Hastalık hızlı bir şekilde derin dokulardaki fasiyalara ilerler ancak klostridial gazlı gangrenlerden farklı olarak, gaz habbecikleri kaslara kadar yayılmaz..Yara yüzeylerinde koku, ince çizikler ve krepitasyonlar gözlenir.Yara insizyonunu takiben gaz

habbecikleri ile birlikte cerahatli bir akıntı görülür. Özellikle B.fragilis 'in etkenler arasında yer alması durumunda akıntıda gaita kokusu alınır. Peptostreptococcus anaerobius varlığında ise akıntı sarımsıdır ve çamur kokusu ile karakterizedir.Aerop streptokokların enfeksiyona dahil olması ile, flegmon hızla yayılır ve streptokoklara bağlı gangren gelişebilir.

Laboratuar tanıda , akıntıdan ya da dokudan alınan numuneden hızla Gram preparasyonların hazırlanması ve incelenmesi, klinisyene , zaman kaybetmeden tedaviye başlama aşamasında yol gösterici olması bakımından çok değerlidir. Gram preparasyonlarda zeminde ince, soluk boyanmış Gram negatif çomakçıkların görülmesi B.fragilis varlığı yönünde değerlendirilmeli ve bakterinin yüksek antimikrobial direnç gösterme özelliği de göz önünde bulundurularak, kültür sonucu beklemeden tedaviye başlanmalıdır. Klostridial olmayan gazlı gangrenlerin prognozu , klostridial olanlara nazaran daha kötü kabul edilmektedir.

Klostridial olmayan gazlı gangrenlerde , hastalığa bağlı morbidite % 30-40 olarak bildirilmektedir.Etkenler arasında B.fragilis in de yer alması tedavide sıkıntılara neden olmaktadır. Ülkemizden Ülger ve ark. Bacteroides türlerine karşı antibiyotik duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında %93ampisilin, %36 klindamisin, %13 piperasilin, %11 sefoksitin, %2 ko-amoksilav, imipenem ve kloramfenikol direnci saptamışlar; metranidazol, imipenem ve ko-amoksilav'ın bu bakterilere karşı en etkin antibiyotikler olduğu sonucuna varmışlardır.Birçok anaerobun bir arada geliştirebileceği bu enfeksiyonlarda etkene bakılmaksızın tedavi protokollerine karbapenemlerin yerleştirilmesi, örneğin imipenem/cilastatin uygulanmasının yararlı olduğu kapsamlı araştırmalarla gösterilmiştir.

2-Karakteristik gaz oluşumu görülmeyen anaerobik enfeksiyonlar (Nekrotizan fasiit)

Nekrotizan fasiit, bağ dokuyu tutan ve hızlı ilerlediği için acil tedavi gerektiren ciddi enfeksiyonlara verilen jenerik bir isimdir.Deri ve yumuşak dokularda nekroz ile seyreden, derideki yüzeyel fasialardan derin dokudaki fasialara hızla ilerleyen lezyonlar ile karakterizedir.Ayrıca kardiyovasküler olayların da enfeksiyona eşlik ettiği bilinmektedir.Boyunda diş çekimini takiben gelişebilen nekrotizan mediastinit, Fournier syndromu, A grubu Beta hemolitik streptokokların deri ve yumuşak dokuda oluşturduğu fulminant enfeksiyon bu başlık altına alınmıştır.

Nekrotizan fasiit a-polimikrobial fasiit ve b-streptokoksik gangren olmak üzere iki farklı klinik tabloda görülmektedir.

a.Polimikrobial fasiit: Zorunlu anaerop bakterilerin ve fakültatif anaerop bakterilerin bir arada etken olduğu enfeksiyondur.Anaerop bakterilerle beraber barsak florasının diğer bakterileri, Staphylococcus aureus, Vibrio ve Aeromonas türleri temel etkenlerdendir. Fournier syndromu perinenin nekrotizan infeksiyonu olarak karakterizedir. E.coli, Klebsiella spp, enterokoklar,Bacteroides spp, Fusobacterium spp ve Clostrodium spp en sık üretilen etken bakterilerdendir. Cerrahi debridman ve sıvı replasmanı tedavinin ilk basamağını teşkil etmektedir. Lezyondan hazırlanacak preparatların Gram boyaması antibiyotik seçiminde yol gösterici olsa da bakteriyolojik veriler elde edilinceye kadar ampisilin, gentamisin, klindamisin, metranidazol ile yapılacak kombinasyonların veya piperasilin/tazobaktam, imipenem, meropenem antibiyotiklerden birisinin tercih edilebieceği belirtilmiştir..

b.Streptokoksik gangren. A grubu beta hemolitik streptokokların neden olduğu, ani septik şok, damar içi koagülasyon, erişkin respiratory distress syndromu ve çoklu organ kaybı ile seyredebilen çok ciddi bir hastalıktır.Erken safhada farenjit belirtileri ile başlayan enfeksiyon , kızarıklık, akıntı, dolaşım bozuklukları, yüksek ateş ve aşırı ağrı belirtileri ile hızla gelişir. Nekroz ilerledikçe lezyonda kanlı büller ve morarmış lekeler belirginleşir. Hastalık hızla ilerler ve hasta şokla birlikte çoklu organ yetmezliğne girer.

Nekrotizan fasiit genelde diyabet gibi , travma ya da cerrahi girişim sonrası geçmeyen yara mevcudiyeti gibi altta yatan primer bir rahatsızlığı olan kişilerde görülme özelliğini taşımaktadır, ancak nadiren sağlklı kişilerde de görülmüştür.

Laboratuar tanıda, akıntıdan ya da dokudan alınan numuneden hızla Gram preparasyonların hazırlanması ve incelenmesi , kültürlerin anaerop bakteriler yanı sıra A grubu beta hemolitik streptokoklar stafilokoklar ve diğer fakültatif anaerop bakteriler yönünden de değerlendirilmesi klinisiyene , zaman kaybetmeden tedaviye başlama aşamasında yol gösterici olması bakımından çok değerlidir.

Tablo 1.Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan temel anaerop bakteriler

Clostridium türleri	
	C. perfringens
	C. novyi
	C. histolyticum
	C. sporogenes
	C. septicum
	C. fallax
Clostridium türleri dışındaki anaerop bakteriler	
	Bacteroides fragilis
	Porphyromonas asaccharolytica
	Peptostreptococcus anaerobitus
	Finegoldia magna
	Eggerthella lenta
	Prevotella türleri
	Fusobacterium türleri

Deri ve yumuşak dokularda enfeksiyonlara neden olan temel anaerop bakterilerin başında B.fragilis gelmektedir.Çok sayıda virülans faktörlerine ve birçok antimikrobiyal direnç paternine sahip olan, yüksek düzeyde aerotoleran bu bakterinin aerotolerans özelliğinin, patojenitesiyle ilgili olduğu gösterilmiştir. Clostridium türleri ise toprakta ve gaitada bulunan zorunlu anaerop bakterilerdir. Bu bakterilerin, genelde gastrointestinal sistemde ve deride özellikle cerrahi girişimin yapıldığı noktada enfeksiyona neden oldukları gösterilmiştir. Ayrıca, Clostridium türleri ile gelişen deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kas içi enjeksiyonlara, cerrahi ve dermal sütürlere, düşük oluşmasına, rektum kanserine bağlı olarak da gelişebilmektedir.Birçok eksotoksinlere sahip olan C. perfringens başta olmak üzere, C. novyi, C. histolyticum,C. sporogenes, C. septicum ve C. fallax ın patojenitesi olduğu kabul edilmektedir. P. anaerobius ise bu tür enfeksiyonlarda en yaygın görülen Gram pozitif diplokoktur.Deri ve yumuşak dokularda gelişen enfeksiyonların patogenezinde rol oynayan diğer anaerop bakteriler Finegoldia magna, Parvimonas micra, Peptoniphilus asaccharolyticus, Prevotella türleri ve Fusobacterium türleridir.Tablo 1.

Anaerop etkenlerle oluşan deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında tedavi:a.Hastanın genel durumunun kontrol edilmesi, b.Yaranın debride edilerek nekrotik dokunun çıkarılması, c.Antibiyotik tedavisi uygulanması , d.Gereğinde hiperbarik oksijen tedavisi önerilmesi şeklinde birkaç koldan yürütülmektedir.

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında, Gram preparasyonunun incelenmesi ve etken mikroorganizmaların üretilip tanımlanmasından sonra hastaya uygulanan antibiyotik tedavisinin gözden geçirilerek üretilen mikroorganizmaların direnç paternlerine göre yeniden bir antibiyoterapi düzenlemesine gidilmesinde yarar görülmektedir.Genelde enfeksiyondan sorumlu tek bir bakteri olmadığından,birçok bakterinin bir arada etken olması nedeniyle geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması önerilmektedir .Anaerop bakterilerin etken olduğu deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ölümle sonlanma riski taşıyan ciddi enfeksiyonlardır .Bu bakımdan hastalığın ilerlemesi ve kontrol edilememesi durumunda tedavinin ,standart antibiyotik dozajlarının aşılarak sürdürüldüğü pek çok kaynakta vurgulanmıştır.

Kaynaklar

1. Japanese Society of Chemotherapy Committee on guidelines for treatment of anaerobic infections.Chapter 2-5-3a. Anaerobic infections (individual fields):skin and soft tissue infections. J Infect Chemother ,2011 ; 17 (Sup 1): 72–76.
2. DiNubile MJ, Lipsky BA. Complicated infection of skin and skin structures: when the infection is more than skin deep. J Antimicrob Chemother. 2004;53 (Suppl 2):ii37–50.
3. Shimazu T, Tanaka R, Hashiguchi N, Sugimoto H. Infection syndrome, bacterial infections, subcutaneous tissue infections, and gas-gangrene myositis. Jpn J Clin Med (Supplement volume)Infect Syndr I, 1999; 593–6.
4. Goldstein EJC. New horizons in the bacteriology, antimicrobial susceptibility and therapy of animal bite wounds. J Med Microbiol , 1998 ; 47:95-97.
5. Brook, I.: Microbiology of human and animal bite wounds in children. J. Pediatr. Infect. Dis. 1987, 6:29- 32,
6. Demirdal T, Ağalar C. Anaerobik yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi .Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.2005,9 : 195-202.
7. Takahashi H. Infection syndrome, bacterial infections, subcutaneous tissue infections, and clostridial phlegmon. Japanese Journal of Clinical Medicine (Supplement volume) Infection Syndrome I. 1999; 585–6.
8. Nichols RL, Florman S. Clinical Presentations of Soft-Tissue Infections and Surgical Site Infections. Clin Infect Dis 2001;33:85-93.
9. Elliott D, Kufera JA, Myers RAM. The Microbiology of Necrotizing Soft Tissue Infections. Am J Surg 2000;179:361-6.
10. Giamarellou H. Anaerobic infection therapy. Int J Antimicrob Agents 2000;16:341-6.

11. Credito KL, Jacobs MR, Appelbaum PC.Anti-anaerobic activity of levofloxacin alone and combined with clindamycin and metronidazole. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;38:181–3.
12. Ulger (Toprak) N, Celik C, Cakici O, Soyletir G. Antimicrobial susceptibilities of Bacteroides fragilis and Bacteroides thetaiotaomicron strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota. Anaerobe 2004;10:255-9.
13. Şen Z, Yomruk E, Kaya B ve ark. Fournier gangreninde tedavi prensipleri. Ankara Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası 2003;56:249-58.
14. Pasternak MS, Swartz MN. Cellulitis and subcutaneous tissue infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R(eds). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia,Pennsylvania: 2005.
15. Stone HH. Soft tissue infections. Am Surg 2000;6:162-5.
16. Jallali N, Witney S, Butler PE. Hyperbaric oxygen therapy in the management of necrotizing fasciitis. Am J Surg 2005;189:462-6.
17. Tassler HW. Efficacy and safety of piperacillin/tazobactam in skin and soft tissue and in bone and joint infections.Antibiotic Therapy 1993;12(Suppl A):50-60.
18. Wong CH, Wang YS. The diagnosis of necrotizing fasciitis.Curr Opin Infect Dis 2005;18:101-6.

STERİL VÜCUT BÖLGELERİNDE GELİŞEN ENFEKSİYONLAR VE ANAEROPLAR

Nurver TOPRAK ÜLGER
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Normalde steril olan vücut bölgelerinde anaerop enfeksiyon süphesi var ise, enfeksiyon yerine göre kan, kemik iliği, beyin omurilik, eklem, plevra veya periton sıvısı gibi örneklerin alınarak mikrobiyolojik yönden incelenmesi gerekir. Örneklerin alınması sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, komşu bölgelerde bulunan normal flora elemanlarıyla kontaminasyonu önlemektir. Bunun için uygun cilt temizliği yapıldıktan sonra örneğin, enjektörle aspire edilerek alınması önerilmektedir. Uygun yerden, yeterli miktarda alınan klinik örneklerden aerop ve anaerop kültürler yapılmalı, etken mikroorganizmalar (anaerop bakteriler en azından cins düzeyinde) tanımlanmalıdır. Bölgelere göre farklılık olmakla beraber etkenler arasında en sık Bacteroides türleri görülmekte ve B.fragilis birinci sırada yer almaktadır. Diğer Gram negatif bakterilerden Fusobacterium, Porphyromonas ve Prevotella türleri, Gram pozitiflerden ise Bifidobacterium, klostridium türleri, Gram pozitif koklar ve Propionibacterium türleri daha az sıklıkla izole edilmektedir (1).
Steril vücut sıvılarına anaerop enfeksiyonlar açısından yaklaşım;

Kan Kültürü;

Bakteremi ve septiseminin laboratuvar tanısı kan kültürleriyle yapılır. Hemokültür sonucunun başarılı olma şansı, kültür için alınacak kan miktarına, ekilen kan miktarının/ekildiği besiyerine olan oranına, örneğin alınma zamanına ve kullanılan besiyerlerinin özelliklerine sıkıca bağlıdır. İlke olarak iki ayrı venden alınan kanın, bir aerop bir de anaerop kültür için iki ayrı besiyerine ekilmesi önerilmekte. Ancak uygulamalar merkezlere göre farklılıklar göstermektedir. Bazı araştırıcılar, anaerop bakteremi insidansının azaldığını bu nedenle anaerop kültür yapmanın anlamsız olduğunu, bunun yerine son yıllarda fungeminin artışı nedeniyle aerop kültür şişesinin kullanılmasının gerekli olduğunu savunmaktadırlar. Aynı araştırıcılar, anaerop kültür şişelerinin el altında bulundurulmasını ve endikasyon varlığında kullanılmasını önermektedirler. Ancak son dönem çalışmalarında, aynı zaman diliminde alınan kan örneğinin iki aerop bir anaerop kültür şişesine ekilmesi halinde, etken bakterilerin izolasyon oranında önemli artış saptandığı ve bu uygulamanın daha doğru olduğu savunulmaktadır (2).

Kandan izole edilen mikroorganizma cinsi merkezlere ve hasta popülasyonuna göre farklılık göstermektedir. Anaerop bakterilere bağlı bakteremiler günümüzde de önemini korumaktadır. Pek çok klinik laboratuvar sonuçlarına göre, kan kültürlerinde %8'den fazla pozitiflik oranı bildirilmiş, pozitif kan kültürlerinin ise %3-13'ünü anaerop bakteriler oluşturmaktadır. Batın ve jinekolojik operasyonlar, peridontal girişimler, diş çekimi, tonsillektomi, rijit brokoskopi, trakeal intubasyon, endokopi, kolonoskopi, ve kardiak katerizasyon gibi risk faktörleri anaeroplara bağlı bakteremilerin gelişmesini kolaylaştırmaktadır. Anaerop bakterilerden sıklıkla Bacteroides fragilis, diğer Bacteroides türleri ve Propionibacterium acnes, daha az sıklıkla ise Clostridium perfringens, Clostridium septicum ve Gram pozitif anaerop koklar izole edilmektedir. Ancak, P. acnes, Lactobacillus, Eubacterium, Bifidobacterium veya Veillonella türleri üretildiğinde klinik bulguları göz önünde bulundurmak gerekir, Bu bakteriler kontaminant veya vasküler graft, yapay kalp kapağı veya intravakküler katetere bağlı gelişmiş olabilir (3).

Plevra Sıvısı;

Plevra boşluklarının enfeksiyonu genellikle akciğer enfeksiyonu ve apsesi, oral, retrofarigeal veya cilt apsesi, mediastinal lenf bezi veya paravertebral apsele gibi diğer bölgelerin enfeksiyonuna ikincil veya travma veya cerrahi operasyon sonrası gelişir. Ampiyem yüksek mortalite ve morbiditeye sahiptir. Bu nedenle hızlı tanımlaması ve tedavisi gerekir. Herhangi bir organizmanın üretilmesi enfeksiyon açısından anlamlıdır, ancak örnek alınırken kontaminasyon olma olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır. Ampiyeme en fazla neden olan anaerobik bakteriler, Gram pozitif koklar, siyah pigmentli Prevotella ve Porphyromonas türleridir (4).

Periton Sıvısı;

Peritonit primer (spontan) veya sekonder peritonit olarak sınıflandırılabilir. Primer peritonit, daha çok kronik karaciğer hastalığı gibi asiti olan hastalarda batın içine bağlantının olmadığı durumlarda gelişir. Sekonder peritonit, çoğunlukla gastrointestinal sistemin veya genitoüriner sitemin epitel bütünlüğü bozulduğunda endojen floranın periton boşluğuna dökülmesinin ardından gerçekleşir. Enterik Gram negatif bakteriler çoğunlukla izole edilmekle beraber polimikrobiyal enfeksiyon da görülebilir. En sık izole edilen bakteri Escherichieae coli olup bunu Bacteroides fragilis izlemektedir. Sıklıkla izole edilen diğer anaerop bakteriler ise diğer Bacteroides, Fusobacterium türleri, Clostridium perfringens ve diğer klostridium türleri, Gram pozitif anaerop koklar ve Gram pozitif sporsuz anaerop basillerdir (5-7).

Eklem Sıvısı;

Enfeksiyon etkeni farklı olabilir, cerrahi operasyon veya travma sırasında kontaminasyon sonucu enfeksiyon gerçekleşebilir ya da hematojen yolla gelişebilir. Anaerop bakteriler içinde, genellikle Bacteroides fragilis grubu bakteriler, Fusobacterium türleri ve Clostridium ve Gram pozitif anaerop koklar izole edilir ve çoğunlukla mono mikrobiyaldir. Anaeropların en fazla tuttuğu kalça, diz, dirsek gibi büyük eklemlerdir, daha az sıklıkla ise el bileği ve omuz eklemleri tutulur (1, 4).

İdrar;

Anaeroplar üriner sistemde, akut ve kronik üretrit, sistit, periüretral selülit veya apse, akut ve kronik prostatit, skrotumda apse ve gangren, metastatik böbrek enfeksiyonları, pyonefroz, retroperitoneal apseler gibi çok çeşitli hastalıklara neden olabilir. Bu hastalıkların klinik bulguları diğer aerop ve fakültatif anaerop bakterilerin oluşturduğu bulgulardan farklı değildir. Etken anaeroplar kişinin servikal veya barsak florasından kaynaklanır. Çoğunlukla asendan yol ile eksternal genital organlardan ve periüretral alandan gelir, daha az sıklıkla hematojen ve doğrudan komşuluk yoluyla da gelebilir. Kateter varlığı üriner sistem enfeksiyonlarının gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür. Diğer yandan dehidrata olmuş hastalarda böbrek medüllasında oksijenlenmenin hızla düşmesi anaeroplara bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının gelişmesinde kolaylaştırıcı faktördür. Özellikle kronik enfeksiyonlarda bulgular müphem olup, uzun süren enfeksiyonlara anemi, kronik böbrek yetmezliği, hipertansiyon eşlik edebilir (1).

Anaerop bakterilere bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında, suprapubik aspirasyonla alınan idrar uygun materyaldir. Orta akım idrar anaerop kültür için önerilmemektedir. Hasta yakınmalarının var olup ve de idrarın boyanmış preparatında bakteri görüldüğü halde bakteri üretilemiyor ise anaerop enfeksiyonlar akla getirilmelidir. Üriner sistem enfeksiyonlarından en sık izole edilen anaerop bakteriler; Bacteroides fragilis grubu bakteriler, Prevotella, Porphyromonas, Clostridium türleri, anaerop Gram-pozitif koklar ve Actinomyces türleridir. Anaerop bakteriler genellikle enterik bakteriler veya streptokoklar ile beraber miks enfeksiyon yaparlar (4).

Beyin Omirilik Sıvısı;

Anaerop bakteriler nadiren akut menenjite neden olurlar. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında beyin omirilik sıvısı (BOS) kültürü nadiren anaerop kültür yönünden değerlendirildiği için veriler olduğundan daha düşük görülüyor olabilir. En fazla etken olan anaerop bakteriler; Bacteriodes fragilis grubu bakteriler, Fusobacterium türleri (çoğunlukla F. necrophorum ve Clostridium (C. perfringens) türleridir. Diğer anaeroplardan Gram pozitif anaerop koklar, Veillonella, Actinomyces, Propionibacterium acnes ve Eubacterium türleri ise daha az sıklıkla izole edilebilir. Anaeroplara bağlı menenjitlerde altta yatan kulak, burun ve boğaz enfeksiyonları, gastrointestinal hastalıkları veya kafatası kırıkları bulunmaktadır. Bunun yanı sıra kafa travması, lomber ponksiyon, baş boyun kanserleri, konjenital dermal sinüsler, meningorektal fistül, ventriküler şant, akciğer hastalıkları, peritonit ve pilonidal kist apsesi varlığı da menenjit gelişmesini kolaylaştıran durumlardır. Fusobacterium necrophorum kronik otitis media ve üst solunum yolu enfeksiyonlarında, Propionibacterium spp. ise özellikle ventrikülo-aurikülar ve venrikülo -peritoneal şantlarda izole edilmektedir. Anaerobik menenjitler genellikle monomikrobiyaldir. Ancak, dermal sinüs enfeksiyonlarında ve venrikülo-peritoneal şantta distal tübün barsağı perfore etmesiyle B.fragilis ve enterik bakterilerin yaptığı miks enfeksiyonlar gelişebilir. Beyin ameliyatları sonrası C.ferfringens'e bağlı menenjit gelişebilir, son derece ciddi syirli bir enfeksiyondur, uygun tedavi verilmesine karşın olguların üçte biri kaybedilir (8,9). Klinik bulgular ve laboratuvar veriler diğer bakterilerle gerçekleşen enfeksiyonlardan farklı değildir. Hastalarda baş ağrısı, kusma, ense sertliği, letarji ve ateş bulgular vardır. Bulgular bakteriyel menenjiti düşündürdüğü halde rutin laboratuvarda bakteri üretilememiş ise, BOS'un Gram yöntemi ile boyanmış preparatlarında bakteri görülmüş ise, nötrofil sayısı ve protein düzeyi artmış, glikoz seviyesi azalmış ancak, üreme yok ise anaerop enfeksiyon göz önüne alınmalıdır. Gram boyamada birden fazla bakteri görülmesine karşın daha az bakteri üretilmiş ise, bu da anaerop bakteri varlığını düşündürmelidir. Ayrıca uygun tedavi verildiği halde iyileşme olmuyor ise anaerop bakterinin de bulunduğu miks enfeksiyon akla gelmelidir (10).

Diğer steril vücut sıvılarından; pericard, timpanisentez, intraoküler (vitreus), hidrosel kist sıvısı, amnion sıvısı da anaerop kültür açısından işleme alınabilecek uygun örneklerdir. Özellikle amnion enfeksiyonu gerek anne gerekse fetüste yüksek mortalite ve morbiteye neden olabilir. İzole edilen herhangi bir mikroorganizma etken sayılır.

Kaynaklar

1. Finegold SM. Anaerobic bacteria: general concepts. In: Mandell LG, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practise of infectious diseases. 5th Edition, p.2519–75, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005.
2. Shin JH, Song SA, Kim MN, Lee NY, Kim EC, Kim S, Koo SH, Ryoo NH, Kim JS, Cho JH. Comprehensive analysis of blood culture performed at nine university hospitals in Korea. Korean J Lab Med. 2011;31(2):101-6.
3. Brook I. The role of anaerobic bacteria in bacteremia. Anaerobe. 2010; 16: 183-189.
4. Jousimies-Somer H, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler, HM, Finegold SM Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manual, 6th ed., Belmont CA: Star Publishing, 2002.
5. Brook I. Intra-abdominal infections in children. Pathogenesis, diagnosis and management. Drugs. 1993 Jul;46(1):53-62.
6. Cheadle WG, Spain DA.The continuing challenge of intra-abdominal infection. Am J Surg. 2003, 28;:15S-22S.
7. Doğan M, Baysal B. Identification of anaerobic bacteria isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic susceptibilities]. Mikrobiyol Bul. 2010 Apr;44(2):211-9.
8. Arnell K, Cesarini K, Lagerqvist-Widh A, Wester T, Sjölin J. Cerebrospinal fluid shunt infections in children over a 13-year period: anaerobic cultures and comparison of clinical signs of infection with Propionibacterium acnes and with other bacteria. J Neurosurg Pediatr. 2008 May;1(5):366-72.
9. Brook I. Meningitis and shunt infection caused by anaerobic bacteria in children. Pediatr Neurol. 2002 Feb;26(2):99-105.
10. Thomson RB Jr, Bertram H. Laboratory diagnosis of central nervous system infections. Infect Dis Clin North Am. 2001; 15(4):1047-71.

IFA TESTLERİNDE KALİTE VE GÜVENİLİRLİK

Derya MUTLU
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya

İndirek floresan antikor testleri otoantikorların saptanmasında kullanılan yöntemlerden en sık başvurulanı ve en subjektif olanıdır. Otoantikorların çeşitliliği ve saptanmalarında kullanılan hücre hatlarında yüzlerce proteinin eksprese edilmesi, tüm dünyada, adlandırılmalarında ortak bir dil oluşmasını zorlaştırmaktadır. Floresan mikroskobun ışık mikroskobundan daha fazla teknik bakıma ihtiyaç duyması ve temel yapısal farklılıkları, sonuçların güvenilirliğini etkileyen bir diğer faktördür. Son yıllarda ışık kaynağı olarak LED (light emmiting diode) kullanılan mikroskoplar, IFA testlerinde mikroskop kullanımını kolaylaştırmıştır.

IFA testlerinde kalite ve güvenilirliği etkileyebilecek unsurları altı ana başlıkta inceleyebiliriz.

- Sonuçların güvenilirliğini etkileyebilecek teknik sorunlar nelerdir?
- Substrat seçiminde dikkat edilmesi gerekenler nelerdir?
- Bildirimde pozitiflik 1-2-3-4 pozitif diye mi yoksa dilüsyonlarla mı yapılmalıdır? Hangi dilüsyonla başlanmalıdır?
- Herhangi bir hastalıkla ilişkisi kanıtlanmamış otoantikorlar da rapor edilmeli midir?
- Kaba granüler, ince granüler gibi alt gruplar da raporlanmalı mıdır?
- IFA testi diğer otoantikor testleri (ELISA, immunblot) ile birlikte nasıl kullanılmalıdır?

Son olarak da son yıllarda standardizasyonu arttırma amacıyla kullanımları gündeme gelen, Hep2 hücre hatlarında otoantikor tayinini otomatize olarak gerçekleştiren sistemlerden söz edilecektir.

Sonuçların güvenilirliğini etkileyebilecek teknik sorunlar nelerdir?

Foton kaynağı olarak kullanılan civalı lambanın kullanım ömrü yaklaşık 200 saattir. Bu süre aşıldığında lamba tarafından oluşturulan fotonların şiddeti azalmakta ve floresan görüntüler netliğini yitirebilmektedir. Ayrıca ışığın preparat üzerine doğru şekilde odaklanmasını sağlayan, lambanın yerleştiği yuvayı üç eksende hareketlendiren vidalar en uygun pozisyonuna getirilmelidir. Son yıllarda, IFA yöntemi ile otoantikor saptayan ticari kitlerin tamamında, konjugatta işaretleyici olarak FITC kullanılmasından yola çıkarak geliştirilen LED mikroskoplar, yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu mikroskoplar, halojen lambalı floresan mikroskopların kullandığı enerjinin onda birini kullanmaktadırlar. Ayrıca ısınma sorununun olmayışı hacim olarak küçük olmaları, istenildiğinde rahatlıkla açılıp kapatılabilmeleri, lamba ömürlerinin 50000 saat olması ve zararlı mor ötesi ışınları üretmemeleri bu mikroskopların sayılabilecek diğer avantajlarıdır. Tek dezavantajları ise işaretleyici olarak FITC dışında floresan maddelerin kullanıldığı diğer uygulamalar için uygun olmayışlarıdır.

Teknik sorunlardan kaynaklanan hataları engellemenin en doğru yolu, testi, üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışmak ve her çalışmaya pozitif ve negatif kontrollerin yanı sıra pozitif olduğu kanıtlanmış bir hasta örneğini eklemektir. Ayrıca dış kalite kontrol programına dahil olmak ve sonuçları değerlendirmek de hata olasılığını belirgin olarak azaltmaktadır.

Substrat seçiminde dikkat edilmesi gerekenler:

Anti-nükleer antikor, SLE (sistemik lupus eritomatozus)'li bir hastada ilk kez tanımlandığında hücre hattı olarak sıçan karaciğeri kullanılmıştı (1). Zaman içerisinde, insan larinks karsinomundan elde edilen HEp2 epitelyal hücre hattının kullanımı testin duyarlılığını büyük ölçüde arttırmış ve standardize olmasını sağlamıştır. HEp2 epitelyal hücre hattı yüksek çekirdek / sitoplazma oranı ve büyük çekirdekçikleri ile paternlerin birbirinden ayrımını sağlamakta, ayrıca yüksek mitotik aktivitesi nedeni ile mitoz sırasında eksprese olan antijenlere yönelik otoantikorların (Anti-sentrozomal antikorlar, iğsi cisim kutbu [spindle pole] antikorları, iğsi cisim iplikleri [spindle fibre] antikorları, orta cisim [mid-body] antikorları, anti-CENP-F proteini antikorları) saptanmasını olanaklı kılmaktadırlar. Son yıllarda mitotik aktivitesi HEp2 hücrelerine kıyasla 10 kat daha fazla olan HEp-20-10 hücre hattı içeren kitler kullanıma sunulmuşlardır.

Nötrofil sitoplazmasındaki çeşitli antijenlere yönelik olabilen ANCA (Anti-nötrofil sitoplazmik antikor) tespitinde kullanılacak substratların doğru olarak seçimi, ANA'nın yanlışlıkla ANCA pozitifliği olarak yorumlanmasını engellemekte aynı zamanda farklı klinik tablolarla ilişkili olabilen c-ANCA (sitoplazmik-ANCA) ve p-ANCA (perinükleer-ANCA) paternlerinin birbirlerinden ayrımının yapılabilmesini sağlamaktadır. Ayrıca bazı üretici firmalar ANCA pozitifliğine en sık neden olan anti- MPO (miyeloperoksidaz) ve anti- PR3 (proteinaz3) otoantikorlarının tanımlanması için MPO ve PR3 proteinlerini içeren kitler üretmektedirler.

Hangi dilüsyonla başlanmalıdır? Bildirimde pozitiflik 1-2-3-4 pozitif diye mi yoksa dilüsyonlarla mı yapılmalıdır?

Başlangıç serum dilüsyonu olarak 1/40 kullanılması çok sayıda yanlış pozitif sonuca neden olabilmektedir. Egner tarafından yapılan bir çalışmada 1/40 serum dilüsyonunda sağlıklı insanların üçte birinde ANA pozitifliğine rastlanmıştır (2). Bu nedenle kabul gören görüş, IFA ANA testinin 1/100 serum dilüsyonu ile çalışılmasıdır. Bununla birlikte genel bir kural olarak otoantikorlar ne kadar yüksek titrede saptanırlarsa otoimmun bağ doku hastalığının olma olasılığı da o kadar artmaktadır. İleri dilüsyonlarda testin tekrar edilmesinin zaman kaybına ve maddi kayıplara neden olması, 1/100 dilüsyonda pozitifliklerin 1-2-3-4 pozitif olarak raporlanmasını yaygın olan uygulama haline dönüştürmüştür.

Herhangi bir hastalıkla ilişkisi kanıtlanmamış otoantikorlar da rapor edilmeli midir?

Otoantikorların saptanması için HEp-2 hücre hattının kullanılması, çok sayıda ve bir kısmı da tanısal öneme sahip olmayan ya da otoimmun hastalıkların dışında başka hastalıkların tanısında kullanılabilecek otoantikorların da tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Metafazdaki yoğunlaşmış kromozomlara, sentriollere, vimentine ve lizozoma yönelik otoantikorların varlığı hiç bir klinik hastalıkla ilişkilendirilmediğinden, laboratuvar arşivinde sonuçlar saklansa da klinisyenlere bildirilmemeleri kabul gören uygulamadır. Anti-CENP-F antikorları gibi bazı otoantikorlar da otoimmun hastalıklarla ilişkili olmasalar da özellikle akciğer ve göğüs kanseri ile ilişkili olduklarından klinisyenlere bildirimleri hasta yararına olacaktır.

Kaba granüler, ince granüler gibi alt gruplar da raporlanmalı mıdır?

IFA ANA testinde saptanabilecek otoantikorlar beş ana grupta sınıflandırılabilirler.

1. Nükleer membrana yönelik otoantikorlar
2. Nükleoplazmaya yönelik otoantikorlar
3. Çekirdekçiğe (nucleolus) yönelik otoantikorlar
4. Mitotik iğsi cisim aparatına yönelik otoantikorlar
5. Sitoplazmaya yönelik otoantikorlar

Ana gruplar içerisinde yer alan boyanma paternleri Tablo 1'de özetlenmiştir. IFA ANA testi ile 25'den fazla farklı patern tanımlanabilmektedir ve bu paternlerin her biri farklı otoantikorlarla, dolayısıyla farklı otoimmun hastalıklarla ilişkilendirilmişlerdir. Bu da saptanan paternlerin mümkün olduğunca ayrıntılı tanımlanmasını gerekli kılmaktadır. Bu duruma en iyi örnek çekirdek membranına yönelik olanlardan düzgün olanın sistemik lupus eritomatozus (SLE), Sjögren sendromu ve seronegatif poliartrit ile ilişkili olması ve noktalı paternin ise primer biliyer sirozla ilişkili olmasıdır.

IFA testi diğer otoantikor testleri (ELISA, imunblot) ile birlikte nasıl kullanılmalıdır?

IFA ANA testinin bir tarama testi olduğu göz ardı edilmemeli ve saptanan pozitif sonuçlar diğer yöntemlerle mutlaka doğrulanmalıdırlar. Doğrulama yöntemlerinden en sık kullanılanları ve ticari kitleri kullanımda bulunanları ELISA ve İmmunblot'tur. Bu yöntemlerle, antikorların hangi hücresel proteinlere yönelik oldukları kesin olarak saptanabilmektedir. İmmunblot yöntemlerinin avantajı tek bir testle yaklaşık 15 farklı proteine yönelik otoantikorları saptayabilmeleridir. Ancak maliyetler ELISA yöntemleri ile kıyaslandığında 5-6 kata ulaşabilmektedir. IFA ANA yöntemi ile saptanan paterni oluşturabilecek birkaç otoantikorun doğrulanması amaçlı ELISA yöntemlerinin uygulanması, maliyet azaltıcı bir yaklaşım olacaktır.

IFA ANA testinin bir tarama testi olmasına rağmen, klinik süphenin çok güçlü olduğu durumlarda, IFA ANA negatif olsa bile doğrulama testlerinin uygulanması gereklidir. IFA yöntemi ile, var olan antikorların saptanamamasının nedeni HEp-2 hücre hattının cam üzerine fiksasyonu sırasında hücrelerde meydana gelen değişikliklerdir. HEp-2 hücrelerinin metanol ya da etanolle fiksasyonu sırasında SS-A/Ro antijeni stabilitesini yitirmekte, bunun sonucu olarak da, örneklerin bir kısmında bu proteine yönelik otoantikorlar IFA ANA testinde ya saptanamamakta ya da gerçek konsantrasyonundan daha düşük konsantrasyonlarda saptanmaktadır (3).

Laboratuvarda, IFA ANA testi pozitif olup immunblot testi negatif olan örneklerle de karşılaşılabilmektedir. İmmunblot testinde yaklaşık 15 otoantikor saptanabiliyorken, IFA yönteminde 25'den fazla paterne neden olacak otoantikorların saptanabiliyor olması bu sonuçların temel nedenidir. Karşılaşılan paternin iyi tanımlanması, bu uyumsuz sonuçların açıklanmasını kolaylaştırmaktadır.

Otoantikorların otomatize sistemlerle tayini:

Otoantikor tayininde preparatların mikroskopla kullanıcı tarafından değerlendirmelerinden kaynaklanan subjektivite, standardizasyonu ve tekrarlanabilirliği olumsuz yönde etkilemektedir. Bu sorunun aşılmasına yönelik olarak, immunfloresan paternleri otomatize şekilde tanımlayan sistemler geliştirilmektedir. Bu sistemlerle incelenen preparatlar, tecrübeli laboratuvar personellerinin değerlendirmeleri ile karşılaştırıldığında, pozitif ve negatif örneklerin ayrımında %92, pozitif örneklere ait paternlerde ise %90 düzeyinde uyum saptanmıştır (4). Bu sonuçlara bakıldığında yakın bir gelecekte otoantikorların tayininde bu tür sistemlerin yaygın biçimde kullanılacağını öngörmek yanlış olmayacaktır.

Özetle; kitlerin satın alınması aşamasında gerekli özenin gösterilmesi, hasta örneklerinin çalışılması aşamasında üretici firmanın önerilerine sadık kalınması, dış kalite kontrol programına üye olunması, karşılaşılan paternlerin mümkün olduğunca ayrıntılı tanımlanması ve IFA ANA testlerinin diğer otoantikor saptama yöntemleri ile uygun kullanımları, en doğru sonuçların klinisyenlere ulaştırılmasını sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Holbrow EJ, Weir DM, Jhonson GD. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. Br Med J 1957; 2 : 732-4.
2. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J Clin Pathol 2000;53:424.
3. Fritzler MJ, Miller BJ. Detection of autoantibodies to SS-A/Ro by indirect immunofluorescence using a transfected and overexpressed human 60kD Ro autoantigen in HEp-2 cells. J Clin Lab Anal 1995;9:2218–2224.
4. Egerer K, Roggenbuck D, Hiemann R, Weyer MG, Büttner T, Radau B, Krause R, Lehmann B, Feist E, Burmester GR. Automated evaluation of autoantibodies on human epithelial-2 cells as an approach to standardize cell-based immunofluorescence tests. Arthritis Res Ther. 2010;12:1-9.

Tablo 1. IFA ANA testinde saptanabilecek otoantikorlar

Nükleer membranla ilişkili otoantikorlar	Nükleoplazma ile ilişkili otoantikorlar	Çekirdekçikle ilişkili otoantikorlar	Mitotik iğsi cisimle ilişkili otoantikorlar	Sitoplazma ile ilişkili otoantikorlar
1. Düzgün nükleer membran paterni 2. Noktalı nükleer membran paterni	1. Homojen nükleoplazmik patern 2. Büyük granüler nükleoplazmik patern 3. Kaba granüler nükleoplazmik patern 4. İnce lekeli (fine speckled) nükleoplazmik patern 5. İnce taneli (fine grainy) scl-70 benzeri patern 6. Pleomorfik nükleer patern 7. Sentromerik patern 8. Çoklu nükleer nokta paterni 9. Az nükleer nokta paterni	1. Homojen çekirdekçik paterni 2. Dağınık (clumpy) çekirdekçik paterni 3. Noktalı (punctate) çekirdekçik paterni	1. Sentrozomal (sentriol) patern 2. İğsi cisim kutbu (spindle pole) paterni 3. İğsi cisim iplikleri (Spindle fibre) paterni 4. Orta cisim (mid-body) paterni 5. CENP-F proteini paterni	1. Diffüz sitoplazmik patern 2. İnce noktalı (fine speckled) sitoplazmik patern 3. Mitokondri benzeri sitoplazmik patern 4. Lizozom benzeri sitoplazmik patern 5. Golgi benzeri sitoplazmik patern 6. Kontakt protein paterni 7. Vimentin paterni

ELISA, AGLUTİNASYON, WESTERNBLOT/İMMUNBLOT VE KOMPLEMAN FİKSASYON GİBİ İMMÜNOLOJİK TESTLERDE KALİTE VE GÜVENİLİRLİK

Neşe KAKLIKKAYA
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

Kalite en geniş anlamı ile "kusur içermeme", "ürün memnuniyetsizliği oluşturmama" ya da "standartlara uygunluk" olarak tanımlanabilir. Güvenilirlik ise "aynı süreçler izlenip, aynı ölçütler kullanıldığında aynı sonuçların alınması" durumudur. Seroloji laboratuarları açısından "hastadan uygun örnek alınması, bu örnekten zamanında, geçerli, tekrarlanabilir, iyi yorumlanmış ve doğru sonuçlar elde edilmesi ve bu sonuçların gerekli birimlere doğru bir şekilde aktarılması" kalite ve güvenilirliği oluşturan en önemli unsurlar olarak öne çıkmaktadır.
ELISA, aglutinasyon, western blot/immün blot, kompleman fiksasyon ya da hemaglutinasyon inhibisyon gibi immünolojik testlerin birçoğunu hemen hergün laboratuvarlarımızda çalışmaktayız. Bu testler için kalite ve güvenilirliğin oluşturulabilmesi hem preanalitik, hem analitik hem de postanalitik dönemlerin kontrolünü gerektirir. Laboratuvar hatalarının en sık preanalitik dönemde ortaya çıktığı gösterilmiştir. Örneğin İtalya'da yapılan bir çalışmada tüm laboratuvar hatalarının %61.9'unun preanalitik dönemden, %15.0'inin analitik dönemden, %23.1'inin ise postanalitik dönemden kaynaklandığı bildirilmiş, Hollanda'da yapılan bir çalışmada preanalitik dönemde %14, analitik dönemde %0.2, postanalitik dönemde %7.2 oranlarında hata yapıldığı belirlenmiştir.
Preanalitik dönemde en sık yapılan hatalar; hastalığa ve hastalık dönemine uygun olmayan test istemi, örnek alım hataları (hemolizli, pıhtılı, lipemik ya da yetersiz örnek, vs), hasta-örnek uyumsuzluğu (etiketlemede hata yapılması), formlarda hasta ve hekim bilgilerinin ya da ön tanının belirtilmemesi, uygun olmayan örnek kabı kullanılması, örneğin yanlış saklanması ve uygunsuz transportu, örneğin çalışmaya hazırlanmasında yapılan hatalar (kabın kırılması, örneğin dökülmesi, santrifüjleme hataları, bölümlere ayırma hataları, ön işlem hataları, örneklerin karıştırılması) ve hemen çalışılamayacak örneklerin uygun olmayan şekilde saklanması gibi hatalardır. Preanalitik dönem hatalarının en aza indirilmesinde laboratuvar sorumlularının en önemli görevi örneklerin hastalığın hangi döneminde, hangi yolla, hangi miktarda, hangi kaba alınması gerektiği, ayrıca hangi yolla, ne sürede ve hangi şartlarda laboratuvara gönderilmesinin uygun olduğu konularında ilgili personeli bilgilendirici dökümanlar hazırlamak ve bu konularda eğitim vermektir. Her laboratuvar, her örnek türü için örnek kabul ve ret kriterlerini belirlemeli ve uygun olmayan örnekler için örnek ret formu doldurarak hataların giderilmesi için girişimlerde bulunmalıdır.
Analitik dönemde kalitenin sağlanabilmesinde en önemli faktörler; laboratuvarda kullanılacak testlerin seçimi, testlerin iç kalite kontrol ve dış kalite kontrol prosedürleri ile denetlenmesi, laboratuvar cihazlarının kontrolü ve tüm bunların düzenli ve sürekli olarak gözden geçirilmesidir.
Laboratuvarda uygulanacak testlerin belirlenmesinde göz önünde bulundurulması gereken çeşitli faktörler vardır.

1. Bu teste klinik gereksinim var mı? (Tanı, tarama ya da doğrulama testi olarak kullanılabilir mi? Hastalığın toplumda görülme sıklığı nedir?)
2. Kısa sürede kesin ve doğru sonuç verebilecek mi? (Klinisyene doğru ve hızlı tedavi olanağı sağlayabilecek mi?)
3. Maliyet etkin mi? (Bütçe Uygulama Talimatında karşılığı var mı? Çalışılan laboratuvara kar getirebilecek mi?)
4. Laboratuvarın fiziksel yapısı uygun mu? (Cihazlar için yeterli alan mevcut mu? Çalışma alanları ve örnek saklama koşulları yeterli mi?)
5. Testi çalışacak teknik personel sayısı ve personelin eğitimi yeterli mi?
6. Testte kullanılacak sistemler/cihazlar ve reaktifler ulusal ve uluslararası kalite onayına sahip mi?
7. Testin performans parametreleri yeterli düzeyde mi?

Herhangi bir metot bir laboratuvarda ilk defa uygulanacağı zaman, bir analiz için yeni metot geliştirildiğinde, kullanılmakta olan metotta değişiklikler yapıldığında, onaylanmış bir metot başka bir laboratuvarda/kişi/cihaz ile kullanılacağı durumlarda ve akredite bir laboratuvarda belirli aralıklarla (örneğin; yılda bir) testlerin performans parametreleri belirlenmelidir.

Testlerin performansının değerlendirilmesinde kullanılan parametreler;
Doğruluk (accuracy): Test sonuçlarının standart (referans) olarak kabul edilmiş olan test sonuçlarına uyumu olarak tanımlanır. Doğruluğun değerlendirilmesinde yöntem karşılaştırma, referans materyal ile doğruluğun tespiti ya da geri kazanım deneyleri uygulanabilir.

1. Kesinlik (tekrarlanabilirlik, presicion): Seçilecek test birçok kez uygulandığında aynı sonucu verebilme özelliğidir. Bu özellik testin aynı çalışmada "intra-run, intra-assay", çalışmalar arası "inter-run, inter-assay" ya da laboratuvarlar arası "inter-laboratory" olarak tekrarlanması ile belirlenebilir. Normal kontrol serumu 20 kez ardışık olarak çalışılır, standart sapma (SD), varyasyon katsayısı (%CV) hesaplanır. Rastlantısal hata veya sistematik hata olup olmadığı belirlenir.

SD=Veri değerlerinin aritmetik ortalamadan farklarının karelerinin toplamının veri sayısı -1'e bölümünün kare köküdür.
%CV=(SD/ortalama)x100

%CV'nin düşük olması kesinliğin (tekrarlanabilirliğin) yüksek olduğunu gösterir. Çoğu yöntem için %CV'nin 5'ten küçük olması tercih edilmektedir.

2. Analitik duyarlılık (limit of detection): Bir yöntemin saptayabildiği en düşük konsantrasyondur.
3. Kantitasyon aralığı (reportable range): Testin kantitasyon yapabildiği alt ve üst sınırlardır.
4. Doğrusallık (linearity): Kantitatif testler için yapılır. Kontrol serumu en az 3 dilüsyonda ikişer kez çalışılarak her dilüsyonun ortalaması alınır ve bu ortalamalar beklenen standart değerlere karşı değerlendirilir. Doğrusallığın belirlenmesi için regresyon analizleri yapılır, korelasyon katsayısı belirlenir. Korelasyon katsayısının 1'e yakın bir değer göstermesi beklenir.
5. Duyarlılık (sensitivity): Testin gerçek pozitifleri saptayabilme oranıdır.
6. Özgüllük (specificity): Testin gerçek negatifleri saptayabilme oranıdır.
7. Pozitif tahmin değeri (positive predictive value, PPV): Testin saptadığı pozitiflerin gerçekten pozitif olma olasılığıdır.
8. Negatif tahmin değeri (negative predictive value, NPV): Testin saptadığı negatiflerin gerçekten negatif olma olasılığıdır.
9. Verimlilik (efficiency): Doğruluk (accuracy) ile eş anlamlı olarak da kullanılmaktadır. Testin doğru olarak saptadığı (gerçek pozitif + gerçek negatif sonuçların) tüm sonuçlara oranıdır.

Duyarlılık, özgüllük, PPV, NPV ve verimlilik yeni testin altın standart (referans) bir test ile karşılaştırılması ile hesaplanır (Tablo 1).

Tablo 1. Duyarlılık, özgüllük ve verimliliğin hesaplanması

		GEÇERLİ (REFERANS) TEST		
		Pozitif	**Negatif**	
YENİ TEST	**Pozitif**	Gerçek pozitifler (a)	Yanlış pozitifler (b)	PPV=a/a+b
	Negatif	Yanlış negatifler (c)	Gerçek negatifler (d)	NPV=d/d+c
		Duyarlılık=a/a+c	Özgüllük=d/b+d	Verimlilik=a+d/a+b+c+d

IVD/CE belgeli veya FDA onaylı ticari kitlerin laboratuvarda kullanılabilirliğinin test edilmesinde (verifikasyon, onaylama) minimum gereksinimler testlerin doğruluğunun, kesinliğinin ve kantitatif testler için linearitesinin belirlenmesidir. Bu testler için gereken minimum örnek sayıları Tablo 2'de belirtilmiştir.

Tablo 2. Testlerin verifikasyonu için gereken minimum örnek sayıları

		Gerekli örnek sayısı	
		Kalitatif testler	**Kantitatif testler**
Doğruluk (*accuracy*)	Pozitif	3	3
	Düşük pozitif	3	3
	Negatif	3	3
Kesinlik (*intra-assay*)	Pozitif	1	4
	Düşük pozitif	1	3
Kesinlik (*inter-assay*)	Pozitif	1	2
	Düşük pozitif	1	2
Doğrusallık (linearty)	Pozitif	0	2 (10 katlık sulandırımlar içeren en az üç dilüsyon)

Laboratuvarda geliştirilen yeni testler için geçerlilik kontrolü (validasyon) için ise minimum ihtiyaç doğruluk, duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve kantitatif testler için doğrusallık testleridir. Testlerin validasyonu için gereken minimum örnek sayıları Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Testlerin validasyonu için gereken minimum örnek sayıları

		Gerekli örnek sayısı	
		Kalitatif testler	**Kantitatif testler**
Doğruluk (*accuracy*)	Pozitif	3	3
	Düşük pozitif	3	3
	Negatif	3	3
Duyarlılık (*sensitivity*)	Pozitif	10	10
	Düşük pozitif	10	10
Özgüllük (*specificity*)	Negatif	20	20
Kesinlik (*intra-assay*)	Pozitif	1	6
	Düşük pozitif	1	3
Kesinlik (*inter-assay*)	Pozitif	1	2
	Düşük pozitif	1	1
Doğrusallık	Pozitif	0	2 (10 katlık sulandırımlar içeren en az üç dilüsyon)

İç kalite kontrol, örneğin laboratuvara kabulünden sonuçların gerekli birimlere iletilmesine kadar gerçekleşen tüm aktivitelerin kontrolünü sağlar. İç kalite kontrolün bir uygulaması olarak laboratuvara kabul edilen tüm örneklerin %0.5-1'inin tekrar çalışılması önerilmektedir. Bunun için ya laboratuvara kabul edilen ya da daha önce çalışılmış ve uygun şartlarda saklanmış ve rastgele olarak seçilen örnekler kullanılır. Saklama koşullarında uygunsuzluk, pozitif örnek azlığı gibi durumlarda bilinen miktardaki analit örneklere eklenerek "spiked" örnekler de oluşturulabilir. Örnekler ikiye bölünür. Birinci örnek rutin örnek kabul numarası ile çalışılır, ikincisine yeni bir internal kalite kontrol numarası verilir. Her ikisi de aynı yöntem kullanılarak çalışılır. Testler arasında uyumsuzluk olup olmadığı değerlendirilir. Uyumsuz sonuçlar dökümante edilir. Her ay bu sonuçlar gözden geçirilerek gerekli önlemler alınır. Bu aşamada laboatuvar çalışanlarının da sorunları tartışma ve çözüme katkı sağlama bakımından cesaretlendirilmesi gereklidir.

Her çalışmada mutlaka iç kalite kontrol örnekleri kullanılmalıdır. Kitlerin kendi kontrol örnekleri iç kalite kontrol örneği olarak kabul edilebilir. Ancak daha iyisi içindeki antikor ya da antijen miktarı belirlenmiş olan bağımsız kontrol (run-control) örneklerinin kullanılmasıdır. Bu örnekler uluslararası, ulusal ya da lokal standart serumlar ya da serum havuzları olabilir. Bu örnekler bir yıl boyunca yetecek miktarda olmalı, ticari olarak elde edilmiş örneklerde aynı lot numarasına sahip olmalı ve her çalışma için yetecek ölçüde bölümlendirilerek uygun şartlarda muhafaza edilmelidir. Her çalışmada iki ya da üç konsantrasyon düzeyi kullanılmalıdır. Bu örneklere ulaşılamıyorsa laboratuvar yapımı bağımsız kontrol örnekleri de hazırlanabilir. Bunun için daha önce kullanılan testler ile iyi karakterize edilmiş ve miktarı klinik olarak anlamlı ölçüler içerisinde olduğu belirlenmiş olan örnekler seçilir. Düşük pozitif değer taşıyan (genellikle cut off değerininin yaklaşık 2 katı) bir örnek ve yüksek pozitif bir örnek, testin dilüent solüsyonuna ya da aranan antijen ya da antikoru içermeyen bir klinik örneğe katılarak uygun dilüsyonlar (½, ¼, 1/8,… gibi) hazırlanır. Kitlerin kalibratörleri iç kalite örneği olarak kullanılmamalıdır.

İç kalite kontrol değerlendirmesi için uygun kontrol materyali seçildikten sonra bu örnek 20 ayrı test çalışmasında kullanılır ve elde edilen değerler kaydedilir. Bu değerlerin ortalaması ve ±1SD, ±2SD, ±3SD değerleri hesaplanır. Kabul edilebilir aralık ±2SD'dır. Grafik kağıdının y eksenine ortalama ve ±1SD, ±2SD, ±3SD değerleri kaçıncı kontrol olduğu ya da gün işlenerek Levey-Jennings ya da Shewart çizelgeleri hazırlanır. Her bir ölçümde elde edilen değer bu grafikte gösterilerek her iki örnek için iki ayrı grafik hazırlanır. Westgard kuralları kullanılarak grafikler değerlendirilir.

Westgard'ın uyarı kuralları;

1_{2SD} kuralı: Bir kontrol örneğinin bir kez ±2SD'un dışında kalmasıdır. Rastlantısal hatayı gösterir. Diğer bütün örnekler ±2SD içerisinde ise başka bir kural uygulanmaz.

2_{2SD} kuralı: İki ardışık örneğin aynı yönde ±2SD'un dışında kalmasıdır. Sistematik hata olarak yorumlanır.

4_{1SD} kuralı: Dört ardışık örneğin aynı yönde ±1SD'un dışında kalmasıdır. Kalibrasyon ya da cihaz kontrolü yapılmalıdır.

Westgard'ın test tekrarı gerektiren (alarm, zorunlu) kuralları;

1_{3SD} kuralı: Bir kontrol örneğinin bir kez ±3SD'un dışında kalmasıdır. Rastgele hata olarak yorumlanır.

R_{4SD} kuralı: Ardışık iki örneğin arasındaki farkın ±4SD'un üzerinde olmasıdır. Rastgele hata olarak kabul edilir.

10x kuralı: 10 ardışık örneğin aynı yönde ortalamanın dışında kalmasıdır. Sistematik hata olarak kabul edilir. Genellikle bir reaktifte sorun olduğunun bir göstergesidir.

Westgard'ın tekrar kurallarında; önce problemin kaynağı (iyi standardize edilmemiş yeni teknik, reaktiflerin kontrolü, cihazların kontrolü, personel hataları gibi) belirlenir, tedbirler alınır. Kontroller ve hasta örnekleri tekrar çalışılır.

Laboratuvar çalışmalarının düzgün bir şekilde yürütülebilmesi için alet ve cihazların bakımları ve kalibrasyonları düzenli aralıklar ile yapılmalıdır. Örneğin su banyosu, inkübatör ve soğutucuların ısı ölçümleri düzenli aralıklar ile yapılmalı ve not edilmelidir. Cihazların günlük ve haftalık bakımları laboratuvar personeli tarafından, aylık, yıllık

ve gerekli görüldüğü diğer zamanlarda firma tarafından yapılmalı ve bu bakımlar belgelendirilmelidir. Pipetlerin kalibrasyonları belirli aralıklar ile kontrol edilmeli ve ilgili firma tarafından kalibre edilmelidir.
İç kalite prosedürlerinin uygulanmasının yanında her laboratuvar dış kalite kontrol programlarına katılmalı, sonuçları değerlendirerek uygunsuz sonuçlar için düzenleyici önlemler uygulamalıdır. Dış Kalite Kontrol Programı laboratuvarlar, yöntemler ve kitler arasında analiz performanslarının karşılaştırılmasını sağlar. Dış kalite kontrol programında referans laboratuvar tarafından hazırlanan klinik ya da "spiked" örnekler kullanılır. Katılımcılar normal laboratuvar prosedürlerini uygulayarak sonuçlarını bildirir. Kontrol örneklerinin içerdiği antijen ya da antikor miktarı katılımcı tarafından bilinmemektedir. EQAS, NEQAS, QCMD, Labquality, CAP, Instand, Digital PT en çok başvurulan dış kalite kontrol kurumlarıdır. Dış kalite kontrol sonuçları ile tüm katılımcıların sonuçlarının özeti, çalışma yöntemi ve kite göre değerlendirme, referans aralığına göre değerlendirme, Levey-Jennings grafikleri ile son bir yıla ait sonuçların değerlendirilebilmesi mümkün olabilmektedir.
Analitik süreçte hataların en aza indirilmesinde en önemli etkenlerden biri de "standart uygulama prosedürleri" hazırlanması ve bu prosedürlere uyumun sürekli olarak denetlenmesidir. Genel anlamda bakıldığında tüm serolojik testlerde, testler çalışılmadan önce tüm reaktifler ve hasta örnekleri oda ısısına getirilmeli, pipetleme hatası yapılmamalı, pipetleme esnasında çapraz kontaminasyon önlenmeli, her kitin kendi reaktifleri ve solüsyonları kullanılmalı, test prosedürüne uyulmalı, miyadı dolan kitler kullanılmamalıdır. Bunun yanında tüp aglutinasyon testleri için değerlendirme esnasında tüplerin çok hızlı çalkalanmaması, mutlaka negatif kontrol, pozitif kontrol ve antijen kontrol tüplerinin kullanılması, tüplerin temizliğinden emin olunması, mikroELISA testleri okunurken kuyucuklarda hava kabarcığı kalmadığından emin olunması, sürelere mutlak suretle uyulması, yıkamalar arasında kuyucukların kurumamasına dikkat edilmesi, gaita gibi birçok farklı yapılar içeren örneklerin santrifüj edilerek ya da süzülerek kullanılması, western blot çalışılırken striplerin kurumamasına ve kirlenmemesine, el ile temas etmemesine dikkat edilmesi, sonuçları değerlendirilirken aynı çalışmadan elde edilmiş kontrol bantları ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi gibi her testte dikkat edilmesi gereken çeşitli çalışma kuralları da vardır.
Postanalitik süreçte ise tüm sonuçlar laboratuvar sorumlusu tarafından analiz edilmeli, yorumlanmalı, panik değerler bildirilmeli ve kaydedilmeli ve sonuçlar anlaşılır bir biçimde yazılarak onaylanmalıdır.
Sonuç olarak söylenebilir ki; seroloji laboratuvarlarında kaliteli bir hizmet verebilmek ve bunu ispat edebilmek için sürekli olarak "Planla", "Uygula", "Kontrol et" ve "Önlem al" sürecini aktif tutmak ve her yapılanı belgelemek gereklidir.

Kaynaklar

1. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. Clin Chem. 2007 Jul;53(7):1338-42.
2. Stroobants AK, Goldschmidt HM, Plebani M. Error budget calculations in laboratory medicine: linking the concepts of biological variation and allowable medical errors. Clin Chim Acta. 2003 Jul 15;333(2):169-76.
3. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. J Clin Virol. 2007 Oct;40(2):93-8.
4. Quality assurance in the diagnostic virology and serology laboratory, Issue no: 6 Issue date 24.11.10 Issued by: Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training Page 1 of 23, QSOP 27i6.

MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KLİNİK MİKROBİYOLOJİDE KULLANIMI NE ZAMAN? NEREDE? NE KADAR?
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ

Füsun CÖMERT
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Zonguldak

Teknolojideki tüm ilerlemelere rağmen halen yaygın olarak gözlenmekte olan infeksiyon hastalıkları Dünya Sağlık Örgütü tarafından çocuk ve erişkinler için en büyük katil olarak tanımlanmaktadır. Her yıl 17 milyon kişinin infeksiyon hastalıkları ile yaşamını yitirdiği belirtilmekte, bunların çoğunun bakteriyel infeksiyonlara bağlı olduğu açıklanmaktadır. Bu nedenle bakteriyel infeksiyonların kontrolü halen önemli bir sorundur ve etken patojenin mikrobiyoloji laboratuarı tarafından belirlenmesi ile büyük oranda ilişkilidir.

Tanısal tıbbi bakteriyoloji laboratuvarı infeksiyon etkeninin izolasyonu, tanımlanması, antibiyotik duyarlılığının ve gerekirse virülans faktörlerinin belirlenmesi, izolatların karşılaştırılarak epidemiyolojik analizlerinin yapılması ile yükümlüdür. Geçtiğimiz 20 yıl boyunca moleküler teknikler çok hızlı ilerleme göstermiş, nükleik asit çoğaltma teknolojisi, mikrobiyal tespit ve tanımlama için yeni bir dönem başlatmıştır. Klinik mikrobiyolojide moleküler yöntemlerin kullanılması genellikle viroloji laboratuarlarında olmuş, bakterilerin üretilme ve tanımlanmasının daha kolay olması nedeniyle bakteriyoloji laboratuarlarında kullanılmamıştır. Yüz yıldan fazla süredir kullanılan geleneksel yöntemler klinik bakteriyoloji alanındaki gereksinimlerimizi şimdiye kadar büyük ölçüde karşılamıştır. Bakteri kültürü; kantitatif olabilmesi, fenotipik ve genotipik özelliklerin belirlenebilmesine olanak sağlaması ve antibiyotik duyarlılık testinin yapılabilmesi nedeniyle bir anlamda bakterinin tüm fotoğrafını göstermektedir. Tüm bunlara rağmen yavaş olması, ustalık ve eğitim gerektirmesi ve sadece kültürde üreyen bakteriler için uygulanabilmesi, antibiyotik kullanan hastalarda duyarlılığının düşük olması gibi dezavantajlara sahiptir. Bunun dışında kantitasyonun gerçekliği üzerine tartışmalar mevcuttur. Benzer olarak moleküler yöntemler için de avantaj ve dezavantajlar mevcuttur. Hız, yüksek duyarlılık ve uygun saklanmamış örneklere dahi uygulanabilir olmaları avantajlarıdır. Ek olarak, veri tabanı ve filogenetik ağaç kolaylıkla yapılabilir ve otomasyonu mümkündür. Maliyetinin yüksek olması, farklı çalışmalar için bakterinin izole edilmemiş olması, örnek yeterliliğinin tanımlanmamış olması, (özellikle mikrobiyolog olmayan kişilerce uygulandığında) kontaminasyon riski, sıklıkla doğrulama testlerine ihtiyaç duyulması ve henüz çok yaygın kabul görmemiş olmaları en belirgin dezavantajlarıdır.

Klinik mikrobiyoloji laboratuarında moleküler tanımlama üç amaca hizmet edecek şekilde kullanılmaktadır;

1. Kültürde üretilen mikroorganizmanın tanımlanması
2. Tanısal çerçevede, herhangi bir mikroorganizmanın klinik örnekte hızlı tanımlanması
3. Kültür yapılamayan örneklerde bir mikroorganizmanın tanımlanması (örn:kültür negatif endokardit)

Modern klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının çoğu, koloni morfolojisi, biyokimyasal ve serolojik belirteçlere dayanarak, cins ya da tür düzeyinde bakteri tanımlaması yapabilmektedir. Etken mikroorganizmanın net ve doğru olarak tanımlanması öncelikle doğru epidemiyolojik veriler elde edilebilmesi ve infeksiyonun kontrol altında tutulabilmesi bakımından önemlidir. Bazen hekim, klinik örneğin Gram inceleme ve antibiyogram sonucuna dayanarak hastasına uygun tedaviyi vermekte yetinebilmektedir. Ancak genel olarak güvenilir, maliyet etkin ve hızlı tanımlama testlerine gerek duyulmaktadır. Pek çok laboratuvar bakterilerin biyokimyasal profiline göre fenotipik tanımlama yapan ticari sistemler kullanmaktadır. (API, BBL v.b.) Bu yöntemlerin biri ya da bir kaçının birlikte kullanılmasıyla sık rastlanan pek çok bakterinin tanımlamasının yapılması mümkün olmaktadır. Ancak non-fermenter Gram negatif bakteriler gibi bazı bakterilerde bunlara rağmen sorunlar yaşanabilmektedir.

Geleneksel kültür yöntemleriyle bakteri tanımlaması yapılabilecek kadar üremenin sağlanabilmesi zaman alıcı olduğundan bu süreçte hastanın ampirik olarak tedaviye alınması gerekmektedir. Bu durumun dezavantaj oluşturacağı hastalar için etkenin örnekten moleküler yöntem kullanılarak tanımlanmasının zaman kazandırıcı olabileceği düşünülmektedir. Konvansiyonel kültür yöntemlerinin yetersiz olabildiği durumlarda (önceden antibiyotik kullanımı, HACEK gibi güç üreyen bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, M. tuberculosis gibi yavaş üreyen bakteriler, hücre kültürü gibi özel kültür tekniği gerektiren Chlamydia spp ve Coxiella burnetti gibi bakteriler) mikroorganizma tanımlanmasında moleküler yöntemler önemli avantajlar sunmaktadır .

İnfeksiyonun etkeninin tanımlanmasının yanı sıra, antibiyotik direnç genlerinin moleküler yöntemlerin kullanılmasıyla tanımlanması konusu üzerindeki vurgu giderek artmaktadır. Bu konudaki çalışmalar başlıca dört uygulamada odaklanmıştır; direk olarak hasta örneğinde direnç genlerinin belirlenmesi, güç üreyen bakterilerde direnç genlerinin veya direnç ile ilişkili mutasyonların tanımlanması, sınırdaki antibiyotik direncinin klinik öneminin belirlenmesi, standardize antibiyotik duyarlılık testinin olmadığı durumda antibiyotik direncinin belirlenmesi.

Klinisyenin moleküler tanıdan beklentisi;

1. Günde 24 saat, haftada 7 gün uygulanabilir, birkaç saatten uzun sürmeyen test süresi
2. Ucuz, antibiyotik kullanımını azaltan, klinik gidişi düzelten, halk sağlığına yararlı (ampirik antibiyotik kullanımını ve antibiyotik kullanım süresini azaltan, ilaç giderlerini azaltan) özelliklere sahip
3. Dirençli bakteri seçimini azaltan
4. Kolonizasyon/infeksiyon ayırımı imkanı sağlayan bir testtir.

Maalesef bu özelliklere sahip testlerin sayısı son derece kısıtlıdır.

Günümüzde kültürde üreyen ya da üretilemeyen bakteri kaynaklı infeksiyonlarda etken tanımlama ve genotiplemeye yönetik çeşitli moleküler yöntemler mevcuttur. Çeşitli ticari sistemlerin tanımlanmış olmasına rağmen, maalesef klinik mikrobiyoloji laboratuarlarında kullanılan yöntemlerin çoğu 'in-house' uygulama şeklindedir. Avrupa'da, bazı merkezlerin bazı özel organizmalar için yapmaya çalıştığı birkaç uygulama dışında, halen bu yöntemlerin, yerel, ulusal ve uluslararası standardizasyonuna yönelik bilgi çok kısıtlıdır. Standardize testlerin bulunmaması, laboratuarlararası sonuç farklılıkları epidemiyolojik olarak kafa karıştırıcı veri kirliliğinin oluşmasına neden olmaktadır. Son dönemde gıda kaynaklı bakteriyel infeksiyonların surveyansı için PulseNet yoluyla bakteri alt tiplendirmesinin standardizasyonu çalışmaları başlamış durumdadır. Avrupa laboratuarlarını birbirine bağlayan ENEMTİ (European Network for Exchange of Microbial Typing Information) adı verilen bir network oluşturularak, yöntem standardizasyonu ve mikrobiyal fingerprinting verilerinin paylaşımı sağlanmaya çalışılmaktadır. Bunun dışında Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Cemiyetinin (ESCMID) Epidemiyolojik Belirteçler Çalışma Grubu, mikrobiyolojik tiplendirme sistemlerinin kliniğe uygulanması ve uygun kullanımının sağlanması konusunda öneriler geliştirmeye çalışmaktadır. Bu grup; fikir birliği geliştirme, fikirlerin paylaşılması için bir forum oluşturması, tiplendirme testlerinde standardizasyon, mikrobiyal tiplendirmede teknolojik gelişimler gibi hedefler üzerinde çalışmaktadır.

Moleküler tanı testlerinin rutin bakteriyolojide kullanımı konusundaki avantajlar ve dezavantajlar Tablo'da özetlenmiştir. Hali hazırda bu testler çeşitli faktörlere bağlı olarak daha ziyade özelleşmiş ya da referans laboratuarlarda uygulanmaktadır. PCR, real-time PCR ve PFGE gibi moleküler yöntemlerin bölgesel tanı laboratuarlarında da uygulanabilirliğini sağlayan bir yaklaşım, herhangi bir salgın durumunda anında bilgi imkanı ile hızlı müdahale olanağı ve kültürde üremeyen veya güç üreyen bakterilerin tanımlanması olanağı sağlayacaktır.

Tanısal açıdan bakıldığında, öncelikle karar verilmesi gereken, kullanılacak yöntemin hızlı olmasının gerekip gerekmediğidir. Hız, genellikle önemli olmasına rağmen, sonuçların dakikalar-saatler ya da saatler-günler içinde verilmesinin hasta ve ekonomi yönünden yararı belirlenmelidir. Çok hızlı sonuç gerekmediği zaman daha yavaş ve ucuz olan testler kullanılabilir. Eğer tedavi için mutlaka sonuçların bilinmesi gerekiyorsa hızlı tanı yöntemleri uygulanabilir. Bu durum menenjit ve sepsis gibi riskli infeksiyonlar için söz konusudur. Kan kültürü çok avantajlı olmasına rağmen, sonuçların bildirilmesi zaman almaktadır. Benzer olarak pediatrik infeksiyonların bazıları erken tanı gerektirmektedir. Benzer şekilde cinsel yolla bulaşan hastalıkların hızlı tanısıyla, hasta henüz kliniği terk etmeden tedavi edilme olanağı bulabilecektir. Rutin tanı prosedürü için geleneksel ve moleküler yöntemlerin kombinasyonu optimal bilgi sağlanması bakımından yararlıdır.

Tablo.Moleküler yöntemlerin klinik bakteriyolojiye adaptasyonunun avantaj ve dezavantajları

Değerlendirme kriterleri	**Avantajlar**	**Dezavantajlar**
Tanımlama doğruluğu	Kültür güçlüğü olan infeksiyon etkenlerinin tanımlanması • Negatif kültür • Pahalı kültür • Yavaş üreyen bakteriler • Güç üreyen bakteriler • Hücre bağımlı bakteriler • Hücre kültürü laboratuarı gerektiren kültür işlemleri • Serolojik testlerin sınırlı olduğu güç ve özel kültür gereksinimi • Antibiyotik kullanımı sonrası etiyolojik etkenin tanımlanma gerekliliği	Kontaminant bakteriler ile ilgili sorunlar • Uygun DNA ekstraksiyonu ve PCR kontrollerinin kullanılması ile aşılabilir • Tanımlanan etken hastanın klinik öyküsü ile birlikte değerlendirilmeli
Tanımlama zamanı **a)** kültür-pozitif ve/veya seroloji pozitif b) Kültür-negatif ve/veya seroloji pozitif c) kültür negatif ve seroloji negatif	Konvansiyonel tanımlama sonuçlarının doğrulama olanağı • Güç üreyen ve hücre bağımlı bakteriler için konvansiyonel yöntemlere göre hızlı tanı olanağı • Seroloji sonuçlarının doğrulanması • Non-spesifik yalancı pozitif serolojik sonuçlarının belirlenme olasılığı • Tüm konvansiyonel testlerin negatif olduğu durumda etkenin tanımlanma olanağı	• Kültürde kolay üreyen bakteriler için PCR ve dizi analizi için gereken süre kültüre göre daha uzun • PCR ve dizi analizi için gereken süre serolojiye göre daha uzun
Tedaviye etki	Özellikle kültür ve serolojinin negatif olduğu infeksiyonlarda etkenin tanımlanması ile uygun tedavinin yapılabilmesi	

Maliyet etkinlik	• Kültür ve serolojinin negatif olduğu durumlarda, olası diğer bakteriler için özel kültür ve serolojik testlerin yapılmasına gerek kalmaması • Uygun ve ekonomik antibiyotiğin erken kullanımına imkan sağlaması • Hastanede kalış süresinin kısalması	• Konvansiyonel kültür ve seroloji erken ve doğru sonuç verdiği zaman pahalı • Onarım maliyeti yüksek özel cihaz ekipmanı gerekliliği • Mekan sorunu • Moleküler yöntemler konusunda eğitim eksikliği • Özel eğitim gerekliliği

Kaynaklar

1. Poxton IR: Molecular tecniques in the diagnosis and management of infectious diseases: do they have a role in bacteriology? Med Princ Pract 2005,14(suppl):20-26
2. Versalovic J, Lupski J: Molecular detection and genotyping of pathogens:more accurate and rapid answers. Trends in Microbiology 2002,10:10(suppl):15-21
3. Weile J, Knabbe C: Current applications and future trends of molecular diagnosis in clinical bacteriology. Anal Bioanal Chem 2009, 394:731-742
4. Sontakke S, Cadenas M, Maggi RG, Diniz PP, Breitschwerdt EB: Use of broad range 16S rDNA PCR in clinical microbiology. J Microbial Methods 2009, 76:217-225
5. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, Yao JDC, Wengenack NL, Rosenblatt JE, Cockerill III FR, Smith TF: Real-time PCR in clinical microbiology:application for routin laboratory testing. J Clin Microbiol Rev 2006, 19(1):165-256
6. Taha M-K, Olcén P: Molecular genetic methods in diagnosis and direct characterization of acute bacterial central nervous system infections. APMIS 2004, 112:753-70
7. Tenover FC: Rapid detection and identification of bacterial pathogens using novel molecular tecnologies:infection control and beyond. Clin İnfect Dis 2007, 44:418-23
8. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M:The era of molecular and other non-culture based methods in diagnosis of sepsis. J Clin Microbiol 2010;23(1):235-251
9. Millar BC, Xu Jiru, Moore JE: Molecular diagnostics of medical important bacterial infections. Curr Issues Mol Biol 9:21-40
10. Fenollar F, Raoult D: Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. Int J Antimicrobial Agents 2007, S7-S15
11. Pfaller M: Molecular approaches to diagnosşng and managing infectious diseases:practically and cost. Emerging Inf Dis 2001,7(2):312-18
12. Barken KB, Haagensen, Tolker-Nielsen T: Advances in nucleic acid-based diagnostics of bacterial infections. Clinica Chimica Acta 2007, 384:1-11
13. Speers DJ. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. Clin Biochem Rev 2006, 27:39-51
14. Endimiani A, Hujer AM, Kurz S, Jacobs MR, Perlin DS, Bonomo RA. Are we ready for novel detection methods to treat respiratory pathogens in hospital-acquired pneumonia? Clin Inf Dis 2011;52(S4):S373-383
15. Tenover FC. Developing molecular amplification methods for rapid diagnosis of respiratory tract infections caused by bacterial pathogens. Clin Inf Dis 2011;52(S4):S338-345

MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KLİNİK MİKOLOJİDE KULLANIMI. NE ZAMAN, NEREDE, NE KADAR?

Mehmet Ali SARAÇLI
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

İnvazif fungal enfeksiyonlar özellikle immün sistemi baskılanmış hastalar gibi yüksek riskli hasta gruplarında, son yıllarda geliştirilmiş yeni antifungal ilaçlara rağmen önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. İnvazif fungal enfeksiyonlara en sık neden olan etken Candida türleri olup, Candida türlerinin de yaklaşık yarısı C.albicans olarak saptanmaktadır. Candida türlerini Aspergillus türleri izlemekte, Cryptococcus neoformans, Glomeromycota (eski adı zigomycetes), Fusarium, Acremonium ve Penicillium türleri daha az oranda izlenmektedir. Bununla birlikte Aspergillus türleri doku/organ nakilleri ve hematolojik malinitesi olan hastaklarda uygulanan proflaktik antifungal rejimlerin bir sonucu olarak Candida türlerini aşan bir sıklıkta ortaya çıkmaya başlamışlardır. İlave olarak, Glomeromycota (yani Rhizopus ve Mucor türleri), hyalin küfler (Fusarium spp. gibi) ve diğer fırsatçı türlerin de (Scedosporium spp gibi) bildirim oranlarında artışlar görülmektedir.

Günlük identifikasyon uygulamalarında kültür ve morfolojiye dayanan geleneksel yöntemler halen altın standart olarak kabul edilmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte ne morfolojik, ne fizyolojik ne de moleküler yöntemler mantar türlerinin tanımlanmasında tek başına yeterli değildir. Morfolojik ve fizyolojik yöntemlerin en önemli dezavantajları uzun süren tanımlama süreci, düşük duyarlılık düzeyi ve morfolojik özelliklerin kültür şartlarına bağlı olarak değişkenlikler gösterebilmesidir. En önemli avantajı ise duyarlılık çalışmalarına olanak vermesidir. Moleküler çalışmalar daha hızlı ve daha duyarlı ve özgün tanıya olanak vermeleri nedeniyle kültüre dayanan yöntemlerin dezavantajlarına çare olarak görülmüştür. Ancak, multipleks PCR uygulamaları bile sınırlı sayıda türün tanımlanabilmesine olanak vermesi, henüz standardize edilmiş ticari sistemlere dönüştürülememiş olması, antifungal duyarlılık çalışmalarına olan gereksinimi ortadan kaldırmaması ve hedef bölgelerin mutasyonlara açık olması nedeniyle yalancı negatiflikle sonuçlanabilmesi gibi nedenlerle henüz geleneksel yöntemlerin bir alternatifi olamamış, bir tamamlayıcısı olabilmiştir.

Moleküler temelli yöntemler antifungal direncin saptanmasında henüz yeterli değildir. Çünkü direncin ortaya çıkması çok sayıda gende ortaya çıkan mutasyonlara bağlıdır. Bununla birlikte, bir klinik izolatın moleküler yöntemler kullanılarak tür düzeyinde tanımlanması bile antifungal duyarlılık paternlerinde türlere özgün farklılıklar olmasından dolayısıyla tedavi başarısına çabuk bir katkı sağlayabilir. Örneğin, C.krusei flukonazola, Pseudallescheria boydii ve Fusarium türleri amfoterisin B'ye, C.krusei ve C.lusitaniae flusitozine primer olarak dirençlidirler. İlave olarak Candida glabrata flukonazola, C.lusitaniae ve Aspergillus terrreus amfoterisin B'ye, A.ustus azollara, A.lentulus ve Petromyces alliaceus azollar, amfoterisin B ve ekinokandinleri kapsayan birçok antifungal ilaca karşı azalmış duyarlılık sergilerler. Bu ve benzeri türlerin moleküler yöntemler kullanılarak kısa sürede tür düzeyinde tanımlanabiliyor olması hasta tedavisine katkı sağlayacaktır.

Moleküler tanı amacıyla şu an için en sık başvurulan yöntem gerçek zamanlı PCR uygulamaları olmakla birlikte, PCR-dizi analizi, PCR-mikroarray, PCR-EIA, PCR-RFLP, "PCR-melting curve" analizi gibi yöntemler de kimi çalışmalarda uygulanmıştır. Moleküler testlerin en büyük dezavantajı çoklukl ev yapımı protokollere dayanmaları ve henüz standardize edilmemiş olmalarıdır. Bu nedenle EORTC/MSG'nin invazif fungal enfeksiyon tanı kriterleri içinde PCR ve benzeri moleküler bir yöntem bulunmamaktadır. Bununla birlikte şu anda ticari olarak mevcut sistemler arasında Applied Biosystems (Invitrogen)'in Microseq D2 LSU kiti ve Roche lightcycler SeptiFast M grade platformları örnek verilebilir. Microseq D2 LSU kiti rRNA "large subunit (LSU)" gen bölgesinin D2 domaininin dizi analizine dayanmaktadır. Bu kitin mevcut veritabanı ile 1113 mantar türü tanımlanabilmektedir. Roche lightcycler SeptiFast M grade testi ise rRNA gen bölgesinin PCR ile amplifikasyonu, prob hibridizasyonu ve sonrasında "melting curve" analizi prensibine dayanmaktadır ve veritabanında bakterilere ilave olarak Candida albicans, C.glabrata, C.parapsilosis, C.tropicalis, C.krusei ve A.fumigatus bulunur.

Rutin uygulamalar sırasında daha sıklıkla karşılaşılan mantar cinslerinde moleküler tanısal yaklaşımda gelinen güncel durum şöyle özetlenebilir;

Candida cinsi

Candida türleri tüm dünyada dolaşım sistemi başta olmak üzere invazif fungal enfeksiyonların halen en sık izlenen nedenidir ve nozokomiyal dolaşım sistemi enfeksiyonlarının yaklaşık %8-9'undan sorumludurlar. Kan kültürü kandidemilerin tanısında henüz altın standart olarak kabul edilmekle birlikte, olguların yaklaşık yarısında antemortem tanıda negatif olarak sonuçlanmaktadır. Kan kültüründe üreme genellikle 1-2 gün içerinde pozitifleşme olarak saptanabilmekte, morfolojik ve fizyolojik testler ile tür düzeyinde tanımlama çalışmaları bu süreyi yaklaşık iki katına uzatmaktadır. Yapılan çalışmalar uygun antifungal tedaviye başlanmasında yaşanacak 12-48 saatlik bir gecikmenin mortalite ve morbiditede diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak belirgin bir artışa (Odd's ratio: 2,17-4,75) neden olduğunu göstermiştir. PCR temelli moleküler yöntemlerin sepsis başladıktan sonra yaklaşık 6 saat gibi kısa bir süre içerisinde tür düzeyinde tanıya olanak vermesi bu açıdan önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak, Candida cinsi insanlarda patojen olan >100 türü bünyesinde barındırmaktadır. Multipleks moleküler tanısal testler ile epidemiyolojik olarak daha önemli ancak sınırlı sayıda tür aynı anda tanımlanabilmektedir. Genellikle panfungal veya tüm Candida türleri için ortak olan bir bölgeye yönelik tarama testi ile birlikte önemli bir veya birden fazla Candida türüne özgün moleküler testler aynı platformda birleştirilmektedir. Literatürde birçok multipleks uygulama

bildirilmiştir. Örnek olarak; C.albicans/dubliniensis, C.albicans/dubliniensi/africana, C.albicans/tropicalis/parapsilosis/glabrata/krusei' nin aynı test düzeni içerisinde saptanabildiği çalışmalar incelenebilir.

Aspergillus cinsi

Aspergillus türleri fırsatçı küfler olup hem alerjik hem de sistemik enfeksiyonlara neden olabilirler. Otomikozdan, pulmoner aspergilloz ve endokardit gibi invazif enfeksiyonlara kadar değişen bir spektrumda klinik tablolara neden olabilirler. Bugün için >300 aspergillus türü tanımlanmış olmakla birlikte sadece az sayıda türü fırsatçı enfeksiyonlardan sorumludur. Aspergilloz olgularının yaklaşık %90'ından A.fumigatus sorumludur. Onu takip eden türlerin sıklığı bölgesel ve kurumsal farklılıklar gösterir.

Önemli bir klinik tablo olan invazif pulmoner aspergilloz hematopoetik kök hücre nakledilmiş veya lösemik hastalar gibi yüksek riskli gruplarda %40 lara varan bir mortalite oranına sahiptir. İnvazif pulmoner aspergillozun en sık etkeni de halen A.fumigatus olmakla birlikte, tedavi kurumlarının özelliğine göre A.terreus, A.flavus onu izlerler. A.ustus, A.alliaceus, A.lentulus ve A.udagawae daha nadiren bildirilen türlerdir.

Bugün için tanımlanmış toplam tür sayısı 300'ü aşan Aspergillus cinsi şu an için 7 altcins altında toplanırlar ve altcinsler ise 18 bölüme (kompleks veya eski adıyla grup) ayrılır. Bu türlerin tanımlanmasında halen klinik mikrobiyoloji laboratuarları çoklukla mikroskobik ve makroskobik morfolojiye dayanan şemalar kullanırlar. Ancak fenotipik özelliklere dayanan bu tanımlama kriterleri stabil olmamaları, bazen atipik olarak ortaya çıkmaları, bazı türlerin yavaş sporulasyon göstermeleri, genetik olarak farklı türlerle ortak morfolojiler gösterebilmeleri gibi nedenlerle güçlükler gösterir. Türlerin antifungal duyarlılık paternlerinin farklılıklar göstermesi nedeniyle ve epidemiyolojik nedenlerle izolatların tür düzeyinde tanımlanması gerektiğinde geleneksel fenotipik tanımlama yöntemleri kimi durumlarda yetersiz kalmaktadır. Bu açıdan moleküler yöntemlerin kullanılması bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır. Şu an için önerilen moleküler yaklaşım, rRNA ITS1 ve ITS2 gen bölgesinin dizi analizi yapılarak Aspergillus izolatının altcins/bölüm düzeyinde tanımlanmasıdır. Ancak, bu gen bölgesi aynı bölüm içerisindeki türleri ayırt edecek değişkenlikte değildir. Bu sorunu aşmak için de rRNA büyük altbiriminin D1-D2 domainlerinin veya β-tubulin ve kalmodülin gibi protein kodlayan diğer gen bölgelerinin de dizi analizlerinin yapılmasıdır. Ancak bu önerinin de şu an sadece kabul gören bir taslak olduğu unutulmamalıdır.

Literatürde çok sayıda deneysel çalışma bulunmakla birlikte en önemli sorun henüz bir standardizasyonun sağlanamamış olmasıdır. Örneğin, bir çalışmada genel bir PCR sonrasında türlere özgün problar kullanılarak gerçekleştirilen "reverse line" hibridizasyon ile rinosinüzit etkeni olan Aspergillus (A.fumigatus, A.flavus, A.niger, A.terreus ve A.nidulans) ve Mucorales (Mucor heimalis, M.racemosus, M.cercinelloidea, Rhizopus arrhizus, R.microsporus, Rhizomucor pusillus ve Absidia corymbifera) türleri başarılı olarak tanımlanabilmiştir.

Cryptococcus cinsi

Cryptococcus cinsi kapsüllü maya hücreleri oluşturan türleri kapsar ve genellikle akciğerlerde primer enfeksiyon yaptıktan sonra merkezi sinir sistemine yayılım göstererek menenjite neden olur. İnsanlarda klasik olarak C.neoformans ve C.gattii türleri hastalık nedenidirler. Ancak, son yıllarda C.laurentii ve C.albidus türlerinin de kriptokokkozlu hastalardan izole edildiği bildirilmiştir. C.neoformans'ın C.neoformans var. neoformans (serotip D) ve C.neoformans var. grubii (serotip A) olmak üzere iki varyetesi mevcuttur. Eskiden üçüncü bir varyete olmasına karşın, Cryptococcus gattii (serotip B ve C) bugün için artık ayrı bir tür kabul edilmektedir. C.neoformans'ın daha çok immün sistemi baskılanmış hastalarda etken olan fırsatçı bir patojen olmasına karşın, Cryptococcus gattii immmunolojik olaral sağlam kişileri de hasta edebilen gerçek bir patojendir. Kriptokokkozun %30-40'ları bulan yüksek mortalite oranları etkenin makrofajlarca öldürülememesine bağlıdır. Tedavinin zamanında başlanamaması durumunda invazif kriptokokkoz ölümcül sonuçlanır. Bu nedenle çabuk tanı ve tedavi kaçınılmazdır. Klasik geleneksel yöntemler tür düzeyinde tanımlamaya yeterli olmakla birlikte; kültür ve mikroskobinin duyarlılığının %50-80 düzeyinde olması, serolojik testlerde yalancı pozitiflikler görülebilmesi nedeniyle PCR temelli tanı çalışmaları mevcuttur. Gerçek zamanlı PCR ile teorik olarak 1 genom/ml düzeyinde duyarlılık sağlandığı belirtilmektedir.

Pneumocystis jirovecii

Önceden tek cins ve tür olarak P.carinii olarak adlandırılan bu mikroorganizmalar kuşlar ve vücut sıcaklığı değişken türler hariç tüm memelilerin akciğerlerinde yerleşim gösteren ve filamentöz olmayan bir mantardır. Sadece insanlarda hastalık yapan türüne P.jirovecii adı verilir. Bağışıklık sistemi sağlam bireylerde asemptomatik olarak bulunabilirken, bağışıklığı baskılanmış kişilerde ölümcül pnömoniye sebep olur. Memeli akciğeri dışında devamlı kültüre edilememesi nedeniyle klasik geleneksel tanı yöntemleri mikroskobik tekniklere dayanmaktadır. Antikor yanıtını araştıran testler epidemiyolojik çalışmalar dışında kullanılmazken antijen testlerinin tanısal katkısı sınırlıdır. Moleküler yöntemler hem tanısal hem de ilaç direncine neden olan mutasyonları ortaya koyması açısından ümit vericidir. Genellikle mitokondrial rDNA'nın büyük alt birim geni ve major yüzey glikoprotein genleri tanısal amaçla, dihidropteroat sentaz geni ilaç direnç mutasyonları amacıyla hedef olarak kullanılır. Ulaşılan özgüllük ve duyarlılık düzeyleri %90'ın üzerindedir. PCR temeline dayanan MycAssay Pneumocystis kit (Myconostica Ltd., Manchester, İngiltere) isimli ticari moleküler tanı kiti mevcuttur.

Moleküler Yöntemlere Gereksinim Olan Durumlar

1. Kültürü yapılamayan (Pneumocystis jirovecii, Lacazia loboi) veya uzun süren (endemik mikoz etkenleri, dermatofitler) mantar türleri
2. Deneyimli mikoloji uzmanının bulunmadığı laboratuarlar

3. Fenotipik karakteristiklerin yetersiz kaldığı türler/durumlar
4. Tür ve tür altı düzeyde tanımlama gereken epidemiyolojik çalışmalar
5. Nükleotid polimorfizmine bakılarak ilaç direnci ve genotip/prognoz ilişkisinden yaralanarak klinik gidişat hakkında öngörüde bulunmak

Kaynaklar

1. Avni T, Leibovici L, Paul M. Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Microbiol 2011; 49(2): 665–70.
2. Shin JE, Nolte FS, Holloway BP, Morrison CJ. Rapid Identification of up to Three Candida Species in a Single Reaction Tube by a 59 Exonuclease Assay Using Fluorescent DNA Probes. J Clin Microbiol 1999; 37(1): 165-70.
3. Sato T, Takayanagi A, Nagao K, et al. Simple PCR-Based DNA Microarray System To Identify Human Pathogenic Fungi in Skin. J Clin Microbiol 2010; 48(7): 2357–64.
4. Balajee SA, Houbraken J, Verweij PE, et al. Aspergillus species identification in the clinical setting. Studies in Mycology 2007; 59: 39–46.
5. Binder U and Lass-Flörl C. Epidemiology of Invasive Fungal Infections. Mediterr J Hematol Infect Dis 2011; 3; Open Journal System.
6. Zhao Z, Li L, Wan Z, Chen W, Liu H, Li R. Simultaneous detection and identification of Aspergillus and mucorales species in tissues collected from patients with fungal rhinosinusitis. J Clin Microbiol 2011; 49(4):1501-7.
7. Veron V, Simon S, Blanchet D, Aznar C. Real-time polymerase chain reaction detection of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in human samples. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2009; 65:69–72.
8. Chumpitazi BF, Flori P, Kern JB, Brenier-Pinchart MP, et al. Characteristics and clinical relevance of the quantitative touch-down major surface glycoprotein polymerase chain reaction in the diagnosis of Pneumocystis pneumonia. Med Mycol. 2011 Mar 18. [Epub ahead of print]
9. Yıldıran ŞT. Pneumocystis. Klinik Mikrobiyoloji (Manual of Clinical Microbiology). Çeviri Editörü A. Başustaoğlu. 9. Baskı. Atlas Kitapçılık 2009, Ankara. Sayfa 1789-801.

KULLANILMIŞ OLAN KISALTMALAR

PCR: Polimeraz chain reaction
EIA: Enzyme Immunoassay
RFLP: Restriction fragment length polymorphism
EORTC/MSG: European Organisation for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group
ITS: Internal Transcribed Spacer

MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KLİNİK MİKROBİYOLOJİDE KULLANIMI NE ZAMAN? NEREDE? NE KADAR?
KLİNİK VİROLOJİ

Kenan MİDİLLİ
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Klinik virolojinin mikrobiyoloji içerisinde ayrı bir disiplin haline gelişi mikrobiyolojinin de yıldızının parladığı yıllar olan 1960 ve 1970'li yıllara denk düşmektedir. Ancak bu yıllarda virusların izolasyonu hücre kültürü ile virusların tanımlanması da sitopatik etki ve diğer bazı fiziksel özelliklere göre yapılmaktaydı. Dolayısıyla sonuç alma süreleri haftalarla ölçüldüğünden virolojik incelemeler daha çok fiziksel ve serolojik tanıların doğrulanması ya da epidemiyolojik veri elde edilmesi amacıyla yapılmaktaydı. Bu yöntemlerle elde edilen sonuçlar hazır olduğunda çoğunlukla hasta iyileşmiş ya da kaybedilmiş olduğundan kliniklerden virolojik tetkik isteği de rutin olarak yapılmamaktaydı. Antiviral tedavi seçeneklerinin çok kısıtlı olması ve birçok kronik viral hastalığın etiyopatogenezinin tam olarak aydınlatılmamış olması da virolojik incelemelere karşı bir klinik talep olmamasının altında yatan diğer nedenler olarak gösterilebilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde bile 1970 ortalarında tıp fakültelerinin ancak %40'ında işler durumda bir viroloji laboratuarı vardı. Gerek tıp fakülteleri gerekse diğer kurumlarda varolan viroloji laboratuarları da kendi kendilerini finanse etmekten uzak çoğunlukla kamu finansmanı ya da özel projeler ile ayakta durabilen kurumlardı. Yapılan serolojik incelemeler de virus nötralizasyonu, kompleman birleşme reaksiyonu, direkt ya da indirekt fluoresans teknikleri, hemagglutinasyon ya da hemagglutinasyon inhibisyon testlerinden ibaretti ve söz konusu testler çoğunlukla da laboratuarların kendi ürettikleri antijenler kullanılarak gerçekleştirilmekteydi. Enzim işaretli testler henüz gelişme aşamasındaydı.

Klinik viroloji laboratuarının görev tanımlaması "hizmet verdiği hasta topluluklarına ve içinde bulunduğu kurumun klinik uygulamalarına göre belirlenmiş olan virolojik tanı testlerini uygulamak" şeklinde özetlenebilir. Ancak bununla birlikte klinik viroloji laboratuarlarının hem hasta hem de hekimlere bilgi ve danışmanlık hizmeti vermek gibi önemli bir işlevleri daha vardır. Klinik viroloji laboratuarları klinisyenleri olası viral etkenler ve bunların tanımlanması için alınacak örnek(ler), izlenecek yol(lar), virolojik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri, sonuçların yorumlanması konusunda sözlü, yazılı ya da elektronik ortamda bilgilendirmekle yükümlüdürler. Klinisyenlerin uygulanmakta olan testlerin tanı açısından değerleri, performans özellikleri konusunda bilgilendirilmesi, testlerin optimum kullanımının sağlanması açısından önemlidir. Gerektiğinde test sonuçlarının yorumlanması ve konsültasyon hizmeti verilmeli; laboratuarın yapmadığı testlere ilişkin talepler referans laboratuarlarına gönderilmelidir. Hastane bazında bu hizmetlerin verilebilmesi için tüm bu işlevleri yerine getirebilen, virolojik yöntemlere bütün olarak hakim, virolojik tanı konusunda yol göstericilik yapabilecek, destek verebilecek bir takımın varolduğu konusunda kurum çapında farkındalığın oluşturulması önem taşımaktadır. Böyle bir farkındalığın oluşturulabilmesi için de hücre kültüründen hızlı antijen testleri, serolojik testler ve NAT'a dayalı testlere kadar tüm işlemlerin klinik viroloji laboratuarı tarafından yapılıyor olması belirleyici bir rol oynamaktadır. Bunların dışında bir klinik viroloji laboratuarı hastane infeksiyon kontrol çalışmaları, çalışanların sağlığı (aşı ve profilaksiler) ve asistan, öğrencilerin eğitiminde rol alır; vakaların erken saptanması ve etkenlerin tiplendirilmesi yoluyla özellikle salgınlar ya da dolaşmakta olan viral etkenler konusunda toplum ve diğer kamu kurumları içinde bir bilgi kaynağı oluşturur.

Özellikle 1980'lerden sonra antiviral tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması ve giderek zenginleşmesi, belli viral infeksiyonların tanı, tedavi ve izlenmesinde virolojik göstergelere doğan gereksinim, rutinde sık karşılaşılan selim seyirli olsa bile birçok viral infeksiyonda etiyolojik tanının kesinleşmesi halinde antimikrobik kullanımının azaldığı ve hastaneden güvenli bir şekilde daha erken taburcu etmenin mümkün olduğunun gösterilmesi ile birlikte klinik viroloji viral etkenlerin daha hızlı bir şekilde tanımlanması talebi ile karşı karşıya kaldı. Özellikle 1980'lerden sonra viroloji laboratuarlarında hücre kültürlerinden daha hızlı sonuç veren yöntemlere bir kayış oldu.

Günümüzde hücre kültürleri hala altın standart olma özelliklerini belli ölçüde koruyor olsalar da viroloji laboratuarlarının çoğunda yerlerini daha hızlı sonuç veren yöntemlere bırakmışlardır. Bunda sonuç verme zamanın dışında başta nükleik asit teknolojilerine (NAT) dayalı olanlar olmak üzere hızlı sonuç veren sistemlerin duyarlılıklarının hücre kültürlerinden yüksek olması (hücre kültürlerinin duyarlılıkları %70'lerde kalmaktadır) da etkendir. Bu süreçte özellikle 1990'lardan sonra nükleik asit teknolojilerinin yaygınlaşmaya başlaması en büyük itici güç olmuş; klinik virolojinin klinik değerinin artması ve daha iyi anlaşılması ile sonuçlanmıştır. Yukarda sayılan kısıtlılıklardan dolayı nükleik asit teknolojileri (NAT) öncelikle viroloji laboratuarlarına girmiş ve birçoğu da viroloji laboratuarlarında geliştirilmiştir. Ayrıca NAT, prevalansın düşük olduğu durumlar ya da asemptomatik topluluklarda da (etken yükü düşük) önem kazanmıştır. Asemptomatik bireyler ve taşıyıcıların saptanması ve sorumlu etkenlerin zamanında tanımlanması ve tiplendirilmesi NAT'ların epidemiyolojik ve salgınların önlenmesi açısından da değerlerini arttırmıştır. Etkenlerin hızlı bir şekilde tanımlanması gereğinin diğer gerekçeleri de aşağıdaki gibi özetlenebilir: i. Anti-virallerin sadece belli viruslara etkili olması, ii. Bazı antivirallerin etkili olabilmesi için, hastalığın erken aşamalarında belli bir süre zarfında başlanma zorunluluğu (influenzada olduğu gibi), iii. Antivirallerin ne kadar erken başlanırlarsa sonucun o kadar başarılı olması.

1990'lı yılların başlarından itibaren polimeraz zincri reaksiyonu ve modifikasyonları ile daha kısıtlı olsa da diğer NAT klinik virolojide hızla kullanıma girerek bu alandaki pek çok handikapın giderilmesini sağladı. Özellikle real-time PCR ve saptama sistemlerindeki ilerlemeler başta HIV, hepatit B ve C virusları, sitomegalovirus olmak üzere

sık görülen viral infeksiyonların tanı ve izlenmesine yönelik standardize ticari kitlerin geliştirilmesi ile sonuçlandı. Günümüzde klinik viroloji laboratuarlarının hemen hemen tümünde bu testler rutin olarak yapılmaktadır. Son yıllarda HIV, hepatit B ve C için kombine tarama kitleri kan bankacılığında kullanılmak üzere onay almış ve birçok ülkede rutine sokulmaya başlanmıştır. Toplum sağlığı ve hasta güvenliği açısından önemli sık karşılaşılan bu infeksiyonların yanı sıra özellikle transplant alıcıları ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde sorun oluşturan Epstein-Barr virusu, polyomaviruslar da giderek daha sık uygulanmakta ve istenilen testler arsında yer almaktadır.
Serviks kanseri ile ilişkili olan insan papilloma virusu pek çok ülkede serviks sürüntülerinde moleküler yöntemlerle pek çok ülkede yardımcı test olarak taramalarda uygulanmaktadır. Hangi yöntem uygulanırsa uygulansın etken yelpazelerinin geniş olmasından dolayı solunum yolları, genital sistem örnekleri, dışkı ve beyin-omurilik sıvılarının etiyolojik tanı açısından test edilmesinde güçlüklerle karşılaşılmaktadır. Günümüzde bu örneklerdeki olası viral etkenleri bir defada araştırmaya olanak veren multipleks amplifikasyon ve saptama sistemleri heyecan vericidir. Bu tarz multipleks kitler, özellikle son influenza salgını sırasında başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Nükleik asit testleri, özellikle günümüzde çok çeşitli çoklu saptama sistemi geliştirilme ya da validasyon aşamasındadır. Bu tarz testlerin yaygınlaşması ile günümüzde genellikle etiyolojisi belirlenmeyen fakat çok sık karşılaşılan viral solunum yolları infeksiyonları, akut gastroenteritler, meningoensefalitlerde etiyolojik etkenlerin antiviral tedavi seçimlerinde yardımcı olacak şekilde zamanında belirlenmesi mümkün olacaktır.

Kaynaklar

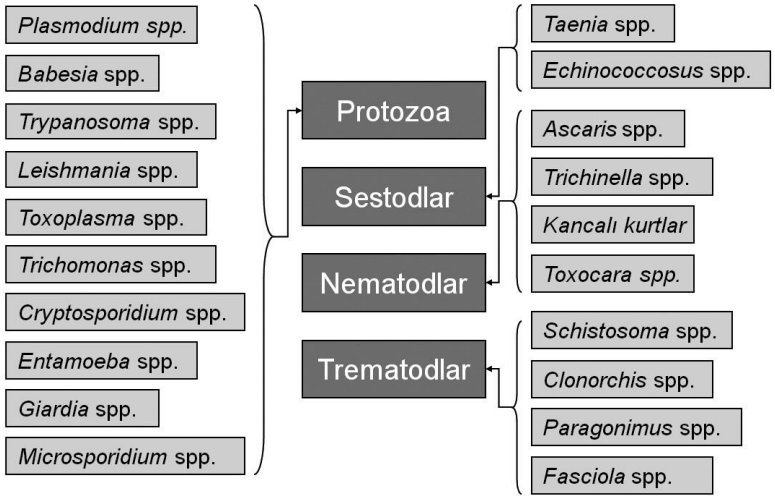
1. Ananonymous. A National Strategy for Clinical Virology in the UK. www.clinical –virology.org. Last acessed at: 14.10.2011
2. Baker M. New-wave diagnostics. Nat Biotechnol 2006, 24(8):931-38
3. Carman WF, Niesters HGM. The end of cell culture in diagnostics: Is molecular diagnosis the Harry Potter or the Lord Voldemort of the clinical virology as a specialty?SAMJ 2007, 97(11):1169-76
4. Josko D. Molecular Virology In The Clinical Laboratory. Clin Lab Sci 2010, 23(4):231-6
5. Marcon MJ. Role of the Hospital-Based, Comprehensive Clinical Virology Laboratory in Health Care. Newsletter 2001, 23(24):187-91
6. Muldrew KL. Molecular diagnostics of infectious diseases. Curr Opin Infect Dis 2009 21:102-11
7. Vernet G. Molecular diagnostics in virology. J Clin Virol 2004, 31:239-47
8. Wolffs P, Bruggeman CA, van Well GTJ and van Loo IHM. Replacing Traditional Diagnostics of Fecal Viral Pathogens by a Comprehensive Panel of Real-Time PCRs. Journal of Clinical Microbiology, 2011, 49 (5): 1926-193

MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KLİNİK MİKROBİYOLOJİDE KULLANIMI NE ZAMAN? NEREDE? NE KADAR?
KLİNİK PARAZİTOLOJİ

Metin KORKMAZ
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji ABD, Izmir

İnsandaki paraziter hastalıkların tanısı temel olarak makroskopi, mikroskopi ve serolojik yöntemlere dayanır. Kültür ve nükleik asit temelli moleküler yöntemlere daha az sıklıkta başvurulur. Moleküler yöntemler paraziter hastalıkların tanısında duyarlılık ve özgünlüğü arttırmasının yanısıra mikroskobik bakı deneyimi gerektirecek yöntemlerin yarattığı sorunların çözümünde bir seçenek olabilir. Çok sayıda paraziter hastalığın tanısında değişik PCR yöntemlerinin kullanılabileceği bildirilmiştir (Tablo 1). Yayınlanan çalışmalarda doğru tanının konulmasında moleküler yöntemlerin umut verici olduğu belirtilmiş olmakla birlikte, yöntemlerin yeterince yaygınlaşmadığını ve standardize edilmediğini vurgulamak gerekir.

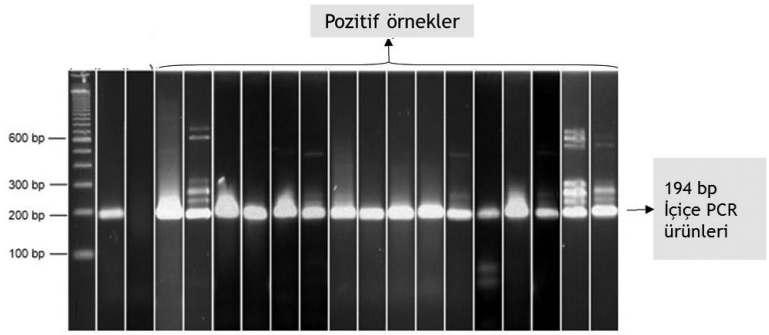
Tablo 1. Moleküler yöntemlerle araştırılabilen insanda paraziter hastalık yapabilen etkenler.



Moleküler tanı yöntemleri, özellikle toxoplasmosis riski taşıyan organ nakli alıcılarında, riskli gebeliklerde, AIDS hastalarında ön plana çıkmaktadır. Toxoplasma gondii enfeksiyonlarının tanısında geleneksel, (real-time) veya içiçe (nested) PCR yöntemleri kullanılabilmektedir. Gerçek zamanlı PCR bağışıklık sistemi baskılanmışlarda, gebelerde ve yenidoğanda parazitemi yoğunluğunun değerlendirebilmesine olanak sağlayabilmektedir. Bu verinin klinik iyileşme ve tedavinin değerlendirilmesi açısından yol gösterici olabileceği belirtilmektedir. Doğumsal toxoplasmosisin tanısı için amnion sıvısında PCR yöntemiyle etkenin DNA'sı araştırılır. Kullanılan PCR temelli yöntemler riskli gebeliklerde kordosentez gereksinimini azaltmıştır. Parazitik yük genelde düşük olduğundan amnion sıvısındaki DNA'ların elde edilme işlemlerinin optimize edilmesine, duyarlılığın arttırılması açısından dikkat edilir.

EUTF Moleküler Parazitoloji laboratuvarında içiçe ve gerçek zamanlı PCR yöntemleriyle T. gondii B1 geni (GenBank no: AF179871) araştırılır. İçiçe PCR'ın iki aşamalı çoğaltma basamağı duyarlılığı arttırmakta ve yanlış pozitif sonuçları azaltabilmektedir. Bu yöntemde ilk aşamada 287 bp, ardından da 194 bp'lik bölüm çoğaltılmaktadır (Şekil 1). Gerçek zamanlı PCR yönteminde tek basamakta (yaklaşık 30 dakikada) 126 baz çiftlik ürün iki primer ve hibridizasyon probuyla çoğaltılır ve sayısal olarak tanımlanır.

Günümüzde Entamoeba histolytica ve E. dispar enfeksiyonlarını ayırt edebilen parazitin kültürü sonrası izoenzim analizleri, antijen saptama yöntemleri, nükleik asit temelli yöntemler kullanılmaktadır. Epidemiyolojik ve ileri tanı yöntemleriyle elde edilen veriler, dizanterili bir hastanın dışkısındaki lökositlerin amip trofozoiti olarak değerlendirildiğini düşündürmekte, amipli dizanterinin bildirildiğinden daha az sıklıkta karşılaşıldığı düşüncesini desteklemektedir. Mikroskobide deneyim ve incelemelerde trikrom boyama yönteminin kullanılması doğru tanı için şarttır. Bununla birlikte doğrudan veya boyalı mikroskobik incelemeyle morfolojik olarak birbirlerine benzeyen E. histolytica, E. dispar ve E. moshkovskii'nin ayırımı yapılamamaktadır. Dışkıdaki türe özgü antijenleri yakalamaya yönelik ELISA yöntemleri ticari olarak bulunabilmekte ve hastalığın epidemiyolojisine yönelik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Çoklu gerçek zamanlı PCR yönteminin bu üç türü birbirinde oldukça hızlı bir şekilde ve duyarlılıkta saptadığı bildirilmektedir.



Şekil 1. *Toxoplasma gondii* tanısında kullanılan içiçe PCR yönteminde saptanan 194 baz çiftlik ürünler.

Leishmaniasiste tanı, tedavi ve kontrol önlemleri epidemiyolojik çeşitlilikten dolayı farklılıklar gösterir. Genelde kemik iliği veya dalak örneklerinde, kutanöz leishmaniasiste deri örneklerinde parazitin amastigot şekillerinin görülmesi ve/veya kültürde promastigotların üretilmesiyle tanı konulur. Tanıya değişik seroljik yöntemler destek vermekle birlikte asemptomatik olgularda pozitif sonuçların elde edilmesi, çapraz reaksiyonlar veya geçirilmiş ve aktif enfeksiyonun ayrılamaması gibi dezavantajlarla karşılaşılabilir. Serolojik yöntemler içinde, ticari olarak bulunabilen rekombinant antijenin (rK39) kullanıldığı hızlı tanı testi uygulama kolaylığı ve açısından tercih edilebilir. Moleküler yöntemler yüksek duyarlılık ve özgünlük, parazit yükünün ve canlılığın değerlendirilebilmesi, tür düzeyinde ayrım ve ilaç.direncinin anlaşılmasında kullanılmaktadır. Serolojik yöntemlerdeki duyarlılık %89-96 arasında değişirken, kültürde üreme %44, amastigotların doğrudan mikroskobik olarak görülmesi %67 oranında saptanırken, PCR yönteminde ise periferik kanda %79, kemik iliğinde ise %100 oranda pozitiflik saptandığı bildirilmiştir.

Sıtma enfeksiyonlarının tanısında geleneksel ince ve kalın damla kan örneklerinin mikroskobik incelemesi yeterli olabilmektedir. Bununla birlikte endemik bölgelere yapılan seyahat sonrası sıtmaya yakalananlardaki düşük parazitemi olasılığı nedeniyle tanıda moleküler yöntemlerin devreye sokulması önerilir. Sıtma tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı gelişen direncin anlaşılmasında moleküler yöntemlerin önemi büyüktür. Kuvartz kristal mikrodenge kullanımına dayalı (QCM, quartz crystal microbalance) DNA biyosensörünün Plasmodium falciparum tanı ve genotiplendirmesinde duyarlı ve özgün, fiyatının uygun ve sahada uygulanabilir olduğu bildirilmektedir.

Echinococcosis tanısına serolojik yöntemlerden IHA, ELISA ve Western yöntemleriyle destek verilebilir. Kistik ve alveolar ayırımı ELISA yönteminde rekombinant Em18 antijeni veya Western yönteminde Em18, Em70 ve Em90 bantlarıyla yapılabilir. Bu iki türün birbirlerinden ayırımı patolojik olarak yapılabilmekle birlikte, gerçek zamanlı veya içiçe PCR yöntemleri de kullanılabilmektedir. Echinococcus multilocularis'in kesin konakların dışkılarında gerçek zamanlı çoklu-içiçe (real-time multiplex-nested PCR yöntemiyle yüksek duyarlılık ve özgünlükte saptanabileceği bildirilmiştir. Tenya türü yumurtaların mikroskobik ayrımının yapılamadığı göz önüne alındığında, bu tür moleküler yöntemler epidemiyolojik açıdan önem taşıyabilir.

İnsanda Fasciola hepatica tanısı serolojik ve etkene yönelik doğrudan incelemelerle konulabilir. Moleküler yöntemler ara konak salyangozlardaki enfeksiyonların değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Fasciola türleri dizi analizi, PCR-RFLP veya gerçek zamanlı PCR yöntemleriyle tanımlanabilmektedir. Fasciola enfeksiyonlarının epidemiyolojik araştırmalarında, ilaç direncinin ve dirençten sorumlu genlerin araştırılmasında yararlı bilgiler sağlamaktadır.

Giardia enfeksiyonlarının tanısında PCR yöntemi uygulanmış, duyarlı ve özgün olduğu bildirilmiş olmakla birlikte bu yöntem daha çok genotiplendirme açısından önem taşımaktadır. Moleküler yöntemlerin yüksek duyarlılığı, içme sularında bulunabilecek patojenik mikroorganizmalardan biri olan Giardia'nın içme sularında araştırılmasına olanak sağlamaktadır. Cryptosporidium spp. enfeksiyonlarının epidemiyolojik araştırmalarında, su kaynaklı salgınlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların erken tanısında nükleik asit temelli yöntemler diğer tanı yöntemlerine alternatif olarak, hızlı ve güvenilir sonuçlar verebilir. Cyclospora spp. enfeksiyonlarının tanısında, su, yiyecekler ve çevresel örneklerde parazitin araştırılmasındaki mikroskobik tanıdaki deneyimsizlik veya güçlükler, moleküler yöntemlerle aşılabilir. Trichomoniasiste Trichomonas vaginalis izolatlarının yüksek oranda fenotipik farklılıklar göstermesi nedeniyle ekspresyon düzeyinde ve/veya genomik dizide farklılıklar bulunmakta, bunun da PCR temelli tanı yöntemlerinin geliştirilmesine zorluk çıkardığı bildirilmektedir. Trichomoniasiste moleküler yöntemler rutin tanıdan çok araştırma amaçlı tercih edilmektedir.

Kaynaklar

1. Alasaad S, Soriguer RC, Abu-Madi M, El Behairy A, Jowers MJ, Baños PD, Píriz A, Fickel J, Zhu XQ. A TaqMan real-time PCR-based assay for the identification of Fasciola spp. Vet Parasitol. 2011;179(1-3):266-71.
2. Caron Y, Righi S, Lempereur L, Saegerman C, Losson B. An optimized DNA extraction and multiplex PCR for the detection of Fasciola sp. in lymnaeid snails. Vet Parasitol. 2011;178(1-2):93-9
3. Cruz I, Chicharro C, Nieto J, Bailo B, Cañavate C, Figueras MC, Alvar J. Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric Mediterranean visceral leishmaniasis. J Clin Microbiol. 2006;44(7):2343-7.

4. Dinkel A, Kern S, Brinker A, Oehme R, Vaniscotte A, Giraudoux P, Mackenstedt U, Romig T. A real-time multiplex-nested PCR system for coprological diagnosis of Echinococcus multilocularis and host species. Parasitol Res. 2011;109(2):493-8.
5. Hamzah Z, Petmitr S, Mungthin M, Leelayoova S, Chavalitshewinkoon-Petmitr P. Development of multiplex real-time polymerase chain reaction for detection of Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, and Entamoeba moshkovskii in clinical specimens. Am J Trop Med Hyg. 2010;83(4):909-13.
6. Hardick J, Yang S, Lin S, Duncan D, Gaydos C. Use of the Roche LightCycler instrument in a real-time PCR for Trichomonas vaginalis in urine samples from females and males. J Clin Microbiol. 2003;41(12):5619-22.
7. Quintero-Betancourt W, Peele ER, Rose JB. Cryptosporidium parvum and Cyclospora cayetanensis: a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. J Microbiol Methods. 2002;49(3):209-24.
8. Potipitak T, Ngrenngarmlert W, Promptmas C, Chomean S, Ittarat W. Diagnosis and genotyping of Plasmodium falciparum by a DNA biosensor based on quartz crystal microbalance (QCM). Clin Chem Lab Med. 2011;49(8):1367-73.
9. Yamada H, Nishikawa A, Yamamoto T, Mizue Y, Yamada T, Morizane M, Tairaku S, Nishihira J. Prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex nested PCR methods. J Clin Microbiol. 2011;49(7):2552-6..

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA MİKOBAKTERİYOLOJİ

OLGU-1
Nuran ESEN
Dokuz Eylül Üniversitesi TIp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Halsizlik, öksürük ve kilo kaybı yakınmaları ile Göğüs Hastalıkları polikliniğine başvuran 46 yaşındaki kadın hastanın, 20 paket-yıl sigara kullanım öyküsü vardı. Yapılan fizik muayenede sağ akciğerde ronküs, çekilen PA akciğer grafisinde ise sağ akciğer orta zonda düzensiz kontürlü nodül saptandı. Balgam çıkaramayan hastaya bronkoskopi yapıldı. Bronkoalveolar lavaj örnekleri mikobakteriyoloji ve patoloji laboratuvarlarına gönderildi.

OLGU-2
Nuran ESEN
Dokuz Eylül Üniversitesi TIp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Öksürük ve balgam çıkarma yakınmaları ile Göğüs Hastalıkları polikliniğine başvuran 54 yaşındaki erkek hastanın balgam örneği mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderildi. Balgam örneğinin direkt bakısında ARB ++++ saptanan hastaya dörtlü antitüberküloz tedavisi başlandı. İki hafta sonra hastanın kültüründe *Mycobacterium tuberculosis* kompleks ürediği bildirildi. Tedavi başladıktan üç hafta sonra alınan balgam örneğinin direkt bakısında ARB++ saptandı. Dört hafta sonra ise üretilen mikroorganizmanın antitüberküloz ilaç direnç testi sonucunda streptomisin, izoniyazid, rifampisin ve etambutole duyarlı bulunduğu bildirildi.

OLGU-3
Cengiz ÇAVUŞOĞLU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir

9 aylık erkek bebek. Makülopapüler döküntü, hepatosplenomegali, aksiller ve servikal bölgede lenfadenomegali yakınmalarıyla Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne yatırılmış. Yapılan tetkiklerde homozigot IFN-γ reseptör defekti saptanmış. Hastaya 3 aylıkken BCG aşısı yapılmış. Hastaya aksiller lenf bezi biyopsisi yapılıyor.

OLGU-4
Cengiz ÇAVUŞOĞLU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Otuz dokuz yaşında, erkek hasta, yaklaşık dört aydır öksürük, kanlı balgam çıkarma, göğüs ağrısı ve halsizlik yakınmaları ile başvuruyor. Beş yıl önce çekilen akciğer radyogramında sağ üst ve alt zonda tespit edilen konsolidasyon sonrası pnömoni tanısı ile antibiyotik tedavisi almış ve klinik, radyolojik iyileşme elde edilmiş. Ek bir hastalık veya bir bağışıklık sistemini baskılayıcı tedavi tanımlamıyor. Olgu 25 paket yıl sigara kullanımı tanımlıyor. Fizik muayene ve rutin laboratuvar inceleme sonuçları normal. Akciğer grafisinde; sağ akciğer üst zonda 3x3 cm boyutunda, çevresinde heterojen infiltrasyonu olan kaviter lezyon izleniyor. Toraks BT'de sağ üst lob apikal segmentte düzgün ince duvarlı 3 cm çaplı kaviter lezyon saptanıyor. Bronkoskopide endobronfliyal lezyon izlenmiyor. Hastadan balgam, BAL örnekleri alınıyor.

OLGU-5
Mete EYİGÖR
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Aydın

79 yaşında erkek hasta. Prostat Ca nedeniyle 2 yıldır takip edilen hastanın 5 ay öncesinden başlayan bel ağrısının giderek artması nedeniyle ortopedi kliniğine başvurmuş. Yapılan incelemeler sonrasında T10 düzeyinde kitle saptanmış ve bu düzeyde kırık saptanan hasta opere edilmiş. Alınan operasyon materyalinin incelenmesinde Gram boyamada lökosit ve bakteri görülmemiş, 4-5 eritrosit görülmüş. Kültür sonucunda üreme saptanmamış. Patoloji raporu; Granülomatöz enflamasyon bulguları gösteren yumuşak dokular şeklinde rapor edilmiş. ARB boyama sonucu aside dirençli basil görülmemiş.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA MİKOBAKTERİYOLOJİ

OLGU-6
DR. METE EYİGÖR
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültes,. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Aydın

54 yaşında kadın hasta. Sol gözde kronik panüveit nedeniyle medikal tedavi uygulanan hasta. Diabet hastası. Sol göze steroid injeksiyonu yapılıyor (birkaç kez) ve steroidli damla kullanıyor. Üç ay sonra sol gözde ağrı, şişlik ve kızarıklık, görmede azalma şikayeti ile başvuruyor. Yapılan incelemede ön kameranın pü ile dolu olduğu gözleniyor. Sol gözde endoftalmi tanısı konularak, fungizon damla, flukonazol IV başlanıyor. Göz içinden alınan örneğin mikrobiyolojik incelenmesinde etkenin mantar olmadığı, atipik bir bakteri olabileceği belirtiliyor.

MERKEZİ STERİLİZASYON ÜNİTESİ

Mehmet Ali ÖZİNEL
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Merkezi sterilizasyon üniteleri (MSÜ) sağlık kuruluşlarında, tıbbi cihazların ve diğer tıbbi ve cerrahi sarf malzemelerinin temizlik, hazırlık, sterilizasyon işlemlerinin yapılarak depolandığı ve ihtiyaç doğrultusunda kullanıcıya teslim edildiği birimlerdir. Batı ülkelerindeki uygulanış biçimi ile bu birim steril yada non-steril olarak yeni satın alınan malzemelerin depolama ve kullanıma sunma işlevini de üstlenir.
Gelişmiş ülkelerde de 1940 yıllarına kadar tıbbi ve cerrahi gereçler kullanım alanlarında bulundurulmakta, tekrar kullanıma hazırlık aşamaları ve sterilizasyon işlemi de bu bölümlerde yerine getirilmekte idi. Bu dağınık düzen ülkemizde yirminci yüzyılın sonuna kadar devam etmiştir. Günümüzde halen bu durumda olan kamu ve özel hastanelerin bulunduğu bilinmektedir.
Bu uygulama hem yatırım hem de işletme giderlerinde gereksiz tekrarlara, malzeme ve iş gücü kayıplarına yol açmaktadır. Bundan daha da önemli olarak yapılan işlemlerin standardizasyonu ve sterilizasyon güvenliğinin sağlanmasında sorunlarla karşılaşılmaktadır. Sterilizasyon "herkesin görevli olduğu fakat hiç kimsenin sorumlu olmadığı" bir görev durumundadır. Genellikle ameliyathanenin kirli malzeme odasına yakın bir yerde gerekli sayıda buhar sterilizatör bulunur, o gün kimin işi daha az yoğunsa sterilizasyon görevi de o kişiye havale edilir. Genellikle kayıt tutulmaz, kalite kontrol işlemleri ya hiç yapılmaz ya da gereken önem verilmez.
Cerrahi tekniklerin gelişmesi, kullanılan tıbbi cihazların çeşitlenmesi, daha karmaşık yapılı hale gelmesi, ısıya dayanıklı olmayan plastik malzemelerin kullanılmaya başlanması ve yeni sterilizasyon yöntemlerinin uygulamaya girmesi gibi nedenlerle günümüzde sterilizasyon işlemleri daha önce olduğu gibi bir kenarda halledilliverecek uygulamalar olmaktan çıkmıştır. Bu durum merkezi sterilizasyon ünitelerinin kurulmasını gerekli kılmış ve önce gelişmiş ülkelerde, yakın geçmişte ülkemizde de uygulanmaya başlanmış ve yaygınlaşmıştır. Ülkemizdeki ameliyathanenin dışında, ayrı bir birim olarak ilk kurulan merkez Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin merkezi sterilizasyon ünitesidir. Hemen arkasından 1997 yılında Ege Üniversitesinde de buna benzer yapıda, hastanenin tamamına hizmet veren ayrı bir merkez kurulmuştur.

Yapı ve işlev

Merkezi sterilizasyon üniteleri, bazı ülkelerde merkez servis, tedarik merkezi, steril malzeme hazırlık ve dağıtım merkezi vb değişik adlarla anılabilmektedir. Adlandırmanın yanı sıra üstlendiği görevlerde de farklılıklar olabilmektedir. Değişik kurumlarda gereğine göre çamaşırhane ve terzihane de bu birime bağlı olarak yapılandırılabilir. İdari yapı ve teşkilat şeması her kurumda kendine özgü farklılıklar gösterebilir. Ülkemizde de her hastanenin merkezi sterilizasyon ünitelerinin yapılanması ve yönetim biçimi kendine özgüdür. Bazı kurumlarda ameliyathane yönetimine bağlı yada enfeksiyon kontrol komitesinin bünyesinde, bazı kurumlarda ise doğrudan başhekimliğe bağlı olabilmektedir. Yönetimden sorumlu kişiler değişik disiplinlerden seçilmektedir. Enfeksiyon hastalıkları uzmanı, mikrobiyoloji uzmanı, cerrah, anestezi uzmanı gibi örneklere rastlanmaktadır.
Merkezi sterilizasyon ünitesinde çalışacak personelin seçimi ve görevlendirmesi önemli konuların başında gelmektedir. Ülkemizde sterilizasyon merkezinde çalışacak sağlık personelinin yetişmesine yönelik eğitim veren bir okul yoktur. Hemşireler, anestezi teknisyenleri, ameliyat teknisyenleri ve diğer sağlık teknisyenleri bu alanda görev alabilecek en uygun çalışan grubunu oluşturur. Çalışan kadrosu nasıl oluşursa oluşsun temel bilgileri içeren hem teorik hem de uygulamalı düzenli hizmet içi eğitim yapılmalıdır. Temel mikrobiyoloji, enfeksiyon etkenlerinin bulaşma yolları ve kontrol önlemleri, el hijyeni, koruyucu giysi ve ekipmanın kullanımı gibi tüm sağlık çalışanlarının bilmesi gereken genel bilgilerin yanında çalışma alanına ilişkin bilgileri de içeren bir eğitim programı uygulanmalıdır. Dekontaminasyon, yıkama, paketleme, sterilizasyon yöntemleri, sterilizasyonun kontrolü, validasyon, teçhizatın doğru kullanımı ve bakımı, düzenli kayıt tutulması gibi uygulamalar ve iletişim konuları bu kapsamda sayılabilir. Eğitimler belli aralıklarla tekrarlanarak bilgilerin güncelliğini koruması sağlanmalıdır.
Merkezi sterilizasyon ünitesinin en önemli müşterisi ameliyathanedir. Buna bağlı olarak en iyisi ameliyathaneye en yakın yere konuşlandırılmasıdır. Bu şekilde hem işgücü kayıpları önlenmiş olur, hem de kirli malzemelerin taşınmasından kaynaklanan riskler azaltılır ve birçok ek önlem alınması için gereklilik ortadan kalkar.
MSÜ; temizleme-dekontaminasyon, kontrol, onarım, dezenfeksiyon, paketleme, sterilizasyon, depolama ve dağıtım basamaklarından oluşan bir süreç içinde steril malzeme üreten bir imalathaneye benzetilebilir. Merkezin yapılanması kirli alan, temiz alan ve steril alan olarak tanımlanan üç ana bölüm şeklinde olmalıdır. Bu ana yapı yeterli enerji sağlayabilecek kapasitede elektrik panosu, uygun nitelikte ve kapasitede su arıtma sistemi, merkezi yada bağımsız vakum ve basınç kaynakları, etilen oksit yöntemini de kullanan merkezlerde bu iş için ayrılmış temiz ve steril alanlar, yönetmeliklere uygun baca sistemleri ve detoksifikasyon ünitesi, depo gibi destek bölümleri ile tamamlanmalıdır. Ayrıca ünite içerisinde çalışan personel için; soyunma-giyinme, dinlenme, eğitim ve iletişim odası gibi sosyal alanların da yer alması gerekmektedir.
Yukarıda da değinildiği gibi ülkemizde merkezi sterilizasyon ünitelerinin gerekliliği anlaşılmış ve hastanelerimizde artık bu üniteler kurulmaya başlanmış olsa da henüz hak ettikleri öneme kavuşabildikleri söylenemez. Ülkedeki ilklerden biri olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde kurulan da dahil olmak üzere birçoğunun yerleşiminde ve yapısında önemli eksiklikler ve sorunlar vardır. Bu hastanede yeni inşa edilmesi planlanan ameliyathane bloğunda da merkezi sterilizasyon ünitesine ayrılan yer hacim ve konum olarak ideal koşullardan

oldukça uzaktır. Başka birçok hastanemizde de sterilizasyon ünitesi çalışanları hastanenin en ücra köşesinde, çoğu kez en alttaki bodrum katta bulunmaktan yakınırlar.

İşleyiş

Merkezi sterilizasyon üniteleri, kesintisiz hizmet üreten dinamik merkezlerdir. Genellikle vardiya düzeninde çalışılır. Merkezin iş yükü yoğunluğu ameliyathanenin mesaisinin sonuna doğru artar. Kirli alet ve tekstillerin yıkanıp kontrol edilmeleri, hazırlık paketleme ve sterilizasyon işlemlerinin tamamlanarak bir sonraki iş günü tekrar kullanıma hazır hale gelmesi için çoğu kez gece boyu süren bir çalışma gerekir. Acil servis hizmeti vermeyen küçük hastanelerde icap düzeninde çalışma yeterli olabilir.

Ünite içerisinde işlevine uygun bir yapılanma ve bölümlenme olması gerekir. İş akışı malzemelerin kirliden steril alana doğru tek yönlü hareket edeceği şeklide planlanmalıdır. Çift kapılı cihazların kullanılması bu uygulamayı kolaylaştırır. Mümkünse iş yükü ve personel sayısına göre her üç ana bölümün çalışanları diğer alanlara geçmeyecek şekilde görev planlaması yapılmalıdır. Az sayıda personel ile çalışan küçük hastanelerde bu düzen sağlanamıyorsa, mikroorganizmaların taşınmasını azaltmak için geçişlerde el yıkama, giysi ve terlik değişimi gibi önlemler uygulamaya konmalıdır.

Kirli Alan:

Kullanılmış aletlerin üniteye kabul edildiği, dekontamine edildiği ve temizlendiği alandır. Bu bölüm ameliyathanenin kirli koridorundan en kısa yolla ulaşılabilecek mümkünse bir ara kapı veya pencere ile geçilebilen yada kirli malzemenin taşınmasına tahsis edilmiş ayrı bir asansörle bağlantı sağlanan konumda olmalıdır. Kirli alan, ünitenin bütün öteki alanlarından fiziksel olarak ayrılmalı ve diğer bölümlerden ayrı bir girişi olmalıdır. Çalışanlar koruyucu önlemlere titizlikle uymalı, gerekli hallerde koruyucu giysi ve malzeme kullanmalıdır. Bu alanda aletlerin elde yıkanması için uygun kapasitede evyeler, hava ve su tabancaları, ultrasonik yıkama makineleri ve yıkama dezenfeksiyon makineleri bulunur. Dekontaminasyon alanında, ortamda bulunan mikrobiyal kirlilik muhtemelen yüksek düzeyde olacağı için bu alanın düzenli olarak temizliği/dezenfeksiyonu sağlanmalıdır. Zemin, duvarlar, tavan ve çalışma yüzeyleri sık sık temizlemeye ve ıslak şartlara dayanıklı olan gözeneksiz malzemeden yapılmalıdır. Arabaların, taşıma kaplarının ve ilgili teçhizatın temizlendiği alan, dekontaminasyon alanına bitişik olabilir. Dekontaminasyon odasında hizmet için kullanılan lavabolardan ayrı el yıkama lavabosu bulunmalıdır. Bu alanda bulunan hiçbir malzeme dekontamine edilmeden diğer alanlara taşınmamalıdır.

Temiz Alan:

Temiz alan yıkama dezenfeksiyon makinelerinin temiz kapılarının açıldığı bölümdür. Bu alanda dekontamine olmuş temiz alet ve malzemelerin sayım, kontrol ve bakımları yapılır, sterilizasyona hazırlık için paketlenir, steril olmak üzere paketlenmiş malzemeler depolanır. Bu bölümde dekontamine olmuş aletlerin tekrar kontamine olmasını önleyecek bir çalışma düzeni sağlanmalıdır. Çalışanlar el hijyenine dikkat etmeli, bone ve maske kulanmalıdır. Sterilizatörlerin yükleme kapıları bu alandadır. Kullanılıyorsa etilen oksit sterilizatörünün bulunduğu ayrı odaya da bu alandan ulaşılabilmelidir. Tekstil katlama odası temiz alan ile bağlantılı ancak havalandırması bağımsız olan ayrı bir oda şeklinde olmalıdır; buradan kaynaklanan tekstil tozları ve havların cerrahi aletleri kirletmesi önlenmelidir.

Steril Alan:

Sterilizatörlerin boşaltma kapılarının açıldığı ve sterilizasyon işleminin geçerliliğinin kontrolünün yapıldığı alandır. Steril ve temiz malzemeler kullanıcıya teslim edilmeden önce bu bölümde depolanır. Etilen oksit sterilizatörlerinden çıkan malzemeler bağımsız havalandırması olan ayrı bir mekanda bekletilmelidir. Bu bölümde gaz kontrol detektörleri bulunmalı ve oluşabilecek kaçak durumlarına acil müdahaleye uygun olarak planlanmalıdır. Malzemelerin depolandığı bölümlerde ve kullanıcıya ulaşıncaya kadar tekrar kontamine olmamasına özen gösterilmelidir.

Sterilizasyon güvenliği sağlık hizmetinin kalitesini belirleyen infeksiyon kontrol önlemlerinin temel unsurlarından biridir. Sterilizasyon kullanılmış aletlerin kullanım alanından alınarak taşınması, yıkanması, kontrolü, steril edilmesi ve tekrar kullanıcının hizmetine sunulması basamaklarından oluşan bir işlemler dizisidir. Bu basamakların her aşaması bilimsel yöntemlere ve standartlara uygun yerine getirilmelidir. Çalışan ekibin görev tanımları belirlenmiş olmalı, tüm işlemlerin yazılı prosedürlere uygun yürütülmesi sağlanmalıdır. Düzenli kontroller yapılmalı ve yapılan her işlemin düzenli olarak kayıtları tutulmalıdır. Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon (DAS) Derneğinin yayınladığı, bu konuda güncel bilgileri içeren ulusal rehber kullanıcıların erişimine açıktır.

STERİLİZASYON VE DEZENFEKSİYON- İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARI

Ayşegül KARAHASAN YAĞCI[1], Duygu PERÇİN[2], Murat GÜNAYDIN[3]
[1]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[3]*Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun*

İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) T.C. Sağlık Bakanlığı' nca klinik çalışmalar dışındaki sağlık ve çevre güvenliği çalışmalarının planlanması, yapılması, izlenmesi, kaydedilmesi, arşivlenmesi ve rapor edilmesi şartları ve yönetim usulleri ile ilgili kalite sistemi olarak tanımlanmaktadır. 2002 yılında resmi gazetede "İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri ve Test Laboratuvarlarının Belgelendirilmesine Dair Yönetmelik" yayınlanmış olup bu yönetmelikle daha ziyade kozmetik ürünler, pestisitler, tıbbi farmasotik ürünler, veteriner ilaçları, gıda katkı maddeleri, yem katkı maddeleri, kimyasal madde ve müstahsarların test edildiği laboratuvarların denetlenmesi hedeflenmektedir. Bu yönetmelik 9 Mart 2010 Salı, 27516 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan "İyi Laboratuar Uygulamaları Klavuzu ve İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri, Test Birimlerinin Uyumlaştırılması, İyi Laboratuvar Uygulamalarının ve Çalışmaların Denetlenmesi Hakkında Yönetmelik" ile güncelenmiştir. OECD (organisation for economic cooperation and development) İyi Laboratuar Uygulamaları İlkeleri (1997) çerçevesinde İLU klinik dışı sağlık ve çevre güvenliği çalışmalarının planlandığı, yürütüldüğü, izlendiği, kaydedildiği, arşivlendiği ve raporlandığı organizasyon süreci ve koşulları ile ilgili bir kalite sistemi olarak tanımlanmaktadır.

Bu terminolojinin klinik laboratuvarlar için İyi Klinik Laboratuvar Uygulamaları (İKLU) olarak kullanılması daha yerinde olacaktır. İKLU ile planlama, uygulama, kayıt ve takip sisteminin yerleştirilmesi, verilerin kalite kontrolünün ve validasyonunun sağlanması hedeflenmektedir. Bu uygulama ancak personelin iyi eğitilmesi ve organize olması ile mümkün olabilmektedir. İKLU' da temel belirleyici dökümantasyonun tipi ve miktarıdır. Uygulamayı kim yaptı, nasıl yaptı, problem oluştu mu, oluştuysa nasıl çözüldü sorularına cevap verilebilmeli ve her tür veriye üzerinden uzun zaman geçse bile ulaşılabilmelidir. Organizasyonun yapısı ve işletme akışı belirlendikten sonra ilk adım olarak her bir işlem için SOP (standart operation procedures)- standart uygulama prosedürü-SUP ların hazırlanması gereklidir. Basamaklar planlama-uygulama- takip etme- kayıt etme- rapor etme- arşivleme şeklinde ilerlemelidir. SUP ların olmaması- yetersiz olması- takip edilmemesi durumunda laboratuvar denetimden geçememektedir.

Merkezi Sterilizasyon Ünitesi(MSÜ) klinik laboratuvar olmamakla beraber İKLU çerçevesinde ele alınması gereken bir bölümdür. Sterilizasyon süreci sırasında yapılacak herhangi bir hata geri dönüşü olmayan olaylara ve ciddi ekonomik kayıplara yol açabilir. Bununla birlikte genellikle 7 gün 24 saat çalışan, iş yoğun bir ünite olması, eğitim ve bilgi eksikliği gibi nedenlerle hatalar olabilmektedir. Kayıtların düzgün tutulmaması ise hiç hata yapılmasa bile başlı başına bir hata veya "kötü laboratuar uygulaması" örneği olarak karşımıza çıkmaktadır. Erciyes Üniversitesinde 1999 yılında aşırı büyük ameliyat bohçaları nedeniyle meydana gelen salgında 15 hastada ameliyat sonrası mediastinit gelişmiş, 7 hasta ise enfeksiyon nedeniyle kaybedilmiştir (1). Yine, göz ameliyatları sonrası gelişen endoftalmit vakaları ve gözlerini kaybeden hastalar sterilizasyon hatalarının doğurduğu sonuçların ülkemizde de sık yaşadığımız bir örneğidir (2). Bu olgularda yetersiz sterilizasyon uygulamalarının yanı sıra sterilizasyon süreci ile ilgili hiçbir kayda ulaşılamaması, sorunu daha da kötüleştirmektedir.

Merkezi Sterilizasyon Üniteleri'nde (MSÜ) yapılan her işin kayıtlı olması ve kayıtların en az 5 yıl saklanması gerekir (3). Joint Commission on the Acreditation of Healthcare Organizations standartlarına göre, steril malzeme süreci hasta bakım sürecinin en önemli parçasıdır ve bu nedenle, bu amaçla kullanılan tüm cihazların uygun şekilde çalıştığının, kimyasalların doğru kullanıldığının, enfeksiyon kontrol ve korunma önlemlerinin uygulandığının değerlendirilmesi önemlidir (4).

Association for the Advancement of Medical Instrumentation (5) standardına göre steril edilerek tekrar kullanılabilen tüm tıbbi aletler ve özellikle de implantlar, kullanıldıkları hastaya kadar izlenebilir olmalıdır. İzlenebilirlik, ancak dökümantasyon etiketlerinin kullanılması ile mümkündür. Dökümantasyon sistemleri etiket tabancası ile yapıştırılan basit etiketlerden, cerrahi aletlerin tek tek işaretlenerek bilgisayar ortamında her türlü verilerinin saklanabildiği üst düzey "tracking" sistemlerine kadar geniş bir yelpazeye sahiptir. Hastaneler yukarıda sayılan tüm verilere tekrar dönülebilmesini sağlayacak, hastane koşullarına uygun bir dokümantasyon etiketleme sistemi kullanmalıdır (6).

Kalite, sağlık hizmetinin vazgeçilmez unsurudur. MSÜ ise sağlık hizmetinin merkezinde yer alır. MSÜ'de kalite yönetimi sırasında, ünitede hazırlanmış binlerce hatasız, mükemmel set değil, tek bir hatalı set, kalite çıktısı olarak değerlendirilmektedir ve hasta güvenliği açısından öyle de olmalıdır. Steril edilerek yeniden kullanıma hazırlanmış ürünlerin kalitesi, kalite indikatörleri kullanılarak değerlendirilmeli ve denetlenmelidir. Bunun yapılabilmesi için, sterilizasyon sürecine ait tüm verilerin düzenli olarak kaydı, MSÜ personelinde kalite bilincinin çok iyi yerleşmiş olması ve MSÜ'deki kalite indikatörlerinin uygun şekilde takibi ve denetimi gereklidir. Kalitenin her bir çalışanın sorumluluğu olduğu ve herkesin bu süreçte yer ve görev alması gerektiği unutulmamalı, personelin motivasyonu ve bilgilendirilmesi sağlanmalıdır (7).

Kaynaklar

1. D. Esel, M. Doganay, N. Bozdemir, O. Yildiz, T. Tezcaner, B. Sumerkan, B. Aygen, A. Selcuklu. Polymicrobial ventriculitis and evaluation of an outbreak in a surgical intensive care unit due to inadequate sterilization. J Hosp Infect 2002; 50: 170-4.
2. Mirza GE, Karaküçük S, Doğanay M, Cağlayangil A. Postoperative endophthalmitis caused by an Enterobacter species. J Hosp Infect. 1994; 26:167-72.
3. Dezenfeksiyon Antisepsi ve Sterilizasyon Derneği (DAS). Dezenfeksiyon ve Sterilizasyon Rehberi (2011)
4. The Joint Commission. Accreditation Manual of Hospitals, Oakbrook Terrace, IL, The Joint Commission, 2006.
5. Association for the Advancement of Medical Instrumentation. Comprehensive guide to steam sterilization and sterility assurance in health care fascilities. ANSI/AAMI ST79:2006.
6. Martha Young. Documentation. Managing Infection Control. March 2007.
7. International Association of Healthcare Central Service Materiel Management. Quality Assurance. Central Service Technical Manual. 7th edition. p. 377-95.

NOZOKOMİYAL PATOJENLER VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ: KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI NELER YAPABİLİR?

A.Esra KARAKOÇ
Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Hastane enfeksiyonları, çeşitli faktörlere bağlı olarak hastanede yatan hastalar için yüksek atfedilen mortalite oranlarına sahiptir. Ciddi enfeksiyonlar aynı zamanda tedavide kullanılan antimikrobiyallere ve hastaların hastanede kalma sürelerinin uzamasına bağlı olarak sağlık kurumlarına önemli ekonomik yükler getirmektedir. Tedaviye, uygun antimikrobiyal ajanlarla ve zamanında başlanması hastanın klinik gidişinin düzeltilmesinde en önemli faktörlerdendir. Antimikrobiyallerin yaygın kullanılması çok ilaca dirençli (ÇİD) patojenlerin ortaya çıkmasında önemli bir tetikleyicidir. Çoklu ilaç direnci ampirik tedavilerin seçilmesini güçleştirmekte, aynı zamanda uygunsuz (geniş spektrumlu) ampirik tedavilerin seçilmesine sebep olmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının ampirik ve etkene özgül tedavilerinin planlanmasında klinik mikrobiyoloji laboratuvarı önemli bir role sahiptir.

Sürveyans temelli ampirik tedavi yaklaşımı rutin sürveyans kültürlerinin yapıldığı hastanelerde uygulanabilir. Bu kültürlerde ÇİD patojenler araştırılır; bunların varlığı ya da yokluğuna göre ampirik tedaviler seçilir. Bu yaklaşımın güçlü yönü, sürveyans kültürlerinin yüksek negatif prediktif değerinin olmasıdır. Yani sürveyans kültürleri negatif sonuçlandığında, bu hastalarda daha sonra ortaya çıkabilecek klinik enfeksiyonların ÇİD patojenler tarafından oluşturulmadığı öngörülür. Haftada bir veya iki kez yapılan sürveyans kültürleri uygun ampirik tedavinin seçilmesine ve antibiyotik kullanımının azaltılmasına yardımcı olabilir; ancak bu yaklaşımın maliyet etkinliğinin araştırılması gerekir. Diğer bir yaklaşımda ise ÇİD patojenler yönünden risk altında olan hastalarda; genişlemiş spektrumlu beta laktamaz yapan Enterobacteriaceae, nonfermentatif gram negatif bakteriler ve metisiline dirençli Staphylococcus aureus dikkate alınarak tedavi başlanır; kültür sonuçları elde edildiğinde antimikrobiyal spektrum daraltılır. Bu yaklaşımın güvenli ve başarılı olduğu; antibiyotik kullanımını ve ÇİD patojenlerin ortaya çıkışını sınırladığı gösterilmiştir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının hastane enfeksiyonlarının kontrolüne katkı sağlayabilmesi için hastalardan doğru zamanda, doğru yöntemle ve doğru miktarlarda kültür alınması önemlidir. Laboratuvar nozokomiyal patojenleri tespit ederken ve bunların duyarlılıklarını belirlerken güncel bilgilere göre geçerli yöntemleri kullanmalı; sonuçların doğru olmasını ve zamanında raporlanmasını sağlamalı ve hasta bakımına katkı sağladığını denetlemelidir. Antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçlarının hızlı raporlanmasının nozokomiyal enfeksiyonlarda mortaliteyi azaltmasa da, uygunsuz antibiyotik kullanımını azalttığı ve patojene spesifik tedavi seçeneğinin kullanılmasını arttırdığı gösterilmiştir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesinde bugün yaygın olarak difüzyon testleri ve otomatize sistemler kullanılmaktadır. Her iki yöntemin de doğru sonuçlar verebilmesi için standardize edilmesi, kalite kontrol gereklerinin yerine getirilmesi ve elde edilen tüm sonuçların, doğruluğu klinik mikrobiyoloji uzmanı tarafından denetlendikten sonra, onaylanması ve raporlanması gereklidir.

Gram negatif bakteriler

Çok ilaca dirençli gram negatif bakteriler, hastanelerde sebep oldukları enfeksiyonların tedavilerinde ortaya çıkan kısıtlılıklardan ötürü önemli bir tehdit oluşturmaktadırlar. Eski antibakteriyeller kolistin ve fosfomisin, yeni antibakteriyellerden tigesiklin ve karbapenem grubundan doripenem bu enfeksiyonların tedavisinde elde kalan seçenekler olarak görünmektedir. Nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan ÇİD gram negatifler (Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumanii, Klebsiella pneumoniae ve Stenotrophomonas maltophilia)'nın tedavisinde monoterapiye karşı kombinasyon tedavilerinin ve elimizdeki antimikrobiyallerin etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Beta laktam antibiyotikler uzun yıllardır ciddi nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde yaygın kullanılanlar genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, beta laktam-beta laktamaz inhibitörleri ve karbapenemlerdir. Yaygın kullanılan ve güvenli olduğu düşünülen bu antibiyotiklere dirençte beta laktamaz enzimleri önemli rol oynar. Kromozomlar ve plazmidlerce kodlanan ve sayıları 890'ın üzerinde olan beta laktamaz enzimleri birçok beta laktam antibiyotik için geniş spektrumlu hidrolitik aktivite gösterirler. Beta laktam antibiyotiklerin etkinliğini tehlikeye sokan ve çoklu ilaç direncine yol açan enzimlerin yakından takibi gereklidir.

Plazmid kökenli beta laktamazlar; büyük miktarlarda üretilebilen AmpC sefalosporinazlar, giderek sayıları artan, monobaktam ve genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidroliz eden CTX-M enzimlerini de içeren genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) ve farklı moleküler sınıflarda olabilen ve karbapenemler dahil hemen tüm beta laktamları hidroliz edebilen karbapenemazlar şeklindedir. Plazmid kökenli karbapenemazlar; Klebsiella pneumoniae izolatlarından köken alan ve panrezistan gram negatiflerle tüm dünyaya yayılan KPC beta laktamazlar, Türkiye'den 2004'den bu yana Klebsiella'larda bildirilen OXA-48 enzimleri ve aztreonam hariç tüm beta laktamlara dirence yol açabilen metalloenzimlerdir (Tablo 1). Beta laktamaz enzimlerinin amino asit yapılarına göre moleküler sınıflaması ve hidrolizine yol açtıkları antibiyotikler ve enzimlerin inhibisyon profillerine göre numaralandırılmaları ile daha fazla sayıdaki moleküler sınıflaması yapılmıştır.

Tablo 1. Beta laktamaz sınıfları

Fonksiyonel Sınıflama	Moleküler Sınıflama	Hidroliz grubu
1	C	Sefalosporinaz (Amp C)
2b	A	Penisilinaz
2be	A	GSBL
2d	D	Kloksasilinaz
2df	D	Karbapenemaz
2f	A	Karbapenemaz
3	B	Metallobetalaktamaz (MBL)

Enzimleri kodlayan beta laktamaz genleri plazmidler üzerinde taşınır; beraberinde diğer antibiyotik sınıflarına da direnç determinantları taşır. Bunun sonucunda gram negatiflerin sebep olduğu bazı enfeksiyonlar sadece sınırlı sayıdaki antibiyotiklerle tedavi edilebilmektedir. Gram negatif bakterilerdeki çoklu ilaç direnci birimler arasında ve dünyanın farklı coğrafi bölgelerinde yayılma eğilimindedir.

Karbapenemaz yapan Enterobacteriaceae izolatlarının doğru tespit edilmesi antimikrobiyal tedavinin doğru seçilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması açısından kritiktir. Birçok rehberde rutin laboratuvarlarda tarama basamağından sonra genotipik ve/veya fenotipik doğrulama basamakları önerilmektedir. Hollanda'dan önerilen bir rehberde Enterobacteriaceae'de karbapenemaz taraması için meropenem MİK ≥ 0.5 µg/ml veya zon çapı ≤ 23mm olan izolatların seçilmesi önerilmiştir. Aynı rehberde Escherichiae coli, Klebsiella spp, Salmonella spp, Enterobacter spp ve Citrobacter spp için imipenem MİK ≥ 2 µg/ml veya zon çapı ≤ 21mm olan izolatların alınması önerilmektedir. Ertapenemin ise özgüllüğünün düşük olduğundan kullanılması uygun bulunmamıştır. Karbapenemaz taraması pozitif olan izolatlarda PCR ile karbapenemaz genleri araştırılması; ya da raporlamanın gecikmemesi için inhibisyon testleri yapılması önerilmektedir. Karbapenemazların fenotipik doğrulamasında modifiye Hodge testi; Ambler sınıf A karbapenemaz yapımı için boronik asit ve MBL yapımı için EDTA veya dipikolinik asit ile inhibisyon testleri önerilmektedir.

Otomatize sistemlerin karbapenemaz yapan izolatları belirlemedeki duyarlılık ve özgüllüklerinin araştırıldığı bir çalışmada duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla BD Phoenix için %100/%0, MicroScan için %82-85/%6-19 ve Vitek 2 için %74/%38 bulunmuştur. OXA-48 yapımının tespitinde sorunlar olduğu; KPC ve MBL'lerin tespit edilebildiği bildirilmiştir.

Antimikrobiyal duyarlılık testleri

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve karbapenemazlara bağlı direncin doğru tespit edilmesi önemlidir. Ülkemizde en yaygın kullanılan duyarlılık testi standardı CLSI M100-S20 Ocak 2010 dökümanında Enterobacteriaceae ailesi için sefotaksim, seftriakson, seftazidim, seftizoksim ve aztreonam duyarlı zon çapları ve MİK sınır değerleri değiştirilmiştir. Laboratuvarlarda difüzyon testleri ve otomatize sistemlerde yeni zon çapları veya breakpoint sınır değerlerinin kullanılması gereklidir. Revizyon yapıldığında, GSBL tarama ve klavulanik asitle inhibisyon esasına dayalı GSBL doğrulama yöntemlerinin kullanılmasına ihtiyaç yoktur. Hasta sonuçları raporlanırken; sefalosporin, aztreonam ve penisilinleri dirençliye çevirmek gerekmemektedir. Diğer taraftan GSBL tarama ve doğrulama testlerinin (M100-S20 ve S21 dökümanlarında, Tablo 2A-S1) hastanenin ve ülkenin ihtiyaçlarına göre epidemiyolojik ve enfeksiyon kontrol amaçları ile yapılmasının sürdürülmesi mümkündür.

Test edilen karbapenemlerin tümüne orta duyarlı veya dirençli sonuç elde edilen izolatlarda karbapenemaz yapımı ile ilgili tarama ve doğrulama testlerinin kullanılması gerekli değildir. Elde edilen karbapenem sonuçları aynen rapor edilir. Ancak bu suşlarda da enfeksiyon kontrol gereksinimlerine göre epidemiyolojik amaçlı olarak karbapenemaz yapımının fenotipik doğrulaması için modifiye Hodge testi (MHT) kullanılabilir. CLSI 2010 dökümanına göre; difüzyon testinde karbapenemlere duyarlı olan, zon çapı ertapenem için 19-21, meropenem için 16-21mm arasında; dilüsyon testlerinde MİK ertapenem için 2, imipenem 2-4 veya meropenem 2-4µg/ml olan izolatlarda karbapenemaz yapımı söz konusu olabilir. Bunun MHT ile doğrulanması önerilmektedir (M100-S20, Tablo 2A-S2). Difüzyonla MHT pozitif tespit edilen izolatlarda karbapenem MİK'lerinin belirlenmesi önerilir. Sonuç raporuna tespit edilen karbapenem MİK değeri ile birlikte "karbapenemaz yapımının olduğu ve bu izolatlarda karbapenemlerin klinik etkinliğinin belirsiz olduğu" notunun eklenmesi önerilmektedir.

CLSI 2011 dökümanında Enterobacteriaceae karbapenem duyarlılık sınır değerleri revize edilmiştir. 2010 yılı sınır değerlerini kullanan laboratuvarlarda Tablo 2A-S3'e göre difüzyonla zon çapları ertapenem için 16-21 ve meropenem için 14-21mm arasında olan; dilüsyon testlerinde MİK ertapenem için 2-4µg/ml, imipenem ve meropenem için 2-8µg/ml olan izolatlarda karbapenemaz yapımının fenotipik olarak MHT ile doğrulanması ve raporlamanın buna göre yapılması gereklidir. CLSI 2011 karbapenem zon çaplarının uygulamaya konduğu laboratuvarlarda ise, rutin duyarlılık testlerinde karbapenemaz tarama ve doğrulama kriterlerinin kullanılmasına gerek yoktur (Tablo 2A-S2).

Karbapenemaz yapımının en duyarlı indikatörü ertapeneme direnç tespit edilmesidir. Ancak ertapenem diskinin özgüllüğü düşüktür. Bu izolatlarda genellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden (sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, seftizoksim ve seftriakson) bir veya birkaçına da direnç vardır. Bu izolatlarda karbapenemaz yapımının

fenotipik doğrulaması için önerilen MHT'de ertapenem veya meropenem disklerinden birisi kullanılır. MHT testinin serin karbapenemazlar için duyarlılığının yüksek olduğu ancak metallobetalaktamaz tipindeki karbapenemazlar için belirsiz olduğu bildirilmektedir.

Klinik infeksiyonda yükselmiş karbapenem MİK düzeyleri karbapenemaz yapımı için ilk ipucu olarak değerlendirilmelidir. MBL'lerin varlığında P.aeruginosa ve Acinetobacter'lerde imipenem MİK aralığı 8-≥128µg/ml; K.pneumoniae izolatlarında 2-64 µg/ml arasında tespit edilmektedir. Ancak karbapenemaz enzimi tespit edilen ve imipenem MİK'leri yüksek bulunan izolatlardan direncin aktarıldığı E.coli'lerde MİK düzeylerinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu da karbapenem direncine katkı sağlayan diğer mekanizmaların (örn.geçirgenliğin azalması ya da eflüks pompaları gibi) varlığına işaret etmektedir. MBL geni taşıyan Enterobacteriaceae ve Acinetobacter türleri karbapenem duyarlı da bulunabilir.

KPC serin karbapenemazların da tespit edilmesi güçtür. İmipenem MİK değerleri 2 µg/ml gibi düşük olabilir; düşük inokülum (hücre sayısı) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı MİK sonuçlarına yol açabilir. Otomatize sistemler KPC yapan K.pneumoniae izolatlarının %7'sini imipeneme ve %87'sini meropeneme duyarlı bildirmektedir. Bunun sebebi karbapenem direncinin heterojen ekspresyon göstermesi veya üreticinin önerdiğinden daha düşük inokülum düzeylerinin kullanılması olabilir. Sonuçlarda günden güne varyasyon tespit edilmiştir. E-test yönteminde ise zon içi üremelerden dolayı tutarsız sonuçlar elde edilmiştir.

KPC'ye bağlı direncin tespitinde difüzyon yönteminde de tutarsızlıklar görülür. İmipenem ve meropenem disklerinin kullanılmasının duyarlılığı düşüktür. KPC yapan K.pneumoniae izolatları ertapeneme %0-6, imipeneme %26-29 ve meropeneme %16-52 arasında duyarlılık gösterir. Ertapenem, KPC eksprese eden izolatları tespit etmede en iyi molekül gibi görünmektedir. AmpC, GSBL yapımı ve porin kaybı gibi diğer mekanizmaların varlığı da söz konusu olduğundan doğrulama gereklidir. Doğrulama testlerinden klavulanik asit veya tazobaktamın kullanıldığı testler, KPC'lerin bu moleküllerle düşük inhibisyon göstermelerinden dolayı faydalı değildir. Modifiye Hodge testi karbapenemaz varlığını doğrular; ancak tipini belirlemez. Bu test ile CTX-M pozitif izolatlarda ve AmpC aşırı üreten Enterobacteriaceae'de hatalı pozitif sonuçlar bildirilmiştir.

İnhibitör testleri

İnhibitör testleri GSBL'lerin tespitinde olduğu gibi karbapenemazların tespit edilmesinde de kullanılmaktadır. MBL enzimlerinin aktif bölgeleri farklılıklar gösterir; dolayısıyle tek bir inhibitörün etkili olması mümkün görünmemektedir. GSBL'lerin tespitinde kullanılan klavulanik asit, sınıf A enzimlerle direkt interaksiyona girip stabil kovalen ara bileşikler oluştururken, MBL'ler bunu yapamaz. Aynı zamanda etki spektrumları da çok geniş olan MBL'leri inhibitörlerle etkisiz kılmak GSBL'ler ile aynı etkinlikte mümkün olamayabilir. Tiyoester bileşikleri, triflorometil alkol ve ketonlar, tiyoller, sistein içeren peptidler, merkaptokarboksilatlar ve sefotetan araştırılmıştır.

MBL tespitinde standardize edilmiş bir fenotipik yöntem bulunmamaktadır. MBL yapımının taranmasında sıklıkla EDTA veya 2-merkaptopropionik asit disk yaklaştırma testleri önerilmektedir. Beta laktam diskinin etrafındaki inhibisyon zonu, inhibitör tarafında genişler. İnhibisyon testlerinde imipenem, seftazidim ve sefepim kullanılmıştır. Farklı antibiyotik-inhibitör kombinasyonları değerlendirildiğinde MBL yapımının tespit edilmesinde Pseudomonas ve A.baumanii için imipenem-EDTA, K.pneumoniae için seftazidim-klavulanat-EDTA ve E.cloacae ve C.freundii için sefepim-klavulanat-EDTA en duyarlı bulunmuş; toplamda yöntemin duyarlılığı %86.7 olarak bildirilmiştir.

E-test yöntemi ile yapılan testlerde imipenem MİK değerinin EDTA varlığında üç misli veya daha fazla azalması MBL yapımı için pozitif sonuç olarak yorumlanmıştır. Testin duyarlılık ve özgüllüğü sırası ile % 94 ve % 95 bulunmuştur. İmipenem MİK'inin 4 µg/ml'nin altında olduğu izolatlarda hatalı negatiflik ve bazı suşlarda da hatalı pozitiflik bildirilmiştir.

Klinik laboratuvarlarda MBL'ler için bir tarama yaklaşımının geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Öncelikle karbapenem ve seftazidim MİK düzeylerine göre hedef izolatların seçilmesi gereklidir. İmipenem MİK değerleri P.aeruginosa için ≥16 µg/ml, Acinetobacter türleri için ≥8 µg/ml ve Enterobacteriaceae için ≥2 µg/ml olan izolatların değerlendirilmesi önerilmektedir. Kullanım kolaylığı yönünden E-test MBL stripleri daha uygun olabilir. Enterobacteriaceae'da direncin düşük olmasından dolayı disk yakınlaştırma yöntemine ihtiyaç bulunmaktadır. Bu yöntemin duyarlılığını artırmak üzere farklı substratlar (imipenem, seftazidim, meropenem) ve birden çok inhibitörün (EDTA ve merkaptopropionik asit) kullanılması önerilmektedir.

Enterobacteriaceae'da diğer karbapenemazların (KPC, OXA-48 gibi) araştırılması için CLSI'nın tarama için önerdiği zon çapları ya da dilüsyonlardaki izolatların modifiye Hodge testi (MHT) ile değerlendirilmesi, şüpheli izolatların ilk belirlenmesinde hızlı ve duyarlı yöntemlerdir. MHT'de agar plate'de test edilen şüpheli izolat ile indikatör suşun karbapenem zonunun kesişim noktasında daralma şeklinde içeri doğru çentik oluşması pozitif sonuca işaret eder. Serin tipi beta laktamaz inhibitörü olan boronik asit bileşikleri; karbapenemlerin substrat ve fenil boronik asit (PBA) bileşiklerinin inhibitör olarak kullanıldığı inhibisyon testleri ile KPC tipi beta laktamaz yapan izolatları diğer beta laktamazlardan ayıran testler olarak MHT yerine önerilmektedir. Karbapenem inaktivasyon testleri aynı zamanda zayıf karbapenemaz aktivitesi olan enzimlerin (örn.OXA-23 vb.) tespitinde de faydalıdır. Enterobacteriaceae'da karbapenem diskleri ile EDTA ve PBA'nın aynı plakta değerlendirilmesi ile MBL ve KPC'nin birlikte tespit edilebileceğini bildiren çalışmalar da vardır.

Moleküler yöntemler

Beta laktamazların tespitinde moleküler yöntemler altın standarttır. Tarama yöntemleri ile fenotipik olarak beta laktamaz şüpheli bulunan izolatların moleküler yöntemlerle doğrulanması gereklidir. Karbapenemaz direnç genlerinin (bla_{OXA-48}, bla_{VIM-1} bla_{VIM-2}, bla_{IMP-1}, bla_{IMP-2}, bla_{KPC} gibi) polimeraz zincir reaksiyonu ve DNA prob yöntemleri ile doğrulanması gereklidir. Ancak bu yöntemler varyant tipteki bir geni tespit edemez; bunun için dizi analizi gereklidir.

Epidemiler ve yüksek riskli endemik durumlarda, beta laktamazların asemptomatik gastrointestinal sistem kolonizasyonlarının belirlenmesi için yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hedefe yönelik sürveyans yapılması önerilmektedir. Bu amaçla kromojenik besiyerleri ve moleküler yöntemler kullanılabilir. Hastanelerde transfer edilebilen direnç genlerinin tespit edilmesi ya da buna işaret eden antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının bulunması önemli bir enfeksiyon kontrol problemidir. Böyle bir sonuç elde edildiğinde laboratuvar derhal enfeksiyon kontrol ekibini bilgilendirmeli, hasta yüksek riskli kabul edilmeli ve izole edilmelidir.

Karbapenemaz yapan bakteriler tedavisi güç ve yüksek mortalite oranlarına sahip enfeksiyonlara yol açarlar. Bu bakterilerin salgınlardaki oranları henüz rölatif olarak nadir olmakla birlikte sıklıkları artmaktadır. Karbapenem MİK seviyeleri her zaman yüksek olmayabileceğinden klinik mikrobiyoloji laboratuvarının öncelikle hastane ortamına bu enzimlerin girişini ve/veya gram negatif bakterilerde karbapenem MİK düzeylerindeki yükselmeyi tespit etmesi gereklidir. Antibiyotiklerin dikkatli kullanılması, etkili antibiyotik seçeneklerinin değerlendirilmesi ve sürveyans çalışmalarının da dahil olduğu sıkı enfeksiyon kontrol önlemlerine uyulması beta laktamazların ve diğer direnç determinantlarının yayılmasını önlemede yegane etkili yaklaşımlardır.

VISA-hVISA

Son yıllarda vankomisine duyarlılığı azalmış Staphylococcus aureus (VISA)'ların ve ciddi enfeksiyon etkeni duyarlı S.aureus'larda heterorezistan özellik gösteren alt popülasyonların (hVISA) bildirilmeye başlanması ile birlikte klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu suşların tespit edilmesi de önemli bir enfeksiyon kontrol problemi haline gelmiştir. hVISA'ların glikopeptid tedavi başarısızlıkları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Vankomisine direnci düzenleyen genlerdeki ardışık noktasal mutasyonlar sonucunda ortaya çıkan hVISA ve VISA fenotiplerinde, bakterinin hücre duvarı yapısı kalınlaşmakta ve vankomisinin hedef bölgesine ulaşması güçleşmektedir.

Vankomisin MİK sonuçları 4-8 µg/ml olan S.aureus izolatları VISA olarak tanımlanmaktadır. Vankomisin MİK sonucu 1.5/2 µg/ml duyarlı sınırlarda bulunan ve vankomisin tedavisinde olan hastalarda yüksek mortalite oranları bildiren çalışmalar vardır. Dilüsyon testlerinde vankomisin duyarlılık sınırının 2 µg/ml'den 1 µg/ml'ye indirilmesi yönünde revizyon yapılabilir. Ancak dilüsyon testlerinde +/- bir dilüsyonluk farklılıklar olabilmektedir. Vankomisin E-test ile elde edilen sonuçların bir dilüsyon yüksek olduğu bildirilmektedir. Vankomisin tedavisinin seçici etkisi ile ortaya çıkan VISA'larda tedavinin değiştirilmesi ile vankomisin MİK sonuçlarında düşme olduğu da tespit edilmiştir.

hVISA alt popülasyonlarının taranması için standart bir yöntem yoktur; CLSI dilüsyon yöntemlerinde kullanılan düşük inokülüm miktarları ile hVISA'ları tespit etmek mümkün görünmemektedir. Bu sebeple hVISA taramasında önerilen yöntemlerde inokülum miktarı artırılmakta, inkübasyon süresi uzatılmakta, besiyerlerinin besleyici özelliği yükseltilmektedir. Klinik laboratuvarlarda tarama amaçlı modifiye E-test yöntemleri ve agar tarama yöntemlerinin referans yöntem olan popülasyon analiz profili ile karşılaştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır.

Kaynaklar

1. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing bacteria. Lancet Infectious Diseases 2009; 9:228-36
2. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The versatile beta-lactamases. Clinical Microbiology Reviews 2007; 20 (3): 440-458
3. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases:The Quiet before the storm. Clinical Microbiology Reviews 2005; 18 (2): 306-325
4. Paterson DL, Bonomo RA. Extanded-spectrum beta-lactamases: A Clinical Update. Clinical Microbiology Reviews 2005; 18 (4): 657-686
5. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. Clinical Microbiology Reviews 2009; 22 (1): 161-182
6. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumanii: Emergence of a successful pathogen. Clinical Microbiology Reviews 2008: 21 (3): 538-582
7. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumanii: mechanisms and epidemiology. Clinical Microbiology and Infection 2006; 12: 826-836
8. Stuart JC, Leverstein-Van Hall MA, Dutch Working Party on the Detection of Highly Resistant Microorganisms. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. International Journal of Antimicrobial Agents 2010; 36: 205-210
9. Woodford N, Eastaway AT, Ford M, et al. Comparison of BD Phoenix, Vitek 2 and MicroScan Automated Systems for detection and inference of mechanisms responsible for carbapenemase resistance in Enterobacteriaceae. Journal of Clinical Microbiology 2010; 48 (8): 2999-3002
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement January 2010; M100-S20
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-first Informational Supplement January 2011; M100-S21

12. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in Staphylococcus aureus, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews 2010; 23 (1): 99-139
13. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant gram-negative infections. Critical Care 2010; 14: 224
14. Vogelaers D, De Bels D, Foret F, et al. Patterns of antimicrobial therapy in severe nosocomial infections: empiric choices, proportion of appropriate therapy, and adaptation rates-a multicentre, observational survey in critically ill patients. International Journal of Antimicrobial Agents 2010; 35: 375-381
15. Pournaras S, Poulou A, Tsakris A. Inhibitor-based methods fort he detection of KPC carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in clinical practice by using boronic acid compounds. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2010; 65: 1319-1321
16. Poirel L, Leritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2004; 48 (1): 15-22
17. Bahar G, Mazzariol A, Koncan R, et al. Detection of VIM-5 metallo-beta-lactamase in a Pseudomonas aeruginosa clinical isolate from Turkey. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004; 282-283

HASTANE SALGINI: KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI NE YAPABİLİR?

J. Sedef GÖÇMEN
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Günümüzde tıp, teknolojinin bütün olanaklarından faydalanmakta gelişmiş tanı ve tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Hastaların sorunlarını çözmek için çeşitli girişimsel işlemler ve tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Fakat kullanılan her yöntem yanı sıra o hastanın enfekte olma ve ciddi sorunlar yaşama olasılığını da arttırmakta kısaca uygulanan teknikler çok gelişmiş bile olsalar kendine özgü komplikasyon riskleri taşımaktadırlar. Bu komplikasyonlar hastanın hastanede yatış süresini uzatmakta, tedavi maliyetini yükseltmekte belkide bu nedenlerle hastanın yaşamını yitirmesine neden olabilmektedir.
Hatta son yıllarda diyaliz, günü birlik tedavi, kronik bakım üniteleri, yara bakım merkezleri gibi sağlık hizmeti sunulan alanlarda da enfeksiyonlar görülmeye başlamıştır.
Bu nedenle "hastane enfeksiyonları" tabiri "sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar" olarak değiştirilmiş ve bu şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların önemi mortalite/ morbidite ile ilişkileri nedenleriyle giderek artmaktadır. Bu enfeksiyonlarda etkenler toplumdan kazanılan enfeksiyon etkenlerine göre daha dirençli ve bunun sonucu olarak daha sorunlu enfeksiyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır.
Sağlık hizmetinin sunumu sürecinde; hasta, hasta yakını, sağlık personeli, ziyaretçi ve ilişkili diğer kişilerde gelişen enfeksiyon "sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar" tarifi içine girerler.
Enfeksiyon, hastanın hastaneye başvurusu sırasında/yatışında yoktur. 48-72 saatten sonra başlar veya taburcu olduktan sonraki on gün içinde ortaya çıkar. Bunun yanı sıra hastaya cerrahi girişimsel işlem uygulandıysa cerrahi alanda bir ay içinde veya hastaya protez/ yabancı cisim kullanıldıysa bir yıl içinde bu alanlarda gelişen enfeksiyon bu kapsam içinde değerlendirilirler.
Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon sıklığının %3-10 arasında olduğu söylense de yoğun bakım ünitesi gibi riskli hastaların yattığı ünitelerde sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar çok daha yüksek oranlarda ortaya çıktığı da bilinmektedir.
Salgın, bir hastalığın , bir yerde , belli zaman diliminde umulandan/beklenenden daha fazla görülmesi veya ortak özellikleri nedeniyle kümeleşme göstermesidir. Hastane enfeksiyonlarının bir kısmı gruba girer. National Nosocomial Infections Surveliance (NNIS) verileri salgınların bize hastane enfeksiyonlarının içinde ortama %5 oranında olduğunu göstermektedir.
Hastane salgınlarının en sık ortaya çıktığı yerler yoğun bakım üniteleri, immun supresif hastalara bakım yapılan hematoloji, onkoloji birimleri, organ nakil ve diyaliz üniteleridir. Hastane salgınları sık tekrarlayan işlemler veya alet kullanımı ile ilişkili hatalar sonucu ortaya çıkarlar.
Hastane salgınlarının belirlenmesi;

a. Ön inceleme- Tanımlama
b. Esas inceleme- Karşılaştırmalı çalışma

olmak üzere üzere iki evredir. İlk evrede önemli olan bunun bir salgın olup olmadığını belirlemektir. Öncelikle salgın içindeki vakaların dosyaları incelenir. Sorunun boyutlarının ne olduğu, aciliyeti, muhtemel tüm vakaların gözden geçirilmesi gerekir. Bu yapılırken klinik, laboratuar, radyolojik, patolojik bulgular nelerdir? Bunlar ayrıntılarıyla irdelenir.

a. Ön inceleme- Tanımlamada;

- Mevcut verilerin neler olduğunun belirlenmesi
- Olayın türünün (sepsis, cerrahi alan enfeksiyonu, kateter enfeksiyonu vs), lokalizasyonunun (ameliyathane, yoğun bakım ünitesi, diyaliz ünitesi vs), ciddiyetinin(ölümle sonuçlanan sepsis, pnömoni, infüzyon sonrası ateş vs) saptanması
- Literatürde benzer durumların taranması
- Vaka tanımının kesinleşmesi
- Bu duruma uyan tüm vakaların bulunması
- Laboratuvarla iletişim kurulması (şüpheli izolat, hastalardan alınan kültür, şüpheli kaynaklardan alınan kültür vs) kültür izolatlarının saklanmasının temin edilmesi
- Epidemi eğrisinin oluşturulması
- Hasta-risk faktör listesinin oluşturulması
- Kontrol önlemlerinin uygulanması, aşamalarını içerir.

b. Esas inceleme – Karşılaştırmalı çalışmada;

a. Vaka tanımına uyan hasta dosyalarının incelenmesi
b. Hipotez oluşturma
c. Hipotezin vaka –kontrol veya kohort (belirli bir risk taşıyan hastalarla araştırılan durumun görülme sıklığı ile risk faktörü taşımayan hastalarda bu durumun görülme sıklığının karşılaştırılması) ile test edilmesi
d. Gerekli görülen mikrobiyolojik ve diğer laboratuar çalışmalarının yapılması

e. Bulaş yollarının saptanması için deneysel ve gözlemsel ek çalışmaların yapılmasını içerir. Bu incelenmelerde;
f. Kayıt defterleri (ameliyathane, doğumhane, acil servis, yoğun bakım vs)
g. Mikrobiyoloji raporları
h. Personele ait sağlık raporları
i. Hastane enfeksiyon kontrol komitesinin surveyans verileri
j. Hasta dosyaları
k. Ameliyat raporları
l. Patoloji raporları
m. Radyoloji raporları ayrıntılı olarak gözden geçirilmelidir.

Burada da görüldüğü gibi hastane salgınlarında ön inceleme- tanımlama aşamasında da, esas inceleme-karşılaştırmalı çalışma aşamasında da klinik mikrobiyoloji laboratuarı önemli bir role sahiptir. Bu nedenle Klinik Mikrobiyoloji;

n. Hastane enfeksiyon kontrol komitesinde
o. Surveyansda
p. Etkenlerin tanımı, izlenmesi, antibiyotik direncinin belirlenmesi ve bildirilmesinde
q. Eğitimde (doktor-hemşire-hizmetli personel eğitiminde) rol alır.

Laboratuvar sonuçlarına bakarak salgında ilk uyanan/salgının ilk saptandığı yer mikrobiyoloji laboratuvarı olabilir. Aynı servislerden gelen benzer üremeleri mikrobiyolog erken dönemde fark edebilir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuarının sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon salgınlarında görevleri nelerdir? nasıl hizmet vermelidir?

A. Mikrobiyoloji laboratuarı kesintisiz (7 gün 24 saat) hizmet vermelidir.
B. Mikroorganizmayı doğru ve tam olarak tanımlamalıdır. Bunun için laboratuvara uygun örnek (yeterli miktarda-sayıda, uygun zamanda , uygun sürede, uygun taşıma ortamında laboratuvara ulaştırılan, beraberinde hasta ile ilgili verilerin yazılı olduğu laboratuvar istek formlarının bulunduğu) gönderilmesi son derece önemlidir.
C. Laboratuarda elde edilen verileri (kültür sonuçları, antibiyotik dirençleri-VRE-MRSA- VISA- VRSA- Karbapenem direnci gibi) toplamalı- bildirmelidir.
D. Sterilizasyon denetiminde yer almalıdır.
E. Laboratuarda üreyen mikro organizmalar uygun yöntemlerle tür düzeyinde tanımlamalıdır (fenotipik tiplendirim). Ör: P.stuttzeri, B.cepacia , S.lugdunensis, S.haemolyticus yada VRE yanı sıra E.casseiflavus, E.faecium diyebilmelidir.
F. Genotipik tiplendirim yöntemlerini kullanmalıdır. Bu konu tartışılabilir. Moleküler testler her yerde olmalı mıdır? Yoksa belirli merkezlerde yapılması gereken testler olarak mı kalmalıdırlar? Her klinik mikrobiyoloji laboratuarlarında yapılmak yerine bu testler için standart –referans laboratuarlar oluşturmak mı gerekmektedir?
G. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı hastane enfeksiyonlarının kaynağının bulunmasını sağlar bu amaçla çevre kültürü alır. Çevre kültürü almak salgın sürecinde sık başvurulan bir yöntemdir. Fakat çıkan sonuçları yorumlamak son derece zordur.
H. Enfeksiyon önleme tedbirlerini uygulamaya koymak ve uygulamaya konulan önlemlerin etkinliğini denetlemek.
İ. Sağlık çalışanlarında taşıyıcılık (burun, dışkı, el kültürleri yapmak) araştırmak
J. Hastane personelinin eğitiminde, bu eğitimi planlamada ve uygulama yer almalıdır
K. Klinik mikrobiyoloji laboratuarı surveyansın tanımı içinde geçen araştırma, analiz, yorumlama, verileri sistematik toplama , bildirme gibi tüm aşamalarda vardır.
L. Enfeksiyon kontrol komitesinde yer almak
M. Bütün bunları yaparken Klinik mikrobiyoloji laboratuarı kendi içinde kalite kontrol programlarını uygulamalıdır.

Enfeksiyon kontrol ekibi sürveyans çalışması yapıyorsa enfeksiyonun kümelendiği veya salgının saptandığında büyüklüğünü, patojenin yayılma yollarını çabucak belirleyebilecek, uygun kontrol önlemlerini hemen alacaktır. Klinik mikrobiyoloji laboratuarı bu sırada yukarıda sıraladığımız hizmetleri zaten yapmaktadır.

Kaynaklar

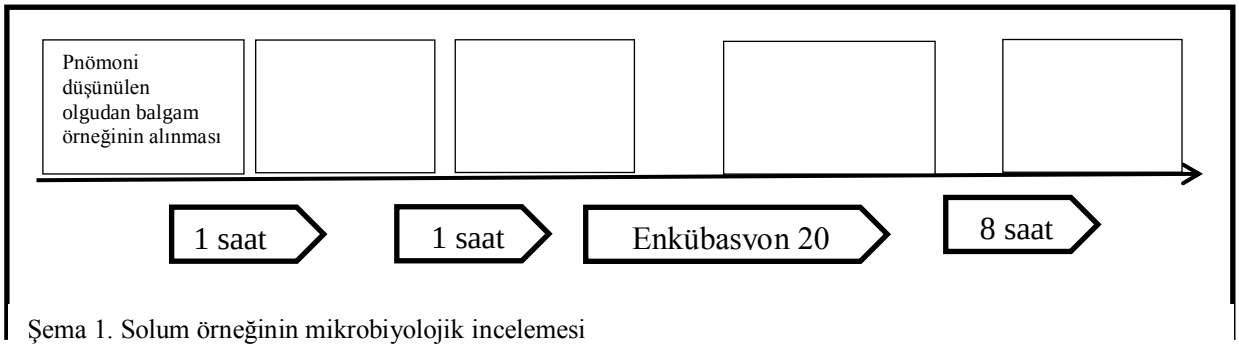
1. Baron E. J. The Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Selected Infectious Processes. Journal Of Clınıcal Mıcrobıology, Sept. Vol. 49, No. 9 Suppl. 2011, s: 25
2. Diekema D. J, Saubolle M. A. Clinical Microbiology and Infection Prevention Journal Of Clınıcal Mıcrobıology, Sept. Vol. 49, No. 9 Suppl. 2011, s: 57- 60
3. Aygün G. Hastane enfeksiyonları kontrolunda mikrobiyoloji laboratuarının yeri. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Hastane Enfeksiyonları :korunma ve kontrol sempozyum dizisi no:60. Ocak 2008 s: 207-214
4. Çetinkaya Şardan Y. Hastane salgınlarının incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Hastane Enfeksiyonları :korunma ve kontrol sempozyum dizisi no:60 .Ocak 2008 s: 53-61
5. Tatman Otkun M. Sürveyans çalışmalarında mikrobiyolojiye düşen görevler nelerdir? Akış şeması ve kriterleri nelerdir? Salgın halinde görevleri nelerdir? 4. Ulusal sterilizasyon ve dezenfeksiyon kongresi. 2005. s: 546- 557

6. Aydıntuğ S, Akan H, Aysev D, Palabıyıkoğlu İ. Yuvarlak masa toplantısı; Nasokomial infeksiyonların tanı ve izleminde mikrobiyoloji laboratuarının rolü; beklentiler ve yanıtlar. Klimik dergisi Cilt 13. Özel sayı. 2000. s:36- 40
7. Aygün G. Hastane kaynaklı salgınlar. http://www.klinikgelisim.org.tr
8. Willke A. Hastane enfeksiyonlarının kontrolünde laboratuarın önemi. ANKEM dergisi. 3(3). 1989. s:440-444
9. Müezzinoğlu A. Sağlık Bakanlığı hastane enfeksiyonlarının kontrolü çalışmaları. T.C. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. 2009
10. Hasçelik G. İnfeksiyon kontrolünde Mikrobiyoloji Laboratuvarının rolü.Ed: Doğanay M, Ünal S. Hastane İ nfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınları.Ankara. 2003.s:109-124
11. Gülay Z. Hastane infeksiyonlarının kontrolunde mikrobiyoloji laboratuarının rolü. Ed: Yüce A, Çakır N. Hastane infeksiyonları. Güven Kitabevi Ldt.Şti.İzmir. 2009.s:48-60

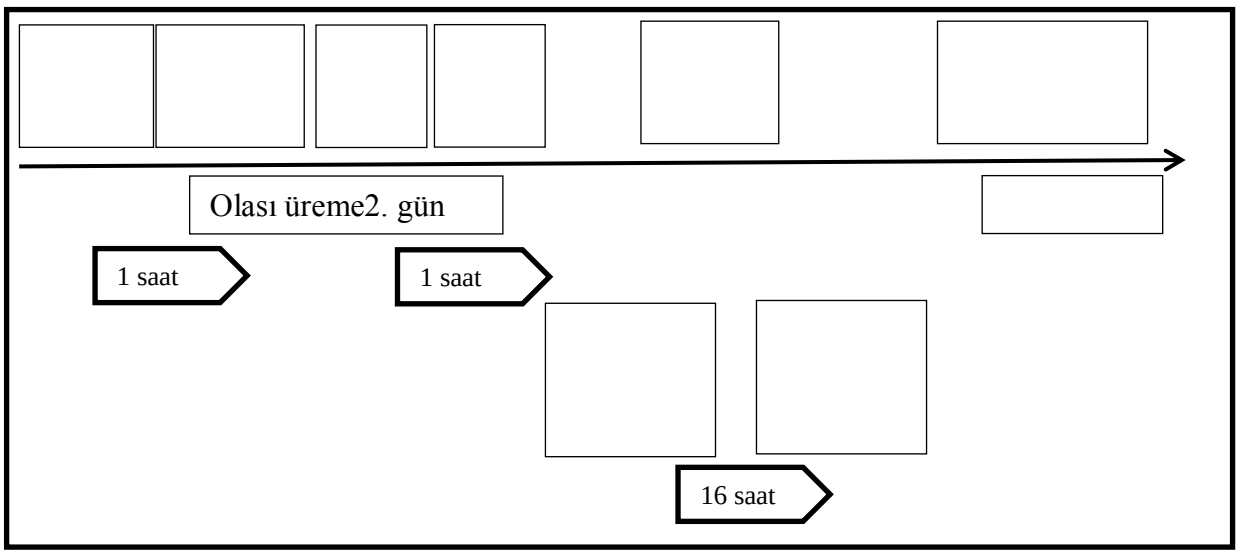
HASTANE ENFEKSİYONLARINDA KLİNİSYENİN KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDAN BEKLENTİLERİ

Bilgin ARDA
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi , Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Enfeksiyon etkeninin ortaya konması ve hastane infeksiyon kontrolü, mikrobiyoloji laboratuvarının temel fonksiyonlarındandır. Hastaya ait enfeksiyon etkeninin doğru ve hızlı bir şekilde saptanması enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir.
Hastane infeksiyonları, mortalitesi ve morbiditesi yüksek infeksiyonlar olup hastanede yatış süresi, maliyetleri önemli ölçüde artırmaktadır. Tedavi başarısı açısından uygun antibiyotiğin zamanında başlanması çok önemlidir. Hastane infeksyonlarının sürveyansı, kliniklerin etken dağılımlarının ve direnç durumlarının bilinmesi, ampirik tedavinin belirlenmesinde yol göstericidir. Sürveyans sonuçları ve mikrobiyoloji laboratuvar kültür sonuçlarının kliniklere belirli aralıklarla bildirilmesi faydalıdır.
Hastane infeksiyonlarının tedavi ve kontrolünde klinik ve mikrobiyoloji laboratuvarı işbirliği çok önemlidir. Klinisyenin mikrobiyoloji laboratuvarından temel beklentisi hızlı ve doğru etiyolojik tanıdır. Mikrobiyoloji laboratuvarının 24 saat kesintisiz hizmet vermesi, kan kültürü gibi nöbet koşullarında da istenmesi gereken tetkiklerin yapılabilmesi için gereklidir. Günlük kültür sonuçlarının mümkün olduğunca erken bildirilmesi hasta değerlendirme, konsültasyon ve ilaç istemleri gibi birçok süreç birbirine bağımlı olduğu için çok önemlidir. Sonuçların elektronik ortamda olması ve istendiğinde hastanın önceki verilerine de ulaşılabilmesi kolaylık sağlar.
Mikrobiyoloji laboratuvarı güncel tanısal gelişmeleri izlemeli ve klinik gereksinimlere, hastanenin hasta popülasyonuna göre uygun tanısal süreçleri başlatabilmelidir.
Solunum örnekleri, idrar, beyin omurilik sıvısı gibi örneklerin direkt mikroskobik ve boyalı yayma incelemelerinin klinisyene kültür sonuçlarından önce bildirilmesi uygun tedavi yaklaşımı açısından yol göstericidir. Kan kültüründe üreme sinyali olduğunda gram boyama sonuçlarıyla olası etkenin bildirilmesi tedavi değişikliklerinin erken yapılmasını sağlayabilir. Solunum yolu ve kan kültürleri için önerilen mikrobiyolojik incelemelerin zamanlaması şema 1 ve 2'de özetlenmiştir.



Şema 1. Solum örneğinin mikrobiyolojik incelemesi



Şema 2. Kan kültürünün mikrobiyolojik incelemesi

Dirençli mikroorganizma enfeksiyonlarında antibiyogram seçiminin genişletilmesi ve tedavi seçeneği oluşturabilecek antibiyotik duyarlılık testlerinin zamanında yapılması önem taşır. Çok ilaca dirençli mikroorganizma infeksiyonlarında miniminal inhibitör konsantrasyonu ve sinerji testleri yapılabilmelidir. Hastane infeksiyonları sürveyansı açısından önemli olan dirençli mikroorganizmalar stoklanmalıdır. Gerekli görüldüğünde moleküler tiplendirme ve salgın analizi yapılabilmelidir.

Bakteriyel kültür sonuçlarında metsilin direnci veya genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üretimi gibi direnç paternleri konusunda açıklayıcı bilgi verilmesi tedavide yapılacak hataları önleyebilir.

Klinikten gelen bildirimlerin hastane infeksiyon kontrol komitesinde değerlendirilmesi sonrasında sterilizasyon, dezenfeksiyon kontrolleri ve ortam kültürleri gibi ek uygulamalar yapılabilmelidir.

Hastane infeksiyonu epidemilerinde hastane infeksiyon kontrol komitesi ile birlikte politika belirlenmesi ve uygulanması konusunda yakın işbirliği oluşturulması gereklidir. Örneğin vankomisine dirençli enterokok (VRE) epidemisinde tarama kültürleri açısından hazırlıklı olunmalı ve sonuçlar mümkün olduğunca erken bildirilmelidir. Tarama amacıyla moleküler testlerin kullanılmasının etkinliği değerlendirilerek hastane infeksiyon kontrol ekibi ile birlikte akılcı politikalar geliştirilmelidir.

Mesleki maruziyet sonucu kan ve kan ürünleriyle karşılaşma durumunda gerekli testler hızlı bir şekilde yapılabilmelidir.

Klinisyene laboratuvar işleyişi konusunda belirli aralıklarla bilgilendirme yapılmalıdır. Haftanın belirli günlerinde çalışılan testler konusunda bilgi verilmelidir. Özellikle yeni çalışılmaya başlanan ya da çalışması bırakılan testlerin bildirilmesi gereklidir. Uygun örnek alma ve gönderme, laboratuvarın hangi örnekleri kabul edip, hangilerini kabul etmeyeceği bilgilendirmesi yapılmalıdır. Doğru istekte bulunulması için bilgilendirme ve laboratuvar istek kağıtlarının düzenlenmesi yararlı bir yöntemdir.

Tüberküloz kültürü gibi uzun süreli enkübasyon gereken durumlarda moleküler testlerin yapılması hızlı tanı ve tedavi açısından büyük katkı sağlar. Benzer şekilde bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda viral infeksiyonların tanısında moleküler testler kullanılmalıdır.

Mikoloji laboratuvarı tür düzeyinde tanımlama ve antifungal duyarlılık testlerini yapabilmelidir. Özel hasta gruplarının takibinde gerekli olan galaktomannan, beta d glukan testlerini yapabilmelidir. MİK değerlerinin etkene göre yorumlanması tedavi seçimini kolaylaştırır. Bu testlerin klinisyene faydalı olabilmesi için yeterli örnek sayısına ulaşılınca değil, haftalık düzende çalışılması sağlanmalıdır.

Sonuç olarak klinisyen için hızlı tanı ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesi çok önemlidir. Bunun gerçekleşebilmesi için de klinisyenin hasta hakkındaki bilgileri ve olası tanıları laboratuvara iletmesi, doğru örnekleri laboratuvara uygun koşullarda göndermesi ve sürekli iletişim halinde olması çok önemlidir.

Kaynaklar

1. Barenfanger J, Benté J, Havener G, Optimal Performance for Clinical Microbiologists and their Interaction with Infection Control Staff. Clinical Microbiology Newsletter 2009;31:9-15.
2. Byl B, Clevenbergh P, Jacobs F et al. Impact of Infectious Diseases Specialists. Clinical Infectious Diseases Appropriateness of Antimicrobial Therapy for Bacteremia 1999;29:60–6.
3. Diekema DJ, Saubolle MA, Clinical Microbiology and Infection Prevention. Journal of Clınıcal Mıcrobıology. 2011;57–60.
4. Kalenić S, Budimir A, The role of the microbiology laboratory in healthcare-associated infection prevention. Int J Infect Control 2009;5:1-6.
5. Kolmos HJ. Role of the clinical microbiology laboratory in infection control--a Danish perspective. Hosp Infect. 200;48:(Suppl A):50-4.
6. Peterson LR, Hamilton JD, Baron EJ, et al. Role of Clinical Microbiology Laboratories in the Management and Control of Infectious Diseases and the Delivery of Health Care. Clinical Infectious Diseases 2001; 32:605–11.

LABORATUVAR BİLGİ SİSTEMİ NEDİR? ÇALIŞMA PRENSİPLERİ NELERDİR?

Ü. Gül ERDEM
Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi , Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Bir bilgi sistemi; karar verme, koordinasyon, analizlerin kontrol ve görüntülenmesine yardımcı olmak için bilgiyi toplama, işleme, saklama ve yayma amacıyla bir arada çalışan bileşenlerdir. Bilgi teknolojilerinin amacı bilginin hareketi ve yönetimidir. Bu doğrultuda hedefin bileşenlerinden bazıları ise verimliliğin artması, daha iyi hizmet üretilmesi, karar mekanizmalarının desteklenmesidir. Bilgi hizmetlerinin etkin kullanımı için sistemin çevre, yapı, fonksiyon ve politikası iyi anlaşılmalıdır.

Sağlık sektöründe kullanılan klinik bilgi sistemleri günümüzde üniversite, kamu hastaneleri ve özel hastaneler ile diğer sağlık hizmeti veren kurumlar tarafından kullanılmaya başlamıştır. Hastane bilgi yönetim sistemi (HBYS) ya da hastane bilgi sistemi (HİS) bir hastanedeki tüm tıbbi ve idari işlemlerin bilgisayar ortamında yapılması, her türlü verinin birbiri ile uyumlu çalışan çeşitli modüller yardımıyla, kullanıcılar tarafından ana bir veri tabanına girilmesi ve gerekli olan tüm verilerin bu veri tabanından tekrar geri alınmasını sağlayan, hastanelere zaman ve işgücü kazancı, maddi kazanç ve en önemlisi düzgün ve güvenilir istatistiki veri/bilgi sağlayan bir yazılımlar bütünü olarak tanımlanabilir. Standartların geliştirilip, iyileştirici faaliyetlerin sürekliliğinin sağlanması, hastane bilgi yönetim sisteminin poliklinik, klinik, tıbbi kayıt, radyoloji, eczane, laboratuvar, ameliyathane, acil servis, döner sermaye ve muhasebe, bordro, personel, stok kontrol, ihale dosyaları, satın alma, diyet planlaması, demirbaşların takibi, vb. alanlarda kullanılmasıyla mümkün olabilir. Bilgi teknolojisi ve elektronik medikal kayıtların gelişmiş ülkelerde önemli yararları olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda hasta kayıtlarının doğru ve eksiksiz yapılması ile tüm basamaklardaki sağlık kurumlarına başvurularda %5-11 arasında değişen oranlarda azalma gözlenmiştir.

Laboratuvarlar hem bilgi hem de hizmet üreten bölümlerdir. Laboratuvar bilgi sistemi (LİS) ya da laboratuvar bilgi yönetim sistemi (LBYS) hastane bilgi yönetim sisteminin bir bölümüdür. Laboratuvar bilgi sistemi laboratuvar uzman ve çalışanlarının laboratuvar çalışmaları ve yönetiminde vazgeçilmezleri arasına girmiştir. Laboratuvar bilgi sistemi donanım ve yazılımın birleşmesinden çok daha fazlasını ifade eder. Laboratuvar bilgi sisteminin hedefi hasta bakımı, iş yönetimi, destek işlemleri, laboratuvar performansı ve hasta hizmetlerinin iyileştirilmesi için bilginin edinilip, yönetilmesi ve kullanılmasıdır. Laboratuvar bilgi sistemi başlı başına bir uzmanlık alanıdır. Burada laboratuvar uzmanının teknik konulardan çok bilgi teknolojilerindeki gelişmelerin hangilerinin laboratuvar için önemli olacağı ve en iyi şekilde kullanılabileceği gibi sorulara yanıt verebilmesi gerekir. Çünkü laboratuvar uzmanı sadece laboratuvarın verdiği sonuçların kalitesinden değil, sınırlı kaynakların etkin kullanımından da sorumludur.

Laboratuvar bilgi sistemi poliklinik ve yatarak tedavi gören hastalara ilişkin laboratuvar isteklerinin yerine getirilmesi ve gerekli kayıtların tutulabilmesini amaçlar. Bir hastanede laboratuvar bilgi sistemi her birimde bağımsız olarak çalışabileceği gibi hastane otomasyon sistemine de bağlanarak çalışabilir. AB ülkelerindeki ve ABD'deki uygulamaların %79'unda tekil çözümler yerine hastane bilgi yönetim sistemi ile birleşik laboratuvar bilgi sistemi çözümleri tercih edilmektedir. Laboratuvar bilgi sistemi test isteminin kaydı, örneklerin toplanması, örneklerin kabulü, test sonuçlarının işlenmesi, kaydedilmesi, ilgili yerlere iletilmesi, hastaya ait test özetlerinin hazırlanması, laboratuvar istatistiklerinin çıkarılması, sonuçların laboratuvar uzmanı tarafından denetlenmesi ve kalite kontrolü için gerekli kayıtların tutulması işlevlerini üstlenir.
Hastanın istemleri otomasyon sisteminden bilgisayara işlendiğinde hastanın istem yapılan tetkikleri laboratuvarda görüntülenir. Bu yüksek hacimli ve çok sayıda laboratuvar birimi bulunan hastanelerde, işlem yoğunluğunu, iş gücü/zaman kayıplarını ve hata oranını minimum düzeye indirgeyerek iş gücü verimliliği sağlar.
Testlerin sonuçları programa bağlantısı yapılmış cihazlardan gelmek koşulu ile ya da elle çalışılan test sonuçları bilgisayara işlendikten sonra faturalamayı bilgisayar kendi sistemi içinde yapar. Laboratuvarda istem, tetkik ve faturalama işlemleri tek bir aşamada gerçekleştirilir. Laboratuvar bilgi sistemi yazılımının hastane otomasyonu ile tam entegre olarak ek bir yazılım veya işleme gerek duymadan çalışabilmesi, online olarak kayıt yapabilme ve servislerden rapor alma imkanı tanıması gereklidir. Tetkiklerin hastane otomasyonundan gelmesi durumunda fatura edilen tetkiklerin çalışılmasından dolayı, kaçakların sıfıra indirilmesine olanak sağlamalıdır. Cihaza bağlı olarak yapılmayan inceleme ve değerlendirmelerin sonuçlarının manuel kayıt yapılabilmesi mümkün olmalıdır. Cihaz başında ikinci kayıt engellendiği için iş akışı hızlanır. Örneklerin barkodlu sistem ile (preanalitik bir hata yapılmadı ise) karışmaması çok önemli bir kazançtır.

Laboratuar bilgi sisteminde bulunması gereken genel özellikler:

- Fonksiyonellik: Laboratuvarın iş akışında şimdiki zaman ve gelecek için gerekli/yeterli fonksiyonelliğe sahip olmalıdır.
- Esneklik ve uyumluluk: Esnek olmayan bir laboratuvar bilgi sistemi laboratuvar endüstrisi gibi dinamik bir ortamda kolayca zaman aşımına uğrayacağından, laboratuvar bilgi sistemi farklı veri tabanları, yazılımlar ve cihazlar ile ek bir işleme gerek duymadan çalışabilir özellikte olmalıdır. Laboratuvar bilgi sistemi hastanede kullanılan hastane bilgi sisteminin değişmesi durumunda yeni gelen sistemle entegre olarak çalışmaya devam edebilmeye uygun olmalıdır.

- Kurulum kolaylığı ve sürdürülebilirlik: Yaygın kullanılmaya başlanan laboratuvar bilgi sistemleri kurulumu kolay ve sürdürülebilir nitelikte olmalıdır.
- Kullanım kolaylığı: Kullanıcı dostu ekran ve menü tasarımı ile yeni kullanıcılar sistemi öğrenip, istedikleri işlemleri kolayca yapabilmelidirler.
- Düzenlenebilirlik: Günümüzde laboratuvar bilgi sistemleri kullanıcı tarafından terminolojisinin düzenlenmesine izin veren yapıda olmalıdır.
- İzlenebilirlik: Hastanın testlerinin hangi aşamada olduğu sürekli olarak izlenebilmelidir.
- Doğru faturalandırma: İstemlerin hastane otomasyonundan gelmesi durumunda, fatura edilen tetkiklerin çalışılması sonucu testlerde kayıp ya da kaçak olmasına izin vermemelidir.
- Güvenilirlik, tutarlılık: Laboratuvar bilgi sistemi ile tüm süreçler sisteme dahil edildiğinden, aksama ya da karışıklık olmamalı, sonuçlar arasındaki tutarsızlıklar raporlanıp tüm sonuçlar arşivlenebilmelidir.
- Merkezi kullanım: Laboratuvar bilgi sistemi ile bir merkezdeki farklı laboratuvarlar birbirlerine bağlanabildiği gibi, birden fazla merkez ve bu merkeze bağlı laboratuvarlar tek bir sistem içinde çalıştırılabilmelidir.
- Web tabanlı yazılım: Bazı yazılımlarda web ile hasta test istemleri web üzerinden girilebilir ve laboratuvara gelmeden önce barkodlanması sağlanabilir. Bu sistemlerde web üzerinden hasta sonuçları izlenebilir ve bu sonuçlara erişim kullanıcının görev ve yetkilerine göre kısıtlanabilir.

Laboratuvar bilgi sisteminin sağladığı yararlar:

- Çalışanlar test kaydı, hasta kaydı, sonuç verme gibi işlemlerle uğraşmadığından, çalışma hız ve verimliliğini artırır.
- Cihazlara manuel test girişi ve manuel faturalandırma ortadan kalkar.
- Laboratuvar içinde denetim artar, yapılan tüm testler izlenebilir.
- Barkodlu sistem ile örnekler karışmaz.
- Testlerle ve işle ilgili kullanım detayı (istemi yapan, sonucu giren, onay veren vb. kullanıcı bilgileri) görülebilir.
- Çalışılan tüm testlerin sonucu tek bir kağıda bastırılabilir.
- Sonuçlar servislerden online olarak alınır.
- Sisteme örneklerin giriş-çıkış saatleri belli olduğundan, geciken sonuçlara anında müdahale edilebilir.
- İstemi yeni yapılmış, devam eden ve raporlanmış tüm isteklerin aynı ekrandan takip edilmesine olanak sağlar.
- Giriş tarihi, test, kurum, hasta bilgisi, istek no.ya göre filtreleme yapılabilmesine olanak sağlar.
- Manuel ve manuel olmayan bütün testler tanımlanabilir.
- İstenirse manuel sonuç kaydı kapatılabilir.
- Çalışılan testlere göre normal değer ve patolojik değer aralığı tanımlanabilir.
- Çalışılan testlerin panik değer aralıkları belirlenerek bu aralıklarda çıkan sonuçların uyarı vermesi sağlanabilir.
- Hasta ve örneğe ait bilgiler doldurulması ‘zorunlu’ ve ‘zorunlu değil’ şeklinde hastanenin isteğine göre düzenlenebilir.
- Sonuçlar çok uzun süre saklanabilir. Kullanıcılar testlerle ilgili detaylara, önceki sonuçlara istedikleri zaman arama ekranından ulaşabilirler.
- Kayıtlardan istatistik raporları alınabilir.
- İki seviyeli onay mekanizması (teknik ve uzman onayı) sonuçların en az iki kez gözden geçirilmesine olanak sağlar.
- Geliştirilebilir olması nedeniyle yeni ekran ve raporlar tanımlanabilir.
- Geçici olarak çalışılması istenmeyen testler (kit bitmesi vb. durumlarda) isteme kapatılabilir.
- Manuel sonuçlarda şablonlar/hazır notlar kullanılabilir, raporlara yorum eklenebilir.
- Laboratuvar uzmanının gerekli durumlarda hasta sonuçlarını kısıtlı bildirmesine olanak sağlar.
- Kalite kontrol sonuçları standart sapmalar ve Levy-Jennings, CuSum vb. grafiklerde görülebilir.
- Laboratuvar uzmanı tarafından klinik hekimlerine örnek ve/veya sonuç ile ilgili uyarı bilgileri verilmesine olanak sağlar.

Laboratuvar bilgi sistemi çalışma prensipleri

Örnek kabul: Hasta tetkik istemleri laboratuvara ulaştırıldığında hasta bilgileri hastane bilgi sisteminden otomatik olarak veya laboratuvar bilgi sisteminden manuel olarak girilir ve örnekten istenmiş olan tetkiklere göre gerekli sayıda barkod otomatik olarak basılır. Basılan her barkodda tüpün özellikleri ve alınması gereken miktar yazılı bulunduğundan kan alan hemşire veya laboratuvar çalışanının örnekten istenen testleri tekrar kontrol etmesine gerek kalmadan barkod yapıştırılmış tüplere kan alması yeterlidir.

Otomatik cihazlarda çalışılan testler: Laboratuvar bilgi sistemine bağlı cihazlarda barkod okuyucu tüp üzerindeki barkodu okur ve çalışılacak testleri hastane bilgi sisteminden alır. Bu sayede tüpler direkt cihaz üzerinde istenilen pozisyona konularak cihaz çalışmaya başlatılır. Cihazdan başka herhangi bir işlem yapmaya gerek yoktur. Cihaz çalışmanın sonunda hasta sonuçlarını otomatik olarak laboratuvar bilgi sistemine aktaracaktır.

El ile çalışılan testler: El ile çalışma yapılan test sonuçları girilirken, örn. bakteriyoloji laboratuvarında yapılan inceleme ve testlerin sonuçları, manuel giriş ekranından test listesi seçilip sonuçlar karşısına girilebilir. Bu aşamada istenirse şablonlar/hazır notlar kullanılabilir. Raporlara laboratuvar uzmanınca yorum eklenebilir. Girilen sonuçlar istenirse otomatik onaylanabilir.

Sonuçların kontrol edilmesi ve onaylama: Cihazlardan sonucu gelen hastalar otomatik olarak onaylama ekranında görüntülenir. Laboratuvar uzmanları buradan kendi yetki ve ünitesindeki test sonuçlarına bakarak onaylama işlemi yapabilir. Yanlış ya da eksik olduğu düşünülen sonuçlar silinerek aynı veya yeni örnekle test tekrarlanabilir. Yeni örnek istenildiğinde gerekçesi test ekranında istemin yanına 'kan hemolizli' ya da 'lipemik' şeklinde belirtilebilir. Sonraki aşama ise laboratuvar uzmanı tarafından sonuçların onaylanmasıdır.

Teknik olarak kısaca bahsedilirse laboratuvar bilgi sistemlerinin tıbbi cihazlar ile entegre çalışması sırasında cihaz bağlantılarında 3 ana yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler:

1- Query (sorgu) : Laboratuvar bilgi sistemi ile cihaz çift yönlü olarak haberleşir. Cihazlar barkod bilgisini okuduktan sonra laboratuvar bilgi sistemine test bilgisi sorar. Laboratuvar bilgi sistemi test bilgisini cihaza gönderir. Cihaz testleri çalışır ve sonuçları tekrar laboratuvar bilgi sistemine gönderir. Query modunda çalışan cihazlar veya manuel çalışılan testler için, istenirse işler çalışılıyor olarak işaretlenerek, iş renklerinden testin işleme alınıp alınmadığı gözlenebilir.

2- Unilateral (Tek taraflı): Laboratuvar bilgi sistemi bu bağlantı tipinde sadece kayıt işlemi yapar. Cihaz laboratuvar bilgi sisteminden herhangi bir bilgi almadan direkt olarak tanımlı testi çalışır ve sonuç bilgisini laboratuvar bilgi sistemine aktarır.

3- Worklist (Çalışma listesi) : Laboratuvar bilgi sisteminde bir iş listesi oluşturulur. Bu ilgili cihaza laboratuvar bilgi sistemi tarafından gönderilir. Gönderim esnasında test bilgisi, hasta bilgisi gibi bilgiler cihaza gönderilir. Sonuçlar çalışıldıktan sonra laboratuvar bilgi sistemine gönderilir.

Sonuç olarak; laboratuvar bilgi sistemi hastadan tetkik isteminden hekimin sonuçları değerlendirip, tedaviyi planlamasına kadar geçen süreçte 'artık' vazgeçilmez olmuştur. Sağlık hizmeti veren kamu, üniversite ve özel hastaneler ile diğer kurumlar kendi ihtiyaç ve beklentilerini belirleyerek, bunları sağlayabilen bilgi sistemlerinden yararlanmaktadır.

Kaynaklar

1. www.springer.com/public+health/book/978-0-387-95362-5
2. Clifford GD, Blaya JA, Hall-Clifford Ri Fraser HSF. Medical information systems: A foundation for healthcare technologies in developing countries. Biomed Eng online 2008,7:18
3. Bennett ST, Kern DA. Automated production of an on-line laboratory reference manual from a laboratory information system. J Med Syst 2002;26:145-9
4. Kimberly MM, Myers GL, Little RR. Clinical laboratory reference networks. Accred Qual Assur 2004;:18-23
5. www.sabiyap.org/makaleler.php?mak_id=2
6. www.sabiyap.org/makaleler.php?mak_id=9
7. www.sabiyap.org/makaleler.php?mak_id=6

LABORATUVAR BİLGİ SİSTEMİNİ MİKROBİYOLOJİDE NE KADAR UYGULAYABİLİYORUZ?

Alper AKÇALI
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi , Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Çanakkale

Laboratuvarlar sağlık sisteminde çok sayıda birime, çok sayıda analiz ile hizmet verdiğinden oluşan veri büyük miktardadır ve bunun doğru işlenebilmesi için bilgisayar ve yazılım destekli yapılması artık bir zorunluluktur. Bu amaçla otomasyon sistemleri olarak kolayca tanımlanan yazılımlar günümüzde "Laboratuvar Bilgi Sistemleri, (LBS)" (Laboratory information systems) olarak adlandırılmaktadırlar. Bu yazılımlar hastane bilgi sistemlerinin (HBS) parçası olabildikleri gibi ayrı firmalar tarafından geliştirilmiş modüller olarak HBS ile bağlantı kurularak da ilişkilendirilmektedir. LBS'ni aslında günlük laboratuvar işlemlerinde yanımızda çalışan bir teknisyen olarak görebiliriz. Laboratuvar işlemlerinde teknisyenlerin işe uyumu ne kadar önemli ise yazılımların da laboratuvar sorumluları, çalışanları ve cihazları ile uyumu o kadar önemlidir.

Ülkemizdeki laboratuvarlarda LBS kullanımını değerlendirmek amacıyla 2011 yılında Eylül ayı içerisinde internet üzerinden bir anket çalışması düzenlenmiştir. Bu ankete 63 farklı laboratuvardan cevap verilmiştir. Bu ankette LBS'nde bulunabilecek fonksiyonlar sıralanıp, hangilerinin kullanıldığı, ayrıca laboratuvar ve kullanılan LBS ilgili bilgiler ve uygulamaları ile memnuniyetleri sorulmuştur.

Ankete 38 kamu, 19 üniversite hastanesinden, 4 özel hastaneden ve 2 özel laboratuvardan cevap verilmiştir. Bu laboratuvarlarda 28 farklı yazılım kullanıldığı bildirilmiştir. Kullanımdaki yazılımların minimum 1 ay maksimum 168 aydır (ortalama 47 ay) kullanımda olduğu bildirilmiştir. Bu yazılımlardan öncesinde, 38 (%60,3) laboratuvarda en az bir farklı yazılım kullanılmış olup, 10 laboratuvar 2, 3 laboratuvar 3 farklı yazılım kullandığını bildirmiştir. Laboratuvarlardan 57'si (%90) tüm analizlerinde bu yazılımı kullanmaktadır, yazılım dışında bazı serolojik tetkikler ile alerji testleri raporlanmaktadır.

Bir LBS'de olabilecek fonksiyonlar bu ankette 22 farklı fonksiyon olarak tanımlanmıştır (Tablo -1.) Bu fonksiyonların kullanım oranları değerlendirildiğinde numune kabul/red, otoanalizörlerin çalışılacak testleri HBS'den alıp sonuç bildirmesi, hasta sonuçlarının raporlanması, raporlamada hazır mesaj ve uyarıların kullanılması, hasta ile ilgili klinik bilgilerin takibi, antibiyogram raporlamada bakterilere özel panellerin tanımlanması, otomatik olarak panik değerlerin tanımlanması fonksiyonlarının yüksek oranda kullanıldığı görülmektedir.

Kliniklere özel periyodik antibiyotik duyarlılık profil raporları, hastane enfeksiyonları tanımlanması ve izlemi özelliklerinin kullanımı oldukça düşüktür. Mikrobiyoloji laboratuvarlarının hastanedeki temel görevleri olan bu fonksiyonların LBS tarafından oluşturulabilmesinin sağlanması hedeflenmelidir.

Laboratuvarların takip etmesi gereken önemli verilerden kit verimliliği ve sarf stok takibinin de oldukça düşük bir oranda LBS tarafından izlenmesi de dikkat çekicidir. Test kullanımına karar verilmesinde ve test devamlılığının sağlanmasında oldukça önemi olan bu özelliklerin de yazılımlarında bulunmayan laboratuvarlar tarafından talep edilmesi gereklidir. Tanısal laboratuvarların verdiği sonuçların saygınlığı iç kalite kontrollerin ve test performanslarının izlenebilirliği ile mümkündür. Bu fonksiyonların da oldukça az kullanıldığı görülmektedir.

Hastaların tetkik sonuçlarının kağıda basılı olarak polikliniklerde muayene olmaları, vakit kaybı ve ekstra baskı maliyetine yol açmaktadır. Ankete cevap veren laboratuvarların bulunduğu sağlık kuruluşlarından 37'sinde (%60, özel laboratuvarlar hesaplama dışı tutulmuştur) hasta muayenesi basılı sonuçlar ile yapılmaktadır. Sonuçların yazdırılması ayrı bir sıra ve süre aldığından, sonuçların kliniklerde sistem üzerinden görülerek hasta muayenesi yapılması hasta memnuniyetini artıracaktır.

Laboratuvar sorumlularının LBS'ne uzaktan erişimi farklı binalarda çalışma sürdüren ve mesai saatleri dışında analizleri değerlendirilip, yorumlamak amacıyla önemli bir özelliktir. Ankete cevap veren laboratuvarlardan 11 (%17) adedi böyle bir imkanı kullanmaktadır.

Yazılımların kurulması dönemlerinde firmaların personeli tarafından sistemde bazı değişikliklerin yapılabilmesi, fonksiyonların eklenmesi mümkündür. Bu konuda laboratuvar sorumlularının beklentilerini yüksek tutması ve LBS ile yapılabilecekler hakkında fikir sahibi olması önemlidir. Yazılım firmalarının yerleşik olduğu şehirlerde bulunmayan laboratuvarlara gönderilen personelin laboratuvarda yapılabilecekleri bilmesi beklenmemelidir. İlgili personel ile iyi iletişimin sağlanarak yazılım merkezinden taleplerin karşılanabilmesi ümit edilmelidir. Problemlerin en aza indirilebilmesi, yazılımların ihalesinden önce teknik şartnameye laboratuvarların beklentilerinin yazılması ile sağlanabilecektir. Yapılan ankette yazılımlar hakkında 18 (%28,5) laboratuvara talepleri sorularak alım gerçekleştirilmiştir. Kullanılan LBS'den memnuniyet değerlendirildiğinde 28 (%44) laboratuvar aynı yazılımla tekrar çalışmaya devam edebileceğini bildirmiştir. Hizmetlerin veriminin artırılması için hastane yönetimlerinin laboratuvarlarının ihtiyaçlarını daha iyi değerlendirmesi gerektiği açıktır. Bunun yanında memnuniyet oranın %44 olması da bunu desteklemektedir ve yazılım firmalarının kendilerini değerlendirmeleri ve geliştirmeleri gerektiğini göstermektedir.

Uluslar arası kit üreticilerinin de sistemleri beraberinde kullanılabilecek farklı yazılımlar bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak EpiCenter (Becton Dickinson), Myla (BioMerieux), Protis (Siemens) verilebilir. Ülkemizde kullanımları ve tanınırlıkları sınırlıdır.

Kullanılan yazılımlara bir standart getirilmesi de ulusal ve uluslar arası kuruluşlarca sağlanmaya çalışılmaktadır. "Birinci basamak sağlık kuruluşları bilgi sistemi alımı çerçeve ilkeleri" Sağlık Bakanlığı Bilgi İşlem Dairesi Başkanlığı tarafından ilk olarak Ağustos 2005 tarihinde kılavuz olması hedeflenerek yayımlanmıştır. Bu

dökümanda "Laboratuvar Bilgi Sistemleri" başlığı ile LBS'lerin sahip olması gereken temel özellikler tanımlanmıştır. Ülkemizdeki yazılım firmalarının en azından bu özellikleri dikkate alarak programlarını geliştirmeleri beklenmektedir. Buna göre tetkik istem yönetimi, tetkik istek görüntüleme, tetkik sonuç tarama ve görüntüleme, hasta/örnek etiketleme, tetkik sonuç girişi, tetkik raporu hazırlama, laboratuvar çalışmaları raporlama başlıkları altında ayrıntılı işlem gereklilikleri tanımlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan "Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI" tarafından hazırlanan AUTO8-A kodlu "Managing and Validating Laboratory Information Systems; Approved Guidline" (Laboratuvar bilgi sistemlerinin idaresi ve validasyonu) akreditasyonun laboratuvarlarda öneminin arttığı günümüzde LBS'nin bu basamaktaki önemini göstermektedir.

Amerika Birleşik Devletlerinde bulunan College of American Pathologists (CAP) organizasyonu periyodik olarak ülkede yer alan LBS üreticilerinin ürünlerinin özellikleri, ürün desteği bilgileri, kurulu bulunan laboratuvar sayısı, kurulum ve destek maliyetleri ile ilgili bilgilerin yer aldığı "LIS Survey" bilgilerini yayınlamaktadır. Ülkemizde de benzer kapsamlı değerlendirmelerin yapılması laboratuvarların LBS satın alma öncesinde tercihlerinin belirlenmesinde ve firmaların kendilerini geliştirmeleri açısından faydalı olabilecektir.

Yakın dönemde çıkarılan "Sağlık Bakanlığı'na bağlı kurumlarda görev yapan laboratuvar uzmanlarının ek ödemelerine esas sayıların belirlenmesine dair yönerge" kapsamında LBS'ne olan bir diğer ihtiyaç ortaya çıkmıştır. Buna göre ek ödemede kriter puanı olarak getirilen işlemlerden test bazında kit verimliliğini hesaplamak, reddedilen örneklerin reddedilme nedenlerine göre aylık analiz, sonuçların zamanında verilmesinin analizi gibi parametrelerin yazılımlar tarafından incelenebiliyor olması gerekecektir.

Ülkemizde az sayıda laboratuvarda LBS satın alınmış şekilde kullanılmaktadır. İhtiyaçların iyi belirlenip, teknik desteğin alınabildiği sürece özel laboratuvarlarda yazılımların satın alınmış olması tercih edilebilir. Ancak hastanelerde HBS sistemleri belli süreli sözleşmelerle ihale edildiğinden ve LBS entegre olarak sunulduğundan program değişiklikleri olabilmektedir. Bu değişiklik dönemlerinde hastane yönetimlerinin laboratuvar ile işbirliğine giderek, ihale öncesinde özellikle LBS modüllerinin teknik şartnamelerinin hazırlanmasında fikirlerini alması önemlidir. Aksi takdirde geçiş dönemlerinde laboratuvar analizlerinin aksaması ve hatalı sonuçların verilmesi gibi durumlar yaşanabilecektir. Yeni yazılımların laboratuvara kurulması ve tam işlerlik kazanılması ayları bulmaktadır. Cihaz entegrasyonu, raporlamalardaki hazır notlar, antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları şablonları oluşturulması vakit almaktadır. Çalışanların yeni programa adaptasyonu ayrı bir süreci oluşturmaktadır. Kendi hastanemizde iki farklı yazılımla çalışma dönemi geçirilmiştir. İlk kurulum döneminde hiç memnun olmadığımız yazılımın 3 ay içerisinde pek çok fonksiyonunu öğrenmek mümkün olmuş ve bunun değiştirilmesi ile yeni yazılıma geçildiğinde ilk aylarda eski yazılımın daha iyi olduğu fikri oluşmuştur. Yazılımların değişmesi döneminde iki farklı program arasında veri aktarılmasında da büyük problemler yaşanabilmektedir. Mikrobiyoloji uzmanı olarak uzun bir süreçte alışılmış olan bir yazılım varken değişiklik yapılmasını önermemekteyim.

LBS kurulumlarında tüm laboratuvar çalışanlarının sertifikalı bir eğitimden geçirilmesi kullanım etkinliğini artıracaktır. Hizmete alınmadan önce tüm süreçlerin sanal örnekler ile baştan sona tamamlanması sorunların saptanması ve düzeltilmesini sağlayacaktır. Laboratuvar sorumlularının en etkin şekilde yazılımlardan faydalanabilmesi bazen tüm menülerin tek tek "kurcalanması" ile deneme yanılma yöntemi ile mümkün olabilecektir.

Tablo -1. LBS yazılımındaki fonksiyonların kullanılma oranları

Fonksiyon	Kullanan laboratuvar; n (%)
Numune kabul/red	55 (%87,3)
Test çalışma listeleri hazırlanması	47 (%74,6)
Otoanalizörlerin çalışılacak testleri alıp/sonuç bildirmesi	60 (%95,2)
Tam otomatize bakteri identifikasyon, antibiyogram cihazlarına hasta/örnek bilgisi aktarılması	33 (%52,3)
Hasta sonuçlarının raporlanması	63 (%100)
Hasta ile ilgili klinik bilgilerin takibi	45 (%71,4)
Raporlamalarda kullanılacak hazır mesaj/ uyarı/rapor tanımlaması	58 (%92)
Sonuçların uzman olmadan otomatik kontrolü/onaylanması/raporlanması	27 (%42,8)
Antibiyogram raporlamada bakterilere özel paneller hazırlanması	47 (%74,6)
Kısıtlı antibiyogram raporlama	44 (%69,8)
Kliniklere özel periyodik antibiyotik duyarlılık profil raporları	16 (%25,4)
Hastane enfeksiyonları tanımlanması ve izlemi	15 (%23,8)
Otomatik olarak panik değerlerin tanımlanması/uyarıların eklenmesi	46 (%73)

Dış laboratuvara gönderilecek testlerin listelenmesi	17 (%27)
Kit verimlilik analizi	20 (%31,7)
Testlerin iç kalite kontrolleri takibi	28 (%44,4)
Levey-Jennings grafikleri oluşturma ve takibi	23 (%36,5)
Sarf/kit stok takibi	22 (%35)
Sağlık müdürlüğüne gönderilecek formların hazırlanması	21 (%33,3)
WHONET uyumlu antimikrobiyal duyarlılık verisi oluşturma	13 (%20,6)
Hastane dışından hastaların kendi sonuçlarını alabilmesi	37 (%58,7)
Faturalanması amacıyla test eklemek	37 (%58,7)

KAN BANKACILIĞI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ REHBER VE STANDARTLAR

Rukiye BERKEM
Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuarı, Ankara

Ülkemizde uygulanan mikrobiyolojik tarama testleri

Ülkemizde yürürlükte olan Kan ve Kan Ürünleri Yönetmeliği'ne göre bağış kanlarında uygulanması zorunlu tarama testleri HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1/2 ve sifiliz tarama testleridir. Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberinde tanımlandığı biçimde mikrobiyolojik tarama testlerinin çalışılmasında Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmış test kitleri kullanılmalı, testler üreticinin talimatlarına göre çalışılmalıdır. Tarama testleri 9 Ocak 2007 tarih ve 26398 sayılı resmi gazetede yayımlanmış olan Invitro (vücut dışında kullanılan) tıbbi tanı cihazları yönetmeliği'ne uygun olarak üretilmiş olmalıdır. Üretici bu yönetmeliğe uygun şekilde, yetkili makam tarafından verilmiş eksiksiz bir kalite sistem sertifikasına ve bu kapsamda yer alan her reaktif için tüm kontrol sonuçlarını içeren bir belgeye sahip olmalıdır. Uluslar arası standartlara göre bunların aynı zamanda kan bağışı ve kan bağışçısı taraması yönünden uygunluğu üretici tarafından beyan edilmiş ve onaylanmış kuruluşlarca; geçerliliği onaylanmış ve belgelenmiş olmalıdır.

Bağış kanlarının taranmasında kullanılan testler, ilgili antijen ve/veya antikorun gösterilmesi esasına dayanır. Testler, her çalışma için negatif ve pozitif kontrolleri içeren kitler halinde temin edilmelidir. Bu testlerin asgari ve mutlak çalışma koşulu, üretici firma talimatlarına uygun olarak kontrollerin doğru sonuç vermesidir. Bunun yanı sıra bu testlerin, zayıf pozitif bir dış kontrolü de içermeleri önerilmektedir.

Tarama testlerinde tekrarlayan reaktiviteye bakılması

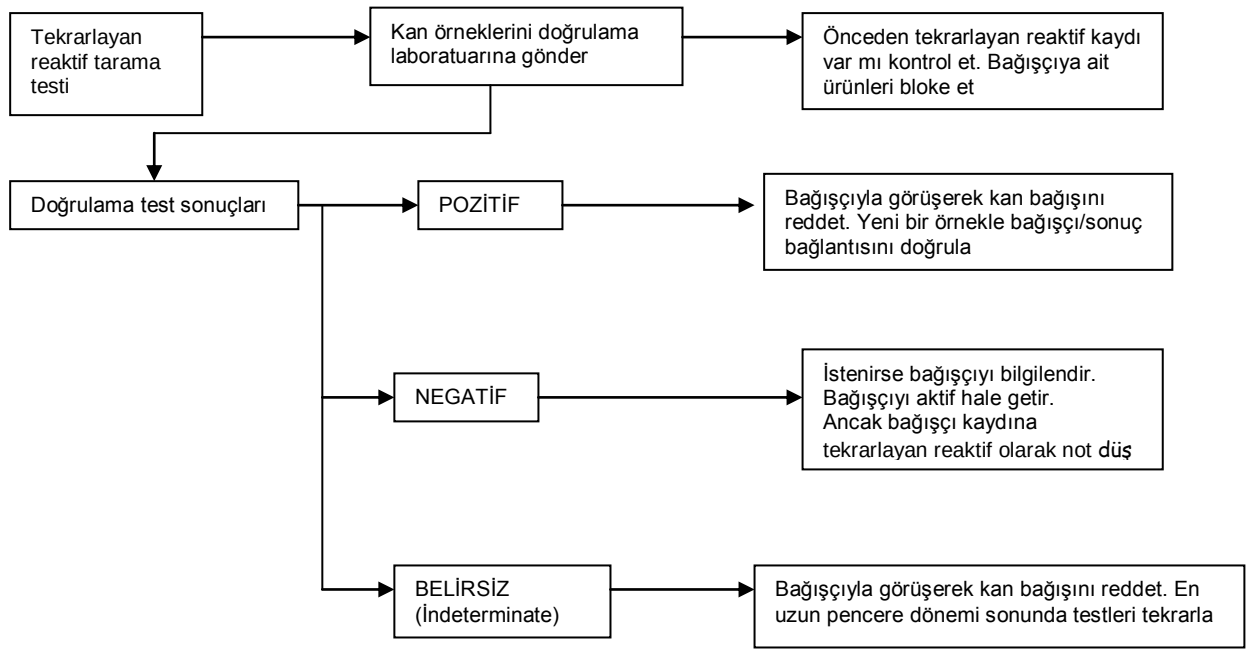
Bağış kanlarının mikrobiyolojik taramasında; HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV 1/2 viral göstergeleri EIA yöntemleri ile sifiliz taramasında ise manuel veya otomatize bir sistemde lesitin bazlı bir antijen içeren kardiyolipin testi veya Treponema pallidum hemaglütinasyon (TPHA) yöntemine dayalı bir test veya EIA testi kullanılmaktadır.

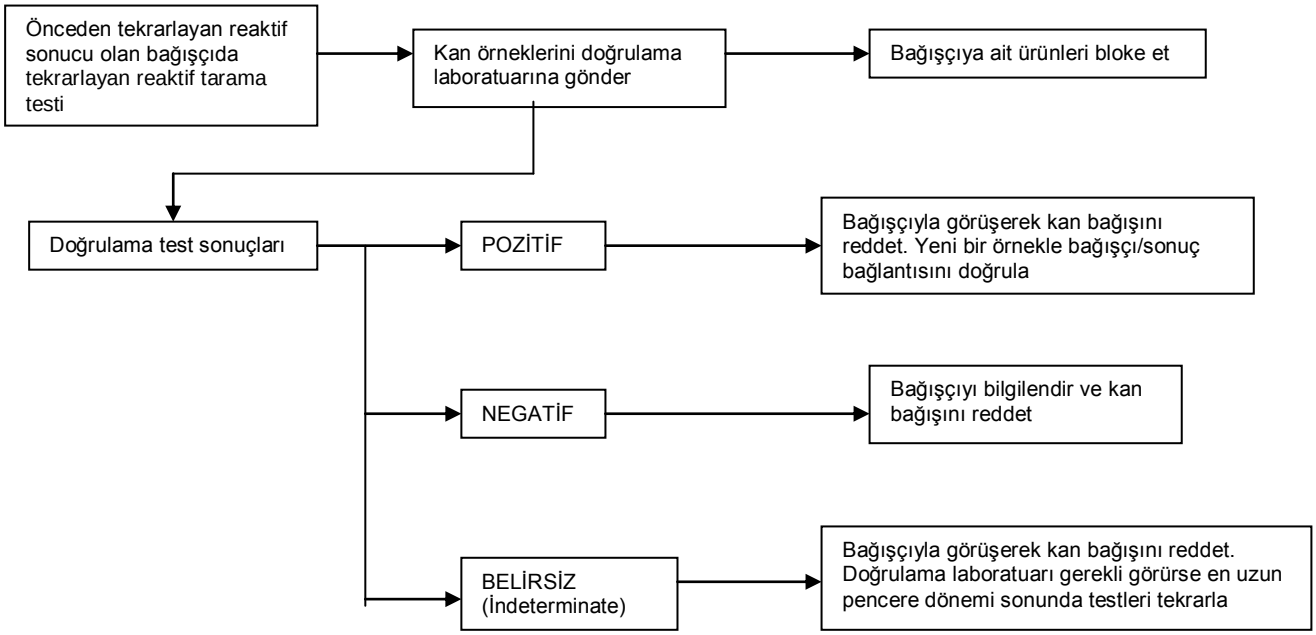
HBsAg'nin taranmasında kullanılan kitlerin duyarlılığı 0.5 ng/ml'nin altında olmalıdır. HIV 1/2 antikorlarını araştıran kitler HIV subtip O duyarlılığına da sahip olmalıdır.

İlk test sonucu reaktif değilse, bağışlanan kanın aranan gösterge yönünden negatif olduğu kabul edilir ve bağışlanan kan transfüzyon için veya bileşenlere ayrılmak için kullanılabilir.

İlk test sonucu reaktifse, bağışlanan kan aranan gösterge yönünden başlangıçta reaktif olduğu kabul edilir. Bağışçı kan örneği, ilk test için kullanılan aynı test kiti ile yeniden iki kez çalışılmalıdır. Tekrar edilen testlerin her ikisi de reaktif değilse, ünitenin aranan gösterge yönünden negatif olduğu kabul edilir; ünite transfüzyon için veya bileşenlere ayrılmak için kullanılabilir, bağışçı tekrar kan bağışında bulunabilir. Tekrar edilen testlerin her ikisi veya en az birisi reaktif ise, sonuç **tekrarlayan reaktif** olarak kabul edilir; ünite transfüzyon veya bileşenlere ayrılmak için kullanılamaz, kan bağışçısı geçici red kapsamına alınır. Ancak bağışçının bilgilendirilmesinden önce tekrarlayan reaktif sonucun doğrulama yöntemleri kullanılarak doğrulanması gerekir. Doğrulanmış enfeksiyon tespit edilen kan bağışçıları kalıcı red kapsamına alınır (Şekil 1).

ŞEKİL 1. MİKROBİYOLOJİK DOĞRULAMA TESTLERİ İÇİN ULUSAL ALGORİTMA





Kan bağışçısından alınan kan örneğinde uygulanan tarama testleri tekrarlayan reaktif sonuç verirse kan örneğinin doğrulama laboratuarına gönderilmesi ve doğrulama için ek testler yapılması gereklidir. Elde edilen doğrulama sonuçlarına göre kan bağışçısının bilgilendirilmesi ve ünitenin kullanılması için algoritma T.C.Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanan Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi'nde belirtilmiştir (Şekil 1).

Bu aşamada bağışçı kayıtlarının incelenmesi, bağışçıya ait ürünlerin bloke edilmesi, bağışçının tıbbi değerlendirmesi, bilgilendirilmesi, danışmanlık verilmesi, ilgili sağlık kuruluşlarına yönlendirme yapılması ve tutarsız sonuçlar varsa önceden belirlenmiş kriterlere göre kan bağışçısının tekrar kan bağışına uygunluk yönünden değerlendirilmesi önemlidir.

Test sonuçlarının değerlendirilmesi ve yorumlanması

Kan bağışçısında viral enfeksiyonun serolojik kanıtının bulunduğundan söz edebilmek için tarama testinde elde edilen tekrarlayan reaktif sonucun daha spesifik serolojik testlerle (örn. RIBA, yüksek duyarlılık ve özgüllükte ek ELISA testleri, WB vb.) veya NAT ile doğrulanması gerekir. Bu kural HBV, HCV, HIV antijen ve antikor tarama testlerinin tümü için geçerlidir. Doğrulama laboratuarları bu virüsler için rutin olarak uyguladıkları ek testleri içeren algoritmalara sahip olmalıdırlar.

Viral enfeksiyonların prevalansının normal popülasyondan daha düşük olduğu kan bağışçılarında hatalı pozitif test sonuçlarına yüksek oranlarda rastlanmaktadır. Asemptomatik bireylerde, enfeksiyonla ilgili herhangi bir bulgusu bulunmayanlarda ve ilk kez test yapılanlarda bu durum dikkat çekicidir.

HBsAg ELISA testinin doğrulanmasında üreticinin önerilerine göre nötralizasyon testi kullanılmalıdır. Nötralizasyon testi ile doğrulanmayan HBsAg EIA sonucu elde edildiğinde kan bağışçısının HBV enfeksiyonu yönünden tekrar değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Bağışçının enfeksiyon dönemi, anti-HBc (anti-HBc total ve anti-HBc IgM) ve Hbe antijen/antikor (HBeAg/anti-Hbe) testleri ile belirlenebilir.

HCV'de tarama testi tekrarlayan reaktif bulunan örneklerde, anti HCV için ek serolojik test olarak strip immunoblot testler, rekombinan immunoblot (RIBA) testler kullanılır; bu test ile elde edilen sonuçlar pozitif, belirsiz (indeterminate) veya negatif olarak değerlendirilir. Pozitif RIBA testi sonucu HCV antikorunun pozitif olduğunu gösterir. Ancak anti HCV'nin varlığı geçirilmiş veya geçirilmekte olan enfeksiyonlar arasında ayırım yaptırmaz, bu bağışçıların virüsün ve karaciğer hastalığının varlığı yönünden tıbbi değerlendirme ve danışmanlığa ihtiyaçları vardır.

Negatif RIBA testi sonucu anti-HCV'nin negatif olduğuna işaret eder, ancak enfeksiyonun erken dönemlerinde (antikor oluşmadan serokonversiyon safhasında) ilk haftalar anti HCV hatalı negatif sonuç verirken, virüsle karşılaşmadan 1-2 hafta sonra HCV RNA tespit edilebilir. Nadir sayıda ki hastada serokonversiyon aylarca gecikebilir. Bazı kişilerde ise HCV enfeksiyonu iyileştikten sonra anti HCV tespit edilebilen düzeylerin altına iner. Bazı kronik HCV enfeksiyonu bulunan kişilerde ve immünosupresif hastalarda anti HCV sürekli negatiftir ve HCV RNA enfeksiyonun tek göstergesi olabilir.

Belirsiz (indeterminate) RIBA test sonucu, anti HCV sonucunun belirlenemediğini gösterir. Yakın zamanda enfekte olmuş ve serokonversiyon aşamasındaki hastalarda ve HCV ile kronik enfeksiyonu bulunan bireylerde belirsiz (indeterminate) RIBA sonucu elde edilebilir. Bu sonuç aynı zamanda hatalı tarama testi sonucunu da gösterebilir

(Tablo 1).

TABLO 1. HCV ENFEKSİYONU GÖSTERGELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Anti-HCV	Test sonuçları	Değerlendirme	Yorum
anti-HCV pozitif	Anti HCV tarama testi pozitif, RIBA veya NAT pozitif	Aktif veya geçirilmiş enfeksiyonu gösterir Tüm anti HCV pozitif bağışçılar bilgilendirilmeli ve danışmanlık verilmelidir	HCV RNA pozitif sonuç aktif enfeksiyonu gösterir, ancak tek bir HCV RNA negatif sonuçla yorum yapılamaz
	Anti HCV tarama testi pozitif, NAT negatif, RIBA pozitif		
anti-HCV negatif	Anti HCV tarama testi negatif	Enfeksiyonun bulunmadığını gösterir	-
	Anti HCV tarama testi pozitif, RIBA negatif		
	Anti HCV tarama testi pozitif, NAT negatif, RIBA negatif		
anti-HCV indeterminate (belirsiz)	Anti HCV tarama testi pozitif, RIBA indeterminate (belirsiz)	HCV antikor durumunun kesin olarak belirlenemediğini gösterir NAT yapılmamışsa, en erken bir ay sonra HCV antikorunun durumunu belirlemek için kan örneği alınmalı, testler tekrarlanmalıdır	Kan bağışçılarında HCV enfeksiyonu prevalansı düşüktür ve hatalı pozitif sonuç olasılığı yüksektir Yakın zamanda enfekte olmuş bireyde serokonversiyon aşaması olabilir, bu kişiler genellikle HCV RNA pozitiftir HCV ile kronik enfeksiyonu bulunan kişilerde persistan bir serolojik bulgu olabilir, bu kişiler genellikle HCV RNA pozitiftir

Reaktif sifiliz tarama test sonuçlarının TPHA, Floresan Treponema pallidum Antikor testi (FTA) veya immunoblot testleri ile doğrulanması gerekir.

İdeal doğrulama testleri, tarama testleri kadar duyarlı ve tarama testlerinden çok daha özgül olmalıdır. Halen kullanılmakta olan bazı tarama testleri, doğrulama testlerinden daha duyarlıdır. Uyumsuz veya doğrulanmamış sonuçlara bağlı sorunlarda kalıcı bir çözüm için önerilen ulusal algoritma uygulanmalıdır.

Özel Durumlar

Ülkemizde HIV Doğrulama test sonuçlarının sorumluluğu, Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmış referans laboratuarına verilmiştir. Doğrulama laboratuarına, tarama testi hakkında bilgi verilmelidir, doğrulamada kullanılan testler, tarama testleri kadar duyarlı ve farklı bir test olmalıdır.

Kan hizmet birimleri, sonuçlar için tarama testi pozitif, doğrulama testi pozitif, negatif veya belirsiz şeklinde kayıt tutmalıdır. Doğrulama test sonuçları ile bağışçının tarama test sonuçları birlikte gösterilmelidir.

Kan Hizmet Birimleri tarama testlerinin kalite ve güvenilirliği için standartlar uygulamalıdır:

Hem reaktif hem de test yöntemlerini kapsayan günlük iç kalite kontrol programı izlenmeli ve kayıtları tutulmalıdır.

Yeni parti kitlerin kabul öncesi denenmesi ek bir kalite güvence önlemi olarak uygulanmalıdır.

Akredite bir laboratuardan dış kalite kontrol örnekleri temin edilmeli ve dış kalite kontrol programı uygulanıp kayıtları tutulmalıdır.

Tüm yeni yöntemler ve yöntem değişiklikleri uygulamaya konmadan önce doğrulanmalı, kontrol edilmeli ve kayıtları tutulmalıdır.

Enfeksiyon göstergelerine ilişkin tarama testlerindeki tekrarlayan reaktif sonuçlar ile doğrulanmış pozitif sonuçların hemovijilans sisteminin bir parçası olarak Sağlık Bakanlığı'na bildirimi yapılmalı ve izlenmelidir.

Anti-HIV testinin kalite kontrolü

Alınan tüm kan veya kan bileşenleri, HIV-1 tip O gibi nadir tipleri de içerecek şekilde HIV-1 ve HIV-2' ye yönelik antikorları (anti-HIV-1 ve anti- HIV-2) güvenilir biçimde saptayacak, onaylanmış bir testle taranmalıdır.

HIV enfeksiyonunu doğrulamak için güncel yaklaşım; alternatif ELISA testleri, Western blot veya rekombinan immunoblot testleri gibi yöntemleri içerecek ulusal bir algoritmanın kullanılmasıdır. Kuşkulu anti-HIV

testlerinin yorumlanmasında HIV antijen testleri ve NAT'ın kullanılması yararlı olabilir. Pozitif çıkan bir doğrulama testi, ilk kan örneğinden 2-4 hafta sonra alınacak yeni bir kan örneği ile tekrarlanmalıdır.

Tablo 2. Anti-HIV testi kalite kontrolü

Kontrol edilecek parametre	Kalite koşulu	Kontrol sıklığı	Kontrolü yürüten
anti-HIV 1/2 tarama duyarlılığı	zayıf pozitif örneğin saptanması*	Her çalışma	Tarama lab.

*Zayıf pozitif kontrol serumu mümkünse üretici firma tarafından sağlanmış olmalıdır. Ancak menşei üretici firmadan farklı olmalıdır.

HbsAg testinin kalite kontrolü

Tüm kan veya kan bileşenleri, Hepatit B yüzey antijenini (HBsAg) en az 0.5IU/mL düzeyinde saptayabilecek, onaylanmış bir testle taranmalıdır. HBsAg reaktivitesinin doğrulanması, özgül nötralizasyon testi ile yapılmalıdır. Bağışçının enfeksiyon dönemi, anti-HBc (anti-HBc total ve anti-HBc IgM) ve HBe antijen/antikor (HBeAg/anti-HBe) testleri ile belirlenebilir.

Tablo 3. HbsAg testi kalite kontrolü

Kontrol edilecek parametre	Kalite koşulu	Kontrol sıklığı	Kontrolü yürüten
HbsAg tarama testi	0.5IU/mL standardının saptanması	Her çalışma	Tarama lab.

Anti-HCV testinin kalite kontrolü

Tüm kan veya kan bileşenleri, Hepatit C virus antijeni ve/veya antikorunu (anti-HCV) güvenilir biçimde saptayacak, onaylanmış bir testle taranmalıdır.

HCV enfeksiyonunu doğrulamak için güncel yaklaşım; alternatif ELISA testleri, immunoblot testleri gibi özgül yöntemleri içerecek ulusal bir algoritmanın kullanılmasıdır. HCV antijen ve genomunun gösterilmesine yönelik duyarlı testler, bağışçıdaki enfeksiyon durumunun doğrulanmasında yararlı olabilir.

Tablo 4. Anti-HCV testi kalite kontrolü

Kontrol edilecekparametre	Kalite koşulu	Kontrol sıklığı	Kontrolü yürüten
anti-HCV tarama duyarlılığı	Zayıf pozitif örneğin saptanması*	Her çalışma	Tarama lab.

*Zayıf pozitif kontrol serumu mümkünse üretici firma tarafından sağlanmış olmalıdır. Ancak menşei üretici firmadan farklı olmalıdır.

Sifiliz testinin kalite kontrolü

Kan bağışçılarında sifiliz taramasının gerekliliği konusunda tartışma sürmektedir, fakat bu test, cinsel yolla geçen hastalıklar için riskli davranışların bir göstergesi olarak kullanılabilir ve halen birçok ülkede uygulanmaktadır. Çoğu merkez, manuel veya otomatize bir sistemde, lesitin bazlı bir antijen içeren kardiyolipin testi uygulamakta veya Treponema pallidum hemaglütinasyon (TPHA) yöntemine dayalı bir test kullanmaktadır. Bu amaçla, ELISA testi de kullanılmaktadır. Pozitif sifiliz tarama sonuçlarının TPHA, Floresan Treponema pallidum Antikor testi (FTA) veya immunoblot testleri ile doğrulanması gerekir.

Tablo 5. Sifiliz testi kalite kontrolü

Kontrol edilecek parametre	Kalite koşulu	Kontrol sıklığı	Kontrolü yürüten
Lesitin bazlı reagen ve TPHA reagenleri	Zayıf pozitif örneğin saptanması	Her çalışmanın başlangıcında ve sonunda	Tarama lab.

Kan bağışçısının test sonuçları konusunda bilgilendirilmesi

Kan bağışçılarının tarama testlerinde elde edilen tekrarlayan reaktif sonuçların ek testlerle doğrulanması ve kan bağışçılarının bilgilendirilmesi çok önemlidir.
Kan bağışçısının test sonuçları konusunda bilgilendirilmesinin amaçları:

1. Enfeksiyonu bulunan kan bağışçılarını ilgili sağlık birimlerine yönlendirmek,
2. Enfeksiyonu bulunan kan bağışçılarının tekrar kan bağışında bulunmalarını önlemek,
3. Belirsiz (indeterminate) veya çelişkili sonuçları bulunan ve geçici red alan kan bağışçılarını ilgili test sonuçları yönünden takip etmek ve aydınlatmak.

HBV için tekrarlayan reaktiflik durumunda bağışçı bilgilendirilir. HCV ve HIV İçin tekrarlayan reaktif örneklerin pozitifliği doğrulandığında, bağışçı ile görüşülmeli ve bağışçı-test sonucu bağlantısını doğrulamak için yeni bir serum örneği alınmalıdır.
Kan bağışçısının test sonuçları konusunda bilgilendirilmesinin yazılı olarak mektupla, mektubun doğrudan kan bağışçısına ulaşacağından emin olunarak ya da yüzyüze görüşme ile yapılması önerilmektedir.
T.C.Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanan Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi'nde belirtilen biçimde; Doğrulama testi pozitif tespit edilen bağışçı, Kan Hizmet Birimi tarafından (Form 1)'e göre yazılı olarak bilgilendirilir. Yönlendirme; hizmet biriminin bulunduğu İlin Sağlık Müdürlüğü tarafından belirlenen, konu ile ilgili eğitim almış uzman hekimlerin bulunduğu, bağışçının takip ve tedavisinin yürütülebileceği bir sağlık kurumuna yapılır.

Form 1.
KAN BAĞIŞCISI MİKROBİYOLOJİK TEST
POZİTİFLİĞİ BİLDİRİM FORMU

Sayın……

Bağışçılarımızdan sağlanan kanlar, yapılan tarama testleri sonucu enfeksiyon etkenlerinin bulunmadığı tespit edildiğinde, kullanıma sunulmaktadır.Tarama testlerinde pozitiflik saptandığı takdirde ise, söz konusu kan imha edilmekte ve hastaya kullanılmamakta, ilgili bağışçımız bilgilendirilmektedir.
/..../.../..... tarihinde bağışladığınız ..... numaralı kandan alınan numune ile yapılan testlerde pozitiflik saptanmıştır. Size, konu ile ilgili ayrıntılı bilgi verebilmemiz için en yakın zamanda .....Kan Merkezi'ne müracaat etmenizi rica ederiz. Konu hakkında bilgilendirilecek, gerekli ise test tekrarınız ve/veya doğrulama testleriniz için ileri tetkiklerinizin yapılabileceği sağlık kuruluşlarına yönlendirileceksiniz.
Kan Bağışına gösterdiğiniz ilgi ve duyarlılık için teşekkür eder, sağlıklı günler dileriz.

Kan Hizmet Birimi, doğrulanmış HIV, HBV veya HCV enfeksiyonu olan bir bağışçının pencere döneminde iken bağış yapması durumunda, bu kandan üretilen ve potansiyel olarak enfeksiyöz olan kan bileşenlerini alan hasta veya hastaların belirlenip izlenmesi ve kendilerini tedavi eden doktorun konuyla ilgili bilgilendirilmesi işlemini başlatır. Bu bağışlar son bir yıllık zaman diliminde yapılmış olan bağışlardır.
Mikrobiyolojik tarama testleri tekrarlayan reaktif bulunan kan bağışları bloke edilmeli, transfüzyonda ve ürün yapımında kullanılmamalıdır. Kan bağışçısının dosyasına tekrarlayan reaktivite kaydedilmeli, bağışçı geçici red kapsamına alınmalıdır. Doğrulama testlerinin veya ek testlerin sonuçlarına göre kan bağışçısının kalıcı reddine karar verilebilir. Ancak doğrulama testleri negatif sonuçlanır ya da ek test sonuçları arasında tutarsızlık oluşursa tekrarlayan reaktif sonucun hatalı pozitif bir test sonucu olma olasılığı vardır. Bu durumda kan bağışçısının belli bir süre sonra testleri tekrarlanarak kan bağışı yapıp yapamayacağı konusunda karar verilmesi gerekir. İlk tarama örneği ile takip örneği arasında geçmesi gereken süre İngiltere standartlarına göre en az 12 haftadır. Amerika standartları bu süreyi HIV için sekiz hafta ve HCV için altı hafta olarak bildirmektedir. Nötralizasyon testi ile doğrulanamayan reaktif HBs Ag sonucu ya da tutarsız HBsAg, HBV DNA ve anti HBc sonuçları bulunan kan bağışçılarının tekrar kan örneklerinin altıncı ayda alınması önerilmektedir.

Kan bağışçısından alınan tekrar kan örneğinde tarama testleri reaktif değilse, ek testler de negatif sonuç verirse kişiden tekrar kan bağışı alınabilir. Ancak bağış esnasında da testlerin tekrarlanması ve böylece iki seri negatif test sonucu bulunması gerekli görülmektedir. Bu konularda ulusal test algoritmalarının belirlenmesine ihtiyacımız vardır.

Kaynaklar

1. TC Sağlık Bakanlığı. Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi. Haziran 2011.
2. Kan Bileşenlerinin Hazırlanma, Kullanım ve Kalite Güvencesi Rehberi. Kasım 2008
3. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections. World Health Organization 2011
4. http://www.aabb.org/Content/Newsletters and Journal/AABB Regulatory Update/
5. Karakoç A.E. Transfüzyon ve viral enfeksiyonlar; viral enfeksiyonlarda algoritmalar. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kursu XII 2009; 65-77
6. Centers for Disease Control and Prevention: Department of Health and Human Services. Guidance for industry. Eligibility determination for donors of human cells, tissues and cellular and tissue based products. August 2007: p21-26

KAN BANKACILIĞI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ YÖNTEM SEÇİMİ

F.Yüce AYHAN
Dr.Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir

Transfüzyon öncesi yapılacak serolojik testlerde en uygun yöntem hangisidir?

a. Kemiluminesan immunoassay (CLIAs)
b. Enzim immunoassay (EIAs)
c. Hızlı testler
d. Hemaglütinasyon (HA)/Partikül Aglütinasyon (PA)
e. Nükleik asid amplifikasyon (NAT)

Yukarıdaki soruya altında yer alan şıklardan birini seçerek doğru yanıt vermek olası mıdır sizce?
Bence değildir. Çünkü her ne kadar ülkemizde kan bankacılığı ve transfüzyon konusunda adı konmuş standartlar bulunsa da (Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi) bu alanda hizmet veren birimler ve uzmanlar açısından bir standart söz konusu değildir.
Durumu öncelikle "transfüzyon merkezleri" açısından değerlendirecek olursak bu en temel kan hizmet biriminde kan bağışı kabulünün ne oranda yapıldığına bağlı olarak değişen bir durumla karşılaşmaktayız. Ulusal mevzuatımızda transfüzyon merkezleri "acil durumlar dışında kan bağışçısından kan alma yetkisi olmayan" birimler olarak tanımlansa da "acil durum" tanımının bir hukuksal metin olarak karşılığının bulunmaması uygulamada bu birimlerin de kan bağışı kabülü yapması ve dolayısıyla serolojik tarama testlerine gereksinim duyması anlamına gelmektedir.
Rutin kan bağışı kabulü yapan hizmet birimleri ise (bölge kan merkezleri ya da süreli bölge kan merkezleri) farklı bağış sayılarına göre değişen test kapasitelerine sahiptirler.
Dolayısıyla transfüzyon öncesindeki serolojik tarama testlerine ilişkin temel ilkeler yaygın olarak bilinse de tüm bu farklılıklar hizmet biriminin seçilecek yöntem konusundaki kararını önemli ölçüde etkilemektedir.
Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2009 yılında yayınlanan "Kan Bağışçılarında Transfüzyonla Bulaşan Enfeksiyonların Taranması"na ilişkin bir kılavuz (Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations, 2009. ISBN 9789241547888) bu alanda çalışan uzmanlara önemli bir standart sunmaktadır.
Transfüzyon öncesi tarama testlerinde yüksek duyarlılıkta ve "pencere dönemi" kısa bir testin seçilmesi güvenli bir transfüzyon açısından; yalancı pozitifliği düşük bir testin seçilmesi ise işgücü ve bağışçı kaybının önlenebilmesi açısından önemlidir. Ancak pek çok birimde bu ölçütlerden önce "fiyat" etkili olmakta ve uzmanlar kurum yöneticileri tarafından "en ucuz test"i seçmeye zorlanmaktadırlar.
DSÖ kılavuzunda HIV taraması için duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bir immunoassay ile anti-HIV-1+anti-HIV-2 taraması ya da HIV antijen ve antikoru birlikte saptayabilen bir kombine immunossay kullanılması önerilmektedir. Yöntem seçiminde bölgeye ya da ülkeye yönelik alt tiplerin dikkate alınması gerektiği de vurgulanmaktadır.
HBsAg ve HCV taramasında duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bir immunoassay kullanımı önerilirken HCV taramasında HCV antijen ve antikorunu birlikte saptayabilen bir test tercih edilmektedir..
Sifiliz taramasında ise hastalık insidansının düşük olduğu toplumlar için özgül trepanomal antikorları saptayabilen bir enzim immunoassay ya da Trepanoma pallidum hemaglütinasyon (TPHA) testi kullanılması önerilmektedir.
Immunoassay olarak enzim ya da kemiluminesans temelli bir test yöntemi tercih edilmelidir. Otomasyon ve donanım ise hizmet biriminin test kapasitesine göre değerlendirilecek bir durumdur.
Bölge kan merkezleri, çok sayıda kurumun tek tedarikçileri olmaları dolayısıyla çok yüksek test kapasitesine sahip hizmet birimleridir. Bu hizmet birimlerinde kullanılacak tarama testlerinde DSÖ kılavuzunda belirtilen standartlar en üst düzeyde tercih edilmeli, HIV ve HCV için antijen ve antikoru birlikte saptayan testlerin, sifiliz için özgül trepanomal antikor testlerinin araştırılmasına uygun testler seçilmelidir. Bölge kan merkezlerinde tarama için NAT kullanımı yalnızca ülkemizde değil dünyada da tartışması süren bir konudur. İnsidansı yüksek olan toplumlarda pencere dönemi olgularını azaltması açısından NAT tercihi doğru bir seçenek gibi gözükse de düşük insidanslı toplumlar için çok da önerilecek bir yöntem olarak kabul edilmemektedir.
Sağlık Bakanlığı tarafından geçici süreyle çalışmasına izin verilen süreli bölge kan merkezleri, çoğunlukla büyük kentlerde yerleşik eğitim araştırma hastanelerinde olduklarından bünyesinde yetkin bir mikrobiyoloji laboratuvarı barındırmakta ve yukarıda belirtilen asgari standartları genellikle karşılayabilmektedirler.
Yöntem seçiminde en fazla zorluk yaşayan uzmanların transfüzyon merkezi sorumluları olduğu görülmektedir. Rutin kan bağışı alma yasağı bulunan bu birimlerin, hukuken muğlak bir "acil durumlar" tanımının baskısı altında sınırlı sayıda kabul ettikleri bağışçılarda asgari standartları koruyarak maliyet etkin bir tercih yapmaları pek olanaklı görünmemektedir. Bu durumda hizmet birimi bünyesinde bir serolojik test laboratuvarı yoksa bünyesinde yer aldıkları yataklı tedavi kurumunun mikrobiyoloji laboratuarından yararlanmaları, böyle bir olanak yoksa hiçbir şekilde kan bağışı kabul etmemeleri en doğrusu olacaktır. Sadece, gerçekten acil durum kapsamında değerlendirilebilecek masif tam kan transfüzyonu için antijen ve antikor taramalarını bir arada yapabilen hızlı testleri tercih etmeleri uygun bir tercih gibi gözükmektedir. Literatürde bir diğer acil durum olarak kabul edilen yenidoğan kan değişimi (exchange) için günümüzde giderek tam kan kullanımından vazgeçilmesi, değişimin bebeğin ABO grubununa uygun eritrosit süspanyonu ile annenin ABO grubuna uygun taze donmuş plazmaların birleştirilmesiyle

elde edilen ürünlerle yapılması yönündeki anlayış değişikliği sonucu bu işlemin stoktaki bileşenlerle gerçekleştirilmesi söz konusu olduğundan acil test gereksinimi giderek ortadan kalkmaktadır.
Bakılması zorunlu olmayan testler içinse her hizmet birimi bağışçısının ya da hastasının özel durumuna göre davranmalı, test ve yöntem seçimlerini buna göre yeniden değerlendirmelidir. Örneğin organ naklinin sıkça yapıldığı birimlerde transfüzyon öncesi test paneline sitomegalovirus, sıtma endemik bölgelerde yaşayan bağışçılarda malarya taraması eklenmesi gerekmektir.
Bir kan hizmet biriminde görev yapan klinik mikrobiyoloji uzmanlarının yöntem seçiminde laboratuvar hizmetine ilişkin kalite standartlarının ötesinde dikkate alması gereken bir konu da transfüzyon süreçlerine ilişkin olası hukuksal süreçlerdir. Bir kan hizmet biriminde çalışan klinik mikrobiyoloji uzmanının verdiği hizmetin sonuçları açısından yargılanma süreçleriyle karşı karşıya kalma olasılığı diğer hizmet birimlerine kıyasla çok daha yüksektir. Bu nedenle her uzmanın hastası kadar kendisini de düşünerek her iki tarafa da en az zarar verecek yöntemi seçmesini önermek daha gerçekçi olacaktır.

SİFİLİZ VE SITMA TARAMALARINDA GÜNCEL DURUM

I. Pınar ZARAKOLU KÖŞKER
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara

SİFİLİZ

Sifiliz treponema pallidum subsp. Pallidum'un etken olduğu sistemik bir hastalıktır. Sıklıkla cinsel yolla bulaşmakta, bununla birlikte in utero anneden bebeğe veya nadiren kan transfüzyonu (özellikle taze kan komponentleri) ile de bulaşabilmektedir.

Dünya sağlık örgütü her yıl 12 milyon yeni sifiliz vakası olduğunu bildirmektedir. Son 30 yılda tüm dünyada sifiliz insidansında artış olması üzerine bu enfeksiyon hastalığı 2000'li yıllarda halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmiştir. Gelişmiş ülkelerde homoseksüel (özellikle hıv pozitif) erkeklerde insidansında artış söz konusudur. Bazı avrupa ülkelerinde enfeksiyonun insidansındaki artış kan bağışçılarında da bildirilmektedir. İngiltere'de 2001 yılından itibaren kan bağışçılarında sifiliz enfeksiyonunun insidansında orta düzeyde bir artışın gözlendiği belirtilmiştir. Almanya'da kan bağışçılarında enfeksiyonun insidansı çok düşük olmakla birlikte 1991'den bu yana artış gözlenmektedir. Artış italya'dan da bildirilmiştir; 1999'da 3.8/100.000 iken 2006'da 7/100.000 olmuştur.

Kan bağışçılarında sifiliz taramasının yapılması yasalarla düzenlenmiştir. Ancak hangi test ya da yöntemin veya algoritmanın kullanılacağı belirlenmemiştir. Kan bağışçılarında sifiliz taramasının gerekliliği konusu tartışmalıdır. Kan transfüzyonu ile bulaş oldukça nadir olmasına rağmen transfüzyon tıbbında enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi hem de yüksek riskli davranışların belirlenmesi açısından tarama yapılması önem taşır.

Sifiliz enfeksiyonunun tanısında teme **KAN BANKACILIĞI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ**

l olarak serolojik testler kullanılır. Serolojik testler 2 gruba ayrılır: özgül treponemal veya özgül olmayan nontreponemal testler. Treponemal testler tpha, tppa, fta-abs, eıa, chemiluminesens-ıa; nontreponemal testler ise vdrl, rpr olarak sıralanabilir. Cdc biri treponemal diğeri nontreponemal olmak üzere tanıda en az 2 testin birlikte kullanımını önermektedir. Serolojik testler tarama (kan bağışçıları, gebe kadın, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonu olan kişi), klinik tanı ve doğrulama, veya tedaviye yanıtı değerlendirmek amacıyla kullanılabilirler. Testlerin yorumlanması hastalığın evresine, tedavi verilip verilmemesine bağlı olarak oldukça kompleks profiller sergileyebilir. Testler yorumlanırken hastalığın tahmini evresi, tarama yapılan grubun özellikleri (seks çalışanları, evlilik öncesi ve gebelikte uygulanan taramalar, kan bankacılığı) önem taşır. Hastalığın enfeksiyöz kabul edildiği ilk 1 yılda serolojik testlerin tümünün reaktif (pozitif) olması beklenir.

Kan bağışçılarında özgül olmayan testlerden vdrl, rpr; özgül testlerden tpha, eıa kullanılmaktadır. Dsö bu grupta tarama amacıyla oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan treponemal testlerden tpha veya eıa kullanımını önerirken; insidans ve prevalansın yüksek olduğu toplumlarda tarama amacıyla nontreponemal bir testin kullanımının daha uygun olacağını ifade etmektedir.

Sonuçlar yorumlanırken önem taşıyan özellikler: nontreponemal testlerden vdrl ve rpr hastalığın aktivitesinin ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılırlar. Bu testlerin aynı laboratuvarda yapılıp, sonuçların kantitatif olarak verilmesi önem taşır. Rpr titresi vdrl titresinden biraz daha yüksek çıktığından takipte aynı yöntemin kullanılması uygundur. Vdrl ve 'unheated serum reagin (usr)' mikroskopik; rpr ile 'reagin screen test (rst) ve 'toludine red unheated serum test (trust)' makroskopik olarak yapılan kardiolipin testlerdir. Nontreponemal testler sekonder dönemde en yüksek titreye ulaşırlar. Bu dönemde non-reaktif saptanırlarsa prozon fenomeni akla gelmeli serum dilüe edilerek çalışılmalıdır. Nontreponemal testlerin latent dönemde veya tedavi sonrasında negatifleşmesi beklenir, ancak bazı hastalarda uzun süre bazen hayat boyu düşük titrede pozitiflik sürebilir. Bunun dışında nontreponemal testlerin yalancı pozitifliği toplumda %1-3 arasındadır. Bu durumda antikor titresi genellikle <1/4'dür. Ancak düşük titreler sifilizi ekarte ettirmez ve sıklıkla latent ve geç dönem sifilizde de düşük titreler saptanabilir. Nontreponemal testlerin yalancı pozitif olduğu durumlar sistemik lupus eritomatozis, sıtma, enfeksiyöz mononükleoz, enfeksiyöz hepatitler, lepra, brusella, milliyer tüberküloz, gebelik, diğer treponemal infeksiyonlar (yaws, pinta) olmak üzere çok çeşitlidir. Nontreponemal testlerin sonucu pozitif saptandığında treponemal testler ile doğrulama yapılması gereklidir. Tüm treponemal testler antijen olarak t. Pallidum'u kullanırlar. Bu testler sifiliz geçirmiş kişilerde erken dönemde tedavi edilmiş olguların dışında hayat boyu pozitif kalırlar. Tpha'nın hastalığın erken döneminde fta-abs'ye göre duyarlılığı daha düşüktür. Eıa duyarlı ve özgül olma özellikleriyle doğrulama testleri arasında yerini almıştır. Klinik ile uyumsuz durumlarda 2-3 hafta sonra yeni bir serum örneği alınarak testler tekrar edilmelidir. Erken dönem sifilizde en duyarlı test fta-abs'dir, ancak yeterli tedavi alan hastalarda negatif kalabilmektedir. Nontreponemal testlerin negatifleşmesi enfeksiyonun süresi ve tedavi sırasında saptanan antikor titresine bağlı olarak 6 ay ile 6 birkaç yıl içinde gerçekleşebilir.

Testlerin seçiminde hastalığın insidansı, hastalığın tahmini evresi, tarama yapılan grubun özellikleri, laboratuvarın iş yükü, testlerin yapılma süresi, maliyeti, pozitif hasta başına düşen maliyet gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

Sifiliz cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar için riskli davranışların bir göstergesi olarak düşünülmekte ve halen birçok ülkede kan bağışçıları sifiliz açısından taranmaktadır. Çoğu merkez manuel veya otomatize bir sistemde lesitin bazlı bir antijen içeren kardiyolipin testi uygulamaktadır. Son yıllarda tpha yöntemi, eıa testi de tarama amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Pozitif sifiliz tarama sonuçlarının tpha, fta veya immunblot testleri ile doğrulanması önem taşır.

Enfeksiyonun kontrolünde sağlık çalışanlarının duyarlılıklarının artırılması, ilgili sektörler arası bilgi paylaşımı, laboratuvar kullanım ve olanaklarının artırılması diğer önemli ana maddelerdir.

SITMA

Sıtma plasmadium türü parazitlerin etken olduğu bir enfeksiyon hastalığıdır. İnsanları enfekte eden 4 tür p. Falciparum, p. Vivax, p. Malariae, p. Ovale mevcuttur. İnsanlara bulaşında dişi anofel sivrisineği rol oynar.

Sıtmanın kan transfüzyonunda tarama programlarında yer alması endemik olmadığı ülkeler için bile tartışma konusudur. Kan bağışçılarının önemli bir kısmı enfeksiyonun endemik olmadığı bölgelerden endemik olduğu bölgelere seyahat etmektedir. Sıtmanın daha önce eradike edildiği ülkelerde sıtma bildirilmektedir.

Primer olarak sivrisineklerle bulaşsa da günümüzde kan transfüzyonunun da bulaş da önemi vurgulanmaktadır. Plazma ve tam kan da +4°c'de en az 18 gün, dondurulmuş halde ise uzamış sürelerle tespit edilmektedir.

Tarama yönteminin seçimi sıtmanın endemik olup olmamasına bağlıdır. Dsö kullanılacak yöntemleri kalın damla ile parazitin direkt saptanması veya antikor-antijen saptamaya yönelik serolojik testleri önermektedir.

Endemik ülkelerde kalın damla sıklıkla kullanılmaktadır. Kalın damla zaman alıcı, uygulayıcıya bağımlı ve hata oranı yüksek bir test olup az sayıda paraziti saptayamayarak bulaşa engel olamayabilir. İyi kalitede antijen testlerinin kalın damlaya göre daha uygun olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte endemik bölgelerde tarama programı laboratuvar testlerinin yanı sıra diğer stratejileri (bağışçı seçimi, sıtma mevsimi, sıtma profilaksisi) de dahil etmek durumundadır.

Endemik olmayan ülkelerde ise sıtma açısından risk taşıyan kişilerin özgül antikor saptamaya yönelik testlerle taranması uygun bulunmaktadır. Bununla birlikte risk taşıyan kişilerin son temastan itibaren 6 ay süreyle kan bağışından uzak durmaları ve antikor testi ile takip edilmeleri enfeksiyonun bulaşını engelleyecektir.

Güvenilir ticari sıtma antikor testleri çok az sayıdadır. Bu testi uygulamak kan bağışçısının sorgulamasına yönelik yerel yaklaşımlarla uygulanabilir. Antikor testi bağışçı kabulü veya reddinde kullanılacak ise transfüzyon ile bulaşma olasılığı olan sıtma tiplerine yönelik antikorları saptayabildiği ispatlanmış olmalıdır. Naat şu an için bağışçı seçiminde önerilmemektedir. Bu yöntemler alıcıda enfeksiyon oluşturabilecek az miktardaki paraziti tespit edemeyebilir. Reaktivitenin doğrulanması yetkin bir referans laboratuvar tarafından yapılmalıdır. Testler heterotipik antikorların gösterilmesine dayalı çalışmaktadır. Kullanıcılar kendi bağışçı panellerinde en sık görülen plasmodium türlerine yönelik antikorların saptandığından emin olmalıdır.

Kaynaklar

1. Zarakolu p, unal s. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. Topçu aw, söyletir g, doğanay m (ed). Nobel tıp kitabevi, 2002, s.1111-15.
2. Hansfield hh. Clinical approach to patients with stds. Hansfield hh (ed). Color atlas and synopsis of sexually transmitted diseases. Mc graw hill, new york, 1992, s. 2-8.
3. American social health association. Diseases characterised by genital ulcers. Std counseling and treatment guide. Asha, usa 1995, s. 52-90.
4. Syphilis. Dyck ve, meheus az, piot p (ed). Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases. Who, geneva, 1999; s. 36-50.
5. Kinghorn gr. Syphilis. Cohen j, powderly wg (ed). Infectious diseases. Mosby, elsevier limited, spain, 2004.
6. Vulcano f, milazzo l, volpi s et al. Italian national survey of blood donors: external quality assesment (eqa) of syphilis testing. Journal of clinical microbiology, 2010; 48: 753-757.
7. Centers for disease control and prevention. 2010 guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. Mmwr, morbid mortal wkly rep 2010.
8. Zanto sn. Changing algorithms in syphilis laboratory diagnosis. Clinical microbiology newsletter 2010: 32: 8.
9. Egglestone sı, turner ajl (phls syphilis serology working group). Serological diagnosis of syphilis. Communicable disease and public health 2010; 3: 158-162.
10. Nesteroff sı. Serology: syphilis. Rcpa serology oap.2004.
11. World health organization. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections; recommendations 2009; 31-32.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA ENFEKSİYON SEROLOJİSİ

OLGU-1
Dürdal US
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyooji ABD, Ankara

62 yaşında kadın hasta, acil servise yüksek ateş, baş ağrısı, bulantı, miyalji/artralji ve konfüzyon şikayetleri ile başvuruyor. Menenjit/ensefalit ön tanısı ile yatırılarak ampirik antibiyotik tedavisi başlanıyor ve BOS örneğinde lenfosit hakimiyetinde pleositoz izlenmesi üzerine tedaviye asiklovir ekleniyor. Hastanın öyküsünde seyahat, yakın zamanda geçirilmiş operasyon, kan transfüzyonu ve immün süpresyon durumu olmadığı belirleniyor. Hastanın kan ve BOS örneklerinin kültürlerinde –bakteriyel, mikobakteriyel ve fungal- herhangi bir üreme tespit edilmiyor. BOS/Serum antikor indeksi normal sınırlarda saptanan hastanın BOS örneğinde çalışılan antijen ve DNA testleri negatif bulunuyor. Hasta, etiyolojisi belirlenemeyen meningoensefalit tanısı ile destekleyici tedavi sonucu iyileşme ile taburcu ediliyor. Hastanın BOS ve serum örnekleri retrospektif olarak serolojik testler ile araştırılıyor.

OLGU-2
Dürdal US
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyooji ABD, Ankara

Önceden sağlıklı ve aşıları tam olan 10 yaşında erkek hasta, yüksek ateş, baş ve boğaz ağrısı, halsizlik ve iştahsızlık şikayetleri ile başvuruyor. Fizik muayenede farengeal inflamasyon, eksudatif tonsillit ve posterior daha büyük olmak üzere bilateral servikal lenfadenopati saptanıyor. Grup A streptokokkal farenjit ön tanısı ile kültür ve hızlı antijen testi için boğaz sürüntüsü örnekleri alınıyor. Hızlı strep-A testinin pozitif sonuç vermesi üzerine hastaya oral amoksisilin tedavisi veriliyor. İki gün sonra yapılan kontrolde, boğaz kültüründe GABHS üremesi saptanmaması ve tedaviye rağmen hastanın şikayetlerinde bir gerileme olmaması, ayrıca bulgulara deri döküntülerinin eklenmesi üzerine hasta ileri incelemeye alınıyor. Periferik yaymada lenfositoz (%75) ve atipik lenfosit (%15) saptanıyor; ALT ve AST düzeylerinde hafif yükseklik izleniyor (sırasıyla, 88 ve 52 U/L). Fizik muayenede karaciğer ve dalak normal sınırlarda tespit ediliyor. Ayırıcı tanıya yönelik serolojik incelemeler yapılıyor.

OLGU-3
Güher GÖRAL
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Bursa

Daha önce ciddi bir hastalık öyküsü olmayan 2 yaşındaki erkek hastanın, polikliniğe başvurmadan 3 hafta önce ateş yüksekliği ve ishal şikayetleri başlamış. Günde 3-4 kez olan kan, mukus içermeyen yumuşak kıvamda dışkılaması 4 gün sonra düzelmiş. Ateş yüksekliği aralıklı olarak devam etmiş. Ardından bacaklarda mor renkli çok sayıda şişlikler oluşmuş; ayakları üzerine basamamaya başlamış. Bu şikayetleri 2 gün kadar süren hastanın bacaklarındaki şişlikler ve ağrılar gerilemiş, rahat yürümeye başlamış. Fizik muayenede alt ekstremite tibia ön yüzünde mavi-mor renkte, ağrısız, ciltten hafif kabarık ve sert lezyonlar saptandı. Öncesinde geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu öyküsü yoktu. Eritrosit sedimentasyon hızı 76 mm/saat, C-reaktif protein 4.58 mg/dL bulundu.

OLGU-4
İnci TUNCER
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Konya

26 yaşında kadın hasta, gebeliğinin 13.haftasında rutin takip için Kadın Doğum polikliniğine başvurdu. Rutin testleri ve fizik muayenesi normaldi. Hastanın ikinci gebeliği idi ve ilk doğumunu sezeryan ile yapmıştı. Birinci gebeliğinde özellik yoktu ve bebek normaldi. Hastanın serolojik test sonuçlarında görülen kuşkulu tanı nedeni ile amniyosentez istendi. Hasta doğuma kadar takip edildi.

OLGU-5
İnci TUNCER
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Konya

28 yaşında kadın hasta, hipogastriumda lokalize dalgalı abdominal ağrı ve ciddi konstipasyon şikayeti ile cerrahi kliniğine yatırıldı. Son dışkılamasından sonra 20 gün geçmişti. Kadın doğum uzmanı sol overe komşu büyük kistik bir kitle olduğunu rapor etmişti. Ateş, kusma veya diyare atakları ve menstrual siklusunda değişiklik yoktu.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA KLİNİK BAKTERİYOLOJİ: GENİTO-ÜRİNER SİSTEM

OLGU-1
Candan ÖZTÜRK
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

35 yaşında erkek hasta, 1 ay önce başlayan üşüme, titremeyle yükselen ara ara olan ateş, gece terlemesi, son 1 haftadır sol kasık ve skrotal ağrısı mevcut. Mesleği terzilik, hayvan besleme öyküsü, çiğ süt içme, son 1 ayda 8 kg. zayıflama öyküsü mevcut. Soygeçmiş ve özgeçmişinde özellik yok. FM: Ateş 39.4°C, Nabız 96/dk , Tansiyon arteriyal 120/70 mmHg, hepatomegali , batın sol alt kadranda hassasiyet, sol skrotumda ödem, hiperemi,hassasiyet ve ısı artışı mevcut. Diğer sistem muayeneleri normal. Mikrobiyolojik değelendirme: Lökosit 13.400/µL olup, (%64 polimorfonükleer lökosit, %20 monosit, %14 lenfosit ve %2 çomak), İdrar hücre sayımında 90/mm^3 lökosit, 40/mm^3 eritrosit mevcut,.Hastadan alınan 2 adet kan, kemik iliği ve ejekülat sıvısı BACTEC 9200 (Becton Dickinson, Sparks, Md.) sistemine ekildi. İdrar kültüründe üreme olmadı. Ejakülat örneğinden yapılan Gram boyamada Gram (-) kokobasiller görüldü. Kan kültürü, kemik iliği aspirasyonu ve ejekülat kültürlerinden (katalaz, üreaz ve oksidaz (+) bir bakteri izole edildi. Tanınız nedir?

OLGU-2
Candan ÖZTÜRK
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

65 yaşında erkek hasta, 4 ay önce başlayan kasık bölgesinde şişlik ve ağrı, skrotal bölgede sarı renkli akıntı, çok sayıda antibiyotik kullanmış. 1 yıldır DM,5 yıldır HT ve ritim bozukluğu mevcut, soygeçmişinde aynı evde yaşayan kardeşinin beş yıl önce akciğer tüberkülozu tanısı ile tedavi olduğu biliniyor. FM: Skrotal-perineal bölgede yaklaşık 2x2 cm büyüklüğünde şişlik ve fistül ağzı dışında bir özellik yok. Mikrobiyolojik değelendirme: İdrar, kan kültürü ve skrotal akıntıdan alınan sürüntü kültüründe üreme olmamıştır. Skrotal akıntıdan alınan sürüntü materyalinin direkt mikroskopik incelemesinde EZN ile boyamada aside dirençli bakteri görülmüş. Löwenstein-Jensen besiyerine ekim yapılmış ancak aside dirençli bakteri üretmemiş. Tanınız nedir?

OLGU-3
Candan ÖZTÜRK
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

26 yaşında erkek hasta, 6 aydır devam eden üretral akıntı, dizüri, perineal ve ejakülasyon ağrısı mevcut. Hasta 1 ay öncesine kadar evlilik dışı ilişkisi olduğunu inkar etmiş ancak 1 ay önce evlilik dışı 3 kez ilişkisi olduğunu belirtmiş. Değişik kliniklerde çeşitli antibiyotiklere tedavi edilmiş. FM: Üretral akıntısı mevcut, bunun dışında inguinal adenopati, genital lezyon ve intraskrotal anormallik mevcut değil, diğer sistem muayeneleri normal. Mikrobiyolojik değerlendirme: Hastadan 3 adet üretra akıntı örneği incelenmek için alınmış (Gram boyama ve kültür, Direk immünoflöresan yöntem, direk bakı). Hastadan bunun yanında prostat masajı sonrası idrar kültürü, sperm kültürü ve prostat sıvısı kültürü de alınmış. Üretral örneğin Gram boyamasında her alanda 15 üstünde PMNL görülmüş ancak intrasellüler Gram negatif diplokok görülmemiş. 48 saatlik inkübasyon sonucu kültürde *N. gonorrhoeae* izole edilememiş. 5 günlük inkübasyon sonrası *M. genitalium* ve *U. urealyticum* kültürü negatif. Ve *C. trochomatis* DFA sonucu negatif sonuçlanmış. Prostat masajı sonrası alınan sıvının direkt bakısında trofozoitler görülmüş. Tanınız nedir?

OLGU-4
Semra KURUTEPE
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Manisa

49 yaşında kadın hasta son birkaç gündür halsizlik, ateş, bulantı- kusma (1kez) yakınması ile hastaneye başvuruyor. Hastanın öyküsünde 7 gün önce alt üriner sistem şikayetleriyle aile hekimine başvurduğu ve 'sistit' tanısı konularak levofloksasin 2x500mg/gün tedavi başlandığı ve tedavinin beşinci günü hastanın yukardaki yakınmalarının başladığı öğreniliyor. Hastanın fizik muayenesinde ateşinin 39°C, TA:120/80 mmHg, nabız: 84/dk ,sağ lomber bölgede hassasiyet, karın serbest, diğer sistem bulguları normal saptanıyor. Üriner sistem sorgulamasında. dizüri, sık idrara çıkma gibi alt üriner sistem şikayetleri olmadığı ve mesane bölgesinde hassasiyet saptanmıyor.

OLGU-5

Semra KURUTEPE
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Manisa

70 yaşında erkek hasta halsizlik, idrar yapmada zorluk şikayetleri ile acile başvuruyor. Hastanın öyküsünde üç ay önce, iyi huylu prostat büyümesi nedeni ile trans üretral rezeksiyon yapıldığı ve üç gün öncede 24 saatlik idrar çıkışının olmaması ve alt karın bölgesinde hassasiyet şikayeti ile acilde sonda takılıp idrar çıkışı sağlandığı öğreniliyor. Sistemik öyküsünde TipII diyabet ve hipertansiyon hastalığı mevcut olduğu öğreniliyor. Hastanın fizik muayenesinde ateşinin 37.9°C, TA:140/90 mmHg, nabız: 76/dk , pelvik bölgede distansiyon saptanıyor. Diğer sistem muayenelerinde özellik yok.

OLGU-6

Meral GÜLTEKİN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Antalya

12 yaşında erkek çocuk,karın ağrısı, ateş, kusma şikayetleri ile çocuk doktoruna getiriliyor.Öz geçmiş :Üreteropelvik bileşke darlığı nedeni ile 3 aylıkken pyeloplasti yapılmış ve 4Y ‘ ına kadar amoksisilin proflaksisi uygulanmış. Hekim, idrar kültürü isteminde bulunuyor ve üriner infeksiyon tanısı ile trimethoprim/sulfometaksozol başlıyor.İki gün sonra idrar kültürü sonucu :Kontaminasyon .Üçüncü gün , yüksek ateş,kusma,yan ağrısı yakınmaları ile Acil servise getirilen hasta, akut pyelonefrit tanısı ile yatırılıyor.İdrar mikroskobisi : Çok sayıda lokosit, az sayıda bakteri görüldü. Gram: İkili ve tetrat oluşturmuş gram pozitif koklar.İdrar ve kan kültüründe % 5 koyun kanlı agarda alfa hemoliz oluşturan gram pozitif koklar ürüyor.Katalaz. negatif, PYR : negatif, bile eskülin test: negatif.Bu olgu sunumunda , ailesi tarafından yakınmalar başlar başlamaz doktora getirilen çocuğun kliniğinin akut pyelonefrite uzanan süreci irdelenecektir.Öğrenme hedefleri : İdrar kültürü raporlanması ;kontaminasyon / etken değerlendirmesi ; klinik – laboratuar ilişkisinin önemi ; klinik mikrobiyologların güncel bilgileri izlemelerinin gerekliliği.

MİKROBİYOLOJİDE PANİK DEĞERLERE YAKLAŞIM

Gülşen HASÇELİK
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Hasta güvenliğinin en önemli konularından biri hastanın tanı ve tedavisinde yapılan tıbbi hatalardır. Tanıda önemli bir yeri olan laboratuvarların en önemli görevi, hasta sonuçlarını doğru ve anlaşılabilir bir şekilde en kısa sürede klinisyene iletmektir. Son yıllarda laboratuvarda analiz sonrası(post analitik) yapılan hataların daha fazla üzerinde durulmaya başlanmış, yalnız hasta sonuçlarının raporlanması ile yetinilmeyip, sonuçların değerlendirilmesi, yorumlanması, hasta verilerinin transferi ve hasta üzerindeki etkisi üzerinde yoğunlaşılmıştır. Raporların yorumlanması ve kritik değerlerin bildirilmesi analiz sonrası dönemin en önemli parçasını oluşturmaktadır.
İlk defa "panik değer " terimi 1972 yılında Lundberg tarafından "Medical Laboratory Observer" dergisinde tanımlanmış, daha sonra yapılan tanımlamada, kritik değer terimi "hastanın sağlığında tehdit oluşturabilecek değer" olarak belirlenmiştir. Kritik değer yerine kritik sonuç, panik değer ve alert (tetik, atik) değer terimleri de kullanılmaktadır. Panik değer teriminin duygusal bir baskıyı (emotional stress) ve ayrıca önemli bir bilgi aktarılmasının özenli ve organize bir şekilde yapılmasına karşı olduğunu ifade etmesi etmesi nedeniyle, bugün bu terimin kullanımı uygun görülmemektedir.
Laboratuvarlar kritik değer bildirimi için kendi gereksinimleri doğrultusunda düzenlemeler yapmakta ve kendi talimatlarını oluşturmaktadırlar. Kritik değer bildirimi çeşitli düzenleme ve akreditasyon programlarına gereksinim göstermektedir. Amerika'da 1988 yılında CLIA '88 (Clinical Laboratory Improvement Amendments)de kritik değer bildirimi üzerinde gereksinimler belirlenmiş, daha sonra laboratuvar el kitaplarında kritik değerlerin raporlanması ile ilgili protokoller yer almıştır. 2010 yılında Joint Commission(TJC) National Patient Safety (Ulusal Hasta Güvenliği) Hedef 2'de değişiklik yapmış, telefonla bildirimde sonuçların geri okunmasını mecbur tutmuştur. Ayrıca CAP(College of American Pathologist) ve ISO(International Organization for Standardization) 15189:2007'de kritik değer bildirimi ile ilgili bölümler bulunmaktadır.
Kritik değerlerin tanımlanması ve bildirimi konusunda çeşitli düzenlemeler bulunmasına rağmen her laboratuvarın kendi hastanesindeki hasta sayısı, klinik gereksinimleri, laboratuvarda bulunan cihazları ve personel sayısını göz önünde bulundurarak kendi hastanesinin kritik değer listesini belirlemesi önerilmektedir. Kritik değer listesinin oluşturulmasında birden fazla değişkenin bulunması üniversal standartların oluşturulmasını engellemektedir. Ayrıca kantitatif değer verilen laboratuvar testlerinde laboratuvarda bulunan cihazlara ve yöntemlere bağlı olarak kritik değer sınırlarında değişimler gözlenebilmektedir. Üniversal kritik değer listesinin hazırlanması laboratuvar direktörünün sorumluluğu altındadır. Laboratuvar direktörü kritik değer listesini, hangi testlerin listeye alınacağını ve sınırların ne olacağını klinisyenler, hastane idarecileri ve/veya hemşire direktörü ile bir araya gelerek belirler. Liste yapılırken klinik gereksinimler de göz önünde bulundurulur. Ayıca bu listelerin hazırlanması sırasında daha önce hazırlanmış listelerin ve düzenlemelerin de gözden geçirilmesi gerekmektedir. Yapılan düzenlemelerde mikrobiyoloji laboratuvarlarında kritik değer olarak kabul edilen testler aşağıda sıralanmıştır:

- Pozitif Gram boyama, asit- faz boyası ve mikoloji boyasi(kan, beyin omirilik sıvısı(BOS) veya steril vücut sıvıları)
- Pozitif kan kültürü
- Pozitif BOS kültürü
- Pozitif steril vücut sıvısı kültürü
- Pozitif dışkı kültürü(seçilmiş patojenler için)
- Pozitif mikobakteri kültürü
- Vankomisin dirençli enterokok
- Dışkıda parazit(Leishmania,plasmodium..)
- Pozitif bakteriyel antijen sonucu
- Pozitif HBsAg, AntiHCV, AntiHIV sonuçları
- Brucella aglütinasyonu
- Pozitif VDRL sonucu

Kritik değer listeleri belirlendikten sonra ikinci aşama bu değerlerin kimin tarafından değerlendirilip bildirileceğidir. Otomatize sistemlerde çalışılan veya elle kayıt edilen testlerde bilgiler LIS(Laboratory Information System)'de o testle ilgili teknisyen tarafından değerlendirilmektedir. Önemli olan değerlendirilen test sonuçlarının onaylama aşamasıdır. Onaylama ilgili uzman tarafından yapılmaktadır. Burada pozitif test sonuçlarının tekrarlanıp tekrarlanmayacağı en önemli basamaktır.Tekrarlamanın zaman ve klinik yararının ne olacağı, tartışma konusudur. Kritik değerler testin sorumlu olduğu teknisyen tarafından tarih, saat ve kime bildirdiği kayıt edilerek yapılmaktadır. Ulusal Hasta Güvenliği Hedeflerine (National Patient Safety Goals)göre kritik değer bildirimi klinisyene veya hasta bakımından sorumlu olan personele yapılması önerilirken, CLIA ise, testi isteyen veya test sonuçlarını değerlendirecek personele bildirilmesini önermektedir. Birçok hastanede kritik değer bildirimlerini, hastanın hemşiresi aracılığı ile hastanın doktoruna bildirim yapılması kabul görmektedir. Laboratuvarda bildirimi yapacak

teknisyen, bildirim yapılacak klinisyene veya hemşireye ulaşamadığı durumlarda servisteki bir görevliye bilgiyi aktarması ve bu durumu laboratuvar direktörüne bildirmesi gerekmektedir. Teknisyenin hastanın doktoruna veya ilgili hemşiresine bildirim yaptıktan sonra verilen bilgilerin geri okunması istenmektedir.Yapılan çalışmalar geri okumanın kritik değer bildiriminde yapılan hataları azalttığı göstermiştir.

Kritik değerlerin bildirilme süresi hasta tedavisi ve hasta güvenliği açısından çok önemlidir. Bu nedenle bazı hastanelerde bildirim elektronik bildirim sistemleri ile yapılmaktadır. Bu sistemlerin bazılarında laboratuvarın kritik değerleri LIS`e, oradan hastane bilgi sistemi(HIS) ve daha sonra da sorumlu hekimin cep telefonu ve bilgisayarına aktarılmaktadır. Eğer sorumlu hekim tarafından 60 dakika içinde bu değer doğrulanmazsa bildirim telefonla yapılmaktadır. Bu yaklaşım iletişimin hızlı olmasını ve kritik değerler bildiriminin elektronik ortamda dokümantasyonunu sağlamaktadır. Diğer bir otomatik sistemde ise LIS`teki onaylanan kritik değerlerin (hastanın ismi, dosya numarası, örneğin alınış zamanı, kritik değer ve referans aralıkları) paging sistemine aktarılmasıdır. Eğer klinisyen 10 dakika içinde yanıt vermezse veya bildirimi red ederse, bilgi telefon bildirimi için eğitimli operatörlere devredilmektedir. Bu sistem klinisyenin kritik değer kabulünün dokümantasyonunu sağlamakta, bildirim süresini ve mortaliteyi azaltmaktadır. Aynı zamanda eğer hastanede bildirim geri okunma ile doğrulanmıyorsa telefonla bildirim sırasında yaşanan hataları (örneğin hasta kimlik bilgileri, test ismi ve değerleri gibi) ortadan kaldırmaktadır. Yapılan bir çalışmada ancak hastanelerin %8.6'sının bu sistemi kullandığını göstermiştir. Otomatize kritik değer bildirimi sisteminin en önemli dezavantajı sistemin elektronik arızasından kaynaklanan gecikmelerdir.

Kritik değer bildirimi hastanede yatmayan hastalarda farklılık göstermektedir. Bu, hastanın doktoruna veya hastanın kendisine ulaşılmasındaki gecikmelerden kaynaklanmaktadır. Hasta sonuçları için LİS sistemi, hastanın aile doktoruna bağlanmakta, ancak burada doktorun uygun olmaması veya cep telefonunun listede bulunmamasından kaynaklanan problemler yaşanmaktadır.

Laboratuvarın kritik değer bildiriminde önemle üzerinde durduğu bir konu ise tekrarlayan kritik değerler veya aynı hastada birbirini takip eden kritik değerlerin saptanması ve bunların nasıl bildirileceğidir. Bunun için 3 seçenek önerilmektedir: 1. İlk çıkan kritik değerin bildirilmesi 2.Tüm kritik değerlerin bildirilmesi 3. Çıkan kritik değerlerin belirli aralıklarla bildirilmesi. Tekrarlayan kritik değerlerin bildirilmesi özellikle yüksek hacimle çalışan hastanelerde çalışan teknisyene çok yük getirmesinin yanında, yapılan bazı çalışmalarda bunun klinik yararının belli ölçüde olduğu belirlenmiştir. Hastada kritik değerden sonra bir normal değer çıkması ve daha sonra tekrar aynı test için kritik değer saptanması durumunda, bu değerin yeni kritik değer olarak kabul edilip bildirilmesi gerekmektedir.

Kritik değerlerin denetimi sırasında laboratuvarda yapılan tüm işlemler yanında preanalitik dönemin de gözden geçirilmesi gerekmektedir. Örneğin devamlı yüksek çıkan K değerlerinde veya kontaminasyon saptanan kan/idrar kültürlerinde örnek alımının ve transportunun gözden geçirilmesi önerilmektedir. Kritik değer denetimleri laboratuvar işlem, süreç ve sonuçları hakkında çok detaylı bilgi vermekte ve kalitenin iyileştirilmesi için bir başlangıç olarak kabul edilmektedir.

Kritik değer bildirimlerinde servislere veya yaşlara göre farklı bildirimlerin yapılması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Henüz yeni doğan ve çocuklarda kritik değer bildirimi ile ilgili düzenlemeler kesinleşmemiştir.

Kritik değer bildiriminde tüm laboratuvar elemanlarına görev düşmekle birlikte kritik değer raporlanmasında temel sorumluluğu laboratuvar direktörü almaktadır. Klinisyenlere danışıp kritik değer listelerinin belirlenmesi, güncel olarak değişimlerin ve denetimlerin yapılması dolayısıyla tüm laboratuvar sonuçlarının performansının düzelmesi laboratuvar direktörünün görevleri arasındadır. Teknolojik değişimlere bağlı olarak kritik değerlere yaklaşımda değişiklikler olsa bile laboratuvar direktörünün sorumluluğu değişmemektedir. Son olarak yayınlanan CAP Today QαA`nin kritik değer bildirimi ``Hasta- odaklı sistemin temeli, sağlam ve güvenilir bir sistem sağlayan, güçlü bir laboratuvar direktörü liderliği gerektirir`` şeklinde ifade edilmiştir. Bu sorumluluk tüm hasta bakımına ve hasta bakımında kalite artmasına yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

1. Barenfanger J, Sautter RL, Lang DL, Collins SM, Hacek DM, Person LR. Improving patient safety by repeating(read back) telephone reports of critical information. Am J Clin Pathol 2004;121:801-803.
2. Dighe AS, Jones JB, Parham S, Lewandrowski KB. Survey of critical value reporting and reduction of false positive critical false positive results. 2008;132:1666-1671.
3. Etchells E, Adhikari NK, Cheung C, Fowler R, Kiss A, Quan S, Sibbald W, Wong B. Real-time clinical alerting: effect of an automated paging system on response time to critical laboratory values-a randomised controlled trial. Qual Saf Health Care 2010;19:99-102.
4. Genzen JR, Tormey CA. Pathology consultation on reporting of critical values. Am J Clin Pathol 2011;135:505-513.
5. Kuperman GJ, Teich JM, Tanasijevic MJ, et al. Improving response to critical laboratory results with automation. JAMIA 1999;6:512-522.
6. Lundberg G. When to panic over an abnormal value. Med Lab Obs 1972;4:47-54.
7. Howanitz PJ, Steindel SJ, Heard NV. Laboratory critical values policies and procedures. Arch Pathol Lab Med 2002;126:663-669.
8. Piva E, Plebani M. Interpretative reports and critical values. Clinica Chimica Acta 2009;404:52-58.
9. Piva E, Sciacovelli L, ZaninottoM, Laposata M. Evaluation of effectiveness of computerized notification system for reporting critical values. Am J Clin Pathol 2009;131:432-441.

10. Wagar EA, Stankovic AN, Wilkinson DS, Walsh M, Souers RJ. Assessment monitoring of laboratory critical values. A college of American pathologists Q-tracks study of 180 institions. Arch Pathol Lab Med 2007;131:44-49.

GENEL ÖZELLİKLER VE VİRUS ,BAKTERİLERDE ADAPTASYON

İlknur KALELİ
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ,Denizli

Adaptasyon canlıların giderek farklılaşan çevre koşullarına uyabilmek için gösterdikleri kapasiteleridir. Adaptasyon ile organizmaların hayatta kalma ve başarılı çoğalma kabiliyetleri artar. Adaptasyon sadece bir defada olmaz; küçük küçük değişikliklerin bir sonucu olarak oluşur. Mikroorganizmalar ile konak arasındaki ilişki dinamik adaptif bir süreçtir. Bu simbiyotik ilişki, her iki tarafın da yararına olacak şekilde evrimleşirse mutualizm olarak adlandırılır (1). Barsaklarda buluna E.coli'nin vitamin K üretimi buna güzel bir örnektir. İlişki birine yarar sağlarken diğeri yarar ya da zarar görmezse kommensalizm, eğer biri yararlanırken diğeri zarar görürse parazitizm olarak adlandırılır. Bakteriyel patojenlerin dinamik ve saldırgan çevreye adaptasyonunu anlamak, infeksiyon hastalıklarının tedavisinde hayati öneme sahiptir (2).

Metchnikoff hipotezinde mikroorganizmalarla konağın birlikte uyum içinde var olabileceğini ve bunun konağın iyiliği için önemli olduğunu savunmaktadır (3). Bu fikir probiyotik kullanımını gündeme getirmiştir. Konak ve mikroblar arasındaki işbirliğine yönelik ilk bilimsel hipotezi ortaya atan Metchnikoff olmasına rağmen ondan önce tıp doktorları ateş ve infeksiyon epizodlarını takiben malign tümörlerin spontan olarak kaybolabildiğini bildirmişlerdir. 1890'larda William Coley bu bilgiyi kullanarak malign hastalığı olanlarda ölü bakteriyi tümör dokusuna tekrarlar şekilde injekte ederek immunoterapi uygulamıştır (4). Benzer yöntem mesane kanserlerinde de uygulanmaktadır. Mycobacterium BCG mesane epiteline infiltre edildiğinde malign hücreleri kontrol eden kuvvetli lokal inflamatuar reaksiyonu indükler (5).

Mikroorganizmalar ve konak arasındaki sosyal ilişkiyi açıklamak için "çok seviyeli seleksiyon teorisi" iyi bir çerçeve olabilir (3). Neden bazı türler arasındaki ilişki bazen savaşa bazen de barışa ve uyumlu bir birlikteliğe doğru gider? Sonuç dış çevre şartlarına bağlı olduğu kadar evrimsel süreçte organizmalar arasındaki dinamik ilişkiye de bağlıdır. Sosyal ilişkide sadece patojen değil aynı zamanda konak immün mekanizmaları da evrimleşecektir. Değişimin derecesi infeksiyonun prevalansına bağlı oluğu kadar infeksiyöz ajanın savunmasız organizmalarda doğurduğu hasarın ciddiyetine de bağlıdır. İnfeksiyöz ajan üzerinde spesifik hücrelere bağlanabilmelerini ya da konağın immün sisteminden kaçmalarını sağlayacak yeni moleküller geliştirmeleri için sürekli bir baskı vardır. İnfeksiyöz ajanlar ayrıca patojenitelerini sürdürebilmek için doğal immün cevabı kendi yararlarına çevirmenin yollarını ararlar. Bunun tersine konak da infeksiyöz ajanın geliştirdiği adaptif stratejilerle baş etmenin çarelerini arar. Bakteriyel adaptasyonda konak arasındaki farklılıkların da önemi vardır. AIDS, yanık, diabet, kistik fibrozis gibi kronik hastalardaki bakteriler adaptasyonu araştırmak için ideal örneklerdir.

Bakteriler yüksek mutasyon oranları ile dinamik çevreye kolayca adapte olabilirler. Genetik bilginin horizontal transferinin yanında, patojenik bakterilerin non patojenlerden evrimleşmesi de yeni konağa adaptasyonu gerektirir (6). Bakterilerin konaklarına adaptasyonunda kendi yararına olan mutasyonları artırıken antivirulan genlerini azaltabilir. Kistik fibrozisli hastaların akciğerlerinden izole edilen P.aeruginosa izolatlarının karşılaştırmalı sekans çalışmaları uzamış infeksiyon süreçlerinin kapsamlı genetik adaptasyon ve küçük dönüşümlerle ilişki olabileceğini göstermiştir. Kistik fibrozis izolatlarındaki mutasyonlar yüzey moleküllerindeki değişimi, flajellum ve diğer sekrete edilen molekülleri de kapsar (7). Bu değişiklikler kistik fibrozis izolatlarına immün sistemden kaçmak için avantaj sağlar.

İnsan gastrik mukozasının H.pylori ile kolonizasyonu patojen ile konak arasında dinamik interaktif bir sürecin sonucudur (8). Bu adaptasyonda birçok bakteriyel mekanizmaların yanında konakda da çeşitli değişikler oluşur. İnsanlardaki H.pylori'nin gen içeriğinde çok büyük değişiklikler vardır. Bu karışık H.pylori populasyonunun mideye adaptasyonunda (genom büyüklüğünde önemli bir değişiklik olmaksızın) horizontal gen transferi ve homolog rekombinasyonlarla DNA sekansında değişiklikler oluşur. Fakat kronik infeksiyon sırasında H.pylori'nin adaptasyonunda genom içeriğindeki değişikliklere bağlı olarak virulans faktörlerinde kayıplar gösterilmiştir. Dahası adaptasyon metal alımı ve kullanım yolakları, dış membran proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonunun değişimini de içerir (9).

Bakteriyel ve viral patojenlerin dış yüzeyi konak ve patojen arasındaki esas kesişim noktasıdır. Mikrobiyal yüzeyin immün sistem tarafından tanınması mikobiyal klirens için anahtar role sahiptir. Bu aynı zamanda patojene konak immün modulatörlerini taklit etmek, konak immün sistemini değiştirmek, adezin ve
reseptör ligandlar eksperese etmek, konak hücre içine alınmak için invazin ve füzyon proteinlerini sunmak gibi fırsatlar sağlar. Kapsül gibi diğer yüzey molekülleri de konak içinde kalmayı artırır (10).

Lipopolisakkarit (LPS) Gram negatif bakterilerin dış yüzeyinin majör komponentidir. LPS nin lipid A komponentini TLR 4'ün aktivasyonunda önemli role sahiptir. Lipid A'nın TLR ile ilişkisi Gr (-) sepsisdeki endotoksik şokun tahrip edici etkilerine neden olur. Lipid A yapısındaki değişiklik, onun potensini değiştirir, hatta bazı durumlarda TLR4 bağımlı antogoniste dönüştürür. Bu Gr (-) bakterilerin Lipid A yapısında değişiklik yaparak inflamasyonu kontrol edebileceği hipotezini doğurur (11). Örneğin Shigella LPS'yi invazyon için Salmonella ise inflamasyondan kaçmak için modifiye edebilir. Benzer şekilde Y.pestis'de düşük sıcaklıkta üreyenlerden izole edilen lipid A klasik endotoksin gibi davranırken, 37° C' de üreyenlerden izole edilen daha az immunostimulandır. Böylece Y.pestis, H.pylori ve C.trachomatis gibi TLR'yi tam olarak sitümüle etmeyen lipid A eksprese eder. Dental patojen P. gingivalis bazıları agonist bazıları antogonist olan çeşitli lipid A türü üreterek konak immün cevabı

yönlendirir (11). Bakteriyel patojenler virulans faktörlerini konak hücresinin sitozolüne sokmak için tip III (T3SS) ve tip IV(T4SS) sekresyon sistemlerine sahiptir. Bunlar toksin, invazyonu sağlayan molekül, hücre içi parazitliği artıran effektörler fagositozu paralize eden, bakteri adheransını sağlayan moleküller gibi immün sistemden kaçmayı sağlayan effektörlerdir. Yersinia türleri fagositik aktiviteyi nötralize edecek birçok effektörü injekte etmek için T3SS kullanır.

Birçok bakteri fagositozisden kaçmak için çeşitli yollar geliştirmiştir. Hüce içine alınan mikroorganizma fagozomdan kaçarak, fagozom–lizozim birleşmesini bloke ederek veya fagolizozom içinde canlılığını sürdürerek ölümden kaçabilir. Shigella türleri, L.monocytogenes ve Ritkettsia türleri vakuolar membranı eritecek lizin sekrete eder. Birçok hücre içi patojen fagolizozomun bileşimini değiştirerek yaşamına devam eder. Fakat bu mikroorganizmaların normal veziküler transportu nasıl değiştirdiği tam bilinmemektedir. Hücre içi patojenlerin tip III ve tip IV sekresyon sistemler aracılığı ile konak sitozol içine normal veziküler trafiği bozan efektörler sekrete ettiği düşünülmektedir. M.tuberculosis belki de en başarılı hücre içi patojen olarak sahip olduğu yüzey glikolipit ve karbohidratlarla fagazom asidifikasyonuna engel olur (10). Fagositik hücre içindeki inflamatuar cevabı değiştirme yeteneği, patojene önemli avantajlar sağlar. İnflamatuar hücrelerin toplanması ciddi inflamatuar hastalıklara neden olan patojenler için replikatif yerler oluşturabilir. Örneğin ciddi intestinal inflamasyona neden olan Salmonella ve Shigella türleri caspas-1 e bağlanarak IL-1β ve IL-18'i aktive eden ve proinflamatuar yolağı bastıran effektörleri salgılamak için T3SS kullanır (10).

TNFα, IL1, IL8 ve IL12 gibi proinflamatuar sitokinlerin salgılanması infeksiyonlara karşı doğal ve adaptif immün yanıtta hayati öneme sahiptir. Bu sitokinler fagositlerin bakterisidal kapasitesini artırmada, infeksiyon bölgesinde ilave doğal hücrelerin toplanmasında, dentritik hücrelerin maturasyonunda ve daha sonra istilacı mikroorganizmalara karşı immün yanıtta önemlidir (12). Bazı bakteriyel patojenler konağın immün yanıtını etkileyecek sitokin üretimini yönlendirecek gelişmiş mekanizmalara sahiptir. Mycobacteria sitokin yanıtını değiştiren güzel bir örnektir. Bu mikroorganizma immün yanıtı azaltacak antiinflamatuar sitokinlerin salınımını indükleyebilir. Mycobacteria ile infekte makrofaj T hücre aktivasyonunu inhibe eden IL6, immünsüpresif sitokin olan IL10 ve TGF β üretir. IL10 makrofaj aktivasyonunu ve reaktif oksijen üretimini inhibe ederek, inflamatuar sitokin üretimini baskılayarak immün süpresif etki yapar. Benzer şekilde B.pertusis konak immün yanıtı down regüle etmek için IL10'u kullanır. Bordetella flamantöz hemaglütinin IL10 üretimini indükleyerek antijen spesifik T hücreleri tarafından IFNγ üretilmesini baskılar. Aynı şekilde, Y.enterocolitica tarafında üretilen LcrV proteini makrofajların IL10 üretimini indükler. Konak hücrelerinin immün süpresif sitokin üretiminin istilacı mikroorganizmalar tarafından istismar edilmesi, bu bakterilere konağın immün mekanizmalarını modüle etme ve immün sistemde kaçma fırsatı verir (12).

Virusler, konağın savunma mekanizmalarından kaçarak ve hücresel metobolizmaları kendi yararlarına çevirerek konağa adapte olurlar. Hücre metabolizmasındaki değişiklikler kadar anti viral yanıtın yan etkileri de semptomların gelişmesine ve virulansa katkıda bulunur. (13). Bütün viruslar yüksek doğal seleksiyon oranlarına sahip olmakla birlikte RNA viruslarında bu oran çok daha yüksekdir Hepatit C ve HIV'de olduğu gibi bazen antijenik sürüklenme o kadar hızlı olur ki sadece infekte kişilerde etkili immün yanıt gelişmesini değil, aynı zamanda profilaktik aşı geliştirmek için yapılan girişimleri de geride bırakır (10). Genellikle viral RNA kopyalarının düzeltme kapasitesi yoktur ve özellikle immün sistemden kaçacak varyantlar geliştirir. Hatta DNA virusları bile önemli seviyede mutasyonal sürüklenmeye uğrayarak immün seleksiyona uğrayabilir. Örneğin tek iplikli DNA virusu RNA virusları ile rekabet edebilecek mutasyon sıklığı gösterebilir (14). Çift iplikli DNA virusu olan CMV doğal immun sistemin NK hücrelerinden kaçabilecek ürünler oluşturabilir (15).

Birçok virus aktive fagositler tarafından üretilen reaktif oksijen radikalleri ve nitrik oksidin antimikrobiyal özelliklerine karşı gelişmiş savunma mekanizmalarına sahiptir. Bazı durumlarda virus infeksiyonları iNOS sentezini indüklerken, bazıları iNOS indüksiyonunu engel olacak stratejiler geliştirirler. Birçok virus anti interferon stratejilerinin bir komponenti olarak iNOS genini direkt modüle ederler. Böylece tip I interferon indüksiyonunu bloke eden viruslar, aynı zamanda iNOS gen ekspresyonunu da represe ederler. Bununla birlikte iNOS'u indükleyen viruslar patogenezini veya yayılma stratejilerini artırmak için NO'nun proinflamatuar ve immunoregulatuar özelliklerini kullanırlar (10). Bazı durumlarda virusların fagosit aktivasyonunu direkt etkileyecek modulatuar proteinler eksprese ettikleri gösterilmiştir. Örneğin herpes ve pox virusları CD200'ü taklit eden yüzey proteinleri ekprese ederler (16).

Komplement sistemi konağın önemli savunma sistemlerinden biridir. Birçok herpes ve pox virus klasik ve alternatif yolağı bloke eden protein eksprese eder. Ayrıca viruslar sitokin ve kemokinleri inhibe ederek de immun sistemi etkileyebilirler.

Organizmaların yeni çevreye adaptasyonlarının ilk sonuçlarından birisi kaynakların idare edilmesidir. Bu bakımdan mikroplar ile konak arasındaki ilişki kaynak kullanımının güzel bir örneğidir. Konak ve mikoplar, organizmalarının bütünlüğünü korumak için savunma mekanizmalarını evrimsel olarak geliştirmek zorundadırlar. Aynı zamanda yeni görevlerine de adapte olmak zorundadırlar. Aksi halde hiçbir simbiyotik ilişki daha fazla devam edemez.

Kaynaklar

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiyoloji Bilimi. In: Yenen OŞ, editor(s). Jawetz, Melnick ve Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri; 2010. p. 1-7.

2. Yang L, Rau MH, Yang L, Hoiby N, Molin S, Jelsbak L. Bacterial adaptation during chronic infection revealed by independent component analysis of transcriptomic data. BMC Microbiology. 2011;11(1):184.
3. Ulvestad E. Cooperation and conflict in host-microbe relations. APMIS. 2009;117(5-6):311-22.
4. Hoption Cann S a, Netten JP van, Netten C van, Glover DW. Spontaneous regression: a hidden treasure buried in time. Med Hypotheses. 2002;58(2):115-9.
5. Lockyer C. BCG immunotherapy for superficial bladder cancer. J R Soc Med. 2001;(94):119-123.
6. Dobrindt U, Zdziarski J, Salvador E, Hacker J. Bacterial genome plasticity and its impact on adaptation during persistent infection. Int J Med Microbiol. 2010;300(6):363-6.
7. Yang L, Jelsbak L, Molin S. Microbial ecology and adaptation in cystic fibrosis airways. Environ Microbiol. 2011;13(7):1682-9.
8. Ferrero RL, Jenks PJ. In vivo adaptation to the host. In: Helicobacter pylori: physiology and genetics. American Society for Microbiology, Washington, DC. 2001. p. 583–592.
9. Oh JD, Kling-Bäckhed H, Giannakis M, Xu J, Fulton RS, Fulton L a, Cordum HS, Wang C, Elliott G, Edwards J, Mardis ER, Engstrand LG, Gordon JI. The complete genome sequence of a chronic atrophic gastritis Helicobacter pylori strain: evolution during disease progression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(26):9999-10004.
10. Finlay BB, McFadden G. Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. Cell. 2006;124(4):767-82.
11. Portnoy D a. Manipulation of innate immunity by bacterial pathogens. Curr Opin Immunol. 2005;17(1):25-8.
12. Hornef MW, Wick MJ, Rhen M, Normark S. Bacterial strategies for overcoming host innate and adaptive immune responses. Nat Immunol. 2002;3(11):1033-40.
13. Agudelo-Romero P, Carbonell P, Perez Amador M a, Elena SF. Virus adaptation by manipulation of host's gene expression. PLoS One. 2008; 3(6): e2397.
14. Shackelton LA, Parrish CR, Truyen U, Holmes EC. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102:379-84.
15. French AR, Pingel JT, Wagner M, Bubic I, Yang L, Kim S, Koszinowski U, Jonjic S, Yokoyama WM. Escape of mutant double-stranded DNA virus from innate immun control. Immunity. 2004;20:747-56.
16. Foster-Cuevas M, Wright GJ, Puklavec MJ, Brown MH, Barclay AN. Human herpesvirus 8 K14 protein mimics CD200 in down-regulating macrophage activation through CD200 receptor. J. Virol. 2004;78: 7667-76.

MİKROPLAR VE KONAK ADAPTASYONU: SAVAŞAMIYORSAN ANLAŞ MANTAR VE PARAZİTLERDE ADAPTASYON

Fadile YILDIZ ZEYREK
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Şanlıurfa

Yaşam bilimlerinin en büyük zorluklarından biri evrimsel süreçlerle ilgili bilgi edinmektir. Ekoloji, Genetik ve Biyoloji nesiller boyunca konak parazit ilişkilerinin evrimini karakterize eden üç esas parametre olmuştur. Formüle edemediğimiz ya da mekanizmalarını tam olarak tanımlayamadığımız parazitler ve patojenler (simbiyotik organizmalar) evrimin en büyük bileşenleridir. Simbiyotik yaşamın evrimsel dinamikler içinde neden bu kadar önemli bir yer tuttuğu en önemli sorudur.

1. Tüm yaşayan türler (insan dahil) parazitizmin içinde ya parazit ya da konak olarak yer almak zorundadırlar.
2. Parazitizm belkide türler arası en özelleşmiş ilişkidir, parazit ve konağı arasında güçlü genetik etkileşimler meydana gelir ve buda taraflar arasında birlikte-adaptasyona yol açar.
3. Parazitizm doğal popülasyonları sınırlayan en önemli faktördür. Bu yüzden ekosistem dengesinde önemli bir rol oynar.

Parazitler ve konakları birlikte evrimleşme geçirirler, parazit konağın ona karşı oluşturduğu silahlardan kaçmak için sürekli evrimleşirken konak da bu değişikliklere adapte olmak zorundadır. Parazit konağın cevabını kontrol edebilir, ancak buna rağmen, konağın yaşamasına ve diğer enfeksiyonlarla mücadele etmesine izin verir. Gerçekte bu parazit için yaşamsal bir kuraldır.

İmmunoloji enfeksiyöz ajanlara karşı vücudun cevabının araştırılması, incelenmesiyle ilgilenir, ancak henüz bu hikayenin yarısı prokaryot mikroplar ile yapılmış çalışmalardan elde edilmiştir. Ökaryot patojenler (protozoa, hemint, mantar ve ektoparazitler) hayatlarının bir kısmını ya da tamamını bir konak içinde tamamlarlar ve immunitenin evrimi için gerekli bütün güçlü seçici güçlere sahiptirler.

Parazitlerin konak organizmada başarılı bir şekilde yaşayıp gelişmeleri veya çoğalabilmeleri, konak immün sisteminden kaçarak ortama adapte olabilmelerine bağlıdır, buna ek olarak bağışık yanıtı baskılamak için etkin mekanizmalar geliştirmişlerdir. Konakta sürekli artan karmaşık immun yanıtlar ve parazitin buna karşılık geliştirdiği stratejiler konak veya parazit kazanıncaya kadar devam eden zorlu bir mücadeledir.

Parazitlerde Adaptasyon

Dünya nüfusunun yarısını etkileyen parazitler daha çok gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanları etkiler. Ancak son zamanlarda organ transplantasyonu vb gibi nedenlerle immünsupresif tedavi alanların artması, HIV enfeksiyonunun yayılması ile gelişmiş ülkelerin de sorunu haline gelmiştir. Paraziter hastalıkların hemen tamamı bir bağışık yanıt meydana getirir. Bu yanıt kimi zaman koruyucu olduğu gibi kimi zamanda patolojik değişiklikler yaparak konakta ciddi hasarlar oluşturabilmektedir.

Konaklar parazitler için geçici yerleşim yerleridir, bir konaktan diğerine etkili geçiş parazit genlerinin hayatta kalmaları için olmazsa olmazdır. Konak içinde aşırı çoğalmanın bir yararı da diğer konaklara ulaşabilecek parazitin sayısının artmasıdır. Eğer aşırı üreme sonucunda konak olumsuz etkilenir ve hareketsiz kalır ya da ölürse, parazitin diğer konaklara geçme şansı oldukça azalacaktır. Bu durumda parazit için esas soru şu olacaktır: aşırı üremeden maksimum faydalanmak ve bu konağa bağlı faktörlerden kurtulabilmek için ne yapmalıdır. Eğer parazit bir vektörle bulaşırsa bu sorunun üstesinden gelmiş olacaktır. Yaygın bir iddiaya göre hastalık seyri ile konak ve patojen arasındaki adaptasyon ters orantılıdır. Şiddetli hastalık parazitin konağa adaptasyonunu güçleştirir. Çünkü konağına zarar vermeyen (öldürmeyen) parazit uzun süre yaşama şansı kazanır. Konak ve parazit arasında, bir süre sonunda birlikte varlıklarını sürdürebilecekleri barışçıl bir düzen kurulur. Diğer bir deyişle kommensalizmin hem konak hem parazit için ideal bir evrimsel bitiş noktası olduğuna inanılır. Üretkenliği fazla olan parazitler, duyarlı konağa düşük olanlara göre daha çabuk ulaşırlar ve ikinci girişi engellemek için bir immün cevap oluştururlar. Bu yarış enfekte konak içinde gelişebilir ve sonuçta daha fazla üretken olan genlerin aktarımıyla sonuçlanır. Bu sırada oluşacak güçlü bir immun yanıt veya konağın ölümü rakibin aktarım şansını azaltır ya da yok eder.

Tüm patojenler gibi parazitler de hem humoral hem hücresel immünite yoluyla savunma mekanizmalarını harekete geçirirler. Oluşan yanıtın etkinliği patojenin ve oluşturduğu hastalığın evresi ve türüne göre değişiklik gösterir. Parazitler kompleks yapıdadırlar, vücudun değişik bölgelerine yerleşirler ve farklı konaklarda geçirdikleri farklı evrelere sahip bir yaşam döngüleri vardır. Bununla birlikte konakta kendilerine karşı gelişen immün yanıtı baskılamak için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Çok uzun süreli ve kronik seyirli olan paraziter hastalıklar konakta immüno-patolojik değişikliklere neden olmakta zaman zamanda immün baskılanma ortaya çıkmaktadır. İmmün baskılanma nedeniyle uzun yıllar parazitlere karşı herhangi bir bağışık yanıtın gelişmediği düşünülmüştür.

Parazit açısından bakıldığında, mikroplar aynı esnada konağın zarar görmesini geciktirmek veya önlemekle birlikte konağın immun yanıtından kaçmak ve hayatlarını sürdürmek zorundadır. Parazitik bir enfeksiyonun devamı için patojeni tanıyan ve zarar verici konak cevabını sınırlayan, kontrollü bir immun yanıt gereklidir. Böylece parazitik enfeksiyon sırasında immun regülasyon, konağın immun yanıtının etkisini baskılayarak ortaya çıkabilir ya da bir hayatta kalma stratejisi olarak parazit tarafından aktif bir şekilde indüklenebilir. Parazit tarafından konak cevabının düzenlenmesi konağın doğal ve edinsel bağışık yanıtının karmaşık ayarı ile sağlanır. Bu süreç homeostatiğin devamlılığını korumaya meyillidir. Parazitler bunu yapmak için karmaşık ve gereğinden fazla stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlar, antijenik çeşitlilik ile hücresel ve humoral immuniteden kaçış, antijen işleme ya da

sunumunun engellenmesi ve doğumsal bağışıklık hücreleri tarafından öldürülme ve fagositozun bozulması gibi farklı birçok mekanizmayı içermektedir. Homeostatik koşulları oluşturmak ya da korumak konusundaki başarısızlık genellikle hastalığa neden olur. Son çalışmalar T regülatör (Treg) hücrelerinin bu homeostatik düzenin bir parçası olduğunu göstermiştir.

Protozoonlar kan akımı ya da dokuya girdiklerinde sıklıkla konağın doğal direncine uyum sağlayarak orada yaşar ve çoğalırlar. Patojen ile immün sistemin etkileşimi, mikrobu yok etmeyi amaçlamış konak savunması ile güçlü efektör mekanizmalar karşısında mikrobu yaşatmaya çalışan mikrobiyal stratejiler arasında süregelen dinamik bir etkileşimdir. Doğal bağışıklığın onlara karşı zayıf olması ve spesifik immüniteye direnç geliştirebilmesi ve çok sayıda kaçış mekanizmalarına sahip olmaları nedeniyle, protozoonlar kronik ve inatçı enfeksiyonlara neden olurlar.

Protozoonlar biyokimyasal ve yapısal özellikleri bakımından farklılıklar gösterirler ve kendilerine karşı farklı immün yanıt oluştururlar, aynı zamanda her biri kendine spesifik bir kaçış mekanizmasına sahiptir. Makrofajlar tarafından fagosite edilebilirler ancak çoğu, fagosit içindeki öldürme mekanizmalarına dirençlidir, hatta burada yaşamlarını devam ettirip çoğalabilirler. T.brucei gambiense hücre dışı yerleşiminden dolayı, protozoonların içinde humoral cevabı indükleyen en iyi örnektir. Leishmania enfeksiyonlarında hücresel savunma mekanizmaları CD+ T lenfositlere bağlıdır ve Th1 sitokinlerle düzenlenen makrofajları aktive eder. Plasmodium sp. antijen ve lokalizasyonuna bağlı olarak kendine karşı hücresel ya da humoral savunma mekanizmaları geliştirebilir. Protozoonlar insanda çok sayıda farklı immün mekanizmaları aktive edebilirler. Evrim, ilerleme ve hastalığın ortaya çıkması bu mekanizmalara bağlıdır. Sıklıkla ölüme yol açan protozoonların oluşturduğu akut enfeksiyonlara ve onların meydana getirdiği inflamatuar yanıta yoğunlaşılmıştır. Oysa helmintler gibi uzun ömürlü parazitler, kendilerini eliminasyondan korumak ve şiddetli patolojiyi en aza indirmek için konak imunitesini çok daha belirgin olarak baskılarlar.

Birçok helmintin karmaşık birden fazla konağa ihtiyaç duyan çok evreli bir hayat döngüleri vardır. Kesin konakları içinde belirgin bir büyüme ve nihai amacı bundan sonraki konağa geçmeye yönelik olan üreme evrelerinin farklılaşması gerçekleşir. Genellikle memeli konağı enfekte eden yaşam evresi larvadır ve larva konak içinde göç etme ve kendine büyüme ve çoğalma için uygun yeri bulmak, yavruların ise bu konaktan ayrılarak yeni konağa geçmek için gerekli yolları bulması zorunludur. Bu döngünün yolu ve yöntemi helmintler arasında değişiklikler göstermesine rağmen, bu kompleks organizmalara konağın immun cevabının büyük bir kısmı benzerdir. Özellikle helmintlerle savaşta özelleşmiş Tip2 bağışıklık yanıtı, hem doğal (eozinofil ve bazofiller) hem de edinsel (Th2 yoluna gidişi sağlayacak CD+ T hücreler) bağışıklık sistemini kapsamaktadır. Th2 yanıtı ile birlikte IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 ve IL-13 üretimi ve sonuçta güçlü bir IgE, eozinofil gelişimi ve mast hücre yanıtı ile karakterizedir. Tip2 bağışıklık yanıttaki her iki sistem temelde tip2 sitokini IL-4'ün üretilmesinde rol alırlar. IL-4 IgE üretimi, eozinofili gibi helmint enfeksiyonlarındaki semptomlara yol açan fizyolojik değişikliklerde rol alır.

Birçok helmint çok uzun süre yaşar ve kronik enfeksiyonlara neden olur. Bu süre içinde gelişen immun yanıt sıklıkla patolojik değişikliklere neden olur. Bunun iyi çalışılmış, bilinen bir örneği Schistosoma yumurtalarına karşı oluşan granülomatöz reaksiyonlardır. Erişkin Schistosoma mansoni parazitleri portal venler içinde yaşarlar ve dişiler burada yumurtlarlar. Yumurtalar barsak lümeni içinde bağırsak duvarı boyunca ilerler ve oradan konak dışına atılır. Ancak bazen kan akımının karaciğere doğru olması nedeniyle birkaç yumurta bu organa gelir ve burada sinüzoidler içinde yerleşir. Yumurtadan salınan antijenler KC de granülomatöz lezyonların gelişimini düzenleyen, belirgin bir Th2 yanıtını indükler. Bu lezyonların konak-koruyucu olduğu deney hayvanlarında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. CD4 hücre eksikliği olan enfekte farelerin granülom yapma yeteneklerinin olmadığı ve sonuçta bazı yumurta proteinlerinin hepatositler üzerindeki toksik etkisine bağlı olarak öldükleri görülmüştür. Yumurta granülom ile çevrildiğinde esas olarak hepatik dokudan ayrılmış olur ve böylelikle karaciğer fonksiyonlarının devam etmesi sağlanmış olur. Uzun vadede granülomun çözülmesi, yumurtanın ölmesi gibi durumlarda, fibrosis gelişebilir. Bu artmış portal kan basıncına ve portal varislerin gelişmesine neden olur. Varislerin kanaması Schistosoma'ya bağlı ölümlerin en sık nedenidir. Yapılan çalışmalarda IL-13'ün fibrosis gelişminde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. IL-13 reseptörü ile tedavi ya da enfeksiyon öncesi yumurta antijeni immünizasyonu ile birlikte IL-12 verilmesinin Th1 yanıtını indüklediği IL-13 üretimini azalttığı ve belirgin olarak fibrosis ve hastalıkta iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir.

Kronik helmint enfeksiyonlarında konak immün cevabı duruma uyum sağlayacak şekilde düzenlenir. Th2 yanıtının immünopatolojide rolünün yanı sıra, konağın süperenfeksiyonlarından korunması ve enfeksiyon ile birlikte yaşamını devam ettirebilmesinde de önemli rol alır. Yapılan araştırmalarda IL-4 ve IL-10 gibi Th2 sitokinlerin akut hastalığın şiddetini azalttığı ve konağın yaşamını devam ettirmesinde önemli rol oynadığını gösteren veriler elde edilmiştir. Schistosoma enfeksiyonlarında IL-13 ile birlikte IL-4 yokluğunda farelerin enfeksiyonu çok daha şiddetli geçirdikleri görülmüştür. Helmint enfeksiyonlarında özellikle IL-10'nun Th1 ve Th2 yanıtının şiddetini, daha doğru bir deyişle iki yanıt arasındaki dengenin sağlanmasında düzenleyici rolünün olduğu belirtilmiştir. Bu düzenleme özellikle immünopatolojinin sınırlanması ve aşırı üretilen IgE nedeniyle gelişmesi beklenen alerji benzeri semptomların baskılanmasında önemli rol oynar.

Parazitler konak içinde çok büyük miktarlarda antijen sunmalarına rağmen, milyonlarca yıllık evrim sırasında kazanılmış konağın immün ve inflamatuar cevabından çeşitli kaçış mekanizmaları yoluyla konak içinde uzun süre yaşamayı başarır. Parazitler konağın immün sisteminden kaçarak ortama adapte olabilirse, konak içinde uzun yaşayabilir ve çoğalır. Bunun için oldukça başarılı stratejiler geliştirmiştir.

Parazitlerin immün sistemden kaçış mekanizmaları:

Anatomik olarak yerleşim yerleri. Plasmodium sp, Toxoplasma gondii gibi protozoonlar hücre içinde yaşar ve çoğalırlar, böylelikle immün cevaptan kaçarlar. Entamoeba ve Trichinella kistler içerisinde yaşayarak, bazı helmintler bağırsak lümeni içerisinde, Fasciola gibi türlerde immünolojik yönden ayrıcalıklı bir bölge olan safra kanallarında yerleşerek immün sistemin yıkıcı etkilerinden kaçarlar.
Antijenik çeşitlilik. Parazitlerin birçoğu farklı gelişim evrelerinde farklı antijenik özellik gösterirler, yani antijenik yapılarını değiştirirler. Parazit immün sistemin tanıdığı antijenden farklı bir antijen eksprese ettiğinde immün sistemin hedefi olmaktan kurtulur. Plasmodium'ların sporozoit dönemlerindeki antijenik yapıları merozoit dönemlerinden farklılık gösterir. Antijenik varyasyon en çok P.falciparum'da görülmekle beraber P.vivax enfeksiyonlarında da benzer durum söz konusudur. Trypanosoma türleri gibi bazı parazitler yüzey antijenlerini sürekli olarak değiştirirler. Kan dolaşımında hücre dışında yaşayan bu parazitler zaman zaman parazitemi fazı yaparlar. Parazit sayısının çok arttığı bu dönemlerde parazitin antijenik olarak farklı yüzey örtüsüne sahip olduğu saptanmıştır. Her parazitemi döneminde oluşan bu farklı antijenik özellikteki paraziti immün sistemin yeniden tanıması ve ona karşı antikor üretmesi gerekmektedir.
Antijenik maskeleme. Bazı parazitler konak proteinleri ile kendi yüzeylerini kaplayarak, konağın onu antijen olarak tanımasını engelleyerek immün sistemden kaçar. Schistosoma gibi trematodlar konağa ait MHC moleküllerini, ABO kan grubu glikolipidlerini ve kompleman aktivasyonunu önleyen sitokinler gibi molekülleri yüzeylerine absorbe ederek kendilerini saklarlar. Schistosoma'ların konak içerisinde 30-40 yıl gibi oldukça uzun süreler yaşadıkları düşünülürse kaçış yöntemleri konusunda oldukça başarılı oldukları rahatlıkla söylenebilir.
Konak immün sistemine direnç geliştirme. Parazitin tegümental yüzeyi güçlü bir antijenik yapıya sahiptir ve konak parazit ilişkisinde önemli bir yeri vardır. Tegümental yüzey örtüsü "glikokaliks" olarak da tanımlanır. Schistosoma yüzeyinde meydana gelen biyokimyasal olaylar sonucunda konak immün sistem hücrelerine karşı direnç geliştirir. Fasciola hepatica konaktaki gelişimi sırasında glikokaliks bileşimini sürekli değiştirerek direnç geliştirir. Trypanosoma cruzi, Leishmania promastigotları, T.gondii, E. histolytica gibi parazitlerde bu yolu kullanarak immün sistemden kaçarlar.
Antijenik yapılarını spontan ya da antikorla bağlandıktan sonra atarak. E. histolytica, Schistosoma, Trypanosoma gibi bazı parazitler antikorla bağlanmış antijenlerini, Fasciola'da glikokaliksini sürekli ve düzenli bir biçimde sıyırıp atarak immün sistemden kaçarlar.
Farklı mekanizmalarla immün yanıtı değiştirme. Antijen sunma: Plasmodium, Leishmania ve Schistosoma' lar çeşitli yollarla antijen sunumunu inhibe etmektedirler. Trypanosoma, Toxoplasma, Entamoeba gibi protozoonlar sitokin üretiminde anormallik, T hücre aktivasyonunda eksiklik gibi yollarla immünsüpresyon yaparak konak cevabında değişikliğe yol açarlar. Makrofajlar üzerine etkiler: Parazitler antioksidanlar ve diğer detoksifiye edici moleküller salgılayarak immün sistemin toksik moleküllerini nötralize edebilirler.

Mantarlarda Adaptasyon

Mantarlar klorofilleri olmayan, küf ve maya dâhil çok çeşitli morfolojik şekiller gösterebilen parazitik çekirdekli organizmalardır. Mayalar tek hücreli oval veya yuvarlak, küfler ise çok hücreli hif olarak adlandırılan uzun tubuler yapılara sahiptir. Dimorfik mantarlar ise içinde bulundukları çevre koşulları ve konak immün sistemi ile etkileşimlerine göre maya ya da küf formunda olabilirler. 100.000'nin üzerinde mantar türü vardır bunlardan çok azının insanlarda hastalık oluşturduğu bilinmektedir. Bu patojenler çoğunlukla fırsatçıdırlar ve bağışıklık sisteminin zayıflamasıyla ortaya çıkarlar. Mantar hastalıkları yirminci yüzyılın ikinci yarısında tehlikeli bir biçimde artış göstermiştir. Bunun nedeni HIV ile enfekte kişiler, transplantasyon alıcıları ve kanserli hastalar gibi bağışıklık sistemi baskılanmış populasyonda artış olmasıdır. Mantar enfeksiyonlarına bağlı ölüm oranlarının birçok çalışmada %50'nin üzerinde olduğu rapor edilmiştir. Özellikle Aspergillus türleri ile enfekte kemik iliği taransplantı yapılmış kişilerde bu oranın %95 gibi oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir.
İnsanlarda mantar invazyonuna karşı yaygın güçlü bir konak savunması vardır. Çoğu mantar enfeksiyonu bu savunma mekanizmalarından biri ya da daha fazlasının eksik olduğu kişilerde görülür. Bağışık yanıt, karşılaşılan mantar türüne ve morfolojisine göre değişiklik gösterir. Konak cevabın belirlenmesinde mantarın morfolojisinin büyük önemi vardır. Mayalar ve sporlar etkili bir şekilde fagosite edilirken, hifler büyük boyutları nedeniyle sindirimi engellemektedir. Farklı morfolojik durumlara karşı doğal ve edinsel immün cevaptaki bu farlılıklar kısmen mantar hücre duvarı bileşimindeki farklılıkları yansıtmaktadır. Mantar hücrelerinin kitin, mannan ve glukan içeren sert bir hücre duvarı vardır. Bu duvar mantarları özellikle kompleman aracılı lizis gibi bazı konak savunmasına karşı dirençli kılar. Ve invaziv tehditin şiddetini ve inflamasyon nedeniyle oluşacak aşırı doku hasarı riskini tolere edebilecek bir konak adaptasyonununa yol açar.
Mantar enfeksiyonlarına karşı konak savunması entegre bir immün cevaba dayanır. Savunma mekanizmalarının bazıları ortak hareket ederler. Başlangıçta patojenin tanınmasında mononükleer sistem en etkili rolü oynar. Nötrofiller, makrofajlar ve monositler temel olarak önemli antifungal etkili hücrelerdir. Bunun yanında sitokin, kemokin ve tamamlayıcı komponentler gibi inflamatuar sinyallerin tümü mantar enfeksiyonları ile savaşta önemlidir. Hücresel bağışıklık mantar enfeksiyonlarına karşı başlıca savunma mekanizmasıdır. Mantarlar kendilerine karşı spesifik antikor yanıtı oluştururlar. Ancak humoral bağışıklığın koruyucu etkinliği kanıtlanmamıştır.

Doğal bağışık yanıt

Doğal immün yanıt mantarın memeli konak içerisinde büyümesini ve invazyonunu sınırlar. Bu süreçteki ilk adım efektör hücrelerde bulunan reseptörler tarafından mantarın tanınmasıdır. Doğal immün yanıt b-glucan reseptörleri, mannoz reseptörleri ve TLRs dahil mantar hücre duvarı komponentlerini tanıma ve cevap verme özelliğindedir. Son

çalışmalar spesifik konak reseptörlerinin mantarlar için özel olan ligandları tanıdığı ve sinyalizasyon dizisini aktive ederek, mantarın fagositozuna, proinflamatuar üretimine, reaktif oksijen oluşumuna, inflamatuar hücrelerin enfeksiyon bölgesine gidiş gelişine ve edinsel immün cevabın başlamasına yol açtığını göstermiştir. Mantarlar reaktif oksijen salınımı ve/veya üretimi ile harap edilir ya da öldürülür. Mantarlara karşı doğal bağışıklığın temel aracı nötrofillerdir. Nötrofiller reaktif oksijen türleri ve lizozim enzimleri gibi fungisit ürünleri salgılarlar aynı zamanda fagosite ederler.

Memelilerde, mantarlara karşı doğal bağışık yanıt , hücreler, hücresel reseptörler ve birkaç sıvısal faktör aracılıdır. Nötrofil, mononükleer lökositler (monosit ve makrofaj) ve dentritik hücrelerden oluşan profesyonel fagositler önemli bir role sahiptir. Doğal yanıtın başlıca iki amacı vardır: Birincisi, ya intrasellüler mantara karşı derhal doğal yanıt sağlayan bir fagositik süreç ile, ya da sindirilemeyen mantar elemanlarına karşı mikrobisidal bileşenlerin salınımı yoluyla patojen yıkımı yaparak direk antifungal efektör aktivasyonu yapar. İkincisi kemokin ve sitokin gibi proinflamatuar mediatorlerin üretimi, fagositik hücreler tarafından eş-uyarıcı aktivitenin indüksiyonu ve antijen alımı ve sunumu yoluyla edinsel immün sistemin hücreleri üzerinde bir yol gösterici rol oynar.

Edinsel bağışık yanıt

CD+T lenfositler mantar enfeksiyonlarına karşı önemli bir koruyucu rol oynarlar. Bazı mantarlar enfeksiyonları sırasında T hücre cevabını değiştirme kapasitesine sahiptir. Bu süreç mantarın kalıcılığı için uygun koşullar yaratabilir. Örneğin C.neoformans melanin üretir ve melanin-üreten suşlar üretmeyenlerden daha çok IL-4 ortaya çıkarır. Böylece melanin üretimi Th1 ve Th2 temelinde olan immun cevabın indüklemesi ile sınırlanan in vivo yaşamı uzatır.

IFN-g reseptör eksikliği olan fareler pulmoner kriptokokosise çok daha duyarlıdır ve akciğerdeki mantar yükünün artması ve beyine yayılımı ile sonuçlanır. IFN-g eksikliği olan farelerde Th1 farklılaşması ve Th2 cevabının gelişmesi eksiktir. Bu sonuçlar kriptokok enfeksiyonunda Th1 cevabının koruyucu rolü olduğunu göstermektedir.

Sitokin ve kemokinlerin antifungal immünitede rolü

Mantar enfeksiyonlarına Th1 cevabı, TNF, IL-12 ve IFN-g üretimi ile karakterizedir ve koruyucudur. Oysa IL-4, IL-6 ve IL-13 üretimi ile karakterize Th2 cevabı uyumsuz ve zarar vericidir. Ancak Th1 cevabı gereksiz doku hasarına yol açar ve etkileri eşzamanlı olarak yükselen Th2 sitokinleri ile dengelenir. Kontrolsüz Th2 cevabı kronik enfeksiyona ya da alerjik cevaba neden olur. IL-4 ve IL-13'ün alerjik bronkopulmoner mikozda önemli patojenik rolleri vardır. Farelerde yapılan bir çalışmada IL-4 üretiminin Aspergillosis ve Kandidiasis ile ilişkili olduğu bulunmuştur ve Th1 sitokinlerin üretiminin arttırılması ile korunma sağlanmıştır. Anti-TNF tedavisi alan hastaların invaziv Histoplasmosis, Kandidiasis ve Aspergillosise duyarlılığı artmıştır. Pulmoner Kriptokok enfeksiyonunun erken doğal bağışık yanıt sırasında TNF üretimi fungal büyümenin uzun dönem kontrolü için esastır. Cytokine transforming growth factor (TGF) fagositoz ve oksidatif patlama gibi makrofaj fonksiyonlarını inhibe eder. Dışarıdan TGF uygulanması ile mantar enfeksiyonlarının şiddetlenmesi beklenir.

Dendritik hücreler mikroorganizmalara karşı doğal ve edinsel bağışıklığı başlatırlar ve bunları birbirine bağlayan bir aracı rol üstlenirler. Dendritik hücreler tarafından iletilen sinyaller karşılaşılan mantara ya da morfolojisine bağlı olarak ortaya çıkarılan edinsel immün yanıtın doğasında farklılıklarla sonuçlanan değişiklikler gösterebilir. CD+T hücreleri Th hücrelerinin Th1 (tip1) ya da Th2 (tip2) olarak farklılaşması ve spesifik Th cevabının gelişimi, konağın invaziv mantar enfeksiyonlarına karşı duyarlı ya da dirençli olmasında önemli bir belirleyicidir. Th1 sitokinlerinin Th2 sitokinler üzerinde baskın olması çeşitli mikozlara karşı koruyucudur.

Mantarların immün sistemden kaçış mekanizmaları

Patojen mantarlar konak savunmasını alt etmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bazı mantarlar intrasellüler parazitler olarak yaşayabilir, böylelikle konağın öldürme mekanizmalarından kaçarak konak içinde kolaylıkla yayılabilirler. Konak immünitesinden kaçış mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir. Birçok mantar hayatı boyunca farklı evrelerde farklı formlarda görülürek, savunma mekanizmalarından kaçmak için fırsatlar yaratabilirler. Bazı mantarların hücre duvarı ve membranlarında patojenle ilişkili moleküler kalıplar (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs,) eksikliği ve patern tanıyan reseptörler (pattern recognition receptors, PRR) aracılı tanımanın ya da komplemen aracılı lizisin başlatılmasını sağlayan diğer bazı yapı elamanları eksiktir. Birçok mantar toksin ve immün süpresif etki yapan bazı moleküller üretir. Bu moleküllerin bazıları immünitede Th1 cevabının baskılanıp etkisiz bir Th2 cevabına dönüştürülmesini teşvik eder. Diğer moleküller aktive edilen T ve B hücre farklılaşması için gerekli genlerin transkripsiyonunu inhibe eder. Bazı moleküller lenfosit proliferasyonunu ya da makrofaj sitokin üretimini baskılar. C.neoformans'ın kapsülündeki bir polisakkarit monosit/makrofaj tarafından üretilen IL-12'yi bloke eder makrofaj ve aktive Treg'lerin salgıladığı B7'yi azaltır (Tablo 1).

Mayalar fagozom-lizozim birleşmesini, fagozom pH'sının düzenlenmesini, demir kısıtlanması, solunumun baskılanması ve proinflamatuar sitokinlerin üretimini bozarak konak makrofajlarında yaşar ve çoğalırlar.

Tablo 1. Mantarların immun sistemden kaçış mekanizmaları

Bozulan immün mekanizma	**Fungal mekanizma**
PRR tanıma	Hücre duvarında peptidoglikan veya LPS yokluğu
Antikor	Farklı ve çok aşamalı hayat siklusu
Kompleman	Hücre membranına girişi engelleyen bir hücre duvarına sahip olma
Fagositoz	Fagositozu önleyen kapsül
Makrofaj	Sitokin üretimini ve B7 salınımını baskılayan moleküller salgılama
T hücre	Th1 cevabından daha çok etkisiz Th2 cevabını tetikleyen moleküllerin salgılanması T hücre farklılaşması ve çoğalmasını önleyen moleküller salgılanması Treg lerin aktivasyonu

Kaynaklar

1. Ewald PW. Host-Parasite Relations, Vectors, And The Evolution Of Disease Severity, Ann Rev Ecol Syst, 1983, 14:465-85.
2. MacDonald AS, Araujo MI, Pearce EJ. Immunology of Parasitic Helminth Infections, Infect and Immun, 2002, 70: 427–433.
3. Maizels RM. Parasite immunomodulation and polymorphisms of the immune system, J Biol 2009, 8:6
4. Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. Nat Rev Immunol. 2003, 3(9):733-44.
5. MacDonald AS, Araujo M I, Pearce EJ. Immunology of Parasitic Helminth Infections, Infect Immun, 2002: 427–433.
6. Schmid-Hempel P. Immune defence, parasite evasion strategies and their relevance for 'macroscopic phenomena' such as virulence, Phil. Trans. R. Soc. B, 2009, 364, 85-98.
7. Belkaid Y, Sun CM, Bouladoux N. Parasites and immunoregulatory T cells, Curr Opin in Immunol, 2006, 18:406–412.
8. Güngör Ç, Korkmaz M, Ergüven S. Parazitler Ve İmmün Yanıt Turkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics 2008;1(2):42-52
9. Zeyrek FY, Kurcer MA, Zeyrek D, Simsek Z. Parasite density and serum cytokine levels in Plasmodium vivax malaria in Turkey. Parasite Immunol. 2006, 28(5):201-7.
10. Zeyrek FY, Babaoglu A, Demirel S, Erdogan DD, Ak M, Korkmaz M, Coban C. Analysis of naturally acquired antibody responses to the 19-kd C-terminal region of merozoite surface protein-1 of Plasmodium vivax from individuals in Sanliurfa, Turkey. Am J Trop Med Hyg. 2008, 78(5):729-32.
11. Zeyrek FY, Tachibana S, Yuksel F, Doni N, Palacpac N, Arisue N, Horii T, Coban C, Tanabe K. Limited polymorphism of the Plasmodium vivax merozoite surface protein 1 gene in isolates from Turkey. Am J Trop Med Hyg. 2010, 83(6):1230-7.
12. Ewald PW. Host-Parasite Relatıons, Vectors, And The Evolution Of Disease Severity, Ann Rev Ecol Syst, 1983, 14:465-85
13. Romani L. Immunity To Fungal Infections, Nature Reviews Immunology, 2004, 4:1-13
14. Hohl TM, Rivera A, Pamer EG, Immunity to fungi, Curr Opin Immunol, 2006, 18:465–472
15. Mitchell AP. Host–microbe interactions: fungi, Curr Opin Microbiol 2006, 9:331–332.
16. Norton Rossmann S, Cernoch PL, Davis JR. Dematiaceous Fungi Are an Increasing Cause of Human Disease, Clin Infect Dis, 1996, 22:73-80.
17. Shoham S, Levitz SM. The immune response to fungal infections, British J of Haematol, 2005, 129: 569–582.
18. Bowman BH, Taylor JW, White TJ. Molecular Evolution of the Fungi: Human Pathogens, Mol. Biol. Evol, 1992, 9(5):893-904.

MİKROBİYOLOJİ DÜNYASI (TIP, VETERİNER, FARMASÖTİK, ÇEVRE, SU, GIDA MİKROBİYOLOJİSİ) İLE İLETİŞİM: NE KADAR BAŞARILIYIZ, NELER YAPMALIYIZ;

Ahmet BAŞUSTAOĞLU
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Bakterileri, virüsleri, mantarları ve parazitleri inceleyen bilim alanına Mikrobiyoloji adı verilmekte ve yine bu organizmaları inceleyen bakteriyoloji, viroloji, mikoloji ve parazitoloji bilim dallarına ayrılmaktadır.

Mikrobiyoloji uygulandığı alana göre ayrıca Tıbbi Mikrobiyoloji, Su Mikrobiyolojisi, Toprak Mikrobiyolojisi, Gıda Mikrobiyolojisi, Tarım Mikrobiyolojisi, Sanayi Mikrobiyolojisi, Uzay Mikrobiyolojisi gibi uygulama alanlarına sahiptir. Bu alanların her biri ayrı ayrı uygulamalara sahip olmakla birlikte genel anlamda bakıldığında insan ve çevresini ilgilendiren alanları kapsamaktadır. Doğrudan veya dolaylı olarak insan sağlığını etkileyen sonuçlara sebep olmaktadır. Mikrobiyoloji dünyasını yukarıda bahsedilen alanların tamamını göz önüne alarak değerlendirdiğimizde Tıbbi Mikrobiyoloji bunun sadece %9-10'unu oluştururken diğer alanlar yaklaşık %90'ını içermektedir.

İnsan yaşamını çevresel faktörleri göz ardı ederek düzenlemek veya yönetmek mümkün değildir. Bu nedenle mikrobiyoloji dünyasında yer alan bu alanların birbirleri ile iletişim içerisinde olması kaçınılmazdır ve bir zorunluluktur. Çünkü sonuçta tüm uygulamalar doğrudan insan sağlığını üst seviyede tutmaya yönelik uygulamalardır.

Eğer bu alanlar birbirleri ile iletişim ve koordinasyon içerisinde çalışmaz ise sonuç tam bir felaketten öteye geçmeyecektir.

Bu uygulamalar içerisinde insan sağlığını etkileyen en önemli alan gıda mikrobiyolojisidir. Gıda mikrobiyolojisi gıdalarda bozulma ve sağlık riski oluşturan mikroorganizmalar, gıda koruma yöntemleri, fermentasyon ürünleri ve gıda güvenliği gibi konular ile ilgilenen bilim alanıdır. ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi' (CDC) nin bildirdiğine göre ABD de yılda yaklaşık 76 milyon gıda kaynaklı hastalık vakası meydana gelmekte ve bu vakalarda 325.000 kişi hastanelerde tedavi görmekte ve 5.000 kişi ölmektedir. Bu nedenle tüketilen gıdalar her açıdan (mikrobiyolojik, toksik, teratojenik, kanserojen vs. açıdan) güvenli olmak zorundadır.

Güvenli gıda; amaçlandığı biçimde hazırlandığında ve fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik özellikleri itibariyle tüketime uygun ve besin değerini kaybetmemiş gıda olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (FAO) Codeks Alimentarius Uzmanlar Komisyonu gıda güvenliğini; "*sağlıklı ve kusursuz gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların üretim, işleme, muhafaza, taşıma ve dağıtım aşamalarında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması*" olarak tanımlamışlardır. Diğer taraftan İnsanların yaşamak, fiziksel ve ussal gelişimlerini sağlamak için yeterli miktarda gıdayı alabilmeleri ve bu gıdaların sağlık yönünden güvenli olması, insan haklarının özünü oluşturur ve bu hak, Evrensel İnsan Hakları Bildirgesi'nde de yer almıştır. Ülkemizde de Gıda güvenliği, 5179 sayılı yasada "*gıdalarda olabilecek fiziksel, kimyasal, biyolojik ve her düzeyde türlü zararların bertaraf edilmesi için alınan önlemler bütünü*" olarak; Gıda hijyeni "*gıda maddelerinin sağlıklı olması için alınması gereken tüm önlemler*" olarak tanımlanmaktadır. Bu yasa, gıda, gıda ile temas eden madde ve malzeme ile yemlerin üretim, işleme ve dağıtımının tüm aşamalarını, bitki koruma ürünü ve veteriner tıbbî ürün kalıntıları ile diğer kalıntılar ve bulaşanların kontrollerini, salgın veya bulaşıcı hayvan hastalıkları, bitki ve bitkisel ürünlerdeki zararlı organizmalar ile mücadeleyi, çiftlik ve deney hayvanları ile ev ve süs hayvanlarının refahını, zooteknik konularını, veteriner sağlık ve bitki koruma ürünlerini, veteriner ve bitki sağlığı hizmetlerini, canlı hayvan ve ürünlerin ülkeye giriş ve çıkış işlemlerini ve bu konulara ilişkin resmî kontrolleri ve yaptırımları kapsamaktadır.

Yeni Türk Ceza Kanununda Madde 185 ve 186 ile "***i****çilecek sulara veya yenilecek veya içilecek veya kullanılacak veya tüketilecek her çeşit besin veya şeylere zehir katarak veya başka yollarla bunları bozarak kişilerin yaşamını ve sağlığını tehlikeye düşüren kimseye 2 yıldan 15 yıla dek hapis cezası verilir. Kişilerin yaşamını ve sağlığını tehlikeye sokacak biçimde bozulmuş, değiştirilmiş her tür yenilecek veya içilecek şeyleri veya ilâçları satan, sağlayan, bulunduran kimseye 1 yıldan 5 yıla dek hapis ve para cezası verilir.*" hükmü getirilerek kişilerin hakları yasal güvence altına alınmıştır.

Tüm yukarıda belirtilen noktalar göz önünde bulundurulduğunda "tarladan-çiftlikten çatala" kadar gıda üretiminin her noktasında bir takım meslek gruplarından kişilere sorumluluklar düşmektedir. Bunların başında Sağlık Bakanlığı ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığı gelmektedir. Veteriner Hekimler, Gıda Mühendisleri, Kimya Mühendisleri, Ziraat Mühendisleri ve Tıp Hekimleri bu süreçte yer alan meslek gruplarıdır.

Gıda sektöründe ürünlerin belli nitelik ölçütlerine göre üretilmesi ve bu niteliğin korunarak standartlaştırılması temel ilke olarak benimsenmiştir. Bu süreç gıda denetimi'dir. Türkiye'de gıda denetimi TSE standartlarını da içeren gıda mevzuatı çerçevesinde yürütülmektedir. Nitelik denetimi (kalite kontrolü) gıda endüstrisinin fiziksel olarak içine yerleştirilmeli ve üretim sürecinde de yapılmalıdır. Buna göre nitelik denetimi; üretim öncesinde, üretim sonrasında ve son üründe yürütülmelidir. Bu denetimler fiziksel, kimyasal (toksik) (hormon, yem katkı maddeleri, tarım ilaçları, GDO gibi), nutrisyonel ve mikrobiyolojik (bulaşıcı hastalıklar, antibiyotik içeriği gibi) açıdan yapılmalıdır. Konunun önemi özellikle bu noktadadır. Klinik açıdan önem arz eden ve sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin aynıları veya benzer kimyasal özelliklere sahip antibiyotikler hayvancılık sektöründe yoğun şekilde kullanılmaktadır. (363 antibiyotik, 145 antihelmintik, 83 ektoparaziter, 29 antiseptik, 81 dezenfektan) Bu antibiyotikler profilaktik, tedavi ve üreme artırıcı olarak kullanılmaktadır. Hangi amaçla kullanılırsa

kullanılsın (ki üreme artırıcı olarak kullanımları yasaklanmıştır) kesim öncesi kullanılan antibiyotikleri hayvanın vücudundan atılması için geçmesi gereken bir süre söz konusudur. Oysa bir çok üretici hayvanları enfekte olması riskini göze almayarak kesime kadar antibiyotikli yem uygulamasına devam etmektedirler. Bu yolla toplum farkında olmayarak düşük dozlarda da olsa antibiyotik almaktadır. Aynı zamanda hem hayvan populasyonunda hemde hayvan üreticileri ve toplumda dirençli bakteri taşıyıcılığı artmaktadır. ABD ve Avrupa Topluluğunda aşırı antibiyotik kullanımı ve artan kolonizasyon, VRE'lerin kinolon dirençli E.coli ve Campylobacter'lerin ortaya çıkmasında en önemli nedenlerdir. Hayvansal gıdaların VRE yayılımı üzerine etkinliğinin en güzel göstergesi Hollanda'da toplam 104 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada vejeteryan olan 42 kişide hiç VRE saptanmaz iken, vejeteryan olmayan 62 kişiden 6 tanesinin VRE taşıyıcısı olduğu saptanmıştır. Avrupa ülkelerinde çeşitli hayvan kaynaklarından ve lağımdan VRE izolasyonu sıklığı oldukça yüksektir. Bunun bu ülkelerde geçmişte kullanılan glikopeptid içeren hayvan yemleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında hayvancılıkta hiçbir zaman antibiyotik kullanımına izin vermeyen Avustralya'da hem hayvan hem de insan izolatlarında neredeyse sıfıra yakın bir direnç oranına rastlamaktayız.

Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda hayvancılıkta antibiyotiklerin ciddi bir kontrol altında kullanılması gerekmektedir. Mutlaka tüketime sunulan etlerde antibiyotik kalıntı limitleri araştırılmalı ve Tarım Bakanlığının onay verdiği limitlerin üzerinde antibiyotik içeren ürünlerin tüketimine izin verilmemelidir. Aynı zamanda veteriner ve tıp hekimlerinin ortak çalışmalarda bulunarak bu uygulamaların klinik yansımaları araştırılmalıdır.

Sonuç olarak eğer gıda güvenliği alanındaki hizmetler iyileştirilecek ise, ortak stratejelerin geliştirilmesi ve teknik yapının güçlendirilmesi için tüm disiplinlerdeki mikrobiyoloji uzmanlarının aktif katılımının ve iletişiminin sağlanması gereklidir.

GIDA GÜVENLİĞİNDE DÜNYADAKİ EĞİLİMLER VE TÜRKİYE'DEKİ DURUM

Mustafa AKÇELİK
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi , Biyoloji Bölümü, Ankara

Gıda güvenliği kavramı akut veya kronik olarak tüketicinin sağlığına gıda tarafından verilen bütün zararlara işaret etmekte ve mikrobiyolojik tehlikeler (Salmonella, Listeria monocytogenes, E.coli gibi), Pestisit kalıntıları, Gıda katkı maddelerinin yanlış kullanımı veya suistimal edilmesi, Biyolojik toksinlerinde dahil olduğu kimyasal kontaminantlar ve Adulterasyon (sahtecilik) başlıklarını içermektedir. Son yıllarda bu kavram Genetik olarak Değiştirilmiş Organizmalar, allerjenler, veteriner ilaç kalıntıları ve hayvansal ürünlerin üretiminde kullanılan üremeyi destekleyen hormonları da içine alacak şekilde genişletilmiştir.

Artan Dünya nüfusu ve buna bağlı artan gıda ihtiyacı, küreselleşme, değişen yaşam tarzı ve şehirleşme, yeni üretim teknolojileri gıda güvenliği ile ilgili klasik ihtiyaçları değiştirmiş dolayısıyla bu da bütün Dünya'da gıda güvenliği yaklaşımlarının değişimi gerekliliğine yol açmıştır. Bu gereklilik nedeniyle ülkelerin bazı temel prensipleri belirlemesi ve uygulaması kaçınılmaz olmuştur. Avrupa Birliği genelinde benimsenen ve uygulamaya koyulan temel gıda güvenliği prensipleri şu şekildedir.

Gıda Zinciri Prensibi: Gıda üretiminden tüketiciye ulaşmasına kadar geçen süreç bir zincire benzemekte ve bu zincirde bir çok paydaş kendine düşen görevi yapmaktadır. Zincirin en güçlü halkası ancak en zayıf olanı kadar güçlü olacağından gıda güvenliği bir ekip işi olarak görülmektedir. Üretimin sadece bir aşamasında yapılan hata bütün zinciri etkileyeceğinden "çiftlikten çatala" gıda üretiminin kontrolü gerekmektedir. Örneğin dondurma üretiminde bu prensibin uygulanması için yasal düzenlemelerin ve kontrolün süt üretiminde kullanılan hayvan yeminden satış yerindeki son noktaya kadar bütün aşamaları içermesi gerekmektedir.

Üreticinin Sorumluluğu: Gıda ve yem üreticilerinin gıda güvenliğindeki sorumluluğu, hammadde ve katkı maddeleri seçiminden başlayarak son ürünlerinin uygun şartlarda, doğru bir şekilde paketlenmiş ve etiketlenmiş olarak işletmelerinden ayrılmasına kadar devam etmektedir.

İzlenebilirlik: Bütün gıda paketleri, içeriğini, kaynaklarını ve üreticilerini açık bir şekilde belirtecek şekilde etiketlenmelidir. 1 Ocak 2005 tarihinden itibaren AB'deki gıda üreticileri ürettikleri ürünlerin nereye dağıtımın yapıldığının yanında bu ürünlerin üretiminde kullanılan hammaddelerin de nereden sağlandığına dair kanıtı yetkili otoriteye sunmak zorundadır.

Bağımsız Bilimsel Risk Değerlendirmesi: Risk değerlendirmesi politik, sosyal ve ekonomik koşullardan etkilenmemeli ve bilimsel olmalıdır.

Risk Değerlendirmesi ve Risk Yönetiminin birbirinden Ayrılması: Araştırmacılar öncelikle politikacılar ve gıda endüstrisinden bağımsız olarak risk konusunda bilimsel görüşlerini bildirmeli daha sonra risk yöneticileri devreye girmelidir. Buda risk değerlendirmesi için bağımsız ve teknik yeterliliğe sahip uzmanlardan oluşan kurumların kurulmasını gerekliliğini beraberinde getirmektedir. Örneğin Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (European Food Safety Agency) böyle bir kurumdur.

Önleyici Prensip: Bir tehlikeyi önlemek oluşacak hasarı gidermekten hem daha kolay hem de daha mantıklıdır. Bilimsel bakış açısından özellikle önceden bilinmeyen kontaminantların keşfedilmesi durumunda risk hiçbir zaman tam anlamıyla değerlendirilemez. Bu durumda karar mekanizmasında görevli sorumlular önleyici prensip kapsamında karar alırlar. Aynı zamanda risk minimizasyonu da bu prensibe göre yapılmaktadır.

Şeffaf Risk İletişimi: Risk iletişimi bir çok safha içermektedir. Araştırmacıların yeni ortaya çıkan riskin etkileri konusundaki bilgi paylaşımı, politikacıların, gıda endüstrisinin ve bilim çevrelerinin risk minimizasyon stratejileri konusunda bilgi alış verişi ve nihayetinde tüketicilerin yeni risk hakkında uygun şekilde bilgilendirilmesi bunların arasındadır. Bütün bu iletişim çeşitli kurum ve kuruluşların aktif katılımıyla şeffaf bir şekilde yapılmalıdır.

Yukarıda sayılan gıda güvenliği prensiplerinin yerine getirilebilmesi için gerekli yasal düzenlemelerin yapılması, paydaşlar ve kurumlar arasında yetki ve sorumluluk karmaşasının olmaması, üreticinin üzerine düşen sorumluluğu alarak aktif olarak sürece katılması, gerekli kurum ve kuruluşların tesis edilmesi ve devamlılığının sağlanması gerekmektedir. AB gıda güvenliği yaklaşımında özellikle üreticilerin üretim süreci boyunca HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) prensipleri dahilinde yaptıkları kontrollere çok önem verilmekte, üreticiler ürettikleri ürünlerin güvenliğinden birinci derecede sorumlu tutulmaktadır. Bunun yanında AB gıda güvenliği yaklaşımı tüketici merkezli bir yaklaşım olup (en azından kağıt üzerinde) tüketici organizasyonları gıda politikalarının belirlenmesinde etkin rol oynamaktadır.

Avrupa Birliğine uyum sürecinde Ülkemizde gıda güvenliği alanında bazı olumlu adımlar atılmıştır. 5179 Sayılı Gıda Kanununun çıkarılarak gıda kontrol yetki ve sorumluluğunun Tarım ve Köyişleri Bakanlığına verilmesi, ilgili Bakanlığın reorganizasyonu sırasında Risk Değerlendirme ile ilgili bir daire başkanlığının kurulması ve "çiftlikten çatala" risk esasına dayalı gıda kontrol yaklaşımının benimsenmesi bunlar arasındadır. Ayrıca Tarım ve Köyişleri Bakanlığının adının Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı olarak değiştirilmesi gıda güvenliğinin öneminin vurgulanması açısından olumlu bir gelişmedir. Buna rağmen yem kanunundaki bazı eksiklikler ve zoonoz hastalıkların kontrol programlarındaki yetersizlikler gıda zincirinin bir bütün olarak değerlendirilmesi prensibini zorlaştırmakta, risk yönetimi ve risk değerlendirilmesinin aynı Bakanlık içinde yapılması bağımsız ve bilimsel risk değerlendirilmesi prensibi ile ters düşmektedir. Yapılan gıda kontrol programların da elde edilen sonuçların geç ve kısmi olarak paylaşılması tüketicinin bilgilendirilmesi yani şeffaflık konusunda istenen noktaya hala gelinemediğinin

bir göstergesidir. Ayrıca gıda güvenliği alanındaki paydaşlar arasındaki bilgi paylaşımı ve ortak çalışmaların istenen düzeyde olmaması bu konuda kat edilecek daha çok yol olduğunu göstermektedir.

GIDA KAYNAKLI ENFEKSİYONLARIN KÜRESEL VE ULUSAL BOYUTU

Ahmet KOLUMAN
Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Giriş

Dünya insan nüfusu 2025 yılında 8 milyara ulaşacaktır. Bu kadar büyük bir nüfusun daha fazla gıdaya ihtiyaç duyacağı aşikardır. Bu gereksinimin karşılanabilmesi amacı ile gerekli olan yüksek üretim kapasitesine ulaşabilmek için gıda üreticileri farklı teknolojik uygulamalara başvurmaktadır. Üretim kapasitesindeki mevcut artışa karşılık gıda hijyeninde belirgin bir iyileşme gözlemlenememektedir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) tarafından 2007 yılında yayınlanan gıda güvenliği raporuna göre az gelişmiş ülkelerde gıda ve su kaynaklı enfeksiyonlar yılda 2.2 milyon insanın ölümüne neden olmakta ve bu sayının 1.8 milyonunu çocukların oluşturduğu rapor edilmektedir. Küresel gıda tüketim eğilimlerinin 1965 ve 2010 yılları arasında büyük değişimler gösterdiği görülmektedir. Buna göre insanlar daha fazla beyaz et ve sebze ağırlıklı beslenmekte daha fazla organik ürün talep etmektedirler. Gıdaların raf ömrünü uzatmak ve tadını iyileştirmek için gıdaya uygulanan ek işlemler, tüketiciler tarafından genellikle kabul edilmemektedir. Bölgesel ve ulusal ürünler küreselleşmekte ve belli bir bölgeye ait olan ürün farklı yerlerde pazarlanabilmektedir. Aynı zamanda turizmin artması hijyenik kalitenin düşük olduğu yerden patojen mikroorganizmaların yayılmasını kolaylaştırmaktadır.

Gıdaların patojenlerle bulaşması çiftlikten sofraya her aşamada olabilir. Bu amaçla üretim aşamalarında çeşitli kritik noktalar tanımlanmakta ve bu noktalarda meydana gelebilecek bulaşmalar azaltılmaya çalışılmaktadır. Aynı zamanda iyi üretim ve yönetim uygulamaları ile bulaşmanın ortadan kaldırılması veya azaltılması hedeflenmektedir. Bütün bu önlemlere rağmen gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlar halk sağlığı, toplumsal refah ve ekonomik açıdan sorun olmaya devam etmektedir.

Gıdaların işlenmesinde alınacak tedbirler yetersiz olduğu zaman kalitesinin olumsuz yönde etkilenmesi ve enfeksiyon kaynağı olması kaçınılmazdır. Süt ve süt ürünleri Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, E. coli, Verotoksijenik E.coli, Bacillus anthracis, Toxoplasma gondii, Salmonella spp., Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Yersinia enterocolitica, Herpes virüsü ve Hepatitis A virüsü gibi zoonoz/enfeksiyon etkenlerini içermektedir. Benzer şekilde et ve et ürünlerinde de aynı mikroorganizmalar ve parazitler bulunmaktadır. İşlem görmeden tüketilen taze meyve ve sebzelerde de mikrobiyolojik kalitenin düşük olabileceği ve salgınlara kaynak oldukları çeşitli raporlarla ortaya konulmuştur.

Küresel ve Ulusal Gıda Kontrolüne Genel Bakış

Gelişmiş Ülkeler

Gıda kontrolü gelişmiş ülkelerde çiftlikten sofraya gıda güvenliği kapsamında ilk aşamadan son aşamaya kadar gerçekleştirilmektedir. Kontrollerde özellikle kritik kontrol noktalarında tehlike analizi (HACCP) benimsenmekte ve gıdaların güvenliği sağlanmaktadır. Kontrol edilmesine karşılık gıda kaynaklı enfeksiyonlar tamamen ortadan kaldırılamamaktadır. Bu aşamada kontrolörler tarafından gıdanın örneklenmesinden başlayarak, analiz yöntemine, mikroorganizmanın bulaşma seviyesine ve bulaşmanın heterojen yapısına kadar birçok faktör negatif sonuçlarda rol oynamaktadır. Bu şekilde meydana gelen enfeksiyonun kaynağı, geriye dönük izleme programları ile ortaya konulmakta ve epidemiyolojik veriler sağlanmaktadır.

Gelişmekte Olan Ülkeler

Gelişmekte olan ülkelerde gıda kontrolü son ürüne odaklanmıştır. Son üründe bulaşma olduğu tespit edildiğinde ürünün piyasaya sürülmesi engellenmektedir. Buna karşılık gıdalardan kaynaklanan enfeksiyonlar ortaya çıktığında yapılması gereken geriye dönük izleme; gıda kontrolü ve insan sağlığı arasında kurulamayan bağlantılar yüzünden yapılamamakta ve epidemiyolojik veri yeterli olmamaktadır.

Türkiye'de Durum

Türkiye'de gıda kontrolü Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın yetkisi kapsamındadır. Bu kapsamda tüm illerde gıda kontrolü belli bir program dahilinde ve aktif olarak yapılmakta ve denetçiler sahadan aldıkları gıdaları 40 il kontrol laboratuvarına göndererek analizlerinin sağlanmasını hedeflemektedirler. Buna ek olarak gümrük kapılarının olduğu illerimizde 62 adet özel gıda kontrol laboratuvarı hizmet vermektedir. Bu laboratuvarların denetimi ve çalışma izninin sağlanması Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın yetkisi kapsamındadır. Ayrıca Türk Silahlı Kuvvetleri bünyesinde 18 adet Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı bulunmakta ancak bunlar sadece iç denetim ve satın alma kapsamında çalışmaktadır. Ayrıca Hıfzısıhha Enstitüleri bünyesinde yer alan Gıda bölümlerinde de analizler yapılmaktadır. Tüm gıda kontrolünün en üst makamı olarak AB 882/2004 kapsamında kurulan Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, diğer gıda kontrol laboratuvarlarına rehberlik, liderlik etmekle yükümlü şahit laboratuvar olarak 2010 yılında resmi olarak hayata geçirilmiştir.

Ülkemizde Gıda ,Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yayınlanan 2009 yılına ait gıdalarda Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterlere göre yapılan analiz sonuçlarına göre 22.172 gıda örneğinde, 1.171 örnek (%5.28) olumsuz bulunmuştur.

Ekmek örneklerinin büyük bölümünün, mikrobiyolojik kriterler yönünden uygun olduğu, analiz edilen 309 ekmek örneğinden sadece 5'inde (yüzde 1,62) mikrobiyolojik yönden olumsuzluk tespit edildiği belirlenmiştir. Bir yıl içerisinde analiz edilen 660 beyaz peynirin 24'ünde mikrobiyolojik değerlerin mevzuata uygun olmadığı ayrıca 284 yöresel peynir örneğinden 5'inde de (% 1.76) mikrobiyolojik açıdan uygunsuzluk olduğu belirlenmiştir. Sade,

meyveli, çeşnili dondurma ve sütlü buz olmak üzere toplam 380 örnekte mikrobiyolojik analiz yapılmış bunlardan 17 örneğin (% 4.47'si) olumsuz olduğu bildirilmiştir. Yoğurtta toplam spesifik mikroorganizma sayısı açısından analiz edilen 377 örnekten 6'sının (% 1.59) olumsuz olduğu belirtilmiştir. Tavuk, hindi, bıldırcın veya devekuşu etinde mikrobiyolojik kriterler yönünden yapılan analizlerde, olumsuzluk oranının % 17.98 ile oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlar: Küresel ve Ulusal Durum

Amerika Birleşik Devletleri

FoodNet, 1996'da kurulmuş bir sürveyans sistemidir. Başlangıçta Minnesota, Oregon, California, Connecticut, ve Georgia olmak üzere beş eyalette işlerlik kazanmıştır. 2004 yılında 10 eyaleti kapsayacak şekilde büyütülen ağ içerisinde yer alan; Connecticut, Georgia, Maryland, Minnesota, New Mexico, Oregon, Tennessee, California, Colorado, New York toplam 45.9 milyon nüfus ile Birleşik Devletler nüfusunun %15.2'sine ait veri sunmaktadır. Bu orantı içerisinde cinsiyet, yaş ve ırk dağılımı toplam nüfusla benzerlik göstermektedir.

FoodNet 2007 yılına ait veriler şu şekildedir:

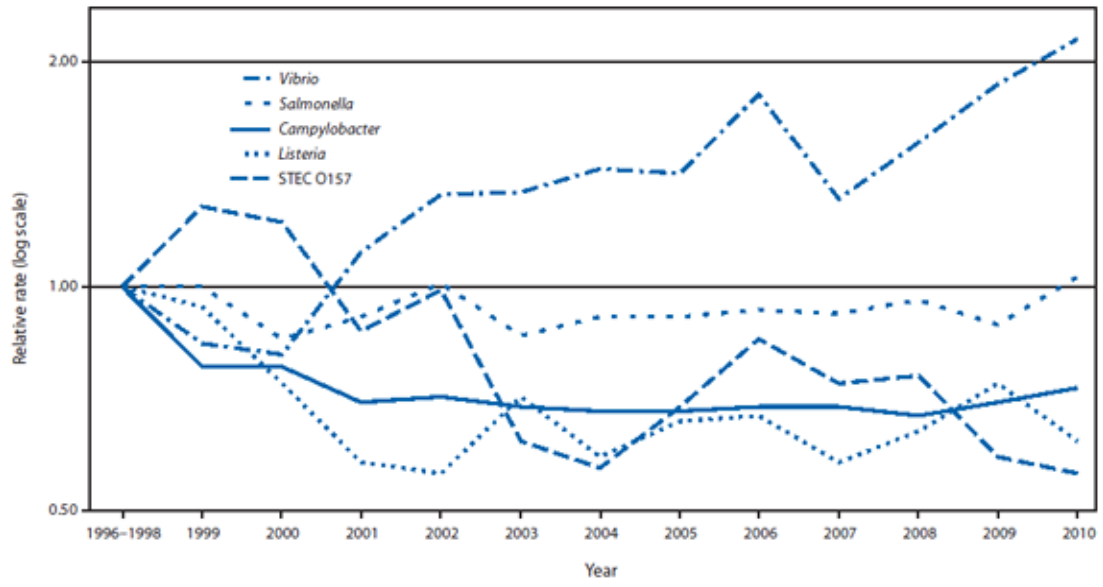
18,039 laboratuvar tarafından doğrulanan enfeksiyon olgusunun 16,801'sının Salmonella (%41) olduğu ve takiben Campylobacter (%35), Shigella (%17), STEC (Shigatoksijenik Escherichia coli) O157 (%3), STEC non-O157 (%2), Yersinia (%0.98), Listeria (%0.73), Vibrio (%0.65), STEC O grubu tanımlanmamış (%0.07), STEC O Antigen değişken (%0.04) ve STEC O Antigen belirlenmemiş (%0.01) bakterilerden kaynaklandığı, toplam 922 paraziter enfeksiyonun %99 Cryptosporidium ve %1 Cyclospora kaynaklı olduğu rapor edilmiştir.

2007 yılında meydana gelen salgınlarda en fazla rol oynayan gıdalar fıstık ezmesi, dumanlanmış etli salatalar, soya filizi, çilek, kavun, karides, yengeç eti ve tavuk eti olarak bildirilmiştir.

2010 yılında meydana gelen salgınlarda Vibrio spp. öne çıkmış ve bu salgınlarda en fazla istiridye, karides ve yengeç eti rol oynamıştır. Buna ek olarak yumurtalardan kaynaklanan salmonellozis sonucu yumurtalar toplatılmış ve ölümle sonuçlanan olgular meydana gelmiştir.

Yıllara göre enfeksiyonların değişimi şekil 1 ve şekil 2'de verilmiştir.

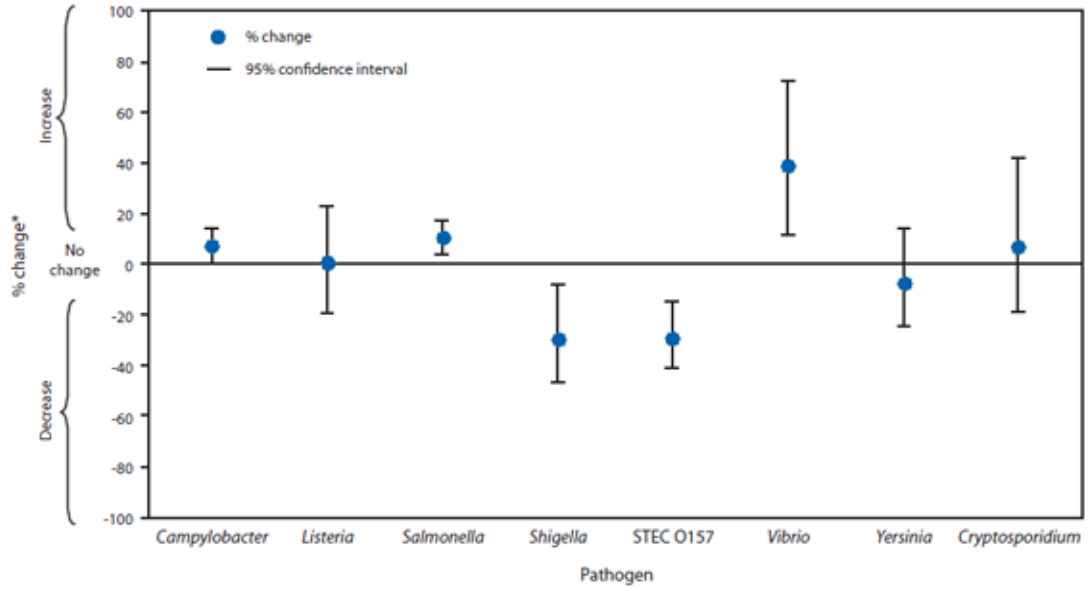
Relative rates of laboratory-confirmed infections with *Campylobacter*, STEC O157, *Listeria*, *Salmonella*, and *Vibrio*, compared with 1996–1998 rates, by year — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, United States, 1996–2010*



Abbreviation: STEC = Shiga toxin–producing *Escherichia coli*.

* The position of each line indicates the relative change in the incidence of that pathogen compared with 1996–1998. The actual incidences of these infections cannot be determined from this graph.

Estimated percentage change in incidence of laboratory-confirmed bacterial and parasitic infections in 2010, compared with average annual incidence during 2006–2008, by pathogen — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, United States



Abbreviation: STEC = Shiga toxin–producing *Escherichia coli*.
* *No significant change* = 95% confidence interval is both above and below the no change line; *significant increase* = entire 95% confidence interval is above the no change line; *significant decrease* = entire 95% confidence interval is below the no change line.

Avrupa Birliği içinde durum benzer şekildedir. Avrupa Birliği Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi tarafından yayınlanan 2010 yılı raporunda öne çıkan patojenler Salmonella (%29.7), Campylobacter spp. (%44.4), STEC (raporda VTEC olarak adlandırılmıştır) (% 0.66), Vibrio spp. (%20) ve L.monocytogenes (%0.31), Hepatitis A virüs (% 3.8) olarak bildirilmiştir. Bu enfeksiyonların meydana gelmesinde en etkili gıdaların yeşil sebze, soya filizi, kurutulmuş domates, yengeç eti, tavuk eti, yaş pastalar ve mayonezli salatalar olduğu bildirilmiştir.

Türkiye'de mevcut durumla ilgili Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar ve Surveyans Ağı (UEPLA) dokümanlarına ulaşım sınırlıdır. UEPLA tarafından insan kaynaklı patojenlerin toplandığı ve tiplendirme işlemleri yapıldığı bildirilmektedir. Türkiye'de mevcut duruma ait en güvenilir veri 1999-2000 yıllarında ülkemizde meydana gelen gıda infeksiyon ve intoksikasyonlarına ait Dünya Sağlık Örgütü'ne sunulan verilerdir. Şekil 3'de veriler gösterilmiştir.

Table TR 1

Foodborne infections and intoxications notified

TURKEY 1999-2000

Disease	1999		2000	
	No. of cases	Incidence rate	No. of cases	Incidence rate
Salmonellosis	28884	43.9	26498	39.2
Staphylococcosis	0	0.0	0	0.0
Botulism	96	0.1	18	0.0
Campylobacteriosis	0	0.0	0	0.0
Shigellosis	1120	1.7	1093	1.6
E. coli enteritis	0	0.0	0	0.0
Listeriosis	0	0.0	0	0.0
Cholera	0	0.0	0	0.0
Brucellosis	11462	17.4	10742	15.9
Other bacterial foodborne infections and intoxications	5146	7.8	4672	6.9
Hepatitis A	14323	21.8	10435	15.4
Other viral enteritis	0	0.0	0	0.0
Echinococcosis	0	0.0	0	0.0
Trichinellosis	0	0.0	0	0.0
Giardiasis	0	0.0	0	0.0
Amoebiasis	22980	34.9	23723	35.1
Mushroom poisoning	329	0.5	334	0.5
Infectious Enteritis of unknown origin	0	0.0	0	0.0
Total	84340	128.1	77515	114.6

Sonuç

Gıda kaynaklı enfeksiyonlar halk sağlığı yönünden ve ekonomik boyutu ile büyük önem göstermektedir. Enfeksiyon kaynaklarının azaltılması için uygulanan modern üretim teknolojileri ve alınan ek tedbirlere karşılık risk belirgin seviyede artmaktadır. Bu şekilde öne çıkan patojenlerin meydana getirdiği enfeksiyonlara ek olarak antibiyotik dirençlilikleri de değişkenlik göstermekte ve çoklu antibiyotik dirençlilikleri olan patojenlerden meydana gelen risk için uyarılar yapılmaktadır.

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı arasında mevcut iletişimsizlik epidemiyolojik veri oluşturulmasını güçleştirmektedir. Gıda analizlerinde bulunan mikroorganizmaların insan sağlığını tehlikeye attığı aşikardır. Halk sağlığı yönünden önemli olan bu bulaşmaların çiftlikten sofraya kadar incelenmesinde Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı geriye dönük izleme programlarını başlatmıştır. Ancak ilgili programı bir parçası olan Sağlık Bakanlığı tarafından bildirilen olgularda karşılıklı daha fazla destek verilmesinin gerekliliği şüphesizdir.

Gıda tüketiminin arttığı ve küresel ekonominin gıda pazarları üstünden ayakta kaldığı çağımızda yüksek üretim kapasitesine ulaşmayı hedefleyen ve sadece iç pazara değil dış pazarlara da ürün sağlayan Türkiye'nin gıda kontrolünde etkin yapıya ulaşmasında Sağlık Bakanlığı ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı arasında kurulacak etkin bilgi ağının katma değer sağlayacağı düşünülmektedir. Bilgi ağının kurulmasında her iki kurumun etkin şekilde yer alması ve ivedilikle bu ağı kurması önemli bir aşama olacaktır**.**

GIDA GÜVENLİĞİNİN SAĞLANMASINDA REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI'NIN ROLÜ

Mustafa ERTEK
Refik *Saydam Hıfzıssıhha* Merkezi Başkanlığı

İnsanların sağlıklı yaşaması için yeterli miktarda gıda alabilmesi ve bu gıdaların sağlık yönünden güvenli olması gerekmektedir. FAO/WHO Codex Alimentarius Uzmanlar Komisyonu tarafından gıda güvenliğini "sağlıklı ve kusursuz gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların; üretim, işleme, muhafaza ve dağıtımları sırasında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması" olarak tanımlanmaktadır. Üretici ve tüketici menfaatleriyle halk sağlığının etkin bir biçimde korunması için 'çiftlikten sofraya gıda güvenliği' sağlanmalıdır. Hızla artan dünya nüfusunun yeterli ve dengeli beslenmesiyle beraber güvenli gıda temini de zorlaşmaktadır. Avrupa Birliği gıda mevzuatının temel hedefinde insan hayatı ve sağlığının yüksek düzeyde korunması gelmektedir. Bu hedef aynı zamanda hayvan sağlığı ve refahı, bitki sağlığı ve çevrenin korunmasını da içermektedir. Gıda riskleri; fiziksel, mikrobiyolojik, biyolojik ve kimyasal riskler olarak sınıflandırılmaktadır. Gıdalardaki risklerden en önemlisinin mikrobiyolojik riskler olduğu belirtilmektedir. Sterilize edilmeyen gıdalar değişik miktarlarda mikroorganizma içermektedirler. Mikroorganizma sayısının artması ürünün duyusal niteliklerini bozmakta ve ürün tüketilemez hale gelmektedir. Gıdalarda mikrobiyolojik risklerden sonra kimyasal riskler gelmekte olup, bunların arasında ilk sırayı pestisitler almaktadır. Üzerinde durulan bir başka kimyasal kirlilik ise gıdalardaki ağır metal kontaminasyonudur. Gıdalardaki biyolojik riskleri gıdaların üretildiği yerlerde başta böcekler ve kemirgenler olmak üzere pek çok hayvan türünün bulunması olarak belirtilmektedir. Bu hayvan türleri fiziksel ve mikrobiyolojik bozulmalara yol açmaktadır.

Ülkemizde halk sağlığının korunmasına yönelik bu risklerin değerlendirilmesi amacıyla üretim, kontrol ve tanı ile ilgili temel laboratuvar hizmetlerini yürütmek üzere 27 Mayıs 1928 tarih ve 1267 sayılı yasa tasarısıyla Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı'na bağlı ilk ulusal referans laboratuvarı olan Refik Saydam Hıfzıssıhha Müessesesi kurulmuştur 07.11.1995 tarih ve 22456 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan 4128 sayılı Kanun İle Değişik 560 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname gereği gıdaların üretim ile ilgili yetki, görev ve sorumlulukları Tarım ve Köyişleri Bakanlığına yeni ismiyle Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına devredilirken gıda maddesi üreten işyerinin imalata geçmeden önce taşıması gereken asgari teknik ve hijyenik şartlara göre çalışma izni alması, gıda maddeleri satış yerleri ve bu yerlerde satılan gıda maddelerinin denetimi Sağlık Bakanlığı'na bırakılmıştır. Bakanlığımızın görev ve yetkileri dahilinde insan sağlığının korunması amacıyla tüm gıda analizlerini gerçekleştirmiştir. Bugün ise 13.06.2010 tarih ve 27610 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununu kapsamında özel tıbbi amaçlı gıdaların ve suların güvenliği için gereken tüm analizler Başkanlığımızca yapılmaktadır. Bunun dışında gıda zehirlenmesi şüphesi ile gelen gıdalar ile sular fiziksel, mikrobiyolojik, toksikolojik ve ağır metal kontaminasyonu yönünden incelenmektedir.

Başkanlığımız mevzuat doğrultusunda içme suları, içme-kullanma suları, kaynak suları, doğal mineralli suları ve kaplıca sularının ruhsata esas, denetim ve kontrol izlemesi için gerekli olan fiziksel, mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerini yapmaktadır. Özel istekli su numuneleri yanında içme suyu sağlanması planlanan yüzey suları ile yüzme suları, deniz suları, atık suları ve talossoterapi amaçlı su numunelerinin analizleri de gerçekleştirilmektedir.

Ayrıca terapötik ilaçlar, kimyasal maddeler, tarım ilaçları ve zehirli bitkiler ile meydana gelen zehirlenmelerde söz konusu maddelerin toksik veya terapötik etkileri ve spesifik tedavileri konusunda 24 saat hizmet verilmektedir. Belli beslenme uygulamaları gereken hastaların diyetlerini düzenlemek amacıyla tıbbi gözetim altında kullanılan enteral beslenme ürünleri dahil özel tıbbi amaçlı bebek mamaları ve tıbbi amaçlı diyet gıdaları "özel tıbbi amaçlı gıda" başlığı altında toplanmaktadır. Özel amaçlı bu gıdaların ruhsata esas, ithalat ve kontrol amaçlı fiziksel, mikrobiyolojik, toksikolojik ve kimyasal analizleri Başkanlığımızca yapılmaktadır.

Halk sağlığı yönünden en önemli konuların başında yeterli ve dengeli beslenme gelmektedir. Toplumu oluşturan bireylerin sağlıklı yaşamasında yeterli ve dengeli olmayan beslenme, temel bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Ülkemiz ve diğer ülkelerde yaşanan beslenme sorunları üzerine araştırmalarımız sürmekte olup, beslenme ve sağlık etkisi açısından risk değerlendirilmesi yapılmaktadır. Halkın yeterli ve dengeli beslenmesi, beslenme hastalıkları epidemiyolojisi ve gıda zehirlenmesi konularında çalışmalar sürdürülmektedir.

Gıda numunelerinde melamin varlığına dair ortaya atılan iddialar üzerine yapılan haberler geçtiğimiz günlerde gündemi meşgul etmiştir. Başkanlığımızda süt ürünleri, sütlü çikolatalar, bebek mamaları ve özel tıbbi amaçlı gıda numunelerinde melamin varlığı yönünden inceleme yapılmıştır. İnceleme sonucunda bu numunelerin melamin yönünden güvenli olduğu belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise çevresel faktörler ve beslenmenin etkileri çerçevesinde anne sütünde kurşun, cıva ve kadmiyum gibi toksik metallerin varlığı araştırılmış ve adı geçen toksik metaller açısından analize alınan anne sütlerinin güvenli oldukları görülmüştür.

Ülkemizde piyasaya sunulan gıdaların ruhsatlandırılması , analizi, piyasa gözetimi ve denetimi açısından Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının sorumluluğunda olması yanında insan sağlığının etkilenmesi veya gıda kaynaklı bir hastalık ortaya çıkması durumunda Sağlık Bakanlığı gerekli analizleri yapmaktadır ve zoonotik hastalıklar konusunda her iki bakanlık koordineli olarak çalışmaktadır.

UZMANIYLA TARTIŞMA
OLGULARLA KLİNİK VİROLOJİ (İMMÜNDÜŞKÜN KONAKTA)

OLGU-1
Arzu SAYINER
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

Dört ay önce eşinden böbrek nakli yapılan 62 yaşındaki erkek hastada kreatininde yükselme saptanır. Hastanın immunsüpresif tedavisi: oral prednizolon, azathioprine, tacrolimus içermektedir. Hasta indüksiyon tedavisi almamış ve immunsupresyonun attırılmasını gerektirecek rejeksiyon atağı geçirmemiştir. CMV açısından, verici seronegatif / alıcı seropozitiftir. Hastaya antiviral profilaksi verilmemiştir. Kreatinin artışı asemptomatik ancak süreklidir. İdrar yolu enfeksiyonu, tıkanma ve vasküler sorun yoktur. Renal biyopsi yapılır.
(Kaynak: J Clin Virol, 2009)

POSTMORTEM VE ADLİ OLGULARDA MİKROBİYOLOJİK YAKLAŞIM KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARININ SORUMLULUKLARI

Melek DEMİR
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli

Son yıllarda mikroorganizmaların ve onların toksinlerinin insanlara, hayvanlara ve bitkilere saldırıda silah olarak kullanıldığı olayların artması ve bu yönde tehditlerin varlığı adli mikrobiyoloji bilim alanını gündeme getirmiştir. 2001 yılındaki şarbonlu mektuplar aracılığı ile biyoterörizm tehditleri ile birlikte özellikle Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) olmak üzere bir çok ülkede mikrobiyoloji ve adli bilimlerin yakın işbirliği içinde olduğu çalışma grupları oluşturulmuştur (1-6). Adli mikrobiyoloji, biyoterörizm yanında biyolojik suçlar, mikroorganizma veya toksinlerinin kasıtlı veya istem dışı yayılması, adli soruşturmayı gerektiren herhangi bir olgunun ölüm nedeninin enfeksiyon olup olmadığının araştırılması gibi durumlarda kanıtların değerlendirmesini amaçlayan ve gerektiğinde epidemiyolojik çalışmalar yapan bir bilim alanıdır (2,7-11) . Adli mikrobiyoloji, olay yeri incelemesi, kanıt toplama, taşıma, koruma, mikrobiyolojik kanıtların incelenmesi, etkenin etyolojisini ve tipini belirlemeye yönelik çalışmaları yürütmektedir. Temel amacı biyolojik teröre karşı kayıpları en aza indirmek olan adli mikrobiyoloji programları geliştirilmiştir (6). Bu programlar aracılığı ile inceleme ve tanımlama, bilgi ve veritabanı oluşturulması, suş veri havuzu oluşturulması, yeni analitik yöntemlerin geliştirilmesi ve kalite güvencesi standartlarının oluşturulması amaçlanmıştır (2). ABD'de 2001 yılından sonra Mikrobiyal Genetik ve Adli Bilimler Bilimsel Çalışma Grubu (Scientific Working Group on Microbial Genetics and Forensics -SWGMGF) oluşturulmuştur. Bu çalışma grubu uyarı ve standartların oluşturulması, kalite kontrolü, veri paylaşımı, alarm durumunda standart çalışma programının hazırlanması çalışmalarının yanında, eğitim çalışmalarını da yürütmektedir (1,2,6).

Postmortem bakteriyolojik incelemeler, adli olgularda ölümün enfeksiyondan kaynaklanıp kaynaklanmadığı konusunda bilgi vermesi bakımından önemlidir. Adli şüphesi olan ölüm olgularında ve ani bebek ölümü sendromunda ölüm nedeninin belirlenmesi amacıyla postmortem bakteriyolojik incelemelere gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca hastanede yatış sırasında oluşan ölümlerde ölüm nedeninin araştırılması, hastane kaynaklı nosokomial mikroorganizmalar ve hastane çevresinden kaynaklanan mikroorganizmaların varlığı ve toplu besin zehirlenmelerinde etyolojik etken hakkında bilgi vermesi bakımından da postmortem bakteriolojik inceleme değerlidir (12). Ölüm sonrası yapılan otopside ölüm nedenini bulmaya yönelik olarak alınan biyolojik materyallerin bakteriyel, viral, mantar ve paraziter etkenler yönünden incelenmesi titizlik ve deneyim gerektirmektedir. Özellikle bebeklerde olmak üzere, ani ölümlerde, diğer otopsi bulgularının tek başına açıklayıcı olmadığı durumlarda ve biyolojik suçlarda mikrobiyolojik yöntemler ölüm nedeninin saptanmasında belirleyici olabilir (12-15)

Ölüm sonrası incelemeler ve adli olgularda mikrobiyolojik yaklaşımı şu temel başlıklar altında incelenmek uygun olacaktır.

1. Postmortem mikrobiyal adli kanıtların toplanması, değerlendirilmesi ve önemi
2. Adli mikrobiyolojik incelemelerde moleküler ve diğer tanısal yöntemler
3. Biyoterörizm/biyolojik savaş, biyolojik suç ve mikrobiyolojik yaklaşım
4. Postmortem incelemeler ve biyogüvenlik

1-Postmortem mikrobiyal adli kanıtların toplanması, değerlendirilmesi ve önemi

Başta adli tıp hekimleri olmak üzere diğer hekimler ve sağlık çalışanlarının, biyolojik suçların incelenmesi ve adli mikrobiyolojik kanıtların toplanması konusunda deneyimli olması bu tip olgularda, adli soruşturmaya önemli katkılar sunmaktadır. Laboratuvar hekimleri ve diğer laboratuvar çalışanlarının da adli örneklerin incelenmesi ve değerlendirilmesi konusunda yeterli bilgi birikimine sahip olmaları postmortem adli mikrobiyolojik yaklaşımda oldukça önemlidir (15). Mikrobiyal adli kanıtların toplanması ve korunması, verimli ve başarılı bir soruşturmanın en önemli basamaklarından biridir. Mikrobiyal kanıtlar (örnekler) uygun şekilde toplanmamışsa, toplama sırasında kontamine edilmişse, uygun olmayan koşullarda laboratuvara ulaştırılmışsa, inceleme anına kadar uygun olmayan koşullarda saklanmışsa veya uygun olmayan işlemlerden geçirilmiş ise elde edilecek olan sonuçlar gerçek sonucu yansıtmayabilir (16). Bu nedenle adli mikrobiyoloji alanı, 1-örneklerin toplanması ve korunması, 2-ekstraksiyon, 3-analiz, 4-sonuçların değerlendirilmesi gibi dört kategoride geçerliliğinin kanıtlanmasını (validasyonu) gerektirmektedir. Validasyon tek seferli bir olay olmayıp dinamik bir süreçtir ve yeni bilgiler, bulgular, yeni yöntemler ve prosedürlerin sürekli yeniden değerlendirilmesini gerektirir (17). Geçerliği ve doğruluğu kanıtlanmış örnek alma, ulaştırma ve işlemleme tekniklerinin kullanılması örneklerin alınması sırasında oluşabilecek olan bozulmalar, kontaminasyon ve örneklerin kaybolması oranlarını en aza indirecektir (18)

Herhangi bir enfeksiyon hastalığından veya onun komplikasyonundan kuşkulanılan adli olgularda postmortem mikrobiyolojik değerlendirme yanında aşağıdaki bilgilere ulaşılması değerlendirmede yardımcı olacaktır (12).

1-Olgu hastane dışında ise; alışkanlıklar (IV ilaç bağımlılığı, alkol gibi), yaş, immobilize olup olmadığı, bakımsız bir kişi olup olmadığı, erkek homoseksüel olup olmadığı, tutuklu olup olmadığı, evsizler gibi belli bir sosyal sınıf üyesi olup olmadığı, yurtdışı bir seyahat sonrası ani beklenmedik bir ölüm olup olmadığı,

2-Olgu hastanede ise; Ölümden önceki hastanede bulunduğu süredeki öyküsü ve kısa tanı bulguları, önceki operasyonları ve diğer invazif iyatrojenik girişimleri sorgulanmalıdır (12).

Postmortem bakteriyel kültürler, mikrobiyolojik yaklaşım ve değerlendirme

Psotmortem kültürlerin klinik değeri her zaman için tartışmalı olmuştur. Bu tartışmanın temel iki nedeni postmortem kontaminasyon ve mikroorganizmaların postmortem yayılma olasılığıdır. Ayrıca kökeni bilinmeyen organizmaların varlığında postmortem kültürlerin yorumlanması zaman zaman zorluklar yaratabilir. Bazı çalışmalarda antemortem ve postmortem kültür sonuçları arasında düşük derecede korelasyon olduğu ve postmortem kültürlerin gereksiz veya çok az tanısal değeri olduğu belirtilmişken, bazı çalışmalarda ölüm öncesi klinik hastalık süreci ile postmortem kan kültürü arasında anlamlı korelasyon olduğu belirtilmektedir (19-23). Geniş otopsi serilerinde ölüm sonrası izole edilen bakterilerin %42-52 oranında antemortem izole edilenlerden farklı bulunduğu bildirilmiştir (12). Bununla birlikte özellikle beklenmedik bebek ölümleri/ani bebek ölümü sendromunda (SUDI (Sudden Unexpected Death Infancy)/SIDS (Sudden Infant Death Sendrom) post-mortem mikrobiyolojik örnekleme adli soruşturmada önemli bir unsur olmaya devam etmektedir ve bazı ülkelerde SIDS olgularında adli soruşturma kılavuzlarında postmortem kültür incelemesinin özellikle önerildiği belirtilmektedir. Kan kültürü, BOS kültürü ve akciğer örneklerinin bakteriyolojik incelemesinin postmortem değerlendirmede bağımsız olarak önemli olduklarını gösteren çalışmalar olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle bebek ve küçük çocuklardaki ani ölüm sonrası yapılan otopsilerde adli incelemelerin bir parçası olarak bakteriyolojik incelemeler önerilmektedir (24-30). Ayrıca postmortem kültürlerin şu durumlarda değerli olabileceği vurgulanmıştır (19**).**

1. Antemortem tanının doğrulanması
2. Tanımlanmamış enfeksiyöz hastalıkların etyolojisinin araştırılması
3. Tedavinin değerlendirilmesi
4. Araştırma
5. Organ transplantasyonu sürecinde

Postmortem mikrobiyolojik örnek alım zamanı tartışmalı konulardandır. Bütünlüğü bozulmamış barsak duvarından ölümden sonra yayılım olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Bazı araştırıcılar ilk 15 saat veya 48 saat içinde kan kültürü almanın postmortem bakteriyel invazyona bağlı yalancı pozitiflik oranını azaltacağını belirtmektedirler. Postmortem yayılımda ısının önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir. Bazı araştırıcılar ise postmortem örnek toplama zamanı ile ilişkinin önemsiz olduğunu belirtmektedirler. (12,19,31,32). Bu çelişen görüşlere rağmen postmortem çevresel koşulların ve zamanın bakteriyel invazyonda rol alabileceği bilinmelidir. Postmortem kan veya BOS örneklerinde bakteriyel pozitiflik nedenleri aşağıdaki şekilde tanımlanmaktadır (13,19,33).

1. Gerçek pozitiflik: Saf tek tip üremelerdir. Genellikle ölümden önce kanda izole edilen bir bakteri vardır ve ölümden sonra da aynı bakteri üremesi görülür.
2. Agonal yayılım: İskemi veya hipoksiye bağlı ölümden hemen önce veya resüsitasyona bağlı mukozal geçişe bağlıdır. Bu tip bir yayılım sonucu oluşan üremeler çoklu, karışık üremeler olarak görülür.
3. Postmortem translokasyon: Mukozal yüzeylerden kana geçiş şeklinde görülür. Eğer soğukta saklanmamışsa daha fazla görülür. Çoğunlukla tek tip üremeden çok karışık üreme şeklinde görülür.
4. Kontaminasyon: Otopsi yapıldığı anda bakteri kanda yoktur ancak örnek toplanması sırasında kana olan karışmalar sonucu görülür. Bu tip bir üreme de karışık üreme şeklinde görülür.

Örnek almadan önce barsaklara müdahalenin postmortem kültürlerde kontaminasyonu artırdığı ve dolayısı ile kanda pasif resirkülasyona neden olduğu belirtilmektedir (12). Kontaminasyon olasılığı aynı zamanda örneğin alındığı anatomik bölgeye bağlıdır. Örneğin böbrek ve üreme organları gibi, çıkarılmaları sırasında vücut sıvıları ile kolayca kontamine olan vücudun derin bölgelerinde lokalize organlardan örnek alındığında yüksek oranda kontaminasyon beklenebilir. Uygun besiyeri ve transport kontaminasyonu önlemek için önemlidir (12).

Örneklerin toplanması

Postmortem alınacak örneklere olgunun ölüm öncesi öyküsü de göz önünde bulundurularak karar verilmelidir. Özellikle bağışıklığı baskılanmış bir olgu söz konusu ise standart bakteriyolojik kültürler yanında hem Mikobakteri, Legionella ve Mikoplazma gibi özellikli bakteriyel kültürler için hem de fungal, viral ve paraziter etkenlerin etyolojik rollerini tanımlamak için örnek alınmalıdır (19,34). Viral enfeksiyon kuşkusunda viral kültürler ve serolojik incelemeler için kan örneği önerilmektedir. Ensefalit olgularında viral kültürlerin sonuç alma yönünden bazen başarılı olabildiği ancak miyokardit olgularında başarılı olmadığı belirtilmiştir. Postmortem viral kültürlerin epidemilerin yönetiminde ve araştırılmasında yararlı olabileceği belirtilmektedir. Fungal kültürlerin pulmoner lezyonu olan, bağışıklığı baskılanmış ve granülomatöz olgularda son derece değerli olduğu bildirilmiştir (19).

Örneklerin toplanması sırasında kontaminasyonu önlemeye yönelik önlemlere özel önem verilmelidir. Vücut hemen açıldığında organlar yüzeyindeki ve vücut boşluklarındaki sıvılar ağır bir şekilde kontamine olurlar. Bu nedenle bir bölgeden örnek almadan önce o bölgenin uygun bir şekilde temizlenmesi gerekir. Örnek toplanırken giriş alanının kuru olmasına ve diğer vücut sıvıları ile kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Postmortem örnek toplama teknikleri; 1-Aspirasyon, 2-Eküvyon ile sürüntü, 3-Doku biyopsisi olarak tanımlanmıştır (18,19**).** Otopsi sırasında kültür için örnekler alınırken şunlara dikkat edilmesi önerilmektedir (34**).**

1. 1-İlk kesi yapıldıktan sonra makroskopik olarak boşluklar sıvı varlığı yönünden incelenmeli ve daha sonra enfeksiyon kuşkusu gözlenen veya enfeksiyon olduğu varsayılan organlardan örnek alınmalı
2. 2-Örnek alınacak bölgeler sıcak bir spatula ile kurutulmalı
3. 3-Doku kültürleri için $1cm^3$ lük parçalar halinde örnekler alınmalı ve etiketlenmiş steril petri kutuları içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır

4. 4-Aerobik ve anerobik kan kültürü için sağ atriumdan kan örneği alınmalıdır
5. 5-İdrar örneği mesaneden direkt aspirasyonla alınmalı ve steril bir tüp içinde laboratuvara gönderilmelidir
6. 6-BOS kafa derisi kaldırıldıktan sonra lateral ventrükülden veya deriden girilerek sisternadan alınmalı
7. 7-Abse ve granülomlardan örnek lezyonun periferinden ve ortasından alınmalı
8. 8-Her bir kültür alımı için farklı steril otopsi setleri kullanılmalıdır
9. 9-Örnekler farklı laboratuvarlarda incelenebilmesi amacıyla ikiye bölünerek hızla laboratuvarlara ulaştırılmalıdır.

Postmortem yapılan bazı önemli bakteriyel kültürler;

Kan (Kalp veya periferal damar kanı) ve Dalak Kültürü

Bakteriyemi tanısı için, eğer makroskopik incelemede tüm organlar normal görünümde ise postmortem kan ve dalak kültürlerinin alınması önerilmektedir. Postmortem kan kültürü amacıyla farklı bölgelerden alınmış olan örneklerin hepsinde aynı mikroorganizmanın üremesi durumunda sonuç anlamlıdır (19,34**).** Postmortem kan kültüründe, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae Streptococcus pneumoniae, Candida albicans Salmonella türleri, Staphylococcus aureus, E. coli, diğer Enterobacteriaceae üyeleri izole edildiğinde gerçek pozitiflik olarak kabul edilmelidir. Corynebacterium türleri, Bacillus türleri ve Propionibacterium acnes nadiren gerçek pozitiflik nedeni olabilirler (33).

BOS Kültürü

BOS, lumber ponksiyon, lateral ventrikül veya sisternal ponksiyon ile alınır. Dikkatli aseptik teknikler uygulandıktan sonra örnek alınmalıdır. Bu şekilde alındığında kontaminasyon oranının %10'nun altına indiği belirtilmiştir (19,33,34). Postmortem BOS kültürlerinin değerlendirilmesinde şu kriterlerin dikkate alınması önerilmektedir (33). 1- Postmortem BOS'a agonal yayılım nadirdir, 2-Ölümden sonra BOS'da mononüklear hücreler bulunur ancak menenjit veya kanama yoksa nötrofil bulunmaz, 3-Ölümden sonraki 24 saate kadarki BOS protein düzeyleri enfeksiyonu yansıtabilir, 4-Menenjit tanısı için ölümden çok kısa süre sonra alınmış olan BOS'da nötrofil sayımı meninkslerin histolojik incelemesinden daha duyarlı bir indikatördür

Solunum yolu örnekleri ve kültürleri

Postmortem otopsiden önce burundan, nazofarenksden ve boğazdan eküvyon ile sürüntü örneği alınabilir. Ölüm olur olmaz morga kaldırılmadan üst solunum yollarından örnek almak ölüm anındaki florayı yansıtması açısından önemlidir. Nazofaringeal S.aureus taşıyıcılığı yaşamın ilk 3 ayında %50 iken daha sonra bu oran düşmekte ve 3-12 ay arasında %30 civarında olduğu belirtilmektedir. S.aureus taşıyıcılığı ani bebek ölümü sendromunda etyolojide suçlanmaktadır (33). Bu nedenle ani bebek ölümü olgularında postmortem üst solunum yolu örneklerinin araştırılması etyolojiyi aydınlatmak açısından önemli olabilir.

Normal koşullarda her hangi bir enfeksiyon yoksa alt solunum yolları ve akciğerler sterildir. Ancak ölüm anında bronşial sekresyonlarda az miktarda bakteri bulunabilir ve ölümden sonrada bu bakterilere bağlı üremeler saptandığı bidirilmiştir (33). Yapılan çalışmalarda ağızda yerleşmiş olan mikroorganizmaların ölümden sonra akciğerde saptandığı gösterilmiştir Herhangi bir pnömoni bulgusu olmaksızın ağız sekresyonlarının drenajına bağlı akciğerlerde pozitif kültür sonuçları elde edilebilir (19). Otopsi sırasında alt solunum yollarından örnek alımı dikkatli bir disseksiyondan sonra trakea ve bronşlardan eküyonla veya alternatif olarak trakeaya steril saline enjekte edip daha sonra trakeal aspirat şeklinde olabilir. Değerlendirme için akciğer kültürleri karışık ve zor örneklerdir. Bunun çeşitli nedenleri vardır. Bir neden, pnömonin olduğu akciğer bölgesinden farklı akciğer bölgesinden örnek alınmış olabilir. Diğer bir nedeni üst solunum yolu florasının varlığıdır. Bu nedenle uzun süre yatan hastalarda kolonizasyon, kontaminasyon, bakteriyemi veya enfeksiyonu iyi ayırt etmek gerekir. Çoğu çalışmada akciğerlerde enfeksiyonun patolojik kanıtı olmaksızın olguların yarısının akciğerinde üreme saptandığı belirtilmektedir. Akciğer kültürlerinin değerlendirmesi de balgam örneği değerlendirmesine benzer yapılması önerilmektedir. Balgam örneklerinin sınırlılıkları iyi bilinmektedir. Bu nedenle kültür amacıyla alınmış olan akciğer doku örneğinden eş zamanlı olarak patolojik olarak inflamatuar bulguların varlığının da araştırılması önerilmektedir. Örneklerde saf solunum yolu patojenlerinin üremesinin gerçek üreme olarak kabul edilmesi gerekmektedir ((19,33,34).

GİS örnekleri

Ölüm öncesi öyküde GİS'de inflamatuar veya infeksiyöz bir hastalık söz konusu ise veya otopsi sırasında inflamatuar bir barsak patolojisine rastlanmışsa, Salmonella, Shigella ve Campylobacter gibi etkenler yanında E.coli ve Clostridia toksin araştırması için mikrobiyolojik inceleme için gaita alınması önerilmektedir. Ayrıca, barsak tüberkülozu gibi spesifik enfeksiyonları doğrulamak amacıyla da gaita örneği alınabilir. Özellikle ani bebek ölümü olgularında C.perfiringes toksininin patogenezde rol alabileceği belirtilmiştir. Etken özellikle proksimal kolonda yer alır; bu nedenle C.perfiringes kuşkusu varlığında örnek alırken bu durumun göz önünde bulundurulması önerilmektedir. (33)

Karaciğer ve böbrek gibi diğer bölge örneklerinden de postmortem kültür yapılabilmektedir. Karaciğer veya böbrek kültürlerindeki pozitif bir üreme bu organların lokal enfeksiyonlarına bağlı olabilir ancak bakteriyemiyi yansıtmayabilir. Karaciğer veya böbrek kültürlerindeki pozitif bir üremeye eş zamanlı olarak kalp kanı ve dalak örneklerinde de benzer üreme saptanmış ise anlamlıdır. Ancak bu durumda karaciğer ve böbrek kültürlerinin bakteriyemiyi yansıtabileceği vurgulanmaktadır. İdrar örneklerinin pratikte postmortem sınırlı değeri olduğu belirtilmektedir (12).

Postmortem bakteriyolojik değerlendirmede karşılaşılan zorluklardan biri kültür sonuçları ile Gram boyama sonuçlarının uyumudur. Postmortem alınmış doku örneklerinde gram pozitif mikroorganizmalar kolaylıkla

görülebilirken, gram negatif mikroorganizmalar ayırt edilemeyebilirler. Bu nedenle doku örneklerinde Gram boyamanın birçok farklı varyasyonda boyanması önerilmektedir. Ek bir dekolarizasyon basamağının eklenmesi ile gram negatif mikroorganizmaların görünür olmasının sağlanabildiği belirtilmektedir. Dekolorizasyon basamağındaki değişiklikler ve bu konuda deneyim kazanmakla daha iyi sonuçlar elde edilebileceği belirtilmiştir (19).

Postmortem izole edilmiş bir etkenin enfeksiyonun nedeni olduğunun doğrulanması önemlidir. Bu nedenle makroskopik, mikroskopik incelemeler ve bulgular yanında ölüm öncesi öykünün de üreme sonucunu desteklemesi gerekir (33). Postmortem kültür sonuçları, klinik, radyolojik, laboratuvar ve patolojik bilgilerin elde edilmesi ile uyumlu olmalıdır. Kültür sonuçlarının, klinik bulgular ve hastanın hastalığı veya ölümünde rol alıp almayacağını ayırt etmek önemlidir. Örneğin, Salmonella veya Mikobakteriler nadiren kontaminasyonla bulaşabilir. Böyle bir etkenin postmortem izole edilmesi oldukça önemlidir (19). Bu nedenle postmortem bir üreme saptandığında izole edilen bakterinin özellikleri, türü ve saf üreyip üremediği, klinik bulgular, enfeksiyon tanısını destekleyen geçmiş öykünün olup olmadığı, inflamasyonun mikroskopik bulgularının doğru değerlendirilmesi ve yeni teknikler ile hem genomik hem proteomik olarak enfeksiyonun doğrulanması önemlidir (19).

Postmortem serolojik incelemeler ve değerlendirme:

Postmortem serolojik incelemeler ölüm nedeninin viral bir etken olup olmadığının araştırılmasına yönelik yapılabildiği gibi, organ transplantasyonu vericisi olarak kullanılacak olgularda transplantasyon öncesi viral serolojik taramalar amacıyla da yapılabilmektedir (35-39). Yapılan çalışmalarda postmortem 6 ile 16 saat arasında örnek alımı arasında anlamlı fark olduğu vurgulanmaktadır. Serolojik incelemeler için alınacak örneklerin postmortem 24 saat içinde alınması önerilmektedir (40). Postmortem enfeksiyon hastalıklarının serolojik olarak taranması için alınacak olan kan örneklerinin, yeterli miktarda alınamaması, uygun kalitede olmaması, uygun zaman aralığında toplanamamış olması serolojik incelemelerin kısıtlılıkları olarak karşılaşılmaktadır. Postmortem alınmış serolojik örneklerin en önemli problemi özgüllüğünün tartışmalı olmasıdır. Yapılan bazı çalışmalar pozitif sonuçların beklenenden daha yüksek olduğunu göstermektedir (36,37,38). Diğer taraftan, tarama amacıyla yapılan postmortem serolojik incelemeler için kullanılacak testlerde kitlerin duyarlılığının yüksek olmasına özellikle dikkat edilmesi önerilmektir (41). Postmortem serolojik incelemeler için kullanılan kitlerin çoğu postmortem örnekler için valide edilmemiştir. Postmortem inceleme örneklerinde özgül reaksiyonların kaybı nedeniyle duyarlılık azalmakta ve yalancı negatif sonuçların artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle non spesifik pozitiflikleri azaltmak için uygun tarama algoritmalarının kullanılması önemli olmaktadır (41).

Postmortem mikolojik incelemeler ve değerlendirme

Adli incelemelerde mikolojik kanıtların kullanımı son yıllarda gittikçe önem kazanmaktadır. Bağışıklığı baskılanmış olgularda özellikle invazif mantar enfeksiyonlar ölümlerden sorumlu olabilmektedir. Bakteriyel ve viral etkenlerden daha nadir olsa da mantarlar da biyolojik silah olarak kullanılabilir. Mantarlar birbirlerine benzemeyen özellikleri ve bu guruba üye birçok mikroorganizmanın aynı zamanda çevresel koşullarda doğal olarak bulunması nedeniyle adli mikrobiyolojik inceleme ve değerlendirmelerde güçlük yaratabilmektedir (42,43). Bu nedenle adli mikolojik incelemelerde çeşitli fungal belirteçler yanında moleküler teknikler ile genomik ve filogenetik analizlerin mutlaka kullanılması önerilmektedir (42).

2-Adli mikrobiyolojik incelemelerde moleküler ve diğer tanısal yöntemler

Adli mikrobiyolojik incelemelerde tanısı ve tanımlanması kolay etkenler ile çalışıldığı gibi nadiren karşılaşılan ve kültüre edilemeyen mikroorganizmalarda söz konusu olabilmektedir (44). Mikrobiyolojik tanımlamada geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda veya geleneksel yöntemleri desteklemek ve izlem amacıyla çeşitli moleküler tekniklerden yararlanılmaktadır. Hızlı moleküler testler ve genetik dizi analizleri bu anlamda kullanılan en önemli tekniklerdir. PCR/real time PCR, dendogram ve filogenetik ağaçlar, Microarray, High-Throughput Sequencing (yüksek verimli dizileme), proteomik ve genomik yöntemler adli mikrobiyolojik tanıda kullanılan bazı tekniklerdir (45). Adli mikrobiyolojik incelemelerde suşların tiplendirmesinde multilokus dizi tiplendirmesi (MLST), multilocus variable number tandem regions (MLVNTR), amplified fragment length polymorphism (AFLP), tek nükleotid polimorfizm (SNP), Restriction fragment length polymorphism (RFLP) gibi teknikler kullanılmaktadır. Microarray, SNP ve VNTR'nin örneklerin araştırılmasında özellikle yararlı olabileceği belirtilmiştir (46,47). Ayrıca, adli mikrobiyolojik incelemelerde özellikle bakteri sporlarının araştırılmasında olmak üzere SEM/ TEM gibi taramalı elektron mikroskopi, atomik güç mikroskopi (AFM), taramalı transmisyon iyon mikroskopisi (SUM), partükül–indüksiyon-X-ışını emisyonu (PIXE), Biyoaerosol kütle spektometri (Bioaerosol Mass spectrometry (BAMS), ikinci iyon kütle spektrometrisi (Timeof-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS), hızlandırılmış kütle spektometri (accelerator mass spectrometry (AMS) ve Raman spektroskopisi gibi DNA'sız yöntemlerde kullanılmaktadır (48).

3-Biyolojik savaş/ Biyoterörizm, biyolojik suç ve mikrobiyolojik yaklaşım

Biyolojik savaş; politik, dini, ekolojik veya ideolojik nedenlerle, mikroorganizmaların veya biyolojik kaynaklı toksik maddelerin bireyler veya gruplar tarafından, bir ülkenin askeri kuvvetlerinde, halkında, faydalanılan hayvanlarında ve bitkilerinde hastalık oluşturmak veya ölümlerine neden olmak amacıyla kullanılmasıdır. Bu etkenler bireye yönelik olarak kullanıldığında eylem biyolojik suç olarak tanımlanmaktadır (6,49). Biyolojik suçlar biyoterörist eylemler olabildiği gibi, biyolojik etkenlerin kişiler veya örgütler tarafından toplumun besin kaynaklarına yönelik olarak kullanılması veya kişilerin taşıyıcısı olduğu biyolojik etkeni bilinçli olarak veya

farkında olmadan çevresindekilere bulaştırması şeklinde de olabilmektedir (6). Biyolojik suçlarda, B.anthracis, C.botulinum, Salmonella, Shigella ve HIV gibi mikrobiyal etkenler kullanılmıştır.

B.anthracis bulaştırılmış mektuplar ile 2001 yılında ABD'de ciddi biyoterörist eylemler yaşanmıştır. Enjektörle kasıtlı olarak HIV bulaştırılması gibi biyolojik suçlar literatürde yer almaktadır. Louisiana-Schmidt vakası bu anlamda bilinen en önemli olgudur (6,15,50).

Herhangi bir biyoterörist saldırıda veya biyolojik saldırı düşünülen durumda; 1- saldırının olduğu bölgeden örnek alınması, 2- saldırının oluşu, organizmanın kaynağı ve hastalığın tanımlanması, 3- örneklerin analizi, 4- testlerin geçerliğinin kanıtlanması ve kalite kontrol gibi aşamaların titizlikle uygulanması gerekmektedir (9,10,51). Biyolojik saldırılarda indeks olgularda mutlaka tanı kesinleştirilmelidir. Anthrax saldırısında, gerekli biyogüvenlik önlemleri alındıktan sonra saldırı örneklerinden uygun besiyerlerine ekimler yapılması ve referans laboratuvarlarda Multilocus Variable-Number-of-Tandem-Repeats analysis (MLVNTR) gibi moleküler tanımlama yöntemleri ile tanının doğrulanması ve her biyolojik saldırıda eğitim ve yasal otorite ile iletişime özel önem verilmesi önerilmektedir (51,52)

4-Postmortem/adli mikrobiyolojik incelemeler ve biyogüvenlik

Postmortem incelemeler ve otopsi işlemi sırasında gerekli korunma önlemlerinin alınmadığı durumlarda, enfeksiyon hastalıklarının otopsi personeline ve morg çalışanlarına bulaştığı ve toplum içinde yayılmaya neden olabileceği bilinmektedir (53). Otopsi salonunda aerosol kaynaklı bulaş için en bilinen ve önemli organizma Mycobacterium tuberculosis'tir (54,55). Diğer bir önemli risk kan/ kan ürünleri ve vücut sıvıları ile geçiş gösteren HIV, HBV ve HCV gibi etkenler ve piryonlardır (34,56). Otopsi personeli için risk olduğu gösterilmiş bu etkenler dışında diğer birçok virus ve bakteri de enfeksiyon riski oluşturabilir.

Postmortem adli incelemelerde otopsi çalışanlarının 1- aşılama, 2-otopsi öncesi bazı tarama testlerinin yapılması, 3-uygun koruyucu giysilerin giyilmesi, 4-aerosol oluşturacak prosedürlerden kaçınılması ve dikkat edilmesi, 5-otopsi sırasında kullanılacak aletlerin sterilazyonuna dikkat edilmesi ve 6- güvenli cerrahi girişimlerin yapılması gibi konularda duyarlı davranması olası enfeksiyöz riskleri en aza indirecektir (56).

B.anthracis, C.botulinum toksini, Small Pox virüs, gibi biyolojik silah olarak kullanılan mikroorganizma kuşkusu varlığında veya F.tularensis, Y.pestis, Brucella türleri, VHF gibi laboratuvardan kazanılan etkenlerin varlığında laboratuvar güvenliğine özellikle üst düzeyde dikkat edilmelidir. Uygun güvenlik kabinlerinde çalışmalar yürütülmeli, koruyucu giysilerin ve maskelerin kullanımına önem verilmeli ve laboratuara giriş çıkışlar sınırlandırılmalıdır. Ayrıca laboratuvar çalışanları için önerilen aşılama programlarına önem verilmelidir.(57).

Şarbonla kontamine bir paket veya zarf kuşkusunda CDC tarafından aşağıdaki önlemlere uyulması önerilmektedir (58,59):

1. Zarfı veya paketi sallamayın ve açmayın
2. Zarfı veya paketi plastik bir torbanın veya akma ve sızıntıyı engelleyecek bir kabın içine koyun
3. Eğer torba veya kap bulunamazsa, zarfı her hangi bir şeyle (kağıt, örtü vb) örtün
4. Bulunduğunuz odadan çıkın, kapıyı sıkıca kapatın ve başkalarının girmesini engelleyin
5. Potansiyel ajanın yüzünüze ve cildinize bulaşmasını önlemek için Ellerinizi su ve sabunla iyice yıkayın
6. İş yerinde temas söz konusu ise güvenlik birimini eğer evde de temas sözkonusu ise yasal otoriteyi olaydan haberdar edin
7. Şüpheli paket ile temas eden kişileri belirleyin
8. Eğer zarf içindeki toz yere dökülür veya üstünüze bulaşırsa: Derhal dökülen tozun üstünü örtün ve odadan çıkın, toza bulaşmış giysilerinizi çıkartın ve bir torbaya koyup ağzını sıkıca kapatın. Su ve sabunla tüm vücudunuzu yıkayın

Biyolojik silah olarak kullanılabilecek ajanların kontrolü konusunda çeşitli uluslar arası girişimler ve toplantılar yapılmış ve zaman zaman bağlayıcı kararlar alınmıştır. Dünya Tabipler Birliği (WMA) 1990 yılında, 42. oturumunda Kimyasal ve Biyolojik Silahlar Konulu Bildirgeyi kabul etmiş, Tokyo bildirgesine gönderme yaparak sağlık hizmeti vermesi beklenen hekimlerin, kimyasal ve biyolojik silahların araştırılmasına katılmasını, kişisel ve bilimsel bilgilerini bu silahların keşfi ve üretiminde kullanmalarının etik olmadığını bildirmiştir. Ayrıca, WMA 2002 yılında Washington bildirgesinde biyolojik silah araştırmaları ve tıp etiği başlığı altında yeniden görüş ve önerilerini yayınlamıştır (60,61). Dünya sağlık örgütü (WHO) 1990 yılında çiçek virusunun stoklarının kullanımına ve dağıtımına kısıtlama getirmiş ve 1999 yılında yaptığı toplantıda da tüm dünyada çiçek virüsü stoklarının imha edilmesini karar altına almıştır. Daha sonra 2002 yılında Rusya ve ABD olmak üzere toplam iki merkezde stokların tutulması ve diğer tüm ülkelerdeki stoklarında yok edilmesi ve üç yıl sonra alınan kararın gözden geçirilmesi yönünde yeni bir karar almıştır (62,63). Uluslar arası yapılmaya çalışılan bu düzenlemeler yanında ülkelerin kendileri de biyolojik tehditlere karşı düzenlemeler yapmaktadır. ABD'de 2001 yılından sonra Mikrobiyal Genetik ve Adli Bilimler Bilimsel Çalışma Grubu (Scientific Working Group on Microbial Genetics and Forensics - SWGMGF) oluşturulmuştur. Bu çalışma grubu uyarı ve standartların oluşturulması, kalite kontrolü, veri paylaşımı, alarm durumunda standart çalışma programının hazırlanması çalışmalarının yanında eğitim çalışmalarını da yürütmektedir (1,2,6). Ayrıca ABD'de Adli Biyoloji Analiz Merkezi (BFCA), Ulusal Biyosavunma Analiz ve Önlem Merkezi(NBACC) gibi birimler kurulmuş ve bunların FBI ile adli mikrobiyoloji olgularında ortak olarak çalıştığı belirtilmektedir (2). Ülkemiz de biyoljik silahlar ve biyolojik suçlar açısından uluslar arası düzenlemelerin tarafıdır. Ayrıca Ayrıca TCK'nın çeşitli maddelerinde biyolojik suç kapsamına girebilecek suçlara ilişkin düzenlemeler yer almaktadır. Ülkemizde Adli Tıp Kurumu içinde altı ihtisas dairesi vardır. Adlî genetik şubesi

Biyoloji İhtisas Dairesi altında, Lâboratuvarlar şubesi (Adlî entomoloji, postmortem mikrobiyoloji, postmortem acil toksikoloji ve yangın laboratuvarından olumakta) de Morg İhtisas dairesi altında yer almaktadır (64).

Sonuç: Özellikle ani bebek ve çocuk ölümü olgularında olmak üzere enfeksiyon kuşkusu olan ölümlerde hem adli soruşturmanın bir parçası olarak hem de sorumlu etkenin saptanması için postmortem bakteriyolojik ve serolojik incelemelerin yapılması gerekmektedir. Ayrıca biyolojik silah tehtidinin varlığı ve biyolojik suçların işlenme potansiyeli nedeniyle adli mikrobiyolojik incelemeler önemlidir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına zaman zaman adli olgular ve postmortem incelemeler için klinik örnekler gönderilmektedir. Bu tip örneklerin değerlendirilmesinde, hukuki sorumluluklar göz önünde bulundurularak adli mikrobiyolojik incelemeler için kılavuzların önerilerinin dikkate alınması gerekmektedir. Bu tip incelemeler için deneyimli adli tıp uzmanları, klinik mikrobiyoloji uzmanları ve diğer laboratuvar çalışanlarına gereksinim vardır. Adli olgularda rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında deneyimlerin arttırılması ve standartların oluşturulması yanında, ileri mikrobiyolojik teknikler ile donatılmış referans laboratuvarlara da gereksinim vardır. Gerek Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlık eğitiminin bir parçası olarak ve gerekse uzmanlık sonrası sürekli mesleki gelişim programları içinde adli mikrobiyoloji konularında eğitim ve kursların düzenlenmesi yararlı olacaktır. Ülkemizde de adli bilimler, mikrobiyoloji ve epidemiyoloji bilim alanlarında deneyim paylaşımı ve çalışma gruplarının oluşturulması bu alanda yapılacak önemli girişimlerden biri olacaktır.

Kaynaklar

1. Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA, Introduction – The Rapidly Evolving Discipline of Microbial Forensics. In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier -California 2011: 1-4
2. Budowle B, Wilson MR, Burans JP, Breeze RG, Chakraborty R Adli mikrobiyoloji. In: Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE (Anğ Ö , Çeviri Editörü) eds Adli mikrobiyoloji , birinci baskı. Nobel tıp kitabevi-İstanbul 2011:1-25
3. Budowle B, Schutzer SE, Ascher MS, Atlas RM, Burans JP, Chakraborty R, et al. Toward a system of microbial forensics: From sample collection to ınterpretation of evidence. Appl Environ Microbiol. 2005; 71(5): 2209–13.
4. B. Budowlea,,. Chakraborty R. Genetic considerations for interpreting moleculer microbial forensic evidence International Congress Series 2004; 1261:56–58
5. Pattnaik P, Sekhar K forensics for tracing microbial signutures. İndian Journal of Biotecnology 2008; 7:23-31
6. Tuğ A, Adli bilimler ve mikrobiyoloji Adli Tıp Dergisi 2009; 23(1): 47-55
7. Khan AS, Pesik N Forensic Public Health: Epidemiological and Microbiological Investigations for Biosecurity. In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier - California 2011: 239-256
8. Budowle B. Genetics and attribution issues that confront the microbial forensics field. Forensic Sci Int. 2004;Dec 2(146): 185-8.
9. Jain S, Kumar A, Gupta P, Prasad R, Microbial forensics: a new forensic discipline JIAFM,2005 : 27:971-73
10. Salyers A A. Microbial Forensics, http://www.actionbioscience.org/newfrontiers/salyerspaper.html (13.07 2011 tarihinde ulaşıldı)
11. Budowle B,Harmon R. HIV legal precedent useful for microbial forensics. Croat Med J. 2005;46(4):514-2
12. Tsokos M, Püschel K . Postmortem bacteriology in forensic pathology: diagnostic value and interpretation. Leg Med (Tokyo)2001;3:15–22.
13. Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. Postmortem bacteriology: a re-evaluation. J Clin Pathol 2006;59:1-9.
14. Morris JA. The common bacterial toxins hypothesis of sudden infant death syndrome. FEMS Immunol Med Microbiol 1999;25:11-17.
15. Schutzer SE, Budowle B, Atlas RM.Biocrimes, microbial forensics and the physician PLoS.2005; 2:337
16. Budowle B, Schutzer SE, Burans JP, Beecher DJ, Cebula TA, Chakraborty R, Cobb WT et al. Quality sample collection, handling, and preservation for an effective microbial forensics program. Appl Environ Microbiol. 2006 ;72(10):6431-8
17. Budowle B, Schutzer SE, Morse SA, Martinez KF, Chakraborty R, Marrone BL, Messenger SL, Murch RS, Jackson PJ, Williamson P, Harmon R, Velsko SP. Criteria for validation of methods in microbial forensics. Appl Environ Microbiol. 2008 Sep;74(18):5599-607
18. Smith JAL Collection and Preservation of Microbial Forensic Samples, In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier -California 2011: 379-392
19. Roberts FJ, Procurement, interpretation, and value of postmortem cultures. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17:821–827
20. Hove M, Pencil SD. Effect of postmortem sampling technique on the clinical significance of autopsy blood cultures Hum Pathol. 1998;29(2):137-9.
21. Weber MA,. Hartley JC, Brooke I, Lock PE, Klein NJ, Malone M, Sebire NJ. Post-mortem interval and bacteriological culture yield in sudden unexpected death in infancy (SUDI) Forensic Science International 2010; 198 : 121–125

22. Wilson SJ, Wilson ML, Reller LB: Diagnostic utility of postmortem blood cultures. Arch Pathol Lab Med , 1993; 117:986-988
23. Klastersky J, Daneau D, Verhest A. Signifiancance of routin post-mortem bacteriological cultures. Pathol Biol 1972;20:843-847
24. Pryce JW, Roberts SE, Weber MA, Klein NJ, Ashworth MT, Sebire NJ. Microbiological findings in sudden unexpected death in infancy: comparison of immediate postmortem sampling in casualty departments and at autopsy J Clin Pathol. 2011 ;64(5):421-5
25. Highet AR, BerryAM, GoldwaterPN. Novel hypothesis for unexplained sudden unexpected death in infancy (SUDI). Arch Dis Child 2009;841–3.
26. Lobmaier IVK, Vege A, Gaustad P, Rognum TO. Bacteriologica linvestigation significance of time lapse after death Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28:1191–1198
27. Weber MA, Sebire NJ. Molecular Diagnostic Techniques in the Post-Mortem Investigation of Sudden Unexpected Infant Deaths: Current and Future Applications The Open Pathology Journal, 2010, *4*, 110-119
28. Weber MA, Klein NJ, Hartley JC, *et al.* Infection and sudden unexpected death in infancy: a systematic retrospective case review. Lancet, 2008;371:1848–53.
29. Pakiş I , Koç S, Perinatal ve Neonatal Dönem Bebek Ölümleri Klinik Gelişim 2009; 60-63
30. Prtak L, Al-Adnani M, Fenton P, et al. Contribution of bacteriology and virology in sudden unexpected death in infancy. Arch Dis Child 2010;95:371-6.
31. Kallerman GD, Waterman NG, Scharfenberger LF, Demonstration in vitro of postmortem bacterial transmigration Am J clin pathol 1976; 66: 911-915
32. Saegeman V, Verhaegen J, Lismont D, Verduyckt B, Rijdt DT, Ectors N, Influence of postmortem time on outcome of blood cultures among cadaveric tissue donors. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28: 161-168
33. Morris JA, Harrison LM, Partridge SM Practical and theoretical aspects of postmortem bacteriology. Curr Diagn Pathol 2007; 13:65–74.
34. Mazuchowski Edward L. II, Patricia A. MeierThe Modern Autopsy: What to Do if Infection Is Suspected Archives of Medical Research 2005; 36: 713–723
35. 35- Fernández-Rodríguez A, Ballesteros S, de Ory F, Echevarría JE, Alvarez-Lafuente R, Vallejo G, Gómez J. Virological analysis in the diagnosis of sudden children death: a medico-legal approach Forensic Sci Int. 2006 10;161(1):8-14.
36. Padley D, Ferguson M, Warwick RM, Womack C, Lucas SB, Saldanha J. Challenges in the testing of non-heartbeating cadavers for viral markers: implications for the safety of tissue donors. Cell Tissue Bank 2005; 6:171–179
37. Heim A, Wagner D, Rothamel T, Hartmann U, Flik J, Verhagen W. Evaluation of serological screening of cadaveric sera for donor selection for cornea transplantation. J Med Virol 1999; 58:291–295
38. Cahane M, Barak A, Goller O, Avni I, The incidence of hepatitis C virus positive serological test results amongcornea donors. Cell Tissue Bank 2000; 1:81–85
39. Challine D, Roudot-Thoraval F, Sabatier P, Dubernet F, Larderie P, Rigot P, Pawlotsky JM (2006) Serological viral testing of cadaveric cornea donors. Transplantation 82:788–79
40. Kitchen AD, Newham JA. Qualification of serological infectious disease assays for the screening of samples from deceased tissue donors Cell Tissue Bank. 2011;12(2):117-24.
41. Kitchen AD, Gillan HL . The serological screening of deceased tissue donors within the English Blood Service for infectious agents—a review of current outcomes and a more effective strategy for the future. Vox Sang 2010; 98: 193-200
42. Engelthaler DE, S. SA, Forensics and Epidemiology of Fungal Pathogens In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier -California 2011: 297-314
43. Hawksworth DL, Wiltshire PEJ, Forensic mycology : the use of fungi in criminal investigations Forensic Sci Int 2011; 206: 1-11
44. Eshoo MW, Picuri J , Duncan DD, Ecker DJ, Microbial Forensic Analysis of Trace and Unculturable Specimens. In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier -California 2011: 155-171
45. Skowronskia E , LipkinWI, Molecular Microbial Surveillance and Discovery in Bioforensics, In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. *2nd Edition*. Elsevier-California 2011:173-182
46. Cooke CL, Seçilmiş genetik tiplendirme yöntemlerinin gözden geçirilmesi In: Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE (Anğ Ö , Çeviri Editörü) eds Adli mikrobiyoloji , birinci baskı. Nobel Tıp Kitabevi- İstanbul 2011:233-247
47. Budowle B. Genetics and attribution issues that confront the microbial forensics field. Forensic Sci Int. 2004 ;146S:S185-8.
48. Schaldach CM, Benc G, De Yoreo JJ et al. Biyolojik özellikler için DNA'sız yöntemler In: Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE (Anğ Ö , Çeviri Editörü) eds Adli mikrobiyoloji , birinci baskı. Nobel Tıp Kitabevi- İstanbul 2011:252-291

49. Klietmann W F, Ruoff KL. Bioterrorism: Implications for the Clinical Microbiologist Clin Microbiol Rev. 2001 April; 14(2): 364–381
50. Erkol Z, Gökdal İİ, Erkol H, Yücel F, Enjektörle HIV Bulaştı: Modern Çağın Suç İşleme Yöntemi. Adli Tıp Dergisi / Turkish Journal of Forensic Medicine, 24, Sayı / No:3
51. Keim P. Microbial forensics: a scientific assessment. *http://www.osti.gov/energycitations/product.biblio.jsp?osti_id=808025* (17.07. 2011 tarihinde ulaşıldı)
52. Popoviæ T, Glass M. Laboratory Aspects of Bioterrorism-related Anthrax – from Identification to Molecular Subtyping to Microbial Forensics Croat Med J 2003;44:336-341
53. Dalgıç M, Tuğcu H, Can İÖ, Özaslan A, Otopside biyogüvenlik Adli Tıp Dergisi 2004;18(2): 61-66
54. Ozsoy S, Demirel B, Albay A, Kisa O, Dinc AH, Safali M. Tuberculosis prevalence in forensic autopsies Am J Forensic Med Pathol. 2010 Mar;31(1):55-7.
55. Büyük Y, Üzün İ, Müslümanoğlu Ö, Adli otopsilerde tüberküloz kaynaklı ölüm olguları ışığında otopside biyo-güvenlik Adli Tıp Dergisi 2005; 19(2): 9-15
56. Burton JL . Health and safety at necropsy. J Clin Pathol 2003; 56: 254-260
57. Sewell DL. Laboratory safety practices associated with potential agents of biocrime or bioterrorism J Clin Microbiol. 2003 ;41(7):2801-9
58. CDC. Update: Investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for exposure management and antimicrobial therapy. October 2001. MMWR 2001;50:909-19.
59. Akova M. Şarbon ve Biyolojik silahlar www.ttb.org.tr/eweb/biyolojik/index.html (28 .09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)
60. WMA Declaration on Chemical and Biological Weapons http://www.wma.net/en/30publications/10policies/20archives/b2/ (29.09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)
61. WMA Declaration of Washington on Biological Weapons http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b1/ (29.09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)
62. Berche P. The threat of smallpox and bioterrorism. Trends in Microbiology 2001; 9:15
63. Tegnell A, Wahren B, Elgh F. Smallpox-eradicated but a growing terror threat. Clin Microbiol Infect 2002;8:504
64. http://www.atk.gov.tr/ (29.09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)

SIK GÖRÜLEN NADİR TANI KONAN, NADİR GÖRÜLEN SIK TANI KONAN BAĞIRSAK PARAZİTLERİ
ENTAMOEBA HİSTOLYTİCA

Mehmet TANYÜKSEL
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Entamoeba histolytica insanları enfekte ederek amibiyaza (amebiasis) yol açan bir protozoan parazittir. İntestinal amibiyazın spektrumu kolonizasyondan fulminan ishal ve intestinal hemorajiye kadar değişiklik göstermektedir. Parazitin yayılımı intestinal epitelin invazyonundan trofozoitlerin intestinal dışı bölgeleri işgal etmesiyle olmaktadır. *E. histolytica* dünya çapında yayılım göstermektedir. Enfekte kişilerin çoğu asemptomatik taşıyıcılardır ki bunlar *E. histolytica'*nın diğer kişilere geçişi için rezervuar görevi görmektedir. ABD'de enfeksiyon prevalansı %1-2'dir. Klinik amibiyaz olguları tüm dünyada özellikle Afrika, Güney Amerika ve Hindistan alt kıtasının gelişmemiş ya da gelişmekte olan ülkeleri ile Meksika'da olmak üzere oldukça yaygındır. *E. histolytica*'nın neden olduğu hastalık nedeniyle yaklaşık her yıl 500 milyon kişi hasta olmakta ve 100 bin olgu da invaziv amibiyaz nedeniyle kaybedilmektedir. Amibiyaz; sıtma ve şiztozomiyazdan sonra paraziter hastalıklar içinde ölümle sonuçlanan üçüncü hastalıktır. *E. histolytica*'da su ve yiyeceklerdeki kontaminasyonun temel kaynağı olan kistleri içeren kanalizasyon, su kaynakları ve insan atıklarının gübre olarak kullanılması durumunda tarım alanlarını kontamine edebilmektedir. Sinekler ve hamam böcekleri *E. histolytica* kistlerinin taşınmasında vektör olarak görev yapabilmektedirler. Gelişmiş ülkelerde ise amibiyaz endemik bölgelere seyahatler sonrası dönen bireyler ile homoseksüel popülasyonlarda görülmektedir.

E. histolytica bazı bireylerde invaziv seyir göstererek amibik kolit ve amibik apselere yol açabilirken, morfolojik olarak benzerlik gösteren ve sadece *E. histolytica* spesifik antijen ELISA, izoenzim analizi ve moleküler yöntemlerle ayrılabilen *E. dispar* invaziv seyir göstermediği için herhangi bir klinik tablo oluşturmamaktadır. Bunlara ilâveten, yine morfolojik olarak benzerlik gösteren gerek dünyada gerekse de Türkiye'de non-patojen olduğu bilinen amip türü *E. moshkovskii*'nin varlığı da bildirilmiştir.

Amibiyazda laboratuvar tanı yöntemleri içinde birçok seçenek olmasına karşın duyarlılık ve özgüllükleri konusunda sorunlar yaşanmaktadır. Bunlar içinde antijen saptama ve moleküler yöntemler en çok güvenilir, duyarlılık ve özgüllükleri en yüksek olan yöntemlerdir.

E. histolytica için laboratuvar tanı yöntemleri:

- Mikroskopi (direkt, kalıcı boyama)
- Kültür / İzoenzim analizi
- Dışkıda/apse materyalinde/serumda antijen saptama yöntemleri (ELISA, vb.)
- Serumda antikor saptama yöntemleri (IHA, ELISA, IFA, vb.)
- Moleküler yöntemler (Klasik /real-time PCR, vb.)
- Hızlı tanı testleri

Amibiyaz etkeni olan *E. histolytica*'nın laboratuvar tanısında ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Ülkemizde bildirilen *E. histolytica* sonuçlarına göre sıklığı çoğunlukla ya çok yüksektir (overdiagnosis) ya da atlanması nedeniyle bazı laboratuvarlarda düşüktür. İnvaziv amibiyaz tanısında ne yazık ki ekonomik, basit ve pratik olması yanında laboratuvar altyapı yetersizlikleri ve alışkanlıklar nedeniyle mikroskopi ön plandadır. Dışkıda *E. histolytica* trofozoitleri ile kistlerin ve dokuda trofozoitlerin tespiti amibik enfeksiyonlar için tanısal değeri yüksektir. Bu amiplerin kommensal amipler arasındaki farklılıklar olduğu kadar polimorf nüveli lökositlerle amipler arasındaki farklılıklar da iyi bilinmelidir. Dışkı örneklerinin mikroskobik incelemesi yetersizdir, çünkü protozoonlar örneklerde homojen olarak dağılmazlar ve parazitler apselerin kenarlarında ve intestinal ülserlerde yoğunlaşırlar, dışkı ve nekrotik apse merkezlerinde bulunmazlar. Amibiyaz ön tanılı *E. histolytica* rapor edilen olguların yaklaşık %90'a yakın kısmı *E. dispar* olma ihtimali yüksek bulunmakta; dolayısıyla hastalar yanlış tanı ve gereksiz tedavi ile karşılaşabilmektedirler. Özellikle dışkı örneklerinde antijen saptamaya yönelik kitlerde (ELISA gibi) *E. histolytica* lektine karşı monoklonal antikorların kullanılması daha sıklıkladır. Ancak son zamanlarda bu testlerde de tanı yönüyle sıkıntılar oluştuğu yeni ve eski enfeksiyonların ayrımında sorunlar olduğu ülkemizde yaygın olarak bulunan bazı *E. dispar* enfeksiyonlarında yalancı pozitifliklerin yaşandığı görülmekte; duyarlılığı ve özgüllüğü konusunda ciddi endişeler bulunmaktadır. Hızlı tanı testlerinde istenilen düzeye henüz ulaşılamamıştır. Dolayısıyla şu anda en çok güvenilen testler moleküler yöntemlerdir (klasik PCR, real-time PCR gibi). Geleneksel yöntemlerle konan tanının doğrulanması ve tür tayini çalışmalarında moleküler yöntemlerin ELISA'ya karşı üstünlükleri göz ardı edilemez. *E. histolytica'*nın kültüründe başarı oranı referans laboratuvarlarında bile %50-70 aralığındadır. *Entamoeba histolytica*'nın kültür – zimodemi ile patojen – non patojen ayrımı mümkündür, ancak pratik olmaması ve kontaminasyon nedeniyle yaygın kullanılamamaktadırlar. Klinik örneklerden (dışkı, apse materyali gibi) *E. histolytica* kültürü anlamlı düzeyde yalancı negatiflik oranına sahip olması, teknik olarak zorluğa sahip olması, rutin klinik laboratuvarlarında bu yöntemin kullanılmamasına neden olmaktadır. Günümüzde bu yöntem tanı ve suşlar arası genetik analizlerde (suş içi varyasyon) kontaminasyon (özellikle bakteriyel izoenzimler), zahmetli olması, zaman kaybı ve sınırlamaları nedenleriyle son yıllarda tercih edilen yöntemler arasında bulunmamaktadır. Klasik PCR uygulamalarının ise zahmetli olmaları, zaman almaları, pratik uygulama zorlukları, farklı yorumlar real-time PCR uygulamalarına gereksinimi arttırmıştır. Dışkı örneklerinde *E. histolytica* antijen özellikli ELISA ya da DNA

saptama (real-time PCR çok daha duyarlıdır) testleri kesin tanı için şimdilik en bilimsel seçeneklerimizdir. Ülkemizde sağlıklı, doğru ve standart biçimde yapılamayan ve de çoğunlukla da mikroskobik bakıya dayalı olduğundan yanlış tanılara yol açan doğruluğundan kuşkulu amibiyaz bildirimleri mevcuttur ve bu konuda yapılmış daha bilimsel çalışmalara gereksinim vardır. *E. histolytica* tanısında mikroskopi, dışkı antijen ELISA ve serum antikor testlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin çalışıldığı son araştırmalarda altın standart/referans test olarak moleküler yöntemler-özellikle de real-time PCR- düşünülmektedir. İntestinal amibiyaz olgularında bu örneklerin yanı sıra idrar ve tükürük örneklerinde dahi real-time PCR'ın duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bulunmuştur. Günümüzde *E. histolytica*'nın yanı sıra *Giardia intestinalis* ve *Cryptosporidium* spp saptayabilen multipleks real-time PCR yöntemleri de tanımlanmıştır.

Amibiyazda klinik belirtiler, *E. histolytica*'nın bağırsak duvarını aşmasıyla başlamaktadır. İntestinal tutulumlu amibiyazlı hastalarda en sık ishal, kanlı dışkılama, karın ağrısı, tenesmus ve kilo kaybı görülmektedir. Genellikle ateş ve sistemik belirtiler görülmemektedir. Bu yönüyle bakteriyel kaynaklı dizanteriden rahatlıkla ayrılabilir. Parazitin karaciğere yerleştiği durumlarda (amibik karaciğer apsesi-AKA) ise; sağ üst kadranda ağrı, kilo kaybı, öksürük, ishal, ateş, titreme, terleme, iştahsızlık ve mide bulantısı görülmektedir.

Amibiyazda konak-parazit ilişkisi karmaşıktır. Parazite karşı insanın konak olarak doğal yanıtının farklı olması hâlâ çözülememektedir. İnsan kompleman sistemi amibik enfeksiyona karşı erken konak savunması için önemlidir. Kan akımı ile bağırsaklardan yayılan *E. histolytica* işgal eden patojenlere karşı konak direncinin doğal mekanizmasının diğer kompenenti olan komplemana maruz kalmaktadır. *E. histolytica*'nın Gal/GalNAc lektin molekülü sekans homoloji ve CD59 (eritrositteki C5b-9 membran inhibitörüdür) ile antijenik çapraz reaktivitesine sahiptir. *E. histolytica* Gal/GalNAc lektin molekülü adhezindeki hem moleküler saklanması hem de kompleman inhibitör fonksiyonlarına sahiptir. Gal/GalNAc lektin C8 ve C9'a etkili biçimde bağlanır, membran atak kompleks formasyonundan ve sonraki oluşacak hücre lizisinden korur. Gal/GalNAc lektinin kesin bilinen rolü bu molekülün spesifik antikorla muamele edilmesini takiben amibik kompleman direncinin ortadan kaldırılmasıdır.

E. histolytica'nın patojenitesine katkıda bulunan değişik faktörler varken bazıları hâlâ tanımlanamamıştır. Bununla birlikte parazitin üç patojen faktörün moleküler seviyede yoğun biçimde araştırılması sonucu varlıkları bildirilmiştir: *Gal/GalNAc adhezin* (konak hücreye adhezyon ve kompleman direncine katkıda bulunan), *amoebapor* (hedef hücre membranında por oluşturan küçük peptidler) ve *sistein proteinaz* (doku invazyonu, konak savunmasından kaçınma ve bağırsak inflamasyonunda anahtar rol oynar).

Parazitin doğal ve kazanılmış immün yanıttan kaçışında dört mekanizma çalışmaktadır:

a. Parazit proteazlarıyla antikorların degradasyonu
b. Spesifik antikorların etkisiyle, B lenfositlerin membranı üzerine antijen reseptör alanlarının yerleşmesi sonucu immün komplekslerin atlatılması
c. T hücrelerinin anerjisi ve makrofaj supresyonu
d. Kompleman direnci.

Amibiyazda sorunlardan birisi de klinik tablolardaki farklılıklardır. Nasıl oluştuğu hâlâ bilinmeyen ve çözülemeyen sorular vardır. Bunlardan birisi de bazı hastalarda klinik olarak kolit bazı hastalarda asemptomatik kist taşıyıcılığı oluşmasıdır. Buna ilaveten bazı hastalarda da intestinal dışı tutulum sonrası apse oluşumudur. Kuşkusuz klinik tabloda parazitin virülansı olduğu kadar konak immünitesi de önemli rol oynar. Bir diğer nokta da hastada saptanan parazit (amip) yükü ile klinik tablo ilişkisidir. Ülkemizin belli bir bölgesinde az sayıda izolatla yapılan proje çalışmasında farklı genotiplerin olabileceği, ishal oluşumunda farklı genotiplerin rol alabileceği, 10^2 ve üzeri parazit yükünün ishal oluşumuna katkıda bulunacağı ancak kesin bir kural olmadığı, 10^3 olarak saptanan parazit yüküne sahip asemptomatik bireylerin de olabileceği kanaatine ulaşılmıştır. Çalışmalarda dikkati çeken bir diğer nokta da bazı bireylerin parazit yükünün az olması durumunda klasik PCR'ın bu saptamada yetersiz kalacağı ve dolayısıyla tanı ve tedavide sıkıntılar yaşanacağıdır. O nedenle doğru ve güvenilir tanıda real-time PCR gibi güvenilir, yüksek duyarlılık ve özgüllükte yöntemlerin referans alınması gerektiğidir. Bir diğer önemli nokta da *E. dispar* ile enfekte bazı bireylerde de ishal gibi semptomların saptanmasıdır. Bu da amibiyaz patogenezine katkıda bulunabilecek *E. dispar* genotiplendirmesi üzerine detaylı araştırmalara gereksinim duyulduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; klinisyenler için en çok bilinen ancak tanısında en çok hata yapılan bir parazit olan *E. histolytica* için aynı coğrafik bölgelerde farklı suşların varlığı söz konusudur, bu da klinik görünümü (ishal) etkileyebilmektedir. Belki de amibiyazın diğer bağırsak hastalıklarıyla birlikteliği ya da taklit edebileceğini düşünmek gerekmektedir. Laboratuvar ve klinik işbirliği ile en doğru tanı ve tedavi amibiyaz için zorunludur. Bu nedenle de, amibiyaz tanı ve patogenez temelli çalışmalarında virülans ve suşlar arası farklılıklarda yüksek derecede heterojeniteye sahip *E. histolytica* suşlarının varlığı kabul edilmelidir. İshal/dizanteri varlığında akıllara sadece *E. histolytica* gelmemelidir. Asemptomatik ya da semptomatik (ishal ya da dizanteri) amibiyaza neden olduğunu saptayabilmek amacıyla Türkiye'de mutlaka klinisyenlerin de katıldığı çok daha fazla geniş kapsamlı, iyi düşünülerek plânlanmış ve organize moleküler epidemiyolojik çalışmalara ihtiyacımız vardır.

Kaynaklar

1. Ayeh-Kumi PF, Ali IKM, Lockhart L, Petri WA Jr., Haque R. Entamoeba histolytica: Genetic diversity of clinical isolates from Bangladesh as demonstrated by polymorphisms in the serine-rich gene. Exp Parasitol, 99, 80-8, (2001).

2. Blessmann J, Ali IKM, Nu PA, Dinh BT, Viet TQ, Van AL, Clark CG, Tannich E. Longitudinal study of intestinal Entamoeba histolytica infections in asymptomatic adult carriers. J Clin Microbiol, 41, 4745-50, (2003).
3. Blessmann J, Buss H, Nu PA, Dinh BT, Ngo QT, Van AL, Alla MD, Jackson TF, Ravdin JI, Tannich E. Real-time PCR for detection and differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar in fecal samples. J Clin Microbiol, 40, 4413-7, (2002).
4. Braga LL, Ninomiya H, McCoy JJ, et al. Inhibition of the complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesion of Entamoeba histolytica. J Clin Invest 90(3):1131–7, (1992).
5. Calderon J, Tovar R. Loss of susceptibility to complement lysis in Entamoeba histolytica HM1 by treatment with human serum. Immunology, 58, 467–471, (1986).
6. Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Laboratory diagnostic techniques for Entamoeba species. Clin Microbiol Rev., 20(3), 511-32, (2007).
7. Gonin P, Trudel L. Detection and differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar isolates in clinical samples by PCR and enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol, 41, 237-41, (2003).
8. Haque R, Kabir M, Noor Z, Rahman SM, Mondal D, Alam F, Rahman I, Al Mahmoud A, Ahmed N, Petri WA Jr. Diagnosis of amebic liver abscess and amebic colitis by detection of Entamoeba histolytica DNA in blood, urine, and saliva by a real-time PCR assay. J Clin Microbiol., 48(8), 2798-801, (2010).
9. Huston CD, Haque R, Petri WA, Jr. Molecular-based diagnosis of Entamoeba histolytica infection. Expert Rev Mol Med., 1-11, (1999).
10. Kebede A, Verweij JJ, Endeshaw T, Messele T, Tasew G, Petros B, Polderman AM. The use of real-time PCR to identify Entamoeba histolytica and E. dispar infections in prisoners and primary-school children in Ethiopia. Ann Trop Med Parasitol, 98, 43-8, (2004).
11. Solaymani-Mohammadi S, Petri WA Jr. Intestinal invasion by Entamoeba histolytica. Subcell Biochem., 47: 221–32, (2008).
12. Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A. Entamoeba histolytica: mechanism of surface receptor capping. Exp Parasitol., 79(3):424–35, (1994).
13. Stark D, van Hal S, Fotedar R, Butcher A, Marriot D, Ellis J, Harkness J. Comparison of stool antigen detection kits to PCR for diagnosis of amebiasis. J Clin Microbiol., 46(5), 1678-81, (2008).
14. Tanyuksel M, Ulukanligil M, Guclu Z, Araz E, Koru O, Petri WA Jr. Two cases of rarely recognized infection with Entamoeba moshkovskii. Am J Trop Med Hyg., 76(4), 723-4, (2007).
15. Tanyuksel M, Petri WA Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. Clin Microbiol Rev., 16, 713-29, (2003).
16. Tanyüksel M, Özekinci T, Ceylan A, Araz E, Güçlü Z. Amebiyaz Kliniği ile Entamoeba histolytica'nın genotipi arasındaki ilişkinin araştırılması. TÜBİTAK SBAG Projesi, (2011).
17. Tanyüksel M, Yazar S. İntestinal ve Ürogenital Protozoonlar. Çeviri Editörleri: Başustaoğlu A, Yıldıran ŞT, Tanyüksel M, Yapar M. , In: Tıbbi Mikrobiyoloji, 6. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara; 821-834, (2010).
18. Tanyuksel M, Petri WA Jr, Amebiasis, eds: Rakel RE, Bope ET., In: Conn's Current Therapy, Saunders Elsevier, Philadelphia, 66-71, (2006).
19. Tanyuksel M, Yilmaz H, Ulukanligil M, Araz E, Cicek M, Koru O, Tas Z, Petri WA Jr. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. Exp Parasitol. 110, 322-6, (2005).
20. Tanyuksel M, Ulukanligil M, Yilmaz H, Guclu Z, Araz E, Mert G, Koru O, Petri WA Jr. Genetic variability of the serine-rich gene of Entamoeba histolytica in clinical isolates from Turkey. Turk J Med Sci., 38(3), 239-44, (2008).
21. Visser LG, Verweij JJ, Van Esbroeck M, Edeling WM, Clerinx J, Polderman AM. Diagnostic methods for differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar in carriers: performance and clinical implications in a non-endemic setting. Int J Med Microbiol., 296(6), 397-403, (2006).
22. Ximenez C, Cerritos R, Rojas L, Dolabella S, Morán P, Shibayama M, González E, Valadez A, Hernández E, Valenzuela O, Limón A, Partida O, Silva EF. Human Amebiasis: Breaking the Paradigm? Int J Environ Res Public Health, 7, 1105-20, (2010).
23. Zambrano-Villa S, Rosales-Borjas D, Carrero JC, et al. How protozoan parasites evade the immune response. Trends Parasitol 2002;(6):272–278.
24. World Health Organization: Amebiasis. WHO Weekly Epidemiological Records, 97-100, (1997).

SIK GÖRÜLEN NADİR TANI KONAN, NADİR GÖRÜLEN SIK TANI KONAN BAĞIRSAK PARAZİTLERİ
BLASTOCYSTİS SPP. VE DİENTAMOEBA FRAGİLİS

Nogay GİRGİNKARDEŞLER
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji ABD, Manisa

Blastocystis spp.

Blastocystis insan ve birçok hayvanda bulunan sıra dışı anaerobik bir bağırsak protozoonudur. Tüm dünyada yaygın bir dağılım gösterir ve parazitolojik incelemelerde en sık izole edilen organizmalardan biridir. İlk olarak 1900'lerin başında tanımlanmasına rağmen, Blastocystis biyolojisi hakkındaki detaylı bilgiler son on yılda kazanılmıştır. Bununla birlikte, parazitin pleomorfik yapısı ve kullanılan tekniklerdeki standardizasyon eksikliği karışıklığa, bazı durumlarda ise verilerin yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir. Bu durum parazitin laboratuvar tanısının, çoğalma şeklinin, evriminin, insidans ve patogenizinin anlaşılmasını engellemektedir (Tan, 2008). Epidemiyolojik, in vivo ve in vitro bazı çalışmalardan elde edilen veriler Blastocystis'in patojen olduğunu işaret etmektedir. Doğada Blastocystis'in birçok genotipi bulunmaktadır ve insanların çok sayıda zoonotik genotiplere konak görevi yaptığı gösterilmiştir. Bu kadar genetik çeşitliliğin bulunması, Blastocystis'in patogenizi hakkında daha önce ortaya atılan ve çelişen verilerin patojen ve apatojen genotiplere bağlı olabileceğini düşündürmektedir (Abe, 2004; Noel ve ark., 2005).

Genetik Çeşitlilik

İnsan ve hayvanlardan izole edilen Blastocystis spp. birbirine morfolojik yönden benzese de, farklı olduğunu söyleyen araştırmalar da bulunmaktadır. Bununla birlikte, yine de bir Blastocystis izolatını diğerinden tek başına morfolojik olarak ayırt etmek mümkün değildir. Hem insanlar hem de hayvanlardan elde edilen çok sayıda izolatlar arasında büyük genetik varyasyonlar gözlemlenmiştir. Blastocystis spp. genetik çeşitliliğini araştırmak için çok sayıda moleküler teknik geliştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda kullanılan yöntemler arasında PZR-restriction fragment length polymorphism (RFLP), PZR sonrası dideoksi sekanslama yapılması, küçük-alt ünite rRNA (ssrRNA) geniyle PZR-RFLP ve subtip spesifik (sequence-tagged site [STS]) primerleri ile PZR uygulanması sayılabilir. Blastocystis'in bugün için gösterilebilen 13 subtipi olduğu bilinmektedir (Tan, 2008 ve Parkar, 2010). Noel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gösterilen 7 subtipin 6'sının hem insan hem de hayvanlardan elde edilen izolatlarda varlığı gösterilmiş, böylelikle Blastocystis türlerinin hayvan-insan ve insan-hayvan arasında bulaşma gösterebileceği ve hayvanların insan enfeksiyonları için büyük bir potansiyel rezervuar olabileceği kanısına varılmıştır (Noel ve ark., 2005).

Morfoloji

Blastocystis polimorfik bir protozoondur ve başlıca 4 formu tanımlanmıştır. Blastocystis spp. tek bir kültürde dahi şaşırtıcı derecede değişik formlarda karşımıza çıkabilir ve bu da organizmayı spesifik bir formda tanımlamayı güçleştirmektedir. Blastocystis formları arasındaki bu yoğun çeşitlilik, hem hücre biyolojisi hakkındaki araştırmaları dikkat çekici hale getirmekte hem de zaman zaman verilerin yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir (Tan, 2008).

Vakuoler veya bazen de merkezi vakuoler olarak da adlandırılan form dışkı örneklerinde ve laboratuvar kültüründe en sık gözlemlenen şekildir. Küresel bir yapısı vardır ve 2-200 µm arasında değişen geniş bir yelpazede büyüklük varyasyonları gösterebilir. Ortalama büyüklüğü 4-15 µm kabul edilebilir. Boyutlarındaki büyük farklılık izolatlar arasında veya içinde dahi görülebilir. Vakuoler formda hücrenin yaklaşık %90'ını kaplayan geniş merkezi bir vakuol bulunmaktadır. Ortada bulunan bu vakuol sitoplazmayı ve organelleri ince periferal kenara doğru iter, bu da zaman zaman bunların ışık mikroskobuyla görülmesini güçleştirir. Nükleus ve mitokondri benzeri organeller ise hücrenin diğer tarafında sitoplazmanın biraz daha kalın olan bölgesinde bulunur. Merkezde bulunan vakuolde bulunan karbonhidrat ve lipidler sayesinde hücre içerisinde depo görevi gören bir organel olduğu düşünülebilir. Vakuolün aynı zamanda şizogoni-benzeri çoğalmada da görev aldığı öne sürülmüştür (Stenzel ve Boreham, 1996).

Granüler form, granüllerinin sitoplazma veya daha sık olarak merkezi vakuol içerisinde bulunması nedeniyle vakuoler forma çok benzer. Büyüklükleri 6,5-8 µm arasında değişir. Bunlar daha çok aksenik olmayan, eski ve antibiyotik uygulanmış kültür ortamlarında gözlemlenirken, parazitin ayrı bir formu olmasından çok granül içeren vakuoler form olarak da tanımlanmıştır. İntrasellüler granüller heterojen yapıdadır ve myelin-benzeri inklüzyon, küçük veziküller, kristalin granülleri ve lipid damlacıkları olarak da nitelendirilmiştir (Boreham ve Stenzel, 1993).

Ameboid form nadiren gözlemlenir ve bu morfolojik tipi neyin meydana getirdiği hakkında çelişki araştırmalar bulunmaktadır. Bu hücreler düzensiz bir yapıdadır ve bazılarında bir veya iki geniş psödopod bulunmaktadır. In vitro kültür ortamında yarı katı besiyerinde ortalama 10-15 µm büyüklüğü bulunan vakuoler forma benzeyen ancak bir veya iki psödopodu bulunan Blastocystis kolonileri gözlemlenebilir. Ameboid formun içerisinde bakteri ve bakteriyel artıkların varlığı bu formun beslenmede rol oynadığını düşündürmektedir. Ameboid formun patogenezde de rol aldığını öne süren araştırmalar bulunmaktadır. Psödopod benzeri sitoplazmik uzantılara karşın, ameboid form hareketsizdir (Tan ve Suresh, 2006).

Kist formu parazitin en son tanımlanan formudur ve geç keşfedilmesinin nedeni 2-5 µm arasında değişen küçük boyutları olabilir. Küçük boyutları yüzünden kist formu dışkı atıkları ile karışabilmekte ve laboratuvarda kültür ortamında seyrek olarak gözlemlenmektedir. Kistlerin şekilleri değişken olabilmekle birlikte, genellikle oval veya

küresel yapıdadır. Kist sitoplazmasında bir-dört nükleus, mitokondri, glikojen depoları ve küçük vakuoller bulunabilir. Kistler suda normal ısıda 19 güne kadar canlı kalabilir ancak, aşırı sıcaklıklarda ve sıklıkla kullanılan dezenfektanlar karşısında canlılığını yitirdiği gösterilmiştir (Moe ve ark., 1996). Bir diğer çalışmada ise kistlerin 25^{o}C'de 1 ay, 4^{o}C'de 2 ay canlı kalabildiği bildirilmiştir (Yoshikawa ve ark., 2004a). Araştırmaların arasındaki canlılık farkı izolat varyasyonlarına bağlı olabilir. Buna karşın, vakuoler ve granüler formlar ısı değişimlerine, ozmotik şoka ve havayla temasa karşı hassastır. Balb/c fareleri, sıçanlar ve çeşitli kuş türleri ile yapılan deneysel enfeksiyon modelleri kistlerin kuşkusuz enfeksiyonun bulaşmasından sorumlu form olduğunu göstermiştir (Moe ve ark., 1996).

Blastocystis'in avakuoler ve mültivakuoler formları da tanımlanmıştır. Bu formlar taze dışkı örneklerinden hazırlanan transmisyon elektron mikroskobuyla (TEM) kültürdeki formlarından çok daha küçük olduğu (5-8 µm) gösterilmiş ve in vivo koşullarda oluşan şekiller olduğu düşünülmüştür. Avakuoler formda merkezi vakuol bulunmazken, multivakuoler form çok sayıda küçük vakuol içermektedir (Zhang ve ark., 2007).

Epidemiyoloji

Blastocystis tüm dünyada çok sık rastlanan ve yaygın dağılım gösteren bir parazittir. Epidemiyolojik çalışmalarda en sık saptanan parazit olması sıra dışı bir durum değildir. İnsidans ülkeden ülkeye olduğu gibi aynı ülke içerisinde çeşitli topluluklar arasında da çok büyük değişkenlik göstermektedir. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş olanlardan daha yüksek oranda Blastocystis insidansı saptanmakta bu durum; kötü temizlik koşullarına, hayvanlarla daha sık temasa ve kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmesine bağlanmaktadır. İnsidans Japonya (%0,5-1) ve Singapur (%3,3) gibi gelişmiş ülkelerde az iken, Brezilya (%40,9) ve Endonezya (%60) gibi gelişmekte olan ülkelerde yüksek bulunmuştur (Hirata ve ark., 2007, Wong ve ark., 2008, Aguiar ve ark., 2007, Pegelow ve ark., 1997). Türkiye'de yapılan çalışmalarda da ortalama %1,04 ile %18,3 arasında değişen oranlarda Blastocystis insidansı bildirilmiştir (Akdemir ve Helvacı, 2007; Çulha 2006). Saptanma oranlarındaki farklılıklar kullanılan farklı tanı yöntemlerine ve parazitin vakuoler form dışındaki evrelerinin tanınma güçlüğüne bağlı olabilir.

Son zamanlarda gerçekleştirilen araştırmalar, taze dışkı örneklerinden veya dışkı kültüründen Blastocystis DNA'sının PZR ile analizi genotipler hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır. Bunun gibi çalışmalar sonucunda insan toplulukları ve hayvan konakları arasında Blastocystis genotiplerinin dağılımı ve ayrıca bulaşma yolları veya kaynakları için de fikir vermiştir. Yoshikawa ve arkadaşları Bangladeş, Almanya, Japonya, Pakistan ve Tayland'da insanlardan elde ettikleri izolatlarda PZR temelli genotip sınıflandırmasını kullanarak Blastocystis genotiplerinin dağılımını araştırmışlardır. Tayland dışında dört ülkede en sık subtip 3 (%41,7-92,3), sonrasında sırasıyla subtip 1 (%7,7-25) ve subtip 6 (%10-22,9) bulunmuştur (Yoshikawa ve ark., 2004b). Benzer genotip dağılımları Singapur'da (subtip 3 %78 ve subtip 1 %22), Çin'de (subtip 3 %60,4 ve subtip 1 %24,5), Yunanistan'da (subtip 3 %60 ve subtip 1 %20), Almanya'da (subtip 3 %54 ve subtip 1 %21) ve Türkiye'de (subtip 3 %75,9) bulunmuştur (Wong ve ark., 2008; Li ve ark., 2007; Menounos ve ark., 1987; Böhm-Gloning ve ark., 1997; Özyurt ve ark., 2008). Bu araştırmalar sonucunda subtip 3'ün insan kaynaklı tek subtip olduğu, belki de bu yüzden gerçek B. hominis olarak tanımlanabileceği ve Blastocystis'in coğrafik kaynağı ile genotipleri arasında bir ilişki bulunmadığı kanısına varılmıştır (Tan, 2008).

Tek subtipin varlığının gösterildiği Blastocystis enfeksiyonlarına daha sık rastlansa da, daha nadir olarak iki subtipin birlikte bulunduğu enfeksiyonlar da bildirilmiştir. Araştırma şekline bağlı olsa da, çalışılan örneklerin %1,1 - %14,3'ünde iki subtip birlikte saptanmıştır. Birbirine eşlik eden enfeksiyonlarda sıklıkla subtip 1 ve subtip 3 birlikte bulunurken, daha az sıklıkla subtip 1 ve subtip 2, subtip 2 ve subtip 3 ve subtip 3 ve subtip 5 birlikte bulunmuştur (Li ve ark., 2007; Yan ve ark., 2006). Dışkı kültürü yapıldıktan sonra parazit genotiplendirmesinin yapıldığı çalışmalarda, bir subtip diğer subtipe oranla daha baskın çoğalabileceği için birden fazla subtipin birlikte görüldüğü enfeksiyonlar yanlış değerlendirilebilir. Bunu engellemek için PZR koşullarının uygun olduğu durumlarda iki subtipin birlikte olduğu enfeksiyonları tanımlamak için doğrudan taze dışkı örneklerinden elde edilen Blastocystis DNA'larının genotiplendirilmesi daha gerçekçi bir yöntem olabilir. (Tan, 2008).

Klinik

Son yıllarda Blastocystis'in patojen veya çeşitli yakınmalarla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar olduğu gibi, bunun aksini savunan araştırmalar da bulunmaktadır (Nimri ve Meqdam, 2004; Özçakır ve ark., 2007, Leder ve ark., 2005; Özyurt ve ark., 2008). İmmun sistemi bozulanlar, kötü sağlık koşullarında yaşayanlar, gelişen tropikal ülkelerden gelen göçmenler veya oraya seyahat edenler, hayvanlarla yakın temas edenler veya kontamine su veya yiyecek tüketenler gibi belirli bazı gruplar Blastocystis ile ilgili rahatsızlıklara daha duyarlıdır. Böbrek nakli yapılan hastalar ve kortikosteroit tedavisi alan nefrotik sendromlu çocuklar gibi immun sistemi baskılanan kişilerde yüksek Blastocystis insidansı bildirilmiştir (Ok ve ark., 1997; Roa ve ark., 2003). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda sindirim sistemi yakınması bulunan immun sistemi sağlam bireylerde Blastocystis insidansı asemptomatik gruba göre daha yüksek saptanmıştır. HIV ile enfekte bireylerde daha yüksek oranlarda Blastocystis saptandığı ve bu kişilerde bu parazitin varlığı karın ağrısı, diyare ve gaz şikayetleri ile ilişkilendirilirken, bir çalışmada ise karşıt görüş ortaya atılmıştır (El-Shazly ve ark., 2005; Hailemariam ve ark., 2004).

Tüm bu veriler ışığında Blastocystis'in patojen veya fırsatçı bir etken olduğu, immun sistemi bozulmuş bireylerin enfeksiyon ve ilgili semptomlara daha duyarlı olduğu düşünülmektedir (Tan, 2008).

Blastocystis kliniği ile ilgili ana soru işaretlerinden biri ise, hastalığın genotiplerle ilişkisi olup olmadığıdır. Kaneda ve arkadaşları asemptomatik bireylerden ve sindirim sistemi semptomları bulunan hastalardan izole ettikleri Blastocystis spp. üzerinde PZR-RFLP yöntemi uygulamış; subtip 1, 2 ve 4'ün semptomlarla ilişkisi bulunduğunu, en

sık izole edilen subtip 3 taşıyan ve sindirim sistemi enflamasyonu kolonoskopik olarak ispatlanan bireylerde ise bu subtipin semptomlarla ilişkisinin bulunmadığını bildirmiştir (Kaneda ve ark., 2001). Gastrointestinal yakınmaları bulunan 28 hasta ve 16 asemptomatik bireyden elde edilen izolatlarla yapılan benzer bir çalışmada ise; subtip 1 yalnızca semptomatik hastalarda bulunurken, subtip 3 ve 6 her iki grupta da saptanmış, subtip 7 ise yalnızca asemptomatik bireylerde gösterilmiştir (Hussein ve ark., 2008). Doğruman ve arkadaşlarının yetişkin ve çocuk hastalarda gerçekleştirdiği; subtip 1, 2 ve 3'ün varlığının gösterildiği bir çalışmada asemptomatik grupta yüksek oranda saptanan subtip 2'nin asemptomatik ve semptomatik grup arasında istatistiksel olarak farklı dağılım gösterdiği saptanmıştır (Doğruman ve ark., 2008). Salgın zamanlarında yapılacak olan izolatların genotiplendirme çalışmaları patojenik subtiplerin saptanması için çok değerli bir fırsat olabilir. Patogenezde subtipler arasındaki varyasyonlar da göz önüne alınmalıdır. Tüm bu veriler değerlendirildiğinde en azından subtip 1'in hastalıkla ilişkisi olduğu, subtip 2 ve subtip 3'ün apatojen olabileceği söylenebilir (Tan, 2008).

Blastocystis spp. ile görülen enfeksiyonlardaki klinik belirtiler genellikle bulantı, iştahsızlık, karın ağrısı, gaz ve şişkinlik, akut veya kronik ishal gibi nonspesifik yakınmalardır. Bu yakınmalar arasında en sık karın ağrısı, ishal ve şişkinlik görülmektedir. Blastocystis enfeksiyonlarında görülen diğer belirti ve yakınmalar arasında dışkıda lökosit görülmesi, eozinofili ve özellikle ürtiker türünde deri döküntüleri sayılabilir. Blastocystis'in dizanteri yaptığına ve invazyon gösterdiğine ait bir çalışma bulunmamaktadır (Tan, 2008).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Blastocystis ile irritabl bağırsak sendromu (IBS) arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Doğrudan mikroskobik bakı, kültür ve PZR gibi detaylı incelemelerin bir arada yapıldığı araştırmalarda IBS hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha fazla Blastocystis saptanmıştır. IBS grubunda daha çok subtip 1, kontrol grubunda ise subtip 3'ün daha baskın olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler yardımıyla Blastocystis ile IBS arasında bir ilişkinin bulunduğu, hastalığın etiyolojik nedeni olduğu gösterilmese de, belki de hastalığın parazitin yaşamını sürdürebilmesi için uygun bir ortam sağladığı düşünülebilir (Yakoob ve ark., 2010).

Akut veya kronik ürtiker başta olmak üzere, anjiyoödem ve palmoplanter prurit gibi deri lezyonlarıyla Blastocystis arasında bir bağlantı bulunduğu ve parazitin tedavisi ile hem enfeksiyonun hem de yakınmaların ortadan kaybolduğu gösterilmiştir (Kick ve ark., 2002; Valsecchi ve ark., 2004).

Blastocystis ile neden olduğu ileri sürülen klinik tablo ile bağlantıyı gösteren birçok çalışma bulunsa da, bunun aksini söyleyen araştırmalar da bulunmaktadır (Chen ve ark., 2003; Leder ve ark., 2005). Leder ve arkadaşları 15 ay süreyle 2800 sağlıklı kişiyle yaptıkları bir olgu-kontrol çalışmasında immun sistemi sağlam bireylerde klinik semptomlarla Blastocystis arasında bir ilişki bulunmadığını göstermiştir. Bu sonuca; herhangi bir enterik patojen yokluğunda, Blastocystis'in asemptomatik ve semptomatik gruplar arasında anlamlı fark bulunmadan ($p= 0,5$) saptanmasıyla ulaşmışlardır (Leder ve ark., 2005). Parazit yoğunluğuyla semptomlar arasında bağlantı bulunmadığı ve bireylerin hem semptomatik hem de asemptomatik dönemlerinde Blastocystis taşıdığı gösterilmiştir. Buna benzer sonuçlar Blastocystis'in normal bağırsak florasında bulunan biyolojik bir organizma olduğu varsayımları üzerine dayanmaktadır. Buna paralel olarak geliştirilen varsayımlardan birine göre eğer Blastocystis patojen olsaydı asemptomatiklerden daha fazla semptomatik bireyde Blastocystis taşıması gerektiği düşünülmektedir (tan 2008). Bununla birlikte tüm bu varsayımlar, nasıl ki patojen enterik protozoonlar olduğu kabul edilen Giardia intestinalis ve Entamoeba histolytica immun sistemi sağlam bireylerde çoğunlukla asemptomatik veya hafif semptomlara seyrediyorsa, bu şekilde Blastocystis'in apatojen olduğunu göstermez (Tan, 2008).

Tanı

Blastocystis tanı laboratuvarlarına önemli ölçüde sorunlar ortaya çıkarmaktadır. Bunun çeşitli nedenleri vardır. Birincisi parazitin kesin olmayan patojenitesi birçok klinisyeni Blastocystis'i hastalık etkeni olarak dikkate almasından alıkoymaktadır. İkincisi organizmanın doğrudan bakılardaki polimorfik yapısı maya, Cyclospora sp. veya yağ damlacıkları ile kolaylıkla karışmasına neden olabilmektedir. Taze dışkı örneklerinde her zaman vakuoler form çok fazla bulunmayabilir, daha küçük olan kist formları bulunabilir, bu durum da tanıyı güçleştirebilir. Parazit dışkıyla düzensiz olarak atıldığı için tek bakı tanıda yeterli olmaz, diğer tüm bağırsak protozoonlarında olduğu gibi 3 farklı günde dışkı örneği incelenmelidir. Doğrudan taze bakıda serum fizyolojikle deneyimli kişiler tarafından Blastocystis tanınabilinirse de, Lugol'ün iyot solüsyonu tercih edilir. Kalıcı boyalı yayma preparatlar arasında en sık kullanılan ve organizmanın iç yapısını en iyi gösteren başta trikrom olmak üzere, asit-fast, Giemsa ve Field boyaları da uygulanabilir. Bugün için pek çok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin yöntemler arasında kullanılan Trikrom boyası, diğer bağırsak protozoonlarının tanısında olduğu gibi Blastocystis için de doğrudan bakıda kullanılan iyot boyasına oranla çok daha hassas bir yöntemdir (Kilimcioğlu ve Ok, 2011; Girginkardeşler ve Ok, 2011).

Kısa dönem (24-72 saat) in vitro kültürün, dışkı örneklerini incelemede Lugol'ün iyot solüsyonu ve trikrom boyalı preparatlara oranla Blastocystis saptama duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Termmathurapoj ve ark., 2004). Bununla birlikte, iki subtipin bir arada görüldüğü enfeksiyonlarda in vitro kültür bir subtipin diğeri üzerinde daha baskın şekilde çoğalmasına neden olabilir. İn vitro kültürün aksine formol etil asetat konsantrasyon yöntemi Blastocystis'in saptanmasında çok düşük duyarlılığa sahiptir (Suresh ve Smith, 2004). Laboratuvarlarda dışkıda Blastocystis kistleri görüldüğü zaman enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilmelidir. Gerektiğinde tanıda duyarlılığın arttırılması için bu kistler dansite gradyan yöntemleriyle selektif olarak yoğunlaştırılabilir. Işık mikroskobunda her sahada doğrudan taze bakılarda yüksek büyütmede (X400) 5, kalıcı boyalı yayma preparatlarda immersiyon objektifinde ise (X1000) 2 ve üzeri parazit görülmesi Blastocystis'in rapor edilmesini gerektirir.

Blastocystis bağırsak parazitleri arasında yoğunluğu bildirilmesi gereken tek parazittir. Bazı araştırmacılara göre parazitin yoğunluğu daha detaylı olarak da bildirilmelidir. Bu amaçla parazitin yoğunluğu miktar yönünden "nadir" (her 10 yüksek büyütme sahasında bir parazit), "az – orta" (her yüksek büyütme sahasında bir-beş parazit) veya "bol" (her yüksek büyütme sahasında beş ve üzeri parazit) şeklinde tanımlanabilir. Bu kriterleri kullanarak enfeksiyonun yoğunluğuyla semptomlar arasında bir ilişki bulunduğunu bildiren yayınlar olduğu gibi (Ok ve ark., 1999), bunun tersini savunan araştırmalar da bulunmaktadır (Leder ve ark., 2005). Aradaki bu uyuşmazlığın nedeni bugün için tam olarak anlaşılamamış olsa da, Blastocystis izolatları arasındaki genotip farklılıklarına veya yaş gibi konak özelliklerine ve üzerinde çalışma yapılan topluluğun genetik altyapı varyasyonlarına bağlı olabilir.

Blstocystis izolatları için, standardize edilmemiş veya bilinen tek bir mikroorganizma suşunun kullanıldığı sırasıyla ksenik veya monoksenik besiyerlerindeki mikroorganizmalarla birlikte çoğaldığı Jones veya Boeck Drbohlav'ın besiyeri kullanılabilir. Hastaların dışkı örneklerinde parazitin tanımlanması için kültürün kullandığı birçok araştırmada Jones besiyeri tercih edilmiştir (Suresh ve Smith, 2004). Hayvanlardan izole etmek için difazik yatık agar kullanılmıştır. Blastocystis'in, Iscove'un modifiye Dulbecco besiyeri, minimum geliştirme besiyeri (minimum essential medium, MEM) ve Locke solüsyonu eklenmiş bifazik yumurtalı besiyeri gibi çok çeşitli aksenik besiyerlerinde bol miktarda ürediği gösterilmiştir (Ho ve ark., 1993). Aksenik kültürlerdeki üreme zamanı izolatın türüne, araştırma şekline ve kullanılan besiyerine göre 6–23 saat arasında değişmektedir. İndirgen madde olarak sodyum tioglukolat eklendiğinde dökme plak yöntemi kullanarak yarı katı agar besiyerinde Blastocystis kolonileri elde edilebilir. Bu yöntemle parazit kolonileri bakterilerden fiziksel olarak ayrılarak Blastocystis izolatlarının aksenizasyonu için yardımcı bir adım işlem gerçekleştirilmiş olur. Blastocystis katı besiyerinde de üreyebilir ve koloniler bakteri kolonilerine benzer şekilde makroskobik da olarak gözlemlenebilir. Blastocystis'in aksenik kültürleri moleküler ve biyokimyasal araştırmalar için önemlidir. Aksenizasyonu sağlamak için kontamine olmuş bakteri veya mantarların ortadan kaldırılması amacıyla çeşitli antibiyotik kokteylleri ortama eklenebilir. Aksenizasyon için yaklaşık olarak 3 haftalık bir zaman gereklidir (Tan ve ark., 1996).

Blastocystis spp. düşük düzeylerde de olsa bir immun yanıta yol açabilir. Akut ve kronik semptomatik Blastocystis enfeksiyonlarında antikor titrelerinin asemptomatik olgulardan anlamlı derecede daha yüksek bulunduğu gösterilse de (Mahmoud ve Saleh, 2003), bu gözlemlerin doğrulanması için daha geniş ölçekli araştırmalara ihtiyaç vardır. Blastocystis türlerine karşı konağın göstermiş olduğu immun yanıt hakkındaki sınırlı bilgimiz ve parazitin antijenik çeşitliği dikkate alındığında, serolojiyi Blastocystis'in rutin laboratuvar tanısına dahil etmenin yararlı olmadığı ve epidemiyolojik ve serolojik araştırmalarda sınırlı kalmasının gerekli olduğu önerilmektedir (Tan, 2008).

Blastocystis spp. hakkındaki moleküler araştırmalarda; Yoshikawa ve arkadaşları tarafından Blastocystis izolatlarının polimorfik DNA analizlerinin randomize çoğaltılmasından STS primerleri olarak da adlandırılan subtip-spesifik tanı primerleri geliştirmiş, ve bu uygulamalar sonucunda 7 farklı subtip saptamışlardır (Yoshikawa ve ark., 2004c). Bu yöntemin çeşitli genotiplerin insan ve hayvan popülasyonundaki dağılımı göstermesi ve belirli genotiplerin zoonotik doğası hakkında bilgi vermesi nedeniyle epidemiyolojik çalışmalarda yararlı olduğu gösterilmiştir (Yoshikawa ve ark., 2004b). Diğer bazı grup araştırmacılar ise Blastocystis spp. izolatlarını ssrRNA genlerinin PZR-RFLP analiziyle, dideoksi sekanslamayla veya intragenik bölgelerin nested amplifikasyonuyla tanımlamışlardır (Stensvold ve ark., 2006; Termmathurapoj ve ark., 2004; Yoshikawa ve ark., 2003). Blastocystis ssrRNA geninin PZR-RFLP analizi sıklıkla prevalans çalışmalarında kullanılmış ve çoğaltma işlemi için çok sayıda primer tanımlanmıştır. Bununla birlikte bu uygulamayla ilgili, koşulların ve primer seçimindeki standardizasyon eksikliği, restriksiyon bölgelerindeki mutasyonlar ve iki subtipin bir arada görüldüğü enfeksiyonlarda RFLP profillerini yorumlama güçlüğü gibi bazı büyük sınırlamalar bulunmaktadır. Blastocystis ssrRNA geninin hızlı sekanslanması için yüksek verimli bir pirosekanslama yöntemi geliştirilmiştir (Stensvold ve ark., 2007a). Bu yöntem geniş ölçekli epidemiyolojik araştırmalarda ve salgınlar sırasında genotiplerin hızla belirlenmesinde çok yararlı olabilir.

Stensvold ve arkadaşları bağırsak paraziti şüphesi bulunan 93 hastadan alınan 103 dışkı örneği kullanarak yaptıkları bir araştırmada Blastocystis'in tanısı için kullanılan formol etil asetat yoğunlaştırma, kalıcı trikrom boyama, in vitro kültür ve PZR yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Bu araştırmada PZR'nun en iyi tanı yöntemi olduğu ve Blastocystis-spesifik DNA saptanmasının kültür yöntemi kadar duyarlı olduğu gösterilmiştir (Stensvold ve ark., 2007b). Tarama ve epidemiyolojik araştırmalar için taze dışkı örneklerinden veya dışkı kültürlerinden Blastocystis DNA'sının PZR ile çoğaltılması mikroskobi yöntemine uygun alternatif bir yöntemdir ve analiz sırasında genotiplendirme de yapılmalıdır.

Tedavi

Blastocystis'in patojenik rolü hakkında fikir birliğinin bulunmaması, standart bir tanı yöntemi kriterinin yaygınlaşmaması ve belirtilerinin kendini sınırlama özelliğinden dolayı bu parazitle enfekte bireylerin tedavisi halen daha tartışmalıdır.

Son zamanlarda yapılan bir dizi çalışmada; eşlik eden enterik patojenlerin gösterilemediği semptomatik bireylerde Blastocystis'e yönelik tedavinin hem belirtilerin hem de parazitin ortadan kalkmasına neden olduğu gösterilmiştir (Kaya ve ark., 2007; Nigro ve ark., 2003; Ok ve ark., 1999; Rossignol ve ark., 2005). Blastocystis pozitif semptomatik hastalarla yapılan plasebo-kontrollü iki tedavi çalışmasında da, plasebo kullanan grupların aksine ilaç tedavisi alan gruplarda klinik iyileşme ve parazit eradikasyonun başarılı olduğu bildirilmiştir (Nigro ve ark., 2003; Rossignol ve ark., 2005).

Blastocystis tedavisinde en sık kullanılan ilaç metronidazoldür. İtalya'da 616 diyareli hasta arasından 76 hastada patojenik diyare etkeni olarak yalnızca Blastocystis'in izole edildiği bir çalışmada 40 kişi metronidazol tedavisi grubu, 36 kişi ise plasebo grubu olarak belirlenmiştir. Günde 1,5 g/gün 10 günlük metronidazol tedavisi ve plasebo sonrasında klinik iyileşme; tedavi grubunda 40 hastanın 35'inde (%88), plasebo grubunda ise 36 hastanın 5'inde (%14) görülmüştür ($p<0,001$). Bu süreçte parazitolojik eradikasyon ise; metronidazol alan grupta 32 (%80) hastada görülürken, plasebo grubunda yalnızca bir (%3) kişide saptanmıştır ($p<0,001$) (Nigro ve ark., 2003).

Kronik diyare ve enteriti bulunan ve etiyolojik etken olarak yalnızca Blastocystis'in saptandığı plasebo kontrollü bir araştırmada; klinik semptomların nitazoksanid tedavisi alan 42 hastanın 36'sında (%85,7), 42 hastalık plasebo grubunun ise 16'sında (%38,1) iyileştiği gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Tedavi sonrası kontrollerde tedavi grubunun %85,7'sinde, plasebo grubunun %11,9'unda dışkıda Blastocystis'in ortadan kalktığı gösterilmiştir ($p<0,001$) (Rossignol ve ark., 2005).

Ok ve arkadaşları tarafından Blastocystis pozitif 53 hastanın trimetoprim-sülfametaksazol (TMP-SMX) ile 7 gün (çocuk dozu: 6 mg/kg TMP, 30 mg/kg SMX, yetişkin dozu: 320 mg/kg TMP, 1600 mg/kg SMX) tedavi edildiği bir çalışmada; hastaların 50'sinde (%94,3) parazitlerin ortadan kalktığı, semptomların ise bu 50 hastanın 39'unda (%78) kaybolduğu, 10'unda (%20) azaldığı ve birinde (%0,02) hiçbir değişiklik gözlemlenmediği bildirilmiştir (Ok ve ark., 1999).

Buna karşın, metronidazolle tedavi edilen 12 hastanın 4'ünde (%33,3), TMP-SMX tedavisi alan 9 hastanın yalnızca 2'sinde (%22,2) parazitin dışkıdan ortadan kalktığını gösteren ve tedavilerdeki bu başarısızlığın olası ilaç direncine bağlandığı bir araştırma da bulunmaktadır (Moghaddam ve ark., 2005).

Akut ve kronik intestinal amebiasis tedavisinde önerilen geniş spektrumlu bir antibiyotik olan paromomisinin, ile özellikle ürtikeri bulunan deri lezyonlarıyla seyreden Blastocystis enfeksiyonlarında oldukça yararlı olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Armentia ve ark., 1993; Kick ve ark., 2002).

Araştırmalarda sıklıkla kullanılan ilaçlar olan metronidazol, nitazoksanid, TMP-SMX ve paromomisin geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve gösterdikleri klinik iyileşme henüz bilinmeyen, gözden kaçmış veya gizli kalmış bir mikrobiyal enterik patojene dayandırılabilir. Ayrıca, çalışmaların bir kısmında bildirilen semptomlara neden olabilecek özellikle virüsler ve bakteriyel toksinler gibi diğer enterik patojenleri hariç tutan geniş kapsamlı bir yöntem izlenmemiştir. Blastocystis'in apatojen olduğunu kesin olarak kanıtlayan bir çalışma bulunmadığı dikkate alındığında ve aksini gösteren birçok araştırma bulunduğu için Blastocystis'i önem kazanan patojenik bir protozoon olarak kabul edilmesi sağduyulu bir davranış olacaktır. Akut ve kronik olgulara diğer tüm enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz etiyolojiler dışlandıktan sonra tedavi uygulanması önerilmektedir (Tan, 2008).

Dientamoeba fragilis

Jepps ve Dobell tarafından ilk kez 1918 yılında tanımlanmasının üzerinden uzun yıllar geçmesine karşın, insanların çekum ve kalın bağırsak lümeninde yaşayan, amibe benzeyen, yalnızca trofozoit şekli bulunan ve patojen kamçılı bir bağırsak protozoonu olduğu kabul edilen Dientamoeba fragilis'in epidemiyolojisi, kliniği, tanı ve tedavi yöntemleri üzerinde durulan az sayıda çalışma bulunmaktadır (Barratt ve ark., 2011).

Epidemiyoloji

Ülkemizde bağırsak protozoonlarının tanısında nativ-Lugol, formol-eter konsantrasyon ve trikrom boyama yöntemlerinin 311 dışkı örneğinin tümüne uygulanarak karşılaştırılmasının yapıldığı bir araştırmada 1 (%0,3) dışkı örneğinde D. fragilis saptandığı belirtilmiştir (Ok ve ark., 1996). Kliniğinde çeşitli sindirim sistemi yakınmaları görülen dientamoebiasis sıklığınının uygun tanı yöntemleri ile araştırıldığı bir çalışmada koproloji polikliniğine başvuran 400 hastanın 35'inde (%8,8) D. fragilis saptanmıştır (Girginkardeşler ve ark., 2003).

Bütün dünyada, İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri, Hollanda, Almanya ve Filipinler'de 1924 yılında sadece 33 D. fragilis enfeksiyonu bildirilmiştir. İlerleyen yıllarda parazite olan ilgide meydana gelen artış nedeniyle diğer parazitlere oranla az da olsa, birçok klinik ve epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Son 40 yılda tüm dünyada %1,5'ten %52,5'e kadar oldukça değişken oranlarda D. fragilis rastlandığı bildirilmektedir (Windsor ve Johnson,1999).

D. fragilis saptanan kişilerin yaşlarını incelediğimizde, bu organizmanın daha çok çocuk yaş grubunda, gençlerde (<20 yaş) ve bayanlarda, yaşlılara ve erkeklere oranla oldukça yüksek insidansta görüldüğü belirlenmiştir (Barratt ve ark., 2011).

Dientamoebiasisde hastalığın kaynağı enfekte bireylerdir. Konak zinciri insan-insan-insandır. D. fragilis'in kist şekli olmadığı için insandan insana bulaşması trofozoit şekliyle olmaktadır. D. fragilis'in insana geçiş yolu halen tam olarak bilinmemektedir. Kümes hayvanları ve hindilerin nematodu olan Heterakis gallinae yumurtalarının içinde taşındığı gösterilen yine bu türlerin kamçılı amibi H. meleagridis'de olduğu gibi, D. fragilis trofozoitlerinin de bir helmint yumurtasında bulunarak mide asidinden etkilenmeden ağız yoluyla alınabileceği düşünülmüştür (Beaver, 1984).

Burrows ve Swerdlow, E. vermicularis yumurtalarının içinde D. fragilis olabilecek küçük yapıların varlıklarını bildirmiştir (Burrows ve Swerdlow, 1956). Ockert gönüllü olarak ağız yoluyla E. vermicularis yumurtalarını alarak kendini D. fragilis ile infekte etmeyi başarmış ve Almanya'da okul çocuklarında D. fragilis ve E. vermicularis'in birlikte beklenenden daha yüksek oranda görüldüklerini bildirilmiş, bu durum araştırmacıları E. vermicularis'in D. fragilis için vektör olabileceği konusunda şüphelendirmiştir (Ockert, 1972a; Ockert, 1972b). D. fragilis'in insanlara bulaşmasında E. vermicularis'in rolü olabileceği son zamanlarda yapılan bir araştırmada gösterilmiştir (Girginkardeşler ve ark., 2007).

Klinik

D. fragilis dokuların içerisine girmez, ancak aşırı mukus salgılanması ve bağırsağın hipermotilitesi gibi mukoza irritasyonunu gösteren bazı kanıtlar bulunmaktadır. D. fragilis enfeksiyonunda sıklıkla görülen belirtiler arasında karın ağrısı, diyare, anoreksi, bulantı, kusma ve karında gaz sayılabilir (Beaver, 1984; Healy ve Smith, 1991). Karın ağrısının karakteri, yerleşimi ve süresi oldukça değişkendir. Dışkıda kan genellikle görülmemektedir (Turner, 1985; Butler, 1996). Daha az görülen belirtiler ise, baş ağrısı, ateş, kilo kaybı ve yorgunluk olarak bildirilmektedir. Dientamoebiasisde kaşıntı, ürtiker ve eozinofilinin de görülebileceği bildirilmiştir (Turner, 1985; Preiss ve diğerleri, 1991).

D. fragilis saptanan 35 hastanın saf dientamoebiasisli 32'sinin tamamına yakınında sindirim sistemi yakınmaları belirlenmiş ve bu yakınmalar arasında en sık olarak karın ağrısı(%81,3), diyare (%71,9), iştahsızlık (%15,6), yorgunluk (%9,4) ve azalan oranlarda diğer belirtiler saptanmıştır (Girginkardeşler ve diğerleri, 2003).

Tanı

Mikroskobi

D. fragilis'in mikroskobik tanısı, bir gün veya daha uzun aralarla alınan en az 3 dışkı örneğinin özellikle trikrom veya demir hematoksilen gibi kalıcı boyalarla incelenmesine dayanmaktadır. Organizmanın dışkıda tanınabilir olarak kaldığı süre sınırlı olduğu için, örneklerin ya dışkılamadan hemen sonra kısa süre içinde incelenmesi, ya da dışkı örneğinin bir parçasının uygun bir fiksatif içinde saklanması önerilmektedir. Bu fiksatifler; polivinil alkol (PVA), modifiye Schaudinn veya sodyum asetat-asetik asit-formol (SAF) fiksatifleri olabilmektedir (Grendon ve diğerleri, 1991;Garcia ve Bruckner, 1993). D. fragilis'in her türlü dışkıda bulunabileceği olasılığı, inceleyen kişi tarafından düşünülmediği sürece, organizmanın rahatlıkla gözden kaçabileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Sadece trofozoit şeklinin olması nedeniyle, önerilen fiksasyon ve kalıcı boyama yöntemlerinin uygulanmaması, D. fragilis'in tanısını güçleştirmekte, hatta olanaksız duruma getirmektedir (Garcia, 1990).

Taze veya korunmuş dışkı örneklerinden hazırlanan yayma preparatlarına uygulanan kalıcı boyama yöntemleri mutlaka gereklidir, çünkü flotasyon ve sedimantasyon gibi konsantrasyon yöntemleri organizmanın ortaya çıkarılmasında yararsızken, direkt bakı yöntemi de kesin tanıya olanak sağlamamaktadır.(Garcia ve Bruckner, 1993; Windsor ve Johnson, 1999).

D. fragilis'in tanısı için, taze veya fiksatiflerde korunan dışkı örneklerinden yapılan kalıcı boyalı preparatların eğitimli ve deneyimli bir kişi tarafından incelenmesi gerekmektedir. Kalıcı boyalı prepartlarda dahi D. fragilis trofozoitlerinin yanlışlıkla Entamoeba histolytica, Entamoeba hartmanni, Endolimax nana, Iodamoeba bütschlii, Trichomonas hominis veya Blastocystis spp. ile karıştırılabileceği bildirilmektedir (Healy ve Smith, 1991;Garcia ve Bruckner, 1993).

Kültür

Dientamoebiasisin tanısında uzun yıllardır uygulanan kültür yöntemleri, mikroskobik inceleme yöntemlerine göre çok daha duyarlı olmalarına karşın rutin tanı laboratuvarlarında uygulanamayacak kadar yoğun zaman ve emek gerektiren yöntemlerdir (Windsor ve ark., 2004). Bununla birlikte, mikroskobik inceleme yanında kültür yöntemlerinin de uygulandığı çalışmalarda D. fragilis trofozoitlerinin çok daha yüksek oranlarda saptandığı görülmektedir (Johnson ve ark., 2004).

D. fragilis'in kültürü için kullanılan Robinson, Dobell, Talis ve Boeck-Drbohlav gibi besiyerlerinin tamamı, parazitlerin bakteriyel bir flora eşliğinde çoğaldığı ksenik besiyerleri olup D. fragilis'in aksenik kültürü henüz gerçekleştirilememiştir ve bu durum bu organizmayla çalışmada en büyük engellerden birisi olarak yorumlanmaktadır (Clark ve Diamond, 2002). Bunlar arasında Robinson besiyeri daha çok sayıda trofozoitin üremesine ve bunların daha uzun süre canlı kalmasına olanak verdiğinden sıklıkla tercih edilmektedir (Windsor ve ark., 2004). Laboratuvarımızda kültür için kullanılan besiyerlerinin etkinliklerini karşılaştırdığımız bir çalışmada da, Robinson besiyerinin gerek üreyen trofozoit sayısı, gerekse trofozoitlerin besiyerinde canlı kalma süresi bakımından Dobell ve Talis besiyerlerinden üstün olduğu belirlenmiştir (Kurt ve ark., 2008). Kültürün doğrudan tanı yanında suşların genetik tiplendirilmesinde kullanılan moleküler çalışmalar için çok miktarda trofozoit sağlaması gibi avantajları vardır. Bununla birlikte, D. fragilis trofozoitlerinin Robinson besiyerinde dahi alt kültürlerinin uzun ömürlü olmadığı, birkaç pasaj sonrası trofozoitlerin canlılıklarını kaybedebildikleri bildirilmektedir (Windsor ve ark., 2003; Johson ve ark., 2004; Windsor ve ark., 2004).

Moleküler Tanı Yöntemleri

Dientamoebiasisin tanısında yaşanan güçlükler, son yıllarda moleküler yöntemlerle ilgili çalışmalara hız kazandırmış ve D. fragilis'i doğrudan dışkı örneklerinden saptayabilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) uygulamaları geliştirilmiştir (Stark ve ark., 2005a). D. fragilis'e yönelik PZR'nin diğer protozoonlarla çapraz reaksiyon vermediği, % 100 özgüllük ve % 93,5 duyarlılığa sahip olduğu, sonradan geliştirilen Gerçek zamanlı PZR'nin ise özgüllük ve duyarlılığının % 100 olduğu bildirilmektedir (Stark ve ark., 2005a; Stark ve ark., 2005b).

Ribozomal DNA'ya ait baz dizileri, gerek türler arası çeşitliliği göstermeleri gerekse doğada bilinen en yaygın ve en iyi korunan DNA dizileri olmaları nedeniyle D. fragilis'e ait genetik çeşitliliğin araştırıldığı çalışmalar için ideal bölgelerdir (Stark ve ark., 2005b). Bu konuda yapılan ilk araştırmalarda, RFLP ile genetik açıdan birbirinden farklı iki Dientamoeba türü belirlenmiş ve bunlar arasındaki farklılık düzeyinin patojen Entamoeba histolytica ile patojen olmayan E. dispar arasındakine yakın olduğu saptanmıştır (Stark ve ark., 2005a; Stark ve ark., 2005b). Bununla birlikte bugüne dek bu yöntem ile farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda sadece Genotip 1'e rastlanması, Genotip 2'nin ise bugüne dek yalnızca bir örnekte bulunmuş olması araştırılan gen bölgesinin

(ribozomal DNA'nın küçük alt üniteleri-SSU rDNA) çeşitlilik için yeterince aydınlatıcı olmadığını düşündürmüş ve yeni gen bölgelerinin araştırılmasını gerekli kılmıştır (Stark ve ark., 2005b; Johnson ve Clark 2000). Son çalışmalarda, D. fragilis'e ait genetik çeşitliliğin saptanması için ribozomal RNA'nın küçük alt üniteleri (SSS rRNA) üzerindeki ITS-1 olarak adlandırılan bölgenin uygun olduğu bildirilmektedir (Windsor ve ark., 2006; Bart ve ark., 2008).

Tedavi

D. fragilis enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan ilaçların etkileriyle ilgili bilgiler sınırlıdır; bunun başlıca nedenlerinden biri parazitin aksenik kültürünün henüz gerçekleştirilememiş olmasıdır (Windsor ve ark., 2003; Johson ve ark., 2004). Bu nedenle ilaç duyarlılık testleri ortamdaki bakterilerle birlikte uygulanmakta olup ilacın D. fragilis'e mi yoksa ortamdaki bakterilere mi etkili olduğu belirlenememektedir (Johson ve ark., 2004).

D. fragilis enfeksiyonunun tedavisinde amiplere karşı kullanılan metronidazol, paromomisin, tetrasiklin ve diiyodohidroksikinin etkili olduğu, bunların dışında eritromisin ve hidroksikinolinin de başarılı olduğu bildirilmiştir (Johson ve ark., 2004, Stark ve ark., 2005a).

Metronidazolün uygun tedavi dozu henüz kesinleşmemiş olmasına rağmen, bir çalışmada dientamoebiasisin tedavisinde 5 çocuğa 7 gün boyunca günde üç kez 250 mg ve 1 çocuğa 5 gün süreyle günde iki kez 250 mg metronidazol verildiğinde tedavinin başarılı olduğu bildirilmiştir (Spencer ve ark., 1979). Polikliniğimizde gerçekleştirdiğimiz iki ayrı çalışmada ise, tek doz olarak kullanılabilen seknidazol ve ornidazolün D. fragilis'e karşı etkinlikleri metronidazolden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde üstün bulunmuştur (Kurt ve ark., 2008; Girginkardeşler, 2003).

Dietamoebiasis tedavisinde 7 gün süreyle günde 25-35 mg/kg dozunda üç eşit doza bölünerek verilen paromomisin etkili bulunmuştur (Vandenberg, 2007). Dientamoebiasisin tedavisinde diiyodohidroksikin 20 gün süreyle, üç eşit dozda günlük 40 mg/kg (en fazla 2 gr) kullanılmıştır. Semptomsuz amebiasisde tek başına, bağırsak dışı ve bağırsak amebiasisinde ise bir doku amibisitinin yanında verilen diiyodohidroksikinin yüksek dozda uzun süreyle kullanıldığında optik sinir atrofisine neden olabildiği bildirilmiştir (Jernigan, 1995).

Kaynaklar

1. Abe N. 2004. Molecular and phylogenetic analysis of Blastocystis isolates from various hosts. Vet. Parasitol. 120:235–42.
2. Aguiar, J. I., A. Q. Goncalves, F. C. Sodre, R. Pereira Sdos, M. N. Boia, E. R. de Lemos, and R. R. Daher. 2007. Intestinal protozoa and helminths among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of Blastocystis hominis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 40:631–4.
3. Akdemir, C., and R. Helvaci. 2007. Evaluation of parasitology laboratory results of a group of people older than 15 years of age in Kutahya. Turkiye Parazitol. Derg. 31:129–132.
4. Armentia, A., J. Mendez, A. Gomez, E. Sanchis, A. Fernandez, R. de la Fuente, and P. Sanchez. 1993. Urticaria by Blastocystis hominis. Successful treatment with paromomycin. Allergol. Immunopathol. (Madrid) 21:149–51.
5. Bart A., van der Heijden H.M., Grece S., Speijer D., Landman W.J., van Gool T. The intragenomic variation in the ITS-1 region of Dientamoeba fragilis as a molecular epidemiological marker. J Clin Microbiol, 2008; 46(10): 3270-3275.
6. Barratt JN, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. 2011. The ambiguous life of Dientamoeba fragilis: the need to investigate current hypotheses on transmission. Parasitol. 138:557-72.
7. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Protozoa and protozoan infections. Clinical Parasitology 9th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, P: 35-217, 1984.
8. Boreham, P. F., and D. J. Stenzel. 1993. Blastocystis in humans and animals: morphology, biology, and epizootiology. Adv. Parasitol. 32:1–70.
9. Böhm-Gloning, B., J. Knobloch, and B. Walderich. 1997. Five subgroups of Blastocystis hominis from symptomatic and asymptomatic patients revealed by restriction site analysis of PCR-amplified 16S-like rDNA. Trop. Med. Int. Health 2:771–8.
10. Burrows RB, Swerdlow MA. Enterobius vermicularis as a probable vector of Dientamoeba fragilis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 5: 258-265, 1956.
11. Butler WP. Dientamoeba fragilis. An unusual intestinal pathogen. Dig. Dis. Sci. 41(9): 1811-3, 1996.
12. Chen, T. L., C. C. Chan, H. P. Chen, C. P. Fung, C. P. Lin, W. L. Chan, and C. Y. Liu. 2003. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with Blastocystis hominis in healthy adults. Am. J. Trop. Med. Hyg. 69:213–6.
13. Clark C. G., Diamond L. S. Methods for the cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin Microbiol Rev; 15: 329 – 341, 2002.
14. Çulha, G. 2006. The distribution of patients with intestinal parasites presenting at the Parasitology Laboratory of the Mustafa Kemal University Medical Faculty. Turkiye Parazitol. Derg. 30:302–4.
15. Doğruman-Al, F., H. Dağcı, H. Yoshikawa, Ö. Kurt, and M. Demirel. 2008. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of Blastocystis hominis. Parasitol. Res. 103:685–9.

16. El-Shazly, A. M., A. A. Abdel-Magied, S. N. El-Beshbishi, H. A. El-Nahas, M. A. Fouad, and M. S. Monib. 2005. Blastocystis hominis among symptomatic and asymptomatic individuals in Talkha Center, Dakahlia Governorate, Egypt. J. Egypt. Soc. Parasitol. 35:653–66.
17. Garcia LS. Laboratory Methods for Diagnosis of Parasitic Infections. ed. Baron, E.J., Finegold, S.M. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 8th ed. C. V. Mosby Company, Missouri, P: 776-861, 1990.
18. Garcia LS, Bruckner DA. Intestinal Protozoa: Flagellates and Ciliates. Diagnostic Medical Parasitology. 2nd ed. Washington D.C., American Society for Microbiology. P: 31-48, 1993.
19. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Balcıoğlu İC, Ertan P, Ok ÜZ. Dientamoeba fragilis, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin. Microbiol. Infect. 9: 110-3, 2003.
20. Girginkardeşler N, Kurt Ö, Kilimcioğlu AA, Ok ÜZ. Transmission of Dientamoeba fragilis: Evaluation of the role of Enterobius vermicularis. Parasitol. Int. 57(1): 72-5, 2007.
21. Girginkardeşler, Ok ÜZ. Kalıcı Boyalı Yaymalar. Korkmaz M, Ok ÜZ, editörler. Parazitolojide Laboratuvar Yöntem, Yorum, Akreditasyon. İzmir: Tür Par Der, yayın no:23; 2011. s. 29-36.
22. Grendon JH, Digiacomo RF, Frost FJ. Dientamoeba fragilis detection methods and prevalence: a survey of state public health laboratories. Public Health Rep. 106(3): 322-5, 1991.
23. Hailemariam, G., A. Kassu, G. Abebe, E. Abate, D. Damte, E. Mekonnen, and F. Ota. 2004. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS and HIV seronegative individuals in a teaching hospital, Ethiopia. Jpn. J. Infect. Dis. 57:41–3.
24. Healy GR, Smith JS. Intestinal and Urogenital Protozoa. ed. Balows, A., Hausler, W.J.Jr., Herrmann, K.L., Isenberg, H.D., Shadomy, H.J. Manuel of Clinical Microbiology, 5th ed. Washington, American Society of Microbiology. P: 751-70, 1991.
25. Hirata, T., H. Nakamura, N. Kinjo, A. Hokama, F. Kinjo, N. Yamane, and J. Fujita. 2007. Prevalence of Blastocystis hominis and Strongyloides stercoralis infection in Okinawa, Japan. Parasitol. Res. 101:1717–1719.
26. Ho, L. C., M. Singh, G. Suresh, G. C. Ng, and E. H. Yap. 1993. Axenic culture of Blastocystis hominis in Iscove's modified Dulbecco's medium. Parasitol. Res. 79:614–6.
27. Hussein, E. M., A. M. Hussein, M. M. Eida, and M. M. Atwa. 2008. Pathophysiological variability of different genotypes of human Blastocystis hominis Egyptian isolates in experimentally infected rats. Parasitol. Res. 102:853–60.
28. Jernigan, J.A., Pearson, R.D. Antiparasitic agents. ed. Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. Churchill Livingstone, New York. p: 458-92, 1995.
29. Johnson J.A., Clark C.G. Cryptic genetic diversity in Dientamoeba fragilis. J Clin Microbiol, 2000; 38 (12): 4653 - 4654.
30. Johnson, E.H., Windsor J.J., Clark C.G. Emerging from obscrurity: biological, clinical and diagnostic aspects of Dientamoeba fragilis. Clin. Microbiol. Rev. 17(3): 553-70, 2004.
31. Kaneda, Y., N. Horiki, X. J. Cheng, Y. Fujita, M. Maruyama, and H. Tachibana. 2001. Ribodemes of Blastocystis hominis isolated in Japan. Am. J. Trop. Med. Hyg. 65:393–6.
32. Kaya, S., E. S. Cetin, B. C. Aridogan, S. Arikan, and M. Demirci. 2007. Pathogenicity of Blastocystis hominis, a clinical reevaluation. Turkiye Parazitol. Derg. 31:184–7.
33. Kick, G., F. Rueff, and B. Przybilla. 2002. Palmoplantar pruritus subsiding after Blastocystis hominis eradication. Acta Derm. Venereol. 82:60.
34. Kilimcioğlu AA, Ok ÜZ. Makroskobik İnceleme ve Taze Dışkı İncelemeleri. Korkmaz M, Ok ÜZ, editörler. Parazitolojide Laboratuvar Yöntem, Yorum, Akreditasyon. İzmir: Tür Par Der, yayın no:23; 2011. s. 17-22.
35. Kurt Ö, Girginkardeşler N, Balcıoğlu İC, Özbilgin A, Ok ÜZ. A comparison of metronidazole and single-dose ornidazole for the treatment of dientamoebiasis. Clin. Microbiol. Infect. Jun, 14 (6): 601-4, 2008.
36. Leder, K., M. E. Hellard, M. I. Sinclair, C. K. Fairley, and R. Wolfe. 2005. No correlation between clinical symptoms and Blastocystis hominis in immunocompetent individuals. J. Gastroenterol. Hepatol. 20:1390–4.
37. Li, L. H., X. P. Zhang, S. Lv, L. Zhang, H. Yoshikawa, Z. Wu, P. Steinmann, J. Utzinger, X. M. Tong, S. H. Chen, and X. N. Zhou. 2007. Cross-sectional surveys and subtype classification of human Blastocystis isolates from four epidemiological settings in China. Parasitol. Res. 102:83–90.
38. Mahmoud, M. S., and W. A. Saleh. 2003. Secretory and humoral antibody responses to Blastocystis hominis in symptomatic and asymptomatic human infections. J. Egypt. Soc. Parasitol. 33:13–30.
39. Menounos, P. G., G. Spanakos, N. Tegos, C. M. Vassalos, C. Papadopoulou, and N. C. Vakalis. 2008. Direct detection of Blastocystis sp. in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. Mol. Cell. Probes 22:24–9.
40. Moe, K. T., M. Singh, J. Howe, L. C. Ho, S. W. Tan, G. C. Ng, X. Q. Chen, and E. H. Yap. 1996. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of Blastocystis hominis from human feces. Parasitol. Res. 82: 439–44.
41. Moghaddam, D. D., E. Ghadirian, and M. Azami. 2005. Blastocystis hominis and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole. Parasitol. Res. 96:273–5.
42. Nigro, L., L. Larocca, L. Massarelli, I. Patamia, S. Minniti, F. Palermo, and B. Cacopardo. 2003. A placebo-controlled treatment trial of Blastocystis hominis infection with metronidazole. J. Travel. Med. 10:128–30.

43. Nimri, L. F., and M. Meqdam. 2004. Enteropathogens associated with cases of gastroenteritis in a rural population in Jordan. Clin. Microbiol. Infect. 10:634–9.
44. Noe¨l C., F. Dufernez, D. Gerbod, V. P. Edgcomb, P. Delgado-Viscogliosi, L. C. Ho, M. Singh, R. Wintjens, M. L. Sogin, M. Capron, R. Pierce, L. Zenner, and E. Viscogliosi. 2005. Molecular phylogenies of Blastocystis isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. J. Clin. Microbiol. 43:348–355.
45. Ockert G. Epidemiology of Dientamoeba fragilis Jepps and Dobell, 1918. 1. Spread of the the species in child collectives. J. Hyg. Epidemiol. Immunol. 16(2): 213-21, 1972a.
46. Ockert G. Epidemiology of Dientamoeba fragilis Jepps and Dobell, 1918. 2. Attempt at species transfer with Enterobius eggs. J. Hyg. Epidemiol. Immunol. 16(2): 222-5, 1972b.
47. Ok ÜZ, Korkmaz M, Ok GE, Özkan AT, Özcel MA. Bağırsak protozoasının tanısında nativ-lugol, formol-eter konsantrasyon ve trichrome boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. T. Parazitol. Derg. 20(1): 75-82, 1996.
48. Ok, Ü.Z., M. Cirit, A. Üner, E. Ok, F. Akçicek, A. Başçı, and M. A. Özcel. 1997. Cryptosporidiosis and blastocystosis in renal transplant recipients. Nephron 75:171–4.
49. Ok, Ü. Z., N. Girginkardesler, C. Balcioglu, P. Ertan, T. Pirildar, and A. A. Kilimcioglu. 1999. Effect of trimethoprim-sulfamethaxazole in Blastocystis hominis infection. Am. J. Gastroenterol. 94:3245–7.
50. Özçakir, O., S. Güreser, S. Ergüven, Y. A. Yılmaz, R. Topaloğlu, and G. Hasçelik. 2007. Characteristics of Blastocystis hominis infection in a Turkish university hospital. Turkiye Parazitol. Derg. 31:277–82.
51. Özyurt, M., O. Kurt, K. Mølbak, H. V. Nielsen, T. Haznedaroglu, and C. R. Stensvold. 2008. Molecular epidemiology of Blastocystis infections in Turkey. Parasitol. Int. 57:300–6.
52. Parkar U, Traub RJ, Vitali S, Eliot A, Levecke B, Robertson I, Guerden T, Steele J, Drake B, Thompson RCA. 2010. Molecular characterization of Blastocystis isolates from zoo animals and their animal keepers. Vet Parasitol. 169: 8-17.
53. Pegelow, K., R. Gross, K. Pietrzik, W. Lukito, A. L. Richards, and D. J. Fryauff. 1997. Parasitological and nutritional situation of school children in the Sukaraja district, West Java, Indonesia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 28:173–90.
54. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of Dientamoeba fragilis infections in childhood. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 35(1): 27-34, 1991.
55. Rao, K., U. Sekar, K. T. Iraivan, G. Abraham, and P. Soundararajan. 2003. Blastocystis hominis—an emerging cause of diarrhoea in renal transplant recipients. J. Assoc. Physicians India 51:719–21.
56. Rossignol, J. F., S. M. Kabil, M. Said, H. Samir, and A. M. Younis. 2005. Effect of nitazoxanide in persistent diarrhea and enteritis associated with Blastocystis hominis. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 3:987–91.
57. Sawangjaroen N, Luke R, Prociv P. Diagnosis by feacal culture of Dientamoeba fragilis infections in Australian patients with diarrhoea. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 87(2): 163-5, 1993.
58. Spencer, M.J., Garcia, L.S., Chapin, M.R. Dientamoeba fragilis, an intestinal pathogen in children? Am. J. Dis. Child. 133: 390-3, 1979.
59. Stark D., Beebe N., Marriott D., Ellis J., Harkness J. Dientamoebiasis: clinical importance and recent advances. Trends in Parasitology, 2005a.
60. Stark D., Beebe N., Marriott D., Ellis J., Harkness J. Detection of Dientamoeba fragilis in fresh stool specimens using PCR. Int. J. Parasitol. 35 (1): 57 – 62, 2005b.
61. Stensvold, R., A. Brillowska-Dabrowska, H. V. Nielsen, and M. C. Arendrup. 2006. Detection of Blastocystis hominis in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. J.Parasitol. 92:1081–7.
62. Stensvold, C. R., R. J. Traub, G. von Samson-Himmelstjerna, C. Jespersgaard, H. V. Nielsen, and R. C. Thompson. 2007a. Blastocystis: subtyping isolates using pyrosequencing technology. Exp.Parasitol. 116:111–9.
63. Stensvold, C. R., M. C. Arendrup, C. Jespersgaard, K. Mølbak, and H. V. Nielsen. 2007b. Detecting Blastocystis using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 59:303–7.
64. Stenzel DJ, Boreham PF. 1996. Blastocystis hominis revisited. Clin Microbiol Rev. 9: 563-84.
65. Suresh, K., and H. Smith. 2004. Comparison of methods for detecting Blastocystis hominis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23:509–11.
66. Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clin Microbiol Rev. 21(4): 639-65.
67. Tan TC, Suresh KG. 2006. Ameboid form of Blastocystis hominis – a detailed ultrastructural insight. Parasitol Res. 99: 737-9.
68. Tan, S. W., M. Singh, K. T. Thong, L. C. Ho, K. T. Moe, X. Q. Chen, G. C. Ng, and E. H. Yap. 1996. Clonal growth of Blastocystis hominis in soft agar with sodium thioglycollate. Parasitol. Res. 82:737–9.
69. Termmathurapoj, S., S. Leelayoova, P. Aimpun, U. Thathaisong, T. Nimmanon, P. Taamasri, and M. Mungthin. 2004. The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of Blastocystis hominis in stool specimens. Parasitol. Res. 93:445–7.
70. Turner JA. Giardiasis and infections with Dientamoeba fragilis. Ped. Clin. North America. 32(4): 865-80, 1985.
71. Valsecchi, R., P. Leghissa, and V. Greco. 2004. Cutaneous lesions in Blastocystis hominis infection. Acta Derm. Venereol. 84:322–3.

72. Vandenberg O., Souayah H., Mouchet F., Dediste A., van Gool T. Treatment of Dientamoeba fragilis infection with paromomycin. Pediatric Infect. Dis. J. 26: 88-90, 2007.
73. Windsor JJ, Johnson EH. Dientamoeba fragilis: the unflagellated human flagellate. Br. J. Biomed. Sci. 56: 293-306, 1999.
74. Windsor, J.J., MacFarlane L., Hughes-Thapa G., Jones S.K.A., Whiteside T.M. Detection of Dientamoeba fragilis by culture. Br. J. Biomed. Sci. 60(2): 79-83, 2003.
75. Windsor J.J., Clark C.G., MacFarlane L. Molecular typing of Dientamoeba fragilis. Br J Biomed Sci, 2004; 61 (3): 153 - 155.
76. Windsor J.J, MacFarlene L., Clark C.G. Internal transcribed spacer dimorphism and diversity in Dientamoeba fragilis. J Eukaryot Microbiol, 2006; 53(3): 188-192.
77. Wong, K. H., G. C. Ng, R. T. Lin, H. Yoshikawa, M. B. Taylor, and K. S. Tan. 2008. Predominance of subtype 3 among Blastocystis isolates from a major hospital in Singapore. Parasitol. Res. 102:663–70.
78. Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, Khan R. 2010. Irritabl bowel syndrome: is it associated with genotypes of Blastocystis hominis. Parasitol. Res. 106:1033-8.
79. Yan, Y., S. Su, R. Lai, H. Liao, J. Ye, X. Li, X. Luo, and G. Chen. 2006. Genetic variability of Blastocystis hominis isolates in China. Parasitol. Res. 99:597–601.
80. Yoshikawa, H., K. Yoshida, A. Nakajima, K. Yamanari, S. Iwatani, and I. Kimata. 2004a. Fecal-oral transmission of the cyst form of Blastocystis hominis in rats. Parasitol. Res. 94:391–6.
81. Yoshikawa, H., Z. Wu, I. Kimata, M. Iseki, I. K. Ali, M. B. Hossain, V. Zaman, R. Haque, and Y. Takahashi. 2004b. Polymerase chain reactionbased genotype classification among human Blastocystis hominis populations isolated from different countries. Parasitol. Res. 92:22-29.
82. Yoshikawa, H., N. Abe, and Z. Wu. 2004c. PCR-based identification of zoonotic isolates of Blastocystis from mammals and birds. Microbiology 150:1147–51.
83. Yoshikawa, H., Z. Wu, I. Nagano, and Y. Takahashi. 2003. Molecular comparative studies among Blastocystis isolates obtained from humans and animals. J. Parasitol. 89:585–94.
84. Zhang, X., J. Y. Qiao, X. J. Zhou, F. R. Yao, and Z. C. Wei. 2007. Morphology and reproductive mode of Blastocystis hominis in diarrhea and in vitro. Parasitol. Res. 101:43-51.

HPV MOLEKÜLER TANISINDA GÜNCEL DURUM
SERVİKAL SİTOLOJİ BETHESDA SINIFLAMASI

Gülgün ERDOĞAN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya

- Servikal kanserler kadınlarda görülen dünyadaki en sık 2. kanserdir. Kadın kanser ölümlerinde 2. sırada yer alır, bununla birlikte önlenebilir bir hastalıktır.İnsidans ve mortalitesi etkili tarama programları ve preinvaziv hastalıkların etkin tedavisi sonucu son 50 yılda belirgin azalmıştır. Yılda bir kez smear testi ile taranan bir kadının ömür boyu kanser olma riski %90 oranda azalmaktadır.
- Etiyopatogenez de HPV yer almaktadır
- Papovaviridia ailesinin üyeleridirler
- Cilt ve mukozal membranların epitelyal hücrelerini enfekte eder
- 120'den fazla HPV tipi tanımlanmış
- Yüksek, orta ve düşük riskli
- Yüksek riskli HPV ile persistan enfeksiyon servikal kanser gelişimi ile ilişkili
- HPV DNA, prekanseröz ve invaziv servikal lezyonların yaklaşık %100'ünde saptanmıştır

HPV ilişkili servikal intraepitelyal lezyonların sınıflaması (WHO-2003

Terim	**HPV risk kategorisi**	**Sistemlerin karşılaştırması**		
		İki basamaklı CIN	**Displazi/CIS**	**SIL (Bethesda)**
Eksofitik kondilom	Düşük risk	-	-	LGSIL
Skuamöz papillom	Düşük risk	-	-	LGSIL
Flat kondilom	Düşük ve yüksek risk	-	-	LGSIL
CIN1	Düşük ve yüksek risk	Düşük dereceli CIN	Hafif displazi	LGSIL
CIN2	Yüksek risk	Yüksek dereceli CIN	Orta displazi	HGSIL
CIN3	Yüksek risk	Yüksek dereceli CIN	Şiddetli displazi/CIS	HGSIL

Servikal sitoloji materyalleri konvansiyonel yöntemle hazırlanabilir veya günümüzde daha çok sıvı fiksatif içinde gönderilen ve laboratuarda lam üzerine yayılarak hazırlanan sitoloji materyalleri kullanılmaktadır. Sıvı bazlı sitolojinin en önemli avantajı HPV DNA testinin ASCUS varlığında bu materyalden hazırlanarak bakılabilmesidir. Sitolojik anormallikler, HPV testi ile birlikte değerlendirilip hastanın kolposkopiye bundan sonra yönlendirilmesi gerekir

Günümüzde smear tarama testinin raporlanmasında, gözlemciler arası değişkenliği azaltması ve tekrarlanabilirliğini arttırması nedeni ile Bethesda sistemi kullanılmaktadır. İlk kez 1988'de kullanılmaya başlanmış, 1991 ve 2001'de revize edilmiştir.

TANI: A-SPESMEN YETERLİLİĞİ : □ Yeterli : □ Yetersiz Spesmen çalışılabilir fakat epitelyal anomaliyi göstermek için sınırlı	
B-GENEL KATEGORİZASYON: □ İntraepitelyal lezyon veya malignite açısından negatif □ EPİTELYAL HÜCRE ANOMALİLERİ	

□ DİĞER	
C- YARDIMCI TESTLE	
D-AÇIKLAMA/ SONUÇ: 1.□ İNTRAEPİTELYAL LEZYON veya MALİGNİTE açısından NEGATİF a-MİKROORGANİZMALAR 1.□ Trichomonas vaginalis 2.□ Morfolojik Olarak Candida ile uyumlu fungal organizma 3.□ Bakteriyal vajinozis düşündüren vajinal flora değişikliği 4.□ Morfolojik olarak Actinomyces ile uyumlu bakteri 5 □ Herpes Simplex virus ile uyumlu hücresel değişiklikler	b- Diğer non-neoplastik bulgular. 1. □ Reaktif hücresel değişiklikler a. □Yangı ile ilişkili b. □ Radyasyon etkisi ile ilişkili c. □ İntrauterin araç etkisi ile ilişkili 2. □ Histerektomi sonrası glandüler hücreler 3. □ Atrofi DİĞER . □ Endometrial hücreler (>40 yaş bir kadında)
2. □ EPİTELYAL HÜCRE ANOMALİLERİ a- SKUAMÖZ HÜCRE 1. □ Önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US) 2. □ H-SIL şüphesi olan atipik skuamöz hücreler (ASC-H) 3. □ Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (L-SIL) (HPV/ Hafif displazi / CIN 1) 4. □Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (H-SIL) (Orta şiddette displazi, CIN II-III, Karsinoma insitu) 5. □ İnvazyon şüphesi bulguları ile birlikte olan H-SIL 6. □ Skuamöz hücreli karsinom	b- GLANDÜLER HÜCRE 1. □ Atipik endoservikal hücreler 2. □ Atipik endometrial hücreler 3. □Atipik glandüler hücreler 4. □ Endoservikal in situ adenokarsinom 5. □ Endoservikal adenokarsinom 6. □ Endometrial adenokarsinom 7. □ Ekstrauterin adenokarsinom 8. □ Spesifik edilemeyen (NOS)
3.DİĞER MALİGN NEOPLAZİLER: (Spesifiye ediniz):	
E. ÖNERİLER:	

İKİ ANA KATEGORİ VARDIR;

Materyal yeterliliği

Genel kategori;

- İNTRAEPİTELYAL LEZYON VEYA MALİGNİTE AÇISINDAN NEGATİF
- EPİTELYAL HÜCRE ANOMALİLERİ
- DİĞER

SPESMEN YETERLİLİĞİ

- Yeterli :

♦ Squamöz epitel hücreleri yeterli sayıda ve iyi korunmuş olmalı

Konvansiyonel için en az 9-12000 hücre

Sıvı bazlı materyalde 5000 hücre

- Yetersiz:

Hasta kimliği, klinik bilgilerinin yokluğu

♦ Materyalin kırılması, dökülmesi

♦ Az sayıda skuamöz epitel hücresi

♦ Kaliteyi etkileyen epitel hücre detayının görülemediği durumlar;

Kanama, İnflamasyon, fiksasyon hatası, kontaminasyon (tüm preparatın %75 inden fazlasını işgal ediyorsa)

SPESMEN ÇALIŞILABİLİR FAKAT EPİTELYAL ANOMALİYİ GÖSTERMEK İÇİN SINIRLI;

Hasta bilgilerinin eksikliği

♦ Epitel hücre detayının görülmesini engelleyen kanama, inflamasyon, fiksasyon hatası (tüm preparatın %50-75)

Endoservikal / transformasyon zon elemanı yokluğu

(yeterlilik belirteci olmamakla beraber materyalin kalitesini vurgulamak amaçlı belirtilmelidir)(En az 10 tane endoservikal veya metaplastik hücre görülmeli)

- Herhangi bir epitelyal anormallik var ise materyalin yeterliliği göz önünde bulundurulmaz

İNTRAEPİTELYAL LEZYON VEYA MALİGNİTE AÇISINDAN NEGATİF

A/ MİKROORGANİZMALAR

B/ Diğer non-neoplastik bulgular.

REAKTİF HÜCRESEL DEĞİŞİKLİK- YANGI İLE İLİŞKİLİ;

- Minimal nükleer büyüme

intermedier hücrenin 1 yada 1,5 katı

- Belirgin nukleolus, nükleus konturları düzgün

- Hafif hiperkromazi fakat kromatin yapısı ve dağılımı ince, granüler ve uniform
- Sitoplazma polikromazi vakuolizasyon ve perinükleer halo içerebilir

REAKTİF HÜCRESEL DEĞİŞİKLİK-RADYASYON

- N/S oranında artış olmaksızın hücrenin belirgin büyümesi
- Bizaar hücreler
- Multinükleasyon
- Sitoplazmik vakuolizasyon ve/veya polikromazik boyanma

EPİTELYAL HÜCRE ANOMALİLERİ

SKUAMÖZ HÜCRE

ASC

- Reaktif değişikliklerden daha belirgin fakat kalitatif ve kantitatif olarak SIL için yeterli olmayan hücresel değişiklikleri kapsar.
- Oldukça problemli bir kategoridir. Sitopatologlar arasında uyum ve kendi içinde tekrarlanabilirliği düşüktür.
- ASC sıklığı tanının güvenirliği açısından bir laboratuvarda SIL tanısının 3 katından fazla olmamalıdır.
- ASC-US tüm ASC'lerin %90-95'ini oluşturur.
- Sitolojik özellikleri düşündürmekle birlikte LSIL için tanısal kriterleri yeterli olmayan
- Genellikle matür süperfisiyel/ intermedier hücrelerde
- Nükleuslarında 2,5-3 kat büyüme
- Perinükleer halo

ASC-H

- Daha az matür skuamöz veya metaplastik hücreler etkilenir.
- ASC-H sitolojik değişiklikler HSIL'i düşündürmekle beraber kalitatif veya kantitatif olarak yetersiz hücresel değişiklik varlığında kullanılmaktadır.
- Tüm ASC'lerin %5-10'unu oluşturur.
- HSIL için pozitif prediktif değeri ASC-US'den daha fazladır.
- AT/atrofi,inflamasyon ve rejeneratif etki, radyasyon etkisi

L-SIL

- Sitopatologlar arası uyum az
- Bir çalışmada tanı doğruluk oran %80, %20 olgu yanlış klasifiye edilmiş ve bunların 1/3'ü Yüksek gradeli bulunmuştur.
- Normal intermedier hücre nükleusunun 3 katı kadar
- Sitoplazma matür veya süperfisiyel
- Perinükleer halo
- Nükleus; Hiperkromazi, pleomorfizim nükleolus yok

HSIL

- Hücreler; Tek, tabakalı, sinsityal kümeler
- İmmatür skuamöz epitel baskın
- İnce, dantelimsi nonmetaplastik veya yoğun(metaplastik)stoplazma
- nadiren matür keratinizasyon
- LSIL hücresine göre küçük hücrelerdir
- Nükleuslar büyük pleomorfik hiperkromatik kaba granüler kromatinli ve düzensiz nükleer membran
- Sitoplazma non metaplastik yada dantelimsi görünümde

SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM

Keratinize SHK

- Tek tek daha az oranda kümeler oluşturan
- Hücre boyutunda ve şeklinde belirgin farklılık kaudat veya iğsi hücreler
- Düzensiz kaba granüle kromatin, parakromatin berraklaşması
- Makronükleol genelde olmaz
- Yoğun oranjofilik stoplazma
- Nekrotik artıklar içeren tümör diatezi

Nonkeratinize SHK

- Tek veya sinsityal gruplar
- HSIL bulgularına ek olarak
- Belirgin makronükleol
- Düzensiz kromatin dağılımı
- Kaba kromatin
- Parakromatin berraklaşma

- Nekrotik artık ve eski kanamadan oluşan tümör diatezi

GLANDÜLER HÜCRE

Atipik endoservikal hücreler

- Normalin 3-5 katı büyük nükleus
- Nükleolus belirgin
- Tabakalar ve bantlar şeklinde minor nükleer overlap
- Anizokoryoz ve hiperkromazi hafif

Atipik endometrial hücreler

- 5-10 hücreden oluşan küçük guruplar
- Nükleusta hafif büyüme
- Hafif hiperkromazi
- Küçük nükleoluslar
- Dar sitoplazma bazen vakuollü
- Belirsiz hücre sınırları

Adenokarsinoma insitu

- Yoğun tabakalar, bantlar, rozetler
- Balpeteği görünümünde kayıp
- Tabakalar çevresindeki hücre nükleuslarının dışa doğru protrüde olarak palizat dizilim yapması 'tüylü görünüm'
- Nükleolus küçük veya belirsiz
- Hücre sınırları belirsiz

ADENOKARSİNOM

Endoservikal;

- Tek tabaka veya küme halinde hücreler
- Makronükleoller
- Düzensiz kromatin dağılımı
- Zeminde nekrotik tümör diatezi

Endometrial

- Tipik olarak tek hücreler veya gevşek kümeler
- Nükleer atipi grade ile bağımlı
- Zeminde sulu (ince granüler) tümör diatezi

Kaynaklar

1. 2006 consensus guidelines for the management of woman with abnormal cervical screening tests. Wright T.C, massad LS, Dunton JC,,et al. Journal of Lower Genital Tract Disease, Volume 11, Number 4,2007,201-222
2. Wright TC, Ronnent BM, Kurman RJ, Ferenczy A. Precancerous lesion of the cervix. İn; Kurman RJ, Blaustein's pathology of the female genital tract.Springer 2011;194-252
3. Solomon D, Nayar R, The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Springer 2nd ed. 2004

HPV MOLEKÜLER TANISINDA GÜNCEL DURUM
DNA BAZLI TESTLER

Koray ERGÜNAY
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Viroloji Ünitesi , ANKARA

İnsan Papilloma Virusları (Human Papilloma Virus, HPV) standart hücre kültürü sistemlerinde üretilememekte, serolojik testler ise tanıda ancak çok kısıtlı olarak kullanılabilmektedir. Bu nedenle özellikle serviks uteri örneklerde HPV varlığının saptanması ve tiplendirilmesi için nükleik asit testleri (NATlar) yaygın olarak kullanılmaktadır. HPV DNA'sının saptanması ve tiplendirilmesi için kullanılan testler, sitolojik inceleme için alınan sürüntü örneklerinde, gerekli koşullar sağlandığında uygulanabilmektedir. Sitolojik inceleme için geliştirilen ticari sistemlerin de bir kısmının servikal örnekleri alma ve saklama koşulları NAT için uygun hale getirilmiştir (1).

HPV enfeksiyonlarının tanısında kullanılan NATlar, Hibridizasyon ve Amplifikasyon yöntemleri olarak gruplandırılabilir. Genel olarak hibridizasyon yöntemleri, viral nükleik asitlerin lokalizasyonu, eşlik eden morfolojik değişiklikler vb. konularında doğrudan bilgi sağlama avantajına sahip olsalar da, görece düşük duyarlılıkları kullanımlarını kısıtlamaktadır. Amplifikasyon yöntemleri arasında sıklıkla birçok HPV tipini saptama olasılığı sunan konsensus Polimeraz Zincir Tepkimesi (Polymerase Chain Reaction, PCR) yöntemleri kullanılmaktadır. İzolatların tiplendirmesi için ise; PCR amplikonların restriksiyon enzimi, Southern Blot ya da ters hibridizasyon-line probe analizleri uygulanabilmektedir. Bunun dışında sinyal amplifikasyonuna dayanan hibrit yakalama (Hybrid Capture™) sistemi de yaygın kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda ise gerçek zamanlı (real-time) PCR, DNA dizi analizi ve DNA mikroarray yöntemleri HPV tiplendirilmesinde başarılı olarak uygulanmaktadır (1).

HPV tanısında kullanılan DNA bazlı testlerde güncel çalışmalarda, konsensus primerleri kullanılarak yapılan gerçek zamanlı PCR ve mikroarray yöntemlerinin standardizasyon, ticari platformlara uygulanma ve performans analizleri dikkati çekmektedir (2-4). Ayrıca PCR amplikonlarının farklı yaklaşımlarla saptanması uygulamaları da bulunmaktadır. Bunların arasında floresan işaretli polistiren boncuklarla hibridizasyon (lumineks teknolojisi) (5), kolorimetrik mikroplak hibridizasyonu (6) ve yeni jenerasyon dizi analizi uygulamaları (7) sayılabilir. Biyosensör ve nanopartikül teknolojileri de HPV saptama ve tiplendirilmesinde uygulama alanı bulmuş güncel tekniklerdir (8-10). NAT yaklaşımlarının yüksek maliyetini azaltmak amacıyla geliştirilmiş, yeniden kullanılabilen membranlarla ters hibridizasyonla saptama yöntemi (11), ayrıca NAT için sitolojik örneklerin optimizasyonu çalışmaları da dikkat çekmektedir (12). Özellikle doku kesitleri ve parafine gömülmüş dokularda kullanılabilecek, duyarlılığı arttırılmış ticari in situ hibridizasyon yöntemleri de geliştirilmiştir (13).

Birçok HPV tanı testinin temelini oluşturan konsensus primerlerinin, özellikle tip 16 ve belirli tipleri içeren çoklu genotiple enfekte örneklerde, analitik duyarlılığın genotipler arasında farklılık gösterdiği rapor edilmektedir (14). Düşük ve yüksek riskli çoklu genotiplerle enfeksiyonlar, ülkemiz de dahil olmak üzere çeşitli popülasyonlarda gösterilmiş ve sanıldığından daha yaygın olduğu ortaya konulmuştur (15,16). Bu durum, özellikle tip dağılımının incelendiği epidemiyolojik çalışmalarda çeşitli testlerden elde edilen sonuçları incelerken akılda tutulmalıdır. Eldeki veriler, belirli HPV tiplerinin koenfeksiyonlarda daha sık ortaya çıktığını düşündürmektedir. Buna karşın, ilerlemiş servikal lezyon gelişimi riski açısından tipler arasında sinerjistik etki saptanmamıştır (16). Konsensus primerlerinin hedefi olan L1 bölgesi dışında, virusun onkojenik aktivitesinden sorumlu E6/E7 proteinlerini kodlayan genomik bölgenin amplifikasyonu da, güncel çalışmalarda alternatif bir hedef olarak karşımıza çıkmaktadır (17).

DNA bazlı NATların klinik özgüllüğünü arttırmak amacıyla, tipe özgül viral yük takibi ve viral genomun hücreiçi konfigürasyonunu inceleyen çalışmalar, yüksek viral yük ve entegre viral genomun ilerlemiş servikal lezyonlarla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (18,19). Konuyla ilgili güncel çalışmalarda, değerlendirme için tek bir viral yük ölçümünün yeterli olmadığı (20), özellikle 30 yaş altı kadınlarda yüksek viral yükün viral persistans ve sitolojik atipi ile ilişkisinin zayıfladığı dikkati çekmektedir (21). Yüksek riskli HPV tiplerinin tümü için viral yük-persistans ilişkisinin gözlenmediği, ayrıca tip 16 integrasyonunun da gençlerde nadiren saptandığı belirtilmektedir (22).

Güncel çalışmalarda bazı HPV tiplerine ait varyantların neoplazi gelişimi ile bağlantısı ortaya konulmuş, bu durum belirli virus varyantlarının saptanması konusuna dikkat çekmiştir (23). Önümüzdeki günlerde varyantlarla ilgili çalışmaların artacağı öne sürülebilir. Virusa ait E5 proteininin hücresel mikroRNA'ların ekspresyonunu etkilediği saptanmış (24), ayrıca E5 ekspresyonunun değişik atipi düzeyi saptanan hücrelerde farklılık gösterdiğine işaret eden kanıtlar elde edilmiştir (25). HPV tip 16 E6/E7 DNA aşılarının geliştirilebilmesi yolunda ümit verici gelişmeler de literatürde dikkati çekmektedir (26).

Kaynaklar:

1. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doom LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. J Clin Virol 2005 32:43-51.
2. Didelot MN, Boulle N, Damay A et al. Comparison of the PapilloCheck Assay With the Digene HC2 HPV DNA Assay for the Detection of 13 High-Risk Human Papillomaviruses in Cervical and Anal Scrapes. J Clin Virol 2011 83:1377-82.

3. Castle PE, Gutierrez EC, Leitch SV et al. Evaluation of a New DNA Test for Detection of Carcinogenic Human Papillomavirus. J Clin Microbiol 2011 49(8): 3029-32.
4. Roberts CC, Swoyer R, Bryan JT, Taddeo FJ. Comparison of real-time multiplex human papillomavirus (HPV) PCR assays with the linear array HPV genotyping PCR assay and influence of DNA extraction method on HPV detection. J Clin Microbiol 2011 49(5):1899-906.
5. Garcia DA, Cid-Arregui A, Schmitt M et al. Highly Sensitive Detection and Genotyping of HPV by PCR Multiplex and Luminex Technology in a Cohort of Colombian Women with Abnormal Cytology. Open Virol J 2011 5:70-9.
6. Barcellos RB, Almeida SE, Sperhacke RD et al. Evaluation of a novel microplate colorimetric hybridization genotyping assay for human papillomavirus. J Virol Methods 2011 177(1):38-43.
7. Barzon L, Militello V, Lavezzo E et al. Human papillomavirus genotyping by 454 next generation sequencing technology. J Clin Virol 2011 52:93-7.
8. Nasirizadeh N, Zare HR, Pournaghi-Azar MH, Hejazi MS. Introduction of hematoxylin as an electroactive label for DNA biosensors and its employment in detection of target DNA sequence and single-base mismatch in human papilloma virus corresponding to oligonucleotide. Biosens Bioelectron 2011 26(5):2638-44.
9. Ricco R, Meneghello A, Enrichi F. Signal enhancement in DNA microarray using dye doped silica nanoparticles: application to human papilloma virus (HPV) detection. Biosens Bioelectron 2011 26(5):2761-65.
10. Zhang H, Liu L, Li CW et al. Multienzyme-nanoparticles amplification for sensitive virus genotyping in microfluidic microbeads array using Au nanoparticle probes and quantum dots as labels. Biosens Bioelectron 2011 29(1):89-96.
11. Estrade C, Menood PA, Nardelli-Haefliger D, Sahli R. Validation of a low-cost HPV genotyping assay based on PGMY-PCR and reverse blotting hybridization with reusable membranes. J Clin Microbiol 2011 49(8): 3029-32.
12. Peevor R, Jones J, Fiander AN, Hibbits S. Development of optimal liquid based cytology sample processing methods for HPV testing: minimising the 'inadequate' test result. J Virol Methods 2011 173(2):374-7.
13. Montag M, Blankenstein TJ, Shabani N et al. Evaluation of two commercialised in situ hybridisation assays for detecting HPV-DNA in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Arch Gynecol Obstet 2011 284(4):999-1005.
14. Mori S, Nakao S, KukimotoI, Kusumoto-MatsuoR et al. Biased amplification of human papillomavirus DNA in specimens containing multiple human papillomavirus types by PCR with consensus primers. Cancer Sci 2011 102: 1223-7.
15. Ergunay K, Misirlioglu M, Firat P et al. Detection and typing of human papilloma virus by polymerase chain reaction and hybridization assay in cervical samples with cytological abnormalities. Mikrobiyol Bul 2008 42(2): 273-82.
16. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. J Infect Dis 2011 203(7):910-20.
17. Dictor M, Warenholt J. Single-tube multiplex PCR using type-specific E6/E7 primers and capillary electrophoresis genotypes 21 human papillomaviruses in neoplasia. Infect Agent Cancer 2011 17(6):1 (doi: 10.1186/1750-9378-6-1).
18. Cricca M, Morselli-Labate AM, Venturoli S et al. Viral DNA load, physical status and E2/E6 ratio as markers to grade HPV16 positive women for high-grade cervical lesions. Gynecol Oncol 2007 106(3):549-57.
19. Xi LF, Hughes JP, Castle PE et al. Viral load in the natural history of human papillomavirus type 16 infection: a nested case-control study. J Infect Dis 2011 203(10): 1425-33.
20. Marks M, Gravitt PE, Utaipat U et al. Kinetics of DNA load predict HPV 16 viral clearance. J Clin Virol 2011 51(1):44-9.
21. Carcopino X, Bolger N, Henry M et al. Evaluation of type-specific HPV persistence and high-risk HPV viral load quantitation in HPV positive women under 30 with normal cervical cytology. J Clin Virol 2011 83(4):637-43.
22. Ramanakumar AV, Goncalves O, Richardson H et al. Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. BMC Infect Dis 2010 10:326. (doi:10.1186/1471-2334-10-326)
23. Chang YJ, Chen HJ, Lee BH et al. Unique variants of human papillomavirus genotypes 52 and 58 and risk of cervical neoplasia. Int J Cancer 2011 129:965-73.
24. Greco D, Kivi N, Qian K et al. Human papillomavirus 16 E5 modulates the expression of host microRNAs. PLoS One 2011 6(7):e21646. (doi:10.1371/journal.pone.0021646)
25. Lorenzon L, Mazzetta F, Venuti A et al. In vivo HPV 16 E5 mRNA: Expression pattern in patients with squamous intra-epithelial lesions of the cervix. J Clin Virol 2011 52:79-83.
26. Osterhuis K, Ohlschlager P, van den Berg J et al. Preclinical development of highly effective and safe DNA vaccines directed against HPV 16 E6 and E7. Int J Cancer 2011 129:397-406.

HPV MOLEKÜLER TANISINDA GÜNCEL DURUM
mRNA BAZLI TESTLER

Ahmet PINAR
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Viroloji Laboratuarı, Ankara

Dünya Sağlık Örgütü 2002 yılı GLOBOCAN verilerine göre her yıl yaklaşık 500,000 kadın servikal kanser tanısı almakta ve bu kanser türü kadınlar arasında kanser nedenli ölümlerin üçüncü sırasında bulunmaktadır. İnsan papilloma virusu (HPV) cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların başta gelen etkenlerinden birisidir. HPV hemen hemen bütün invaziv servikal kanserlerde saptanan bir etkendir. Öte yandan bir kadının hayatı boyunca HPV ile enfekte olma olasılığı %80'in üzerindedir. Ancak bu enfeksiyonların büyük çoğunluğunu geçici enfeksiyonlar oluşturmakta ve 1 yıl içinde immün sistem yardımıyla ortadan kaldırılmaktadır.

Günümüzde viral L1 gen heterojenitesine bağlı olarak 200'ün üzerinde HPV tipi belirlenmiştir. Her biri bulundukları sırayla numaralandırılan tiplerin 20'den fazlası genital mukozaya özgüllük göstermektedir. Bu tiplerden şu an için 12 tanesi ise (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) kanser gelişimi için kesinlikle yüksek riskli tipler olarak sınıflandırılmaktadır. Tip 16 ve 18 servikal kanserlerin %70'inden fazlasında saptanmaktadır.

Geçici enfeksiyonlar nedeniyle servikal kanser gelişecek HPV enfeksiyonlarının tanısı özellikle önem arz etmektedir. Serviks kanserlerinin erken tanı ve tedavisinde seviksten alınan yayma örneklerinde sitolojik yöntemlerle atipi gösteren hücrelerin saptanması, 1900'lü yılların ortalarından beri benimsenmiş yaklaşımdır. Yirmibirinci yüzyıl ile birlikte yayma örneklerinin sıvı ortamlara alınıp yarı otomatize sistemler kullanılarak değerlendirilmesi, duyarlılıkta artış sağlamıştır. Ancak atipik hücreler sitolojik olarak saptanmadan çok önce HPV dokuya yerleşebilmektedir. Dolayısıyla günümüzde özgül olarak HPV'nin saptanmasının kanser korunmasında daha etkili olacağı düşünülmektedir. HPV'nin özgül olarak saptanması Mikrobiyoloji disiplininin çalışma alanına girmektedir. HPV tanısal amaçla kültüre edilebilen bir virus değildir. Dolayısıyla HPV mikrobiyolojik tanısında moleküler testler kullanılmaktadır. Moleküler testlerin temeli enfekte dokuda viral nükleik asitlerin saptanmasına dayanır. Saptanan nükleik asidin DNA ya da RNA olması mümkündür.

HPV'ye özgü moleküler testler başlıca üç amaçla kullanılmaktadır:

1- Primer tarama: Belli bir toplumda HPV prevalansının saptanması, tip dağılımının belirlenmesi ve kanser riski altındaki popülasyonun saptanması amacıyla kullanılır.
2- Triyaj: Sitolojik olarak sınırda atipi saptanan olgularda hangi yaklaşımın izleneceğine karar vermek amacıyla kullanılır.
3- Tedavi sonrası izlem: Tedavi sonrası persistan ya da rekürren enfeksiyonların saptanması amacıyla kullanılır.

Viral DNA saptayan testler HPV virus genomunun klinik örnekte varlığını ya da yokluğunu gösterirken RNA saptayan testler kanser gelişimi ile ilişkili genlerin ekspresyonunu (mRNA) göstermektedir. Özellikle E6 ve E7 gen ürünlerinin kanser gelişiminde aşırı eksprese edildikleri bilinmektedir. Bu iki onkogen, hücredeki tümör baskılayıcı p53 ve pRb proteinlerini inaktive ederek düzensiz hücre çoğalmasına neden olmaktadırlar. Dolayısıyla E6 ve E7 ekspresyonunun saptanmasıyla geçici enfeksiyonlar ile kansere ilerleme arasında ayırımın daha iyi yapılabileceği savunulmaktadır.

Bu konu aslında HPV geçici enfeksiyonlarının tanı testlerinde yarattığı analitik ve klinik duyarlılık/özgüllük değerleri arasındaki büyük farkın ortadan kaldırılması ile ilgilidir. Analitik duyarlılık, pozitif test sonucu alınan örnekler içinde gerçekten "hedef molekülü" bulunduranların oranı şeklinde tanımlanırken, klinik (tanısal) duyarlılık pozitif test sonucu alınan olgular arasında "hedef hastalığın" gelişme oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Bu durumu HPV enfeksiyonlarına uyarlarsak "hedef molekül" HPV nükleik asidini, "hedef hastalık" ise servikal neoplazi gelişimini tanımlamaktadır. Her saptadığımız HPV nükleik asit varlığı servikal neoplazi gelişimine işaret etmediğine göre (geçici enfeksiyonlar) testimizin analitik duyarlılığı arttıkça aslında klinik (tanısal) özgüllüğün azaldığını görebiliriz. Ayrıca testlerin analitik duyarlılıkları sadece saptadıkları HPV tipleri için hesaplanmaktadır. Testin saptadığı tipler arasında olmayan, fakat servikal neoplazi gelişimine katkısı bulunan tiplerin bulunması ise klinik (tanısal) duyarlılığın düşmesi anlamına gelmektedir.

Öte yandan analitik özgüllük negatif test sonucu alınan klinik örnekler içinde gerçekten "hedef molekülü" içermeyenlerin oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Klinik (tanısal) özgüllük ise negatif test sonucu alınan olgular arasında gerçekten "hedef hastalığın" gelişmeme oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Bu tanımları HPV enfeksiyonlarına uyarlarsak, eğer kullandığımız test sistemi saptanması öngörülmeyen HPV tipleri için pozitif sonuç vermiyorsa analitik özgüllüğümüz yüksek anlamına gelmektedir. Ancak saptadığı tipler arasında sadece geçici enfeksiyona neden olmuş ve servikal neoplaziye neden olmayacak viruslar da bulunabilir. Bu durumda klinik (tanısal) özgüllük oldukça düşük olacaktır. Analitik ve klinik duyarlılık/özgüllük arasındaki bu farkı ortadan kaldırmak için E6/E7 mRNA saptayan testler oldukça önemli bir fırsat sunmaktadırlar.

Şu anda piyasada bulunan HPV RNA saptayan testler şunlardır:

1- NASBA

Servikal yayma örneklerinden E6/E7 onkogenlerine ait mRNA saptanması amacıyla kullanılmaktadır. Şu anda dünya piyasasında iki farklı sistem bulunmaktadır. Bunlar NorChip firmasının PreTect HPV-Proofer sistemi ile BioMerieux firmasının NucliSENS Easy Q HPV sistemidir. Bu sistemlerin çalışma temelleri tamamen aynı olup

değişik ülkelerde farklı isimlerle pazarlanmaktadırlar. Sistem yüksek riskli 5 HPV tipi (16, 18, 31, 33, 45) için mRNA saptamaktadır.

2- PCR + Prob Saptama

Servikal yayma örneklerinden E6/E7 onkogenlerine ait mRNA saptanması amacıyla kullanılmaktadır. Şu anda dünya piyasasında tek bulunan sistem Gen-Probe firmasının APTIMA HPV Assay sistemidir. Sistem yüksek riskli ve muhtemel yüksek riskli 14 HPV tipi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) için mRNA saptamaktadır.

Bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleriyle ilgili günümüze dek çok sayıda makale yayınlanmasına rağmen karşılaştırılan testler ve alınan altın standartlar arasındaki farklılıklar dolayısıyla gerçek bilimsel verilere ulaşmak zorlaşmaktadır. Mart 2011'de yayınlanan bir sistematik derleme ile bu sorun çözülmeye çalışılmıştır. Burger E.A. ve arkadaşlarının bu çalışmasına göre 1996-2010 yılları arasında HPV'nin moleküler yöntemlerle saptanmasına dayalı testlerle ilgili 3179 yayın yapılmış, ancak bunlardan 12 tanesi değerlendirmeye alınabilmiştir. Altın standart olarak sitolojik atipi saptanmasını kabul eden bu 12 yayına göre NASBA yönteminin duyarlılığı %41-86 arasında değişmekte özgüllüğü %63-85 arasında bulunmaktadır. PCR+Prob yönteminin duyarlılığı %%91-95 aralığında, özgüllüğü %42-56 aralığında bulunmuştur. Tüm mRNA testlerine tüm olarak bakıldığında DNA testlerine göre daha az sayıda yalancı pozitifliğe neden oldukları görülmüştür.

Bu çalışmanın ve genel olarak literatürün gözden geçirilmesiyle mRNA testlerinin özgüllüklerinin DNA testlerine göre daha yüksek olduğu görülebilmektedir. Duyarlılık konusunda ise PCR-Prob yönteminin NASBA'ya göre daha yüksek sonuçlar verdiği ve DNA testlerini zorladığı görülmektedir. Bunun nedeni yöntemin tüm yüksek riskli tipleri saptayabilmesidir. NASBA ise sadece 5 yüksek riskli tipi saptayabilmektedir. Ancak özgüllük konusunda en yüksek sonuçların NASBA yöntemiyle elde edildiği fark edilmektedir. Dolayısıyla yalancı pozitif sonuçlardan korunmada NASBA yönteminin üstünlüğü vardır.

Hedef molekülü DNA olan HPV testlerinin ve mRNA saptayan PCR-Prob yönteminin klinik duyarlılığı yüksektir. Yani ileride servikal kanser gelişme olasılığı bulunan tüm olguları yakalamaktadır. Öte yandan konu klinik özgüllüğe geldiğinde en kötü sonuçlar DNA testleriyle alınmakta, mRNA saptayan PCR-Prob yöntemi DNA testlerine göre daha yüksek özgüllüğe sahip olmakla birlikte en yüksek özgüllük rakamlarına NASBA ile ulaşılmaktadır. Düşük klinik özgüllüğün anlamı ileride servikal kanser gelişmeyecek olgulara da pozitif sonuç verebilmesidir. Dolayısıyla gereksiz kolposkopi endikasyonları konulabilmekte, olgular psikolojik travma yaşamakta ve sağlık harcamalarında artışlar görülebilmektedir.

Son yıllarda toplum taramaları için DNA hedefini saptayan testlerin daha uygun olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni klinik duyarlılığın yüksek olmasıdır. Dolayısıyla kanser gelişme riski bulunan tüm olgular saptanabilir. Ancak, tarama sonrası pozitif bulunan örneklerde mRNA bakılması, daha sağlıklı sonuçların alınması için önerilebilir. Triyaj ve izlem için DNA ya da mRNA testleri kullanılabilir. Hangi testin kullanılacağına karar verilirken kullanım amacı dışında maliyet, laboratuar alt yapısı ve personel kalitesi gibi başka unsurların da göz önüne alınması gerekmektedir. Özellikle ileri teknoloji ve bilgi gerektiren HPV testlerinde yetişmiş Mikrobiyoloji Uzmanlarının denetim ve katkısına mutlak gereksinim vardır.

Kaynaklar

1- Andersson et al. Expression of E6/E7 mRNA from 'high risk' human papilloma virus in relation to CIN grade, viral load and p16INK4a. International Journal of Oncology, 2006.
2- Bouvard et al. A review of human carcinogens-Part B: Biological agents. Lancet Oncology, 2009.
3- Burger et al. HPV mRNA tests fort he detection of cervical intraepithelial neoplasia: A systematic review. Gynecologic Oncology, 2011
4- Castle et al. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. Clinical Cancer Reserch, 2007.
5- Cattani et al. Clinical performance of human papillomavirus E6 and E7 mRNA testing for high grade lesions of the cervix. Journal of Clinical Microbiology, 2009.
6- Cuzick et al. Overview of human Papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. Vaccine, 2008.
7- Dockter et al. Clinical performance of the APTIMA HPV Assay fort he detection of high-risk HPV and high-grade cervical lesions. Journal of Clinical Virology, 2009.
8- Eder et al. The next generation Hybrid Capture High Risk HPV DNA assay on a fully automated platform. Journal of Clinical Virology, 2009.
9- Getman et al. Efficiency of the APTIMA HPV Assay for detection of HPV RNA and DNA targets. Journal of Clinical Virology, 2009.
10- Halfon et al. Relevance of HPV mRNA detection in a population of ASCUS plus women using the NucliSENS EasyQ HPV assay. Journal of Clinical Virology, 2010.
11- Hovland et al. A comprehensive evaluation of the accuracy of cervical pre-cancer detection methods in a high-risk area in East Congo. British Journal of Cancer, 2010.
12- Huang et al. Clinical performance of Abott RealTime High Risk HPV test for detection of high-grade cervical neoplasia in women with abnormal cytology. Journal of Clinical Virology, 2009.

13- Lie et al. DNA-versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. Gynecologic Oncology, 2005.
14- Molden et al. Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-Proofer and concensus PCR: a 2-year follow-up of women with ASCUS or LSIL Pap smear. International Journal of Cancer, 2005.
15- Molden et al. Comparison of human papillomavirus Messenger RNA and DNA detection: cross-sectional study of 4,136 women >30 years of age with a 2-year follow-up of high-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2005.
16- Monsonego et al. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (the FASE study). International Journal of Cancer, 2010.
17- Naucler et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. Journal of National Cancer Institute, 2009.
18- Nicol et al. A summary of the 25th International Papillomavirus Conference 2009: Vaccines, screening, epidemiology and therapeutics. Journal of Clinical Virology, 2010.
19- Poljak et al. The Abbott RealTime High Risk HPV test: comparative evaluation of analytical specificity and clinical sensitivity for cervical carcinoma and CIN 3 lesions with the Hybrid Capture 2 HPV DNA test. Acta Dermatoven APA, 2009.
20- Ratnam et al. Clinical performance of the PreTect HPV-Proofer E6/E7 mRNA assay in comparison with that of the Hybrid Capture 2 test for identification of women at risk of cervical cancer. Journal of Clinical Microbiology, 2010.
21- Ronco et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. Lancet, 2010.
22- Schopp et al. Evaluation of the performance of the novel PapilloCheck1 HPV Genotyping Test by comparison with two other genotyping systems and the HC2 test. Journal of Medical Virology, 2010.
23- Szarewski et al. Comparison of predictors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2008.
24- Trope et al. Performance of human papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia. Journal of Clinical Microbiology, 2009.
25- Varnai et al. Predictive testing of early cervical pre-cancer by detecting human papillomavirus E6/E7 mRNA in cervical cytologies up to high-grade squamous intraepithelial lesions: Diagnostic and prognostic implications. Oncology Reports, 2008.

UZMANIYLA TARTIŞMA
Olgularla Klinik Parazitoloji

OLGU – 1
Gülay ARAL AKARSU
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Parazitoloji Bilim Dalı, Ankara

45 yaşında erkek hasta, 1 aydır devam eden diare, karında ağrı, şişkinlik ve rahatsızlık şikayetleri var. Eşlik eden (Ateş, kilo kaybı gibi) başka bir yakınması yok. Fizik muayene bulguları normal. Hastanın dışkı örneği hem bakteri kültürü hem de parazitolojik inceleme amacıyla birer gün ara ile 3 defa laboratuvara gönderiliyor. Kültürde herhangi bir enterik bakteriyel patojen üremiyor. Nativ preparatta 7-12 µm boyutunda, refraktil, vakuole benzer merkezi boşluklarının etrafında periferik olarak yerleşmiş granülleri olan hücreler görülüyor. Yapılan trikrom boyamada ise, yoğun olarak mavi boyanmış ve morumsu granüllere sahip bu hücrelerin yanında, 8-10 µm boyutunda ve düzgün yerleşimli periferal nükleer kromatini bulunan amibik trofozoitler gözleniyor.

OLGU – 2
Gülden SÖNMEZ TAMER
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

28 yaşında kadın hasta
Yakınmaları: İshal, karın ağrısı, bulantı ve halsizlik.
Öyküsü: Önceden herhangi bir yakınması olmayan hasta 7 gün önce başlayan, kan ve mukus içermeyen, günde 4-5 kez sulu dışkılama ve göbek çevresinde daha belirgin olan kramp tarzında karın ağrısı tarif ediyor. On gün önce gittiği bir hekim tarafından üst solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla amoksisilin/klavulanat kullanıldığı öğrenildi. Hasta ağrının dışkılama ile hafiflediğini, ancak sonra tekrar şiddetlendiğini ve yakınmalarının başlamasından itibaren belirgin derecede halsizliğinin olduğunu bildirdi. Dışkılaması son iki gündür kanlı-mukuslu şekle dönen hasta kliniğe başvurdu.
Öz geçmişi: Önemli bir özellik yok.
Soy geçmişi: Üç yıl önce annesi meme kanserinden ölmüş.
Fizik muayene bulguları: Bilinç açık, ateş:36.7◦C/ aksiler, TA:130/80 mm/ Hg, nabız: 72 /dk idi. Karında yaygın ağrılı duyarlılık, barsak seslerinde artma saptanan hastada defans ve rebaund saptanmadı. Diğer sistem muayeneleri normaldi.
Laboratuar bulguları: Tam kan sayımında; lökosit: 8000/mm^3, Hb:13.5 gr/dL, ESR:3mm/s, trombosit:310000/mm^3 bulunan hastanın tam idrar tetkiki ve kan biyokimyası normal değerlerdeydi. Dışkının mikrobiyolojik incelemesi isteniyor.

SÖZLÜ BİLDİRİLER

S01 - MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS İZOLASYONUNDA VE İDENTİFİKASYONUNDA BACTEC MGIT 960 VE BACTEC 460TB KÜLTÜR SİSTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Nuray Çalışkan Gürsev, Nuri Özkütük, Süheyla Sürücüoğlu
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa

Amaç
Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) izolasyonunda ve identifikasyonunda sıvı kültür sistemleri olan BACTEC MGIT 960 ve BACTEC 460TB sistemlerinin performansının karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Haziran 2010 – Mayıs 2011 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüberküloz Laboratuvarı'na gönderilen 694'ü solunum, 372'si solunum yolu dışı olmak üzere toplam 1066 klinik örnek dahil edilmiştir. Örneklerin tümü BACTEC MGIT 960 ve BACTEC 460TB sistemi besiyerlerine (Becton Dickinson, ABD) ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerine (Salubris AŞ, İstanbul) üretici firma önerilerine uygun olarak ekilmiş ve üreme oranı, üreme hızı ve kontaminasyon oranı yönünden takipleri yapılmıştır. Ayrıca Tüberküloz Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanan 30'u MTBC ve 21'si Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) olmak üzere toplam 51 mikobakteri suşunun her iki sistem ile pasajları yapılarak kültür sonrası identifikasyonları TBc ID testi (BD MGIT TBc Identification Test) ve NAP testi (BACTEC NAP TB Differentiation Test) ile yapılmıştır.
Bulgular
İncelenen 1066 klinik örnekten toplam 62'sinin kültüründe, üç farklı besiyerinden en az birinde mikobakteri (37'sinde MTBC, 25'inde TDM) üremiştir. Mikobakteri izolasyon oranı BACTEC MGIT 960'da % 82,3 (n=51), BACTEC 460TB'de % 62,9 (n=39) ve LJ besiyerinde % 43,5 (n=27) olarak saptanmıştır. MTBC izolasyon oranı ise BACTEC MGIT 960, BACTEC 460TB ve LJ besiyerinde sırasıyla % 86,5 (n=32), % 83,8 (n=31) ve % 54,0 (n=20) olarak bulunmuştur. Beş örneğin kültüründe sadece BACTEC MGIT 960'da, dört örneğin kültüründe sadece BACTEC 460TB'de, bir örneğin kültüründe ise sadece LJ besiyerinde üreme olmuştur.
Mycobacterium tuberculosis kompleks ortalama izolasyon süresi BACTEC MGIT 960 için 13,7 (5-35) gün, BACTEC 460TB için 14,6 (4-26) gün ve LJ besiyeri için 20,7 (12-43) gündür. Besiyerlerinin kontaminasyon oranları ise aynı sırayla % 6,6,% 2,6 ve % 7,7 olarak hesaplanmıştır. BD MGIT Tbc identifikasyon testi ve BACTEC 460 NAP testi ile 51 mikobakteri suşunun tamamı doğru olarak tanımlanmıştır. Her iki sistem arasında, klinik örnekten MTBC izolasyonu ve identifikasyon performansları yönünden istatistiksel fark olmadığı, ancak kontaminasyon oranının BACTEC 960 sisteminde, BACTEC 460TB sistemine göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.
Sonuç
BACTEC 460TB sisteminin klinik kullanımdan çekilmesi nedeniyle, sıvı kültür sistemleri kullanan laboratuvarlarda BACTEC 960 sisteminin, BACTEC 460TB sistemine alternatif olarak kullanılabileceği ve MTBC identifikasyonu için NAP testi yerine BD MGIT Tbc testinin uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: BACTEC 460TB, identifikasyon, kültür, MGIT 960, Mycobacterium tuberculosis kompleks

S02 - KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNDE ÜREYEN CANDİDA TÜRLERİNİN TANIMLANMASINDA MALDI TOF-MS YÖNTEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Görkem Yaman[1], **Işın Akyar[1]**, Simge Can[2]
[1]*Acıbadem Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İstanbul*
[2]*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*

Amaç
MALDI TOF-MS (matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi – matrix assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry) bakteri ve mantarların hızlı ve doğru olarak tanımlanmasına olanak sağladığı için son dönemde bir "devrim" olarak nitelendirilmiştir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır.
Görülme sıklığı giderek artan ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kritik seyreden invaziv fungal enfeksiyonların tanısı klinik gözlem ve laboratuvar testlerine dayanmakla beraber kültür ve konvansiyonel tanımlama yöntemleri oldukça karışıktır. Candida türleri invaziv fungal enfeksiyonların olduğu kadar nozokomiyal ve dolaşım yolu enfeksiyonlarının da en yaygın görülen etkenlerindendir. Çalışmamızda Candida türlerinin rutin tanı amaçlı tanımlanmasında MALDI TOF-MS'in performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak2010-Aralık 2010 tarihleri arasındaki bir yıl boyunca kurumumuza bağlı 14 hastaneden gelen kan kültürü örneklerinden izole edilen toplam 281 Candida türü ve 4 farklı standart Candida ATCC suşu: Candida lusitaniae ATCC 34449, Candida krusei ATCC 6258, Candida lusitaniae ATCC 34449, and Candida albicans ATCC 10231 çalışmaya dahil edilmiştir. Gram boyama, germ tüp yapılması ve ChromAgar Candida besiyeri kullanılması dışında tüm izolatlar otomatize VITEK 2 YST (Biomerieux, Fransa) panellerine alınarak tür tanımları yapılmıştır. Bu mikroorganizmalar aynı zamanda Bruker Autoflex 2 MALDI TOF-MS sisteminde (Bruker Daltonics, Almanya) üreticinin talimatları doğrultusunda tanımlanarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. MALDI-TOF MS'de çalışılan izolat metal bir plak üzerine damlatılarak, üzerine bir matriks solüsyonu eklenerek havada kurutulmaktadır. Aygıt içine yerleştirilip lazer ışınları ile vuruşlar yapıldıktan sonra, matriks ışığı emerek ilgilenilen molekül(ör; DNA veya proteinler) haline dönüştürmektedir. Genellikle, tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluşmakta ve "Biotyper" ile mikroorganizma tiplendirmeleri yapılmaktadır. İşlem dakikalar içerisinde gerçekleşmekte ve otomatize sistemlerle mikroorganizma tanımlanmasına göre çok daha kısa sürede ve doğru bir şekilde sonuçlanmaktadir.
Bulgular
281 örnekten 264'ü (%94) her iki sistem tarafından da aynı şekilde tanımlanırken birbirinden farklı sonuçlar alınan 17 örnek için 18s ribozomal RNA sekanslama yapılmıştır. Sekanslama sonucunda 17 örneğin 16'sı MALDI TOF-MS ile uyumlu tanımlanırken 1 örnek VITEK II ile uyumlu sonuç vermiştir. Sonuç olarak MALDI TOF-MS ile 281 örneğin 280'i (%99,6) doğru olarak tanımlanabilmiştir.
Sonuç
Çalışma sonucunda MALDI TOF-MS yönteminin Candida türlerinin güvenilir bir şekilde tanımlanmasında kullanılabilecek hızlı bir yöntem olduğu ortaya konmuştur.
Anahtar Kelimeler: MALDI TOF-MS, VITEK II, Candida, fungal enfeksiyon

Candida türlerinin tanımlanmaları

	Toplam izolat sayısı	VITEK 2 ile tanımlanan izolat sayısı	MALDI-TOF MS ile tanımlanan izolat sayısı
C.albicans	174	172	173
C.tropicalis	42	38	42
C.glabrata	25	23	25
C.parapsilosis	18	16	18
C.krusei	10	9	10
C.kefyr	5	2	5
C.dubliniensis	1	1	1
C.lambica	1	1	1
C.lusitaniae	4	1	4
C.orthopsilosis	1	1	1
Toplam	281	264	280

S03 ANAEROP BAKTERİLERİN "MATRİX-ASSİSTED LASER DESORPTİON IONİZATİON- TİME OF FLİGHT MASS SPECTROMETRY"(MALDI-TOF) YÖNTEMİYLE TANIMLANMALARI

Işın Akyar[1], Görkem Yaman[1], Serpil Ercis[2], Simge Can[2]
[1]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*

Amaç
Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi – matrix assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry (MALDI TOF-MS) bakteri ve mayaların hızlı tanımlanmasında yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Anaerop bakteri türlerinin tanımlanmaları rutin laboratuvar işlemleri sırasında zor olabilmekte ve uzun sürebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, anaerop bakterilerin MALDI TOF-MS yöntemiyle kısa sürede, kolayca ve güvenilir bir şekilde tanımlanmalarının değerlendirilmesidir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Schaedler Agar'da üremiş ve aerotolerans ile anaerop bakteri oldukları kanıtlanmış olan bakterilerin tanımlamalarında kütle spektrometrisi yöntemine dayanan (MALDI-TOF MS yöntemi kullanılmıştır. Referans suş olarak Bacteroides fragilis ATCC 25285 kullanılmış ve ayrıca identifikasyon sonucu bilinen dış kalite kontrol(Finegoldia magna) örneğinden yararlanılmıştır.
Bu yöntemde izolat metal bir plak üzerine damlatılarak, üzerine bir matriks solüsyonu eklenerek havada kurutulmaktadır. Aygıt içine yerleştirilip lazer ışınları ile vuruşlar yapıldıktan sonra, matriks ışığı emerek ilgilenilen molekül(ör; DNA veya proteinler) haline dönüştürmektedir. Genellikle, tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluşmakta ve "Biotyper" ile mikroorganizma tür tanımlamaları yapılmaktadır.
Schaedler Agar'da anaerop olduğunu düşünülerek aerotolereans çalışılan ve anaerop olduğu kesinlik kazanan bakteriler VITEK 2 (Biomerieux, Fransa)otomatize sistemi ve MALDI-TOF yöntemi ile tanımlanmışlardır.
Bulgular
Çalışmamıza Şubat 2011-Eylül 2011 arasında kurumumuza başvuran 215 hastadan istenen anaerob kültür örnekleri dahil edilmiştir. Bu örnekler çalışılmadan önce Bacteroides fragilis ATCC 25285 referans suşu ve identifikasyon sonuçları bilinen dış kalite kontrol örneği (Finegoldia magna) çalışılmıştır.
Bu örneklerde VITEK-2 ve MALDI-TOF yöntemleriyle 20 anaerop bakteri saptanmıştır. Bu örnekler; Acil(4), Beyin Cerrahi(2), Göğüs hastalıkları(2), Genel cerrahi(6), Göz(1), İç Hastalıkları(2), Kardiyovasküler cerrahi(1), Kulak burun boğaz(1), Onkoloji(1) bölümlerinden ve püy(12), kan(3), biyolojik sıvı(2), ameliyat materyali(1), bronkoalveoler lavaj(1) ve katater ucu(1) örneklerinden elde edilmiştir.
Bu örneklerden izole edilen anaerop bakteriler sırasıyla; Bacteroides fragilis(11), Gemella morbillorum(3), Actynomyces spp.(3),Fusobacterium necrophorum(1), Prevotella spp.(1) ve Peptostreptococcus anaerobes(1)'dir. Örneklerin %60'ını oluşturan püy örneklerinde en çok üreyen anaerop bakteri ise %58 ile Bacteroides fragilis olmuştur.
MALDI-TOF sonuçları VITEK 2 otomatize sistemi ile uyumlu sonuçlar vermiş, referans suş ve dış kalite kontrol örnelerinde doğru okuma sağlamıştır.
Sonuç
Anaerop bakterilerin tanımlanmasında MALDI-TOF MS yöntemi ile VITEK 2 otomatize sistemi kıyaslanarak MALDI-TOF MS yönteminin kısa sürede ve doğru sonuç veren maliyet-etkin bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Daha fazla çalışma yapılarak daha geniş bilgi edinilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: MALDI TOF-MS, anaerop, enfeksiyon

S04 -İNDİREKT İMMÜNFLORESAN YÖNTEMİ İLE BELİRLENEN ANTİNÜKLEER ANTİKOR PATERNLERİ İLE EKSTRAKTE EDİLEBİLİR NÜKLEER ANTİJEN ANTİKORLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Neşe Kaklıkkaya, **Altan Akıneden**, Rukiye İşlek, Gülçin Bayramoğlu, Kurtuluş Buruk, İlknur Tosun, Faruk Aydın
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tibbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

Amaç
İndirekt imünfloresan(İFA) yöntemi ile belirlenen antinükleer antikor (ANA) paternlerinin ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı oluşan otoantikor varlığı ile karşılaştırılması amaçlandı
Gereç-Yöntem
Ocak 2009-Aralık 2010 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hasta Hizmetleri Laboratuarı Seroloji-İmmünoloji birimine ANA varlığı bakımından test edilmesi amacıyla gönderilen 4404 serum örneği çalışmaya dahil edildi. Serum örnekleri 1/100 oranında dilüe edilerek ANA varlığı ve boyanma paterni İFA yöntemiyle Antibodies against cell nuclei (IgG) (EUROIMMUN, Lübeck, Almanya) kitleri kullanılarak belirlendi. ANA pozitifliği floresan boyanın şiddeti dikkate alınarak zayıf pozitiften 5 pozitife kadar derecelendirildi. ANA pozitif olarak belirlenen örneklerden anti-ENA istemi yapılan 177'inde anti-ENA varlığı ve hangi antijenik yapıya karşı oluştuğu anti-ENA profile Plus1 (IgG) (EUROIMMUN, Lübeck, Almanya) kileri kullanılarak belirlendi
Bulgular
Çalışmaya alınan 4404 örnekten 740'inda (%16.80) ANA testi pozitif olarak belirlendi. En sık görülen ANA paternleri homojen + benekli (%29.32), nükleoler (%18.51), benekli (%15.40) ve homojen (%11.21) olarak tespit edildi. ANA pozitif olan 177 serum örneğinde anti-ENA antikorları çalışıldı. Toplam 47 (%26.55) serum örneğinde anti-ENA antikorları pozitif bulundu. Bu örneklerde tespit edilen anti-ENA ntikorları Tabloda gösterildi.
Sonuç
ANA testi ile benekli patern görülen tüm örneklerde nRNP/Sm, Sm, SS-A ve/veya SS-B antijenlerine karşı antikor varlığı tespit edilmiştirANA testinde homojen, homojen + nükleoler, nükleoler, nükleer membran ve/veya nükleer dots tespit edilen 10 örnekte de beklenenin dışında anti-ENA pozitifliği belirlenmiştir. Bu pozitifliklerin daha çok 3+ ve daha yüksek titrelerde görüldüğü, farklı bir ANA paterninin benekli paterni maskelediği, bu nedenle özellikle yüksek titrede pozitif olarak tespit edilen örneklerde ileri dilüsyonlar yapılarak testin tekrar edilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca ANA pozitif olan tüm örneklerde anti-ENA antikorlarının pozitif olarak bulunmaması çalışmamızda belirlenen anti-ENA antikorlarının haricinde farklı birçok yapıya karşı da antikor varlığının da sözkonusu olabileceğini düşündürmektedir

Anahtar Kelimeler: İndirekt imünfloresan yöntemi, antinükleer antikor, ekstrakte edilebilir nükleer antijenler

anti-ENA antikorlarının ANA paternlerine göre dağılımı

	nRNP /Sm					Sm					SS-A						SS-B						Scl-70						
ANA PATERNLERİ	(+)	(++)	(+++)	(++++)	(+++++)	(++)	(+++)	(++++)	(+++++)	(++++++)	zayıf pozitif	(++)	(+++)	(++++)	(+++++)	(++++++)	zayıf pozitif	(++)	(+++)	(++++)	(+++++)	(++++++)	zayıf pozitif	(++)	(+++)	(++++)	(+++++)	(++++++)	toplam
Benekli		1	4	2		1	1	4	1		1	3	2	4	1			1	2	3	1								32
Kaba benekli				1					1					1						1									4
Kaba benekli + ince benekli			1	2											1														4
Benekli, nükleoler												1		1						1									3
Homojen, benekli					2	1		2		1		2	3	3					3	1				1	2	1			22
Homojen			1											1		1									1				4
Homojen, nükleoler																								1					1
Nükleoler											1			1															2
Nükleer membran																											1		1
Nükleer membran + nükleer dots																										1			1
Nükleer dots									1																				1

toplam																											75

S04- DÜŞÜK DÜZEY TETANOZ ANTİKORLARININ DOĞRULANABİLMESİ İÇİN LABORATUVARIMIZDA GELİŞTİRİLEN BİOTİN-AVİDİN ELISA YÖNTEMİNİN ALTIN STANDART TEST OLAN FARE NÖTRALİZASYON DENEYİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

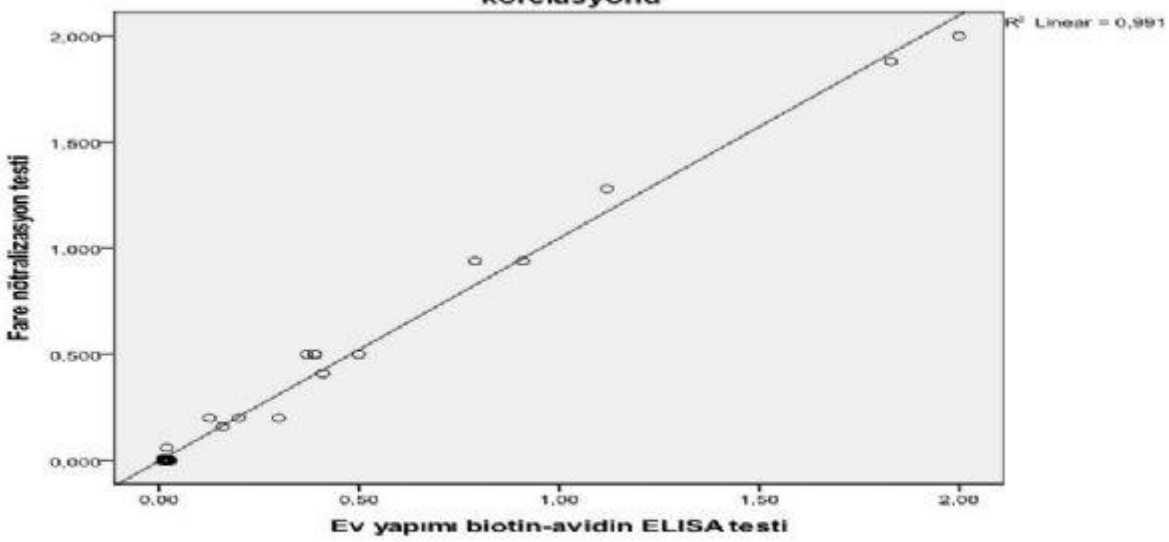
Cemile Sönmez, Nilay Çöplü, Ayşegül Gözalan, Berrin Esen
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara

Amaç
Tetanoz aşı ile önlenebilen ve global öneme sahip bir hastalıktır. Hastalığa karşı koruyucu önlemlerin planlanmasında antikor düzeylerinin saptanması önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 0.1 IU/ml ve üzerindeki antikor düzeyleri koruyucu, 0.01-0.1 IU/ml arası kısmen koruyucu, 0.01 IU/ml ve altındaki değerler ise koruyucu olmayan antikor seviyeleri olarak kabul edilmektedir. Türkiye'de Enfeksiyon Hastalıklarının Kontrolü Projesi kapsamında, ve Japon Uluslar Arası İşbirliği Ajansı (JICA) işbirliği ile laboratuvarımızda geliştirmiş olduğumuz ELISA testi sonuçlarının, altın standart olan fare nötralizasyon testi ile karşılaştırıldığında, 1.0 IU/ml ve altındaki seviyeleri saptamada güvenilir olmadığı gözlenmiştir. Amacımız, düşük düzey tetanoz antikorlarının doğrulanabilmesi için laboratuvarımızda geliştirilen biotin-avidin ELISA yöntemini altın standart test olan fare nötralizasyon deneyi ile karşılaştırmak ve güvenilir bulunması halinde, önceki ELISA testimiz ile <=1.0 IU/ml antikor düzeyleri saptandığında, doğrulamak için kullanabilmektir.
Gereç-Yöntem
Fare nötralizasyon deneyi ile antikor düzeyleri saptanmış ve <=0.01 IU/ml, 0.01-0.1 IU/ml, 0.1-1 IU/ml, >=1 IU/ml aralıklarından seçilmiş olan 54 serum örneği, laboratuvarımızda geliştirilen biotin-avidin ELISA yöntemi ile tekrar çalışılmıştır. Biotin-avidin ELISA testi için tetanoz toksinin (tetanus toxoid purified, Statens Serum Institut) biotin (Sigma, Germany) ile bağlanması, mikroplakların (Greiner, 655001, Frickenhausen, Germany) antijen ile kaplanması (tetanus toxoid purified, Statens Serum Institut), referans serum (Anti tetanus immunoglobulin human 120 IU/ampoule, NIBSC) ve test edilen serumların çift kat artan dilusyonlarının antijenle kaplanmış mikroplağa aktarımı, konjugat olarak Streptavidin biotinylated horseradish peroxidase complex (Amersham,UK) substrat olarak TMB (Sigma, USA) ve reaksiyonun durdurulması için H2SO4 uygulanması yapılmıştır. Sonuçlar "paralel line assay" yazılım programı (JICA) ile değerlendirilmiş olup IU/ml olarak ifade edilmiştir. Test sonuçları arasındaki korelasyon SPSS (Windows, versiyon 17.00) istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Fare nötralizasyon deneyi ile biotin-avidin ELISA testinin sonuçları karşılaştırıldığında tüm serumlar için korelasyon katsayısı (KK) 0.886 olup, 2.0 IU/ml ve altındaki değerlere ayrıca bakıldığında KK 0.991 olarak saptanmıştır. Testin saptayabileceği en düşük seviye 0.01 IU/ml olup koruyucu olmayan antikor seviyelerinin varlığı gösterilebilmektedir.
Sonuç
Laboratuvarımızda önceden geliştirilmiş olan ELISA yöntemimiz ile serum örneklerinin tarama amaçlı olarak test edilmesi ve <=1.0 IU/ml bulunan antikor seviyelerinin laboratuvarımızda yeni geliştirilen biotin-avidin ELISA testi ile doğrulanması, sonuçların güvenilir olmasını sağlayacaktır. Bu şekilde 0.01 IU/ml değerleri yakalanabilecek ve koruyucu olmayan antikor seviyesine sahip olan bireyler saptanabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Tetanoz, antitetanoz antikoru, ELISA

FARE NÖTRALİZASYON VE LABORATUVARIMIZDA GELİŞTİRİLEN BİOTİN-AVİDİN ELISA TESTLERİNİN KORELASYONU

Grafik 1: Fare nötralizasyon ve ev yapımı biotin-avidin ELISA testlerinin korelasyonu



S06- CLOSTRİDİUM DİFFİCİLE TANISINDA REAL-TİME PCR KULLANIMI

Hamdiye Yeşim Öcal, Burçin Şener, Gülşen Hasçelik
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Son 10 yıldır özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa'nın pek çok ülkesinde Clostridium difficile enfeksiyonu (CDE) sayısında ve ciddiyetinde önemli bir artış saptanmaktadır. Bunun nedenleri arasında hastalara uygulanan invaziv girişimlerin artışı, kanser kemoterapisindeki yenilikler ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin sık ve uzun süreli kullanımı sayılabilir. Hastanın genel durumunun iyileştirilmesi, iyi bir enfeksiyon kontrolünün sağlanması ve epidemiyolojik verilerin düzgün şekilde oluşturulabilmesi CDE tanısının kesin olarak konulabilmesine bağlıdır. C. difficile tanısında kültür,serolojik testler ve moleküler tanımlama yöntemleri de dahil olmak üzere pek çok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinde CDE şüphesi ile incelenen dışkı örneklerinde real-time PCR yöntemi ile C. difficile toksin B geni varlığının saptanma oranının belirlenmesi ve önceki bir yıllık dönemde enzim immünoassay (EIA) ile saptanan toksin pozitiflik oranı ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Ağustos 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında C. difficile toksin B geni saptanması amacıyla Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 244 dışkı örneğine ait sonuçlar dahil edilmiştir. C. difficile toksin B geni (tcdB) real-time PCR (BD-GeneOhmCdiffAssay, Lakes, ABD) yöntemi ile saptanmıştır. Bunun yanısıra bir önceki dönemde EIA yöntemi (r-biopharm, Darmstadt, Almanya) ile saptanan toksin pozitifliği sonuçları da retrospektif olarak incelenmiştir.
Bulgular
Ağustos 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında değerlendirilen 244 örnekten 34 (%14)'ünde tcdB geni pozitif saptanmıştır. Bu 34 örnek; 17'si onkoloji, 5'i dahiliye, 2'si nöroloji servislerinde yatan ve 5'i ise poliklinik hastası olan toplam 29 hastadan alınmıştır. C. difficile toksin geni pozitifliği saptanan 29 hastanın 17'sinde malignite öyküsü bulunmaktadır. Bu 29 hastadan tedavi ve klinik izlem bilgisine ulaşılabilen 17'sinin tedavisinde metranidazol kullanılmış ve klinik durumlarında iyileşme gözlemlenmiştir. Ağustos 2009-Ağustos 2010 tarihleri arasında EIA yöntemiyle 351 gaita örneği incelenmiş ve 3 (%0.85) pozitif sonuç bulunmuştur.
Sonuç
Hastanemizde daha önce kullanılan EIA yöntemi ile C. difficile toksin pozitifliği %0.85 olarak belirlenirken real-time PCR ile tcdB gen pozitifliği %14 olarak saptanmıştır. Çalışmalar CDE tanısında PCR yönteminin duyarlılığının ve özgüllüğünün EIA yöntemine göre daha yüksek olduğunu ileri sürmektedir. Ancak tcdB geninin saptanması suşun toksin üretip üretmediğini göstermemektedir. Bu nedenle PCR sonuçları tek başına yorumlanırken mutlaka hastanın kliniği göz önünde bulundurulmalı ve tanı dışkıda toksin varlığının gösterileceği yöntemlerle desteklenmelidir. Bu çalışmada tcdB geni pozitif saptanan olguların metranidazol tedavisi ile iyileşmesi toksine bağlı CDE enfeksiyonu varlığını desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Clostridum difficile, enzim immünoassay, real-time PCR

S07-UZAMIŞ ÖKSÜRÜĞÜ OLAN ÇOCUKLARDA *BORDETELLA PERTUSSİS* ENFEKSİYONUNUN KÜLTÜR, GERÇEK ZAMANLI PZR (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU) VE SEROLOJİK TESTLERLE TANISI (ÖN ÇALIŞMA)

Derya Gürsel[1], Aslı Aslan[2], Cemile Sönmez[3], Güldane Koturoğlu[2], Nilay Çöplü[3], Zafer Kurugöl[2], Şöhret Aydemir[1]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, İzmir*
[3]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı (RSHM), Ankara*

Amaç
Boğmaca, *B. pertussis'* in neden olduğu, tüm yaş gruplarını etkileyen bulaşıcı bir solunum sistemi enfeksiyonudur. Özellikle yenidoğan ve bebeklerde yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Ergen ve erişkinlerde atipik ve ılımlı seyreden hastalığa çoğu zaman tanı konulamamakta; bu hastalar duyarlı bebek ve çocuklara bulaşmada önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Bu nedenle iki haftadan uzun süren öksürüğü olan çocuk ve ergenlerde *B. pertussis* enfeksiyonunun laboratuvar incelemeleri ile araştırılması önerilmektedir. Bu çalışma ile uzamış öksürüğü olan 0-18 yaş grubu hastalarda kültür, gerçek zamanlı PZR ve serolojik tanı ile *B. pertussis* enfeksiyonu araştırılması; bu alanda yeni olan tanı testlerinin Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'nın rutin laboratuar çalışmalarına yerleştirilmesi, boğmaca tanısında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları kliniğine laboratuvar desteği verilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Pediatri Polikliniği'ne Aralık 2009-Ağustos 2010 tarihleri arasında başvuran, uzamış (>=14 gün) öksürüğü olan 0-18 yaş grubu 51 hastanın nazofarengeyal sürüntü örneklerinde *B. pertussis* araştırılması için kültür ve *IS481* gen bölgesinin hedeflendiği gerçek zamanlı PZR yöntemleri uygulanmıştır. Ayrıca iki-dört hafta arayla elde edilen iki serum örneğinde anti-PT IgG ve anti-FHA IgG düzeylerinin ölçüldüğü "in-house" ELISA çalışılmış; antikor titresinde dört kat artış veya tek serum örneğinde 100 EU/ml'nin üzerindeki anti-PT IgG titreleri *B. pertussis* enfeksiyonunun serolojik kanıtı olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Bu çalışmaya alınan 51 hastanın nazofarengeyal sürüntü örneklerinden birinin kültüründe *B. pertussis* üredi. Altı (%11.8) hastanın nazofarengeyal sürüntü örneğinde *IS481* gerçek zamanlı PZR testi pozitifliği saptandı. Serolojik tanı ile dokuz (%17.6) olgu *B. pertussis* enfeksiyonu olarak değerlendirildi.
Toplam 12 (%23.5) hastada en az bir yöntem ile *B. pertussis* enfeksiyonu saptandı. Bu hastalardan birinde her üç tanı testi ile, ikisinde *IS481* gerçek zamanlı PZR ve serolojik tanı ile, üçünde sadece*IS481* gerçek zamanlı PZR ile ve altısında sadece serolojik tanı ile pozitiflik saptandı.
Sonuç
Çalışmaya alınan uzamış öksürüğü olan çocuk ve ergenlerin %23.5 (12/51)'ü *B. pertussis* enfeksiyonu olarak değerlendirildi. Uzamış öksürüğü olan çocuk ve ergenlerde kültür, PZR ve serolojik tanı testleri ile araştırıldığında etken olarak *B. pertussis*'in önemli oranda saptandığı, laboratuvar testleri ile araştırılması gerektiği ve bu alanda standardize testlere gereksinim olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Uzamış öksürük, *Bordetella pertussis (B. pertussis),* kültür, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

S08- HASTANE VE TOPLUM KAYNAKLI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARINDA ÇEŞİTLİ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN REAL-TİME PZR YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Soner Yılmaz, Abdullah Kılıç, Orhan Bedir, Ahmet Celal Başustaoğlu
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Ankara

Amaç
Bu çalışmada Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarına, Kasım 2007-Aralık 2010 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden elde edilen toplum ve hastane kaynaklı 147 *S. aureus* izolatında stafilokokkal enterotoksin A (SEA), stafilokokkal enterotoksin B (SEB), stafilokokkal enterotoksin C (SEC) stafilokokkal enterotoksin D (SED), toksik şok sendromu toksin-1 (TŞST-1), Panton-Valentin lökosidin (PVL) toksinlerinin varlığı ile SCC*mec* fenotiplerinin [Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatlarında] tespit edilmesi amaçlandı. Buna ilave olarak hastane-kaynaklı ve toplum-kaynaklı izolatlar arasındaki genotipik ilişki araştırıldı.
Gereç-Yöntem
Toksinlerin varlığı ve SCCmec fenotipleri real-time PZR yöntemi ile tespit edildi. Hastane-kaynaklı ve toplum-kaynaklı izolatlar arasındaki genotipik ilişkiyi göstermek amacı ile multiple locus variable number of tandem repeat analysis (MLVA) yöntemi kullanıldı.
Bulgular
Yüz kırk yedi izolatın 93'ünde (%63.2) en az bir adet (77 izolatta bir, 16 izolatta birden fazla) toksin görüldü. Toksin tespit edilen izolatların 55 tanesi (%59.1) hastane-kaynaklı 38 tanesi (%40.9) ise toplum-kaynaklı izolatlardı. SEA toksini toplam 147 izolatın 59'unda (%40.1), SEB toksini sekizinde (%5.4), SEC toksini 12'sinde (%8.1), SED toksini sekizinde (%5.4), TŞST-1 toksini 17'sinde (%11.5) ve PVL toksini altı izolatta (%4.0) tespit edildi. Çalışmamızda hastane-kaynaklı MRSA suşlarında %90.9 oranında SCC*mec* tip III, %2.2 oranında SCC*mec* tip IV bulunurken diğer yandan toplum-kaynaklı MRSA suşlarında %40 oranında SCC*mec* tip IV tespit edildi. Geri kalan izolatların tiplendirilmesi yapılamamıştır. SEA toksini tespit edilen izolatların çoğu hastane kaynaklı olup metisiline dirençli bulunmuştur (40/47, %85.1). MLVA yöntemine göre hastane ve toplum-kaynaklı grupların kümeleşme oranları, klon sayıları, özgün profil sayıları sırasıyla %73.6 ve %57.3, 34 ve 47, 19 ve 32 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Hastane kaynaklı izolatların toplum kaynaklı olanlara göre daha invaziv enfeksiyonlara neden olduğu görülmüştür. Bu durumun hastane kaynaklı izolatların çoğunun metisiline dirençli olması ve en az bir adet toksin taşıyan izolat sayısının toplum kaynaklılara göre daha fazla olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Toksinler içerisinde en sık tespit edilen olan SEA'yı taşıyan izolatların çoğunun hastane kaynaklı ve metisilin dirençli olduğu tespit edilmiştir. SEA dışında kalan diğer toksinleri taşıyan izolatlarda herhangi bir direnç paternine rastlanmaması SEA ile antibiyotik direnç gelişimi arasında bir ilişki olabileceğini ortaya koymaktadır. MLVA analizi sonuçlarında hastane kaynaklı izolatların toplum kaynaklı izolatlara kıyasla genotipik homojenitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tüm izolatlar incelendiğinde ise kümeleşme oranının izolatlar hastane ve toplum kaynaklı olarak ayrıldıklarındaki kümeleşme oranından yüksek olması hastane ve toplum kaynaklı izolatların aynı genotipe sahip olanların olduğunu göstermektedir. Filogenetik analiz sonucu aynı kümede yer alan suşların bir kısmında toksin varlığı tespit edilirken bir kısmında tespit edilmemiştir. Bu sonuç MLVA yöntemine göre bakterilerde toksin varlığının genotipik olarak bir özellik göstermediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: MLVA, *Staphylococcus aureus*, virülans faktörleri

S09- SERVİKAL ÖRNEKLERDE HPV DNA VE SİTOLOJİK İNCELEME SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Begüm Nalça Erdin[1], Alev Arzu Çetin Duran[1], Ayça Arzu Sayıner[1], Meral Koyuncuoğlu[2]
[1]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , İzmir*
[2]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji ABD, İzmir*

Amaç
HPV'nin yol açtığı servikal kanser kadın kanserleri arasında ikinci sırada gelmektedir. Başta tip 16 ve 18 olmak üzere birçok HPV tipi servikal kansere neden
olabilmektedir. Kanserle ilişkili HPV tipleri yüksek (tip 16, 18, 31, 45), orta (tip 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68) ve düşük riskliler (tip 6, 11, 42, 43,44) olarak sınıflandırılmaktadır.
Yüksek riskli tipler ile oluşan kronik enfeksiyonun saptanması ve serviksteki prekanseröz lezyonların erken tanısı ile serviks kanseri engellenebilmektedir.
Çalışmamızda DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda servikal sürüntülerinde HPV DNA PCR çalışılmış hastaların konvansiyonel PAP smear sonuçları değerlendirilerek, iki yöntemin sonuçları karşılaştırılmıştır.
Gereç – Yöntem
Ağustos 2010–Temmuz 2011 arasında toplam 117 servikal örnekte (113 sürüntü, 4 biyopsi) HPV DNA, multipleks real-time PCR yöntemi ile yüksek riskli 12 HPV tipini (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) saptayabilen "HPV High Risk Typing Real-TM" (Sacace Biotechnologies) kiti ile araştırılmıştır. Sürüntü örneği incelenen 113 hastanın HPV DNA PCR sonuçları ile konvansiyonel PAP smear sonuçları değerlendirilmiştir.
Bulgular
113 sürüntü örneğinin 51'inde (%45,1) HPV DNA bulunmuştur ve kitin saptayabildiği tüm genotiplere rastlanmıştır. 35 örnekte (%68,6) tek; 16 (31,4) örnekte birden fazla genotip saptanmıştır. En sık tip 16'ya (%41,1) rastlanırken, onu sırasıyla tip 56 (%25,4) ve 18 (%15,7) izlemiştir.
Tek genotip saptananlar arasında en sık 11 örnek ile tip 16'ya (%31,4) rastlanırken, onu 8 örnek (%22,8) ile tip 56 izlemiştir. Birden fazla genotip saptananlarda yine ilk sırada tip 16 (%62,5)'ya rastlanırken, onu tip 18 (%31), 31 (%31) ve 56 (%31) izlemiştir.
HPV DNA pozitif hastaların % 33,3'ünün (17/51); tip 16 ve/veya 18 saptananların %37'sinin (10/27) sitolojisinde patolojik bulgulara rastlanmıştır.
Sitolojik anormallik saptanan 29 hastanın % 62'sinde epitelial hücre anormalliği hücreler saptanmıştır. Bu hastaların %50'sinde HPV DNA pozitif bulunmuş, bunların da %55,5'inde tip 16 ve/veya 18 saptanmıştır. Örneklerin sitoloji ve HPV sonuçları figür 1'de gösterilmiştir.
Sitolojisi normal 84 hasta bulunmaktadır. Bunlardan %40,5'i (n=34) HPV DNA pozitif bulunmuştur. HPV pozitif bulunan hastaların % 67,6'sında tek genotip, %32,3'ünde birden fazla genotip saptanmıştır. Patolojisi negatif olup HPV DNA saptanan hastaların % 50'sinde HPV 16 ve/veya 18'e rastlanmıştır (Tablo 1).
Sonuç
- Bu çalışmada 113 sürüntü örneğinin 51'inde (%45,1) HPV DNA bulunmuştur ve en sık HPV tip 16'ya rastlanırken, onu sırasıyla tip 56 ve 18 izlemiştir. Türkiye'de HPV tiplerinin prevelans çalışmaları kısıtlı olmakla birlikte, tüm dünyada olduğu gibi en sık tip 16'nın saptandığı bildirilmektedir. Çalışmamız bu veriyi desteklemektedir.
- Bu çalışmada HPV DNA pozitif hastaların % 33,3'ünde sitolojik anormallik görülmüştür. Bu oran, genel olarak saptanan oran (1/3) ile uyumludur.
- HPV DNA testinin en çok yardımcı olduğu durum servikal sitolojik incelemede ASCUS /ASC-H saptanan olgulardır. BU olguların %61'de HPV DNA pozitif (yarıdan fazlası tip 16/18) saptanmıştır. Literatürde ASCUS'lu kadınlarda HPV DNA pozitifliğinin % 40-51 arasında değiştiği belirtilmiş.
- Sitolojik olarak anormallik saptanmasa da HPV DNA testi sonucu pozitif olan olgularda daha yakın izlem önerilmektedir. Çalışmada sitolojik anormallik saptanmayan olguların yarıya yakınında (%40,5) HPV DNA pozitif saptanmıştır. Bu olgulardaki enfeksiyonun kronikleşmesi durumunda yakın izlem / kolposkopi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: HPV DNA, SİTOLOJİ, PAP SMEAR

Örneklerin HPV DNA ve sitoloji sonuçları

Örneklerin HPV DNA ve sitoloji sonuçları			
	Sitoloji Pozitif	Sitoloji Negatif	Toplam
HPV DNA pozitif	17 (%58,8 tip 16/18)	34 (%50 tip 16/18)	51
HPV DNA negatif	12	50	62
Toplam	29	84	113

Sitolojik Anormallik Saptanan Olguların Dağılımı

	Örnek sayısı (%)	HPV DNA pozitif örnek sayısı (%)
ASCUS, ASC-H	18 (%62,0)	9 (%50)
LGSIL (HPV etkisi dahil)	7 (%24,1)	4 (%57,1)
HGSIL	4 (%13,8)	4 (%100)
Toplam	29 (%100)	

S10- ÜLKEMİZDE GELİŞTİRİLEN YENİ BİR HIZLI HIV ANTİKOR TESTİNİN DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Işın Akyar[1], Görkem Yaman[1], Merve Bayav[2]
[1]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*

Amaç
2010 yılı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre tüm dünyada her yıl ortalama 2.6 milyon kişinin human immunodeficiency virus (HIV) ile enfekte olduğu bildirilmiştir. 33 ülkenin örneklerinin dahil edildiği bir çalışmada HIV insidansının 2001 ile 2009 yılları arasında yaklaşık olarak %25 azaldığı gösterilmiştir. Bu azalmanın son yıllarda yapılan antiretroviral tedavi çalışmalarındaki ilerlemeye bağlı olduğu düşünülmektedir. Her yıl HIV ile enfekte kişilerin sayısı azalmakla birlikte yine de bu sayı yüksek bulunmaktadır. Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı Aralık 2009 verilerine göre 3898 HIV pozitif hasta bulunduğu bunların 771'inin "Acquired Immunodeficiency Syndrome" (AIDS) basamağına ulaştığı bildirilmiştir. Son yıllarda HIV enfeksiyonlarının kontrol edilebilmesi için "Centers for Disease Control"(CDC) gibi uluslarası rehberlerde 13-64 yaş arası popülasyonun rutin olarak taranması önerilmektedir. Bu amaçla rutin olarak kullanılan laboratuvar testlerinin yerine birçok etkinlik ve maliyet analizleri yapılarak hızlı testlerin kullanılması "Food and Drug Administration"(FDA) tarafından da uygun bulunup onaylanmıştır.
Çalışmamızın amacı, immunkromatografi yöntemi esasına dayanan ve her lotunun kalite kontrolu ISO 15189 akreditasyon belgeli laboratuvarımız tarafından yapılan Türk kökenli ilk CE belgeli hızlı test "Rapidan tester"ın tarama yapmak için uygunluğunu araştırmaktır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya ülkemizin değişik yörelerinden kurumumuza ait 20 adet hastaneye kantitatif HIV RNA polimeraz zincir reaksiyonu(PZR) testi çalışılması için başvurmuş 200 hastanın uygun koşullarda alınmış örnekleri dahil edilmiştir. Örnekler, değişik HIV RNA kantitasyon düzeylerine sahip rutin hasta örnekleri arasından seçilmiştir. Alınan örnekler ayrıldıktan sonra hemen dondurularak saklanmış ve laboratuvara uygun koşullarda gönderilmiş olan plazma örnekleridir. Çalışmada hemolizli örnek kullanılmamıştır. Örnekler HIV 1 RNA'yı saptayan HIV RNA PZR testi gerçek zamanlı PZR yöntemi ile "Artus HIV-1 RG RT-PCR kit"(Qiagene, Hilden) kullanılarak çalışılmıştır. HIV RNA PZR testinin lineer aralığı 250-100 milyon IU/mL'dir. Bu yöntem ile 100'ü HIV RNA pozitif, 100'ü de negatif olarak saptanmış hasta örnekleri "Rapidan Tester"(Türklab, Çiğli/İzmir) immunkromatografi yöntemi ile hızlı testle de çalışılmışlardır. Hızlı test anti-HIV 1/2/0 testi; HIV Tip 1(HIV-1) (Grup O dahil) ve Tip 2 (HIV-2)'nin tüm alt tiplerine karşı geliştirilen antikorları(Ig G, Ig A ve Ig M) tespit edebilmektedir.
Bulgular
Gerçek-zamanlı PZR ile HIV RNA PZR değerleri 21 ile 450000 IU/mL değişen değerlerde pozitif olarak saptanan hasta örnekleri "Rapidan tester" ile de çalışılmış ve tüm örnekler hızlı test ile pozitif, HIV RNA PZR testi sonuçları negatif olarak saptanan tüm örnekler de negatif olarak saptanmıştır.
Sonuç
Toplumda tarama yapılması immunkromatografi yöntemi ile çalışan "Rapidan tester" kiti ile güvenilir bir şekilde yapılabilir. Maliyet etkin ve kısa sürede çalışılan basit bir yöntem olan"Rapidan Tester" ile pozitif olarak saptanan hastalar klasik yöntemlerle doğrulanmalı ve hastaların HIV RNA düzeyleri kantitatif olarak belirlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: HIV, AIDS, kromatografi, polimeraz zincir reaksiyonu

S11- KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA HBSAG VE HBEAG DEĞERLERİNİN HEPATİT B VİRAL DNA VE ALANİN AMİNO TRANSFERAZ DEĞERLERİ İLE KORELASYONU

İmran Sağlık[1], Hülya İren Güvenç[1], Derya Mutlu[1], Gözde Öngüt[1], Dilek Çolak[1], Özgür Tosun[2], Halide Akbaş[3]
[1]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[2]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ABD, Antalya*
[3]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Antalya*

Amaç
Kronik hepatit B (KHB) enfeksiyonlarının izleminde viral yük tayini ve karaciğer enflamasyonunu gösteren alanin amino transferaz (ALT) düzeyinin ölçümü hastalığın takibinde yaygın olarak kullanılan invaziv olmayan yöntemlerdir. Son yıllarda serolojik belirteçlerin tespiti için sıklıkla otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemlerin geliştirilmesi, tanı ve takipte HBV DNA, ALT gibi belirteçlerin yanında HBsAg ve HBeAg düzeylerinin de kullanılabilir olduğunu gündeme getirmiştir.
Çalışmamızda KHB hastalarında HBsAg, HBeAg, HBV DNA ve ALT düzeylerinin korelasyonunu incelemeyi amaçladık.
Gereç-Yöntem
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na 2010 yılı içerisinde HBsAg, HBeAg, HBV DNA ve ALT düzeylerinin eşzamanlı çalışılması için gönderilen 402 serum örneği çalışmaya dahil edildi. Tüm örneklerin HBsAg değeri 6 aydan uzun süre pozitifdi. HBsAg ve HBeAg değerleri Modular Analitics E170 (Roche Diagnostics) otomatize sisteminde, elektrokemiluminesan yöntemle s/co oranı (örnek sinyali / cutoff) olarak, ALT değerleri Roche Hitachi Cobas 8000 Moduler Analyzer (Roce Diagnostics) sisteminde IU olarak ölçüldü. HBV DNA düzeyleri Cobas TaqMan testi (Roche Diagnostics) kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile IU/ml olarak ölçüldü.
Bulgular
KHB tanısı ile izlenen 402 hastanın (yaş ortalaması 35, ± 16 SD) HBsAg düzeyi ile HBV DNA, HBe Ag düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-432$, $r=-0.454$, $p<0.01$). HbeAg pozitif (n=107) hastalarda HBV DNA ve normalden yüksek ALT düzeylerine rastlanma sıklığı HBeAg negatif (n=295) hastalardan anlamlı derecede yüksekti ($p<0.01$). Tüm hastalar değerlendirildiğinde de HBV DNA düzeyleri ve HBeAg s/co düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon görüldü ($r=0.657$, $p<0.01$). HBeAg pozitif hastaların %54'ünde, HBeAg negatif hastaların %18'inde ALT düzeyleri normalden yüksekti ($p<0.01$). ALT düzeyi normalden yüksek olan (n=112) hastalarda HBV DNA ve HBeAg s/co düzeyleri ALT düzeyi normal olanlara göre yüksek olarak bulundu ($p<0.01$).
Sonuç
KHB takibinde HBsAg düzeyinin s/co olarak ölçüm değerinin yüksek olması viral DNA miktarının yüksek olduğunu göstermemektedir. Ancak HBeAg'nin s/co ölçüm değerinin ve ALT'nin normalden yüksek değerde olmasının viral DNA miktarı için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, HBeAg, HBV DNA, Kronik hepatit B

S12- SON YILLARDA AVRUPA'DA GÖRÜLEN KIZAMIK SALGINLARINDAN SONRA ÜLKEMİZDEKİ SON DURUM

Demet Furkan Sevindi[1], Atakan Baykal[1], Gülay Korukluoğlu[1], Turan Buzgan[2]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Viroloji Laboratuvarı, Ankara*
[2]*T.C. Sağlık Bakanlığı Müsteşarlığı, Ankara*

Amaç
Kızamık virüsü, Paramiksovirus ailesinden, Morbilivirus genusuna ait tek zincirli, negatif polariteli, linear RNA virüsüdür. Kızamık enfeksiyonu; yüksek derecede bulaşıcı olması ve hastalığının ciddi sonuçlara yol açabilmesi nedeniyle halk sağlığı açısından önemli bir tehdit olarak görülmektedir. Kızamık, aşıyla önlenebilen bir hastalık olmasına rağmen, son dönemde bazı Avrupa ülkelerinde yeniden ortaya çıkmıştır. Bulgaristan, Fransa, Almanya, İtalya, İrlanda, Romanya ve İspanya dahil olmak üzere bir çok ülkede kızamık vaka sayılarında 2010-2011 yılları içerisinde önemli bir artış rapor edilmiştir. Yüksek kızamık insidansı 2011 yılında halen devam etmektedir. Ülkemizde 2003-2005 yılları arasında 9 ay-14 yaş aralığındaki 20 milyon çocuğu kapsayan aşılama kampanyasından sonra, 2011 yılına kadar sadece importe vakalar görülmüştür. Aralık 2010- Mart 2011 tarihleri arasında, ilk olarak İstanbul ilinden 104 vaka rapor edilmiş daha sonra diğer şehirlerde de kızamık vakaları görülmeye başlanmıştır. Bu çalışmada, özellikle erişkin yaş grubunda gözlenen kızamık vaka kümelenmeleri nedeniyle 20-39 yaş grubundaki sağlıklı bireylerde kızamık seroprevalansı araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
TBSA (Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması) çalışması kapsamında toplanan 20-39 yaş grubuna ait 2840 serum örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Kesitsel tarzda yapılan bu çalışmada, SIEMENS Kızamık IgG kiti kullanılarak, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) metoduyla, örneklerin Kızamık IgG antikor seviyeleri belirlenmiştir.
Bulgular
Toplam 2840 örnekten, 2661'i (%94) kızamık seropozitif bulunurken, 179'u (% 6) kızamık seronegatif bulunmuştur. 20-29 yaş grubu aralığında 1329 örnekten 1211'inde (%91) kızamık IgG antikoru pozitif bulunurken, 30-39 yaş grubu aralığında 1511 örnekten 1450'sinde (% 96) kızamık IgG antikoru pozitif bulunmuştur. 30-39 yaş grubu aralığında, kızamık seroprevalansı daha yüksek bulunmuştur.
Sonuç
Kızamık, tüm dünyada çocuk ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biridir ve her yıl 160 000 çocuğun, enfeksiyonun komplikasyonları yüzünden öldüğü tahmin edilmektedir. Kızamık eliminasyonu 2 doz aşı ile %95 'in üzerinde sürekli bir aşılama oranı gerektirmekle birlikte, son yıllarda bazı Avrupa ülkelerinde hedeflenen bu orana ulaşılamaması sebebiyle, duyarlı bir popülasyon ortaya çıkmış ve bu da toplumda kızamık virüsünün hızla yayılımıyla sonuçlanmıştır. Ülkemizde, aşılama oranları çocukluk çağında % 95 'in üzerinde olmasına rağmen, salgının epidemiyolojik incelenmesi yapıldığında, vaka kümelenmelerinin ileri yaşlara kaydığı saptanmış ve bu nedenle erişkin yaş grubundaki kişilerde seroprevalansın belirlenmesi bir zorunluluk olarak ortaya çıkmıştır. Bu gelişmeler doğrultusunda yapılan çalışmamızda, ülkemizdeki 20-39 yaş grubunda seropozitifliğin %94 olarak bulunması sebebiyle destek bir aşılama kampanyasına gerek duyulmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Aşı, kızamık, seroprevalans

S13-ÇOCUKLUK ÇAĞI OTİZM ETYOLOJİSİ İLE GASTRO İNTESTİNAL KANALDA BULUNAN CLOSTİRDİUM CİNSİ ANAEROP BAKTERİLERİN İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Recep Keşli[1], Cem Gökçen[2], Ufuk Büluğ[3], Yüksel Terzi[4]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya,*
[2]*Gaziantep Üniversitesi, Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Gaziantep,*
[3]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Konya,*
[4]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi İstatistik ABD, Samsun*

Amaç
Otizm, yaşamın erken dönemlerinde başlayan ve yaşam boyu süren, sosyal ilişkiler, iletişim, davranış ve bilişsel gelişmede gecikme ve sapmayla karakterize nöropsikiyatrik bir bozukluktur. Etyoloji ve patogenez henüz tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli genetik, prenatal, erken postnatal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal olaylar otizm etiyo-patogenezinde suçlanmış ancak tam olarak aydınlatılamamıştır. Otistik çocukların kulak yapılarının anatomik olarak farklı olduğu ve bu nedenle aynı yaştaki çocuklar ile karşılaştırıldığında daha fazla sıklıkla kulak enfeksiyonlarına maruz kaldıkları ve kulak enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan oral antibiyotiklerin, otistik çocukların barsaklarında mayaların ve anaerop bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olduğu belirlenmiş ve bildirilmiştir. Son yıllarda gastrointestinal kanalda lokalize olan Clostiridium cinsi anaerop bakteriler ve bu bakterilerin bazı metabolik ürünlerinin otizm etyolojisi ile ilişkisi üzerinde durulmaktadır. 3-(3-hidroksi fenil)-3-hidroksipropionik asit (HPHPA) (3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid), tirozin analoğu olan m-tirozinin (3-Hidroksifenilalanin) (3-OH-PA)(3- hydroxyphenylalanine) metabolik ürünüdür ve bu ürün beyinde katekolaminlerin boşalmasına (deşerjına) neden olmak sureti ile otizmin bulgularının ortaya çıkmasına yol açmaktadır. HPHPA Clostirdium cinsi anaerop bakterilere özgü metabolizma ürünü olarak açığa çıkmakta ve idrar ile atılmaktadır. Bu çalışmada çocukluk çağı otizm etyolojisi ile gastro intestinal kanalda bulunan Clostirdium cinsi anaerop bakterilerin ilişkilerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç-Yöntem
Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Psikiyatri polikliniğine başvuran yaşları 5-15 arasında 30 otizm tanılı çocuk hasta ile herhangi bir noro-psikiyatrik bozukluğu olmayan ve hasta grubu ile aynı yaş ve cinsiyet dağılımında 30 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı. Her iki gruptan idrar örnekleri alınarak -20 0C derin dondurucuda saklandıktan sonra Yüksek rezolüsyon gaz kromatografi/kütle spektrometri cihazı ile (Agilent GC/MS System, Agilent Technologies LSCA, Wilmington, Delaware USA) gastrointestinal kanalda lokalize olan Clostridium cinsi anaerop bakterilerde fenilalanin metabolizmasının anormal bir metaboliti olan 3-(3-hidroksi fenil)-3-hidroksipropionik asit (HPHPA) seviyelerinin ölçümleri yapıldı. Bu metabolik ürünün (HPHPA) miktarındaki artış gastro nitestinal kanalda yerleşmiş olan Clostirdium cinsi anaerop bakterilerin varlıklarını ve miktarlarını göstermektedir. Otizm tanılı çocuk hastalara ait idrar örneklerindeki HPHPA miktarındaki artış sağlıklı olan kontrol grubu ile karşılaştırıldı. İstatistik analizlerinde iki oran testi (two-proportions test) kullanıldı, $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışma için Gaziantep Üniversitei Tıp Fakültesi Etik Komitesi onayı alındı.

Bulgular
Çalışmaya alınan toplam 30 hasta grubunun 25'i (% 83) erkek, 5'i kız (%17) idi. Hasta grubunun yaş ortalaması (± SD) 8,37±2,89 yıl (Erkek hastalar 8,48±3,04 yıl, kız hastalar 7,8±2,16 yıl). Otizm tanılı 30 hastaya ait örneklerin 26'sında HPHPA düzeylerinde artış bulunurken (26/30), 4 örnekte artışa rastlanmadı (4/30). Kontrol grubunda ise 30 örnekten 15'inde HPHPA düzeylerinde artış belirlendi (15/30), 15 örnekte artış rastlanmadı (15/30). Hasta grubu ile kontrol grubu HPHPA artış oranları birbirileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile hasta grubu HPHPA atılımı normal sonuçları birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$). Hasta grubunda ve kontrol grubunda HPHPA atlımı artmış olan hastalar cinsiyetleri açısından karşılaştırıldığında kızlar ile erkekler arasında her iki grupta da istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p1>0.05$, $p2>0.05$).

Sonuç
Bu çalışmadan elde edilen veriler otizm etiyolojisi ile gastrointestinal kanalda lokalize Clostridium cinsi bakteriler arasında anlamlı bir ilişki varlığını ortaya koymaktadır ki ülkemizde, bu konuda daha fazla vaka sayıları ile gerçekleştirilebilecek yeni araştırmaların planlanmasına ve gerçekleştirilmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Otizm, Anaerop bakteriler, Clostridium spp., 3-(3-hidroksi fenil)-3-hidroksipropionik asit

S14- İNFEKTOBEZİTE: ÇOCUKLARDAKİ OBEZİTEDE ADENOVİRÜSLERİN ROLÜ

Elçin Kal Çakmaklıoğulları[1], Tamer Şanlıdağ[1], Betül Ersoy[2], Sinem Akçalı[1], Ahmet Var[3], Candan Çiçek[4]
[1]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa*
[2]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Manisa*
[3]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, Manisa*
[4]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Amaç
Son 20 yıl içerisinde obezitenin yetişkinlerde 2 kat çocuklarda ise 3 kat arttığı ve tüm dünyada epidemiye benzer bir yayılım gösterdiği gözlenmiştir. Epidemiyi açıklamada sadece diyet ve yaşam şeklindeki davranış değişiklikleri yeterli olmayıp epideminin infeksiyöz nedenlerle özellikle de virüslerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bazı adenovirüs serotiplerinin [Adenovirüs serotip 36 (Ad-36)] insan obezitesiyle, bazılarının ise (Ad-5 ve Ad-37) hayvan obezitesiyle ilişkili olduğu bildirilirken diğer adenovirüs serotiplerin obeziteyle ilişkileri saptanamamıştır.
Bu çalışmada, çeşitli merkezlerden sağlanan klinik örneklerden farklı adenovirüs serotiplerinin elde edilmesi, daha sonra bu serotipler kullanılarak adenovirüslerin çocuk obezitesindeki rollerinin ortaya konması, ayrıca serum lipit ve leptin düzeyleriyle ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışma iki aşamalı olacak şekilde tasarlandı. Birinci aşamada hem toplumda dolaşan adenovirüs serotiplerini belirlemek, hem de çalışmanın ikinci aşamasında uygulanacak mikro-nötralizasyon testinde kullanmak amacıyla Celal Bayar Üniversitesi'nden (solunum-kan, n=88), Kocaeli Üniversitesi'nden (göz-çevresel, n=94) ve Ege Üniversitesi'nden (göz-solunum, n=18) sağlanan klinik örneklerde adenovirüs pozitifliği PCR yöntemiyle, tiplendirme ise sekans analizi ile araştırıldı.
Örneklerden DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, Lu ve Erdman'ın tanımladığı Adhex F1 ve Adhex R1 primerleri ile amplifiye edildi. Agaroz jel elektroforezinde pozitif saptanan örnekler pürifiye edildi. Negatif örneklere nested PCR uygulandı. ABI 310 cihazında dizileme yapılarak blast analizi ile tiplendirildi. Solunum örneklerinde saptadığımız Ad-5, göz sürüntü örneklerinde saptadığımız Ad-8 ve LGC Standards'tan temin ettiğimiz Ad-36 (ATCC VR-1610) serotipleri mikro-nötralizasyon testinde kullanılmak amacıyla hücre kültüründe üretilerek ikinci aşamada kullanılmak üzere -80°C' de stoklandı.
Araştırmanın ikinci aşamasında ise Celal Bayar Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Endokrin Polikliniği'nden obez (n=60) ve obez olmayan (n=60) 120 çocuktan, 10'ar ml kan örneği alındı. Bu örneklerde adenovirüs spesifik IgG, IgA, IgM antikorları (Radim, İtalya) ve leptin düzeyi (Invitrogen, ABD) mikroEIA; HDL, LDL, trigliserid ve kolesterol düzeyleri (Beckman Coulter,İrlanda) kemilümünesan; Ad-5, Ad-8, Ad-36 serotip spesifik antikorları mikro-nötralizasyon yöntemiyle araştırıldı. Verilerin analizinde t testi ve ki kare testi kullanıldı. $p<=0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.
Bulgular
Üç ayrı merkezden sağlanan 200 klinik örneğin 84'ünde adenovirüs pozitif, 116'sında negatif bulundu. Pozitif örneklerin 11'i tiplendirilemezken, diğerleri serotip 8, serotip 4, serotip 3 ve serotip 5 olarak belirlendi.
Obez grubun adenovirüs IgM, IgG ve IgA pozitiflikleri sırasıyla %3.3, %100 ve %3.3; obez olmayan grubun %8.3, %93.3 ve %5.0 idi. Obez grupta adenovirüs IgG pozitifliği obez olmayan gruba göre yüksekti ($p<=0.05$).
Obez grubun HDL, LDL, kolesterol, trigliserid ve leptin düzeyi ortalama ±SS'ları sırasıyla 44.6±10.2, 93.2±28.6, 159.5±34.7, 107.1±58.8, 373.5±262.3 iken, obez olmayan grupta 52.3±12.9, 84.8±23.9, 155.7±25.3, 96.8±42.0, 206.1±176.1 bulundu. Obez gruptaki HDL düzeyi obez olmayan gruba göre düşük, leptin düzeyi ise yüksekti ($p<=0.05$).
Obez grupta Ad-36 ve Ad-5 nötralizan antikor pozitiflik oranları, obez olmayan gruba göre anlamlı bulunurken ($p<=0.05$); Ad-8 nötralizan antikor pozitifliği açısından iki grup arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>=0.05$) (Tablo).
Sonuç
Ülkemizde adenovirüslerle ilgili araştırmalar sınırlı sayıdadır ve obezite ile ilişkilerini araştıran herhangi bir çalışma günümüze kadar yapılmamıştır. Yaptığımız çalışma sonucunda Ad-5 ve Ad-36 serotiplerinin çocuklardaki obeziteyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Araştırmamız; Ad-36'nın insan obezitesiyle ilişkisine işaret eden ülkemizdeki ilk çalışma özelliğini taşırken, Ad-5'in insan obezitesiyle ilişkisine işaret eden dünyadaki ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Bu nedenlerle araştırmamız sonuçlarının ülkemiz ve dünya literatürüne önemli katkılarının olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: obezite, çocuk, adenovirüs, lipid profili, serotip

Obez ve obez olmayan çocuklarda Ad-5, Ad-8 ve Ad-36 nötralizan antikor pozitifliği

	Obez (n=60) %	Obez olmayan (n=60) %	P
Ad-5 antikor pozitif	28.3	6.7	0.002
Ad-8 antikor pozitif	13.3	8.3	0.378
Ad-36 antikor pozitif	26.7	10.0	0.018

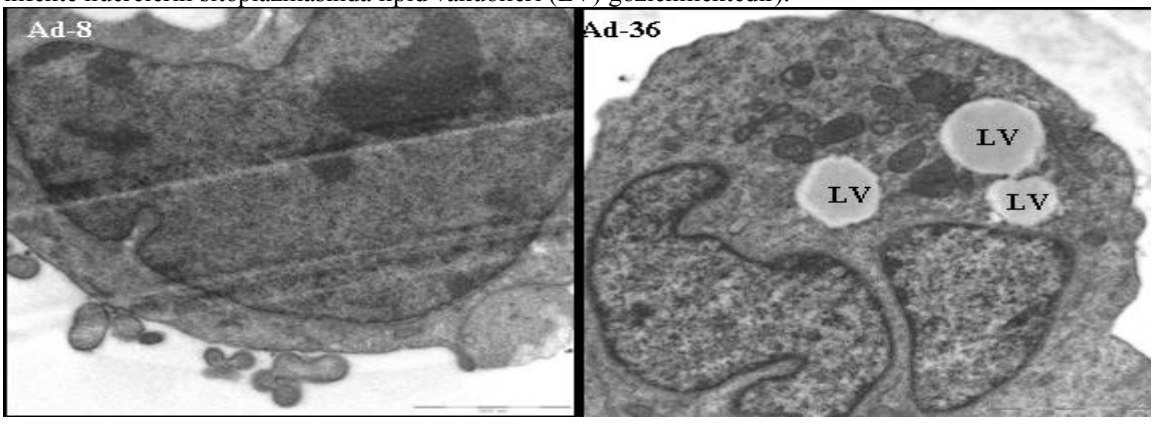
S15- ADENOVİRÜS SEROTİP 5 VE ADENOVİRÜS SEROTİP 36'NIN COLO-320 HÜCRE HATTINDA ADİPOJENİK ETKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

Tamer Şanlıdağ[1], Sinem Akçalı[1], Seda Vatansever[2], Candan Çiçek[3], Murat Sayan[4], Elçin Kal Çakmaklıoğulları[1], Pınar Taşkıran Şen[1]
[1]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa*
[2]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji ABD, Manisa*
[3]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[4]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı PCR Ünitesi, Kocaeli*

Amaç
Bu araştırmada, Adenovirüs serotip 5 (Ad-5) ve serotip 36'nın (Ad-36) (ATCC VR-1610) Colo-320 hücre hattında adipojenik etkilerinin histokimyasal ve elektron mikroskobik yöntemlerle gösterilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Adenovirüslerin primer kolon kanseri hücre hattı Colo-320 hücrelerindeki adipojenik etkilerinin araştırılmasında, hayvan ve insan obezitesiyle ilişkili Ad-5 ve Ad-36 serotipleri, kontrol suşu olarak obeziteyle ilişkisi gösterilmeyen Ad-8 serotipi kullanıldı.
Colo-320 hücreleri hızlı üreme özellikleri, proliferasyonlarının dış etkenler tarafından fazla etkilenmemesi ve fizyolojik olarak yağ emiliminin gerçekleştiği barsak epitel hücrelerinden köken almaları nedeniyle tercih edildi. Colo-320 hücre hattı stoktan çıkarıldıktan sonra %10 fetal sığır serumu, %1 L-glutamin ve %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI 1640 kültür vasatı içerisinde 10 gün, her iki günde bir vasatları değiştirilmek üzere kültüre edildi. Hücreler konfluent oluşturduktan sonra 6 gözlü plaklara pasajlandı. Colo-320 hücrelerine Ad-5, Ad-36 ve Ad-8 virüs stoklarının 10-4 dilüsyonlarından 200' er µl inokülasyon yapılarak, 37^0C' de %5 CO2'li ortamda 1 saat inkübe edildi. Süre sonunda hücreler 3 ml DMEM, % 10 fetal sığır serumu, % 1 penisilin-streptomisin, %1 amfoterisin B ve %1 gentamisin içeren vasata alındı. Kültürün 1. ve 2. haftalarında histokimyasal ve elektron mikroskobik analiz için hücreler toplandı. Hücreler histokimyasal analiz için %4' lük paraformaldehit, elektron mikroskobik inceleme için %2.5 gluteraldehit ve %1' lik osmik asit ile fikse edildikten sonra rutin protokoller uygulanarak değerlendirildi.
Bulgular
Colo-320 hücrelerinin normal kültür ortamında plaklara tam olarak yapışmayan, yuvarlak hücreler olduğu izlendi. İnokülasyondan sonra, Colo-320 hücrelerinde üzüm salkımı benzeri agregatlar şeklinde sitopatik etki gözlendi Histokimyasal analiz sonucunda, kültürün 1. haftasından itibaren, yarı ince kesitlerin toluidin boyaması ile Colo-320 hücrelerinde Ad-5 ve Ad-36 inoküle edilmiş gruplarda sitoplazmada lipid vakuolleri gözlenirken, Ad-8 ile inoküle edilmiş Colo-320 hücrelerinde lipid vakuolleri tesbit edilmedi.
Elektron mikroskobik analizler sonucunda ise yarı ince kesitlerdeki sonuçlarla uyumlu olarak, Ad-36 ve Ad-5 ile infekte Colo-320 hücrelerinin sitoplazmasında lipid vakuollerinin bulunduğu, Ad-8 ile infekte hücrelerde ise lipid vakuollerinin bulunmadığı gözlendi (Resim).
Sonuç
Yaptığımız araştırmada Ad-5 ve Ad-36 serotipleri Colo-320 hücrelerinde yağ birikimine neden olduğundan obeziteyle ilişkileri olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamız, ülkemizde bu alanda yapılmış ilk araştırma niteliğinde olup, sonuçlarımızın ülkemiz tıp literatürüne önemli katkılar sağlayacağı beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adenovirüs, adipojenik etki, colo-320

Resim. Ad-8 ve Ad-36 ile infekte Colo-320 hücrelerinin 1. haftadaki EM görüntüleri. (Sağdaki fotoğrafta Ad-36 ile infekte hücrelerin sitoplazmasında lipid vakuolleri (LV) gözlenmektedir).



S16- KİSTİK EKİNOKOKKOZİS TANISINDA İMMÜNOKROMATOGRAFİK TESTİN YERİ VAR MI?

Gülden Sönmez Tamer, Devrim Dündar, Hüseyin Uzuner
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Dünyada ve ülkemizde *Echinococcus granulosus*'un neden olduğu kistik ekinokokkozis önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın tanısında görüntüleme yöntemleri ve serolojik testlerin önemli bir yeri vardır. Bu çalışmanın amacı E. granulosus antikorlarını aramaya yönelik immünokromatografik bir testin (VIRapid® HYDATIDOSIS) kistik ekinokokkozis tanısındaki değerini araştırmaktır.
Gereç-Yöntem
Kistik ekinokokkozis açısından 153'ü seronegatif, 92'si seropozitif olmak üzere toplam 245 serum örneği immünokromotografik bir test olan VIRapid®HYDATIDOSIS (Vircell, Spain) ile çalışmaya alınmıştır. *E. granulosus*'un 5/B antijeninin kullanıldığı VIRapid® HYDATIDOSIS, serum ve plazma örneklerinin çalışılabildiği, sonuçlarının 30 dakika içinde gözle okunabildiği, kalitatif sonuç veren bir kaset testtir. Referans metod olarak tüm serum örneklerinde *E. granulosus*'a karşı IgG antikorlarını saptayan ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, DRG, Almanya) ve IHA (İndirekt hemaglütinasyon testi, Fumouze, Fransa) yöntemleri kullanılmıştır.
Bulgular
Seropozitif olan 92 örneğin 87'si VIRapid®HYDATIDOSIS immünokromotografik testinde pozitif olarak saptanırken, seronegatif olan 153 örneğin 151'inde test çizgisi üzerinde reaktivasyon görülmemiştir. İmmünokromatografik testin duyarlılığı %94.5, özgüllüğü %98.6, pozitif prediktif değeri %97.7 ve negatif prediktif değeri %96.7 olarak saptanmıştır.
Sonuç
İmmünokromatografik bir test olan VIRapid® HYDATIDOSIS insan serum örneklerinde *E. granulosus*'a karşı antikorların saptanmasında yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermiştir. Ancak bu konuda geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Testin hızlı sonuç vermesi, ekipman, alet ve özel saklama koşulları gerektirmemesi bir avantaj olarak görülmüştür. Kistik ekinokokkozisin serolojik tanısında duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan en az iki testin birlikte uygulanması son derece önemlidir. Test sonuçları arasında uyumsuzluğun olduğu durumlarda ileri tetkiklerin yapılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, *Echinococcus granulosus*, tanı, immünokromotografik test

S17- HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLARAK BELİRLENMİŞ, ÇOKLU ANTİBİYOTİK DİRENCİ GÖSTEREN ACİNETOBACTER BAUMANNİİ KLİNİK İZOLATLARININ İMİPENEM VE MEROPENEMİN, DİĞER ANTİMİKROBİYALLERLE OLAN KOMBİNASYONLARINA DUYARLILIĞININ İNVİTRO ARAŞTIRILMASI

Ayşe Gül Özseven[1], Emel Sesli Çetin[1], Buket Cicioğlu Arıdoğan[1], Levent Özseven[2]
[1]*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Isparta*
[2]*Sağlık Bakanlığı Kurtuluş Aile Sağlığı Merkezi, Isparta*

Amaç
Çoklu ilaç dirençli (MDR: Multi Drug Resistant) *Acinetobacter baumannii*'nin yol açtığı hastane kaynaklı infeksiyonların tedavisinde, hasta için en etkin ilaç kombinasyonlarını belirlemek, hem hastanın sağaltımı hem de infeksiyon kontrolü açısından hayati önem taşımaktadır. Bu çalışmada, Şubat 2009- Şubat 2011 tarihleri arasında SDÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinden laboratuvarımıza gönderilen, farklı hastaların çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan 34 MDR *A.baumannii* izolatının, tedavide klinisyenlerce sıklıkla tercih edilen antimikrobiyaller olan, imipenem (İPM) ve meropenemin (MEM), sefoperazon-sulbaktam (SCP), ampisilin-sulbaktam (SAM), polimiksin B (PB) ve rifampin (RİF) ile olan kombinasyonlarına duyarlılığının in vitro olarak araştırılması hedeflenmiştir.
Gereç-Yöntem
BD BBL Crystal E/NF yarı otomatize identifikasyon sistemi ile *A.baumannii* olarak tiplendirilen ve CLSI kriterleri dikkate alınarak antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile test edilerek MDR fenotipinde tespit edilen 34 izolat için; İPM, MEM, SAM, SCP, PB ve RİF'in MİK değerleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu MİK değerleri esas alınarak her bir izolat için, bu değerin 2 kat üstü dilüsyon (4xMİK) ve 5 kat altı dilüsyon (0,03xMİK) kullanılarak sekiz farklı ilaç kombinasyonunun etkinliği, 96 kuyucuklu plak üzerinde dama tahtası yöntemi (checkerboard assay) ile test edilmiştir. Bu yöntemde, test edilen iki ilacın farklı konsantrasyonları ve bakteri süspansiyonu kuyucuklara pipetlenmiş, plak inkübe edildikten sonra kuyucuklar taranarak, kombinasyondaki her iki ilaç için de en düşük konsantrasyonun bulunduğu üreme olmayan kuyucuk değerlendirmeye alınmıştır. İlaçların kombinasyondaki MİK değerleri, tek başlarına olan MİK değerlerine oranlanarak Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonları (FİK) hesaplanmış, kombinasyondaki her iki ilacın FİK değerleri toplanarak, FİK indeksi (ΣFİK) elde edilmiştir.
Buna göre; ΣFİK <= 0,50 ise sinerjistik etkileşim, 1 > ΣFİK > 0,5 ise aditif etkileşim, 4 > ΣFİK > 1 ise tanımlanamayan etkileşim (indiferans) ve ΣFİK >= 4 ise antagonistik etkileşim olarak tanımlanmıştır.
Bulgular
MDR *A.baumannii* suşları en fazla trakeal aspirat (17/34) ve kan kültürlerinden (16/34) izole edilmiştir. Disk difüzyonla, izolatların tamamı imipenem, meropenem, tikarsilin, sefepim, amikasin ve siprofloksasine dirençli bulunmuştur (MDR fenotipi). Broth mikrodilüsyon testi ile izolatların tamamında (%100) İPM, MEM, SAM ve SCP için dirençli MİK değerleri gözlenmiştir. RİF için izolatlarımızın 24 tanesi (%70,6) orta duyarlı MİK değerine (2 µg/ml) sahipken, diğer 10 tanesinin MİK değeri dirençli aralıkta tespit edilmiştir. İzolatların tamamı (%100) PB'ye duyarlı bulunmuştur. Sinerji oranları MEM/SAM kombinasyonunda en yüksek (%94.1) bulunurken daha sonra sırasıyla, İPM/SAM (%88.2), İPM/RİF (%73.5), İPM/SCP (%70.5), İPM/PB (%38.2), MEM/RİF (%17.6), MEM/SCP (%8.8) ve MEM/PB (%2.9) olarak saptanmıştır. Kombinasyonların hiçbirinde antagonizma gözlenmemiştir (Tablo 1).
Sonuç
Sonuç olarak, çalışmamızda, imipenem ile belirgin olmak üzere bir karbapenem ile SAM, SCP, RİF ve PB kombinasyonlarında değişik oranlarda sinerjistik etkileşimlerin tespit edilmiş olması ve antagonistik etkileşimlerin gözlenmemesi nedeniyle bu kombinasyonların, ileri klinik çalışmalarla desteklenmesi koşuluyla, MDR *A. baumannii* infeksiyonlarına karşı yenilikçi ve etkili tedavi seçenekleri için temel oluşturabilecekleri ve iyi birer alternatif olabilecekleri söylenebilir. Ancak, hastaya kombinasyon tedavisi uygulanacaksa, daha önceden yapılmış in vitro çalışmalar ışığında, etkili olabilecek ilaç kombinasyonları ampirik olarak tercih edilebilirse de, izolatın test edilen antimikrobiyal ajana karşı yüksek düzeyde direnç veya duyarlılık göstermesine bağlı olarak, sinerjistik aktivite oranlarının değişebildiği göz önüne alındığında, hastada etken olan izolatın kullanılan kombinasyona duyarlılığının sinerji testleri ile belirlenmesinin tedavinin doğru yönlendirilmesinde gerekli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çoklu ilaç direnci, *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik kombinasyonları, karbapenemler, dama tahtası yöntemi

Tablo 1: Kombinasyonlardan elde edilen etkileşimler

	Sinerji (n/%)	Aditif (n/%)	Tanımlanamayan (n/%)	Antagonizma
İPM/SAM	30 (%88,2)	4 (%11,8)	-	-
İPM/SCP	24 (%70,6)	8 (%23,5)	2 (%5,9)	-
İPM/RİF	25 (%73,5)	9 (%26,5)	-	-
İPM/PB	13 (%38,2)	19 (%55,9)	2 (%5,9)	-
MEM/SAM	32 (%94,1)	2 (%5,9)	-	-
MEM/SCP	3 (%8,8)	22 (%64,7)	9 (%26,5)	-
MEM/RİF	6 (%17,6)	26 (%76,5)	2 (%5,9)	-
MEM/PB	1 (%2,9)	22 (%64,7)	11(%32,4)	-

S18- MRSA KAN İZOLATLARINDA VANKOMİSİN İLE DAPTOMİSİN DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI VE VISA-HVISA TARANMASI

Banu Sancak[1], **Server Yağcı[2],** Deniz Gür[3], Zeynep Gülay[4], Dilara Öğünç[5], Güner Söyletir[6], Ata Nevzat Yalçın[7], Devrim Öztürk Dündar[8], Ayşe Willke Topçu[9], Filiz Akşit[10], Gaye Usluer[11], Cüneyt Özakın[12], Halis Akalın[13], Mutlu Hayran[14], Volkan Korten[15]

[1]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*S.B. Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[3]*Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[4]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[5]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[6]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[7]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[8]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli*
[9]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD,Kocaeli*
[10]*Osman Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir*
[11]*Osman Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir*
[12]*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Bursa*
[13]*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Bursa*
[14]*Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Prevantif Onkoloji ABD, Ankara*
[15]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*

Amaç
Metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) enfeksiyonlarında vankomisin halen ilk tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Bu durum *S.aureus* izolatlarında vankomisin duyarlılığının azalmasına yol açmıştır. Bu çalışmada, MRSA kan izolatlarında vankomisin ve daptomisinin duyarlılığının saptanmasında mikrodilüsyon ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması ve orta düzeyde vankomisin direnci (VISA) ve heterojen VISA (hVISA) prevalansının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya, 7 farklı üniversite hastanesinden 2007-2010 yılları arasında izole edilen toplam 175 MRSA kan izolatı dahil edilmiştir. Vankomisin ve daptomisinin in vitro aktivitelerinin saptanması amacıyla sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemleri uygulanmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi, CLSI M07-A8 kılavuzu, E test yöntemi ise üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar mikrodilüsyon ve E test için 24. saatte değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar, CLSI tarafından önerilen direnç sınır değerlerine göre yorumlanmıştır. Tüm izolatlar makro-E test ve populasyon analizi (PAP-AUC) yöntemleri kullanılarak hVISA ve VISA yönünden taranmıştır.
Bulgular
MRSA izolatlarının vankomisin ve daptomisin için elde edilen MİK(µg/ml) değerleri Tablo'da verilmiştir. Mikrodilüsyon yöntemiyle izolatların %40.6'sında (71/175) vankomisin MİK değeri 2 µg/ml olarak belirlenmiş, vankomisin ve daptomisine karşı direnç saptanmamıştır. Mikrodilüsyon ve E test MİK'leri arası ±2 dilüsyon farkı dikkate alınarak yüzde uyumu incelendiğinde uyum vankomisin ve daptomisin için sırasıyla % 100 ve % 99.6 olarak bulunmuştur. MRSA izolatları arasında hVISA prevalansı PAP-AUC yöntemiyle % 13.7 (24/175) olarak saptanmıştır. hVISA oranı vankomisin MİK değeri >1 µg/L olan MRSA izolatlarında daha yüksek (% 22.5) olarak belirlenmiştir. Makro-E test yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 58.3 ve % 92.1 bulunmuştur.
Sonuç
Mikrodilüsyon ve E test ile elde edilen MİK değerleri arasındaki yüzde uyumu hem vankomisin hem de daptomisin için yüksek bulunmuştur. MRSA izolatlarının tümü daptomisine duyarlı bulunmuş, bu nedenle MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklere alternatif bir ilaç olabileceği düşünülmüştür. Kan izolatları arasında hVISA oranı dikkate değer ölçüde yüksek olarak saptanmıştır. hVISA tanımlanmasında tercih edilmesi gereken yöntem PAP-AUC olmasına rağmen, uygulanması pratik olmadığından, daha hızlı ve doğru sonuç veren yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.
Anahtar Kelimeler: daptomisin, heterojen VISA, metisilin dirençli *S.aureus*, orta düzeyde vankomisin direnci (VISA), vankomisin

MRSA izolatlarının vankomisin ve daptomisin MİK değerleri

		Vankomisin			Daptomisin	
	MİK50	MİK90	MİK aralığı	MİK50	MİK90	MİK aralığı
Mikrodilüsyon	1	2	0.5-2	0.5	1	0.125-1
E test	1	2	0.5-2	0.25	0.5	0.06-1

S19- GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETEN GRAM NEGATİF KAN İZOLATLARI: KARBAPENEMLERE DUYARLILIK VE FENOTİPİK/GENOTİPİK DİRENÇ MEKANİZMALARI

Özgen Köseoğlu Eser[1], Hatice Uludağ Altun[1], **Barış Boral[1]**, Alper Ergin[2], Burçin Şener[1], Gülşen Hasçelik[1]
[1]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO, Ankara*

Amaç
Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten (GSBL) Enterobacteriaceae suşları, hastane ve toplum kökenli enfeksiyonlarda dünyada ve ülkemizde tehdit eden boyutlarda görülmektedir. Bu çalışma, GSBL üreten Enterobacteriaceae ailesinde tedavide rol alabilecek farklı karbapenem grubu ilaçların duyarlılıklarını ve karbapenem direncinin moleküler mekanizmasını değerlendirmeyi amaçlamaktadır.
Gereç-Yöntem
BD Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, Sparks, ABD) ile tanımlanan toplam 210 GSBL pozitif Escherichia coli (s=153), Klebsiella pneumoniae (s=47) ve Klebsiella oxytoca (s=10) kan izolatı imipenem (IMP), meropenem (MER), ertapenem (ERT) ve doripenem (DOR) duyarlılığı açısından sıvı mikrodilüsyon ve E-test yöntemi kullanılarak test edildi. Karbapenem duyarlı olmayan izolatlarda GSBL üretimi, CLSI önerileri doğrultusunda kullanılan yönteme borik asit (BA) eklenerek kombine disk difüzyon testi ile doğrulandı. Karbapenemaz varlığının belirlenmesi için Modifiye Hodge testi, MER/MER-BA ve ERT/ERT-BA ile kombine disk difüzyon testi uygulandı. Amp-C beta-laktamaz varlığı sefoksitin-BA, metallo beta-laktamaz ise IMP/EDTA kombine disk difüzyon testi ile araştırıldı. Karbapenem dirençli izolatlar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile blaKPC, blaOXA, blaAmpC, blaIMP ve blaVIM genleri yönünden incelendi.
Bulgular
Biri dışında tüm izolatlar doripeneme duyarlı bulunurken, IMP, MER, ERT direnci sırasıyla %5.7, %1.9, %2.4 olarak saptandı. Toplam 23 izolatta karbapeneme direnç belirlendi. Bunlardan yedi tanesi CTX/CLA ve CAZ/CLA ile GSBL negatif saptanırken, altı tanesi CTX/CLA'ya BA ilave edildiğinde GSBL pozitif bulundu. Fenotipik olarak KPC saptanan üç izolatta blaKPC geni saptanmadı. Fenotipik AmpC aktivitesi görülen üç K. pneumoniae izolatının birinde blaAmpC pozitif bulundu. Bunlardan ikisi aynı zamanda fenotipik olarak KPC pozitifti. Karbapenemlere dirençli olan bir K. pneumoniae izolatında fenotipik olarak MBL, KPC ve AmpC pozitifliği izlenirken, bu izolatta ilgili beta-laktamaz genleri saptanmadı. Dört izolatta blaOXA-1 ve bir izolatta blaOXA-10 varlığı gösterildi.
Sonuç
Doripenem GSBL üreten Enterobacteriaceae kan izolatlarında in vitro olarak en etkili karbapenem olarak belirlendi. Bu izolatlardaki karbapenem direncinin daha çok ülkemizdeki diğer merkezlerde de en sık olarak saptanan OXA-tipi beta-laktamazlar ile ilişkili olduğu görüldü. blaOXA geni taşıyan Enterobacteriaceae izolatlarının varlığı düzenli sürveyans çalışmalarının ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin önemine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, karbapenem, karbapenemaz, PCR

S20- İMİPENEM DİRENÇLİ ACİNETOBACTER BAUMANNİ SUŞLARINDA KOLİSTİN-AMPİSİLİN/SULBAKTAM KOMBİNASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Aytekin Çıkman[1], Mehmet Reşat Ceylan[2], Mehmet Parlak[1], Mustafa Kasım Karahocagil[2], Mustafa Berktaş[1]
[1]*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van*
[2]*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Van*

Amaç
İmipeneme dirençli olduğu belirlenen hastane enfeksiyonu etkeni Acinetobacter baumanni suşları için kolistin-ampisilin/sulbaktam kombinasyonunun MİK değerleri ve in vitro sinerjistik etkinliği E-test yöntemi ile araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya alınan 33 A. baumanni suşunun imipenem direnci, BD Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile belirlendi. A. baumannii suşlarının kolistin ve ampisilin/sulbaktam için MİK değerleri ile in vitro sinerjistik etkinliği Mueller-Hinton agar besiyerinde (Oxoid, UK) E-test yöntemiyle (AB Biodisk) araştırılmıştır. A. baumannii suşlarının sinerjik, aditif, indiferan ve antagonist etkileri fraksiyonel inhibitor konsantrasyon indeksi ile değerlendirilmiştir.
Bulgular
Acinetobacter baumannii suşlarının kolistin için MİK50, MİK90 ve MİK aralığı sırasıyla; 8, 32 ve 0,13-128 µg/ml; ampisilin/sulbaktam için ise 48, 256 ve 12-256 µg/ml olarak bulunmuştur. Fraksiyonel inhibitor konsantrasyon indeksine göre suşların 15'i sinerjik, 4'ü aditif, 5'i indiferan ve 9'u antagonist etki göstermiştir. CLSI kriterlerine göre kolistine duyarlı bulunan 12 A. baumanni suşunun 9'u antagonist, 2'si indiferan ve 1'i ise sinerjik etki göstermiştir. Buna karşın kolistine dirençli 21 suşun ise 14'ü sinerjik, 4'ü aditif ve 3'ü ise indiferan etki göstermiştir.
Sonuç
Sonuç olarak; Kolistinin ampisilin/sulbaktamla kombinasyonunun invitro şartlarda yüksek sinerjik etki gösterdiği görülmüştür. Ancak bu kombinasyonun sinerjik etkisi kolistin dirençli suşlarda daha belirgin olup, kolistin duyarlı suşlarda ise antagonist etkinin belirgin olduğu bulunmuştur. Bu nedenle A. baumanni enfeksiyonlarında kolistin-ampisilin/sulbaktam kombinasyonu yerine öncelikle kolistin direncinin belirlenerek, direnç saptanması durumunda bu kombinasyonun uygulanmasının daha uygun olacağı görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter baumanni, ampisilin/sulbaktam, kolitsin, sinerji

S21- ERİTROMİSİN DİRENÇLİ KLİNİK *STREPTOCOCCUS PNEUMONİAE* İZOLATLARINDA MAKROLİD DİRENCİNİN GENETİK PROFİLİ İLE SEROTİP İLİŞKİSİ

Nebahat Tiryakioğlu, Burak Aksu, **Münevver Ufuk Hasdemir**
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Amaç
Streptococcus pneumoniae'da makrolid ve linkozamid grubu antibiyotiklere karşı direnç ülkemiz dahil dünyanın bir çok bölgesinde hızlı bir artış göstermekte olup, makrolid direnci epidemiyolojik olarak belirli pnömokok serotipleri ile ilişkili bulunmaktadır. Bu çalışmada, hastanemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve eritromisine dirençli *S. pneumoniae* kökenlerinde, makrolid direncinden sorumlu fenotipik ve genotipik mekanizmaların belirlenmesi ve bu mekanizmalar ile izolatların serotipleri arasındaki ilişkinin sorgulanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
2010 yılında hastanemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve eritromisine dirençli elli *S. pneumoniae* kökeninde, makrolid direnç mekanizmaları fenotipik (disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon, eritromisin-klindamisin çift disk yöntemleri) ve genotipik [*erm(B), erm(TR), mef(A), mef(E)* genleri] olarak araştırılmış; ayrıca multipleks PZR yöntemi ile izolatların serotipleri belirlenerek makrolid direnç mekanizmalarıyla serotip ilişkisi irdelenmiştir.
Bulgular
İzolatların tamamı test edilen makrolid grubu antibiyotiklerin hepsine dirençli bulunurken; klindamisin direnç oranı %88 olarak saptanmıştır. İzolatların %92'si MLS_B fenotipi; %10'u M fenotipi göstermiştir (Tablo 1). MLS_B fenotipindeki izolatların ikisi hariç hepsinin *erm(B)* geni taşıdığı ve bu izolatların yarısında *erm(B)*'ye *mef(E)*'nin eşlik ettiği saptanmıştır (Tablo 1). M fenotipindeki 5 izolatın ise dördünde *mef(E)* tek başına, birinde enteresan olarak *erm(B)* ile birlikte bulunmuştur. 19F serotipi izolatların %56'sında (n:28) saptanmış olup bunu 6A/B (%12), 23F (%10), 15A-F (%4) serotipleri izlemiştir. *erm(B)* ve *mef(E)* geni birlikteliği, 19F ve 6A/B serotipine sahip izolatlar arasında yaygın olup 19F izolatlarının % 57.2'sinde; 6A/B izolatlarının ise %83.3'ünde her iki gen birlikte saptanmıştır. Bunun aksine 23F izolatlarının %80'inde *mef(E)*, %20'sinde de *erm(B)* geni tek başlarına bulunmuş; ilginç olarak bu serotipe sahip izolatlarda *erm(B)+mef(E)* birlikteliğine rastlanmamıştır.
Sonuç
Bu çalışmada *mef(E)* geninin, 19F, 6A/B ve 23F serotiplerinin baskın olduğu kökenlerimiz arasında oldukça yaygın olarak bulunduğunun ve özellikle 19F ve 6A/B serotipindeki izolatların büyük kısmında *erm(B)*'ye eşlik ettiğinin gösterilmesi, efluks yönetimindeki makrolid direncinin bölgemiz pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde yeni bir tehdit olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus pneumoniae*, makrolid direnci, *erm(B), mef(E)*, serotip

Tablo 1. Elli Streptococcus pneumoniae izolatında makrolid direnç fenotip ve genotiplerinin serotiplere göre dağılımı

Serotipler	$cMLS_B$ fenotipi n(%)			M fenotipi n(%)		Toplam n(%)
	erm(B)	*mef*(E)	*erm*(B)+*mef*(E)	*mef*(E)	*erm*(B)+*mef*(E)	
19F	12 (42.8)	-	16 (57.2)	-	-	28 (56)
6A/B	1 (16,7)	-	5 (83,3)	-	-	6 (12)
23F	1(20)	-	-	4(80)	-	5 (10)
Diğerleri	1 (20)[b]	2 (40)[c]	1(20)[d]	-	1(20)[e]	5 (10)
Tİ[a]	6 (100)[f]	-	-	-	-	6 (12)
Toplam	21 (42)	2(4)	22 (44)	4 (8)	1 (2)	50 (100)

[a]Tiplendirilemeyen izolatlar
[b]serotip 14
[c]serotip 15A/F ve serotip 39 ($iMLS_B$ fenotipinde)
[d]serotip 23B
[e]serotip 15A/F
[f]bir izolat $iMLS_B$ fenotipinde

S22- ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HASTANESİNDE TİGESİKLİN DİRENÇLİ *ACİNETOBACTER BAUMANNİİ*SUŞLARININ MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

Selcan Çolakoğlu, Süleyman Durmaz, Mustafa Altay Atalay, Duygu Perçin
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Son yıllarda tigesikline dirençli *Acinetobacter baumannii* suşları bildirilmektedir. Tigesiklin direncine AcrAB gibi efflux pompaları yol açmaktadır. Bu suşlar ile gelişen hastane enfeksiyonları ise ciddi bir sorun olabilmektedir. Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen tigesikline dirençli *A. baumannii* suşları arasındaki klonal yakınlığın araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2010-Temmuz 2011 yılları arasında 72 hastanın farklı klinik örneklerinden izole edilen ve tigesiklin dirençli olduğu tespit edilen 75 *A. baumannii* suşu çalışmaya alındı. Suşlar Phoenix (Becton-Dickinson, ABD) ve rutin mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak tanımlandı. Suşların antibiyotiklere direnci E-test(Biomerieux, Solna, Sweden) yöntemi kullanılarak yapıldı ve sonuçlar US Food and Drug Administration sınır değerlerine göre, 2-8 µg/ml arası orta duyarlı, >=8 µg/ml olan suşlar dirençli olarak yorumlandı. Genetik yakınlıklarının incelenmesi repetitif-PCR (rep-PCR) (DiversiLab, Biomerieux, Fransa) yöntemiyle yapıldı.
Bulgular
Suşların 36'sı Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesinden, 19' u Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinden, 8' i Dahili kliniklerden, 5' i Koroner Yoğun Bakım Ünitesinden, 4' ü Enfeksiyon Hastalıkları, 2' si Ortopedi servisinden, 1' i ise Pediatri Yoğun Bakım Ünitesinden izole edildi. Suşların tamamının MIK değeri >=2 µg/ml idi. rep-PCR sonrasında 75 suşun 4 farklı klona ait olduğu ancak D klonunda 1 suş olduğu gözlendi. Suşların 68 (%90.6)' i A klonuna, 4 (%5.3)' ü B klonuna, 2 (%2.6)' si C klonuna ait idi.
Sonuç
1- Hastanemizde tigesikline dirençli 3 *A. baumannii* klonunun hastalar arasında yayıldığı saptanmıştır. Bir suş ise sporadik olgu şeklinde görülmüştür.
2-DiversiLab rep-PCR sistemi salgınların tespit edilmesinde hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir.
3-Bu tür çoklu dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda erken tanı, doğru identifikasyon, güvenilir duyarlılık testleri ve zamanında kaynak belirlenmesi salgınların kontrolü açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: rep-PCR., tigesiklin, *A. baumannii*

S23- MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS SUŞLARINDA EFLÜKS POMPA YAPISINA KATILAN GEN EKSPRESYONLARININ ÇOKLU İLAÇ DİRENÇ GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Kerem Çalgın[1], Fikret Şahin[1], Melike Atasever[2], Deniz Köksal[3], Djursun Karasartova[1], Mehmet Kıyan[1]
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuarı, Ankara*
[3]*Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, Ankara*

Amaç
Çoklu ilaç dirençli tüberkülozda ilaç direncinin moleküler mekanizmalarının anlaşılması son yıllarda tüberküloz çalışmalarının başında gelmektedir. İlaçların hedeflediği genlerdeki mutasyonlar ilaçlara karşı gelişen direncin önemli nedenlerindendir. Bununla birlikte tüberküloz ilaçlarına karşı gelişen yüksek direnci sadece hedef genlerde oluşan mutasyonlarla açıklamak mümkün olmamaktadır. Yeni çalışmaların sonuçları çoklu direnç fenotipi (MDR) gösteren *M. tuberculosis* suşlarının sürekli veya indüklenebilir şekilde eflüks (atım) sistemi genlerindeki ekspresyon artışı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Çoklu ilaç direnci gösteren grupta rol alan gen veya genlerin belirlenmesi, direnç mekanizmasının anlaşılması yanında tüberküloz hastalığının tedavisinde yeni hedeflerin ortaya konması açısından önemlidir. Bu çalışmada, mikobakterilerde MFS, ABC, RND ailelerine üye farklı eflüks pompalarının oluşumunda rol alması muhtemel; Rv1410c, Rv2333c, *drrA, drrB, mmpL4,mmpL7*, Rv1258c, *iniA*, Rv0783c, Rv0037c, Rv1250, Rv1273c, Rv1634, Rv1687c ve Rv3000 genlerinin ekspresyon farklılıklarının, çoklu ilaç direnci gösteren ve göstermeyen *M. tuberculosis* klinik suş gruplarında araştırılması amaçlanmıştır. Buna ek olarak bu genlerin ekspresyonları, 3 standart *M. tuberculosis* suşundaki ekspresyon miktarlarıyla kıyaslanmıştır.
Gereç-Yöntem
M. tuberculosis suşları, Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Hastanesi' nde tüberküloz tanısı ile yatarak tedavi gören hastalara ait klinik örneklerden, aynı hastanenin mikrobiyoloji laboratuarında Lowenstein-Jensen (LJ) besiyeri üzerinde üretilerek izole edilmiştir. Bu suşların LJ besiyerinde proporsiyon metodu ile dirençlilik-duyarlılık paternleri saptanmış ve çalışma 10 adet ilk basamak anti-TB ilaçlara duyarlı ve 10 adet çoklu ilaç direncine sahip toplam 20 *M. tuberculosis* suşu üzerinde yürütülmüştür. *M. tuberculosis* H37Rv ATCC, *M. tuberculosis* H37Ra ATCC, *M. tuberculosis* H37Rv Pasteur Enstitüsü standart suşları, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Kültür Koleksiyonu' ndan temin edilmiştir. Genlerin ekspresyon miktarları multipleks RT-PCR metodu ile internal kontrol olarak kullanılan 16S rRNA geni ile oranlanarak tespit edilmiştir. Çalışılan genlerin ekspresyon miktarları, ayrıca *M. tuberculosis* H37Rv ATCC, *M. tuberculosis* H37Ra ATCC, *M. tuberculosis* H37Rv Pasteur Enstitüsü standart suşlarında, genlerin logaritmik artış fazında olduğu döngülerde ve ayarlanan gen/internal kontrol primer oranlarında multipleks RT-PCR yapılarak araştırılmıştır. Çalışmalar üç kez tekrarlanmış ve sonuçlar T testi ile istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışmamız sonucunda, araştırdığımız eflüks pompa genlerinin MDR fenotipindeki *M. tuberculosis* klinik suşlarındaki ekspresyonları ile duyarlı klinik suşlardaki ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak çalışmaya alınan duyarlı ve MDR fenotipli klinik suşlardaki ekspresyon miktarlarında her üç standart *M. tuberculosis* suşunun ekspresyon miktarlarına göre kıyaslandığında tüm genlerde 3-4 kat artış olduğu tespit edilmiştir. T-test kullanılarak yapılan istatistiksel analizler sonucunda değerlendirilen genler arasındaki p-değerleri 0,0009-0,000009 arasında bulunmuştur.
Sonuç
Araştırdığımız pompa genlerinin ekspresyon miktarlarında, klinik olarak elde edilen duyarlı ve MDR fenotipli *M. tuberculosis* suşları arasında fark gözlenmemiş olmasına rağmen, her iki gruptaki ekspresyon miktarlarının standart suşlardaki ekspresyon miktarlarına göre 3-4 kat artmış olması, çalışmada kullandığımız suşların ilaçsız ortamda üretilmesine karşın, klinik izolatlarda, muhtemelen kullanılan ilaçlara bağlı olarak pompa genlerinin sürekli olarak daha fazla eksprese olduklarını göstermektedir. *M. tuberculosis* duyarlılık testlerinde kullanılan ilaç dozlarında duyarlı olarak belirtilen klinik suşların, daha sonradan antitüberküloz ilaçlara artmış MİK değerlerine sahip olabileceği muhtemeldir. Literatür bilgimiz dahilinde ilk defa tarafımızdan ortaya konulan, klinik suşlardaki efflüks pompa ekspresyon artışının, çoklu ilaç direnç gelişiminde ara form oluşturabileceği ve son yıllarda tanımlanan yaygın ilaç dirençli tüberküloz (XDR-TB) fenotipinin oluşmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çoklu direnç gelişimi, Eflüks pompası, *Mycobacterium tuberculosis*

S24- ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİNDE 2008-2010 YILLARI ARASINDA İZOLE DİLEN *MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS* İZOLATLARINDA İLAÇ DİRENCİ

Fatma Tuğba Dinç, Tuncay Topaç, Bülent Özbek, Cüneyt Özakın, Melda Sınırtaş
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Bursa

Tüberküloz, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de halen önemli halk sağlığı problemlerinden birisidir. Tüberkülozun erken tanısı amacıyla *Mycobacterium tuberculosis*'in izolasyonu yanı sıra çoklu ilaç direnci olan suşların tedavilerindeki güçlük ve riskler nedeniyle duyarlılık testlerinin de çalışılması önem taşımaktadır. Çalışmamızda, Uludağ Üniversitesi Sağlık Kuruluşları Mikrobiyoloji A.D. tüberküloz laboratuvarına 2008-2010 yıllarında gönderilen örneklerin retrospektif olarak incelenerek izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık sonuçlarının, Göral ve ark.nın 1984-1995, Sınırtaş ve ark.nın 1996-2007 dönemlerini kapsayan laboratuvar verileri ile kıyaslanması amaçlanmıştır.
Mikobakterilerin izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık testleri BACTEC 960 MGIT (Becton-Dickinson, Heidelberg, Almanya) sisteminde gerçekleştirilmiştir.
2008-2010 yıllarında laboratuvarımıza gönderilen 15539 örnekten 13689'una (%88.1) kültür istenmiştir. Bunların 325'inde (% 2.4) üreme saptanmıştır. Kültür istemlerinin 285'inde (%2.1) *M. tuberculosis* kompleks, 40'ında (%0.3) atipik mikobakteri olarak tiplendirilmiştir.
M. tuberculosis kompleks üremesi saptanan 285 izolatın 209'una (%64.3) antitüberküloz duyarlılık testi çalışılmıştır.Mikobakterilerin, streptomisin (SM), izoniazid (INH), etambutol (EMB) ve rifampisin (RMP)'e direnç oranlarının dağılımı saptanmış, 1984-95 yıllarını kapsayan on yıllık durum ile 1996-2007 yıllarının üçer yıllık dönemlerdeki durumu ile karşılaştırılmıştır (Tablo 1). 2008-2010 döneminde tek ilaca direnç oranı %8,6, çok ilaca direnç oranı %2,9 olarak saptanmıştır.
Önceki çalışmalardaki verilerle kıyaslandığında pozitiflik oranlarında azalma ile beraber, antitüberkülo ilaçlara ait direnç oranlarınında da azalmanın olduğu saptanmıştır. Bu azalmanın nedeni olarak yıllar içinde kurumumuzda aktif tüberküloz olgularının daha az yatırılarak tedavi edilmesi ve örneklerin ayırıcı tanıda yer alan tüberküloz şüphesini ekarte etmek için gönderilmiş olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu nedenle önceki çalışmalara göre son yıllardaki tüberküloz laboratuvarı verilerinin kurumumuzun Güney Marmara bölgesine hizmet sunmasına rağmen, bu bölgenin verilerini yansıtmadığı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: etambutol, izoniazid, rifampisin, streptomisin, tüberküloz

M. tuberculosis izolatlarında 1984-2010 yılları arasında saptanan direnç

Direnç	1984-1995 (n:531)	1984-1995 (n:531)	1996-2007 (n:818)	1996-2007 (n:818)	2008-2010 (n:209)	2008-2010 (n:209)
	n	%	n	%	n	%
Tek ilaca direnç						
INH	36	6.8	64	7.8	6	2.9
SM	27	5.1	35	4.3	10	4.8
RMP	21	4	2	0.2	-	-
EMB	1	0.2	10	1.2	2	1
Toplam	85	15.8	111	13.6	18	8.6
Çok ilaca direnç						
INH+RMP	21	4	11	1.3	-	-
INH+SM+RMP	22	4.1	4	0.5	1	0.5
INH+RMP+EMB	5	0.9	8	1	1	0.5
INH+SM+RMP+EMB	21	4	8	1	4	1.9
Toplam	69	13	36	4.4	6	2.9

S25 - HASTANEMİZDE MİKROBİYOLOJİK BAKI VE KÜLTÜR ÖRNEKLERİNDEN YAPILAN PANİK DEĞER BİLDİRİMLERİ VE NEDENLERİ

Metin Sancaktar[1], Çiğdem Yoloğlu[1], Meltem Öksüz[1], Semin İnan Yeter[1], Fatih Niyazoğlu[2], Hakan Usta[2], Saadet Bayram[2], Ali Kemal Salkı[2]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*

Amaç
Mikrobiyoloji laboratuvarlarında her gün onlarca bakı ve kültür çalışılmaktadır. Bu testleri isteyen servis ve kliniklerin, yaşamsal olarak önemli sonuçları hızlı ve özenli bir biçimde alması için panik değer bildirimi yapılmaktadır. Her laboratuvarın birbirine benzer biçimde, gereksinimine göre kendi belirlediği yaşamsal önemi olan test sonuçlarını özellikle tahlili yapılan hastanın doktoruna ya da servis hemşiresine telefonla bildirerek dikkat çekmesi; tahlilin atlanmasını engellemekte, hastaya ve hekime, sağaltıma geçişte hız kazandırmaktadır. Bu çalışmada Haziran 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen mikrobiyolojik bakı ve kültür örneklerinden panik değer bildirimi yapılanların geriye dönük olarak taranıp bildirim oranının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nde geçen ve bütün hastane laboratuvarlarının uygulamaları gereken, denetimlerde sorumlu tutulduğumuz panik değerlerin kayıtları ve oranları geriye dönük olarak taranmıştır. Çizelgede hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan mikrobiyoloji bakı ve kültür panik değerler dizelgesi verilmiştir.
Bulgular
Bu dönem içerisinde çalışılan 5.243 idrar kültürünün 29'undan (%0.6) GSBL(+); 2.555 kan kültürünün 73'ünden (%2.9) bakteri üremesi; 820 dışkı kültürünün 2'sinden (%0.2) *Salmonella spp.*; 4.991 dışkı preparatının 155'inden (%3.1) *E.histolytica/E.dispar*, 27'sinden (%0.5) *Giardia spp.*, 2'sinden (%0.04) *Entamoeba histolytica* adezin antijeni pozitif panik değer sonuç bildirimi yapılmıştır. 90 üretral akıntı-meni kültürü, 10 vagen-serviks kültürü, 12 intravenöz katater kültürü, 48 hücre sayımı ve direkt mikroskopi çalışılmış olup herhangi birinden panik değer bildirimi yapılmamıştır.
Sonuç
Genelde iş yoğunluğundan ve önemini tam kavrayamamaktan dolayı panik değer bildirimi gerektiği kadar yapılmamakta ya da telefonla yapılan bildirimin kaydı düzenli tutulmamaktadır. Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nin gereği olarak yapılmaya başlanan panik değer bildiriminin önemi ilgili çalışanlara anlatılmalı ve panik değer bildiriminin daha yüksek oranlarda yapılması sağlanmalıdır. Bu aynı zamanda mikrobiyoloji uzmanının tanıda belirleyici ve sağaltımda yönlendirici, danışman (konsültan) konumunu da pekiştirecektir.
Anahtar Kelimeler: Panik değer, kültür panik değer, mikroskopi panik değer, dışkı mikroskopisi panik değer

Çizelge 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı mikrobiyolojik bakı ve kültür panik değerler dizelgesi.

Mikrobiyolojik Bakı/Kültür	Bildirilen Panik Değer Sonucu
İdrar Kültürü	GSBL (+) bakteri üremesi
Dışkı Kültürü	Salmonella spp./Shigella spp.
Vajen-Serviks Kültürü	Direkt preparatta gonokok
Üretral Akıntı/Meni Kültürü	Direkt preparatta gonokok
Kan Kültürü	Tüm bakteriler
İntravenöz Katater Kültürü	Tüm bakteriler (15 koloniden çoksa)
Hücre Sayımı ve Direkt Mikroskopi	Steril vücut sıvılarında lökosit izlenmesi BOS'ta bakteri izlenmesi; BOS'ta >= 20 hücre/mL
Dışkıda Parazit Bakılması	E.histolytica/E.dispar ya da Giardia spp. izlenmesi (Trikrom boyamada)
Dışkıda Entamoeba histolytica Adezin Antijeni Bakılması	Pozitif sonuç

gsbl: genişlemiş spektrumlu beta laktamaz direnci bos: beyin omurilik sıvısı

.

S26- KAN KÜLTÜRLERİNDE İDEAL ÖRNEK ALMA ZAMANI VE SAYISININ ATEŞLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Tolga Başkesen[1], Kenan Değerli[1], Hörü Gazi[1], Banu Çiğdem Çetin[2], Melek Çivi[3]
[1]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa*
[2]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları ABD , Manisa*
[3]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezi ve Reanimasyon ABD, Manisa*

Amaç
Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonları (KDE) yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedirler. Son yıllarda kan kültürü teknolojisinde büyük ilerlemeler olmuş, mikroorganizmaların saptanma zamanları kısalmıştır. Ancak tüm gelişmelere rağmen kan kültürü pozitiflik oranları sadece %8-14 arasında değişmekte ve kan kültürü gibi çok önemli bir tanı aracı çok düşük bir verimle kullanılabilmektedir.
Literatürde kan kültürü almak için ideal zaman, üşüme titreme dönemi ya da ateşin başladığı dönem olarak belirtilmekle birlikte bazı çalışmalarda ateşle kan kültürü pozitifliğinin ilişkisinin bulunmadığı da gösterilmiştir.
Bu çalışmada, KDE düşünülen hastalarda kan kültürü için ideal örnek alma zamanı, sayısı ve ateşle ilişkisi araştırılmış; kan kültürü yönteminde daha yüksek pozitiflik ve etken saptama oranlarına ulaşılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Haziran 2010 - Mayıs 2011 tarihleri arasında AYBÜ'nde yatan 45 hasta dahil edilmiştir. Bu 45 hastada görülen 100 KDE atağında, birinci örnek klinik hekimin uygun gördüğü saatte (0. saat) ve ilk örnekten sonraki ikinci ve dördüncü saatlerde olmak üzere toplam 300 kan kültürü örneği alınmıştır. Örnek alımıyla eş zamanlı olarak hastaların ateşleri kaydedilmiştir. Ateşle pozitiflik oranları arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için hastalar, ateşi olmayanlar (üç örnek alımında ateşi olmayan hastalar), ateşi yükselişte olanlar (0. saatte ölçülen ateş, 2. saat ve 4. saatteki ateş ölçümlerinden düşük ise) ve ateşi düşüşte olanlar (0. saatte ölçülen ateş diğer ölçümlerden yüksek ise) olmak üzere üç grupta toplanmıştır.
Alınan kan kültürü örnekleri, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Bakteriyoloji Laboratuvarında BACTEC / 9120 (Becton Dickinson, Maryland, USA) otomatize kan kültür sisteminde bir hafta süreyle inkübe edilmiştir. Üreme sinyali veren tüm örneklerin %5 koyun kanlı agar (SALUBRİS, İstanbul) ve Eosin Metilen Blue agar (SALUBRİS, İstanbul) besiyerlerine subkültürleri yapılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda üreyen bakterilerin tanımlanmasında klasik bakteriyolojik yöntemler ve yarı otomatize biyokimyasal identifikasyon kitleri (BBL Crystal GP; E/NF, Becton Dickinson, USA) kullanılmıştır. İstatistik değerlendirme ki-kare testi ile yapılmıştır.
Bulgular
KDE ataklarında, klinisyenin uygun gördüğü zamanda alınan ilk örneklerin (0. saat örnekleri) 39'unda (%39) üreme saptanırken, 2. saatte alınan örneklerinin 49'unda (%49), 4. saat örneklerinin ise 44'ünde (%44) bakteriyel üreme saptanmıştır. Ayrıca 0. ve 2. saat örneklerinde toplam pozitiflik oranı % 55'e ve 0., 2. ve 4. saatlerde alınan örneklerdeki toplam pozitiflik oranının ise % 62'ye çıktığı saptanmıştır (Tablo-1).
Ateşin yükselme döneminde olduğu 30 KDE atağında alınan 90 örneğin % 50'sinde, ateşin düşüş döneminde olduğu 43 KDE atağında alınan 129 örneğin % 53,5'inde üreme saptanırken, ateşi olmayan 27 KDE atağında alınan 81 kan örneğinde de % 22,2 oranında üreme tespit edilmiştir.
Sonuç
KDE düşünülen hastalarda ilk örnek klinisyen hekimin uygun gördüğü zamanda olmak üzere, iki saat ara ile üç kan kültürü örneği uygulaması ile kan kültürlerinde pozitiflik oranlarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle ateşe bakılmaksızın belli aralıklarla örnek alınmasının KDE tanısında yararlı olacağı düşünülmüştür. Aynı zamanda örnek sayısını artırarak yapılacak ileri çalışmalarla ve bu çalışmaların birbiriyle karşılaştırılması ile kan kültürü gibi çok önemli ve faydalı bir tanı aracının daha verimli kullanımının sağlanabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kan Dolaşımı Enfeksiyonu, Kan Kültürü, Pozitiflik Oranı

Tablo-1. Pozitiflik oranlarındaki kümülatif artış

	Üreme Yok	Üreme Var
0. saat	61 (%61)	39 (%39)
0. + 2. saat	45 (%45)	55 (%55)
0. + 2. + 4. saat	38 (%38)	62 (%62)

p=0,001

S27- TOPLUMDA ANTİBİYOTİK KULLANIMI SIKLIĞI VE İLGİLİ ETMENLERİN BELİRLENMESİ ÇALIŞMASI

Mustafa Necmi İlhan[1], **Nilay Çöplü[2]**, Zeynep Belma Şenlik[1], Emine Füsun Civil[1], Berrin Esen[2], Mustafa Ertek[3]
[1]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, Ankara*
[2]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[3]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*

Amaç
Antibiyotikler toplumda kullanılan ilaçlar arasında en başlarda yer almaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişebilmekte, bu durum ilacı etkisiz hale getirmektedir. Halkın kendi kendine ve gereksiz yere antibiyotik kullanması, antibiyotiklere direnci artırmaktadır. Yaygın olan bir diğer hatalı davranış ise reçete edilen antibiyotiğin önerilen doz, sıklık ve sürede kullanılmayıp, eksik kullanılmasıdır. Dirençli suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisi güçleşmekte, tanı ve tedavi giderleri artmakta, genellikle daha pahalı ve daha çok yan etkisi olan ilaçlara gereksinim duyulmaktadır. Bu suşların bulaşı ve dirençten sorumlu genlerin yayılması toplum sağlığını tehdit etmektedir. Bütün bunlara ek olarak ekonomik kayba neden olmaktadır. Bu gerekçe ile Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı tarafından toplumda antibiyotik kullanımı sıklığı ile ilişkili tutum ve davranışlarının belirlenmesi yoluyla mevcut durumun ortaya koyulması, müdahale edilmesi gereken alanların belirlenmesi için bu araştırma gerçekleştirilmiştir. Yapılacak olan etkinliklerin verimini ölçebilmek için bu araştırmanın verileri karşılaştırmak amacıyla da kullanılacaktır.
Gereç-Yöntem
Araştırma Türkiye Genelinde 8 NUTS bölgesinde yürütülmüştür. Edirne, Manisa, Sakarya, Ankara, Mersin, Nevşehir, Trabzon ve Elazığ örneklemde yer almıştır. Araştırma kapsamında kırsal ve kentsel dağılıma göre 4168 kişi ile yüz yüze görüşülmüştür. Temmuz 2010'da kurgulanan çalışma Şubat 2011'de tamamlanmıştır.
Bulgular
İncelenenlerin %24.4'ü 30-39 yaş grubunda, %62.1'i kadın, %83.2'si evli, %40.6'sı ilkokul mezunu, %94.1'inin sosyal güvencesi mevcut, %50.4'ünün aylık hane halkı geliri 501-1000 TL arasındadır. Bireylerin %48.1'i son bir yılda kendi kendine ilaç kullandığını, %38.0'ı son bir ayda kendi kendine ilaç kullandığını, %25.1'i evde ileride gerekli olur diye antibiyotik bulundurduğunu; %17.0'si doktordan antibiyotik yazmasını talep ettiğini, %6.7'si çevredekilere antibiyotik tavsiyesinde bulunduğunu, %26.2'si kendi kendine, doktor tavsiyesi olmadan antibiyotik kullandığını, %57.0'si son bir yıl içerisinde, %24.6'sı ise son bir ay içerisinde antibiyotik kullandığını belirtmiştir. Son 1 yıl içerisinde herhangi bir ilaç kullandığını belirtenlerin %84.5'i ağrı kesici, %7.8'i antibiyotik; son 1 ay içerisinde herhangi bir ilaç kullandığını belirtenlerin %82.6'sı ağrı kesici, %3.7'si antibiyotik kullandığını belirtmiştir. Doktor tavsiyesi olmadan antibiyotik kullananların %14.3'ü doktora gitmeye vakti olmadığı için, %8.6'sı ayrıca muayene ve tetkik ücreti vermek istemediği için kullandığını, %55.2'si ise daha önceki benzer durumda doktorun vermiş olduğu antibiyotiği kullandığını belirtmiştir. İncelenenlerin %56.2'si kullandığı/doktordan yazmasını istediği antibiyotiği daha önceki benzer durumda doktorun vermiş olduğu antibiyotikten aldığını/yazmasını istediğini, %9.2'si eczacıya danıştığını, %21.5'i önceden evde olan antibiyotiği kullandığını/istediğini, %8.4'ü arkadaş/tanıdıkların önerisi ile seçtiğini belirtmiştir. Anket uygulanan kişilerin antibiyotiği ortalama 6.8±5.2 gün kullandıklarını, ortalama 8.1±12.9 gün kullanmalarının önerildiğini, %8.4'ü antibiyotik kullanma sürelerini kendilerinin belirlediklerini belirtmişlerdir. Kendi kendine antibiyotik kullanma sebeplerinden ilk üç sırayı alanlar soğuk algınlığı (%51,3); boğaz ağrısı (%36,5) ve öksürüktür (%18,5).
Sonuç
Halkın antibiyotik kullanmada kendi kendine kullanmaya karar verme, bu amaçla evde bulundurma gibi fazla kullanmaya yönelik hatalı tutumlarınla, eksik kullanma eğilimi de saptanmaktadır. Bir önceki hastalığında iyi gelen antibiyotiği tekrar kullanma, direnç olayının bakteride değil kendi vücudunda geliştiğinin sanıldığını, etkene ve zamana karşı değişebilecek bir durum olduğunun bilinmediğini göstermektedir. Halka yönelik önlemler arasında reçetesiz antibiyotik alımının engellenmesi, reçete edildiğinde ise önerilen doz, sıklık ve süreye uyulması gerektiğinin eğitim yoluyla anlatılması bulunmalıdır. En sık antibiyotik kullanma sebeplerinin üst solunum yolu enfeksiyonu semptomları olduğu, oysa %85'inin viral etkenlerle geliştiği ve antibiyotiğin işe yaramayacağı da yine eğitimlerle anlatılmalıdır. Etkinlikler uygulandıktan sonra benzeri bir araştırma yapılarak etkinliklerin verimi de ölçülmelidir.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik, toplum, anket çalışması

S28 - 500 YATAKLI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNİN GENEL CERRAHİ KLİNİKLERİNDE İKİ AYLIK DÖNEMDE CERRAHİ PROFİLAKSİ KURALLARINA UYUMUN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Banu Esen[1], Cafer Korkut[2], Emine Güngör[3], Halime Beyhan[3], Derya Yıldız[3], Gönül Şengöz[4]
[1]*SB Bağcılar EAH, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul*
[2]*SB Bağcılar EAH, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul*
[3]*SB Bağcılar EAH, Enfeksiyon Kontrol Hemşireliği, İstanbul*
[4]*SB Bağcılar EAH, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği; Haseki EAH, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul*

Amaç
Nisan-Mayıs 2011 periyodunda iki ayrı genel cerrahi kliniğinin profilaksi kurallarına uyumunun değerlendirilmesi ve karşılaştırılmaları amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Profilaksi uygulamalarını karşılaştırmak için iki klinik, seçilen herni ve kolesistektomi ameliyatları açısından, retrospektif dosya taramaları ile değerlendirildi. Kılavuzlarda önerildiği gibi, gastro-duedonal cerrahi için sefazolin ve ampisilin-sulbaktamın, herni operasyonları içinse sefazolinin profilaktik kullanımı doğru uygulama olarak kabul edilmiştir.
Bulgular
Genel Cerrahi I servisinde belirtilen periyotta 79 kolesistektomi ve 47 herni operasyonu, Genel Cerrahi II servisinde ise 99 kolesistektomi ve 72 herni operasyonu yapılmıştır. Hastanemizde bu dönemde retrospektif olarak incelenen 297 operasyon kaydına göre hastaların %63.9'u uygun antibiyotik almış, %46.4'ünde antibiyotik uygun zamanda verilmiş ve %76'sında da profilaksi uygun sürede sonlandırılmıştır. Kılavuzlara göre tüm parametrelerde uygun profilaksi uygulaması, olguların %31,3'ünde saptanmıştır. Klinikler karşılaştırıldığında I. ve II Cerrahi Klinikleri arasında uygun antibiyotik seçimi ve antibiyotiklerin uygun zamanda verilmesi açısından chi-square test ile istatistiki anlamlı fark bulunurken, veriliş süresi açısından anlamlı fark bulunmamıştır.Yine iki klinik arasında profilaksiye her üç parametrede uyumlu hasta sayısı açısından chi-square test ile istatistiki anlamlı fark bulunmuştur.
Sonuç
Cerrahi profilaksi, doğru sterilizasyon ve titiz cerrahi teknik gibi uygulamalarla birlikte postoperatif enfeksiyon problemlerini engellemeye yöneliktir. Proflaksi uygulamasında sadece antibiyotik seçiminin doğru olması yeterli değildir. Doğru uygulama için veriliş zamanı ve veriliş süresinin de doğru olması gereklidir. Cerrahi profilaksi, kılavuzlara uygun yapılmazsa hem yanlış antibiyotik kullanımı ve hastane floralarında direnç gelişimine neden olurken hem de postoperatif enfeksiyonun engellenmesi amacına ulaşılamaz. Hastanelerde profilaktik antibiyotik kullanımlarının standartlara uygunluğunun dikkatle izlenmesi, denetlenmesi ve sonuçların kliniklere geri bildirimi bu nedenle çok önemlidir. Bu bilgiler ışığında, hastanemizde genel cerrahi kliniklerinin cerrahi profilaksiye uyum profilleri araştırılıp elde edilen sonuçlar geri bildirimde bulunarak daha etkin bir profilaksi uygulamasına dikkat çekilmiştir.

Anahtar Kelimeler: profilaksi, cerrahi, antibiyotik

S29- CLİNİCAL AND LABORATORY STANDARTS INSTİTUTE TARAFINDAN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ İÇİN ÖNERİLEN STANDARTLARLA TÜRKİYE'DE İZOLE EDİLEN SUŞLARIN SONUÇLARININ UYUMU ÇALIŞMASI

Hüsniye Şimşek[1], **Nilay Çöplü[1]**, Metin Küçükercan[2], Dolunay Gülmez[3], Seda Güdül Havuz[4], Tuba Kayman[5], Gülçin Babaoğlu[6], Aynur Gülcan[7], Petek Deniz Uçkan[8], Berrin Esen[1]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[2]*Sağlık Bakanlığı İstanbul Haydarpaşa Eğitim Araştırma Hastanesi, İstanbul*
[3]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara*
[4]*Samsun Bölge Hıfzısıhha Müdürlüğü, Samsun*
[5]*Sağlık Bakanlığı Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi, Kayseri*
[6]*Sağlık Bakanlığı Çorlu Devlet Hast, Çorlu*
[7]*Sağlık Bakanlığı Kütahya Devlet Hast, Kütahya*
[8]*Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Antalya*

Amaç
Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI), ülkemizde, antimikrobiyal duyarlılık testlerinde (ADT) en yaygın kullanılan standarttır. Bu çalışmanın amacı, Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilen bu standartların ülkemize uygunluğunun test edilmesidir.
Gereç-Yöntem
Çalışma, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı (RSHMB) Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü tarafından gerçekleştirilen ADT uygulamalı eğitimi katılımcılarından gönüllü yedi merkez ile gerçekleştirilmiştir. CLSI M100S20'de Tablo'da belirtilen, aynı kutucuk içinde yer alıp aynı mekanizma ile etki eden antimikrobiyaller test edilerek duyarlılık paternlerindeki farklılık irdelenmiştir. Katılan merkezlerden *Enterobacteriaceae* için beta-laktam ve beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları (amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam), nonfermenter Gram negatif bakteriler için ise imipenem ile meropenem ve siprofloksasin ile levofloksasin duyarlılık verileri toplanmış, duyarlılık paterni farklı olan bakteriler RSHMB'na gönderilmiştir. RSHMB'nda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle suşların duyarlılıkları tekrar test edilmiş, sonuçları duyarlılık paterni açısından farklılık gösteren izolatlarda E-test yöntemiyle minimum inhibitör konsantrasyon değerleri saptanmıştır.
Bulgular
Sonuçlar Tablo'da sunulmaktadır.
Sonuç
Aynı etki mekanizmasına sahip olan antimikrobiyallerin tümü test edildiğinde birbirinden farklı duyarlılık paterni verebildikleri gözlenmiştir. Bu bakımdan CLSI önerilerinin ülkemizdeki suşlar için de geçerli olabileceği düşünülmüştür. Dolayısı ile aynı kutu içinde yer alan antimikrobiyaller, mümkün oldukça test edilmeli ve kısıtlı raporlandırma ilkeleri uygulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: CLSI, antibiyogram, Türkiye, Enterobacteriaceae, non fermenter Gram negatif bakteriler

CLSI önerilerine göre aynı kutuda yer alan ve aynı etki mekanizmasına sahip antimikrobiyallerin antibiyogram sonucunda farklı duyarlılık paterni verme sıklığı

Katılımcı merkezler	Hacettepe Ünv. Tıp Fak DD	Hacettepe Ünv. Tıp Fak MİK	Çorlu Devlet Hastanesi DD	Çorlu Devlet Hastanesi MİK	Kütahya Devlet Hastanesi DD	Kütahya Devlet Hastanesi MİK	Kayseri EAH DD	Kayseri EAH MİK	Antalya EAH DD	Antalya EAH MİK	İstanbul Haydarpaşa EAH DD	İstanbul Haydarpaşa EAH MİK	Samsun Hıfzıssıhha Bölge Müdürlüğü DD	Samsun Hıfzıssıhha Bölge Müdürlüğü MİK	Toplam DD	Toplam MİK
Enterobacteriaceae İzolatları (β-laktam/ β-laktamaz inh. uyumsuzluğu) *	38/ 92 %34.78	27/ 92 %29.34	47/ 110 %42.72	36/ 110 %32.72	51/ 108 %47.22	23/ 108 %21.29	35/ 100 %35	20/ 100 %20			15/ 798 %1.87	14/ 798 %1.75	0/ 341 -		186/ 1549 %12	120/ 1549 %7.74

Nonfermenterler (İM/MER uyumsuzluğu) *	15/263 %5.70	14/263 %5.32	6/19 %31.57	0/19 -	1/19 %5.26	1/19 %5.26	12/100 %12	1/100 %1	5/100 %5	3/100 %3			0/12 -		39/513 %7.60	19/513 %3.70
Nonfermenterler (CİP/LEVO uyumsuzluğu) *	9/105 %8.57	8/105 %7.61			4/19 %21.05	1/19 %5.26			9/100 %9	3/100 %3					22/224 %9.82	12/224 %5.35

EAH: Eğitim Araştırma Hastanesi DD: Disk difuzyon yöntemi MİK: Etest ile saptanan Minimum inhibitör konsantrasyon değeri *: Duyarlık paterni duyarlı, orta duyarlı ve dirençli arasında değişen

S30 - GEBELİKTE VULVAVAGİNA KANDİDOZU: BORİK ASİT İLE 13 FARKLI ANTİFUNGAL İLACIN CLSI M27-A3 PROTOKOLÜNE GÖRE DUYARLILIK SONUÇLARI VE DÖRT VİRULANS FAKTÖRÜNÜN İNCELENMESİ

Ayşe Kalkancı[1], Ahmet Barış Güzel[2], Israa İbrahim Jabban Khalil[1], **Merve Aydın[1]**, Macit İlkit[3], Semra Kuştimur[1]
[1]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Adana*
[3]*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Adana*

Amaç
Gebe kadınlarda gebe olmayanlara göre vulvovagina kandidozu daha sık görülmektedir, rekürrens daha yaygındır, gebe olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında tedavi yanıtı azalmaktadır. Bu çalışmada, gebe kadınlardan elde edilen 207 vajinal Candida izolatında 13 antifungal ilaç, borik asit ve dört virulans faktörü araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Akut vulvovagina kandidozlu (AVVK) hastalardan 73, semptomatik
rekürren vulvovagina kandidozlu (RVVK) hastalardan 89, asemptomatik rekürren vulvovagina kandidozu olan hastalardan 27 ve belirti ve semptomları olmayan gönüllülerden alınan ve flora üyesi olarak tanımlanan 18 izolat çalışmaya dahil edilmiştir. En çok izole edilen tür % 59 oranında Candida albicans'tır. C. glabrata ve diğer Candida türleri, sırasıyla % 20 ve % 21 oranında izole edilmiştir. Altı imidazol (ketokonazol, tiokonazol, mikonazol, klotrimazol, ekonazol ve sulkonazol), üç triazol (Klotrimazol, flukonazol, ıtrakonazol), iki poliyen (amfoterisin B, nistatin), bir ekinokandin (kaspofungin), alilamin (terbinafin) ve antiseptiğe (borik asit) antifungal duyarlılık testi CLSI M27-A3 protokolüne göre uygulanmıştır. Virülans faktörü olarak, fosfolipaz, proteinaz üretimi, hemolitik aktivite ve vagina epitel hücrelerine adezyon araştırılmıştır.
Bulgular
Genel olarak rekürren ve akut olgulardan izole edien kökenler arasında MİK farkı gözlenmemiş ve kökenlerin çoğu test edilen antifungallere duyarlı bulunmuştur. Akut ve rekürren VVK olgularından izole edilen kökenlerin çoğu flukonazole duyarlı bulunmuştur. Altı imidazol için kökenlerin % 86 - % 95'inin duyarlı olduğu ve 1 µg/mL altında MİK düzeyleri ile etkili olduğu bulunmuştur. Semptomatik rekürren vulvovagina kandidozu grubundan sadece bir C. albicans ve bir C. glabrata izolatı flukonazole dirençli olarak saptanmıştır.
Bu çalışmada semptomatik ve asemptomatik RVVK olgularından izole edilen Candida kökenlerinden % 78'i en az bir virülans faktörü için pozitif bulunmuştur. Buna karşılık akut olgulardan ve kontrol grubundan izole edilen kökenlerin % 62 ve % 50'sinde en az bir virülans faktörü gösterilmiştir. AVVK ve RVVK'lı hastalardan izole edilen Candida izolatları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında proteinaz ve fosfolipaz üretimi önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, vagina epitel hücrelerine adezyon ve hemolitik aktivitede istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$).
Sonuç
Sonuç olarak, özellikle gebe kadınlarda, antifungal testlerin uygulanması ve virulans faktörlerinin belirlenmesi vulvovagina kandidozunda etkili tedavi seçeneklerinin uygulanmasına yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal duyarlılık testi, gebelerde vulvovaginal kandidoz, virulans faktörleri

S31- 2007- 2011 YILLARI ARASINDA ÜRETİLEN SALMONELLA İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIK SONUÇLARI

Alev Duran[1], Meral Biçmen[1], Zeynep Gülay[1], Revasiye Kayalı Güleşen[2], Belkıs Levent[2]
[1]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[2]*TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Ulusal Enterik Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara*

Amaç
Çalışmamızda, hastanemiz Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarında Kasım 2007- Şubat 2011 tarihleri arasında üreyen Salmonella izolatlarının dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
"Ulusal Enterik Patojenler Laboratuvar Sürveyans Ağı" çalışması kapsamında laboratuvarımızda uygun biyokimyasal reaksiyonlara sahip, polivalan ve monovalan serumlarla Salmonella olarak adlandırılan klinik izolatlar Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Ulusal Enterik Patojenler Referans laboratuvarına gönderilmiş, orada serotip düzeyinde adlandırılmıştır. İzolatların, ampisilin (AMP), amoksasilin klavulanat (AMC), sefotaksim (CTX), ko-trimaksazol (SXT), nalidiksik asit (Nal), siprofloksasin (CIP), kan izolatlarında gentamisin (GN), kanamisin (KA), kloramfenikol (C), streptomisin (S) ve tetrasiklin (TE) duyarlılığı CLSI disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.
Bulgular
İncelenen dönem içerisinde hastanemiz Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarında 192 örnekten (169 dışkı, 15 kan, 5 idrar, 1 periton sıvısı, 1 bronş lavaj, 1 abse) Salmonella izole edilmiştir. Salmonella serotipleri arasındaki dağılım sırasıyla, S.enteritidis (153), S.agona (8), S.kentucky (7), S.infantis (5), S.typhimurium (4), S.corvallis (4), S.virchow (2), S.diarizonae (2), S.thompson (1), S.kottbus (1), S.hadar (1), S.hassa (1), S.heidelberg (1), S.newport (1) ve B grubu Salmonella (1) şeklindedir.İzole edilen salmonella serotiplerinin klinik örnek dağılımları incelendiğinde; B grubu Salmonella'nın bir abse örneğinden, birer S.kentucky ve S.typhimurium izolatının kan kültüründen, bir S.diarizonae izolatının periton sıvısından, birer S.infantis ve S.heidelberg izolatının idrar kültüründen izole edildiği görülmüştür. S.enteritidis'lerin biri bronş lavaj sıvısı, üçü idrar, onüçü ise kan kültüründen izole edilmiştir. Diğer izolatların tümü dışkı örneklerinden elde edilmiştir.
İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre dağılımı Tablo-1'de gösterilmektedir. 2011 yılında saptanan 9 izolatta (8 S.enteritidis,1 S.newport) antibiyotik direncine rastlanmazken, bir S.heidelberg izolatında Nal direnci görülmüştür. S.agona, S.corvallis, S.kottbus, S.hassa, S.newport, B grubu Salmonella serotiplerinde antibiyotik direncine rastlanmamıştır.
Sonuç
Hastanemizde üç yıllık sürede en sık izole edilen Salmonella serotipinin S.enteritidis olduğu; dışkı haricindeki izolatlarda antibiyotik direncinin daha yüksek olduğu; çoklu direncin (AMP, C, S, TE) S.hadar, S.infantis, S.typhimurium izolatları arasında daha yaygın olduğu belirlenmiştir. 2009 yılında Nal direncinin yaklaşık iki kat artışının yanı sıra AMP direncinin düştüğü gözlenmiştir. Nal direnci 2009-2010 yıllarında ortalama %13 civarındadır.
AMP direncinde 2010 yılında önemli bir artış görülmüştür. S.enteritidis izolatlarında tüm izolatlarla kıyaslandığında AMP ve Nal direncinin daha düşük olduğu dikkat çekicidir. Salmonella serotipleri arasında Nal direncine bağlı azalmış kinolon duyarlılığı bulunmasına karşın bu bakterilere karşı florokinolonların en etkili antibiyotikler olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Salmonella, direnç, serotip

Tablo-1: Salmonella izolatlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılığı (%)

Tablo-1: Salmonella izolatlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılığı (%)

Yıl	Suş sayısı	AMP	AMC	CTX	SXT	S	TE	C	Nal	CIP
2008	68	%4.4	%2.9	%0.0	%2.9	%4.4	%5.9	%0.0	%7.4	%1.5
2009	73	%2.7	%1.4	%1.4	%2.7	%6.8	%5.5	%4.1	%13.7	%0.0
2010	39	%7.6	%0.0	%0.0	%2.5	%7.6	%7.6	%2.5	%12.8	%0.0
Toplam	180	%4.9	%1.4	%0.4	%2.7	%6.2	%6.3	%2.2	%11.3	%0.5

S32- HİDRAZON YAPISINDAKİ ON ADET BİLEŞİĞİN ANTİLEİSHMANİAL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Şahin Direkel[1], Seda Tezcan[1], Semra Utku[2], Gönül Aslan[1], Mehtap Gökçe[3], M. Fethi Şahin[3], Nuran Delialioğlu[1], **Mahmut Ülger[1]**, Gürol Emekdaş[1]
[1]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin*
[2]*Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Mersin*
[3]*Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Ankara*

Amaç
Kutanöz leishmaniasisin tedavisinde çeşitli ilaçlar kullanılmakla birlikte etkin bir tedavi sağlanamamıştır. Tedavide son 60 yıldır kullanılmakta olan pentavalan antimon bileşiklerine direnç gelişmiştir. Bu nedenle, leishmaniasise karşı etkili yeni ilaçların sentezlenmesine acil ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada aksenik kültürde Leishmania infantum standart suşunun promastigotları kullanılarak alamar mavisi mikroplak yöntemi ile 6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-asetil-2-(sübstitüe/nonsübstitüe asetofenon) hidrazon yapısındaki on adet bileşiğin antileishmanial aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-asetil-2-(sübstitüe/nonsübstitüe asetofenon) hidrazon yapısındaki on adet bileşik, konsantrasyonları 6 µg/ml-0.012 µg/ml olacak şekilde %10 Bovin Serum Albümin (BSA) eklenmiş RPMI-1640 besiyeri kullanılarak mikroplaklara dağıtıldı. Hemositometre ile hücre sayısı 2.5x106 hücre/ml olacak şekilde ayarlanmış Leishmania infantum promastigotları kuyucukta dağıtıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 25 µl alamar mavisi (0.1 mg/ml) ilave edilerek 27°C'de inkübasyona bırakıldı. Plaklar 24, 48 ve 72 saat sonra ELİSA okuyucusunda 550 ve 630 nm dalga boylarında okutularak sonuçlar değerlendirildi. Çalışmada standart ilaç olarak Amfoterisin B kullanıldı.
Bulgular
Kuyucuklarda rengin maviden pembeye dönmesi çalışılan konsantrsayonda parazitin ürediğini; değişmeden kalması ise parazitin üremediğini göstermektedir. Buna göre hidrazon yapısındaki on adet bileşiğin Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri tabloda verildi.
Sonuç
Yapılan bu çalışmada hidrazon yapısındaki on bileşiğin antileishmanial aktivitesi alamar mavisi mikroplak yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada en etkili maddelerin 5., 7. ve 8. maddeler (MİK 0.75 µg/ml) olduğu görülmüştür. Sentezlenen bu bileşiklerin ilaç olarak kullanılması için in vitro ve in vivo ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmada kullanılan alamar mavisi mikroplak yönteminin, antileishmanial ilaç aktivitesi araştırılmasında basit, güvenilir ve yöntemin tekrarlanabilir olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antileishmanial aktivite, Hidrazon, Kutanöz leishmaniasis

Antileishmanial aktivitesi araştırılan hidrazon yapısındaki on bileşiğin MİK değerleri

Yeni sentezlenen maddeler	MİK (µg/ml)
1. madde	3
2. madde	1.5
3. madde	3
4. madde	3
5. madde	0.75
6. madde	3
7. madde	0.75
8. madde	0.75
9. madde	6
10. madde	3
Amfoterisin B	0.37

POSTER BİLDİRİLER

P01- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGİNOSA* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Hatice Uludağ Altun[1], Sibel Ak[2]
[1]*Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, Ankara*
[2]*Malatya Devlet Hastanesi, Malatya*

Amaç
Bu çalışma Mart 2008- Mart 2011 tarihleri arasında Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık profilinin saptanması amacıyla yapıldı.
Yöntem
Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, 1 Mart 2008–1 Mart 2011 tarihleri arasında, çeşitli klinik örneklerden konvansiyonel yöntemler ve API 10S(bio-Merieux/Fransa)sistem ticari kiti kullanılarak soyutlanan 124 *Pseudomonas aeruginosa* suşu retrospektif olarak incelendi. İnceleme sonrası aynı hasta örnekleri hariç toplam 100 Suş çalışmaya dahil edildi (Tablo 1). Tanımlanan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon methodu ile aztreonam, seftazidim, tobramisin, amikasin, gentamisin, sefoperazon/sulbaktam, sefepim, piperasilin/tazobaktam, imipenem ve siprofloksasin antibiyotik diskleri kullanılarak Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleriyle belirlendi.
Bulgular
Pseudomonas aeruginosa suşlarına en etkili antibiyotiklerin %91, %89, %88 duyarlılık oranlarıyla sırasıyla amikasin, tobramisin ve piperasilin/tazobaktam, en dirençli antibiyotiklerin ise %40, %33, %29 direnç oranıyla aztreonam, imipenem ve sefepim olduğu belirlendi.,
Sonuç
Antibiyotik direncinin hastaneden hastaneye değişiklik gösterebilmesi nedeniyle, özellikle ampirik tedavi gereken durumlarda bu tür dirençli bakterilerin duyarlılık oranlarının bilinmesi gereklidir. Hastanemizdeki antimikrobiyal direnç oranlarının belirlenmesiyle, antimikrobiyal tedavilerin bu sonuçlara göre seçilmesi direnç gelişimini önleyecektir.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, Disk difüzyon, Antimikrobiyal duyarlılık

İzolatların klinik örneklerdeki dağılımı

ÖRNEKLER	SAYI n(%)
Deri	47
Yumuşak Doku	30
Solunum Sistemi	15
Kan-Katater	6
Kulak	2
TOPLAM	100

P02- İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ* VE *KLEBSİELLA SPP.* İZOLATLARINDA GENİŞLEMİŞ-SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ DİRENCİNİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE ARAŞTIRILMASI

Ahu Kamburoğlu, Kurtuluş Buruk, Gülçin Bayramoğlu, Yeşim Beşli, Neşe Kaklıkkaya, Faruk Aydın
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) genel popülasyonda yer alan bakteriyel enfeksiyonlardan en yaygın olanı ve en sık hastaneye başvuru nedenlerinden biridir. Morbidite ve mortaliteye sebep olmanın yanı sıra ciddi ekonomik yüke de neden olmaktadır. İYE etkenleri arasında ilk iki sırayı *Escherichia coli (E. coli)* ve *Klebsiella pneumoniae (K. pneumoniae)* almaktadır.
İYE etiyolojisinde dominant rol oynayan gram negatif bakterilerde görülen direnç artışı kaygı vericidir. Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz (GSBL) üreten bakterilerin insidansının artması ile ortaya çıkan çoklu ilaç direnci tedavide sorunlara yol açmaktadır. GSBL tipi enzimlerin plazmidler, transpozonlar ve integronlarla aktarılabilir olması antibiyotik direncinin artışında önemli bir faktör olarak görülmektedir. GSBL üreten suşlar ve dirence neden olan genler, toplumlar ve bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Bir bölgede baskın olarak bulunan GSBL genlerinin bilinmesi, tedavinin planlanmasında ve koruyucu önlemlerin alınmasında yol gösterici olmaktadır. Bu çalışmada idrar örneklerinden izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında GSBL direnç genlerinin dağılımının belirlenmesi amaçlandı.
18 Mayıs-31 Ağustos 2010 tarihleri arasında KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Hasta Hizmetleri Laboratuvarı'na gönderilen 5057 idrar örneği incelendi. Phoenix otomatize sistemde GSBL ürettiği belirlenen 119 *E. coli*, 22 *K. pneumoniae* ve 3 *K. oxytoca*'dan oluşan toplam 144 izolatta polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile β-laktam direnç geni ve integron varlığı belirlendi.
*bla*CTX-M geninin hem *E. coli* (%98.3) hem de *Klebsiella* spp. izolatlarında (%84) baskın olan gen olduğu saptandı. *E. coli* izolatlarının hiçbirinde *bla*SHV rastlanmadı. Bir *E. coli* izolatında araştırılan direnç genlerine rastlanmadı. İki *K. pneumoniae* izolatında aranan 4 genin de var olduğu görüldü.
CTX-M tipi GSBL'nin yayılımı pandemiktir ve günümüzde tüm dünyada olduğu gibi bölgemizdeki *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında da 3.kuşak sefalosporinlere direncin ana sebebi olduğu gösterilmiştir.
Bu çalışma bölgemizde GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*CTX-M ve *bla*OXA gen prevalansının belirlendiği ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Beta Laktamaz, *E.coli*, GSBL, *Klebsiella* spp

Türlere Göre β-Laktamaz Direncinin ve İntegron Varlığının Dağılımı

İzolat (n)	blaTEM n (%)	blaSHV n (%)	blaCTX-M n (%)	blaOXA n (%)	Sınıf 1 integron n (%)	Sınıf 2 integron n (%)
E. coli (119)	73 (61.3)	0	117 (98.3)	70 (58.8)	59 (49.6)	3 (2.5)
K. pneumoniae (22)	5 (22.8)	20 (90.9)	19 (86.4)	8 (36.4)	9 (40.9)	0
K. oxytoca (3)	0	1 (33.3)	2 (66.7)	1 (33.3)	0	0
Klebsiella spp. (25)	5 (20)	21 (84)	21 (84)	9 (36)	9 (36)	0
TOPLAM (144)	78 (54.2)	21 (14.6)	138 (95.8)	79 (54.9)	68 (47.2)	3 (2.1)

P03- OXA-48 KARBAPENEMAZI ÜRETEN BİR *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* İZOLATINA BAĞLI HASTANE SALGINI

Bilge Emine Dikenelli[1], Nur Yapar[2], Nedim Çakır[2], Ülker Uysal[3], Meral Biçmen[1], Zeynep Gülay[1]
[1]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[2]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ABD, İzmir*
[3]*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Kontrol Hemşireliği, İzmir*

Giriş
Son yıllarda, karbapenemazlara bağlı beta-laktam direnci özellikle *Enterobacteriaeceae* üyelerinde artış göstermektedir. Hastanemizde de 2007 yılında bu türlerde hiç direnç görülmezken, 2011 yılında kan kültürlerinden üreyen *K.pneumoniae* 'daki direnç oranları %50'lere erişmiştir.

Amaç
Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversite hastanesinde, Ağustos 2010- Mart 2011 tarihleri arasında, Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesinde OXA-48 karbapenemaz içeren *K.pneumoniae* 'ya bağlı gelişen bir salgın ve bu salgının saptanmasında Mikrobiyoloji Laboratuvarının öneminin anlatılması amaçlanmıştır.

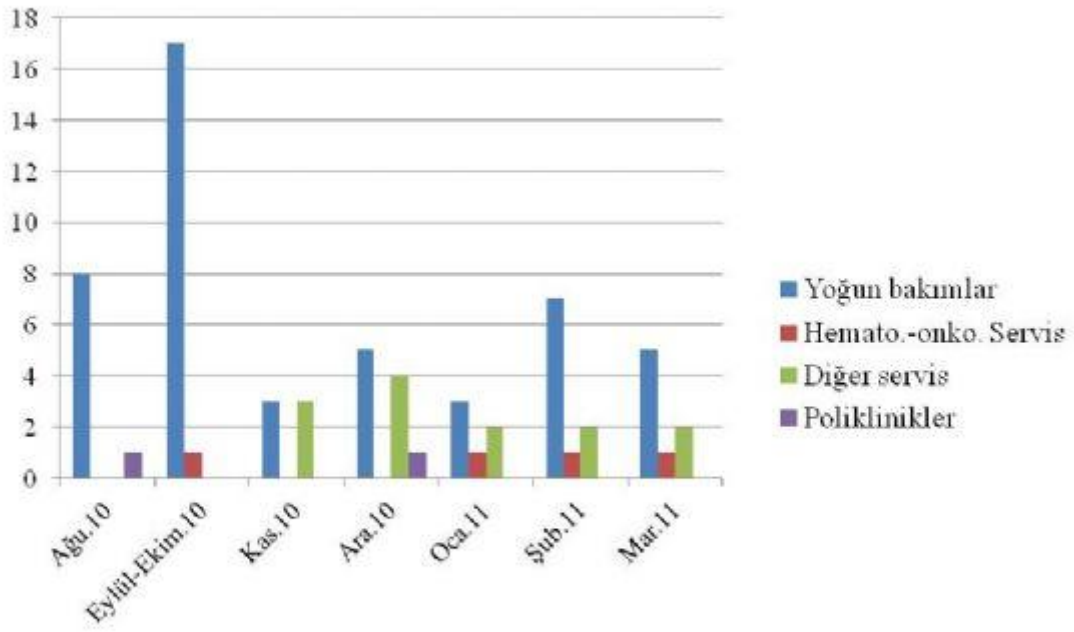
Gereç-Yöntem
Yukarıda belirtilen tarihler arasında, Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerde üreyen ve fenotipik testlerle karbapenem direnci saptanan *K. pneumoniae*izolatlarında artış saptanmıştır. İzolatlara öncelikle karbapenemazların saptanması amacıyla, bla_{KPC}, bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{OXA-48} PZR uygulanmış, daha sonraki aşamada da, özellikle Dahiliye Yoğun Bakım ünitesinde, ardından da hastanenin çeşitli birimlerinde, karbapenem dirençli, OXA-48 içeren *K. pneumoniae* üremelerinde belirgin artış gözlenmesi nedeniyle, olası bir salgının saptanması amacıyla, izolatların klonal ilişkileri PulseNet protokolüne göre, Pulsed Field Jel Elektroforezi (PFGE) yöntemi uygulanarak incelenmiştir.

Bulgular
Ağustos 2010-Mart 2011 tarihleri arasında, toplam 67 adet OXA-48 enzim geni taşıyan *K. pneumoniae* saptandı. Bunların %71.6'sı (n=48) yoğun bakımlarda yatan hastalardan, %6'sı (n=4) Hematoloji-Onkoloji servis hastalarından, %19.4'ü (n=13) diğer servislerde yatan hastalardan, %3'ü (n=2) ise polikliniğe gelen hastalardan izole edilen suşlardı. Yapılan PFGE inceleme sonuçlarına göre, Dahiliye Yoğun Bakım izolatlarının birbiriyle yakın ilişkili olduğu, Çocuk Yoğun Bakım izolatlarının birbiriyle aynı olduğu ve diğer izolatlarla yakın ilişkili olduğu, diğer birimlerde saptanan izolatların ise Erişkin Yoğun Bakım ünitelerindeki izolatlarla yakın ilişkili olduğu saptandı.

Sonuçlar
Ağustos-Ekim 2010 tarihleri arasında elde edilen bulgular neticesinde, saptanan üremelerin bir salgına ait olabileceği düşünüldü. Ek üremelere ait çalışmalar sürerken, bulgular, infeksiyon kontrol yöntemlerinin uygulanması için, İnfeksiyon Kontrol Komitesine bildirildi. Söz konusu birimlerin sorumluları komite tarafından bilgilendirildi. Komitenin salgın durumu incelemeleri sonucu, gerekli temas, izolasyon önlemlerinin alınabilmesi için, tıbbi personelin eğitimleri planlanarak uygulandı, yoğun bakımlarda tıbbi personel ve yardımcı sağlık personelinin sayısının arttırılması, arttırılamıyorsa yoğun bakım kapasitesinin kısıtlanması, yoğun bakım ziyaret saatlerinin kısıtlanması, hatta mümkünse kaldırılması önerildi. Tüm bu süreç neticesinde, Şubat ve Mart 2011 dönemlerinde salgın etkeninin izolasyonunda bir azalma olduğu saptandı.
Sonuç olarak, salgın dönemlerinde, moleküler epidemiyolojik yöntemlerle salgının hızla saptanmasının ve takibinin, infeksiyon kontrol yöntemlerinin uygulanması ve başarıya ulaşmasında son derece önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir.

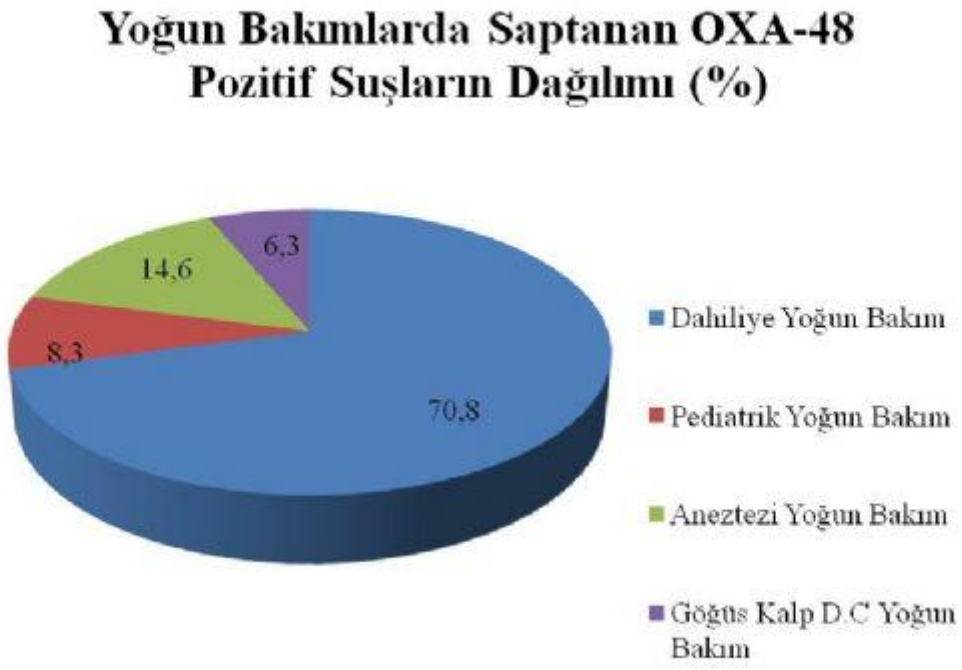
Anahtar Kelimeler: Karbapenemaz, *K. pneumoniae* , OXA-48, salgın

Şekil 1.



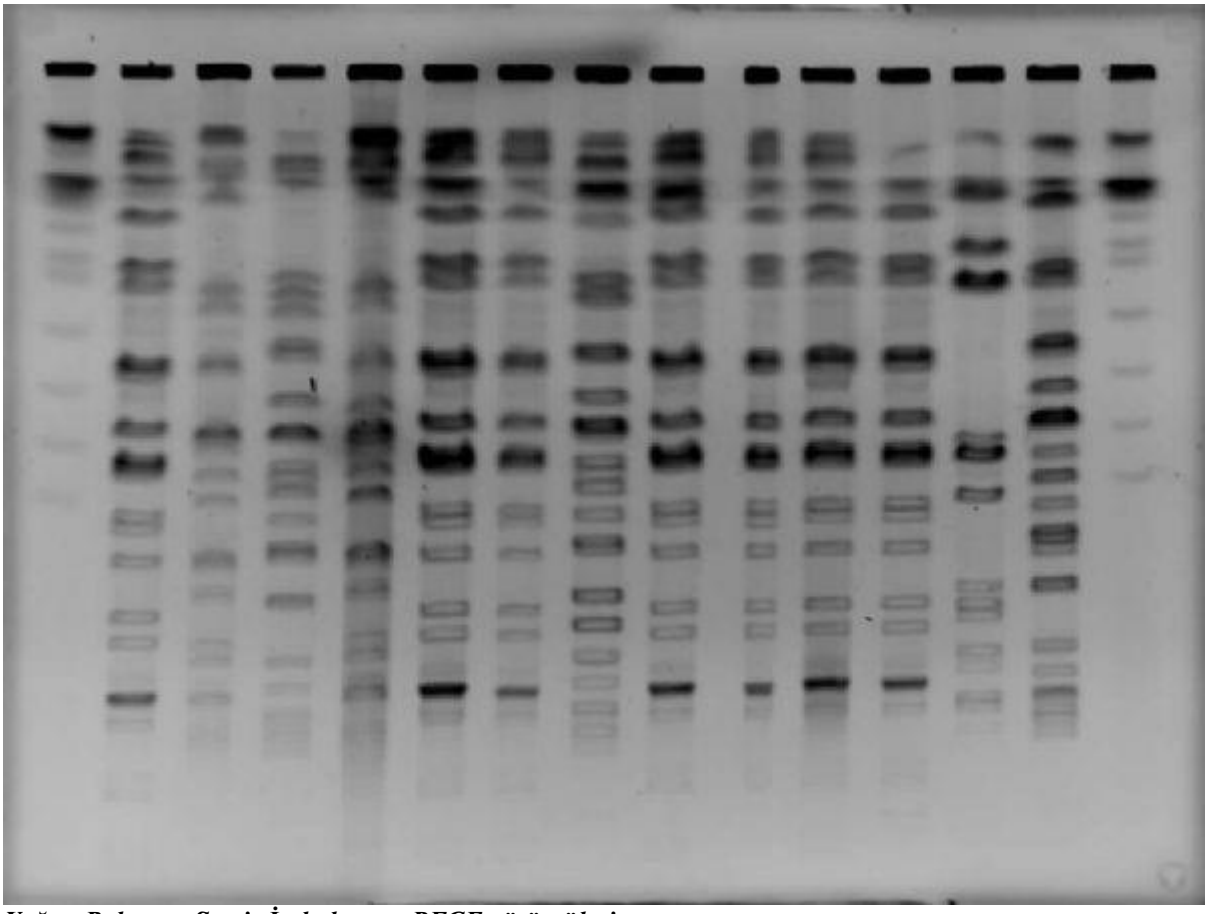
Ağustos 2010-Mart 2011 OXA-48 Pozitif İzolatların Birimlere Göre Aylık Sayısal Dağılımı

Şekil 2.



Yoğun Bakımlarda Saptanan OXA-48 Pozitif Suşların Dağılımı

Şekil 3.



Yoğun Bakım ve Servis İzolatlarının PFGE görüntüleri

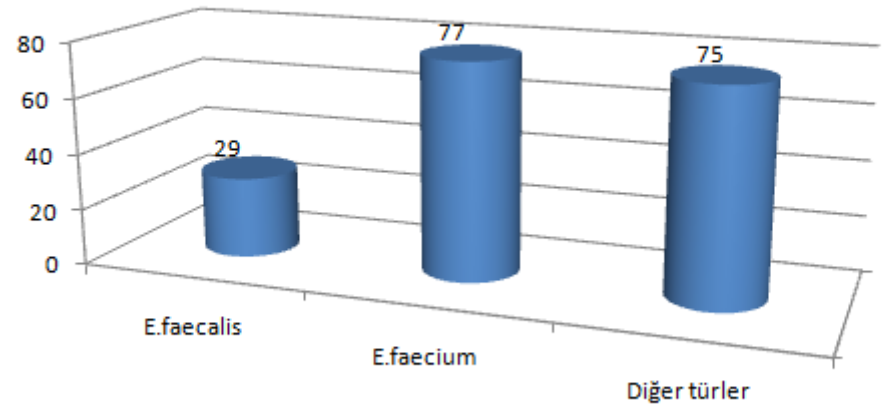
P04 - İDRAR ENTEROKOK İZOLATLARI ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ VİTEK 2 OTOMATİZE SİSTEM İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Sibel Ak[1], Mehmet Köroğlu[1], Muharrem Ak[2]
[1]*Malatya Devlet Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Malatya*
[2]*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği ABD, Malatya*

Amaç
Bu çalışmada idrar örneklerinden izole edilen 118 enterokok suşunun tür düzeyinde tanımlanarak çeşitli antibiyotiklere direnç durumları değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
Tanımlama ve duyarlılık için Vitek 2 otomatize sistemi gram pozitif tanımlama kartları ve antibiyotik duyarlılık kartları kullanılarak elde edilen veriler retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Suşların 88'ini (%74.5) Enterococcus faecalis, 22'sini (%18.6) Enterococcus faecium, 8'ini (%6.9) Enterococcus gallinarum ve Enterococcus durans/hirae oluşturmaktaydı. En sık saptanan türler olan E.faecalis ve E.faecium için direnç oranları sırasıyla, ampisilin için %54.5/%77.2, imipenem için %0/%77.2 siprofloksasin ve moksifloksasin için %18.17/%2.7, linezolid için %10.2/%9.1, ve kinopristin-dalfopristin için %65.1/%5.2 olarak belirlendi. Beta laktamaz üretimi E.faecalis suşlarının 48'inde (%54.5) saptandı. Yüksek güzey aminoglikozit direncine E.faecalis suşlarının %54.5'inde, E.faecium suşlarının %36.3'ünde rastlandı. Çalışılan 118 suşun 5'inde (%4.2) vankomisin direnci görüldü. Vankomisin, teikoplanin ve tigesiklin sırasıyla % 95.8, %97.5 ve %100 duyarlılık oranları ile en etkin antibiyotikler olarak belirlenirken en yüksek direnç oranları ampisilin, siprofloksasin, moksifloksasin ve tetrasiklinde görüldü.
Sonuç
Türler arasındaki direnç profillerinin önemli düzeyde değişiklik göstermesi nedeniyle, izolatların tür tanımlanması yapılmasının tedavinin planlanmasında yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, Enterokok, Vitek 2

Grafik: İki ve daha fazla antibiyotiğe direnç oranları(%)



P05- *ACİNETOBACTER BAUMANNİ* İZOLATLARINDA OXA TÜRÜ DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülşah Aşık, İhsan Hakkı Çiftci, Orhan Cem Aktepe
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Afyonkarahisar

Amaç
Acinetobacter baumannii önemli nozokomiyal infeksiyon etkenlerinden biri olup, karbapenemlerde dahil olmak üzere antimikrobiyal ajanların pek çoğuna direnç göstermektedir. Karbapenemler, ÇİD'ne (çoklu ilaç direnci) sahip suşlar ile oluşan *Acinetobacter* infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir seçenek olarak kabul edilirler ve genişlemiş spektrumlu β-laktamazlar gibi β-laktamaz enzimlerinin çoğundan etkilenmezler. Bununla birlikte OXA (oksasilinazlar) gibi karbapenem hidrolize eden enzimlerin görülmesiyle etkinlikleri giderek azalmaya başlamıştır. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncinin temel sebebi OXA-türü β-laktamazlardır ve bunlardan OXA-51 türevleri, OXA-58 ve OXA-23 en çok görülenidir. Özellikle bu enzimlerin birden fazlasının bir arada olması ÇİD fenotipinin ortaya çıkmasına neden olur. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ve karbapenem direnci değerlendirilmiş, bu dirençten sorumlu olası mekanizmalardan biri olan OXA türü karbapenemazların varlığı araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Temmuz 2008 - Haziran 2009 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Uygulama Hastanesinde, farklı kliniklerden gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen 121 *A. baumannii* suşu bu çalışmaya alınmıştır. İzolatların tümü konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmış, otomatize sistemlerle doğrulanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri otomatize sistemlerle gerçekleştirilmiş ve CLSI kriterleri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Bakterinin DNA'sı ticari kit ile izole edilmiş, konvansiyonel PCR ile *blaOXA* genleri için yapılan optimizasyon çalışmalarını takiben real time PCR ile OXA karbapenemaz enzimlerinden 4 gruba ait (*blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51* ve *blaOXA-58*) genlerin varlığı araştırılmıştır.
Bulgular
Duyarlılık testleri sonucunda, izolatların çoğu kolistin ve tigesiklin dışındaki birçok antimikrobiyal ajana dirençli bulunmuştur. ÇİD suşlarla oluşan infeksiyonlarda genellikle tercih edilen karbapenem grubu antibiyotiklere direnç oranlarının da oldukça yüksek olduğu gözlenmiş ve imipenem direnci %38, meropenem direnci %57 olarak saptanmıştır. Karbapenem direncinden sorumlu OXA türü enzimleri kodlayan genlerden *blaOXA-24* geni izolatların hiçbirinde saptanmazken, tür spesifik *blaOXA-51* geni izolatların tümünde gösterilmiştir. İzolatların %19'unda *blaOXA-58 geni*, %17,4'ünde *blaOXA-23* geni saptanmış ve 12 suşun (%10,1) aynı anda hem *blaOXA-23* hem de *blaOXA-58* genine sahip olduğu görülmüştür.
Sonuç
Yaygın klinik kullanıma sahip olan sefalosporinler, aminoglikozidler, kinolonlar gibi antibiyotiklere direnç oranlarının *A. baumannii* suşlarında oldukça yüksek olduğu, karbapenem direncinin de %48'lere ulaştığı gözlenmiştir. Test edilen her iki karbapeneme de dirençli suşların çokluğunun; hastane ortamında yaygın karbapenem kullanımına bağlı karbapenemaz üretiminden kaynaklanabileceği düşüncesiyle, OXA türü beta laktamaz enzimlerinin varlığı araştırılmış ve direncin temel nedeni olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma hastanemizdeki ilk çalışma olup, *A. baumannii*izolatlarında karbapenem direnci ve epidemiyolojisi ile ilgili yapılacak sonraki çalışmaların öncüsü niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, karbapenem direnci, OXA-türü enzimler

P06- ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İBN-İ SİNA HASTANESİ MERKEZ LABORATUVARI'NDA MART 2009-TEMMUZ 2011 TARİHLERİ ARASINDA KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN GRAM POZİTİF KOKLARIN DAPTOMİSİN DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Duygu Öcal, Ebru Us, Devran Gerçeker
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Daptomisin, gram pozitif bakterilere etkili, insanda kullanılan ilk lipopeptid antibiyotiktir. Güçlü bakterisidal etkiye sahip olan daptomisinin etki spektrumu, dirençli kökenler (metisilin dirençli*Staphylococcus aureus*(MRSA),vankomisin dirençli *S. aureus*(VRSA), vankomisin dirençli enterokok (VRE)) da dahil olmak üzere gram pozitif bakterilerdir. Daptomisin komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, *S. aureus'* un etken olduğu bakteriemiler ve sağ kalp enfektif endokarditi için Food and drug Administration (FDA) onayı almıştır. Çalışmamızın amacı laboratuvarımıza gönderilen örneklerden izole ettiğimiz MRSA, metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA), *Streptococcus pneumoniae* ve enterokok türlerinde daptomisin duyarlılığının araştırılması ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesidir.
Yöntem
Mart 2009-Temmuz 2011 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na kliniklerden gönderilen çeşitli örneklerden (apse, idrar, trakeal aspirat, kan, balgam, plevra, beyin omurilik sıvısı (BOS), bronkoalveolar lavaj, dren, burun sürüntüsü, kulak sürüntüsü, kateter ucu örneği) toplam gram pozitif 107 suş elde edilmiştir. Bu suşların tanımlanmasında ve antibiyotik duyarlılık testlerinin belirlenmesinde Phoenix (Becton Dickinson, ABD) ve Vitek-2 (BioMe´rieux, Fransa) otomatize tanımlama sistemleri ile birlikte konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler kullanılmıştır. Toplam 107 suşun 24 tanesi MSSA (%22.4), 29 tanesi MRSA (%27.1), 49 tanesi enterokok (29'u *Enterococcus faecium* (%27.1), 18'i *E. faecalis* (%16.8), 1'i *E. gallinarum* (%0.9), 1'i *E. casseliflavus* (%0.9)), 5 tanesi *S. pneumoniae*(%4.6)'dır. Bütün suşların daptomisin MİK değerleri E - test yöntemi (BioMe´rieux, Fransa) ile belirlenmiştir.
Bulgular
Elde edilen107 suşun hiç birisinde daptomisine direnç gözlenmemiştir. Daptomisin MİK değerleri MRSA suşlarında 0.094-0.25, MSSA suşlarında 0.064-0.25, *E. faecalis* suşlarında 0.094-0.75,*E. faecium* suşlarında 0.064-4, *E. gallinarum* suşunda 1, *E. casseliflavus* 1.5, *S. pneumoniae* suşlarında 0.047-0.25 arasında tespit edilmiştir. MSSA ve MRSA suşlarının hepsi linezolide duyarlı bulunmuştur. *E. faecium* suşlarının da hepsi linezolide karşı duyarlıdır, 19 tanesi vankomisine dirençlidir. *E. faecalis* suşlarının hepsi vankomisin, linezolid ve teikoplanine karşı duyarlıdır. *S. pneumoniae*suşlarının hepsi vankomisin ve penisiline duyarlıdır.
Sonuçlar
Çalışmamızda MRSA, MSSA, *S. pneumoniae* ve Enterokok türleri arasında daptomisine dirençli suşa rastlanmamıştır. Hastanın klinik durumu da göz önüne alınarak, daptomisin gram pozitif kokların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde farklı bir seçenek olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Daptomisin, enterokok, MRSA, MSSA

Tablo 1 Laboratuvarımıza gönderilen örnekler ve örneklere göre mikroorganizma türlerinin dağılımı

	MRSA	MSSA	E. faecalis	E. faecium	S. pneumoniae	E. casseliflavus	E. gallinarum	TOPLAM
Apse	13	12	2	1	-	-	-	28
İdrar	1	3	11	3	-	-	-	18
Kan	1	4	4	5	2	-	1	17
Rektal Tarama	-	-	-	10	-	1	-	11
Gaita	-	-	-	8	-	-	-	8
Trakeal Aspirat	3	2	-	1	1	-	-	7
Beyin Omurilik Sıvısı	5	-	-	-	-	-	-	5
Balgam	2	-	-	-	2	-	-	4
Kateter	1	-	1	-	-	-	-	2

Dren	1	-	-	1	-	-	-	2
Burun	1	1	-	-	-	-	-	2
Kulak	-	1	-	-	-	-	-	1
Plevra	1	-	-	-	-	-	-	2
BAL	-	1	-	-	-	-	-	1
TOPLAM	29	24	18	29	5	1	1	107

Tablo 2 Örneklerden izole edilen gram pozitif 107 bakterinin tür ve sayı dağılımı

Mikroorganizma Türü	Sayısı (%)
MRSA	29 (27.1)
E. faecium	29 (27.1)
MSSA	24 (22.4)
E. faecalis	18 (16.8)
S. pneumoniae	5 (4.6)
E. gallinarum	1 (0.9)
E. casseliflavus	1 (0.9)

Tablo 3 Örneklerden izole edilen mikroorganizma türleri ve MİK değerleri

MİK Değerleri	MRSA	MSSA	E. faecalis	E. faecium	E. casseliflavus	E. gallinarum	S. pneumoniae	Toplam
0.047	-	-	-	-	-	-	3	3
0.064	-	4	-	2	-	-	-	6
0.094	1	9	1	-	-	-	-	11
0.125	17	9	3	-	-	-	-	29
0.19	9	1	4	-	-	-	-	14
0.25	2	1	6	2	-	-	2	13
0.38	-	-	1	1	-	-	-	2
0.50	-	-	2	1	-	-	-	3
0.75	-	-	1	1	-	-	-	2
1	-	-	-	6	-	1	-	7
1.5	-	-	-	6	1	-	-	7
2	-	-	-	7	-	-	-	7
3	-	-	-	2	-	-	-	2
4	-	-	-	1	-	-	-	1
TOPLAM	29	24	18	29	1	1	5	107

P07- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* İZOLATLARINDA METİSİLİN DİRENCİNİN SAPTANMASINDA PBP2A LATEKS AGLÜTİNASYON, OTOMOTİZE SİSTEM, DİSK DİFÜZYON VE REAL-TİME PCR YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Sinem Kaya, Orhan Bedir, Aylin Üsküdar Güçlü, Abdullah Kılıç, Serhat Duyan, Ahmet Celal Başustaoğlu
GATA Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Staphylococcus aureus kan ve steril vücut sıvısı kültürlerinden sıklıkla izole edilir. Yüksek metisilin direnci nedeniyle ampirik tedavide vankomisin tercih edilmektedir. Gereksiz vankomisin kullanımının önlenmesi için oksasilin direncinin saptanması önemlidir. Metisilin dirençli *S. aureus*(MRSA) izolatlarının büyük çoğunluğu heterojen antimikrobiyal dirence sahiptir ve bu direncin fenotipik ifadesi değişen üreme koşullarına göre (örn; sıcaklık, besiyeri osmolaritesi vs.) farklılık gösterebilmektedir. Dolayısıyla standart mikrobiyolojik metodlar, *S. aureus* izolatlarında metisilin direncinin saptanmasında potansiyel bir problem oluşturabilmektedir. Bu çalışmada *S. aureus* izolatlarında metisilin direncinin saptanmasında kullanılan PBP2A lateks aglütinasyon, otomatize sistem, disk difüzyon ve Real-Time PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemlerinin karşılaştırılması ve bu yöntemler arasındaki uyumun gösterilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
2008-2011 yılları arasında kan, yara ve apse kültürlerinden izole edilen 292 *S. aureus* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Metisilin direncini saptamak için tarama testi olarak CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Sefoksitin 30µg, Oxoid, İngiltere). Tarama testi sonucunda metisilin direnci saptanan izolatlarda, doğrulama testi için Real-Time PCR, PBP2A Lateks Aglütinasyon Testi (Oxoid PBP2' Test Kit, Japonya) ve BD Phoenix (BD Diagnostics, ABD) kullanılmıştır. Real-Time PCR altın standart olarak kabul edilmiştir.
Bulgular
52 *S. aureus* izolatı, disk difüzyon, Real-Time PCR ve PBP2A lateks aglütinasyon test yöntemleriyle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) olarak saptanmıştır. Otomatize sistemle 51 izolatta metisiline direnci saptanmıştır.
Sonuç
S. aureus izolatlarında metisilin direncinin saptanmasında disk difüzyon yöntemi ve PBP2A lateks aglütinasyon testi, altın standart olarak alınan Real-Time PCR ile
%100 uyum göstermiştir, otomotize sistemin ise altın standart Real-Time PCR karşısında sensitivitesinin %98.1, spesifitesinin ise %100 olduğu görülmüştür. Sonuç olarak metisilin direncinin saptanmasında disk difüzyon yönteminin PBP2A lateks aglütinasyon testi, Real-Time PCR ve otomotize sistemler ile karşılaştırıldığında doğru ve güvenilir sonuçlar verdiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: disk difüzyon, *mecA*, MRSA-tarama, PBP2A, *Staphyloccocus aureus*

P08- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Nükhet Kurultay, **Özden Kalaycı**
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

Amaç
Gram negatif basillerde beta laktam antibiyotiklere dirençden genellikle sorumlu olan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL), sefalosporin ve monobaktamları hidroliz eden enzimlerdir. GSBL üreten mikroorganizmalara bağlı infeksiyonlarda tedavi başarısı için rutin laboratuvarlarda bu mikroorganizmaların araştırılması gereklidir. Laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 80 *E. coli* suşunda GSBL varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.01.2011-01.05. 2011 tarihleri arasında yatan hastalardan gönderilen idrar, balgam, yara ve kan örneklerinden üretilen *E. coli* suşlarında GSBL varlığı CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemleri kullanılarak tarama ve fenotipik doğrulama testi yapılarak tespit edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları Phoenix 100 ID/AST otomatize kültür sistemi (Becton Dickinson Co., Sparks, Md) ile tespit edilmiştir.
Bulgular
Çalışmada 45' i idrar, 8' i balgam, 14'ü yara, 13' ü kan örneklerinden izole edilen GSBL pozitif 80 *E. coli* suşunun antibiyotik duyarlılık durumları incelendiğinde, amikasin, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine %100 oranında duyarlılık saptanmıştır. Buna karşın sefotaksim, sefepim, aztreonam ve ampisilin-sulbaktam antibiyotiklerine %100 oranında dirençlilik saptanmıştır. Diğer antibiyotiklere karşı olan duyarlılık yüzdeleri gentamisin % 17.5, ertapenem % 92.5, sefazolin % 1.25, sefoksitin % 66.25, seftazidim % 2.5, piperasilin-tazobaktam % 77.5, trimetoprim-sulfometaksazol % 20, cıprofloksasin % 16.25, levofloksasin % 15 olarak saptanmıştır.
Sonuç
Beta laktam antibiyotiklerin ve inhibitör kombinasyonlarının sık kullanımı, direnç mekanizmalarını ortaya çıkarmakta ve gittikçe artan bir tedavi maliyeti sorununu gündeme getirmektedir. Çalışmamızda; ampisilin-sulbaktam' a duyarlılık saptanmamış, trimetoprim-sulfometaksazol' e karşı dirençlilik oranının yüksek olduğu gözlenmiştir. GSBL direnci ile birlikte kinolon direncinin de birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Çalışmamızda kinolonlara karşı da dirençlilik oranın yüksek olduğu gözlenmiştir. Karbapenem grubu antibiyotikler ise GSBL üreten suşların tedavisinde güvenle kullanılabilecek ajanlardır. Tedavi başarısı açısından antibiyotiklere karşı duyarlılık profillerinin, önerilen standart yöntemlerle araştırılmasının gerekliliği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, *Escherichia coli*, GSBL

İzole edilen GSBL pozitif Escherichia coli suşlarının (n=80) antibiyotik duyarlılık profilleri

Antibiyotikler	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
Amikasin	80 (100)	-
Gentamisin	14 (17.5)	66 (82.5)
Ertapenem	74 (92.5)	6 (7.5)
İmipenem	80 (100)	-
Meropenem	80 (100)	-
Sefazolin	1 (1.25)	79 (98.75)
Sefoksitin	53 (66.25)	27 (33.75)
Seftazidim	2 (2.5)	78 (97.5)
Sefotaksim	-	80 (100)
Sefepim	-	80 (100)
Aztreonam	-	80 (100)
Ampisilin-sulbaktam	-	80 (100)
Piperasilin-tazobaktam	62 (77.5)	18 (22.5)

Trimetoprim-sulfometaksazol	16 (20)	64 (80)
Siprofloksasin	13 (16.25)	67 (83.75)
Levofloksasin	12 (15)	68 (85)

P09- İMİPENEM VE MEROPENEM DUYARLI KLEBSİELLA PNEUMONİAE İZOLATLARINDA OXA-48 VARLIĞI

Aylin Üsküdar Güçlü, Orhan Bedir, Abdullah Kılıç, Ramazan Gümral, Ahmet Başustaoğlu
Gata Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci dış membrandaki porinlerin kaybıyla ilişkili aşırı Amp-C β-laktamaz üretimi ve/veya efflux pompalarının aşırı ekspresyonu gibi mekanizmalarla oluşmaktadır. Ayrıca, bakterilerde karbapenem direnci çoğunlukla β-laktamazlardan kaynaklanmaktadır. Class D OXA β-laktamazlar klavulonik asit ve EDTA ile zayıf inhibe edilen penisilinazlardır ve OXA-48 bu grup içinde önemli karbapenemaz aktivitesine sahip birkaç üyeden biridir ve Türkiye'de ve dünyada karbapenem dirençli K. pneumoniae izolatlarında 2004 yılından beri bildirilmektedir. OXA-48 üreten K. pneumoniae izolatları karbapenemlere yüksek düzey direnç göstermektedirler (MIK=64 mg/L). Bu çalışma, azalmış imipenem ve meropenem duyarlılık değerlerine sahip izolatlarda karbapenemaz aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.
Yöntem
2010-2011 tarihleri arasında, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Bakteriyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 14 K. pneumoniae izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testleri otomatize BD Phoenix sistemi ve konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. CLSI kriterlerine göre disk diffüzyonla ertapenem duyarlılığı <21 veya meropenem duyarlılığı<21mm olan ancak imipenem ve meropeneme duyarlı olarak belirlenmiş 14 K. pneumoniae izolatında karbapenemaz aktivitesinin araştırılmasında Modifiye Hodge testi (MHT) ertapenem diski kullanılarak uygulanmıştır. Ayrıca, imipenem ve meropenem MIK değerleri E-test yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatlarda AmpC beta-laktamaz varlığı sefoksitin diski kullanılarak Boronik Asit testi ile araştırılmıştır. İzolatlarda, metallo-β-laktamaz (MBL) varlığı meropenem ve ertapenem diskleri kullanılarak kombine disk test ve MBL-Etest yöntemleri ile araştırılmıştır. DNA izolasyonu kaynatma yöntemiyle yapılmış ve daha önceden raporlanmış blaOXA-48 gen bölgesine özgü spesifik primer dizisi kullanılarak OXA-48 varlığı PCR analiziyle araştırılmıştır.
Bulgular
Tarama sınırında tesbit edilen 14 K. pneumoniae izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm izolatlar imipenem ve meropeneme duyarlı olarak belirlenmiştir. MIK50 ve MIK90 değerleri imipenem için sırasıyla 1 ve 2, meropenem için 1 ve 3 (mg/L) olarak hesaplanmıştır. İzolatlardan 10 tanesi ertapeneme dirençli; 1 izolat duyarlı ve 3 izolat orta duyarlı olarak saptanmıştır. MHT ile 13 izolat pozitif olarak saptanmıştır. İzolatların hiçbirinde metallo-β-laktamaz ve AmpC aktiviteleri saptanmamıştır. Bir izolat ESBL pozitif bulunmuştur. MHT pozitif saptanan 13 izolatta OXA-48 varlığı saptanmıştır.
Sonuç
Bu çalışma, imipenem ve meropenem duyarlı K. pneumoniae izolatlarının da OXA-48 ürettiğini göstermektedir. Meropenem ve imipenem duyarlı MHT pozitif tüm izolatlarda OXA-48 saptanmıştır. İmipenem ve meropenem duyarlı olarak saptansa da azalmış duyarlılık değerlerine sahip izolatlarda karbapenemaz aktivitesinn araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karbapenemaz, K. pneumoniae, OXA-48

P10- YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA VANKOMİSİN, TEİKOPLANİN VE LİNEZOLİD ANTİBİYOTİKLERİN MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYON DEĞERLERİNİN E-TEST YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ: DÖRT YILLIK İZLEM

Tuğrul Hoşbul, Bayhan Bektöre, Barış Yalçın, Burak Selek, Mustafa Özyurt
Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul

Amaç
Metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA), nedenli enfeksiyonların morbidite ve mortalitesini önlemeye yönelik çalışmalar uzun süredir devam etmekteyse de MRSA halen hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık sorumlu tutulan patojenlerden biridir. Bu patojenin etken olduğu olguların tedavisinde en önemli ve en sık karşılaşılan sorun çoklu antibiyotik direnci ve tedavi seçeneklerindeki kısıtlılıktır. Günümüzde MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptidler ile linezolid gibi oksazolidinon grubu antibiyotikler başlıca tercih edilen tedavi edici ajanlardır. Çalışmamızda hastanemiz MRSA izolatlarının bu antibiyotiklere ait duyarlılık verilerinin, ülkemiz verileri ile karşılaştırmalı olarak analiz edilmesi ve hastanemizde S. aureus suşlarında gelişen direnç trendinin izlenerek MRSA'nın etken olduğu enfeksiyonlarda uygulanacak tedavi yaklaşımına yardımcı olunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışma kapsamına Ocak 2006 – Aralık 2009 tarihleri arasında hastanemiz yatan hastalarına ait klinik örneklerden soyutlanan 138 MRSA izolatı dahil edildi. Aynı hastaya ait tekrar edilen örnekler çalışma dışı bırakıldı. İzolatlar konvansiyonel yöntemler kullanılarak tanımlandı. Tüm suşlarda metisilin direnci "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine göre sefoksitin diski kullanılarak araştırıldı. Vankomisin, teikoplanin ve linezolid minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri CLSI kriteleri dikkate alınarak E-test yöntemi ile belirlendi. Çalışmada S. aureus ATCC 29213 kontrol suşu olarak kullanıldı.
Bulgular
İzolatların %29 (40/138)'u 2006, %21,7 (30/138)'si 2007, %25,4 (35/138)'ü 2008, %23,9 (33/138)'u 2009 yıllarına aitti. İzolatlarının %29,7 (41/138)'si yara yeri, %27,5 (38/138)'i kan, %13 (18/138)'ü balgam, %9,4 (13/138)'ü endotrakeal aspirat, %8 (11/138)'i santral venöz katater, %5,8 (8/138)'i apse, %3,6 (5/138)'sı doku biyopsisi, %2,9 (4/138)'u idrar örneklerinden soyutlanmıştır. İzolatların %52,9 (73/138)'u cerrahi bilimler, %47,1 (65/138)'i dahili bilimler yatan hastalarından izole edilmiştir. Çalışmamızda vankomisine, teikoplanine ve linezolide dirençli MRSA izolatı saptanmamıştır. Dört yıllık periyot bir arada değerlendirildiğinde MİK50 ve MİK90 değerleri vankomisin için 1,5 µg/mI ve 2 µg/mI, teikoplanin için 2 µg/mI ve 4 µg/mI, linezolid için 0,75 µg/mI ve 1 µg/mI olarak bulunmuştur. Yıllar bazında ayrı ayrı yapılan incelemede sadece 2008 yılına ait teikoplanin MIK90 değerinde iki kat bir artış (8 µg/mI) gözlenmiştir.
Sonuç
Özellikle son yıllarda MRSA izolatlarında antimikrobiyallerin yaygın ve uygun olmayan klinik kullanımı nedeniyle pek çok tedavi edici ajana karşı direnç artışı söz konusudur. Hastanemizde yatan hastalardan enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan MRSA izolatlarında vankomisine, teikoplanine ve linezolide direnç saptanmamıştır. Elde ettiğimiz veriler ülkemiz verileri ile uyumlu bulunmuştur. Bulgularımız ışığında MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptid grubu antibiyotiklerin dışında nispeten yeni bir antibiyotik olan linezolidin de in vitro olarak etkin bir antimikrobiyal ajan olduğu gözlenmiştir. MRSA nedenli enfeksiyonların tedavisinde uygun antibiyotiğin seçimi amacıyla yıllara göre direnç gelişiminin takip edilmesinin, klinisyenlerin tedavide akılcı antibiyotik kullanımlarını yönlendirebilmede her zaman önemli olduğu inancındayız.

Anahtar Kelimeler: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus, vankomisin, teikoplanin, linezolid, antimikrobiyal direnç

P11- HASTANEMİZDE ACİNETOBACTER BAUMANNİİ SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

Selma Keleş Uludağ, Asuman Birinci
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,Samsun

Amaç
Bu çalışmada, hastanemizde solunum sistemi örneklerinden izole edilen Acinetobacter baumannii suşlarına karşı Polimiksin B ve Kolistin (Polimiksin E) antibiyotiklerinin aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2010 ve Temmuz 2010 tarihleri arasında %36'sı yoğun bakım, % 28'i göğüs hastalıkları, %12'si kardiyoloji ve %24'ü diğer servislerden olmak üzere toplam 50 A. baumanii suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların %22'si balgam ve %78'i trakeal aspirat örneğinden izole edilmiş olup tanımlanması BD Phoenix (Becton-Dickinson, U.S.A) otomatize sistemiyle,antibiyotik duyarlılıkları CLSI kriterlerine göre sıvı mikrodilüsyon testi ile yapılmıştır. Kalite control suşu olarak E.coli 25922 kullanılmıştır.
Bulgular
Kültürlerinde A.baumannii üreyen 50 hasta değerlendirildiğinde hastaların % 64'ü erkek, % 36'sı kadın ve ortalama yaşları 60.34 olarak bulunmuştur. A. baumanii suşlarında Polimiksin B ve kolistinin duyarlılık durumları Tablo 1' de verilmiştir.
Sonuç
Günümüzde Acinetobacter baumannii suşlarına bağlı olarak oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu çoğul direnç fenotipleri nedeniyle polipeptit yapılı bir antibiyotik olan polimiksinlerin'in önemi artmaya başlamıştır. Çalışmamızın sonucuna göre acinetobacter suşlarında polimiksinlere (Polimiksin E,Polimiksin B) direnç rastlanmamıştır. Acinetobacter baumannii kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde polimiksinlerin uygun bir tedavi seçeneği olacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter baumannii, antibiyotik duyarlılığı, kolistin, polimiksin B

Tablo 1: A. baumannii suşunun izole edildiği örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı (n) / (%)

Klinikler	Örnek Sayısı (n)	Yüzde (%)
Yoğun Bakım Ünitesi	18	36
Göğüs Hastalıkları	14	28
Kardiyoloji	6	12
Dahiliye	3	6
Beyin Cerrahisi	3	6
Acil Servis	1	2
Enfeksiyon Hastalıkları	1	2
Genel Cerrahi	1	2
Hematoloji	1	2
Nöroloji	1	2
Pediatri	1	2

Tablo 2: Ocak - Haziran 2010 Tarihlerinde TAK ve Balgam Örneklerinden İzole Edilen A. baumannii Suşlarında Kolistin ve Polimiksin B MİK Değerleri

	Bölüm Adı	Yaş	Cinsiyet	Örnek Türü	Kolistin MİK (µg/mL)	Polimiksin B MİK (µg/mL)
1	Göğüs Hastalıkları	71	E	Balgam	0.125	0.125
4	Hematoloji	38	E	Balgam	0.125	0.125
5	Pediyatri 5	2	K	Tak	0.125	0.125
19	Yoğun Bakım	29	E	Tak	0.125	0.125
31	Beyin cerrahisi	24	E	Tak	0.125	0.125
32	Yoğun Bakım	62	E	Tak	0.25	0.125
33	Beyin cerrahisi	63	K	Tak	0.125	0.125
34	Yoğun Bakım	42	E	Tak	0.25	0.125
37	Dahiliye	42	E	Balgam	0.125	0.125
39	Göğüs Hastalıkları	87	K	Tak	0.125	0.06
40	Göğüs Hastalıkları	62	E	Balgam	0.25	0.25
41	Göğüs Hastalıkları	63	E	Balgam	0.125	0.25
44	Nöroloji	21	E	Tak	0.125	0.125
45	Yoğun Bakım	88	K	Tak	0.5	0.125
47	Acil	85	E	Tak	0.125	0.06
48	Göğüs Hastalıkları	40	E	Tak	0.06	0.06
49	Yoğun Bakım	68	E	Tak	0.25	0.125
51	Genel Cerrahi	82	K	Balgam	0.5	0.125
52	Yoğun Bakım	61	E	Tak	0.25	0.125
57	Yoğun Bakım	86	E	Tak	0.25	0.125
61	Yoğun Bakım	71	K	Tak	0.125	0.125
62	Yoğun Bakım	69	K	Tak	0.5	0.125
65	Yoğun Bakım	40	E	Tak	0.25	0.125
67	Göğüs Hastalıkları	45	K	Balgam	0.5	0.06
69	Göğüs Hastalıkları	64	E	Balgam	0.5	0.125
70	Göğüs Hastalıkları	68	E	Tak	1	0.125
71	Dahiliye	44	K	Balgam	0.5	0.125
75	Göğüs Hastalıkları	68	K	Tak	0.125	0.125
81	Yoğun Bakım	88	K	Tak	0.25	0.25
85	Enfeksiyon	54	K	Tak	0.25	0.25
88	Göğüs Hastalıkları	62	E	Tak	1	0.25
92	Dahiliye	72	K	Balgam	0.5	0.125
95	Kardiyoloji	68	E	Tak	0.25	0.06
98	Yoğun Bakım	85	E	Tak	0.125	0.125
115	Yoğun Bakım	54	K	Tak	0.125	0.06
116	Göğüs Hastalıkları	47	E	Tak	0.125	0.06
120	Kardiyoloji	69	E	Tak	0.25	0.125
122	Yoğun Bakım	81	E	Tak	0.5	0.50
128	Kardiyoloji	71	K	Tak	0.5	0.125
129	Göğüs Hastalıkları	55	E	Tak	0.5	0.125
131	Beyin cerrahisi	62	E	Tak	0.5	0.25
133	Kardiyoloji	84	E	Balgam	0.5	0.125
138	Yoğun Bakım	53	E	Tak	0.25	0.125
141	Yoğun Bakım	41	E	Tak	0.125	0.06
142	Yoğun Bakım	25	K	Tak	0.125	0.25
144	Kardiyoloji	69	K	Tak	0.5	0.06

Suşların antibiyotiklere duyarlılık durumları

	MİK50 (µg/ml)	MİK90 (µg/ml)	MİK aralıkları (µg/ml)	S (n)	% S
Kolistin	0.25	0.5	0.06 - 1	50	100
Polimiksin B	0.125	0.25	0.06 – 0.5	50	100

S:Duyarlı n:Suş sayısı

P12- P.AERUGİNOSA VE A.BAUMANNİİ SUŞLARINDA DORİPENEM DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Nural Cevahir[1], Suzan Saçar[2], Melek Demir[1], Fatma Ozansoy[1], **Özgür Döne Yiğit[1]**, İlknur Kaleli[1]
[1]*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli*
[2]*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Denizli*

Amaç
Doripenem komplike intra-abdominal enfeksiyonlar ve komplike üriner sistem enfeksiyonlarında kullanımı önerilen karbapenem grubu bir antibiyotiktir. Doripenemin, in- vitro olarak P. aeruginosa ve A. baumannii gibi nonfermentatif gram negatif basillere, Enterobacteriaceae ve Enterococcus faecium ve metisilin dirençli S.aureus dışındaki Gram pozitif bakterilere karşı da etkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan P.aeruginosa ve A.baumannii suşlarının doripeneme duyarlılığının disk difüzyon ve E-test yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden izole edilen 86 P.aeruginosa ve 89 A.baumannii suşu dahil edilmiştir. Suşların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve Vitek2 sistemi kullanıldı. Suşların antibiyotik duyarlılıkları 2011 CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon metodu ile çalışıldı. Suşların doripeneme duyarlılığı disk difüzyon metodu ve E-test yöntemi ile yapıldı.
Bulgular
Suşların karbapenemlere duyarlılığı değerlendirildiğinde; A.baumannii suşlarının 15 (%16.9)'i imipeneme,12 (%13.5)'si meropeneme, 18 (%20.2)'i ise doripeneme duyarlı bulundu. P.aeruginosa suşlarının ise 31(%36.0)'i imipeneme, 28 (%32.5)'i meropeneme, 67 (%77.9)'si doripeneme duyarlı olarak bulundu.
Sonuç
Çoklu dirençli P.aeruginosa ve A.baumannii suşlarına karşı doripenem duyarlılığının imipenem ve meropeneme göre daha iyi olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: A. baumannii, Antibiyotik duyarlılığı, Doripenem, P. aeruginosa

Tablo 1. Doripenemin A.baumannii ve P.aeruginosa suşları için MİK değerleri

SUŞLAR	MİK50(µg/ml)	MİK90(µg/ml)	MİK aralığı (µg/ml)
A.baumannii	4	32	0.03- 256
P.aeruginosa	0.5	4	0.004- 256

Tablo2. A.baumannii ve P.aeruginosa suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları

Antibiyotikler	Acinetobacter baumannii (n=89) n (%)	Pseudomonas aeruginosa (n=86) n(%)
Ampisilin-Sulbaktam	9 (10.1)	-
Piperasilin	8 (8.9)	0 (0.0)
Piperasilin-Tazobaktam	6 (6.7)	43 (50.0)
Seftazidim	4 (4.5)	0 (0.0)
Sefotaksim	6 (6.7)	-
Seftriakson	3 (3.4)	-
Sefepim	5 (5.6)	0 (0.0)
Aztreonam	-	0 (0.0)
Gentamisin	34 (38.2)	33 (38.4)
Tobramisin	44 (49.4)	46 (53.5)
Amikasin	29 (32.5)	50 (58.1)
Siprofloksasin	9 (10.1)	46 (53.5)

Tetrasiklin	10 (11.2)	-
Trimetoprim-Sulfametaksazol	10 (11.2)	-
İmipenem	15 (16.9)	31 (36.0)
Meropenem	12 (13.5)	28 (32.5)

[Sayfa: 13]

[Abstract:0213][PP-013][Kabul:Poster]

Kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üretimi ve antibiyotik duyarlılıkları

Tuba Kayman, Elife Berk
Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri

Amaç: Dolaşım sistemi infeksiyonları, antimikrobiyal ve destekleyici tedavilere rağmen, morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindendir. Bu sebeple kan dolaşımı infeksiyonlarının erken tanısı ve uygun tedavi edilmesi klinik açıdan önemlidir. Etken mikroorganizmaların yıllar içerisinde antimikrobiyallere karşı duyarlılıklarının değişiminin takibinin yapılması, tedavide başarıyı artıracaktır. Pek çok çalışmada *S. aureus* ve *E. coli* dolaşım sistemi infeksiyonlarının en sık görülen etkenlerindendir. Bu çalışmada, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına, yatan hastalardan gönderilen kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz(GSBL) oranlarının ve antimikrobiyal duyarlılıklarının retrospektif incelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem: Çalışmaya Temmuz 2009-Temmuz 2011 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen 76 *E. coli* suşu dahil edilmiştir. Tekrarlayan sonuçların önlenmesi için her hastadan, izole edilen bir suş çalışma kapsamına alınmıştır. Hasta örnekleri otomatize kan kültür sistemiyle (BACTEC 9240, Becton Dickinson, ABD) takip edilmiş, üreme olan örnekler VITEK 2 (Bio Merieux, Fransa) ile identifiye edilmiş ve antibiyotik duyarlılıkları çalışılmıştır.
Bulgular: Suşların GSBL durumlarına göre antibiyotik direnç oranları Tablo'da gösterilmiştir.
GSBL üreten ve üretmeyen gruplar arasında antibiyotik direnç oranları açısından dikkat çekici fark bulunmaktadır. Ülkemizde karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli *E. coli* suşları görülmesine rağmen, hastanemizde kan kültüründen izole edilen *E. coli* suşlarında karbapenem direnci görülmemiştir. Karbapenem grubundan sonra en düşük direnç oranı amikasinde olduğundan ampirik tedavide öncelikle tercih edilmesi uygun olacaktır.
Sonuç: Her hastanenin antibiyotik duyarlılık oranlarının surveyansını içeren epidemiyolojik verilerinin tedavide yol göstereceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, *E. coli*, duyarlılık

Tablo. E. coli suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları [n(%)].

Antibiyotikler	GSBL üreten(n:31)	GSBL üretmeyen(n:45)
Ampisilin	30 (96.7)	26 (57.7)
Amoksisilin/Klavulanik asit	15 (48.4)	6 (13.3)
Gentamisin	13 (41.9)	4 (8.8)
Amikasin	1(3.2)	0 (0)
Seftazidim	29 (93.5)	1 (2.2)
Seftriakson	30 (96.8)	1 (2.2)
Sefepim	26 (83.9)	3 (6.6)
Piperasilin/tazobaktam	17 (54.9)	3 (6.6)
İmipenem	0 (0)	0 (0)
Meropenem	0 (0)	0 (0)
Levofloksasin	26 (83.9)	17 (37.7)
Trimetoprim/sülfametoksazol	22 (71)	15 (33.3)

P14 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ACİNETOBACTER* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Tuba Kayman, Elife Berk
Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri

Amaç
Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex (Acb-complex) suşları, özellikle konak bağışıklığı bozulmuş bireylerde fırsatçı genitoüriner, solunum yolu, yumuşak doku, intrakranial infeksiyonlar ve bakteremi oluşturmaktadırlar. Çoğul dirençli mikroorganizmalar olmaları mortalite oranlarının yüksek seyretmesine sebep olmaktadır. Karbapenemler dahil bir çok antibiyotiğe karşı yüksek direnç oranlarının görülmesi, klinik tedaviyi son derece güçleştirmektedir. Bu sebeple, hastanemizde bakteremi etkeni olarak izole edilen Acb-complex suşlarının antibiyotik direnç oranlarının saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına yoğun bakım üniteleri ve çeşitli kliniklerden Ocak 2009- Temmuz 2011 tarihleri arasında gönderilen kan kültürlerinden otomatize kan kültür cihazıyla (BACTEC 9240, Becton Dickinson, ABD) izole edilen Acb-complex suşlarının antibiyotik direnç oranları retrospektif olarak incelendi. Toplam 85 örnek çalışmaya dahil edildi. İzolatların, tür düzeyinde tiplendirme ve antibiyotik duyarlılıkları için VITEK 2 otomatize sisteminden (Bio Merieux, ABD) yararlanılmıştır. Her hastadan ilk infeksiyon etkeni olarak izole edilen mikroorganizmanın kültür sonucu incelenip, tekrarlayan üreme sonuçları değerlendirme dışı bırakıldı. Sonuçlar yıllara göre incelenip, direnç oranlarındaki değişim araştırıldı. Orta duyarlı bulunan suşlar dirençli olarak kabul edildi.
Bulgular
Suşların direnç oranları tablo'da gösterilmiştir. Acb-complex izolatlarının, test edilen antibiyotiklerin çoğunluğuna hızla ve yüksek oranda direnç geliştirdiği gözlendi. Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı %90'ın üzerinde direnç görülürken, aminoglikozid grubunda daha düşük direnç oranları ve özellikle gentamisine direnç oranında giderek azalma olduğu görüldü. Bu, gentamisinin genel olarak hastanemizde tedavide, daha az tercih edilmesiyle ilgili olabilir. Tigesikline, 2009 yılı olgularında hiç direnç gözlenmezken, 2010 ve 2011 yıllarında tigesikline orta duyarlı suşlar izole edilmiştir ancak bu suşların antibiyotik duyarlılıkları sıvı mikrodilusyonla doğrulanamamıştır.
Sonuç
Antibiyotik direnç oranlarının hastaneden hastaneye farklılık gösterdiği düşünüldüğünde, her hastanenin zaman içinde değişen direnç profillerini takip etmesi etkili tedavi protokollerinin oluşturulmasında önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, Acb-complex, duyarlılık

Tablo. İzole edilen Acb-complex suşlarının antimikrobiyal direnç oranları. * **

ANTİBİYOTİKLER	2009(n:18)	2010 (n:37)	2011(Ocak-Haziran) (n:30)
Amoksisilin Klavulanat	9/10 (90)	35/37 (94,6)	25/26 (96,1)
Amikasin	11/18 (61,1)	19/37 (51,3)	10/30 (66,7)
Seftazidim	16/18 (88,9)	36/37 (97,3)	30/30 (100)
Seftriakson	16/18 (88,9)	37/37 (100)	29/30 (96,7)
Sefepim	15/18 (83,3)	35/37 (91,9)	29/30 (96,7)
Gentamisin	14/18 (77,8)	23/37 (62,1)	15/30 (50)
İmipenem	15/18 (83,3)	32/37 (86,5)	29/30 (96,7)
Meropenem	9/10 (90)	35/37 (91,9)	29/30 (96,7)
Levofloksasin	14/18 (77,8)	35/37 (91,9)	30/30 (100)
TMP-SXT	13/18 (72,2)	33/37 (89,2)	29/30 (96,7)
Piperasilin Tazobaktam	15/18 (83,3)	35/37 (91,9)	29/30 (96,7)
Tigesiklin	0/10 (0)	9/37 (24,3)***	5/30 (16,7)***

Dirençli suş sayısı/ Denenen suş sayısı (Direnç yüzdesi). **Orta duyarlı suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. ***Direnç yüzdelerinin tamamı orta duyarlı suşlardan oluşmaktadır.

P15- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN PSEUDOMONAS AERUGİNOSA SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE METALLO-BETA-LAKTAMAZ ÜRETİMİ

Özlem Bucak, Tekin Taş, Esra Koçoğlu, Şeyda Özsoy
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Bolu

Amaç
Pseudomonas aeruginosa birden fazla antibiyotiğe yüksek oranda direnç gösterebilmekte ve hastanelerde direnç sorunu yaşanan mikroorganizmaların başında yer almaktadır. Bakteri beta-laktamaz üretimi gibi çeşitli mekanizmalarla antibiyotiklere karşı direnç kazanabilmektedir. Bu çalışmada, farklı klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının, çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranları ve imipeneme dirençli olanlarda metallo-beta-laktamaz (MBL) enzim varlığının fenotipik yöntemle belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Mayıs 2010– Haziran 2011 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 94 *P. aeruginosa* suşu değerlendirildi. Suşlar konvansiyonel yöntemlerle ve otomatize sistemle (VITEK 2, bioMerieux, Fransa) tanımlanmış, antibiyotik duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık deneyinde imipeneme dirençli ve orta duyarlı bulunan 25 *P. aeruginosa* suşu MBL enzim varlığı yönünden incelenmiştir. MBL enzim varlığını belirlemek için "imipenem-EDTA çift disk sinerji testi" uygulanmıştır.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen 94 *P. aeruginosa* suşunun 47 (%50)'si balgam, 19 (%20.2)'u idrar, 14 (%14.9)'ü kan, 11 (%11.7)'i yara ve diğer üçü de (%3.2) kateter, asit mayi ve beyin omurilik sıvısı örneklerinden izole edilmiştir *P. aeruginosa* suşlarının % 26.5 (n=25)'i imipenem'e, %14.8 (n=14)'i sefepim'e, %19.1 (n=18)'i seftazidim'e, %10.6 (n=10)'sı Piperasilin/Tazobaktam'a, %24.4 (n=23)'ü aztreonam'a, %5.3 (n=5)'ü amikasin'e, %6.3 (n=6)'ü tobramisin'e ve %11.7 (n=11)'si siprofloksasine dirençli olarak bulunmuştur. İmipenem'e dirençli izolatların çift disk sinerji testi ile %12 (n=3)'sinde MBL enzim varlığı saptanmıştır. Tüm suşlar MBL enzim üretimi açısından değerlendirildiğinde %3.1'inde MBL enzimi saptanmıştır.
Sonuç
Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa* suşlarının imipenem'e karşı direnç oranı %10 ile %57 arasında değişmektedir. Bizim direnç oranımız da % 26.5 olup literatür ile uyumludur. Aktaş ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada amikasin'in duyarlılık oranını %36 olarak bildirmişlerdir. Coşar ve ark. amikasin duyarlılık oranını %89.3, Gültekin ve ark. ise amikasin için % 98, tobramisin için ise % 97 duyarlı bulmuşlarıdır. Biz çalışmamızda tobramisin ve amikasin'in duyarlılık oranlarını sırasıyla %93.7 ve %94.7 olarak tespit ettik. *P. aeruginosa*'ya karşı amikasin ve tobramisinin, imipenemden daha duyarlı olması dikkat çekicidir.
Toraman ve ark. yaptıkları bir çalışmada 407 *P. aeruginosa* suşunun %2.5 (n=10)'inde MBL enzimi ürettiğini tespit etmişler. Fidan ve ark. %5, Altoparlak ve ark. ise %56.8 oranında tespit ederken Gencer ve ark. çalıştıkları suşlarda MBL enzim varlığını tespit edememişler. Bizim çalışmamızda 94 *P. aeruginosa* suşunun %3.1 (n=3)'inde MBL enzim varlığını tespit ettik
Sonuç olarak her hastane kendi antibiyotik duyarlılık profillerini belirlemelidir ve ampirik antibiyotik tedavisine başlarken bunu dikkate almalıdır. *P. aeruginosa*'nın etken olduğu infeksiyonların tedavisinde antibiyogram sonuçlarına göre antiyotik kullanılmalıdır ve imipeneme dirençli bulunan suşlar direnç yayılımını önlemek için MBL varlığı açısından araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik direnci, metallo-beta-laktamaz, *Pseudomonas aeruginosa*

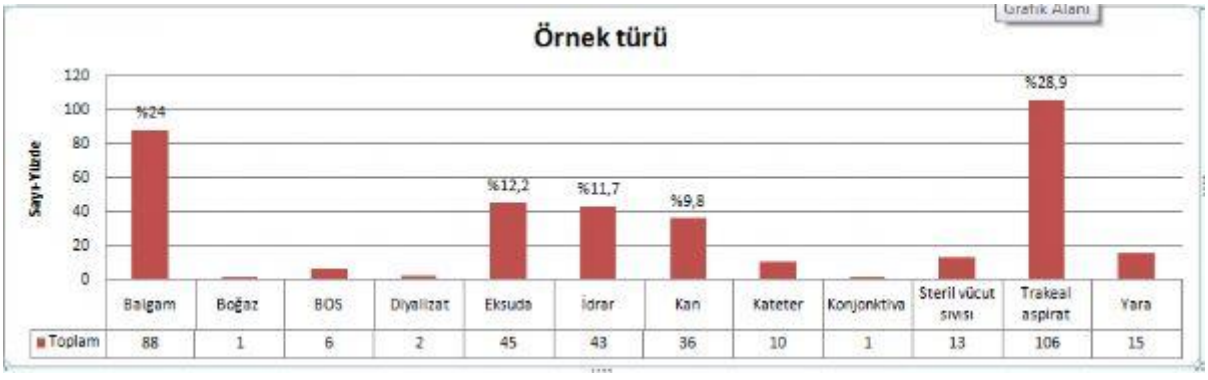
P16 - *STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA* KLİNİK SUŞLARINDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Adil Karadağ, Demet Gür, Murat Günaydın
Ondokuz Mayıs üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun

Amaç
Stenotrophomonas maltophilia son yıllarda giderek artan sıklıkta özellikle hospitalize hastalardan izole edilmekte ve birçok antibiyotiğe karşı da dirençli olması nedeniyle önemi giderek artmaktadır. Bu çalışmada amacımız hastanemiz mikrobiyoloji laboratuarında tanımlanan *S. maltophilia* izolatlarını ve antimikrobiyallere karşı direnç durumunu incelemektir.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Ocak 2006- Temmuz 2011 yılları içinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen *S. maltophilia* izolatları incelenmiştir. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığı Vitek2 Compact (Biomeriux, France) ve Phoenix (BD, USA) cihazlarında yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılığında CLSI tarafından *S. maltophilia*izolatlarında test edilmesi önerilen antibiyotikler olan trimetoprim- sulfametoksazol, levofloksasin ve seftazidim çalışılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen süre zarfında 366 *S. maltophilia* suşu izole edilmiştir. Çalışmamız sonucunda en sık izolasyonun balgam ve trakeal aspirat gibi solunum yolu örneklerinden (% 53,9) olduğu, bunun yanı sıra yara, kan, idrar, beyin omurilik sıvısı, diyalizat, kateter, steril vücut sıvısı gibi farklı örneklerden izole edildiği saptanmıştır. İzole edilen 366 suşun gönderildiği servisler farklılık göstermekle birlikte, en sık yetişkin hastalardan özellikle dahiliye servisinden (% 26,2) izole edildiği görülmüştür. İzole edilen suşların antimikrobiyal direnç oranı; trimetoprim- sulfametoksazol için % 7,1; levofloksasin için % 6,2; seftazidim için %41,5 olarak bulunmuştur.
Sonuç
S. maltophilia'nın özellikle hospitalize hastalarda solunum yolu enfeksiyonları başta olmak üzere enfeksiyon etkeni olabileceği akılda tutulmalıdır. Birçok antimikrobiyal ajana dirençli olması nedeniyle tedavi rejiminin belirlenmesinde antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi de önemlidir. *S. maltophilia* enfeksiyonlarında ilk seçilecek antimikrobiyal olan trimetoprim- sulfametoksazole karşı farklı merkezlerden yüksek direnç oranı bildirilmiş olmasına karşın hastanemiz de izole edilen suşların direnç oranının (%7,1) düşük saptanmış olması olumlu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal direnç, hastane enfeksiyonları, *S. maltophilia*

S. MALTOPHİLİA'NIN İZOLE EDİLDİĞİ ÖRNEK TÜRLERİNİN DAĞILIMI.



P17- EARSS TÜRKİYE VERİLERİ: 2009 YILI

Dolunay Gülmez[1], Deniz Gür[1], Gülşen Hasçelik[1], Çalışma Grubu Earss Türkiye[2]
[1]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara*
[2]*D. Gerçeker, E. Us, Ankara Üniversitesi, Ankara; A. Tünger, Ş. Aydemir, Ege Üniversitesi, İzmir; Z. Gülay, M. Biçmen, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir; Ç. Kayacan, Z. Aktaş, İstanbul Üniversitesi, İstanbul; G. Söyletir, A. İlki, Marmara Üniversitesi, İstanbul; C. Özakın, M. Sınırtaş, Uludağ Üniversitesi, Bursa; B. Sümerkan, D. Perçin, Erciyes Üniversitesi, Kayseri; İ. Tuncer, U. Arslan, Selçuk Üniversitesi, Konya; S. Ay, İnönü Üniversitesi, Malatya; M. Berktaş, M. Parlak, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van; M. Günaydın, Ç. Acuner, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun; A. Başustaoğlu, O. Bedir, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara; N. Aydın, M. Eyigör, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın; G. Bayramoğlu, F. Aydın, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon; M. Z. Bakıcı, C. Çelik, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.*

Amaç
The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Avrupa ülkelerinde 2003 yılından beri yürütülmekte olan geniş çaplı bir sürveyans projesidir. Türkiye 2003 yılından beri bu projeye 16 merkez ile katılmış ve veri yollamıştır. Bu posterde, EARSS'da 2009 yılında toplanan verilerin analizi sunulmaktadır.
Yöntem
Her merkezde kandan izole edilen *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına ait antimikrobik direnç verileri toplanmıştır. *S.pneumoniae* için ayrıca beyin omurilik sıvısı (BOS) izolatları da dahil edilmiştir. Veriler ulusal veri toplama merkezine gönderilmiş, burada kontrol edilerek proje merkezine (National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Hollanda) aktarılmıştır. Aminopenisilinler, aminoglikozitler, üçüncü kuşak sefalosporinler, karbapenemler, makrolidler, florokinolonlar ve glikopeptidlere karşı direnç oranları her merkezin rutinde kullandığı yöntemler ile EARSS protokolüne uyularak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre belirlenmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı CLSI doğrulama testi ile saptanmıştır.
Bulgular
2009 yılı boyunca 16 merkezden 98 *S.pneumoniae*, 1079 *S.aureus*, 644 *E.faecalis*, 500 *E.faecium*, 1593 *E.coli*, 766 *K.pneumoniae* ve 510 *P.aeruginosa* suşuna ait veriler toplanmıştır.*S.pneumoniae*'da kan izolatlarında parenteral penisilin direnci %3,9, oral penisilin direnci %48,1 iken; BOS izolatlarında parenteral penisilin direnci %50,0 bulunmuştur. *S.aureus*'ta metisilin direnci %33,2 olarak saptanmıştır. *E.faecalis*'te vankomisin direncinin %0,3, *E.faecium*'da %6,2 olduğu gözlenmiştir. *E.coli*'de GSBL oranı %43,7 iken, *K.pneumoniae*'da %48,1 olarak belirlenmiştir. Karbapenem direncinin *E.coli*'de %0,1, *K.pneumoniae*'da %2,7 ve *P.aeruginosa*'da %27,2 olduğu görülmüştür.
Sonuç
Ülkemizde invaziv enfeksiyonlara yol açan çeşitli bakterilerde antimikrobiklere direnç oranları yüksek bulunmuştur. Direnç durumunun saptanarak dirence karşı önlem alınması ve klinisyenlere yol göstermesi açısından EARSS gibi geniş çaplı sürveyans programlarına gereksinim vardır.

EARSS Türkiye Çalışma Grubu: D. Gerçeker2, E. Us2, A. Tünger3, Ş. Aydemir3, Z. Gülay4, M. Biçmen4, Ç. Kayacan5, Z. Aktaş5, G. Söyletir6, A. İlki6, C. Özakın7, M. Sınırtaş7, B. Sümerkan8, D. Perçin8, İ. Tuncer9, U. Arslan9, S. Ay10, M. Berktaş11, M. Parlak11, M. Günaydın12, Ç. Acuner12, A. Başustaoğlu13, O. Bedir13, N. Aydın14, M. Eyigör14, G. Bayramoğlu 15, F. Aydın15, M. Z. Bakıcı16, C. Çelik16.
1Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2Ankara Üniversitesi, Ankara, 3Ege Üniversitesi, İzmir, 4Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 5İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 6Marmara Üniversitesi, İstanbul, 7Uludağ Üniversitesi, Bursa, 8Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 9Selçuk Üniversitesi, Konya, 10İnönü Üniversitesi, Malatya, 11Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 12Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 13Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara, 14Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 15Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 16Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, EARSS, sürveyans

Tablo: Türkiye'den katılan merkezlerin listesi

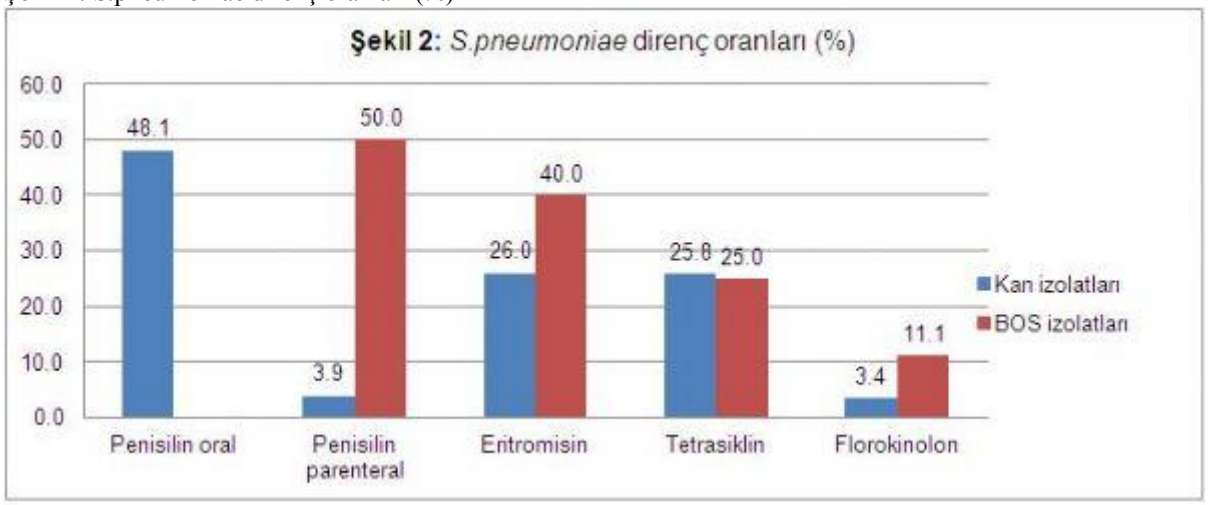
Laboratuvar kodu	Kurum	Şehir
TR001	Hacettepe Üniversitesi	Ankara
TR002	Ankara Üniversitesi	Ankara
TR003	Ege Üniversitesi	İzmir
TR004	Dokuz Eylül Üniversitesi	İzmir

TR005	İstanbul Üniversitesi	İstanbul
TR006	Marmara Üniversitesi	İstanbul
TR007	Uludağ Üniversitesi	Bursa
TR008	Erciyes Üniversitesi	Kayseri
TR009	Selçuk Üniversitesi	Konya
TR010	İnönü Üniversitesi	Malatya
TR011	Yüzüncü Yıl Üniversitesi	Van
TR012	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	Samsun
TR013	Gülhane Askeri Tıp Akademisi	Ankara
TR014	Adnan Menderes Üniversitesi	Aydın
TR015	Karadeniz Teknik Üniversitesi	Trabzon
TR016	Cumhuriyet Üniversitesi	Sivas

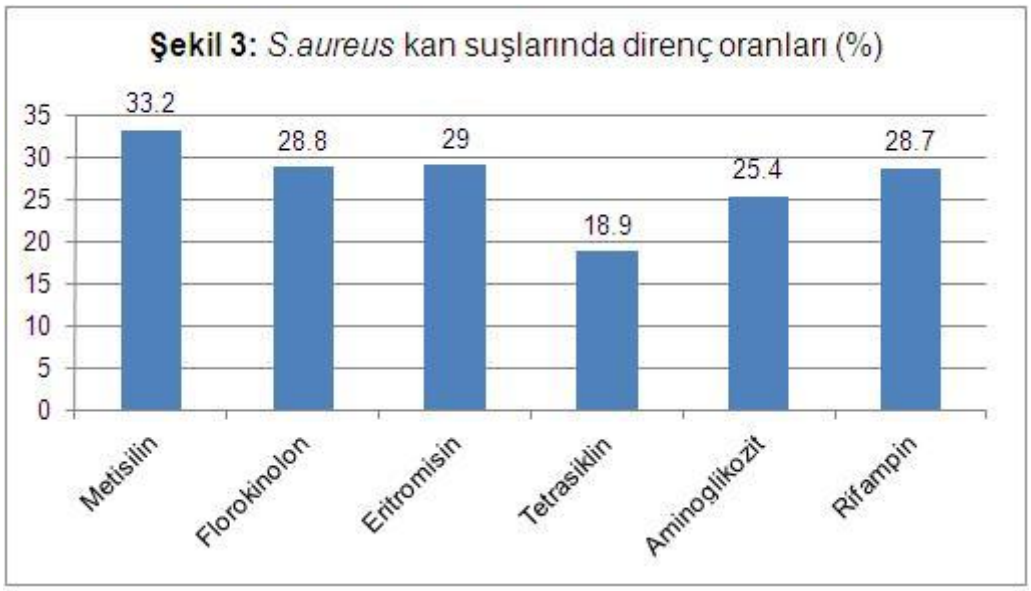
Şekil 1: Katılan merkezlerin coğrafi dağılımı



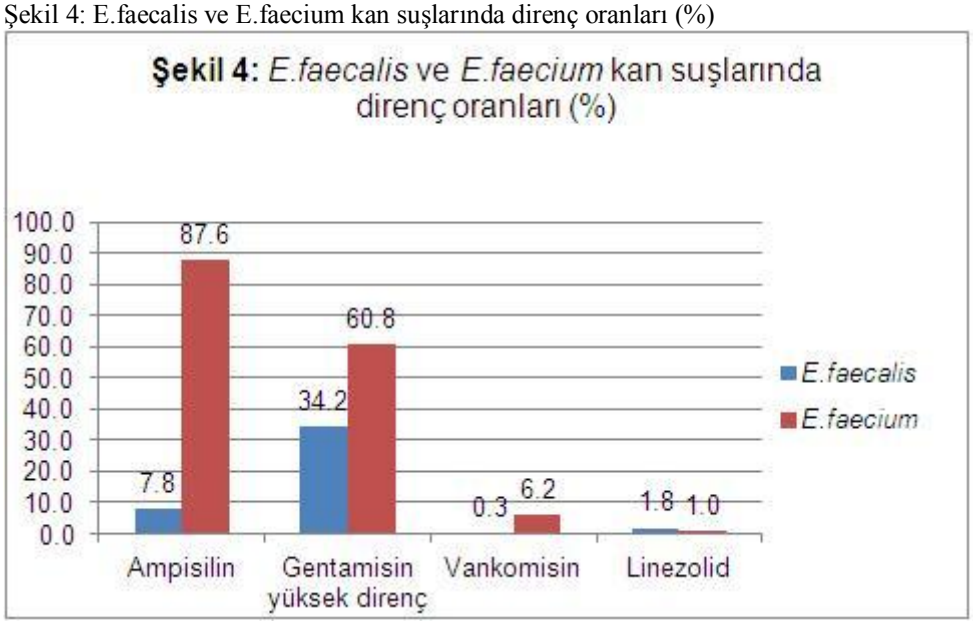
Şekil 2: S.pneumoniae direnç oranları (%)



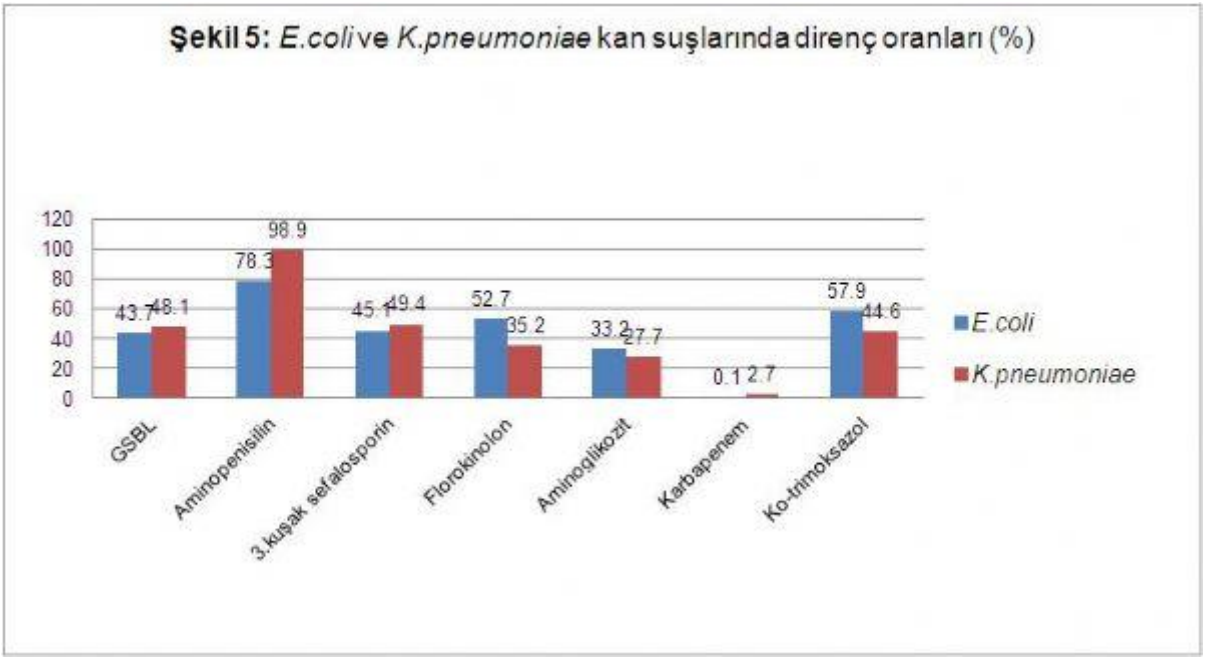
Şekil 3: S.aureus kan suşlarında direnç oranları (%)



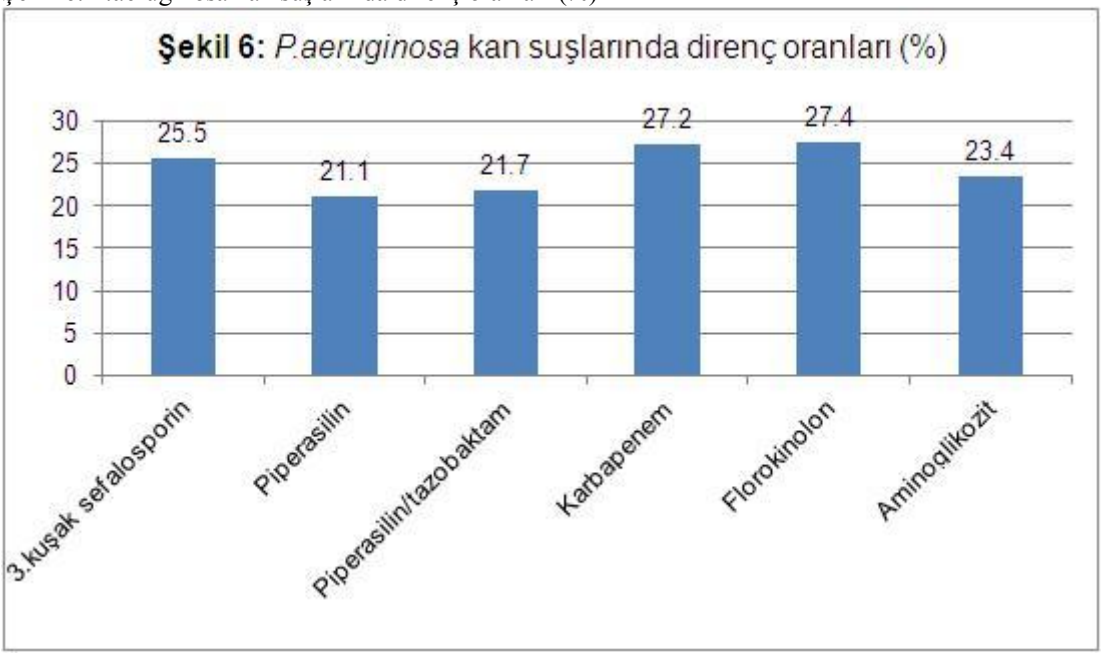
Şekil 4: E.faecalis ve E.faecium kan suşlarında direnç oranları (%)



Şekil 5: E.coli ve K.pneumoniae kan suşlarında direnç oranları (%)



Şekil 6: P.aeruginosa kan suşlarında direnç oranları (%)



P18 - ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA SUŞLARININ DEĞİŞİK DEZENFEKTANLARA DUYARLILIKLARININ İNCELENMESİ

Filiz Demirel Kaya, Nedim Sultan
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Yer yüzey dezenfektanı olarak kullanılan bir kuarterner amonyum bileşiği olan ve hastanemizde yaygın olarak kullanılan Cleanisept sprey ile mukoza-cilt antiseptiği olarak kullanılan ve klorheksidin içeren bir solüsyon olan Savonol'un klinik örneklerden izole edilen 50 Stenotrophomonas maltophilia suşuna karşı etkinliklerinin kantitatif süspansiyon test yöntemi kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gazi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuarı'na farklı poliklinik ve yataklı servis hastalarından gönderilen kan, yara yeri, idrar, balgam ve plevra sıvısı gibi hasta örneklerinden yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonucu Stenotrophomonas olduğu tespit edilen bakteriler çalışmada kullanılmıştır. Stenotrophomonas maltophilia suşlarının dezenfektan duyarlılıklarının araştırılmasında, Avrupa Birliği ülkelerinde bir kimyasal dezenfektanın ya da bir antiseptiğin bakterisidal etkinliğini değerlendirmek için belirlenmiş bir protokol olan "kantitatif süspansiyon test yöntemi" kullanılmıştır.
Bulgular
S.maltophilia izole edilen hastaların %20'si çocuk yoğun bakım, %10'u çocuk onkolojisi ve %10'u erişkin onkolojide yatmaktadır. Toplam 26 hasta (%52) çocuk hastalıkları ile ilişkili bölümlerde yatmaktadır. Buna göre en fazla üremenin pediatri servislerinde olduğu belirlenmiştir.
Çalışmamızda, Cleanisept Sprey'in 1/1'lik kullanım solüsyonu ile birlikte 1/10'luk seyreltilmiş formu test edilmiştir. Çalışılan 50 suşun tamamında Cleanisept Sprey'in kullanım konsantrasyonu (1/1) etkili bulunmuştur ve hiçbir plakta üreme saptanmamıştır. 1/10'luk seyreltilmiş dilüsyonda suşların 5 tanesinde 100-300 cfu/ml üreme saptanmıştır ancak başlangıç konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında bakteri sayısında 5 log.'dan fazla bir azalmada olduğu için 1/10'luk dilüsyon da bütün suşlar için etkili görülmüştür.
Savonol'un üretici firma tarafından 1/30'luk ve 1/100'lük kullanım konsantrasyonları önerilmektedir. Çalışmada bu konsantrasyonlar test edilmiştir. Çalışılan 50 suşun tamamında Savonol'un 1/30'luk kullanım konsantrasyonu etkili bulunmuştur ve hiçbir plakta üreme saptanmamıştır. 1/100'lük dilüsyonda ise suşların 6 tanesinde 100-300 cfu/ml arasında üreme saptanmıştır ancak bu değerler başlangıç konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında bakteri sayısında 5 log.'dan fazla bir azalmada olduğu için 1/100'lük dilüsyon da bütün suşlar için etkili görülmüştür.
Sonuç
Yaptığımız çalışmada Cleanisept Sprey'in 1/1'lik ve 1/10'luk konsantrasyonları test edilmiştir. Bu dezenfektanın farklı sürelerde test edilen her iki konsantrasyonuna karşı incelenen bütün S. maltophilia suşları duyarlı bulunmuştur.
Savonol'un kullanımda olan 1/30'luk ve 1/100'lük konsantrasyonları test edilmiştir. Her iki konsantrasyonda da test edilen süreler içinde incelenen bütün S. maltophilia suşları duyarlı olarak tespit edilmiştir.
Sonuç olarak hastanemizde sıklıkla kullanılan Cleanisept sprey ve Savonol isimli dezenfektanların üretici firmaları tarafından önerilen kullanım konsantrasyonlarında ve temas sürelerinde, çalışılan bütün S. maltophilia suşlarına karşı etkili olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Stenotrophomonas maltophilia, dezenfektan duyarlılık testi, hastane enfeksiyonu

2010 yılı sürveyans verilerine göre Gazi Hastanesi'nde hastane enfeksiyonuna yol açan mikroorganizmaların dağılımı.

İzole Edilen Mikroorganizma	Sayı	%
Acinetobacter spp.	370	23.7
Pseudomonas spp.	222	14.2
E.coli	190	12.2
Klebsiella spp.	144	9.2
KNS	142	9.1
Enterococcus spp.	128	8.2
Candida albicans	116	7.4
Candida non-albicans	85	5.4
Stenotrophomonas maltophilia	40	2.6

P19- BİR EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNDE KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER BAUMANNİİ SUŞLARINDA ANTİBAKTERİYEL DİRENÇ (2008-2010)

Muhammet Güzel Kurtoğlu, Ayşegül Opuş, Meral Kaya, **Recep Keşli**, Asuman Güzelant, Şerife Yüksekkaya
Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

Amaç
Hastanemizde 2008-2010 yılları arasında 27 aylık bir süre içinde çeşitli klinklerde yatan hastalara ait farklı klinik örneklerden izole edilen Acinetobacter baumannii suşlarının tanımlanması, izole edildiği klinik örnekler ve kliniklere göre dağılım oranları ile, test edilen çeşitli antibiyotiklere karşı antimikrobik direnç oranları ve belirlenen direnç oranlarının yıllara göre değişimi araştırıldı. Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tanımlanan Acinetobacter baumannii suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranlarının belirlenmesi, yıllara göre direnç oranlarının karşılaştırılması ve hastanemizden izole edilen Acinetobacter baumannii suşlarına karşı en etkili antimikrobiklerin belirlenmesidir.
Gereç-Yöntem
Steril vücut sıvıları tam otomatik kan kültür sistemi şişelerine (Bactec 9120 Becton Dickinson-BD, Sparks MD, USA), diğer örnekler ise uygun besiyerlerine ekimleri yapılarak 37°C'de inkübe edildi. İzole edilen bakterilerin identifikasyonu ve duyarlılık testleri için konvansiyonel yöntemlerin yanısıra tam otomatik bakteri tanımlama ve duyarlılık sistem panelleri (Phoenix-100, BD, Sparks MD, USA) kullanıldı. Tam otomatik duyarlılık sistemi panellerinde bulunmayan antimikrobiyallerin duyarlılık testleri için ise CLSI kirterlerine göre disk difüzyon yöntemi uygulandı. Disk difüzyon yöntemi duyarlılık test sonuçları yine CLSI kriterlerine göre değerlendirildi. İzole eidlen suşların şu antibiyotiklere karşı direnç oranları araştırlıdı: Amoksisilin klavulanat, sefazolin, sefepim, seftazidim, sefotaksim, sefoksitin, sefoperazon-sulbaktam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, meropenem, imipenem, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kolitsin.
Bulgular
Toplam 20487 klinik örnekten 322 A. baumannii suşu izole edildi. Tanımlanan suşlar en sık olarak Yoğun Bakımdan gönderilen klinik materyallerden (% 65) ve bütün klinik örnekler içerisinde ise en sık olarak balgam örneklerinden (% 42) izole edildi. A. baumannii suşlarına karşı test edilen antibiyotiklerin belirlenen direnç oranları Tablo 1. de verilmiştir (Tablo1). **Sonuç:** Kan kültürlerinden izole edilen Acinetobacter baumannii suşlarına karşı test edilen antibiyotikler arasında en etkili antibiyotiğin kolistin olduğu ve test edilen geniş spektrumlu antibiyotiklerin hemen hepsinde (seftazidim, sefotaksim, sefoperazon-sulbaktam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, meropenem, imipenem, gentamisin, siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kolitsin) yıllar içerisinde A. baumannii suşlarına karşı direnç oranlarında artış olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter baumannii, antimikrobiyal direnç, klinik, yoğun bakım

Tablo 1. 322 A. baumannii suşunun izole edildiği klinik örnekler.

Yıl	Balgam	Yara	İdrar	Kan	Sıvı*	Vajinal sürüntü	BOS	Toplam
2008 (7 ay)	11	19	7	1	0	0	0	38
2009	70	39	18	16	11	2	2	158
2010 (8 ay)	55	32	13	16	10	0	0	126
Toplam (%)	136 (42)	90 (28)	38 (12)	33 (10)	21 (7)	2 (1)	2 (1)	322

**Çeşitli vücut sıvıları.*

Tablo 2. 322 A. baumannii suşunda antibiyotiklere direnç [n (%)]*.

Antibiyotik	2008 n:38	2009 n:158	2010 n:126	Toplam n:322
Amoksisilin klavulanat	36 (95)	139 (88)	115 (91)	290 (90)
Sefazolin	36 (95	138 (87)	115 (91)	289 (90)
Sefepim	36 (95)	139 (88)	117 (93)	292 (91)
Seftazidim	34 (89)	143 (91)	117 (93)	294 (91)
Sefotaksim	35 (92)	147 (93)	121 (96)	303 (94)
Sefoksitin	37 (97)	139 (88)	115 (91)	291 (90)

Sefoperazon-sulbaktam	4 (11)	34 (22)	53 (42)	91 (28)
Piperasilin	34 (89)	142 (90)	115 (91)	291 (90)
Piperasilin-tazobaktam	30 (79)	122 (77)	113 (90)	265 (82)
Meropenem	20 (53)	104 (66)	104 (83)	228 (71)
İmipenem	19 (50)	104 (66)	104 (83)	227 (70)
Amikasin	27 (71)	86 (54)	56 (44)	169 (52)
Gentamisin	33 (87)	131 (83)	114 (90)	278 (86)
Siprofloksasin	33 (87)	136 (86)	115 (91)	284 (88)
Levofloksasin	31 (82)	133 (84)	107 (85)	271 (84)
Tetrasiklin	20 (53)	105 (66)	108 (86)	233 (72)
Tigesiklin	-	19 (12)	26 (21)	45** (16)
Trimetoprim-sulfametoksazol	19 (50)	85 (54)	111 (88)	215 (67)
Kolistin	0 (0)	10 (6)	- -	10*** (5)

Orta duyarlı suşlar dirençli kabul edilmiştir. **2008 suşlarına denenmemiş, 284 suşa göre hesaplanmıştır. *** 2010 suşlarına denenmemiş, 196 suşa göre hesaplanmıştır.

P20- ÜRİNER E.COLİ İZOLATLARININ FOSFOMİSİN TROMETAMOLE VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Zeynep Dansuk, Oğuz Alp Gürbüz, Hakan Saltaş, Gül Erdem, Mustafa Çağatay
Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
İYE'nin (idrar yolu enfeksiyonları) ampirik tedavisinde sık kullanılan TMP-SXT (trimetoprim sulfometaksazol), siprofloksasin gibi antibiyotiklere direncin artmasıyla yeni tedavi seçenekleri önem kazanmıştır. Fosfomisin trometamol son yıllarda çoğul dirençli bakterilerin yol açtığı komplikasyonsuz İYE tedavisinde sık kullanılmaya başlanmıştır.
Bu çalışmada S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli servislerinde yatan ve polikliniklere başvuran hastaların idrar kültürlerinde üreyen Escherichia coli suşlarının fosfomisin trometamol, TMP-SXT, siprofloksasin, nitrofurantoin ve sefotaksim duyarlılıkları ve kombine disk yöntemi ile GSBL (genişlemiş spektrumlu beta laktamaz) oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mayıs-Ağustos 2011 tarihleri arasında hastanemiz Mikrobiyoloji laboratuvarına yatan ve ayaktan hastalardan gönderilen idrar örneklerinden izole edilen 550 E.coli suşu çalışmaya dahil edildi. 105 CFU/ml üzerinde tek tip üremesi olan örnekler konvansiyonel yöntemlerle identifiye edildi. Bu suşların GSBL üretimi ve antibiyotik duyarlılık testleri 2010 Clinical and Laboratory Standarts Institute önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle Mueller Hinton (Plasmetec, UK) agarda yapıldı. Kontrol suşu olarak E.coli ATCC 25922 kullanıldı.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen E.coli suşlarının 18'i (%3.2) fosfomisin trometamole, sekizi (%1.4) nitrofurantoine, 150'si (%27.2) sefotaksime, 204'ü (%37) TMP-SXT'ye, 189'u (%34.3) ise siprofloksasine dirençli olarak saptandı.
Sonuç
İYE'lu hastalarda ampirik tedavisinde sık kullanılan siprofloksasin ve TMP-SXT direncinin yüksek olduğu ve fosfomisin trometamol direncinin halen düşük olmakla beraber önceki yıllarda yapılan çalışmalarla kıyaslandığında direnç oranının yükselmesinin artan fosfomisin trometamol kullanımına bağlı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: E.coli, fosfomisin trometamol, idrar kültürü

P21- HİGH PREVALENCE OF NALİDİXİC ACİD RESİSTANT SALMONELLA ENTERİCA STRAİNS İSOLATED FROM PEDİATRİC PATİENTS İN TEHRAN, IRAN

Reza Ranjbar
Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background and Objective
Antibiotic resistance causes significant therapeutic problems in the treatment of diseases caused by Salmonell spp. In recent years resistance to quinolones among Salmonella spp. have increased. The aim of this study was to determine the frequency of resistance against nalidixic acid resistance among Salmonella enterica isolated in Tehran, Iran.
Material-Methods
The study included all Salmonella isolates recovered from patients with Salmonella infections hospitalized in several hospitals in Tehran during 2007-2009. The isolates were identified by standard biochemical and serological tests. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute. Statistical comparisons were made using Pearson $\chi 2$ test or the Fisher's exact test. A $P<=0.05$ was intended as the level of statistical significance.
Results
More than 89 (64%) isolates were resistant to nalidixic acid. The percentage of isolates resistant to nalidixic acid was 59% in 2007, 64% in 2008, and 67% in 2009.
Conclusion
Nalidixic acid resistance is increasing among S. enterica isolates in Tehran. It may be due to inappropriate and incorrect administration of antimicrobial agents in empiric therapies. This problem indicates importance of performing antibiotic susceptibility testing before blind antibiotic therapy.

Anahtar Kelimeler: Quinolone, Salmonella enterica, antimicrobial resistance, nalidixic acid

P22- FİRST REPORT OF ESBL PRODUCİNG SHİGELLA SONNEİ İN IRAN

Reza Ranjbar[1], Farzaneh Mirsaeed Ghazi[2], Giovanni M. Giammanco[3], Aurora Aleo[3], Shohreh Farshad[4], Parviz Owlia[5], Caterina Mammina[3]
[1]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Department of Biochemistry, Payam Noor University, Tehran, Iran*
[3]*Department of Sciences for Health Promotion ''G. D'Alessandro'', University, Palermo, Italy*
[4]*Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*
[5]*Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran*

Introduction
The infections caused by Shigella species remain a major cause of diarrheal disease associated with high morbidity and mortality in developing countries such as Iran. Third-generation cephalosporins are used to treat infections caused by multidrug-resistant (MDR) Shigella, but resistance to these antibiotics due to extended-spectrum β-lactamases (ESBLs), is emerging as a new problem. This study was carried out to identify and characterize β-lactamase producing Shigella strains in Tehran, Iran
Methods
We screened all Shigella isolates recovered from pediatric patients aged less than 12 years and admitted to a major children hospital in Tehran, Iran, from 2008 to 2010. Bacterial identification, antimicrobial susceptibility testing, extended spectrum β-lactamases (ESBLs) screening and confirmatory tests were performed according to the standard guidelines. Conjugal transfer experiments and plasmid analysis were also carried out. Polymerase chain reaction and sequencing were used to identify the genetic determinants responsible for ESBL production.
Results
Three Shigella sonnei strains out of 55 Shigella isolates showed an ESBL-positive phenotype. By PCR and sequencing, one S. sonnei isolate tested positive for the CMY-59 gene, while the other two S. sonnei tested positive for the blaTEM-1 and blaCTX-M-15 genes.
Conclusion
This study reports for the first time the emergence of ESBL-producing Shigella sonnei in Iran.

Anahtar Kelimeler: Shigella spp., Extended spectrum beta-lactamase (ESBL), Resistance; CMY-59, CTX-M-15

P23- THE STUDY OF PREVALENCE AND ANTİBİOTİC RESİSTANCE OF SALMONELLA SPP. İSOLATED İN TEHRAN, IRAN

Reza Ranjbar[1], Caterina Mammina[2]
[1]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Department of Sciences for Health Promotion ''G. D'Alessandro'', University, Palermo, Italy*

Introduction
Salmonella spp. is an important cause of infection in both human and animals. The present study was conducted to document the prevalence and antibiotic resistance patterns among Salmonella strains isolated in Tehran, Iran over a 2-year period.
Material-Methods
Salmonella strains were isolated and identified by standard microbiological methods. The susceptibility of the isolates to 22 antibiotics was determined according to clinical and laboratory standards institute (CLSI) guidelines.
Results
The most of Salmonella strains were isolated from stools and were belonged to 14 different serotypes, however serotype Enteritidis was the most prevalent (41.3%) followed by serotypes Infantis (29%) and Typhimurium (15.2%). The most frequent resistances were to doxycycline (67.4%), nalidixic acid (63.7%), tetracycline (50%) and streptomycin (42%) while resistance to amikacin, ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, ceftizoxime, ceftriaxone, cephalothin, chloramphenicol, ticarcillin, and tobramycin was very low. All isolates were fully susceptible to gentamicin, imipenem and ciprofloxacin.
Conclusion
To the best of our knowledge this is the first comprehensive study of its kind to be carried out in Irarn. Fourteen non-typhoidal Salmonella serotypes accounted for pediatric Salmonellosis in Tehran, Iran between November 2006 to October 2008. The most prevalent serotypes were Enteritidis, Infantis and Typhimurium which accounted for approximately 85.5% of all isolates in the study. Simillar distribution ptterns have been reported in other developing countries as well as the United States of America.

Anahtar Kelimeler: Salmonella spp., Antibiotic resistance, serotype distribution

P24 - GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETEN *ESCHERİCHİA COLİ* SUŞLARINDA CTX-M ENZİMLERİNİN GENOMİK DEĞERLENDİRİLMESİ VE PLAZMİD TRANSFORMASYONU YOLUYLA AKTARIMININ İNCELENMESİ

Özlem Ünaldı[1], Meltem Yalınay Çırak[2]
[1]*Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*
[2]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD , Ankara*

Amaç
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran hastalardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığının araştırılması, CTX-M gen bölgesinin genomik incelenmesi ve CTX-M pozitif bulunan suşlarda direncin aktarılabilirliğinin araştırılması.
Gereç-Yöntem
Ocak 2003 - Mayıs 2008 tarihleri arasında gönderilmiş 113'ü yatan hastalardan ve 167'si poliklinik hastalarından izole edilmiş ve GSBL üretemi gösterilmiş toplam 280 *E. coli* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların antibiyotik duyarlılık profilleri ve çift disk sinerji testi ile GSBL üretimlerinin doğrulanması Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) kriterlerine göre yapılmıştır. CTX-M geninin varlığı CTX-M.F 5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3' ve CTX-M.R 5'-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3' primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılmış ve pozitif bulunan suşlar CTX-M alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla dizi analizine alınmıştır. PZR sonucu pozitif bulunan suşlardan plazmid izolasyonu yapılmış ve izole edilen plazmidler standart *E.coli* JM109 suşuna transforme edilmiştir. Direncin aktarılıp aktarılamadığını göstermek amacıyla transformantlarda PZR yöntemi ile CTX-M geni araştırılmıştır.
Bulgular
Test edilen 280 suşun antibiyotiklere direnç oranları sırasıyla sefalotin %89.0, amoksisilin/klavulonik asit %79.7, siprofloksasin %71.1, trimetoprim/sulfametaksazol %67.3, aztreonam %65.2, seftriakson %62.2, gentamisin %42.0, sefepim %36.5, seftazidim %26.8 ve piperaslin/tazobaktam %5.0 olarak bulunmuştur. Tüm suşlar imipenem duyarlı, ampisiline dirençli bulunmuştur. GSBL üretimi gösterilen 280 *E. coli* suşunun 205'inde (%73,2) PZR ile 544bp uzunluğunda amplikonlar elde edilmiş ve CTX-M geni pozitif olarak değerlendirilmiştir. Dizi analizi sonuçlarına göre 205 suşun %89,2'sinin CTX-M-15, %6,8'inin CTX-M-1, %3,4'ünün CTX-M-3 ve %0,4'ünün CTX-M-33 tipi ile %99 uyumluluk gösterdiği saptanmıştır. Yıllara göre CTX-M tiplerinin dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.
Sonuç
PZR ile 280 suşun 205'i CTX-M pozitif bulunmuş ve CTX-M-15 (89.2%) dizi analizi ile en baskın genotip olarak belirlenmiştir. Pozitif bulunan örneklerin %67,8'i poliklinik hastalarından ve %32,2'si yatan hastalardan izole edilmiştir. CTX-M pozitif bulunan 205 suştan plazmid izolasyonu ve transformasyon ile direncin aktarılabilirliği incelenmiş ve 169 transformant PZR ile CTX-M pozitif bulunmuştur. Bu suşlarda direncin plazmidler üzerinde taşındığı gösterilmiştir. Özellikle bu gruptaki GSBL'ler plazmidler üzerinde beta-laktam antibiyotiklerin yanısıra pek çok antibiyotiğe karşı direnç genlerini de taşımaktadır. Bu nedenle, sadece hastane kaynaklı değil, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda da gerekli korunma ve kontrol önlemlerinin alınması, tedavide uygun antimikrobiyal seçimine yön verebilmesi açısından bu gibi çalışmalara gerek duyulmaktadır. CTX-M pozitiflik oranı 2003 yılında %35,8 iken 2008 yılında bu oranın %92,7'ye çıktığı görülmüştür. 2008 yılında izole edilmiş bir suşta CTX-M-33 tipi enzimin bulunması son yıllarda CTX-M grubu enzimlerin çeşitlerinin artabileceğini, moleküler çalışmalarının desteğini alarak hastanemizde daha etkili bir korunma ve kontrol önlemlerinin alınması gerekliliği ortaya konulmuştur. Sonuç olarak dünyada olduğu gibi ülkemizde de CTX-M tipi GSBL'lerin prevalansı yüksektir ve sonuçlarımıza göre CTX-M grubu GSBL'ler giderek yaygınlaşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: CTX-M, *Escherichia coli*, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, plazmid

Tablo 1: Yıllara göre CTX-M tiplerinin dağılımı

Yıl (suş sayısı)	CTX-M tipi (suş sayısı)
2003 (19)	CTX-M-15 (19)
2004 (22)	CTX-M-15 (17) CTX-M-3 (2) CTX-M-1 (3)
2005 (20)	CTXM-15 (17) CTX-M-3 (2) CTX-M-1 (1)
2006 (13)	CTX-M-15 (13)

2007 (67)	CTX-M-15 (63) CTX-M-3 (2) CTX-M-1 (2)
2008 (64)	CTX-M-15 (54) CTX-M-3 (1) CTX-M-1 (8) CTX-M-33 (1)
Toplam (205)	CTX-M-15 (183) CTX-M-3 (7) CTX-M-1 (14) CTX-M-33 (1)

P025- GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ POZİTİF *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* VE *ESCHERİCHİAE COLİ* 'LERİN ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ DURUMU

Ayşegül Öztürk, Ayşe Esra Karakoç, Ali Kudret Adiloğlu, Rukiye Berkem, Hünkar Şahin
S.B.Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü,Ankara

Amaç
Enterobacteriaceae ailesinde *K.pneumoniae* ve *E.coli* 'lerde GSBL yapımı sıkça gözlenmektedir. Bu bakteriler nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında sıkça izole edilirken ayaktan hastalarda da çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadırlar.Bu çalışmada klinik mikrobiyoloji labaratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen ve otomatize sistemle GSBL(+) olduğu saptanan suşların çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Haziran 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında S.B.Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen,GSBL(+) olduğu saptanan 200 *E.coli* (107 orta akım idrarı,37 sonda idrarı,38 yara,3 periton sıvısı,10 kan,1 plevra aspiratı,2 trakeal aspirat,1 kornea sürüntüsü,1 kateter) ile 50 *K.pneumoniae* (12 orta akım idrarı,8 sonda idrarı,7 trakeal aspirat,10 kan,8 kateter,4 yara,1 periton sıvısı) çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için CLSI'ın (Clinical Laboratuary Standarts Institute) önerileri doğrultusunda VITEK2 Compact(Biomerieux,France) otomatize sistemi kullanılmıştır.
Bulgular
Direnç oranları 200 *E.coli* suşunda amoksisilin/klavulanik asit %90,sefoksitin%33,seftazidim %80,seftriakson %80,sefepim %85,ertapenem %5, meropenem %1,imipenem %1,amikasin %10,gentamisin %27,siprofloksasin %55,levofloksasin %55,trimetoprim/sulfametoksazol %70 ve 50 *K.pneumoniae* suşunda amoksisilin/klavulanik asit %80,sefoksitin%30,seftazidim %90,seftriakson %84,sefepim %74,ertapenem %15, meropenem %4,imipenem %4,amikasin %6,gentamisin %32,siprofloksasin %74,levofloksasin %74,trimetoprim/sulfametoksazol %84 olarak tespit edilmiştir.
Sonuç
Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten bakteriler sıklıkla çoklu direnç gösterdiklerinden bu izolatlarda antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçlarının takip edilmesi önemlidir.Hastanemizde beta laktamaz inhibitörlerine direnç oranları yüksek olup,bu hastaların tedavisinde birinci seçenek ilaçlardan karbapenemlere ve diğer antibiyotik sınıflarına direnç oranlarının takip edilmesine ve bakteriler arasında transfer edilebilen diğer beta laktam direnç mekanizmalarının araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik, direnç, GSBL

GSBL pozitif E.coli direnç yüzdeleri

Kaynak	Yılı	Suş sayısı	Amoksisilin/Klavulanik asid	Sefoksitin	Seftazidim	Seftriakson	Sefepim	Ertapenem	Meropenem	İmipenem	Amikasin	Gentamisin	Siprofloksasin	Trimetoprim/Sulfometoksazol
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 13(4) 249-252 (2006) Yetkin ve ark.	2006	144	%100	%45	%100	-	%100	-	-	%0	%3	%46	%79	%63
ANKEM Derg 2007;21(3):155-	2007	193	%100	%9	-	-	-	-	-	%1	%3	%46	%77	%73

160 Güdücüoğlu ve ark.														
Çalışmamızda	2011	200	%90	%33	%80	%80	%85	%5	%1	%1	%10	%27	%55	%70

Farklı çalışmalardaki GSBL pozitif bulunan E.coli direnç yüzdeleri kendi çalışmamız ile karşılaştırılmıştır.

GSBL pozitif K.pneumoniae direnç yüzdeleri

Kaynak	Yılı	Suş sayısı	Amoksisilin/Klavulanik asid	Sefoksitin	Seftazidim	Seftriakson	Sefepim	Ertapenem	Meropenem	İmipenem	Amikasin	Gentamisin	Siprofloksasin	Trimetoprim/Sulfametoksazol
İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 2007; 21 (1): 33-38 Işık ve ark.	2007	87	%92	-	-	-	-	-	-	%0	%27	%69	%53	%62
ANKEM Derg 2007;21 (3):155-160 Güdücüoğlu ve ark.	2007	75	%100	%7	-	-	-	-	-	%0	%7	%53	%16	%66
Çalışmamızda	2011	50	%80	%30	%90	%84	%74	%15	%4	%4	%6	%32	%74	%84

FARKLI ÇALIŞMALARDAKİ GSBL POZİTİF BULUNAN K.PNEUMONİAE'LARIN DİRENÇ YÜZDELERİ KARŞILAŞTIRILMIŞTIR.

P26- ULUSAL ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ SÜRVEYANS SİSTEMİ ANKET ÇALIŞMASI

Ayşegül Gözalan[1], **Nilay Çöplü[1]**, Dilber Aktaş[1], Hüsniye Şimşek[1], Gül Bahar Erdem[2], İpek Mumcuoğlu[3], Uamdss Bilimsel Kurulu[4]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[2]*Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara*
[3]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara*
[4]*UAMDSS Bilimsel Kurulu*

UAMDSS Bilimsel Kurulu; Şöhret Aydemir, Gülçin Bayramoğlu, İsmail Ceyhan, Rıza Durmaz, Mustafa Ertek, Berrin Esen, Mete Eyigör, Zeynep Gülay, Deniz Gür, Nezahat Gürler, Ufuk Hasdemir, Ahmet Müezzinoğlu, Cüneyt Özakın, Duygu Perçin.

Amaç
"Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği" (30.05.2007 tarih ve 26537 sayılı RG-Madde 13/1) gereği, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı koordinasyonunda UAMDSS (Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi) kurulması çalışmaları başlatılmıştır. Bu kapsamda UAMDSS'ne dahil olacak katılımcı laboratuvarların belirlenmesinde, güvenilir veri sağlayabilenler arasından ülkeyi temsile yakın bir örneklem oluşturabilmek amacıyla bir anket çalışması yapılmıştır.

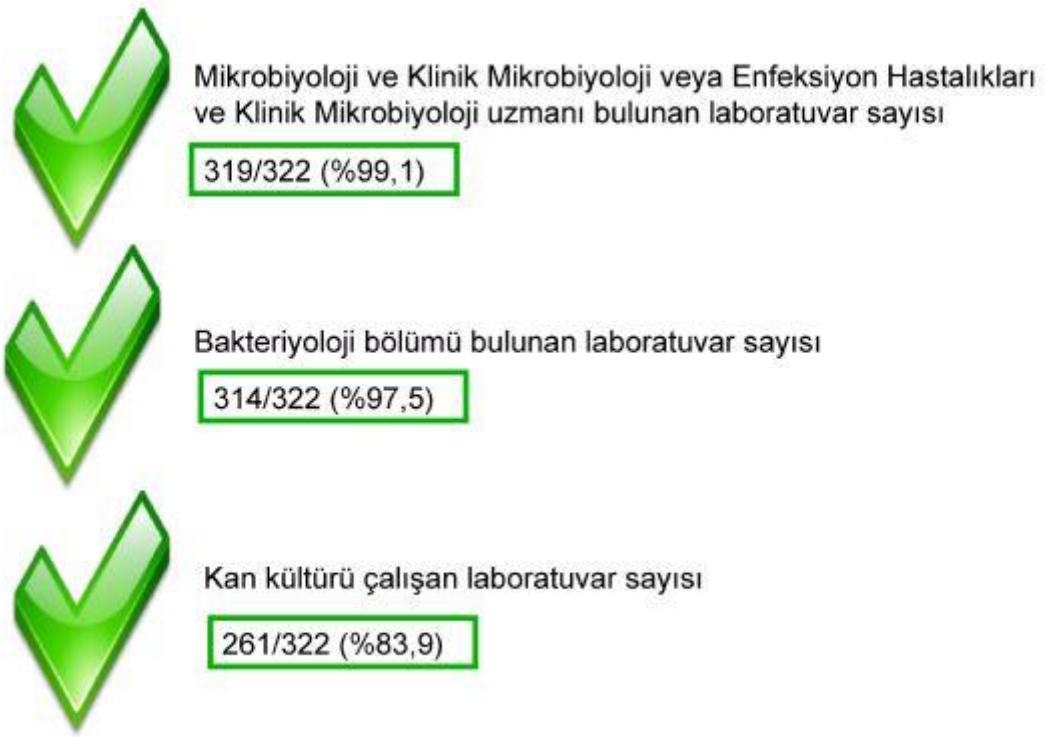
Gereç-Yöntem
ADT (Antibiyotik Duyarlılık Testleri) konusunda laboratuvarların kapasitesini değerlendirmeye yönelik olarak hazırlanan anket formları 2010 yılında, kamuya bağlı olup TC Sağlık Bakanlığından uzman doktor bulunduğu bilgisine ulaşılmış 354 Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Anket formu; laboratuvarda çalışan personelin unvan ve sayısı, ADT uygulayan personel sayısı, belirtilen mikroorganizmalar için ortalama aylık uygulanan ADT sayısı, klinik örneklerden hangi mikroorganizmalara ADT uygulandığı, ADT uygulaması, sonuçlarının değerlendirilmesi ve rapor edilmesi bilgilerini içeren 90 sorudan oluşmaktadır. Anket sonuçları SPSS (Windows, versiyon 18,0) istatistik programı kullanılarak ve verilerin skoru gözetilerek değerlendirilmiştir.

Bulgular
Anket gönderilen merkezlerin 322'sinden (%91,0) cevap alınmıştır. Cevap veren merkezlerin dağılımı; i) devlet hastanesi (%70,5), ii) eğitim ve araştırma hastanesi ve (%16,5) iii) üniversite hastanesi (%13,0) laboratuvarlarıdır. UAMDSS'ne dahil edilecek laboratuvarların belirlenmesinde vazgeçilmez kabul edilen kriterler: i) Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji veya Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanı bulunması (%99,1), ii) bakteriyoloji bölümü olması (%97,5) ve iii) kan kültürü çalışılması (%83,9) olup, durumuna uygun 259 (%80,4) laboratuvar saptanmıştır. İkinci basamak belirleme kriterleri için anket formu bilgileri kullanılarak yapılan skor çalışmasında; Staphylococcus aureus (mean:17,54), Streptococcus pneumoniae (mean:3,36), Enterococcus spp. (mean:14,30), Escherichia coli (mean:68,16), Klebsiella spp. (mean:21,03) ve Pseudomonas aeruginosa (mean:17,04) için uygulanan aylık ADT sayısının cevap veren merkezlerin ortalama değerlerinin üzerinde olması; kan izolatları için genellikle klinik olarak anlamlı kabul edilen mikroorganizmalara (%49,0) veya izole edilen hastada klinik olarak önemli kabul edilen mikroorganizmalara (%30,1) ve beyin omurilik sıvısı izolatları için genellikle klinik olarak anlamlı kabul edilen mikroorganizmalara (%83,5) veya izole edilen hastada klinik olarak önemli kabul edilen mikroorganizmalara (%70,6) ADT uygulanması, ADT için standart uygulama prosedürünün olması (%78,4), iç kalite kontrol sonuçlarının gözden geçirilmesi (%77,3), ADT yöntemlerinden herhangi birini kullanıyor olmak (%93,1), yorum için rehber kullanmak (%91,3) ve sonuçların tutarlılığının değerlendirilmesi (%96,4) sorularının cevapları kullanılmıştır. Skor değeri 12 ve üzerinde olan laboratuvarlar içerisinden; Türkiye İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflandırması'na göre saptanmış olan 12 bölgeye olabildiğince eşit dağılım sağlaması ve üniversite, eğitim araştırma ve devlet hastanelerini içerecek şekilde olması dikkate alınarak toplam 78 laboratuvar UAMDSS'ne katılımcı olarak belirlenmiştir (Şekil).

Sonuç
Ülkemizin antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi amacıyla kurulmakta olan UAMDSS'ye güvenilir veri sağlayabilen ve ülkeyi temsil edebilmeye yakın bir örneklem oluşturması sağlanmıştır. Bu sayede UAMDSS verilerinin antimikrobiyal direnci düşürmeğe yönelik olarak alınacak olan önlemlere ışık tutması, alınan önlemlerin uzun vadede veriminin ölçülmesi ve benzeri etkinlikler için bilim adamlarına ve politika üreticilere yol göstermesi görevlerini güvenilir şekilde yerine getirmesi mümkün olacaktır.

Anahtar Kelimeler: anket, antimikrobiyal direnç, sürveyans

Tablo1: UAMDSS'ne dahil edilecek laboratuvarların belirlenmesinde vazgeçilmez kabul edilen kriterler.



Tablo 2: Anket gönderilen merkezlerin aylık ADT sayılarının mikroorganizmalara göre dağılımı.

Mikroorganizma	Ortalama	Standart Sapma	Alt-Üst limit
S.aureus	17,54	23,75	1-180
S.pneumoniae	3,36	11,81	0-70
S.pyogenes	3,12	6,68	0-63
Enterococcus spp.	14,30	24,97	0-150
H.influenzae	0,92	3,49	0-30
Citrobacter spp.	1,61	2,84	0-20
N. meningitidis	0,13	0,48	0-5
Enterobacter spp.	7,69	12,84	0-90
E.coli	68,16	82,17	3-530
Klepsiella spp.	21,03	36,95	0-350
S.Typhi	0,22	0,52	0-3
Salmonella spp.	0,56	1,00	0-5
Shigella spp.	0,43	0,72	0-5
P.aeruginosa	17,04	27,27	0-250
Acinetobacter spp.	11,69	19,88	0-120

Tablo 3: Anket gönderilen merkezlerin ADT uygulama kriterlerinin klinik örneklere göre dağılımı.

Klinik Örnek	Tüm Mikroorganizmalara		Genellikle klinik olarak anlamlı kabul edilen mikroorganizmalar		İzole edilen hastada klinik olarak anlamlı kabul edilen mikroorganizmalara	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Kan	106	40,9	127	49,0	78	30,1
Gaita	9	2,9	238	76,5	107	34,4
İdrar	45	14,5	237	76,2	108	34,8
BOS	188	60,6	259	83,5	219	70,6
Yara	79	25,4	278	89,4	177	56,9
Genital	10	3,2	247	79,4	114	36,8
Balgam-Boğaz	5	1,7	248	77,0	151	50,0

Tablo 4: Anket gönderilen merkezlerin ADT uygulamasına yönelik bazı özellikleri.

Özellik	Evet cevabı verenler	
	Sayı	Yüzde
Uyguladığınız ADT ile ilgili aylık laboratuar kayıtlarınız var mı?	282/300	94,0
Laboratuvarınızda iç kaliteyi sağlamak amacıyla ADT için standart uygulama prosedürleri (SUP) var mı?	232/296	78,4
Cevabınız evet ise SUP'leriniz yazılı mı? Akış diyagramı içeriyor mu?	193/232	83,2
Eğer var ise: SUP'leriniz kalite kontrol suşlarınının düzenli test edilmesini içeriyor mu?	123/226	54,4
İç kalite kontrol sonuçlarınızı gözden geçiriyor musunuz?	194/251	77,3
Laboratuvarınız ADT ile ilgili herhangi bir dış kalite kontrol programına dahil mi?	45/301	15,0
ADT yöntemlerinden herhangi birini kullanıyor musunuz?	300/322	93,1
ADT yorumunda rehber kullanıyor musunuz?	294/322	91,3
ADT sonuçlarını rapor ederken kısıtlı bildirim uyguluyor musunuz?	257/311	82,6
ADT sonuçlarının tutarlılığı laboratuvar tarafından değerlendiriliyor mu?	296/307	96,4

Şekil 1:Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemine dahil edilen merkezlerin dağılımı



P27- ANTİMİCROBİAL SUSCEPTİBİLİTY OF HELİCOBACTER PYLORİ STRAİNS İSOLATED FROM PATİENTS İN SHİRAZ, SOUTHERN IRAN

Shohreh Farshad[1], Reza Ranjbar[2], Kazem Hosseini Asl[3]
[1]*Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Centre, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*
[2]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[3]*Gastroenterohepatology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Nemazee Hospital, Shiraz, Iran*

Background
Growing resistance among Helicobacter pylori strains often parallels the patterns of antibiotic consumption and may vary within patient groups according to the geographic region. The purpose of this study was to improve our understanding of Iran regional variation of H. pylori antibiotic resistance rates to find the best antibiotic therapy pattern for eradication of H. pylori infections.
Materials-Methods
A total of 266 patients undergoing endoscopy in Shiraz, Southern Iran, were included in this study. H. pylori strains were isolated from antral biopsies of the patients by culture and confirmed by rapid ureasE-test, and gram staining. Antibiotic susceptibility of H pylori isolates was determined by E-test.
Results
Totally 121 H. pylori strains were isolated, 50 from males and 71 from females patients. Data showed 44% (n=53), 20% (n=24), 5% (n=6), and 3% (n=4) of the all strains were resistant to the antibiotics metronidazole, amoxicillin, clarithromicin, and tetracyclin, respectively. Considering the antibiotics together we found 11 sensitivity patterns for all the strains. Resistance to metronidazole was significantly higher in the females than in the male patients ($P<0.05$). For about 71% of the metronidazole-resistant isolates, the MICs exceeded 256 µg/ ml.
Conclusion
Considering the increasing resistance rate in many countries and based on the different results from different studies even in the same regions, monitoring of susceptibility of H. pylori to the antibiotics appears to be necessary in the choice of effective therapy in order to eradicate H. pylori infections and to optimize the regimen in case of treatment failure.

Anahtar Kelimeler: Helicobacter, sensitivity, antimicrobial

P28- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSİELLA PNEUMONIAE* SUŞLARININ GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ (GSBL) SIKLIĞI VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ PATERNLERİ

Derya Sağlam[1], **Süleyman Durmaz[1]**, Hüseyin Kılıç[1], Duygu Perçin[1], Mustafa Altay Atalay[1], Şule Şarlı[2]
[1]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, KAYSERİ*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, KAYSERİ*

Amaç
Dirençli bakteriler içinde önemli yeri olan *K pneumoniae* toplum ve hastane kaynaklı pek çok enfeksiyonda rol almakta ve hayatı tehdit eden durumlara yol açmaktadır. Tedavide geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin sık kullanımı sonucunda bu antibiyotiklere karşı direncin en büyük kısmı Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL) üretimine bağlı olarak meydana gelmektedir. Bu yüzden *K.pneumoniae* suşlarının GSBL üretim oranlarının takibi ve GSBL üreten ve üretmeyen suşların antibiyotik direnç paternlerinin bilinmesi ampirik tedavide yol gösterici olacaktır.
Bu çalışmada kan kültürlerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı ve antibiyotik direnç paternlerinin in vitro olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmaya Ocak-Aralık 2009 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarına yatan hastalardan gönderilen kan kültürlerinde *K.pneumoniae* üreyen 50 hasta dahil edilmiştir. Kan kültürleri BacT/Alert (BioMerieux, Fransa) otomatize kan kültürü sistemi ile çalışıldı. Üreticinin önerileri doğrultusunda beş gün inkübe edildi. Bu süre içinde üreme görülen örneklerden gram boyama ve kanlı, EMB, çukulata besiyerlerine ekimleri yapıldı. Rutin mikrobiyolojik yöntemlerle *K.pneumoniae* olarak tanımlanan suşlar çalışmaya alındı. Her hastadan bir suş çalışmaya dahil edildi. Suşların GSBL varlığı ve çeşitli antibibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Duyarlılık sonuçları CLSI 2009 sınır değerlerine göre yorumlandı. İstatistiksel yöntem olarak Ki-kare (x^2) testi kullanıldı ve $p<=0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.
Bulgular
Çalışmaya alınan toplam 50 suşun %50 'i kadın, % 50'i erkek hastadan izole edildi. Suşların 35'i (%70) erişkin, 15'i (%30) pediatri hastasından izole edildi. GSBL (+)'liği erişkin hastalarda % 48.6, pediatrik hastalarda % 60 saptanmıştır. Bu sonuca göre erişkin ve pediatri hastalarından izole edilen suşlar arasında GSBL üretimi açısından istatiksel anlamlı fark bulunmadı. Suşların GSBL durumarı ve izole edildikleri bölümlere göre dağılımları Tablo 1.'de gösterilmiştir. İzole edilen suşların amikasin, amoksisilin/klavulanikasit, ampisilin, gentamisin, siprofloksasin, trimetoprim/sülfametaksozol, pipersilin/tazobaktam, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine direnç durumları Tablo 2.'de gösterilmiştir.
Sonuç
1. Son yıllarda ülkemizde karbepenem dirençli *K.pneumoniae* suşları bildirilmesine rağmen izole edilen suşların hepsinin karbepenemlere duyarlı bulunması hastenemiz açısından sevindiriciydi.
2. Dahili YBÜ ve pediatri YBÜ'nden izole edilen suşların GSBL üretme oranı diğer bölümlere göre belirgin yüksekti. Bu nedenle bu bölümlerden laboratuvara gönderilen kan kültürlerinde üreme saptanan ve gram boyamasında gram negatif basil gözlenen hastaların ampirik tedavisinde beta-laktam grubu antibiyotiklerden kaçınılmalıdır.
3. Cerrahi kliniklerde diğer bölümlere göre daha az GSBL üreten suş izole edilmesi bölümler arası ilaç politikalarının farklılıklarına bağlanabilir.
4. GSBL üreten suşların karbepenem grubu ilaçlar dışında en az direnç amikasine olması ampirik tedavide hastanemiz açısından yol gösterici olabilir.
5. Epidemiyolojik çalışmaların kurum, bölge ve ülke çapında daha fazla örnekle ve belli periyotlarla tekrarlanması alınacak tedbirleri belirlemede yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotiklere direnç, GSBL, Kan kültürü, *K. pneumoniae*

Tablo 1. Suşları izole edildikleri bölüme ve GSBL durumlarına göre dağılımları

Bölüm	GSBL Üreten		GSBL Üretmeyen		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Dahili Klinikler	5	41.7	7	48.3	12	24
Dahili YBÜ	7	70	3	30	10	20
Cerrahi Klinikler	0	0	3	100	3	6
Cerrahi YBÜ	5	45.5	6	54.5	11	22
Pediatri Klinikleri	1	25	3	75	4	8
Pediatri YBÜ	8	80	2	20	10	20

Tablo 2. Çeşitli antibiyotiklere direnç durumları

Antibiyotikler	GSBL üreten		GSBL üretmeyen		p değeri
	n:26	%	n:24	%	
Amikasin	5	19.2	3	12.5	>0.05
Amoksisilin/klavulanat	24	92.3	12	50	<0.05
Ampisilin	22	84.6	12	50	<0.05
Gentamisin	9	34.6	9	37.6	>0.05
Ertapenem	0	0	0	0	
İmipenem	0	0	0	0	
Meropenem	0	0	0	0	
Piperasilin/tazobaktam	13	50	14	58.3	>0.05
Siprofloksasin	14	53.8	8	33.3	>0.05
Ko-trimoksazol	15	57.6	23	96.2	<0.05

P29- ESCHERİCHİA COLİ VE KLEBSİELLA SPP. KÖKENLERİNDE BORONİK ASİT KULLANARAK GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ VE AMPC TİPİ BETA LAKTAMAZ ARAŞTIRILMASI

Nisel Özkalay Yılmaz[1], Neval Ağuş[1], Elif Bozçal[2], Özlem Öner[2], Ataç Uzel[2]
[1]*Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir*
[2]*EÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Amaç
Son yıllarda *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. kökenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların (GSBL) yanı sıra plazmid-aracılı AmpC betalaktamazlara (pAmpC) bağlı direnç artışı dikkat çekmektedir. Günümüzde AmpC beta laktamaz saptamaya yönelik pratik bir yöntem bulunmamaktadır. Bu çalışmada boranik asit (BA) kullanılarak GSBL ve AmpC tipi enzimleri saptamak amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Toplam 273 köken (191 *E. coli* ve 82 Klebsiella spp.) incelenmişir. BA eklenmiş ve eklenmemiş sefoksitin (FOX) ve/veya seftazidim (CAZ) ve/veya sefotaksim diskleri zon çapları arasında 5 mm ve üzeri fark sapatanması AmpC varlığı olarak yorumlanmıştır. GSBL saptanmasında CLSI kriterleri uygulanmıştır. Ayrıca GSBL varlığı BA varlığında tekrar edilmiştir. BA ile pAmpC saptanan kökenler ayrıca multipleks PCR ile çalışılmıştır.
Bulgular
pAmpC ve GSBL saptanmasında BA inhibisyon ve CLSI doğrulama test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. BA ile pAmpC saptanmasında en iyi sonucu CAZ/CAZ-BA diskleri göstermiştir. GSBL testi yedi kökende GSBL doğrulama testi ile negatifken BA ile pozitif sonuç vermiştir. Kökenler arasında en sık MOX grup genleri saptanmıştır.
Sonuç
GSBL ve pAmpC beta laktamazların doğru tanısı etkin tedavi ve epidemiyolojik çalışmalar için önemlidir. Bu amaçla BA inhibisyon testi laboratuvarda pratik olarak kullanılabilecek bir testtir.

Anahtar Kelimeler: Escherichia coli, Klebsiella spp., boronik asit, GSBL, pAmpC

AmpC ve GSBL saptanmasında BA inhibisyon ve CLSI doğrulama test sonuçları

	FOX R	BA ile AmpC	Gen saptanan	GSBL/ CLSI	GSBL/BA
E. coli (191)	98	60	25	161	165
Klebsiella spp. (82)	29	8	3	66	68

FOX: Sefoksitin, BA: Boronik asit, GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz

P30 - ESCHERİCHİA COLİ VE KLEBSİELLA PNEUMONİAE KÖKENLERİNDE CTX-M TİPİ GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ENZİMLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ PATERNLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Serdar Mehmet Altınkum, Hrisi Bahar, **Müzeyyen Mamal Torun**
İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültsi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İstanbul

Amaç
Sefotaksimaz tipi (CTX-M) enzimler, TEM ve SHV tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerinden daha sonra saptanmasına rağmen, bu enzimlerin üretimi dramatik bir şekilde artış göstermiş ve CTX-M beta laktamazları tüm dünyada en yaygın bulunan GSBL'ler haline gelmiştir. CTX-M pandemisi olarak değerlendirilmeye başlanan bu durum, hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonları oluşturan kökenlerde gözlenmekte; Avrupa, Asya ve Güney Amerika ülkeleri gibi dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde belirli alt tiplerin endemik olarak bulunduğu, hatta bazı CTX-M alt tiplerinin ülkelere spesifik olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde CTX-M enzimlerinin dağılımı ile ilgili çalışmaların çok sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu nedenle Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinde hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen E. coli ve K. pneumoniae klinik izolatlarında CTX-M enzimlerinin prevalensinin ve ayrıca antibiyotiklere direnç durumlarının araştırılması amaçlanmıştır. CTX-M enzimi üreten bakterilerin antibiyotiklere direnç paternlerinin de ortaya konulması epidemidemiyolojik açıdan değerli bilgiler vereceği gibi rasyonel antimikrobiyal tedavinin düzenlenmesinde de yardımcı olacaktır.

Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli servis ve polikliniklerinden gönderilen klinik örneklerden izole edilen E. coli ve K. pneumoniae kökenleri kullanılmıştır. CLSI önerileri doğrultusunda, GSBL üretiminin saptanması ön tarama ve ardından kombine disk yöntemleri; antibiyotiklere direnç durumunun araştırılması agar dilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. GSBL üreten bakteri kökenlerinin izoelektrik odaklamasında(IEF) enzim ekstreleri, amfolit(pH:3-9,Sigma) içeren poliakrilamid jelde,izoelektrik nokta tayini cihazında (Model 111 Mini IEF Cell,Biorad)yürütülmüştür. Enzim bantlarının görüntülemesinde nitrosefin solüsyonu kullanılmıştır. PCR yöntemleriyle enzim tiplendirmesinde ise,PCR ürünleri yatay agaroz jel elektroforezi ile incelenerek TEM, SHV ve CTX-M enzimleri ile bunlara ait genler araştırılmış ve CTX-M alt gruplarının doğrulanması için DNA dizi analizi kullanılmıştır. Dizi eldesinde, ABI PRISM 310 Genetic Analyser cihazı kullanılmıştır.Elde edilen dizi,Seqman programı ile düzeltilmiş ve internet üzerinde BLAST programı kullanılarak gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular
TEM, SHV ve CTX-M enzimlerinin dağılımı E.coli'de sırasıyla %25, % 15.6 ve %94.8; K. pneumoniae'de %38, %62 ve %81 olarak bulunmuştur. CTX-M grubundaki tüm enzimlerin CTX-M-15 olduğu tespit edilmiştir. GSBL enzimlerinin dağılımı Tablo 1 ve bla genlerinin dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.Yatan ve ayaktan hastalardan izole edilen E. coli ve K. pneumoniae kökenleri arasında enzimlerin dağılımı açısında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı (p:0,147-0,832) saptanmıştır. GSBL üreten bu kökenlerde en yüksek duyarlılık imipenem (100%), meropenem (100%) ve ertapenem (98%)'de görülmüştür. RAPD-PCR ile araştırılan klonal benzerlik yalnızca 2 E. coli kökeninde bulunmuştur

Sonuç
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinde, hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen E.coli ve K. pneumoniae kökenlerinde CTX-M-15 üretiminin yüksek oranda bulunduğu (%94.8 ve %81) ve bu bakterilerle gelişen ciddi enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin kullanılabileceği, aminoglikozidlerden özellikle amikasinin en etkin ajanlar arasında yer aldığı görülmektedir. Ancak florokinolonlar ve diğer antibiyotikler kullanılmak istendiğinde mutlaka antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: E.coli, K. pneumoniae, CTX-M, IEF, PCR

Tablo 1.GSBL enzimlerinin dağılımı

Bakteri (sayı)	CTX-M	TEM	SHV	CTX-M +TEM	CTX-M +SHV	TEM +SHV	CTX-M +TEM +SHV	Toplam (sayı)
E. coli	62	3	1	16	9	1	4	96
K. pneumoniae	12	1	1	3	1	2	1	21
Toplam (sayı)	74	4	2	19	10	3	5	117

Tablo 2. bla genlerinin dağılımı

Bakteri	Hasta grubu	blaCTX-M(s/%)	blaTEM (s/%)	blaSHV (s/%)
E.coli	Yatan Hasta(s:52)	50 (96)	15 (28,8)	8 (15,4)
	Ayaktan Hasta (s:44)	41 (93)	9 (20,5)	7 (15,9)
K.pneumoniae	Yatan Hasta (s:17)	14 (82,4)	7 (41,2)	11 (64,7)
	Ayaktan Hasta (s:4)	3 (75)	1 (25)	2 (50)

P31- GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ÜRETEN *E.COLİ* VE *KLEBSİELLA SPP.* SUŞLARININ MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ 2009 VE 2010 CLSI STANDARTLARINA GÖRE YORUMLANMASI

Ebru Bostanoğlu[1], Müge Demirbilek[1], Hikmet Eda Alışkan[2], Şule Çolakoğlu[2], J. Sedef Göçmen[1]
[1]*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Ankara*
[2]*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Adana*

Amaç
Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsüne (CLSI) göre; 2009 yılında mikroorganizmalarda GSBL tarama testinin yapılması önerilirken, 2010 standartlarında sefazolin, sefotaksim, seftizoksim, seftriakson, seftazidim ve aztreonam için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) eşik değerlerinin revize edilerek GSBL rutin taramasının gerekli olmadığı yayımlanmıştır.
Bu çalışmada GSBL üreten Escherichia coli ve Klebsiella spp. suşlarının sefazolin, sefotaksim, seftizoksim, seftriakson MİK değerleri CLSI 2009 ve 2010 yılları standartlarında verilen eşik değerlerine göre karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve GSBL taramasının önemi araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 182 adet *E.coli* ve 17 *Klebsiella pneumoniae* ve bir *K. oxytoca* olmak üzere toplam 200 GSBL pozitif suş çalışmaya dahil edilmiştir. GSBL üretimi çift disk sinerji testi ile tespit edilmiştir. Sefazolin, sefotaksim, seftizoksim, seftriakson için MİK değerleri CLSI standartlarına göre broth mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Sonuçlar hem 2009 hem de 2010 kriterlerine göre karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
GSBL pozitif 182 E. coli suşunun seftriakson MİK değerlerine bakıldığında 177'si iki kritere göre de dirençli bulunmuştur. 2009 kriterlerine göre orta duyarlı olan 4 suşun hepsi 2010 kriterlerine göre dirençli bulunmuştur. Bir E. coli suşu her iki kritere göre de duyarlı bulunmuştur. Bu antibiyotik için tüm Klebsiella spp. suşları her iki kritere göre de dirençlidir.
Sefotaksim için 2009 kriterlerine göre duyarlı bulunan 4 E.coli suşunun biri 2010 kriterlerine göre orta duyarlı 3'ü dirençli ve orta duyarlı olan 10 E.coli ve 1 K. pneumoniae suşunu ise tümü dirençli bulunmuştur. Seftizoksime bakıldığında 3 K.pneumoniae ve bir K.oxytoca suşu ve 18 E.coli suşu 2009 kriterlerine göre orta duyarlı bulunmasına karşın 2010 kriterlerine göre dirençlidir. 2009 kriterlerine göre duyarlı bulunan 10 E.coli suşu 2010 kriterlerine göre dirençli olarak bulunmuştur. 5 E.coli suşu 2009 kriterlerine göre duyarlı iken 2010 kriterlerine göre orta duyarlı olduğu saptanmıştır. 4 E.coli suşunun ise her iki yıla ait kriterlere göre duyarlı olduğu belirlenmiştir. Sefozolin için değerlendirme yapıldığında 2009 standartlarına göre duyarlı bulanan 1 E.coli suşu 2010 kriterlerine göre de duyarlı bulunmuştur.
Sonuç
CLSI'nin yeni kriterlerine göre GSBLnin rutin taranmasına gerek yoktur. Çalışmamıza göre GSBL üreten 182 E.coli suşunun 6'sının 2010 CLSI kriterlerine göre sefalosprin grubu antibiyotiklerden en az birine duyarlı olduğu bulunmuştur. Daha büyük gruplarda yapılacak klinik başarıya dayalı çalışmalar yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: CLSI, E.coli, ESBL, Klebsiella

Tablo-1

Antibiyotik	Bakteri	2009			2010		
		Duyarlı n (%)	Orta Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)	Duyarlı n (%)	Orta Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
Seftriakson	E.coli	1 (1)	4 (2)	177 (97)	1 (1)		181 (99)
	Klebsiella spp			18 (100)			18 (100)
Sefazolin	E.coli	1 (1)		181 (99)	1 (1)		181 (99)
	Klebsiella spp			187 (100)			18 (100)
Seftizoksim	E.coli	19 (10)	18 (10)	145 (80)	4 (2,5)	5 (2,5)	173 (95)
	Klebsiella spp		4 (22)	14 (78)			18 (100)
Sefotaksim	E.coli	4 (2)	10 (6)	161 (92)		1 (1)	181 (99)
	Klebsiella spp		1 (6)	17 (94)			18(100)

GSBL pozitif E.coli ve Klebsiella spp suşlarının CLSI 2009 ve 2010 kriterlerine göre duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olma sayı ve yüzdeleri

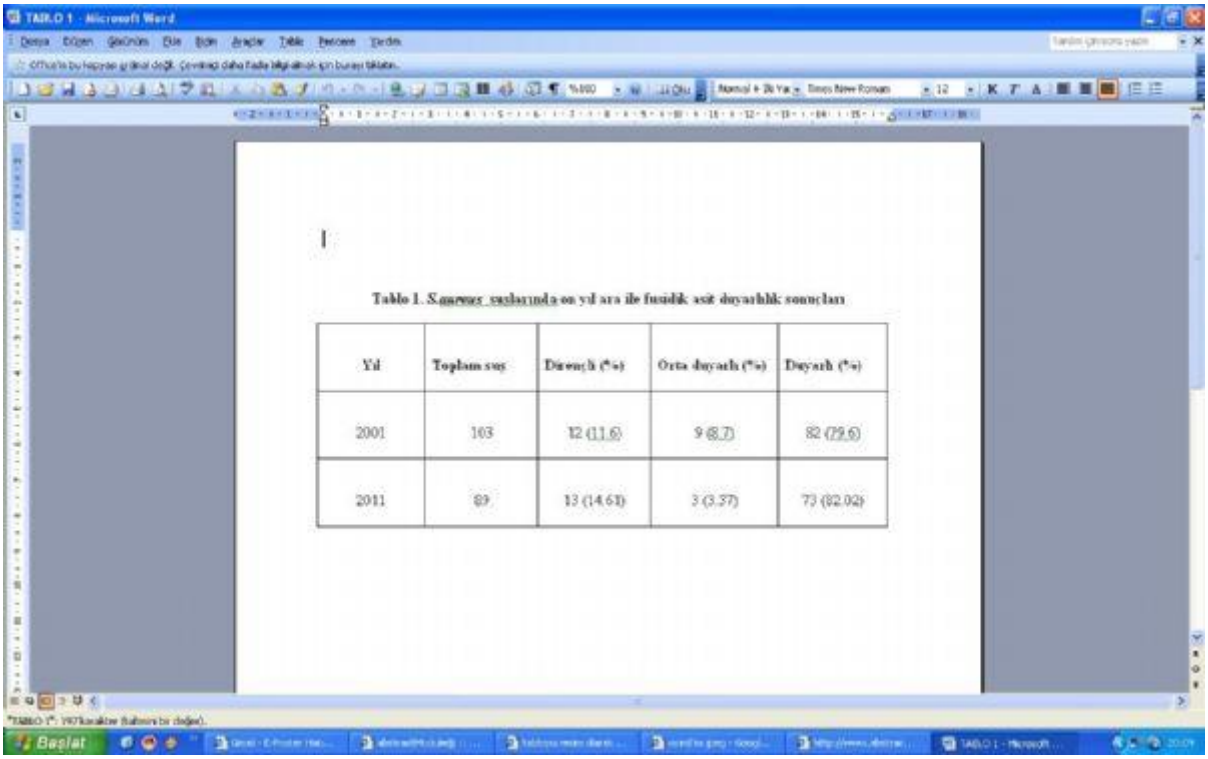
P32- STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARINDA 10 YIL (2001-2011) ARA İLE FUSİDİK ASİT DİRENCİ

Şebnem Nergiz, **Tuncer Özekinci,** Selahattin Atmaca, Alicem Tekin
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi , Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır

Amaç
Staphylococcus aureus, hem hastane hem de toplumdaki bakteriyemi, pnömoni, endokardit, osteomiyelit ve toksik şok sendromu gibi morbidite ve mortalitesi yüksek ciddi infeksiyonların önemli bir etkenidir. Metisilin direncinin ortaya çıkışı ve diğer bazı antibiyotiklere direnci de beraberinde getirmesi, bu mikroorganizmanın neden olduğu infeksiyonların tedavisini ve kontrolünü güçleştirmektedir. Bu durum alternatif antibiyotik arayışına neden olmuş ve stafilokoklara karşı fusidik asit kullanımını arttırmıştır. Fusidik asit, protein sentezini inhibe ederek etki gösteren dar spektrumlu steroid yapıda bir antibiyotiktir. Çeşitli dokularda iyi dağılması, toksisitesinin ve alerjik reaksiyonlarının az olması, klinikte kullanılan diğer antibiyotiklerle çapraz reaksiyon vermemesi gibi özelliklerinden dolayı hem sistemik hem de topikal stafilokok infeksiyonların tedavisinde önerilen bir ilaçtır. Bu çalışmada on yıl ara ile hastanemizden izole edilen *S.aureus* suşlarında fusidik asit direncinin karşılaştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
S.aureus suşlarının identifikasyonu PHOENIX (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Spark, Md, USA) ile gerçekleştirildi. Suşların metisiline duyarlılıkları 1 µg oksasilin (Oxoid) içeren diskler ile Mueller Hinton agarda Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre belirlendi. Suşların fusidik asit duyarlılıkları ise 10 µg fusidik asit diski (Oxoid) kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Fusidik asit direnci Fransa Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin belirlediği kriterlere göre saptanmış olup, inhibisyon zon çapı sınırları >= 22 mm duyarlı, 16-21 mm orta duyarlı, <=15 mm dirençli olarak kabul edildi.
Bulgular
2001 yılında incelenen toplam 103 *S.aureus* suşunda fusidik asit direnci %11.6 iken, 2011 yılında incelenen 89 suşta bu oran % 14.61 olarak bulundu. MRSA'larda (Metisisline Dirençli*S.aureus*) fusidik asit direnci 2001 yılında %18.9 ve 2011 yılında %22.2 iken, MSSA'larda (Metisisline Duyarlı *S.aureus*) direnç oranları 2001 ve 2011 yıllarında sırasıyla % 4.2 ve % 5.7 olarak saptandı.
Sonuç
Aradan geçen 10 yıllık periyotta hastanemizden izole edilen *S.aureus* suşlarının fusidik asit direncinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmadığı görüldü (P=0.594). Gerek metisiline dirençli gerekse metisiline duyarlı olan stafilokok suşlarında in-vitro fusidik asit duyarlılığı yüksektir. Bu sonuçlar ışığında tüm stafilokokkal infeksiyonların tedavisinde fusidik asidin hala alternatif bir ilaç olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: direnç değişimi, fusidik asit, *S.aureus*

TABLO 1



Tablo 1. S.aureus suşlarında on yıl ara ile fusidik asit duyarlılık sonuçları

Yıl	Toplam suş	Dirençli (%)	Orta duyarlı (%)	Duyarlı (%)
2001	103	12 (11.6)	9 (8.7)	82 (79.6)
2011	89	13 (14.61)	3 (3.37)	73 (82.02)

TABLO 2

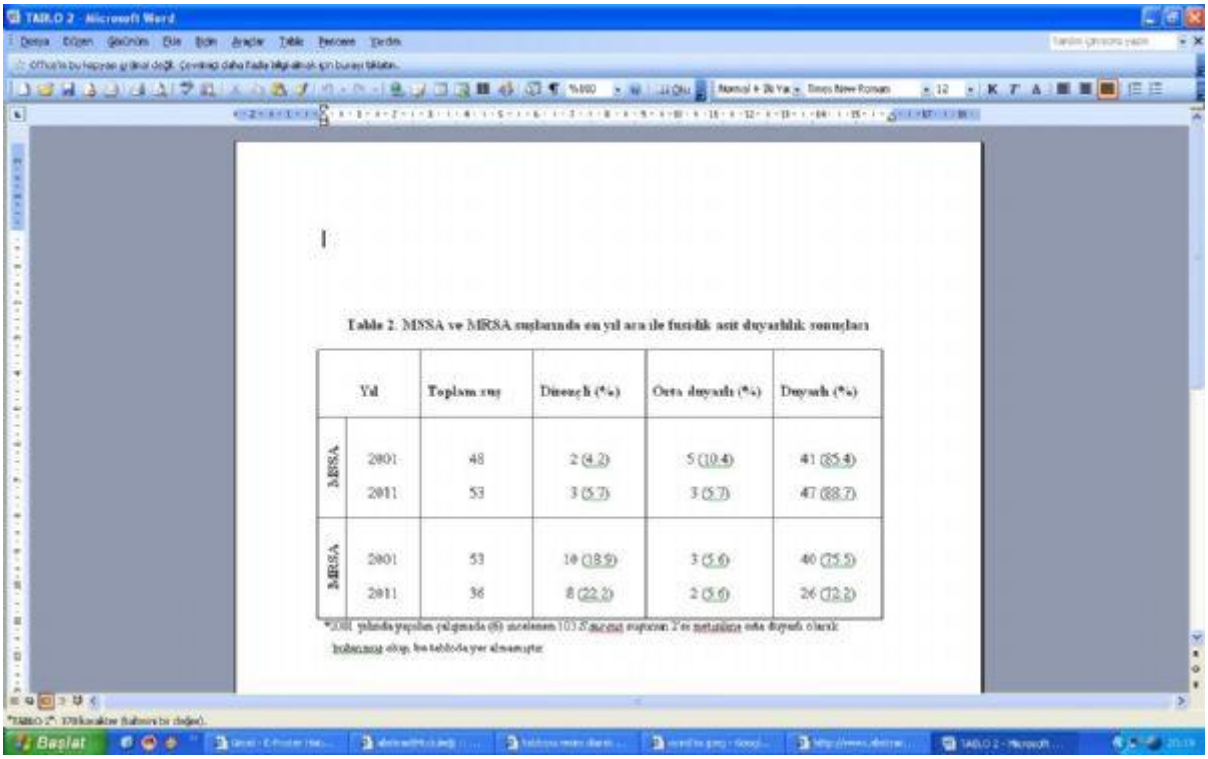


Table 2. MSSA ve MRSA suşlarında on yıl ara ile fusidik asit duyarlılık sonuçları

	Yıl	Toplam suş	Dirençli (%)	Orta duyarlı (%)	Duyarlı (%)
MSSA	2001	48	2 (4.2)	5 (10.4)	41 (85.4)
	2011	53	3 (5.7)	3 (5.7)	47 (88.7)
MRSA	2001	53	10 (18.9)	3 (5.6)	40 (75.5)
	2011	36	8 (22.2)	2 (5.6)	26 (72.2)

P33-*CAMPYLOBACTER JEJUNİ* VE *CAMPYLOBACTER COLİ* İZOLATLARININ KİNOLON DİRENCİ

Tuba Kayman[1], Seçil Abay[2], Harun Hızlısoy[2]
[1]*Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*

Amaç
Bu çalışmada yetişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* izolatlarının, tedavide sıklıkla tercih edilen kinolonlara olan duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Araştırmada, Mart 2010- Mart 2011 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına diyare ön tanısı ile gönderilen toplam 3287 adet dışkı örneğinden izole edilen 150 *C. jejuni* ve 26 *C. coli* olmak üzere toplam 176 adet kampilobakter izolatı materyal olarak kullanıldı. Kampilobakterlerin dışkı örneklerinden izolasyonu amacıyla Cefoperazone, Amphotericin B, Teicoplanin (CAT) supplement (Oxoid SR174, İngiltere) ilave edilmiş Campylobacter Blood-free Selective Medium (modified CCDA-Preston, Oxoid CM739, İngiltere) kullanıldı. Dışkı örneklerinden ekim yapılan besiyerleri 42°C'de mikroaerobik olarak 72-96 saat inkübe edildi.
Konvansiyonel yöntemlerle ayrımlanan izolatların tür düzeyinde identifikasyonları multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) (Fermentas, Litvanya) ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla agar disk difüzyon yöntemi ve %5 koyun kanlı Mueller-Hinton besiyeri kullanıldı. Test sonuçlarının değerlendirilmesi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M100-S20, 2010) önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Testte Nalidiksik asit (30µg), siprofloksasin (5 µg) ve levofloksasin (5 µg) antibiyotiklerine ait diskler (Oxoid, İngiltere) kullanıldı.
Bulgular
Test edilen toplam 150 adet *C. jejuni* izolatının nalidiksik asit'e %80, siprofloksasin'e %80,6, ve levofloksasin'e % 78,6 oranında dirençli olduğu saptandı. Direnç oranları *C. coli* izolatları için sırasıyla; %61,5, %65,5 ve %50 olarak bulundu.
Sonuç
Bu çalışmada gastroenterit olgularından ayrılan *C.jejuni* ve *C.coli* izolatlarında yüksek oranda kinolon direnci saptanmıştır. Tedavi amacıyla sıklıkla başvurulan kinolonlara karşı bu yüksek direnç oranı göz önünde bulundurularak; akut gastroenterit vakalarında kampilobakterler yönünden gaita kültürü ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması ve elde edilen sonuçlara göre klinik tedavinin yönlendirilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter* spp., kinolon, direnç

P34- *PROTEUS* CİNSİ BAKTERİLERDE İMİPENEM DİRENCİ

Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer, Hüseyin Uzuner
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Son aylarda laboratuvarımızda klinik örneklerden izole edilen *Proteus* cinsi bakterilerde imipenem direncinde artış olduğu gözlenerek, bunun gerçek direnç olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
VITEK-2 (BioMérieux, Fransa) sistemi ile imipeneme orta duyarlı veya dirençli bulunmuş olan ve farklı hastalara ait 45 *Proteus* spp. suşu çalışmaya alınmıştır. İmipenem duyarlılığı Kirby Bauer disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.
Ayrıca tüm suşlara, karbapenemazların fenotipik olarak saptanmasında kullanılan Modifiye Hodge Testi (MHT) uygulanmıştır.
Bulgular
Klinik örneklerden izole edilen *Proteus* suşlarının 2008 yılında %5'i, 2009 yılında %12'si imipeneme dirençli veya orta duyarlı iken, bu oran 2010 yılında %24, 2011 yılının ilk sekiz ayında %55 olarak belirlenmiştir. Son 20 aylık dönemde imipeneme dirençli veya orta duyarlı olan *Proteus* suşlarının %67'si servis, %33'ü poliklinik kökenli olup; %54'ü idrar, %21'i deri-yumuşak doku, %17'si solunum sistemi, %8'i diğer örneklerden izole edilmiştir.
VITEK-2 sistemi ile imipeneme orta duyarlı veya dirençli bulunmuş olan suşların hepsinin, duyarlılık testlerinde referans yöntem olan sıvı dilüsyon ile de orta duyarlı veya dirençli olduğu görülmüştür. İlginç olarak bu suşların agar dilüsyon yöntemi ile dördü (%9), disk difüzyon yöntemi ile 27'si (%60) imipeneme duyarlı bulunmuştur.
MHT tüm suşlarda negatif bulunmuştur.
Sonuç
CLSI (Clinical and laboratory standards institute)'nin 2010 yılından sonra bazı antibiyotikler için sınır değerleri değiştirmiş olması (imipenem için MIC <= 4 µg/ml duyarlı iken <= 1 µg/ml duyarlı olması), 2011 yılında imipenem direncindeki artışın önemli bir sebebi olabilir.
Proteus cinsi bakterilerde imipenem MIC yüksekliğinin karbapenemaz üretimi dışındaki sebeplerden olabileceği bilinmekle birlikte, son iki yılda hastanemizde karbapenemaz üreten enterik bakterilerin saptanmaya başlaması nedeni ile, bu suşlara MHT yapılarak, karbapenemaz içermedikleri fenotipik olarak gösterilmiştir.
VITEK-2 otomatize sisteminin *Proteus* cinsi bakterilerde imipenem direncini doğru olarak saptadığı, ancak agar dilüsyon ve disk difüzyon ile yalancı duyarlılık olabileceği görülmüştür. Özellikle birçok laboratuvarda kolayca kullanılan disk difüzyon yönteminin yanlış sonuç verebileceğine dikkat edilmelidir. *Proteus* cinsi bakterilerde disk difüzyon testi okunurken yayılma göz ardı edilmezse yalancı direnç olabileceği bilinmektedir. Bu çalışmada yalancı duyarlılık da olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Proteus, imipenem direnci, VITEK-2

VITEK-2 ile imipeneme orta duyarlı/dirençli bulunan suşların agar dilüsyon, sıvı dilüsyon ve disk difüzyon sonuçları.

AD – SD – DD	Sayı
R-R-S	15
R-R-I	11
I-R-S	8
R-R-R	4
S-I-S	2
I-I-I	1
I-R-I	1
S-R-S	1
R-I-S	1
S-I-R	1
Toplam	45

AD: Agar dilüsyon, SD: Sıvı dilüsyon, DD: Disk difüzyon.

P35- ESCHERİCHİA COLİ KÖKENLERİNDE CTX-M BETA LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK SAPTANMASI

Başak Yavuz, **Burçin Özer,** Melek İnci, Nizami Duran
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Hatay

Beta-laktamaz sentezi başta Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere Gram negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizmadır. CTX-M tipi geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakteriler dünyada ve ülkemizde hızla yayılmaktadır.

Amaç

Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen Escherichia coli kökenlerinde GSBL varlığının dört fenotipik yöntemle araştırılması ve beta-laktamaz sentezinden sorumlu olan blaCTX-M genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile saptanması amaçlandı.

Yöntem

Klinik örneklerden izole edilen ve Vitek 2 otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ile saptanmış GSBL pozitif 100 E. coli ve GSBL negatif 50 E. coli kökeni çalışmaya dahil edildi. Vitek 2 ile antimikrobiyal duyarlılıkları ve GSBL varlığı bakılan kökenlere disk difüzyon tarama testi (DDTT), kombine disk doğrulama testleri (sefotaksim-sefotaksim/klavulonik asit (CTX/CTC- KDDT ve seftazidim-seftazidim/klavulanik asit (CAZ/CZC) KDDT) uygulandı.

Bulgular

Vitek 2, DDTT ve CTX/CTC KDDT ile 125 (%83.3) köken pozitif veya negatif aynı sonucu verirken Vitek 2 ve CAZ/CZC KDDT'de 110 (%73.3) köken, CAZ/CZC KDDT ve CTX/CTC KDDT ile de 135 (%90) köken aynı sonucu verdi. DDTT ve KDDT'lerin sonuçları karşılaştırıldığında sonuçları birbiriyle daha uyumlu bulunmuş olup DDTT ve CTX/CTC KDDT ile 138 (%92), DDTT ve CAZ/CZC KDDT ile 133 (%88.7) kökende aynı sonuç alındı. Vitek 2 ile diğer testler arasında anlamlı bir uyum saptamamıza rağmen DDTT ve KDDT'ler ile daha uyumlu sonuçlar alındı. Vitek 2 otomatize sistem, DDTT, CAZ/CZC KDDT ve CTX/CTC KDDT ile GSBL saptanan kökenlerin ampisilin, sefozolin, sefuroksim, seftazidim, seftriakson, sefepim, trimetoprim/sulfametaksazol, sefotaksim, aztreonam ve sefpodoksime karşı daha dirençli oldukları, GSBL varlığı sefoksitin, imipenem, meropenem ve ertapeneme karşı duyarlılığı etkilemediği saptanmıştır. GSBL varlığı amoksisilin/klavulonik asit, piperasilin/tazobaktam direncini istatistiksel olarak etkiliyor gibi görünmekle birlikte diğer direnç mekanizmalarının bu dirençten sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca GSBL üreten bakterilerin beta-laktam antibiyotiklerle birlikte florokinolon ve aminoglikozidlere daha dirençli oldukları saptanmıştır. Çalışmamızda dört yöntemle GSBL ürettiği belirlenen kökenlerde GSBL varlığının karbapenem direncine yol açmadığı belirlenmiştir.

PZR ile 150 kökenin %67.3'ünde blaCTX-M geni pozitif bulundu. Bu kökenlerinde sıklık sırasına göre Grup I (%46), Grup IV (%38.7), Grup II (%20) ve Grup III (%7.3) blaCTX-M geni taşıdığı tespit edildi.

Sonuç

Ülkemizde yapılan çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da E.coli kökenlerinin yüksek oranda CTX-M tipi beta-laktamaz sentezlediği ve bunlar arasında da en sık Grup I blaCTX-M geni saptanmıştır. Bu da blaCTX-M geninin ülkemizde hızlı bir şekilde yayıldığını göstermektedir. Bu sebeple ülkemizde CTX-M beta-laktamaz üretiminin sürveyansı önemlidir. blaCTX-M geninin tipini belirleyebilmek için insidansı fazla olan gruptaki blaCTX-M genlerin çalışılması takip açısından uygun olacaktır. Otomatize sistem ile GSBL negatif bulunan 27 (%18) kökende, disk difüzyon tarama testi ve CTX-CTC disk doğrulama testi ile GSBL negatif bulunan 32 (%31.3) kökende ve CAZ-CZC disk doğrulama testi ile GSBL negatif bulunan 43 (%28.7) kökende blaCTX-M geni saptanmıştır. Bir genin varlığı onun eksprese olacağı anlamına gelmediği için GSBL üretimine sebep olmayabilir. Veya sadece blaCTX-M genini içermesi diğer GSBL genlerini içermeyeceği anlamına gelmediği için fenotipik yöntemlerle CTX-M beta-laktamaz varlığı atlanabilmektedir. Bir hastada kolonize olan ya da infeksiyona yol açan blaCTX-M genini içeren bir bakteri hastane çalışanlarının elleri ve kullanılan aletler ile hastalar arasında yayılabilmektedir. Bu nedenle CTX-M beta-laktamaz üretimi olmasa bile bu geni içeren bakterilerin takibi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Escherichia coli, geniş spektrumlu beta-laktamaz, CTX-M

Tablo 1

Hedef*	Primer	5´→3´ Oligonükleotid Dizisi	Ürün (bp)	Nükleotid (bp)
CTX-M grup I	CTXM1-F3 CTXM1-R2	GAC GAT GTC ACT GGC TGA GC AGC CG C CGA CGC TAA TAC A	499	416-435 914-896
CTX-M grup II	TOHO1-2F TOHO1-1R	GCG ACC TGG TTA ACT ACA ATC C CGG TAG TAT TGC CCT TAA GCC	351	313-334 663-643
CTX-M grup III	CTXM825R CTXM825F	CGC TTT GCC ATG TGC AGC ACC GCT CAG TAC GAT CGA GCC	307	475-495 781-764
CTX-M grup IV	CTXM914F CTXM914R	GCT GGA GAA AAG CAG CGG AG GTA AGC TGA CGC AAC GTC TG	474	1857-1876 2330-2311

•Grup I; CTX-M-1, -3, -10, -12, -15, -22, -23, -28, -29, ve -30. Grup II; CTX-M-2, -4, -5, -6, -7, ve -20 ve TOHO-1. Grup III; CTX-M-8. Grup IV; CTX-M-9, -13, -14, -16, -17,-19, -21, -24, -27 ve TOHO-2.

Çalışmada kullanılan primerler

Tablo 2

GSBL Testi ve yorumu		GSBL varlığı (Otomatize sistem***) Negatif n (%)	GSBL varlığı (Otomatize sistem***) Pozitif n (%)	TOPLAM	P
GSBL Disk Difüzyon Tarama Testi	Negatif	41 (27)	16 (10.6)	57	0.000
	Pozitif	9 (6)	84 (56)	93	
GSBL Kombine Disk Doğrulama Testi (CTX/CTC*)	Negatif	41 (27)	16 (10.6)	57	0.000
	Pozitif	9 (6)	84 (56)	93	
GSBL Kombine Disk Doğrulama Testi (CAZ/CZC**)	Negatif	40 (26.6)	30 (20)	70	0.000
	Pozitif	10 (6.6)	70 (46.6)	80	

*CTX/CTC: Sefotaksim-Sefotaksim/klavulonik asit
**CAZ/CZC: Seftazidim-Seftazidim/klavulonik asit
***Otomatize sistem: Vitek 2 Compact (Biomerieux, Fransa)

GSBL varlığının saptanmasında fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması

Tablo 3

*bla*CTX-M varlığı ve grubu		Köken sayısı n (%)
Negatif		49 (32.7)
Pozitif	Grup I	29 (19.3)
	Grup II	1 (0.7)
	Grup III	6 (4)
	Grup IV	14 (9.3)
	Grup I+Grup II	6 (4)
	Grup I+Grup III	1 (0.7)
	Grup I+IV	18 (12)
	Grup II+Grup IV	7 (4.7)
	Grup III+Grup IV	3 (2)
	Grup I+Grup II+Grup IV	15 (10)
	Grup II+Grup III+ Grup IV	1 (0.7)
TOPLAM		150 (100)

Kökenlerdeki blaCTX-M varlığı ve dağılımı

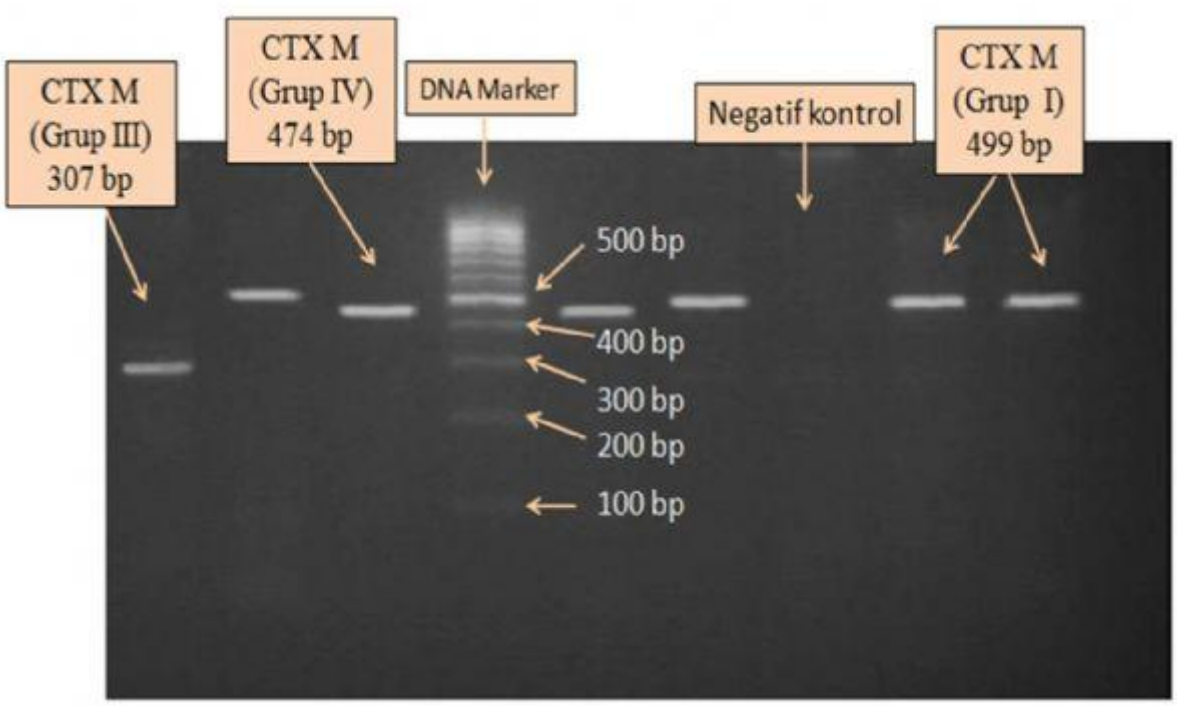
Tablo 4

Testler ve yorumları		*bla*CTX-M gen varlığı		TOPLAM	P
		Negatif n (%)	Pozitif n (%)		
GSBL varlığı (Otomatize sistem*)	Negatif	23 (15.3)	27 (18)	50	0.014
	Pozitif	26 (17.3)	74 (49.3)	100	
GSBL Disk Difüzyon Tarama Testi	Negatif	25 (16.6)	32 (21.3)	57	0.022
	Pozitif	24 (16)	69 (46)	93	
GSBL Doğrulama Testi (CTX-CTC**)	Negatif	25 (16.6)	32 (21.3)	57	0.022
	Pozitif	24 (16)	69 (46)	93	
GSBL Doğrulama Testi (CAZ-CZC***)	Negatif	27 (18)	43 (28.6)	70	0.149
	Pozitif	22 (14.69	58 (38.69	80	

*Otomatize sistem: Vitek 2 Compact
**CTX-CTC: Sefotaksim-Sefotaksim/klavulonik asit
***CAZ-CZC: Seftazidim-Seftazidim/klavulonik asit

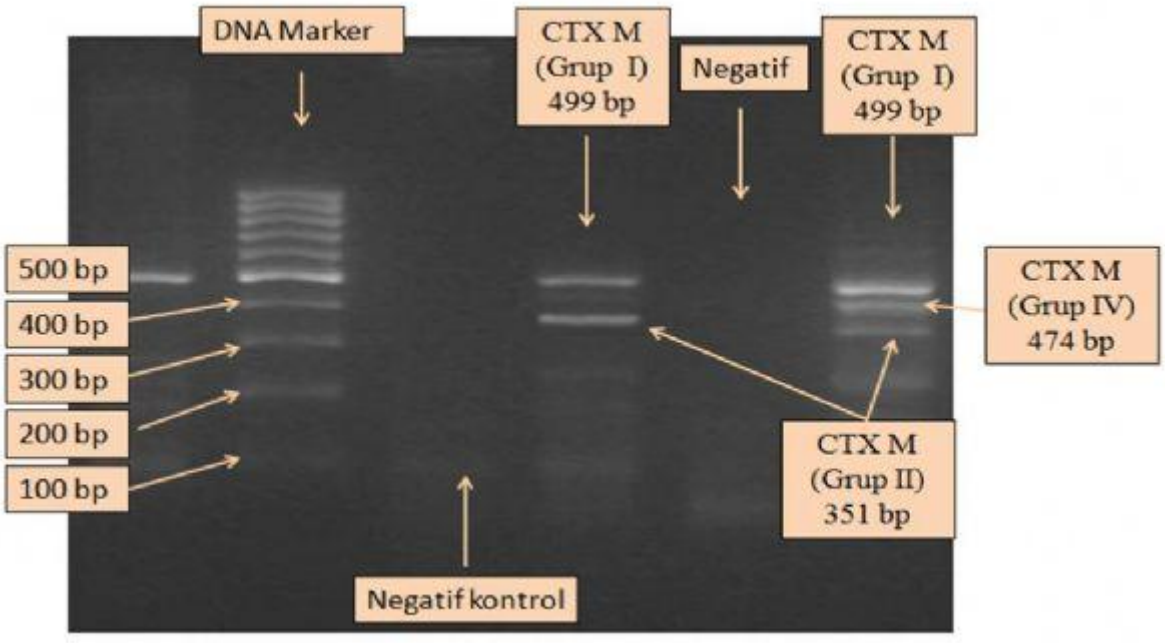
PZR yöntemi ile saptanan blaCTX-M varlığı ile diğer GSBL tarama ve doğrulama testlerinin karşılaştırılması

Resim 1



PZR ürünlerinin agoroz jeldeki görüntüleri (Grup I, III, IV CTX-M)

Resim 2



PZR ürünlerinin agoroz jeldeki görüntüleri (Grup I, II, IV CTX-M)

P36- VAN BÖLGE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ'NDE KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Yasemin Bayram[1], **Hayriye Eren[1]**, Mustafa Berktaş[2]
[1]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı,VAN*
[2]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği; Yüzüncü Yıl Tıp Fakültesi, Tıbbi ABD,VAN*

Bakteriyemi uzun süre hastanede yatan hastalarda sıklıkla rastlanmakta olup önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Bakteriyemilerde etken mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları yıllara göre değişiklikler göstermektedir. Ampirik tedaviye yol gösterici olması ve antibiyotik kullanım politikalarının belirlenmesi açısından, bakteremilere yol açan etkenlerin dağılımı ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi önemlidir.Bu çalışmada Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2011 yılı içinde gelen kan örneklerinden izole edilen mikrorganizmalar geriye dönük olarak incelendi.
Çalışmamızda Ocak 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 1312 kan örneği Bactec 9050 otomatize kan kültür sisteminde 7 gün süre ile enkübe edildi. Pozitif sinyal veren kan kültür şişeleri değerlendirmeye alındı. Üreyen bakterilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntem ve Phonex TM100 (Becton Dickinson, USA) otomotize bakteri identifikasyon sistemi kullanılarak yapıldı. Antimikrobiyal direnç paterni yine aynı otomotize sistem kullanılarak ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle Clinical and Laboratory Standards Institute kriterlerine göre yapıldı.
Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çalışma tarihleri arasında kabul edilen toplam 1312 kan örneğinin 289 (% 22)'sinde üreme saptanırken, 681 (% 52)'si steril, 342 (% 26)'sı kontaminasyon olarak kabul edildi. Gram (+) koklar %41.5, Brucella türleri % 38.6,
Gram(-)basiller %18.3, maya mantarları ise %2.1 oranında soyutlandı. Koagülaz negatif stafilokok gram pozitif koklar arasında, izolatların %68.3'ünü, Staphylococcus aureus ise %13.3"ünü oluşturdular. Gram(-) etkenler arasında %41.5 ile Acinetobacter ilk sırada yer alırken GSBL (+) E.coli %20.7, GSBL (+) Klebsiella spp. ise %11.3 sıklıkla saptandı. Metisilin direnci KNS'da %73.1, S.aureus'ta 31.2 olarak bulundu. Stafilokoklarda glikopeptid direncine rastlanmazken, 16 enterokok suşundan 4 suş glikopeptidlere dirençli olarak bulundu. Toplam 14 E. coli suşundan 11'i ESBL(+), 9 Klebsiella suşundan 6'sı ESBL(+) Klebsiella olarak bulundu. Enterobacteriaceae ailesine en etkili entibiyotik imipenem bulunurken en dirençli antibiyotik ampisilin olarak saptandı.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, Bactec kan kültür sistemi, mikroorganizma

P37- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIK DURUMLARI

Ayşe Gül Özseven, Emel Sesli Çetin, Buket Cicioğlu Arıdoğan, Esra Çiftçi
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Isparta

Amaç
Bu çalışmada Ocak -Aralık 2010 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde yatarak ve ayaktan tedavi edilen hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen enterokok türlerinin örneklere göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerin koyun kanlı agarda % 5-10 CO2'li ortamda 35 ± 2 oC'de 24-48 saat inkübasyonu sonucunda Gram pozitif kok görünümünde, katalaz testi negatif, pyrolidonyl aryl amidase testi ve eskülin hidrolizi pozitif, %6,5 NaCl'lü besiyerinde üreyen koloniler enterokok türleri olarak tanımlanmıştır. İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda penisilin, vankomisin, teikoplanin, linezolid, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, tetrasiklin ve siprofloksasin için Mueller Hinton Agar besiyerinde disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca yüksek düzey gentamisin direncini belirlemek amacıyla 120 µg'lık gentamisin diski kullanılmıştır. Kalite kontrolü için E. faecalis ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır.
Bulgular
İzole edilen toplam 380 adet enterokok türlerinin 114 (%30) tanesi ayaktan tedavi gören poliklinik hastalarından ve 266 tanesi (%70) serviste yatmakta olan hastalardan soyutlanmıştır. İzolatların 258'i (%68) idrar, 51'i (%13) kan, 34'ü (%9) yara, 7'si (%2) balgam, 18'i (%5) vagen ve 12'si de (%3) diğer steril vücut sıvılarının (safra drenajı, karaciğer drenajı, parasentez ve torasentez) kültürlerinden izole edilmiştir (Tablo-1). En yüksek duyarlılık oranları hem poliklinik hastalarında hem de yatarak tedavi gören hastalarda vankomisin (%99.6-100), teikoplanin (%99.6-100) ve linezolid (%96-97) için gözlenmiştir. Disk difüzyon testi ile vankomisin ve teikoplanine dirençli saptanan bir izolatın E-test ve mikrodilüsyonla vankomisin için MİK düzeyi saptanarak doğrulama yapılmıştır. Penisilin için, ayaktan tedavi gören hastalarda duyarlılık oranı yüksek iken (%75), yatarak tedavi gören hastalarda daha düşük oranda (%40) tespit edilmiştir. Aynı şekilde yüksek düzey gentamisin direnci poliklinik hastalarında daha düşük saptanırken (%22) hastanede yatan hastalarda daha yüksek oranda (%54) gözlenmiştir. Eritromisin direnci de hastanede yatan hastalarda (%85), poliklinik hastalarına göre (%75) daha yüksek oranda gözlenmiştir. Farklı olarak, tetrasiklin direnci poliklinik hastalarında (%74) hastanede yatan hastalara (%50) oranla daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Siprofloksasin (%89-91) ve rifampin (%92-95) için her iki grup hastada da yüksek direnç oranları gözlenmiştir (Tablo-2).
Sonuç
Enterokoklarda bir çok antibakteriyel ajana karşı gözlenen intrensek direncin yanı sıra, bu bakterilerin yol açtığı infeksiyonların tedavisinde tercih edilen tüm ajanlara karşı gözlenen kazanılmış tipte direnç ciddi tedavi sorunlarına yol açmaktadır. Kazanılmış direnç gelişimi nedeniyle yüksek düzey aminoglikozid direncinin ortaya çıkışı tedavide aminoglikozidler ile kombine olarak hücre duvarı sentezini inhibe eden ajanların kullanılması ile elde edilen sinerjistik etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Türkiye'de pek çok merkezde yapılan değişik çalışmalarda, hastane kaynaklı enterokok infeksiyonlarında değişik oranlarda yüksek düzey aminoglikozid direnci bildirilmiştir (%22-%45). Bizim çalışmamızda özellikle hastane infeksiyonu etkeni olarak tespit edilen enterokoklarda yüksek düzey gentamisin direncinin %54 gibi ülkemizde bildirilen direnç oranlarının da üstünde bulunduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak; çalışmamızda glikopeptid ve linezolid direncinin çok düşük düzeyde saptanması nedeniyle, enterokokların neden olduğu hastane kaynaklı ciddi infeksiyonların tedavisinde, antibiyotik duyarlılık sonuçları tespit edilene kadar ampirik olarak bu ajanların tercih edilmesinin doğru bir yaklaşım olacağı söylenebilir. Ancak çok düşük düzeyde de olsa, hastanemizde glikopeptid direncinin ve linezolid direncinin de gözlenmiş olması, klinik örneklerden izole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıklarının takibinin, doğru tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde en önemli yaklaşım olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik direnci, enterokok türleri, klinik infeksiyonları

Tablo 1. Enterokokların izole edildiği örneklerin kliniklere göre dağılımı.

Örnek tipi	İdrar n	Kan n	Yara n	Balgam n	Vagen n	Diğer n	Toplam n
Yoğun bakım	34	18	-	1	-	2	55
Dahiliye	38	11	2	2	1	4	58
Pediatri	76	-	2	-	-	-	78
Enfeksiyon	22	2	1	-	-	-	25

Genel Cer.	9	7	4	-	-	3	23
Onkoloji	11	5	1	-	-	2	19
Üroloji	34	-	3	-	1	-	38
K. doğum	5	-	1	-	15	-	21
Göğüs	6	3	-	3	1	1	14
Diğer Cerrahi*	14	5	18	1	-	-	38
Diğer Dahili**	9	-	2	-	-	-	11
Toplam	258	51	34	7	18	12	380

**Diğer cerrahi: Ortopedi, Nöroşirurji, Plastik Cerrahi, Pediatrik Cerrahi, Acil servis, KBB, Kardiyovasküler Cerrahi. **Diğer dahili: Dermatoloji, Psikiyatri, Kardiyoloji, Nöroloji, FTR.*

Tablo 2. Enterokokların izole edildiği hasta gruplarına göre antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	Poliklinik Duyarlı n(%)	Servis Duyarlı n(%)
Vankomisin	114 (100)	265 (99.6)
Teikoplanin	114 (100)	265 (99.6)
Eritromisin	28 (25)	41 (15)
Penisilin	85 (75)	108 (40)
Gentamisin	89 (78)	122 (46)
Siprofloksasin	13 (11)	24 (9)
Rifampin	9 (8)	12 (5)
Linezolid	109 (96)	257 (97)
Kloramfenikol	69 (60)	183 (69)
Tetrasiklin	30 (26)	134 (50)

P38- NOZOKOMİYAL İNFEKSİYON ETKENİ OLARAK ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACİNETOBACTER BAUMANNİİ* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Esra KOÇOĞLU, Tekin Taş, Şeyda Özsoy, Özlem Bucak
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,Bolu

Amaç
Acinetobacter baumannii, nonfermentatif bakteriler içinde yer alan gram-negatif bir kokobasildir. Acinetobacter cinsi içinde nozokomiyal infeksiyonlardan en sık izole edilen tür olmakla birlikte tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı artan oranda direnç görülmekte ve tedavide kullanılacak antibiyotik sayısı gittikçe sınırlı kalmaktadır. Antibiyotik direnç oranları hastaneden hastaneye farklılık göstermekte, tedavide uygun antibiyotik protokolünün belirlenmesi için sorun olan bakterilerin direnç durumunun bilinmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmada hastanemizde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Mart 2010- Temmuz 2011 tarihleri arasında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yatan ve hastane infeksiyonu tanısı almış hastalardan izole edilen 99 *Acinetobacter baumannii* suşu dahil edildi. Üreyen mikroorganizmalar yarı otomatik bakteri tanımlama sistemi APİ GN (bioMerieux, France) ile tanımlandı. Suşların antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışıldı.
Bulgular
Örneklerin %38,8'i (n=38) yoğun bakım ünitesinden, %32,3'ü (n=32) dahili kliniklerden, %29,3'ü (n=29) de cerrahi kliniklerden gönderilmiştir. İzole edilen suşların Kolistin direnç oranı %3,6, Tigesiklin direnç oranı %8, Gentamisin direnç oranı %34.7 ve İmipenem direnç oranı % 59,6 bulunurken sefepim, seftazidim ve seftriaksona sırasıyla %81,8, %88,9 ve %92,9 oranında direnç bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere direnç oranları Tablo 1'de verilmiştir.
Sonuç
Çalışmamızda kolistin, tigesiklin ve nispeten gentamisin ve imipenem diğer antimikrobiyallere göre daha duyarlı bulunmuş, bunların hastane infeksiyonlarının tedavisinde daha etkin olacağı ve ampirik tedavide tercih edilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik direnci, nozokomiyal infeksiyon

Tablo 1 Acinetobacter baumanni izole edilen örneklerin dağılımı

	Örnek Sayısı	%
Balgam	37	37,4
İdrar	12	12,1
Kan	15	15,1
Plevral mayi	1	1
Yara	34	34,4
Toplam	99	100

Tablo 2 Acinetobacter baumannii suşlarında antibiyotiklere direnç oranları

	Dirençli suş	%	Test Edilen Toplam Suş
Kolistin	1	3,6	28
Tigesiklin	2	8	25
Gentamisin	34	34,7	98
Imipenem	59	59,6	99
Ampisilin Sulbactam	41	77,4	53
Amikasin	77	78,6	98
Tikarsilin klavulonik asit	78	80,4	97

Sefepim	81	81,8	99
Seftazidim	88	88,9	99
Ciprofloksasin	89	89,9	99
Trimetoprim Sulfametoksazol	87	89,7	97
Seftriakson	92	92,9	99

P39- *SALMONELLA* SPP. SUŞLARININ AZİTROMİSİNE İN VİTRO DUYARLILIKLARININ E-TEST YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Hülya İren Güvenç[1], Betil Özhak Baysan[1], Dilara Öğünç[1], Gözde Öngüt[1], Filiz Günseren[2], Meral Gültekin[1]
[1]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,Antalya*
[2]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD,Antalya*

Amaç
Enterik ateşe neden olabilen *Salmonella* türleri son yıllarda ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kloramfenikol gibi geleneksel antibiyotiklere ve kinolonlara karşı direnç geliştirmiştir. Çoklu ilaca dirençli (MDR) ve kinolon dirençli izolatlar için tedavi seçenekleri arasında parenteral seftriakson, oral sefiksim ve oral azitromisin sayılabilir. Günümüzde azitromisin komplike olmayan invaziv*Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada *Salmonella* spp. suşlarının azitromisine in vitro duyarlılıklarının E-test yöntemiyle araştırılması amaçlandı.
Yöntem
Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında, 2004 ve 2011 yılları arasında farklı klinik örneklerden izole edilen 60 *Salmonella* spp. suşu çalışmaya alındı. Suşların stok kültürlerinden Columbia agar besiyerine pasaj yapıldı. Plaklar 37°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra elde edilen saf koloniler kullanılarak, suşların azitromisin duyarlılığı E-test (BioMerieux, Fransa) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı ve değerlendirildi. *Salmonella* spp. suşları için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından azitromisin duyarlılık sınır değerleri belirlenmemiş olduğundan, çalışmamızda duyarlılık sınır değeri olarak daha önce yapılmış in vitro çalışmalarda belirlenen >=32 μg/ml değeri kullanıldı. Azitromisin MİK50 ve MİK90 değerleri belirlendi.
Bulgular
Salmonella spp. suşları için azitromisin MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 2 μg/ml ve 4 μg/ml olarak bulundu.
Sonuç:
Çalışmamızın sonuçlarına göre azitromisinin *Salmonella* spp. suşlarına in vitro olarak etkili bir antibiyotik olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Azitromisin, E-test, *Salmonella spp.*

P040- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Hatice Türk Dağı, Uğur Arslan, İnci Tuncer
Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Konya

Amaç
Nozokomiyal infeksiyonların önde gelen etkenlerinden olan enterokoklarda son yıllarda antimikrobiyallere karşı artan oranda direnç gözlenmektedir. Bu çalışmanın amacı, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan hastaların, kan kültürlerinden izole edilen Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium suşlarında antibiyotik direnç oranlarını belirlemektir.
Gereç-Yöntem
2007-2010 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere direnç oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve Phoenix 100 BD Otomatize Sistemi (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks) kullanılarak yapılmıştır. Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri dikkate alınarak Kirby–Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile vankomisine dirençli bulunan suşlarda minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri E-test yöntemi ile belirlenmiştir.
Bulgular
Çalışmaya alınan 306 suştan 142'si Enterococcus faecium, 164'ü Enterococcus faecalis olarak tanımlanmıştır. E. faecium suşlarında ampisilin, siprofloksasin, vankomisin, teikoplanin ve linezolide direnç oranları, sırasıyla % 93.7, % 85.2, %16.1, %16.1, %2.1, E. faecalis suşlarında ise % 6.1, % 61,%3, %1.8, % 2.4 olarak bulunmuştur. Yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direnci, E. faecium suşlarında sırasıyla % 66.2, % 66.9, E. faecalis suşlarında ise %42.7, %52.4 olarak tespit edilmiştir. Vankomisine dirençli suşların E-test yöntemi ile vankomisin MİK değerleri >256 [?]µg/mL olarak saptanmıştır.
Sonuç
Hastanemizde E. faecium suşlarında vankomisin ve teikoplaninin direnç oranı %16.1 iken, E. faecalis suşlarında vankomisin direnci %3, teikoplanin direnci %1.8 olarak bulunmuştur. VRE kolonizasyonu ve infeksiyonu gelişiminde en önemli risk faktörü vankomisin kullanımıdır. Enterokokların hastane içinde yayılımının önlenmesi için vankomisinin akılcı kullanımı, sağlık personelinin eğitilmesi, mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanılması ve infeksiyon kontrol önlemlerine uyulması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Enterokoklar, antibiyotik direnci, kan kültürü

Tablo1. Enterokokların İzole Edildikleri Kliniklere Göre Dağılımı

Klinikler	E.fecalis (n=164) Sayı (%)	E.faecium(n=142) Sayı (%)
Göğüs Hastalıkları Yoğun Bakım	27(16.5)	13(9.2)
Reanimasyon Yoğun Bakım	26(15.9)	31(21.8)
Nöroloji Yoğun Bakım	20(12.2)	15(10.6)
İç hastalıkları	17(10.4)	9(6.3)
Nöroloji	17(10.4)	4(2.8)
Acil Yoğun Bakım	13(7.9)	14(9.9)
İç hastalıkları Yoğun Bakım	8(4.9)	18(12.7)
Pediatri	6(3.7)	7(4.9)
Genel Cerrahi Yoğun Bakım	5(3.0)	6(4.2)
Pediatri Yoğun Bakım	5(3.0)	6(4.2)
Acil Servis	4(2.4)	2(1.4)
Göğüs Cerrahisi	3(1.8)	5(3.5)
Kalp Damar Cerrahisi Yoğun Bakım	3(1.8)	2(1.4)
Nöroşirürji Yoğun Bakım	2(1.2)	3(2.1)
Kalp Damar Cerrahisi	2(1.2)	2(1.4)
Diğer Klinikler	6(3.7)	5(3.5)
Toplam	164(100)	142(100)

Tablo2. Enterokokların Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranları

Antibiyotikler	E.fecalis (n=164) Sayı (%)	E.faecium (n=142) Sayı (%)
Eritromisin	129 (78.7)	141 (99.3)
Siprofloksasin	100 (61)	121 (85.2)
Streptomisin	86 (52.4)	95 (66.9)
Gentamisin	70 (42.7)	94 (66.2)
Ampisilin	10 (6.1)	133 (93.7)
Linezolid	4 (2.4)	3 (2.1)
Vankomisin	5 (3.0)	23 (16.1)
Teikoplanin	3 (1.8)	23 (16.1)

P41- Batman Bölge Devlet Hastanesi'nde Hastane İnfeksiyonları, Etken Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Dirençleri

Hatice Türk Dağı[1], Duygu Mert[2]
[1]*Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Konya*
[2]*Batman Bölge Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Batman*

Amaç
Bu çalışmada Batman Bölge Devlet Hastanesi'nde hastane infeksiyonlarının oranı ve bu infeksiyonlardan en sık izole edilen bakterilerin antibiyotiklere direnç oranları incelenmiştir.
Gereç-Yöntem
2009-2010 yıllarında prospektif ve aktif sürveyans yöntemi ile izlenen ve Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kriterlerine göre hastane infeksiyonu tanısı alan hastalardan gönderilen çeşitli örneklerden kanlı agar ve EMB agara ekim yapılmış, 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmış, antibiyotik duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri temel alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.
Bulgular
Hastanemizde 2009 yılında 3910 hasta yatırılarak tedavi edilmiş ve 36 hastane infeksiyonu atağı belirlenmiştir. Hastane infeksiyonu hızı %0.92 olarak saptanmıştır. Hastane infeksiyonlarının kliniklere göre dağılımını incelediğimizde, ilk üç sırayı, Üroloji kliniği(%44.44), Ortopedi kliniği (%16.7) ve Dahiliye kliniği(%16.7) almıştır. En sık hastane infeksiyonu tiplerini sırasıyla; cerrahi alan infeksiyonları (%80.5), kan dolaşımı infeksiyonları (%11.1) ve üriner sistem infeksiyonları (%8.3) oluşturmaktadır. En sık izole edilen üç patojen sırasıyla Pseudomonas spp.(%55.3), Escherichia coli(%18.4) ve Enterobacter spp. (%7.9) olmuştur.
2010 yılında 12359 hasta yatırılarak takip ve tedavi edilmiş ve 53 hastane infeksiyonu atağı belirlenmiştir. Hastane infeksiyonu hızı %0.43 olarak saptanmıştır. Hastane infeksiyonlarının kliniklere göre dağılımında ise, ilk üç sırayı, Yoğun Bakım Ünitesi (%64.2), Dahiliye kliniği (%7.5) ve Nöroloji Kliniği(%7.5) almıştır. En sık hastane infeksiyonu tiplerini sırasıyla; pnömoni (%50.9), kan dolaşımı infeksiyonları (%18.9) ve üriner sistem infeksiyonları (%10.8) oluşturmaktadır. En sık izole edilen üç patojen sırasıyla Pseudomonas spp. (%32.1), Acinetobacter spp. (%23.2) ve Escherichia coli (%17.9) olmuştur.
Amikasin, imipenem ve piperasilin/tazobaktamın Pseudomonas spp. ve Acinetobacter spp. suşlarına diğer antibiyotiklerden daha etkili olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen E.coli suşlarının %80'inde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) üretimi belirlenmiştir.
Sonuç
Hastanemizde hastane infeksiyonu hızı 2009 yılında %0.92, 2010 yılında %0.43 olarak saptanmıştır. Hastane infeksiyonlarından en sık Pseudomonas spp. izole edilmiş ve en etkili antibiyotiğin amikasin olduğu belirlenmiştir. Bu sürveyans çalışması hastanemizde etkin infeksiyon kontrol stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Hastane infeksiyonu, sürveyans, antibiyotik direnci

Tablo1.Hastane infeksiyonlarının branş gruplarına ve yıllara göre dağılımı

Branş grubu	Yıl	Yatan hasta sayısı	Hastane infeksiyonu sayısı	Hastane infeksiyonu hızı
Dahili branşlar	2009	1291	7	0.54
	2010	2770	10	0.36
Cerrahi branşlar	2009	2552	26	1.02
	2010	8637	9	0.10
Yoğun bakım ünitesi	2009	67	3	4.48
	2010	952	34	3.57
Toplam	2009	3910	36	0.92
	2010	12359	53	0.43

Tablo 2. Hastane infeksiyonu etkeni olarak en sık izole ettiğimiz mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç oranları (%)

Antibiyotikler	*Pseudomonas spp.*	*E.coli*	*Acinetobacter spp.*
Ampisilin	TE*	90	TE
Amoksisilin-klavulanat	TE	86	TE
Seftriakson	TE	80	90
Seftazidim	20	80	90
Sefepim	40	80	TE
Siprofloksasin	30	78	70
Gentamisin	60	60	75
İmipenem	15	0	40
Tetrasiklin	90	80	65
Trimetoprim/sülfametoksazol	TE	75	TE
Piperasilin/tazobaktam	15	10	50
Aztreonam	43	89	TE
Amikasin	10	10	20
Ampisilin-sulbaktam	TE	TE	90

*TE:Test edilmedi.

P42- TİCARİ OLARAK SATILAN DİŞ MACUNLARININ ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO ÇALIŞILMASI

J. Sedef Göçmen, Deniz Akçagöz, Ege Su Çağlar, Ayça Deniz Ertorsun, Ezgi Sümer, Mustafa Taşdemir
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Amaç
Diş çürüğü, diş plağında Streptococcus mutans, Lactobasilius spp. gibi mikroorganizmaların sayıca artmasıyla oluşur. Bu bakteriler karbonhidratları çok hızlı bir şekilde parçalayarak asit oluştururlar. Bu nedenle, çürük önleyici girişimlerin amaçlarından biri de bu asit oluşumunu engellemektir. Candida albicans da ağızda aftöz lezyonlar yapmakta ayrıca diş protezi olanlarda sık enfeksiyona neden olabilmektedir. Basit cümleyle diş çürüğü ve periodontal problem de neden bakteri yani dental plaktır, çözüm diş fırçalamak yani ağız hijyenidir. Bu nedenle bu çalışmada farklı marka ve içerikte diş macunlarının bu bakteriler üzerindeki etkisi araştırılmaktadır.
Gereç-Yöntem
Test edilecek diş macunlarını belirlemek için Başkent Üniversitesi öğrencileri arasından rasgele seçilen 169 kişiye anket uygulanmıştır. Anket sonuçlarına göre seçilen onüç ticari olarak satılan diş macununun in vitro olarak Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus, Candida albicans üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırılmalı olarak agar well difüzyon yöntemi kullanılarak olarak incelenmiştir. 13 diş macunu tercih edilme sayısından bağımsız olarak rastgele numaralandırılmıştır.
Pozitif kontrol olarak klorheksidin gargara, negatif kontrol olarak boş kuyucuk kullanılmıştır.
Antibiyogram yapılırken önerilen şekilde bakteri sulandırımları hazırlanmış, bu karışımlar eküvyonla, hazırlanan Koyun kanlı ve kansız Müller Hinton besi yerlerine inoküle edilmiştir. Kuyucuklar açılmış ve test edilen diş macunları kuyucuklara (her biri için 6 kuyucuk olacak şekilde) konulmuştur. Kuyucuklara konan diş macunlarının ağırlıkları tartılmış ve 37° C de 24 saat beklemenin ardından oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüştür.
Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.
Bulgular
Zon çaplarına göre; kontrolle karşılaştırıldıklarında, 2 numaralı diş macunu L.acidophilus ve C.albicans'a, 8 numaralı diş macunu S. mutans' a daha az etki yapmıştır.
Yüzde etkinlik olarak değerlendirildiğinde (mm/g); hiçbirisi kontrol kadar etkili olmamıştır.
Sonuç
Diş macunlarının etkinliği pozitif kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Buna bağlı olarak diş macunlarının antimikrobiyal etkinliğine fazla anlam yüklememek gerekmektedir. Diş çürüklerine engel olmak için önemli olan dişin mekanik temizliğidir.

Anahtar Kelimeler: Ağız florası, diş macunu, antibakteriyel etki, antibiyogram

Anket sonuçları ve diş macunu seçme nedenleri



Diş Macunu	Anket Sonucu
colgate total gelişmiş ferah	7
colgate total beyazlatıcı	12
colgate sensitive prorelief	9
signal beyaz güç	9
signal white now	6
signal white now ice cool mint	6
sensodyne pronamel	12
sensodyne tam koruma ve beyazlatma	14
sensodyne beyazlatıcı	16
sensodyne florürlü	11
sensodyne tam koruma	11
sensodyne florürlü ferah nefes	8
ipana komple bakım 7	14

Kriterler	Sayı
Fiyat	23
Diş Hekiminin Tavsiyesi	43
Reklamlar	22
Kutu Üzerinde Yazan Etki	52
İçindeki Maddeler	26
Diğer	13

Tablo 1

Diş Macunlarının Duyarlılık Zon Çapları

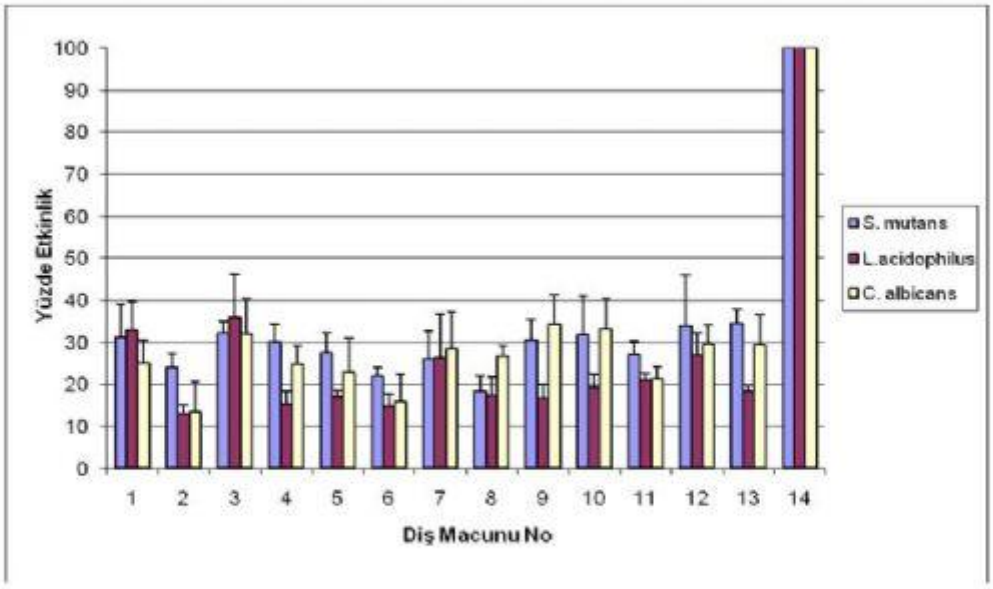
Diş macunlarının Duyarlılık zon çapları (mm)

DİŞ MACUNU	S.mutans		L.acidophilus		C.albicans	
	Ortalama zon çapı	p	Ortalama zon çapı	p	Ortalama zon çapı	p
1	24,1	0,0037	32,0	0,0017	31,3	0,0029
2	14,1	0,0750	12,5*	0,0269	13,5*	0,0032
3	21,5	0,0032	32,0	0,0017	30,8	0,0029
4	21,5	0,0145	20,0	0,7394	29,6	0,0032
5	15,3	0,2487	15,1	0,3566	23,3	0,0032
6	15,5	0,1202	14,3	0,6786	20,8	1,0000
7	17,3	0,8691	29,5	0,0031	30,8	0,0029
8	12,5*	0,0059	23,1	1,0000	32,0	0,0018
9	19,6	0,0668	17,5	0,1953	30,5	0,0024
10	19,8	0,0492	20,5	0,0032	32,0	0,0018
11	17,1	0,8684	32,0	0,0017	32,0	0,0018
12	17,3	0,8705	30,1	0,0023	32,0	0,0018
13	18,5	0,4108	21,0	0,0031	24,0	0,0034
(Kontrol) 14	17,3		16,5		19,5	

* P < 0.05

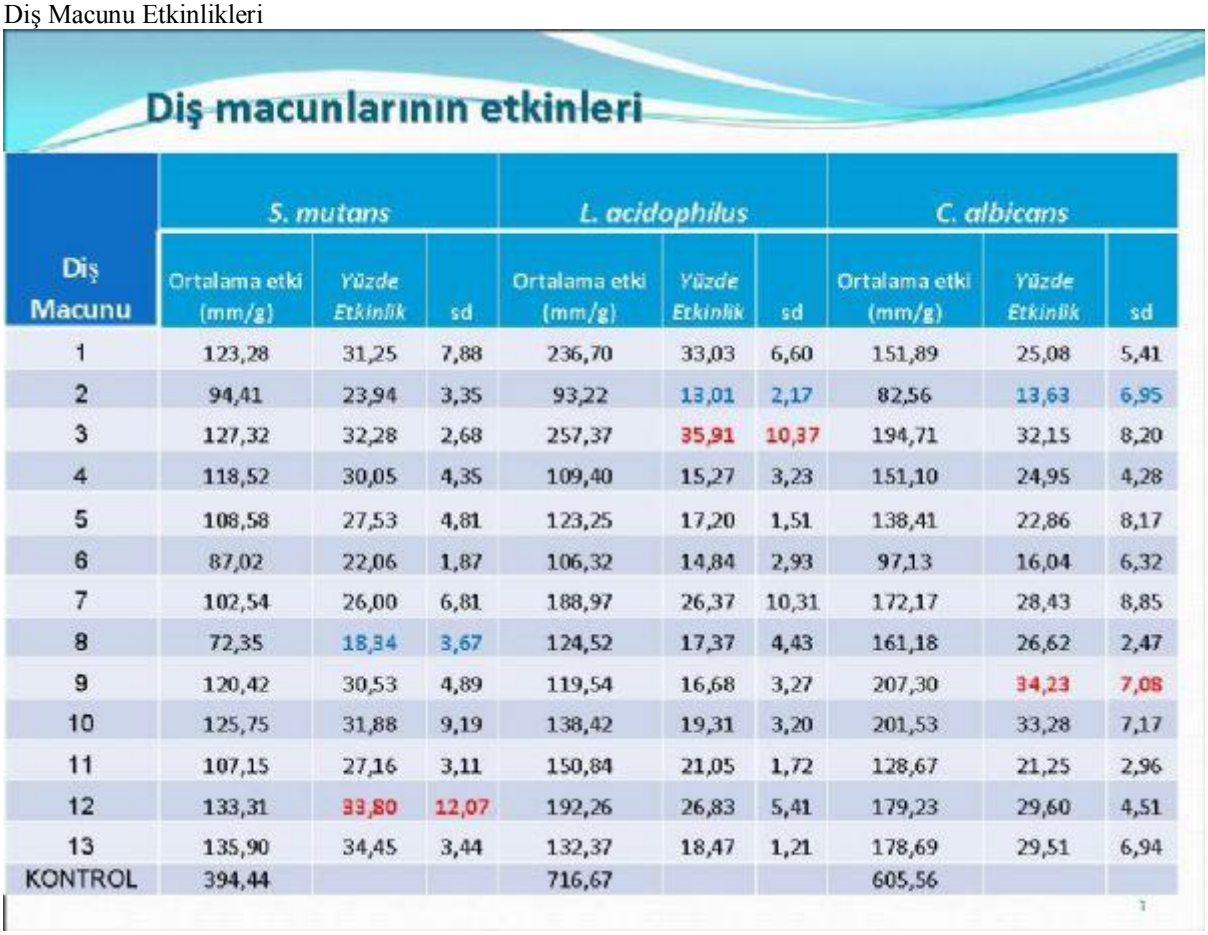
Tablo 2

Diş Macunu etkinlik grafiği



Grafik 1

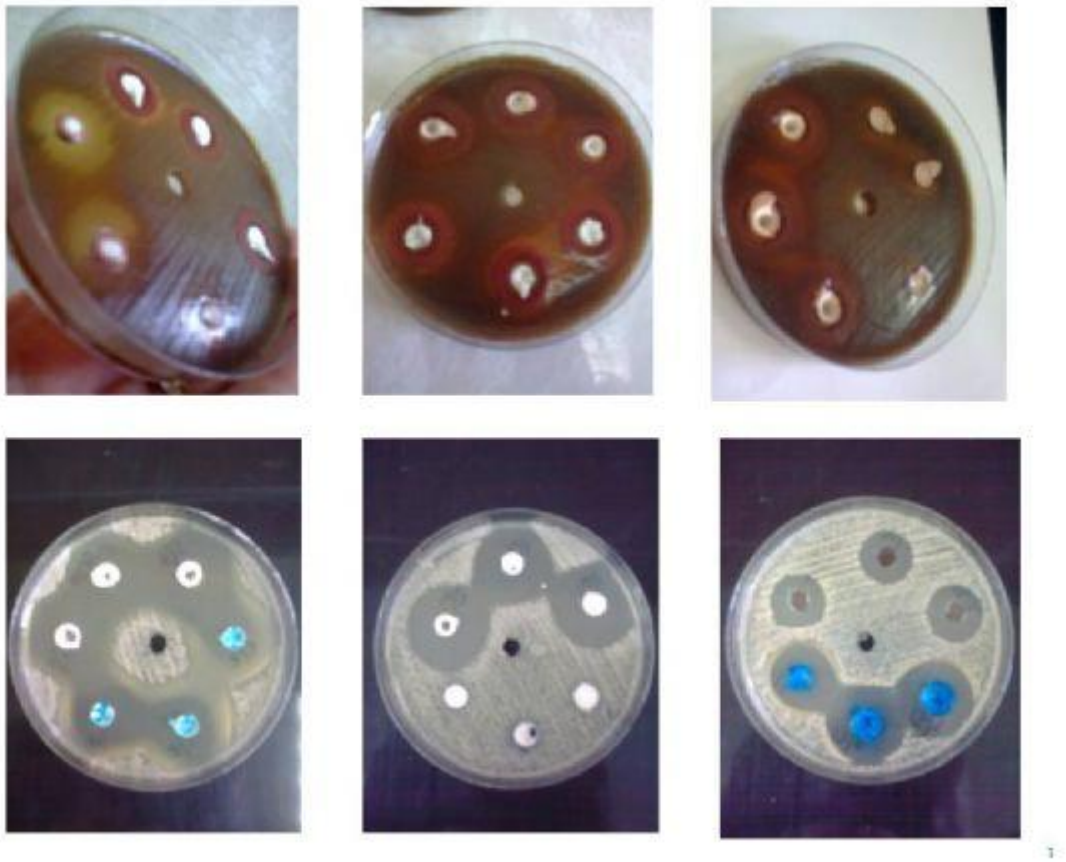
Diş Macunu Etkinlikleri



Diş Macunu	*S. mutans*			*L. acidophilus*			*C. albicans*		
	Ortalama etki (mm/g)	*Yüzde Etkinlik*	sd	Ortalama etki (mm/g)	*Yüzde Etkinlik*	sd	Ortalama etki (mm/g)	*Yüzde Etkinlik*	sd
1	123,28	31,25	7,88	236,70	33,03	6,60	151,89	25,08	5,41
2	94,41	23,94	3,35	93,22	13,01	2,17	82,56	13,63	6,95
3	127,32	32,28	2,68	257,37	35,91	10,37	194,71	32,15	8,20
4	118,52	30,05	4,35	109,40	15,27	3,23	151,10	24,95	4,28
5	108,58	27,53	4,81	123,25	17,20	1,51	138,41	22,86	8,17
6	87,02	22,06	1,87	106,32	14,84	2,93	97,13	16,04	6,32
7	102,54	26,00	6,81	188,97	26,37	10,31	172,17	28,43	8,85
8	72,35	18,34	3,67	124,52	17,37	4,43	161,18	26,62	2,47
9	120,42	30,53	4,89	119,54	16,68	3,27	207,30	34,23	7,08
10	125,75	31,88	9,19	138,42	19,31	3,20	201,53	33,28	7,17
11	107,15	27,16	3,11	150,84	21,05	1,72	128,67	21,25	2,96
12	133,31	33,80	12,07	192,26	26,83	5,41	179,23	29,60	4,51
13	135,90	34,45	3,44	132,37	18,47	1,21	178,69	29,51	6,94
KONTROL	394,44			716,67			605,56		

Tablo 3

Fotograf 1



Kanlı Müller Hinton agar ve Sabouraud Dekstroz agar plaklarında açılmış olan kuyucuklara konulmuş diş macunları ve bakterilerin üremesi

P43- ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ GRAM NEGATİF HASTANE İZOLATLARINDA DEZENFEKTAN DUYARLILIĞININ FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Didem Kart[1], Melike Ekizoğlu[1], Ceren Özkul[1], Dolunay Gülmez[2], **Meral Özalp[1]**
[1]*Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD , Ankara*
[2]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ABD , Ankara*

Amaç
Dezenfektanlar hastane enfeksiyonlarının kontrolünde önemli bir role sahip olup, uygun şekilde kullanılmadıkları zaman biyosidlere karşı duyarlılığın azalmasına, özellikle de antibiyotik direncinin seçilmesine yol açabilmektedirler. Bu çalışmanın amacı, integron üzerinde taşınan ve kuarterner amonyum bileşiklerine karşı dirençten sorumlu olduğu bilinen qacEΔ1 geninin çoklu ilaca dirençli gram negatif bakterilerde genotipik olarak araştırılması ve kantitatif süspansiyon testi ile fenotipik biyosid direnciyle ilişkili olup olmadığının belirlenmesidir.
Yöntem
Hacettepe Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji laboratuvarında izole edilerek tanımlanan ve çoklu ilaca dirençli olduğu belirlenen Acinetobacter baumannii (n=40) ve Pseudomonas aeruginosa (n=20) izolatları çalışmaya alındı.Kantitatif süspansiyon testinde (EN 1040 Bakterisidal aktivite testi) dezenfektan olarak bir kuarterner amonyum bileşiği olan Surfanios(™) (N-(3-aminopraphyl)-N-dodecylpropane-1,3-diamine,didecyldimethylammonium chloride)'un 0.25 % (v/v) konsantrasyonu kullanıldı. Genotipik olarak qacEΔ1 geni varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı.
Bulgular
A.baumannii ve P. aeruginosa izolatları için qacEΔ1 geni pozitifliği sırasıyla %55 (n=22) ve %20 (n=4) olarak bulundu.(Toplam %43.3) Kantitatif süspansiyon testi sonuçlarına göre dezenfektanın önerilen kullanım konsantrasyonunda (0.25 % (v/v) çalışılan tüm suşlara karşı bakterisidal aktivite gösterdiği belirlendi.(Koloni oluşturan ünite(cfu) >5 log azalma)
Sonuç
Çalışmada kullanılan kuarterner amonyum bileşiği dezenfektan olarak çoklu ilaca dirençli P.aeruginosa ve A. baumannii klinik izolatlarına karşı etkili bulunmuştur. Biyosidlere karşı dirençte rol oynayan qacEΔ1 geninin A. baumannii izolatlarında daha sık bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm suşlar çoklu ilaca dirençli olmasına ve suşların %43.3'ü dezenfektan direncinin belirteci olan qacEΔ1 genini bulundurmasına rağmen tümü fenotipik olarak dezenfektana duyarlı bulunmuştur.Sonuç olarak bu çalışmada az sayıda bakteri ile elde edilen verilere göre dezenfektan direnci ile antibiyotik direnci arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak çoklu ilaca dirençli hastane izolatlarının sayılarının arttırılarak çalışmaların devam etmesi ile bu konuya daha doğru bir yorum getirilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: qacEΔ1, dezenfektan direnci, kuarterner amonyum bileşikleri

Tablo 1. Çalışılan izolatların antibiyotik direnç profilleri (%)

	AN	ATM	C	CAZ	CIP	CTX	FEP	GM	IPM	MER	PIP	SXT
P. aeruginosa (n=20)	15	55	35	55	50	55	55	55	55	30	40	65
A. baumanii (n=40)	70	82.5	82.5	80	55	80	72.5	72.5	80	60	77.5	72.5

AN:Amikasin, ATM:Aztreonam, C:Kloramfenikol, CAZ:Seftazidim, CIP:Siprofloksasin, CTX:Sefotaksim, FEP:Sefepim, GM:Gentamisin, IPM:İmipenem, MER:Meropenem, PIP:Piperasilin, SXT:Kotrimoksazol

Tablo 2. Bakterilerde qacEΔ1 gen sıklığı, bölüm ve izole edildiği klinik örneklerin dağılımı.

		Bölüm		Örnek Türü	
	n (%)	Servis	Yoğun Bakım	Kan	Kateter
qacEΔ1 (+)	26(43.3)	19	7	18	8
P. aeruginosa	4 (20.0)	4	-	4	-
A. baumannii	22 (55.0)	7	15	14	8
qacEΔ1 (-)	34 (56.7)	25	9	18	16
P. aeruginosa	16 (80.0)	7	1	8	-
A. baumannii	18 (45.0)	16	10	11	15

P44- Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten Escherichia coli ve Klebsiella spp suşlarında TEM ve SHV varlığı ile antibiyotik duyarlılıkları

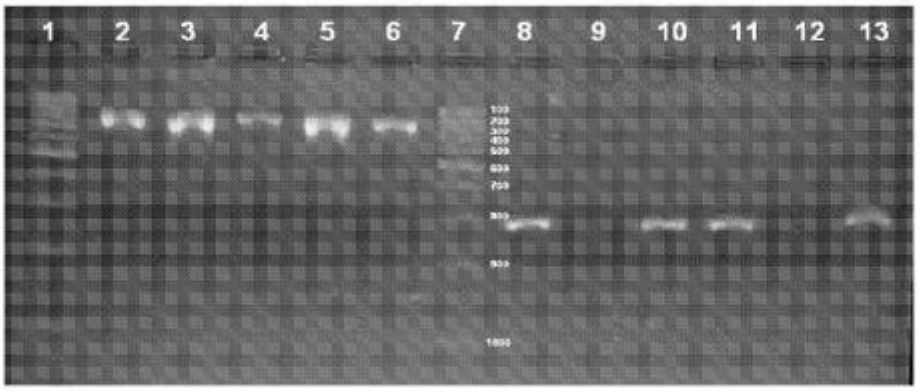
Nuran Akmirza İnci[1], İlhami Çelik[2], Uğur Arslan[3]
[1]*Şehitkâmil Devlet Hastanesi, Şehitkâmil, Gaziantep*
[2]*Eğitim Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[3]*Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Konya*

Amaç
Hastanemizde Ekim 2006-Ekim 2007 tarihleri arasında yatan hastalardan izole edilmiş genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten 50 Escherichia coli ve 50 Klebsiella species suşunda TEM ve SHV varlığının sıklığının ve bu şuşlarda antibiyotik duyarlılık durumunun araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute kriterlerine göre Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile, GSBL üretiminin belirlenmesi ise çift disk sinerji testi kullanılarak yapılmıştır. GSBL pozitif olduğu gösterilen suşların genotipik direnç paternleri polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile belirlenmiştir.
Bulgular
GSBL üretimi olduğu tespit edilen tüm izolatların %75'i idrar örneklerinden elde edilirken geri kalanı cerrahî yara kültürleri, kan, endotrakeal aspirat (ETA) ve diğer kültür örneklerinden izole edildi. İzole edilen hem E. coli hem de Klebsiella spp. şuşlarında karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç saptanmadı. Beta-laktam grubu antibiyotikler dışında diğer grup antibiyotikler arasında tüm suşlara en duyarlı antibiyotiğin amikasin olduğu gözlendi. E. coli için amikasin duyarlılığı %94, K. oxytoca için %92, K. pneumoniae için %86 olarak bulundu. E. coli suşlarında en az duyarlılılık siprofloksasine karşı gözlenirken (%12), K. pneumoniae (%11) ve K. oxytoca (%54) suşlarında ko-trimoksazole karşı tespit edildi. E. coli suşlarının 38'inde (%76) TEM enzimi pozitif olarak saptandı. Endotrakeal aspirat, cerrahi alan infeksiyonu ve kandan izole edilen tüm örneklerde TEM enzimi pozitifti. Klebsiella spp. suşlarının ise 43'ünde (%86) SHV enzimi pozitifti. SHV pozitif suşların 33'ü (%76,7) K. pneumoniae, 10'u (% 23,3) K. oxytoca idi. İdrar ve endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen Klebsiella suşlarında SHV pozitiflik oranı (sırası ile %91,7 ve %100) daha yüksekti.
Sonuç
Hastanemizde yatan hastalardan izole edilen GSBL pozitif suşlardaki antibiyotik direnç durumunun, TEM ve SHV oranlarının ülkemiz ve diğer ülkelerdeki ile benzer olduğu görüldü. Ancak tüm hastanelerde olduğu gibi hastanemizde de yaygın antibiyotik kullanımının olması bu enzimlerin neden olduğu direnç durumunun yakın gelecekte daha fazla sorun oluşturacağının habercisidir. Bu nedenle dönem dönem hastane ve bölge genelinde bu enzimlerin sıklığı ve antibiyotik direnç durumunun araştırılması; klinisyenlerin bu enzimler ve direnç durumu hakkında bilgilendirilmeleri tedaviye yön verme açısından yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Escherichia coli, Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, Klebsiella spp, Polimeraz zincir reaksiyonu, TEM ve SHV varlığı

Şekil 1. Elektroforezde TEM ve SHV bantlarının gösterilmesi.

Şekil 1. Elektroforezde TEM ve SHV bantlarının gösterilmesi.



Açıklama: 1. bant SHV için, 7. bant TEM için DNA moleküler ağırlık standardını göstermektedir (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, #SMO241, Fermentas Ontario, Kanada). 2., 3. ve 5. bantlar SHV (291 bp) pozitif örneklere, 4. ve 6. bantlar SHV negatif örneklere ait bantlardır. 8., 10., 11., 13. bantlar ise TEM (836 bp) pozitif örneklere ait iken 9. ve 12. bantlar TEM negatif örneklerdir.

Tablo 1. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları (%).

Tablo 1. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları (%).

	E. coli	*K. pneumoniae*	*K. oxytoca*	Toplam
İmipenem	100	100	100	100
Meropenem	100	100	100	100
Amikasin	94	86	92	91
Sefoperazon-sulbaktam	80	54	54	67
Sefoksitin	76	54	77	68
Piperasilin-tazobaktam	66	43	46	55
Trimetoprim-sülfametoksazol	44	11	54	33
Amoksisilin-klavulonat	14	14	15	14
Aztreonam	14	22	15	17
Siprofloksasin	12	51	77	35

Tablo 2. E. coli'de izole edildiği yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı [n(%).]

Tablo 2. *E. coli*'de izole edildiği yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı [n(%).]

Örnek	TEM(+)	TEM(-)	Toplam
İdrar	28 (70)	12 (30)	40 (80)
Endotrakeal aspirat	1 (100)	0	1 (2)
Cerrahi yara	3 (100)	0	3 (6)
Kan	5 (100)	0	5 (10)
Diğer	1 (100)	0	1 (2)
Toplam	38 (76)	12 (24)	50 (100)

Tablo 3. K. pneumoniae ve K. oxytoca suşlarında izole edildikleri yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı.

Tablo 3. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarında izole edildikleri yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı.

		MİKROORGANİZMALAR					
		K. pneumoniae		*K. oxytoca*		TOPLAM	
ÖRNEKLER	ENZİM TİPİ	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
İdrar	SHV(-)	2	8.3	2	18.2	4	11.4
	SHV(+)	22	91.7	8	81.8	31	88.6
ETA	SHV(-)	-	-	-	-	-	-
	SHV(+)	6	100	-	-	6	100
Cer. Yara	SHV(-)	1	33.3	1	50	2	40
	SHV(+)	2	66.7	1	50	3	60
Kan	SHV(-)	1	33.3	-	-	1	33.3
	SHV(+)	2	66.7	-	-	2	66.7
Diğer	SHV(-)	-	-	-	-	-	-
	SHV(+)	1	100	-	-	1	100
TOPLAM	SHV(-)	4	10.8	3	27.1	7	14
	SHV(+)	33	89.1	10	76.9	43	86

P45- *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* KÖKENLERİNDE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ ORANININ VE AMPİSİLİNE DİRENÇ MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI

Yavuz Okulu**, Murat Telli,** Mete Eyigör, Berna Gültekin, Neriman Aydın
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Aydın

Amaç
Haemophilus influenzae solunum sisteminde normal florada bulunmakla birlikte, akut otitis media, sinüzit, konjonktivit, pnömoni ve çocukluk çağı menenjiti gibi infeksiyonların en sık etkenlerinden biridir. *Haemophilus influenzae* infeksiyonlarında ilk tedavi seçeneği olarak bilinen ampisiline tüm dünyada %5-50 oranında direnç bildirilmektedir. Ampisilin direncinden genellikle TEM-1, daha az sıklıkla ROB-1 tip beta-laktamaz üretimi sorumludur. Beta-laktamaz negatif ampisiline direnç (BLNAR) oluşumundan ise *fts*I genindeki mutasyonların sonucunda oluşan penisilin bağlayan protein 3' teki (PBP3) değişikliklere bağlı beta-laktam antibiyotiklerin afinitesindeki azalma sorumludur. Bu çalışmanın amacı, klinik örneklerden izole edilen *H. influenzae* kökenlerinde ampisiline ve çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarını ve ampisiline direnç mekanizmalarını belirlemektir.
Yöntem
Bu çalışma Aralık 2008-Mart 2011 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 56*Haemophilus influenzae* kökeni çalışmaya dahil edilmiştir. Kökenlerin tanımlanmasında, X, V, XV faktör diskleri, yarı otomatik tanımlama sistemi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmıştır.*Haemophilus influenzae* olarak tanımlanan kökenlerin antibiyotiklere duyarlılıkları, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemiyle Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre araştırılmıştır. *Haemophilus influenzae* kökenlerinde serotip b varlığı, beta-laktamaz üretimi ve beta-laktamaz negatif ampisiline dirençli kökenlerin varlığı PZR ile araştırılmıştır. Beta-laktamaz varlığı ayrıca nitrosefin diski ile de araştırılmıştır.
Bulgular
Kökenlerin % 91,8' i solunum yolu, %5,4' ü göz, %1,8'i kan kültürü örneklerinden elde edilmiştir. Kökenlerin hiçbirinde *H.influenzae* serotip b tespit edilmemiştir. Kökenlerin hepsi amoksisilin klavulonik asit, ampisilin sulbaktam, sefepim, sefiksim, seftriakson, sefuroksim sodyum, imipenem, kloramfenikol, levofloksasin, meropenem, sparfloksasin ve tetrasikline duyarlı bulunmuştur. Test edilen kökenler; ampisiline % 92,8 duyarlı, % 5,4 orta duyarlı, % 1,8 dirençli, sefaklora % 94,6 duyarlı, % 5,4 orta duyarlı, klaritromisine % 71,4 duyarlı, % 23,2 orta duyarlı, % 5,4 dirençli, ko-trimaksazole % 50 duyarlı, % 14,3 orta duyarlı, % 35,7 dirençli tespit edilmiştir. Ampisiline dirençli olan 1 kökende beta-laktamaz üretimi (% 1,8) pozitif bulunmuştur. *fts*I-S geni tespit edilmeyen 11 (% 19,6) kökende Grup III *fts*I-BLN geni de tespit edilmemiştir. *fts*I-S geni ve Grup III *fts*I-BLN geni tespit edilmeyen 11 köken zayıf BLNAR (Grup I ve/veya Grup II) olarak kabul edilmiştir.
Sonuç
Çalışmamızda *H. influenzae* serotip b bulunmamıştır. Beta-laktamaz üretimi % 1,8 oranında bulunmuştur. Çalışmamızda yüksek düzey (Grup III) BLNAR saptanmamıştır. Zayıf BLNAR olarak değerlendirilen 11 kökenin ampisilin MİK'inin duyarlı kökenlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. BLNAR kökenlerde test edilen diğer ß-laktam antibiyotiklere de MİK'lerinin yükseldiği görülmüştür. *H. influenzae* kökenlerinde henüz yüksek bir direnç oranı olmadığı görülmüş ancak zayıf BLNAR kökenlerin varlığı ile birlikte sürveyans çalışmalarının düzenli yapılmasının gerekli olduğunu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, BLNAR, *Haemophilus influenzae*

Çalışmada kullanılan primerler ve dizinleri

Primer ismi	Gen ismi	Primer Dizini	Baz çifti boyutu
P6	p6	Forward 5'-ACGATGCTGCAGGCAATGGT-3' Reverse 5'-CATCAGTATTACCTTCTACTAAT-3'	198
PBP3-S	ftsI	Forward 5'-GATACTACGTCCTTTAAATTAAG-3' Reverse5'-GCAGTAAATGCCACATACTTA-3'	551
PBP3-Grup III BLN	ftsI	Forward 5'-TTCAAGTAACCGTGGTGTGAC-3' Reverse 5'-GCAGTAAATGCCACATATTTC-3'	465
BLP	bla	Forward 5'-TAAGAGAATTATGCAGTGCTGCC-3' Reverse 5'-TCCATAGTTGCCTGACTCCCC-3'	458
TEM-1	bla TEM-1	Forward 5'-ACCAGTCACAGAAAAGCATC-3' Reverse 5'-TTATCCGCCTCCATCCAGTC-3'	327
ROB-1	bla ROB-1	Forward 5'-TCCCGAAACCCAAAAATACG-3'	338

		Reverse 5'-GATTGCCTGTTGCGTTATTG-3'	
PBP3-seq	ftsI	Forward 5'-GTTGCACATATCTCCGATGAG -3' Reverse5'- CAGCTGCTTCAGCATCTTGC-3'	945
Tipb	cpsb	Forward 5'-GCGAAAGTGAACTCTTATCTCTC -3' Reverse 5'-GCTTACGCTTCTATCTGGTGAA -3'	480

P6 Primeri; Haemophilus influenzae'ya spesifik peptidoglikan ilişkili lipoprotein olan dış membran proteinini kodlayan P6 geni, PBP3-S primeri; Arg-517 veya Asn-526 değişken mutasyon bölgesini içeren fts-I gen bölgesi, PBP3-Grup III BLN primeri; Ser-385 yüksek mutasyon bölgesini içeren fts-I gen bölgesi, Tipb Primeri; Kapsüler polisakkaritte kodlanan cpsb lokusu, BLP primeri; ß-laktamazı kodlayan bla gen bölgesi, TEM-1 primeri; TEM-1 ß-laktamazı kodlayan bla gen, ROB-1 primeri; ROB-1 ß-laktamazı kodlayan bla gen, PBP3-seq; ftsI gen sekansı için kullanılan primer.

Haemophilus influenzae kökenlerinde duyarlı fts-I geni tespit edilen ve tespit edilmeyen kökenlerin, MİK50 ve MİK90 değerlerinin karşılaştırılması

Antibiyotikler	MİK aralığı		MİK50		MİK90	
	fts-I S geni (+)	fts-I S geni (-)	fts-I S geni (+)	fts-I S geni (-)	fts-I S geni (+)	fts-I S geni (-)
AMP	<=0,12-1	<=0,12->=8	0,25	1	1	2
AUG2	<=2/1-4/2	<=2/1-4/2	<=2/1	<=2/1	<=2/1	4/2
A/S2	<=1/0,5-2/1	<=1/0,5-2/1	<=1/0,5	<=1/0,5	<=1/0,5	2/1
FAC	<=4-16	<=4-16	<=4	8	8	16
FEP	<=0,12-2	<=0,12-0,5	<=0,12	<=0,12	0,25	0,25
FIX	<=0,12-1	<=0,12-1	<=0,12	<=0,12	<=0,12	1
AXO	<=0,03-0,25	<=0,03-0,06	<=0,03	<=0,03	<=0,03	<=0,03
FUR	<=0,5-4	1-4	1	2	2	4
IMI	<=0,5-2	<=0,5-2	<=0,5	1	1	1
CHL	<=0,5-1	<=0,5-1	<=0,5	<=0,5	1	1
SXT	<=0,06/1,19->=4/76	<=0,06/1,19->=4/76	0,5/9,5	>=4/76	>=4/76	>=4/76
MERO	<=0,06-0,5	<=0,06-0,25	<=0,06	0,12	0,12	0,25

AMP: Ampisilin, AUG2: Amoksisilin klavulonik asit; A/S2: Ampisilin sulbaktam, FAC: Sefaklor, FEP: Sefepim, FIX: Sefiksim, AXO: Seftriakson, FUR: Sefuroksim sodyum, IMI: İmipenem, CHL: Kloramfenikol, SXT: Ko-trimaksazol, MERO: Meropenem, fts-I S:duyarlı fts-I gen

P46- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER BAUMANNİİ SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

M. Hamidullah Uyanık, Dilek Vural Keleş, Fatma Nesime Gelen, Özgür Çelebi, Ahmet Ayyıldız
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Erzurum

Amaç
Doğada, toprak ve sularda yaygın olarak bulunan ve fırsatçı patojen olan Acinetobacter türleri toplum kaynaklı enfeksiyonlarda nadir olarak görülmekle birlikte esas olarak hastane kaynaklı enfeksiyonlarda etkendir. Özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilen Acinetobacter türleri birçok antibiyotik grubuna hızlı bir şekilde direnç geliştirmektedir.
Acinetobacter baumannii suşlarında sık kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan yüksek direnç oranları tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır. Bu çalışmada, hastanemizde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *A.baumannii* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere dirençlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç ve Yöntem
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2011yılı Ocak-Eylül ayları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 41 *A.baumannii* suşu çalışmaya alınmıştır. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve VITEK® 2 Compact otomatize sistemi (bioMerieux, France) kullanılarak yapılmıştır.
Bulgular
Yapılan çalışmada en düşük direnç oranı %2.4 ile Kolistine, en yüksek direnç oranı ise % 97.5 ile Seftriaksona karşı saptanmıştır. Tigesiklinin %9.7 direnç oranı ile ikinci sırada en etkili antibiyotik olduğu tespit edilmiştir. Suşların kullanılan diğer antibiyotiklere direnç oranları % 51.2 ile %82.9 arasında değişmektedir. Diğer antibiyotiklere ait direnç oranları tabloda görülmektedir.
Sonuç
Sonuç olarak hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A.baumannii* suşlarının yüksek oranda antimikrobiyal direnç ve çoğul direnç özellikleri görülmektedir. Direnç özelliklerinin belirlenmesine yönelik epidemiyolojik çalışmalar tercih edilecek ampirik tedavide klinisyene yol göstermesi açısından yararlıdır. Çalışmamızda en etkili antibiyotiklerin Kolistin ve Tigesiklin olduğu saptanmıştır. Bu veriler ışığında kolistin ve tigesiklinin dirençli *A.baumannii* suşlarıyla meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde halen en etkili alternatifler olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumanii*, Antibiyotik direnci, Otomatize sistem, VİTEK 2

41 A.baumannii suşunun antibiyotiklere direnç oranı[n(%)].

	Dirençli suş sayısı	Yüzdesi(%)
Seftazidim	34	82.9
Levoflaksasin	32	78.0
İmipenem	29	70.7
Gentamisin	21	51.2
Amikasin	25	60.9
Piperasilin/tazobaktam	34	82.9
Sefepim	34	82.9
Seftriakson	40	97.5
Trimetoprim/sulfametoksazol	21	51.2
Tigesiklin	4	9.7
Kolistin	1	2.4
Siprofloksasin	31	75.6
Ampisilin/sulbaktam	33	80.4
Tetrasiklin	21	51.2

P47- HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ ERİŞKİN VE ONKOLOJİ HASTANELERİNDE YATAN HASTALARDA KARBAPENEM DİRENÇLİ *ESCHERİCHİA COLİ* VE *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* İLE GELİŞEN ENFEKSİYONLARIN KONTROLÜ SÜRVEYANS ÇALIŞMASI (HAZİRAN 2009- ARALIK 2010)

Murat Cinel, Volkan Atmış, **Pınar Zarakolu Köşker,** Yeşim Çetinkaya Şardan
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara

Amaç
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) karbapenem dirençli (KD) *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* ile gelişen enfeksiyonların kontrolüne yönelik Mart 2009'da öneriler yayınladıktan sonra Haziran 2009'da Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinde yatan erişkin hastalarda (>18 yaş) sürveyans çalışması başlatılmıştır. Halen sürmekte olan bu sürveyans çalışmasının Haziran 2009-Aralık 2010 tarihleri arasında elde edilen sonuçlarının sunulması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Erişkin Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde (İç Hastalıkları, Genel Cerrahi, Beyin Cerrahisi, Nöroloji, Yanık, Anestezi ve Anestezi Sonrası) yatan tüm hastalar, İç Hastalıkları Servislerindeki nötropenik, kemik iliği ve solid organ nakli yapılan hastalar sürveyans kapsamına alınmıştır. Bu hastalarda KD-*E. coli* ve *K. pneumoniae* kolonizasyonunun saptanması amacıyla Erişkin Hastanesi İnfeksiyon Kontrol Hemşireleri tarafından haftada bir kez perianal sürüntü örnekleri toplanmıştır. Örnekler içerisinde 10 µg ertapenem diski (Oxoid, UK) bulunan 5 ml triptik soy broth (Oxoid, UK) içeren tüplerde İç Hastalıkları Anabilim Dalı İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi Araştırma Laboratuvarı'na yollanmıştır. Bu şekilde 37˚C'de 6-7 saat inkübe edilen sıvı besiyerinden Mac Conkey agara (Oxoid, UK) pasaj yapılmış ve 37˚C'de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi gün tipik koloniler API 20E (Bio Merieux, France) ile tanımlanmıştır. Karbapenem direnci imipenem Etest (AB Biodisk, UK) ile belirlenmiştir. MİK değeri >8 µg/ml olan suşlar KD olarak tanımlanmıştır. KD- *E. coli* veya *K. pneumoniae* ile kolonize hastalar temas izolasyonuna alınmıştır. Kolonizasyon saptanan hastaların dosya kayıtlarına ulaşılarak elde edilen verilerin analizi SPSS for windows 11.5 paket programında yapılmıştır. Bu çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Senatosu Etik Komisyonunda yapılan değerlendirme sonucunda alınan onay sonrası başlanmıştır.
Bulgular
Haziran 2009- Aralık 2010 tarihleri arasında Erişkin Hastanesi'nden 38.372, Onkoloji Hastanesi'nden 5.040 olmak üzere 43.312 perianal örnek kültürü alınmış; 137 hastada KD-*E. coli* veya*K. pneumoniae* üremesi saptanmıştır (37 KD- *E. coli*, 100 KD- *K. pneumoniae*). Dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastanın (93 KD-K. *pneumoniae*, 37 KD-*E. coli*) 118'inde (%90.7) sadece perianal kültürde, 9'unda (%7) sadece klinik örnekte (kan, katater, idrar, DTA), 3'ünde (%2.3) ise perianal ve klinik örnekte üreme olmuştur. İki hastada KD-*K. pneumoniae* ile klinik infeksiyon gelişmiştir. Çalışmamızın ilk 6 aylık döneminde 71, ikinci bir yıllık döneminde ise 59 kolonizasyon tespit edilmiştir. Üreme saptanan hastalara ait demografik özelliklere bakıldığında hastaların %42'si kadın, %58'i erkektir. Yaş ortalaması 59'dur. Hastaların çoğunda altta yatan bir hastalığın bulunduğu, %55.4'ünde immünsüpresyona neden olan bir durum olduğu saptanmıştır. Muhtemel risk faktörleri yönünden araştırıldığında ise %40 vakada 6 ay öncesinde hastane yatışının olduğu, üreme tespit edildiğinde uzun süreli hastane yatışının olduğu (ort. 49 gün), çoğuna invaziv girişimsel yöntemlerin uygulandığı tespit edilmiştir. Hemen tümünde üreme tespit edilmeden en az 1 ay öncesinde antibiyotik kullanım öyküsü söz konusudur. Hastaların %32.3'nün öldüğü sapptanmıştır.
Sonuç
Hacettepe Üniversitesi Hastanelerine yatan erişkin hastalarda karbapenem dirençli *E. coli* veya *K. pneumoniae* enfeksiyon etkeni olarak sık izole edilmeseler de çok sayıda hastada asemptomatik kolonizasyon gelişebilmektedir. Kolonizasyon varlığının saptanması ve infeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması enfeksiyonun yayılmasının önlenmesinde önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karbapenem dirençli E. coli / K. pneumoniae, sürveyans, enfeksiyon kontrolü

Tablo 1. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan ve dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastadan alınan örneklerin dağılımı

Örnek türü	*KD- K. pneumoniae (%)*	*KD- E. coli (%)*	Sayı (%)
Perianal sürüntü	83 (%63)	35 (%26)	118 (%90)
Kan	0 (%0)	1 (%0.7)	1 (%0.7)
Kan + kateter	0 (%0)	1 (%0.7)	1 (%0.7)
İdrar	4 (%3)	0 (%0)	4 (%3)
Püy	1 (%0.7)	0 (%0)	1 (%0.7)
Derin trakeal aspirasyon	2 (%1.5)	0 (%0)	2 (%1.5)
Püy+ Perianal sürüntü	2 (%1.5)	0 (%0)	2 (%1.5)
Kan+ Perianal sürüntü	1 (%0.7)	0 (%0)	1 (%0.7)
Toplam	93 (%71)	37 (%29)	130 (%100)

Tablo 2. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan ve dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastanın yıllara göre sayı ve insidansı

Çalışma Dönemi	Enfekte/ kolonize olduğu saptanan hasta sayısı	Yatan erişkin hasta sayısı	Enfeksiyon/ kolonizasyon insidansı	p
Haziran –Aralık 2009	71	12870	0.55/100 yatan hasta	<0,01
Ocak –Aralık 2010	59	20239	0.29/100 yatan hasta	

Tablo 3. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan hastaların servislere göre dağılımı

Servis	*KD-E. coli*	*KD-K. pneumoniae*	Sayı (%)
NYBÜ	5	30	35 (%26.9)
GCYBÜ	7	12	19 (%14)
Bölüm 76	0	14	14 (%10,7).
DYBÜ	2	7	9 (%6.6)
BCYBÜ	2	7	9 (%6.6)
Bölüm 95	3	5	8 (%6.1)
Bölüm 94	5	3	8 (%6.1)
Yanık Ünitesi	1	6	7 (%5.3)
Bölüm 91	4	2	6 (%4.6)
AYBÜ	1	4	5 (%3.8)
Bölüm 64	2	1	3 (%2.2)
Bölüm 93	2	1	3 (%2.2)
Bölüm 76 (İnfeksiyon Hastalıkları)	1	1	2 (%1.5)
Bölüm 75 (Üroloji)	2	0	2 (%1.5)
Toplam	37	93	130 (%100)

Tablo 4. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan ve dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastanın demografik özellikleri

	Sayı (%)
Cinsiyet	
Kadın	55 (42.3)
Erkek	75 (57.7)
Yattığı Servis	
Cerrahi	48 (36.9)
Dahili	82 (63.1)
Altta Yatan Hastalık	
Diabetes Mellitus	39 (30)
KAH, KKY, HT	65 (50.0)
Kronik böbrek hastalığı	21 (16.2)
Kronik akciğer hastalığı	13 (10.0)
Kronik karaciğer hastalığı	4 (3.1)
Romatolojik hastalık	3 (2.3)
İmmunsüpresyon	72 (55.4)
Transplantasyon	9 (6.9)
Nötropeni	11 (8.5)
Kemoterapi	17 (13.1)
Steroid	47 (36.2)

Tablo 5. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan ve dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastanın olası risk faktörleri yönünden değerlendirilmesi

	Sayı (%)
PPI	105 (80.8)
Santral kateter öyküsü	80 (61.5)
İMV öyküsü	71 (54.6)
Beslenme tüpü	71 (54.6)
Üriner kateter öyküsü	70 (53.8)
Cerrahi girişim	56 (43.1)
Hastanede yatış öyküsü	52 (40.0)
Hastanede yatış süresi (ortanca)	49 (7-192)
H_2 reseptör blokörü	49 (37.7)
Akut organ hasarı	46 (35.4)
Arteryel kateter öyküsü	38 (29.2)
TPN	28 (21.5)
Trakeotomi	22 (16.9)
Gastrostomi	21 (16.2)
Drenaj kateteri	15 (11.5)
Yoğun bakımda kalış öyküsü	8 (6.2)
Diyare	7 (5.4)
Kolostomi	5 (3.8)
Yanık	5 (3.8)
Enterostomi	5 (3.8)
Bakımevi	3 (2.3)
Sukralfat kullanımı	3 (2.3)
NİMV öyküsü	2 (1.5)
Travma	2 (1.5)

Tablo 6. KD-E. coli veya K. pneumoniae üremesi saptanan ve dosya kayıtlarına ulaşılan 130 hastanın klinik sonuçları

Sonuçlar	**Sayı (%)**
Taburcu	88 (67.7)
Exitus	42 (32.3)
Toplam	130 (100.0)

P48- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Alicem Tekin[1], Tuba Dal[1], Recep Tekin[2], Özcan Deveci[2], Safinaz Demirkaya[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*

Amaç
Stenotrophomonas maltophilia non-fermentatif gram negatif bakteriler arasında yer alan, doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunan bir fırsatçı patojendir. Özellikle hastanede ve sıklıkla yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan, malignite, immünsüpresyon gibi altta yatan nedenleri bulunan hastalarda giderek artan sıklıkta nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. İnvaziv girişimler, invaziv tedavi yöntemleri, tanı ve tedavi amacıyla kullanılan cihazlar ve aletler ile antimikrobik ilaçların akılcı olmayan kullanımı bu artışta önemli role sahiptir. Bu çalışmamızda, klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen S.maltophilia suşlarının çeşitli antimikrobik ajanlara direnç oranlarını saptamayı amaçladık.
Gereç-Yöntem
Ocak 2005-Eylül 2011 tarihleri arasında, Dicle Üniversitesi Hastaneleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden elde edilen toplam 60 S.maltophilia izolatı çalışma kapsamına alındı. Laboratuvara gönderilen klinik örnekler %5 koyun kanlı agar ve Eosin-Methylene Blue (EMB) agar besiyerlerinin yüzeyine inoküle edildi. Besiyeri plakları 37°C'lik inkübatörde 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bakteri üremesi görülen klinik örnekler incelemeye alındı. Elde edilen izolatların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi kullanıldı. İzole ve identifiye edilen S.maltophilia suşlarının antimikrobik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi ile Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenerek çalışıldı. Otomatik identifikasyon sisteminde kalite kontrolü amacıyla standart suş olarak E.coli ATCC 25922 kullanıldı.
Bulgular
Laboratuvara gönderilen çeşitli klinik örneklerden elde edilen 60 S.maltophilia izolatının; 24'ü (%40) idrar, 15'i (%25) kan kültürü, 11'i (%18.3) balgam, 4'ü (%6.7) eklem sıvısı, 3'ü (%5) beyin omurilik sıvısı, 2'si (%3.3) yara kültürü ve 1'i (%1.7) orta kulak materyalinden izole edildi. Toplam 60 S.maltophilia izolatının 34'ünün (%56.7) trimetoprim/sülfametoksazole, 45'inin (%75) levofloksasine, 51'inin (%85) piperasilin/tazobaktama duyarlı olduğu saptandı.
Sonuç
Trimetoprim/sülfametoksazol ve levofloksasine dirençli suşların artış göstermesi nedeniyle tedavide alternatif bir seçenek olabilecek antimikrobik ajanların saptanması bir ihtiyaç haline gelmiştir. Günümüzde levofloksasin dışında piperasilin/tazobaktam S.maltophilia'ya bağlı enfeksiyonların tedavisinde alternatif bir seçenek olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Stenotrophomonas maltophilia, trimetoprim/sülfametoksazol, levofloksasin

Tablo 1. S.maltophilia suşlarının izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı.

Klinik örneğin adı	n (%)
İdrar	24 (40)
Kan	15 (25)
Balgam	11 (18.3)
Eklem sıvısı	4 (6.7)
Beyin omurilik sıvısı	3 (5)
Yara sürüntüsü	2 (3.3)
Orta kulak materyali	1 (1.7)
Toplam	60 (100)

Tablo 2. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen S.maltophilia suşlarının antibiyotik direnç dağılımı.

Antibiyotik adı	n (%)
Amikasin	60 (100)

Meropenem	57 (95)
İmipenem	57 (95)
Trimetoprim/Sülfametoksazol	26 (43.3)
Siprofloksasin	16 (26.7)
Levofloksasin	15 (25)
Piperasilin/Tazobaktam	9 (15)

P49- PSEUDOMONAS AERUGİNOSA İZOLATLARININ ÇEŞİTLİ ANTİYOTİKLERE DİRENÇ DURUMU

Yasemin Derya Gülseren, Ali Kudret Adiloğlu, Ayşe Esra Karakoç, Ufuk Önde, Rukiye Berkem, Sefer Erman Yılmaz, **Hünkar Şahin**
S.B Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
Rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen gram negatif basillerin yaklaşık beşte birlik bölümü nonfermentatif basillerden oluşmaktadır. Bunların içerisinde en yaygın tür olan *Pseudomonas aeruginosa* aynı zamanda nozokomiyal enfeksiyonların önemli bir etiyolojik etkenidir. Bu çalışmada S.B.Ankara EAH Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Haziran 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında kabul edilen örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının kliniklere göre dağılımı ve antibiyotik direnç durumunun geriye dönük olarak araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
İzole edilen suşların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi Vitek 2 Compact (BioMerieux, France) otomatize tanımlama sistemi ile yapılmıştır.
Bulgular
Hastanemiz klinik mikrobiyoloji laboratuvarında belirtilen tarihler arasında toplam 250 *P.aeruginosa* suşu izole edilmiştir. Yoğun bakım ünitelerinden 117 (%46), dahili birimlerden 20 (%8), cerrahi birimlerden 63(%25), polikliniklerden 50 (%20) olmak üzere toplam 250 suşun; 73 (%29.2)'ü yara, 56 (%22.4)'sı sonda idrarı, 53 (%21.2)'ü trakeal aspirat, 32 (%12.8)'si orta akım idrarı, 9 (%3.6)'u kulak, 8 (%3.2)'i kan, 7 (%2.8)'si kateter, 4 (%1.6)'ü balgam, 8 (%3.2)'i diğer (periton, eklem sıvısı, konjunktiva) numunelerden izole edilmiştir. İzole edilen suşların direnç yüzdeleri amikasin %18.8, gentamisin %30, netilmisin %10.8, tobramisin %17.6, sefepim %38.8, seftazidim %36, seftriakson %98.8, siprofloksasin %36, levofloksasin %38, kolistin %5.6, imipenem %26, meropenem %22.8, piperasilin %40, piperasilin tazobaktam %38, tikarsilin %47.6 şeklindedir.
Sonuç
P.aeruginosa çeşitli antibiyotiklere intrensik direnç gösteren gram negatif basildir. Aynı zamanda transfer edilebilen direnç determinantlarına sahiptir. Hastanemizde elde edilen direnç oranlarının takip edilmesi ve direnç mekanizmalarının araştırılmasına ihtiyaç vardır.

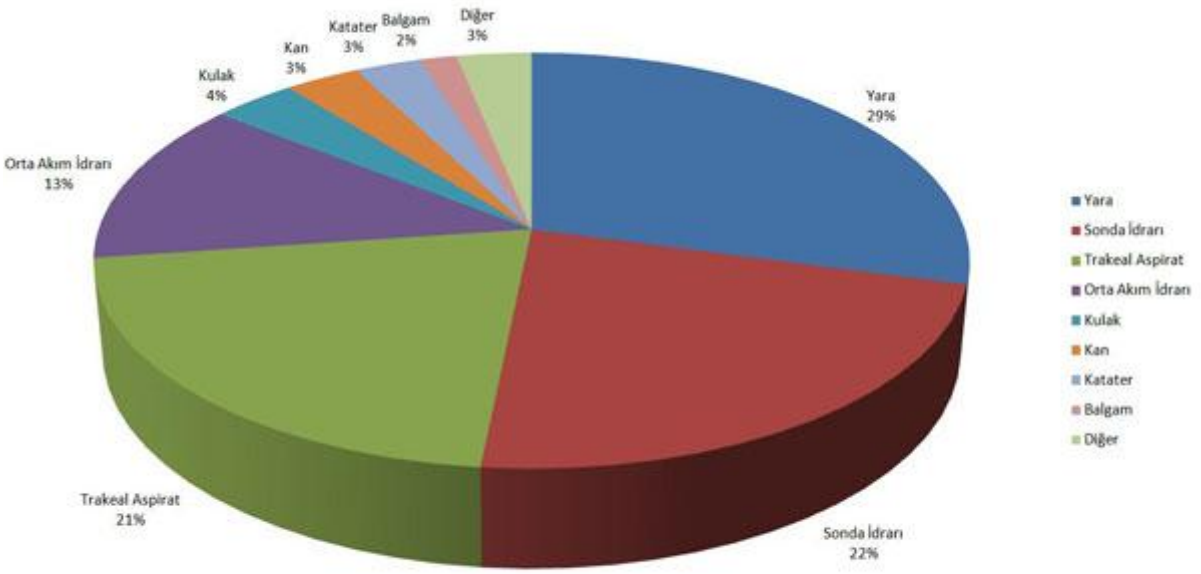
Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik, direnç

Tablo-1 Farklı çalışmalarla antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması

Kaynak	Yıl	SUŞ SAYISI	AK (%)	CN (%)	TOB (%)	FEP (%)	CAZ (%)	CIP (%)	MEM (%)	IPM (%)	PIP (%)	TZP (%)	CT (%)
EYİGÖR VE ARK (2)	2007-2008	94	1	4	-	13	11	16	-	3	5	-	-
AKTAŞ VE ARK (3)	2005-2010	570	12	35	13	29	31	44	33	38	27	28	-
ÖZDEMİR VE ARK (5)	2008	159	24	-	-	43	36	44	-	54	-	23	0
ÇİFTÇİ VE ARK (4)	2003-2004	101	14	48	35	19	23	29	14	15	31	-	-
DÜNDAR VE ARK (6)	2005-2007	665	18	23	18	33	33	35	19	19	40	39	
GÜVEN VE ARK (1)	2006	-	26.9	37.1	-	8.9	19.2	35.8	-	33.3	-	30.7	
BU ÇALIŞMADA	2010-2011	250	18.8	30	17.6	38.8	36	36	22.8	26	40	38	5.6

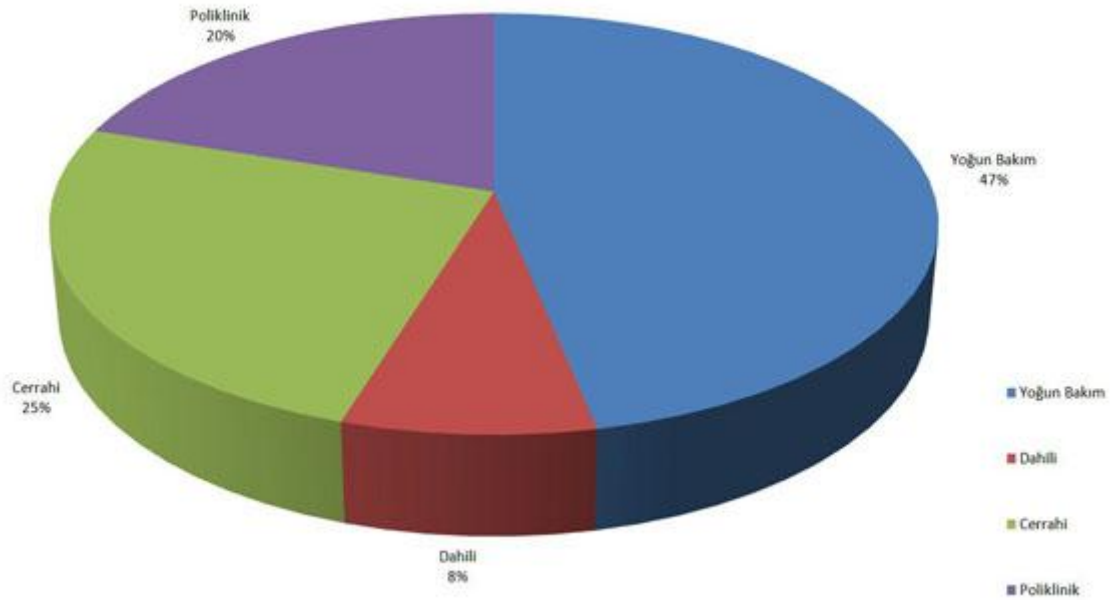
Ak: amikasin, CN: gentamisin, TOB: tobramisin, FEB: sefepim, CAZ: seftazidim, CIP: siprofloksasin, MEM: meropenem, IPM: imipenem, PIP: piperasilin, TZP: piperasilin tazobaktam, CT: kolistin

grafik 2



Suşların izole edildikleri örneklerin dağılımı

grafik 3



Suşların izole edildikleri kliniklere göre dağılımı

P50- VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARDA LİNEZOLİD, DAPTOMİSİN VE TİGESİKLİN DİRENCİNİN E-TEST İLE ARAŞTIRILMASI

Mehmet Parlak[1], İrfan Binici[2], Aytekin Çıkman[1], Mustafa Kasım Karahocagil[2], Mustafa Berktaş[1]
[1]*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Van*
[2]*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Van*

Amaç
Çoğu antibiyotiğe intrensek direnci olan enterokoklarda son yıllarda artan glikopeptit direnç nedeniyle tedavide sorunlarla karşılaşılmaktadır. Bu durum tedavide yeni antibiyotiklerin denenmesini zorunlu kılmaktadır. Çalışmada, vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının linezolid, daptomisin ve tigesikline karşı direnç oranları araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Farklı zamanlarda çeşitli klinik örneklerden elde edilen, konvansiyonel yöntemlerle (uygun koloni morfolojisi, katalaz negatif ve pyrolidonyl aryl amidase (PYR-Oxoid) testi pozitif, Gram pozitif koklar) enterokok olarak izole edilen 58 VRE suşu çalışmaya dâhil edildi. Suşların ileri identifikasyonu ve vankomisin direncinin belirlenmesi için Phoenix otomatize sisteminden (Becton Dickinson, USA) yararlanıldı. Suşların vankomisin direnci E-test ile doğrulandı. Aynı yöntemle linezolid ve daptomisine karşı 58, tigesiklin karşı ise 47 VRE suşunda direnç araştırıldı.
Bulgular
Vankomisin dirençli suşlarda MİK50, MİK90 ve MİK aralığı sırasıyla linezolid için 0.75, 1.5 ve 0.047-2 µg/ml, daptomisin için 1, 2 ve 0.19-3 µg/ml ve tigesiklin için 0.064, 0.125 ve 0.016-0.19 µg/ml olarak saptandı. Linezolid, daptomisin ve tigesikline karşı dirençli suş tespit edilmedi.
Sonuç
VRE ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde linezolid etkili bir antibiyotik olarak önemini korumakta olup yeni kullanıma giren daptomisin ve tigesiklin ise düşük MİK değerleri nedeni ile iyi bir tedavi seçeneği olarak ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Daptomisin, E-Test, Tigesiklin, Linezolid, VRE

P51- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MRSA SUŞLARININ VANKOMİSİN MİK DEĞERLERİNİN YILLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

Davut Ertekin[1], Dilara Öğünç[1], Betil Özhak Baysan[1], Gözde Öngüt[1], Levent Dönmez[2], Özge Turhan[3], Meral Gültekin[1]
[1]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[2]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, Antalya*
[3]*3Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Antalya*

Giriş ve Amaç
1961 yılında ilk metisiline dirençli S. aureus (MRSA) suşunun saptanmasından beri, bu suşlarla meydana gelen enfeksiyonların tedavisi tıp dünyasının karşısında önemli bir sorun olarak durmaktadır. Vankomisin Gram pozitif bakterilere, özellikle dirençli Staphylococcus aureus'a karşı güçlü aktivitesi ile dikkat çekmiştir. Ancak 1997 yılında Japonya'dan vankomisine azalmış hassasiyet gösteren ilk Staphylococcus aureus suşunun bildirilmesi ve bunu diğer bildirilerin izlemesi, Haziran 2002'de ise Amerika Birleşik Devletleri'nin Michigan eyaletinden, 40 yaşında diyalize giren bir erkek hastanın kateter ucundan ilk vankomisine dirençli Staphylococcus aureus (VRSA) suşunun izole edilmesi, gelecekte bu dirençli bakterilerle oluşan enfeksiyonların önemli bir problem haline gelebileceğini göstermesi açısından önemlidir.
Bu çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen MRSA suşlarının vankomisin MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin yıllara göre (2007-2011) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç ve Yöntem
2007-2011 yılları arasında, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen toplam 84 MRSA suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların vankomisin duyarlılıkları E test yöntemiyle (Biomerieux, Fransa) üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Kalite kontrol suşu olarak ATCC S.aureus 43300 suşu kullanılmıştır.
Her bir yıl için ölçülen MİK değerleri geometrik ortalama olarak hesaplanmış, yıllar arasında ortalama değerler arasında farklılık SPSS programında "ANOVA" ve "test of linearity" ile analiz edilmiştir.
Bulgular ve Sonuç
2007 yılında 31, 2008 yılında 15, 2009 yılında 21, 2010 yılında on ve 2011 yılında yedi tane olmak üzere toplam 84 MRSA suşuna ait vankomisin MİK değerleri ve bunların geometrik ortalamaları tabloda gösterilmiştir.
Çalışmamızda MRSA suşları için vankomisin MİK modunun 2007-2011 yılları arasında sabit kaldığı ve 1 µg/ml olduğu, 2011 yılında ise 1 µg/ml ve 1.5 µg/ml olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır.
Her bir yıla ait ortalama MİK değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmazken (p=0,058), genel değerlendirmede yıllara göre izlenen artış trendinin anlamlı olduğu görülmüştür. (lineerlik için p=0,010).
2011 yılında izole edilen yedi suşun üçünde vankomisin MİK değerinin 1.5 µg/ml olarak saptanmış olması, MRSA suşlarında azalan vankomisin duyarlılığı konusunda dikkatli olmamız gerektiğini göstermektedir.

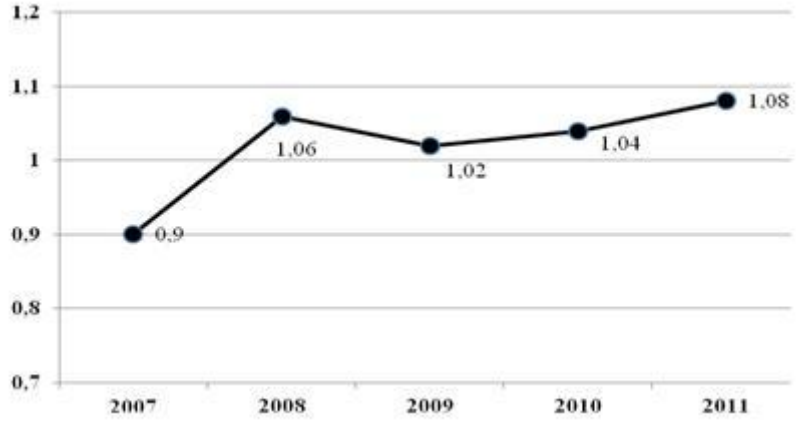
Anahtar Kelimeler: E test, MRSA, Vankomisin MİK

Tablo 1. Vankomisin MİK değerlerinin yıllara göre dağılımı

Yıl (suş sayısı)	MİK değeri (µg/ml)					Geometrik ortalama ± SD
	0,19	0,50	0,75	1,00	1,50	
2007 (31)	1	1	5	23	1	0,90 ± 0,21
2008 (15)	-	-	-	13	2	1,06 ± 0,18
2009 (21)	-	-	-	20	1	1,02 ± 0,11
2010 (10)	-	-	-	9	1	1,04 ± 0,16
2011 (7)	-	1	-	3	3	1,08 ± 0,38
2007-11 (84)	1	2	5	68	8	0,99 ± 0,20

Vankomisin MİK değerlerinin yıllara göre Çalışmamızda MRSA suşları için vankomisin MİK modunun 2007-2011 yılları arasında sabit kaldığı ve 1 µg/ml olduğu, 2011 yılında ise 1 µg/ml ve 1.5 µg/ml olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır.

Figür 1.



Her bir yıla ait ortalama MİK değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmazken (p=0,058), genel değerlendirmede yıllara göre izlenen artış trendinin anlamlı olduğu görülmüştür. (lineerlik için p=0,010).

P52- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ ORANLARI

Nedim Tunç[1], Birol Şafak[1], Hakan Eraydın[2]
[1]*Atatürk Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir*
[2]*Diyarbakır Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları, Diyarbakır*

Amaç
Bakterilerin, bilim insanları ile olan savaşında antibiyotiklere direnç kazanımları, kendilerine daha özgür üreme, çoğalma ve enfeksiyon oluşturabilme fırsatı sağlamaktadır. Bakteriler genelde yıkıcı enzim üreterek (enzimatik) veya pompa yada porin sistemlerindeki değişikliklere bağlı (nonenzimatik) olarak antibiyotik direnci kazanmaktadırlar. Tüm dünya da ve ülkemizde dirençli bakterilere bağlı morbidite ve mortalitenin arttığına dair bildiriler vardır. Çoğu zaman tıp hekimleri, enfeksiyon etkeni bakterilerin antibiyotiklere dirençli olabileceğini gözardı ederek ampirik antibiyoterapiler ile hastalarını tedavi etmeye çalışmaktadırlar. Dolayısıyla uygulanan tedavinin her zaman başarılı olacağı anlamına gelmemektedir. Çalışmada laboratuvar verilerinden yola çıkarak, poliklinik hastalarındaki dirençli bakteriyel izolatlar ve doğru eradikasyon antibiyotiğinin seçimine yönelik bir perspektif oluşturabilmek amaçlanmıştır.
Materyal Metod
Polikliniklerden gelen toplam 3279 klinik örneğin 533'de üreme saptanmıştır. Bunların 432'si idrar, 43'ü yara, 36'sı vajinal sürüntü, 22'si diğer kültürlerden (balgam, kulak, burun, periton, eklem sıvısı,vb.) oluşmaktadır. Vajinal sürüntülerde, florayı baskılayan ve gaita kontaminasyonu düşünülmeyen ayrıca pelvik enflamatuar enfeksiyon ön tanısı almış örnekler kültür antibiyograma alınmıştır. Bakteri identifikasyonu ve antibiyogramı Vitek 2 Compact (bioMerieux, France) cihazı ile yapılmıştır.
Bulgular
En sık üreyen bakteriler, idrarda %69 ile E.coli, yaralarda %33 ile S.aureus, vajinal sürüntülerde % 64 ile E. coli, diğer kültürlerde ise %45 ile koagulaz negatif Stafilokok (KNS)'tur. GSBL pozitifliği, E.coli'lerde %14, Klebsiella spp.'lerde ise %38'de olarak saptanmıştır. E.coli'lerin %38'i trimetoprim-sulfametoksazol'e (SXT), %25'i amoksisilin-kalvulanik asitte (AMC), %19'u gentamisine (GN) dirençliyken, Klebsiella spp.'nin %22'si SXT'ye, %43'ü AMC'ye, %26'sı GN'ye dirençli bulunmuştur. S. aureus'ların %35'de oksasilin (OX), %35'de de makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS-B) direnci saptanmıştır. Bu oranlar KNS 'de sırası ile %58 ve %23 olarak bulunmuştur. Enterokok spp. de ise %39 ampisilin (AMP), %45 siprofloksasin (CİP) direnci saptanmıştır.
Sonuç
Toplum kaynaklı enfeksiyon etkenlerinden en çok saptanan E.coli ve Klebsiella spp.'de GSBL (+)'nin tüm dünyada ve Türkiye de arttığı belirtilmektedir. Bu durum biz hekimlerin enfeksiyonlarla mücadelede antibakteriyel direnç araştırmasını zorunlu kılmaktadır. Çalışmamızda en çok üreyen bakteriler E.coli ve Klebsiella türleri olmuştur. GSBL(+)'ği, E.coli'lerde %14, Klebsiella spp.'de %38 olarak bulunmuştur. E.coli'lerde AMC, GN ve CİP direnci düşük oranda, Klebsiella spp.'de ise AMC direnci düşük, GN direnci ise daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Çalışmamızda S.aureus'lardaki OX direnci literatür oranlarına yakın bulunmuştur. MLS-B direnci S. aureus'larda daha yüksek çıkmıştır. Enterokok türlerinde AMP direnci ise farklı çalışma sonuçlarına gore daha düşük çıkmıştır. Sonuçta; hastane kökenli bir çok dirençli bakteri farklı yollarla hastane dışına taşınarak toplumda dolaşmakta ve karşılaştıkları insanlarda ampirik tedavilere dirençli enfeksiyonlar oluşturmaktadırlar. Hastalara antibiyotik yazılırken önce kültür-antibiyogram istenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Poliklinik hastaları, Bakteri, Direnç

Tablo 1: Klinik Örneklere Göre Üreyen Bakterilerin Dağılımları

	İdrar (432)	Yara (43)	Vajen (36)	Diğer (22)
E. coli	299 (%69)	4(%9)	23(%64)	2(%9)
Klebsiella spp.	42(%10)	-	4(%11)	-
Diğer Enterobacteriacae	11(%2,5)	7(%16)	-	1(%5)
P. aeruginosa	16(%4)	7(%16)	-	3(%13)
S. aureus	4(%1)	14(%33)	-	5(%23)
KNS	30(%7)	8(%19)	-	10(%45)
Enterokok spp.	28(%6)	3(%7)	6(%17)	1(%5)

Resim 1

Tablo 2: Gram (-) Negatif Bakterilerde Antibiyotik Direnç Oranları

	ESBL	GN	SXT	AMC	CİP
E. coli (328)	46(%14)	62(%19)	124(%38)	82(%25)	56(%17)
Klebsiella spp.(46)	16(%38)	12(%26)	10(%22)	20(%43)	3(%6)

Tablo 3: Gram (+) Pozitif Bakterilerde Antibiyotik Direnç Oranları

	OX	AMP	CIP	SXT	MLS-B
S. aureus (23)	**8(%35)**	-	6(%26)	**13(%56)**	**8(%35)**
KNS (48)	**23(%58)**	-	9(%19)	5(%10)	11(%23)
Enterokok spp. (38)		**15(%39)**	**17(%45)**	-	-

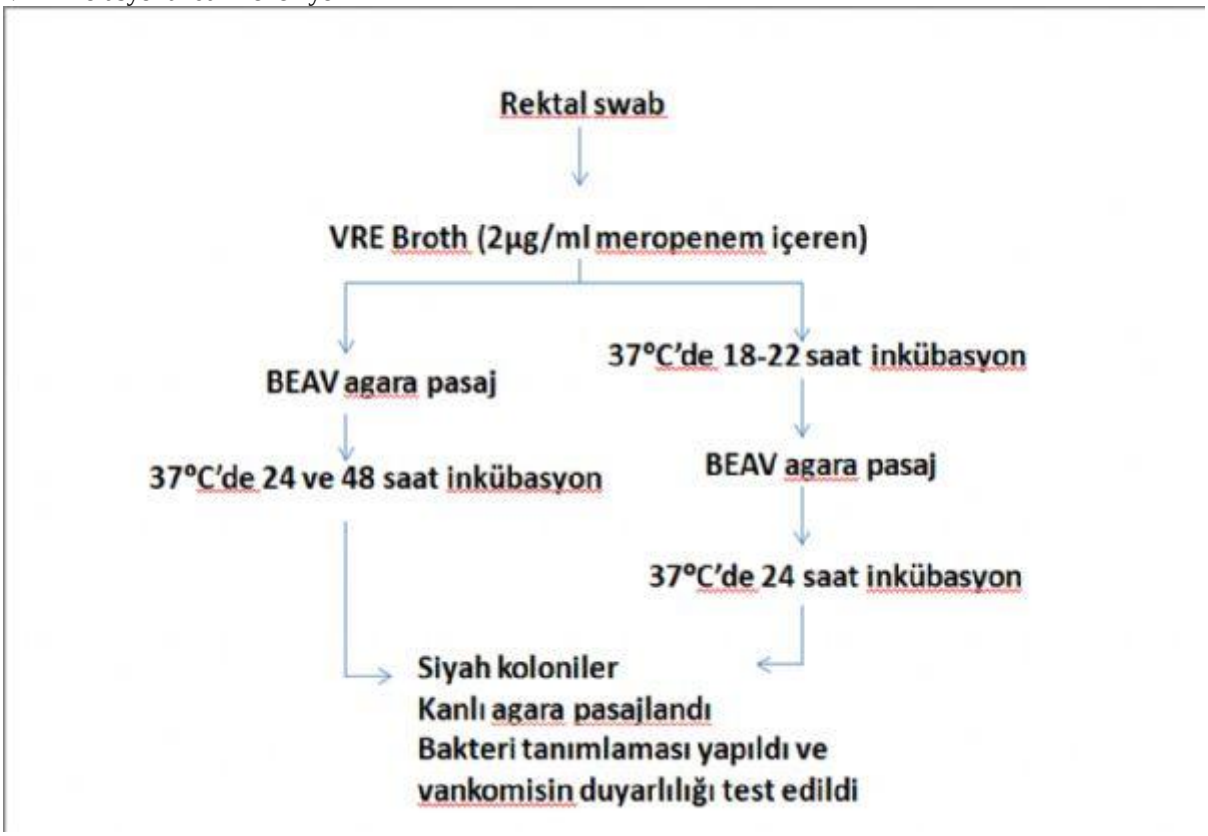
P53- REKTAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDEN VRE İZOLASYONUNDA, VRE AGARA DİREKT EKİM VE VRE BROTH BESİYERİNDE ZENGİNLEŞTİRME SONRASI EKİM YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Özlem Koyuncu Özyurt[1], Betil Özhak Baysan[1], Dilara Öğünç[1], Dilek Çolak[1], Dilara İnan[2], Levent Dönmez[3]
[1]Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya
[2]Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Antalya
[3]Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, Antalya

Amaç
Vankomisine dirençli enterokok (VRE), hasta bakımı ile ilişkili enfeksiyonların önemli bir sebebidir. Nozokomiyal bulaşın kontrolünde, VRE kolonizasyonunun saptanması için aktif sürveyans yapılması önerilmektedir. Geleneksel yaklaşım dışkı veya rektal sürüntü örneklerinin 6 µg/ml vankomisin içeren bile esculin azide agara (BEAV) ekilmesidir. Örneklerin sıvı besiyerinde zenginleştirme işleminden sonra VRE agar besiyerine ekilmesinin, VRE izolasyon şansını artırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda VRE sürveyansı için alınan rektal sürüntü örneklerinin, direkt ve VRE broth besiyerinde zenginleştirme sonrası BEAV besiyerine ekiminin VRE izolasyonu üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde, Mayıs 2011 ve Eylül 2011 tarihleri arasında alınan 1412 rektal sürüntü örneği çalışmaya alındı. Swab ile alınan örnekler 1 ml VRE broth (Oxoid, İngiltere) besiyeri içine konularak vortekslendi ve direkt BEAV besiyerine ekim yapıldı. Swablar çıkarıldıktan sonra VRE broth besiyerleri ve ekim yapılmış BEAV besiyerleri 35 °C'de inkübe edildi. VRE broth besiyerlerinden 24. saatte BEAV besiyerine pasaj yapıldı ve yine 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Zenginleştirme sonrası ekilen örnekler bu süre sonunda, direkt ekilen örnekler 24. ve 48. saatlerde değerlendirmeye alındı ve siyahlaşan kolonilerden (eskülin pozitif olanlardan) kanlı agara pasaj yapıldı. PYR testi pozitif bulunan izolatların disk difüzyon yöntemiyle vankomisin ve teikoplanin duyarlılıkları belirlendi ve MGP (methyl- D glucopyranoside)testi yapıldı. Vankomisin ve teikoplanin için duyarlılık sınır değerleri olarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından belirlenen sınır değerleri kullanıldı.
Bulgular
1412 rektal sürüntü örneğinden, toplam 94 tane VRE suşu izole edildi.
94 VRE izolatının;
√76 'sı hem VRE broth besiyerinde zenginleştirme, hem de direkt ekim sonrası BEAV besiyerinde üredi.
√17'si sadece VRE broth besiyerinde zenginleştirme sonrası BEAV besiyerinde üredi.
√Biri sadece direkt ekim sonrası pozitif bulundu. Ancak bu izolatın elde edildiği hastadan, bir hafta sonra alınan rektal sürüntü örneğinden de, hem direkt ekim, hem de VRE broth besiyerinde zenginleştirme sonrası VRE izole edildi.
√Direkt ekim yöntemiyle tespit edilen VRE izolatlarının 58 i, 48. saatte,18i ise 48.saatte pozitif bulundu.
Sonuç
* VRE broth besiyerinde zenginleştirme sonrası VRE izolasyonu, VRE agara direkt ekim yöntemine göre daha yüksektir.
* Ancak VRE agara direkt ekim yöntemi, daha erken sonuç vermesi nedeniyle, zenginleştirme sonrası ekim yöntemine üstündür.
* En yüksek verim ise her iki yöntemin birlikte kullanılmasıyla elde edilmektedir

Anahtar Kelimeler: Rektal sürüntü, VRE, VRE agar, VRE broth

VRE izolasyonunda izlenen yol



P54- OXA–48 TİPİ KARBAPENEMAZ ÜRETEN *K. PNEUMONİAE, K.OXYTOCA* VE *E. COLİ* SUŞLARININ KARBAPENEMLERE VE BETA-LAKTAM DIŞI ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Hasan Nazik[1], Betigül Öngen[1], Selda Aydın[2], Ali Muhammet Varkal[3]
[1]*İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ABD, İstanbul*
[3]*İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, İstanbul*

Amaç
Günümüzde çoklu antibiyotik direncine sahip *Enterobacteriaceae* üyelerine sıklıkla rastlanmakta, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretenlerde çoğunlukla karbapenemler tedavide son seçenek olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda dünya genelinde çeşitli karbapenemaz türlerinin karbapenem direncinde artışa neden olduğu bildirilmektedir. OXA–48 karbapenemazı 2004 yılında ilk kez ülkemizden bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda saptanmıştır. Son zamanlarda da yeni bildirimler olmuş, bazılarının salgın düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Rutin laboratuvar incelemelerinde de saptanamayabilen bu tip karbapenemazların önümüzdeki yıllarda karbapenemler dahil tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlayabileceği ve dolayısıyla beta-laktam dışı antibiyotiklerin ön plana çıkabileceği öngörülebilir.
Bu çalışmada karbapenemlere dirençli ya da azalmış duyarlılığa sahip toplam 47 suşun (*K. pnemoniae, K. oxytoca, E. coli*) beta-laktam dışı çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiştir.
Yöntemler
2006 (n= 2) 2007 (n= 14), 2010 (n= 31) yıllarında İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Cerrahpapa Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı' nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve rutin laboratuvar incelemelerinde karbapenemlere dirençli ya da azalmış duyarlılığa sahip suşlar çalışmaya dahil edilmiştir. Karbapenemaz üretiminin fenotipik olarak araştırılmasında Modifiye Hodge Testi kullanılmıştır. Suşların imipenem, meropenem, ertapenem, gentamisin, levofloksasin, tigesiklin ve ko-trimoksazole duyarlılıkları VITEK 2 sistemi ile araştırılmıştır. Sonuçlar CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) 2011 kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Suşlarda karbapenemaz direnç genleri (bla_{OXA-48},bla_{VIM-1}, bla_{VIM-2}, bla_{IMP-1}, bla_{IMP-2}, bla_{KPC}) in-house PCR yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Modifiye Hodge testi ile yapılan incelemelerde suşların fenotipik olarak karbapenemaz ürettikleri gözlemlenmiş ve PCR yöntemi ile OXA-48 tipi karbapenemaz ürettikleri saptanmıştır. Suşların % 97.8'inin ertapeneme, % 76.5'inin ko-trimoksazole, % 65.9'unun imipeneme, % 63.8'inin meropeneme, % 46.8'inin gentamisine, % 40.4'ünün levofloksasine ve % 4,2'sinin tigesikline dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıntılı sonuçlar Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir.
Sonuçlar
OXA-48 tipi karbapenemaz üreten suşlarda tigesikline düşük oranda direnç gözlenmekle birlikte beta-laktam dışı diğer antibiyotiklere oldukça yüksek oranda direnç saptanmıştır. Günümüzde karbapenemlerin genellikle son seçenek olarak kullanıldığı göz önüne alındığında, bu tip karbapenemazların yayılmasının ülkemizde tedavi seçeneklerini sınırlayacağı, çok yakın zamanda tedavide yeni alternatif antibiyotiklere ihtiyaç duyulacağı açıktır. Rutin labotaratuvar incelemelerinde özellikle imipenem ve meropeneme duyarlı saptanabilen OXA-48 tipi karbapenemazların rutin olarak araştırılması çok pratik olmasa da klinik izolatlarda karbapenemaz varlığının takip edilmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, GSBL, Karbapenemaz, OXA-48

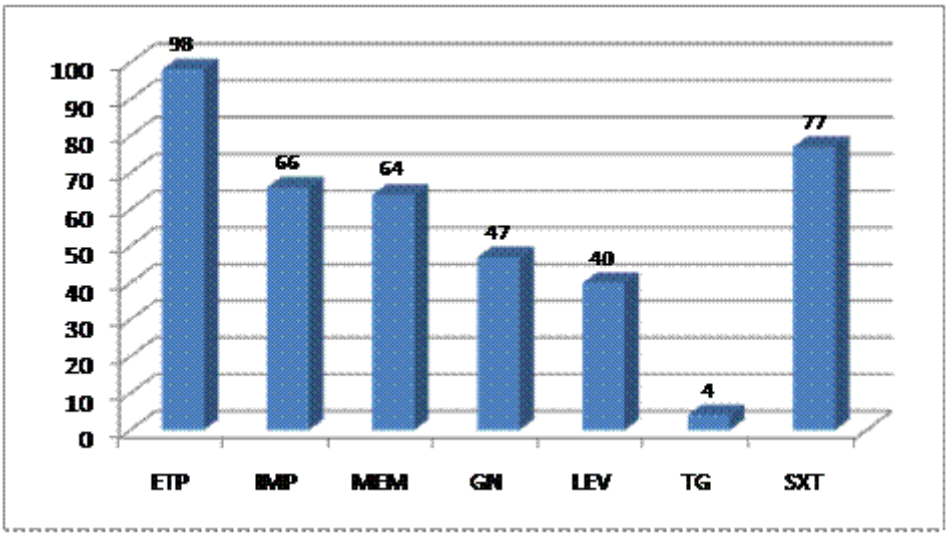
Tablo 1. Şuşların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları.

					Direnç n (%)			
K. pneumoniae (n:41)		ETP	IMP	MEM	GN	LEV	TG	SXT
	Dirençli	40 (97.5)	25 (60.9)	29 (70.7)	20 (48.7)	17 (41.4)	2 (4.8)	32 (78)
	Orta	1 (2.4)	11 (26.8)	1 (2.4)	3 (7.3)	2 (4.8)	4 (9.7)	0
	Duyarlı	0	5 (12.1)	11 (26.8)	18 (43.9)	22 (53.6)	35 (85.3)	9 (21.9)
K. oxytoca (n:5)								
	Dirençli	5 (100)	5 (100)	1 (20)	2 (40)	1 (20)	0	3 (60)

	Orta	0	0	0	2 (40)	0	0	0
	Duyarlı	0	0	4 (80)	1 (20)	4 (80)	5 (100)	2 (40)
E. coli (n:1)								
	Dirençli	1	1	0	0	1	0	1
	Orta	0	0	0	0	0	0	0
	Duyarlı	0	0	1	1	0	1	0
Toplam direnç (n:47)		46 (97.8)	31 (65.9)	30 (63.8)	22 (46.8)	19 (40.4)	2 (4.2)	36 (76.5)

ETP: ERTAPENEM, IMP: İMİPENEM, MEM: MEROPENEM, GN: GENTAMİSİN, LEV: LEVOFLOKSASİN, TG: TİGESİKLİN, SXT: KO-TRİMOKSAZOL

TABLO 2. SUŞLARIN DENENEN ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ ORANLARININ GRAFİKSEL DAĞILIMI



ETP: ERTAPENEM, IMP: İMİPENEM, MEM: MEROPENEM, GN: GENTAMİSİN, LEV: LEVOFLOKSASİN, TG: TİGESİKLİN, SXT: KO-TRİMOKSAZOL

P55- KAN KÜLTÜRÜ POZİTİF: ETKEN Mİ? KONTAMİNASYON MU?

Ahmet Balıkcı, Zeliha Belas, Aynur Eren Topkaya
Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mersin

Amaç
Kan kültürü pozitifliğini, özellikle kontaminan olabilecek mikroorganizmalar ürediğinde ve çeşitli nedenlerle birden fazla örnek alınamayan durumlarda doğru yorumlamak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için önemli bir sorundur. Mikroorganizmaların üreme sürelerinin farklı olması da yorumu güçleştiren bir başka faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.
Bu çalışmada, kan kültürü pozitiflik süresi ile mikroorganizmaların etken ve kontaminan olarak kabul edilmesi arasındaki ilişki incelenmiştir.
Gereç-Yöntem
Çalışmada, otomatize kan kültürü sistemlerinden BACTEC-9120 kullanılmıştır. Kan örnekleri hastaların ateşi yükselmeden hemen önce veya ateşli dönemde farklı venlerden, erişkin hastalardan 10 ml., çocuk hastalardan 4 ml. alınmıştır. Şişeler sisteme yüklenmiş, pozitif alarm veren şişelerden % 5 koyun kanlı agara pasajlar yapılmış ve 35 ºC'de inkübe edilmiştir. 24 saat inkübasyon sonunda üreyen bakterilerin tanısı API (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) testi ile biyokimyasal olarak konulmuştur. Üreyen suşların bakteriyemi etkeni olup olmadıklarına, üreme olan şişe sayısı ve hastanın klinik bulgularına dayanılarak karar verilmiştir. Üreme saptanan şişelerin üreme süreleri not edilmiş, aynı hastaya ait birden fazla şişede üreme saptandığında şişelerden pozitiflik saptanan ilk şişenin üreme zamanı değerlendirmeye alınmıştır. Tüm veriler SPSS 17 programında kaydedilerek analiz edilmiştir.
Bulgular
1 yıllık sürede laboratuvarımıza gelen 1201 kan kültürü şişesinin 290'ında (%24) üreme saptanmış, bunlardan 212 (%73) suş etken, 78(27) suş kontaminan kabul edilmiştir. Etken bakterilerin tümü için ortalama süre 17,87 saat, kontaminan kabul edilenler için 40,56 saat olarak hesaplanmıştır. Etken ve kontaminan suşların üreme süreleri student T testi ile karşılaştırıldığında aradaki farkın ileri derecede anlamlı olduğu bulunmuştur ($p< 0,0001$). Etken ve kontaminan kabul edilen mikroorganizmalar tabloda verilmiştir.
Sonuç
Sonuç olarak bu çalışmada, özellikle birden fazla örneğin alınamadığı durumlarda kan kültürleri değerlendirilirken etken-kontaminan ayrımının yapılabilmesi için üreme sürelerinin kritik bir rolü olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bactec, etken, kontaminan

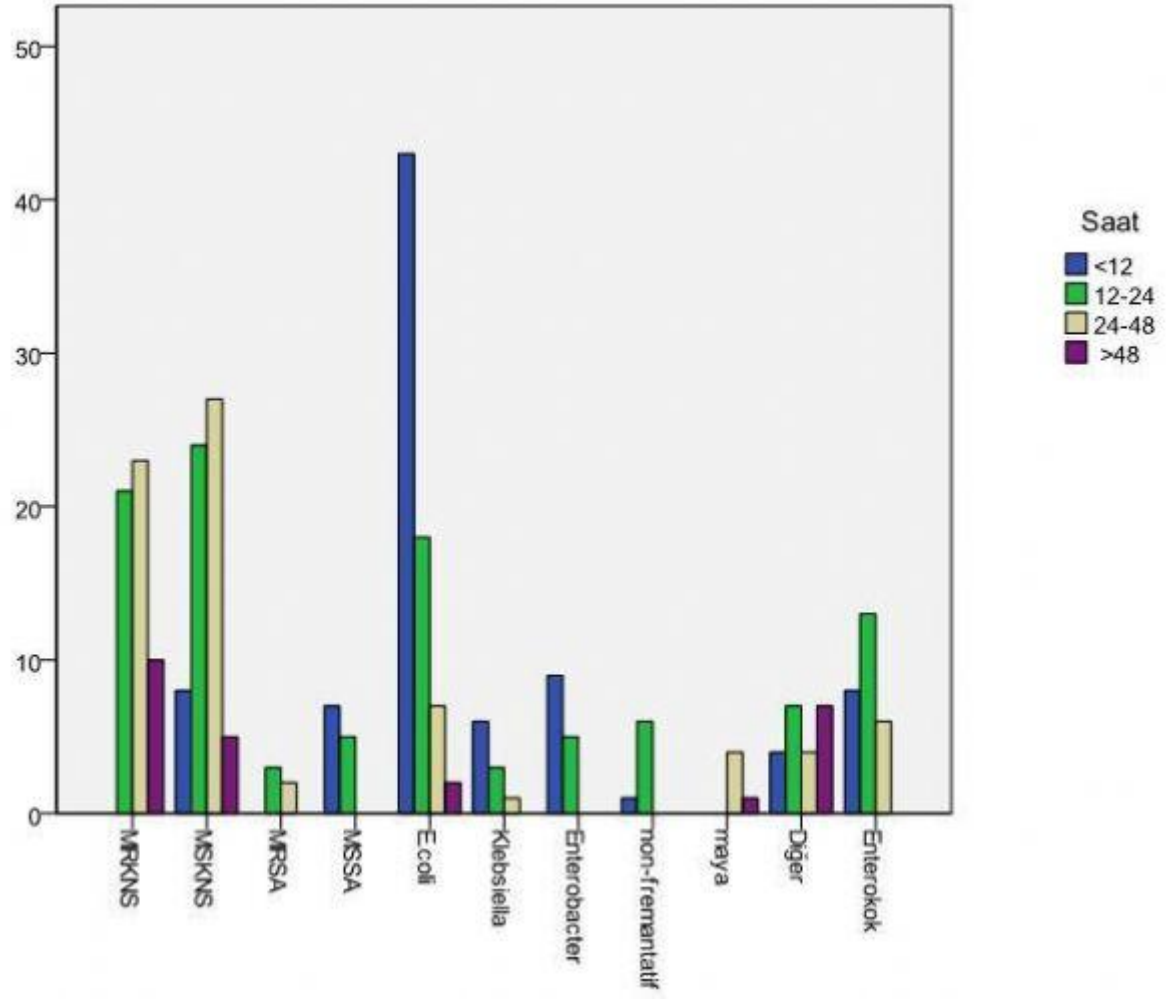
Tablo 1 Etken ve kontaminant düşünülen bakteri sayılarının türlere göre dağılımı

		Etken		
		etken	kont.	Toplam
Bakteri	MRKNS	34	20	54
	MSKNS	34	30	64
	MRSA	3	2	5
	MSSA	12	0	12
	E.coli	67	3	70
	Klebsiella	8	2	10
	Enterobacter	14	0	14
	non-fremantatif	4	3	7
	maya	3	2	5
	Diğer	9	13	22
	Enterokok	24	3	27
Toplam		212	78	290

Tablo 2 Bakteri türlerinin kan kültüründe üreme zamanlarına göre dağılımı

		Saat				Toplam
		<12	12-24	24-48	>48	
Bakteri	MRKNS	0	21	23	10	54
	MSKNS	8	24	27	5	64
	MRSA	0	3	2	0	5
	MSSA	7	5	0	0	12
	E.coli	43	18	7	2	70
	Klebsiella	6	3	1	0	10
	Enterobacter	9	5	0	0	14
	non-fermantatif	1	6	0	0	7
	maya	0	0	4	1	5
	Diğer	4	7	4	7	22
	Enterokok	8	13	6	0	27
Toplam		86	105	74	25	290

Resim 1 Bakteri türlerinin kan kültüründe üreme zamanlarına göre dağılımı



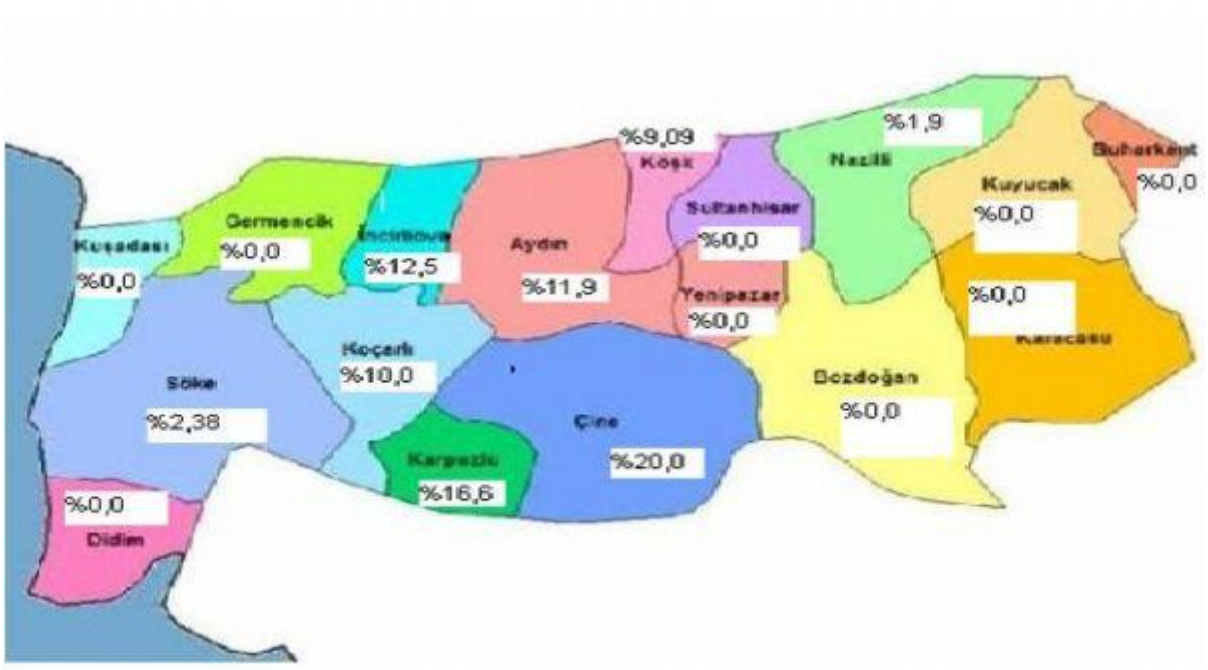
P56- AYDIN İLİNDE BARTONELLA HENSELAE SEROPREVALANSI VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Atiye Meltem Aksoy[1], Neriman Aydın[1], Nermin Erol[2], Mete Eyigör[1]
[1]*Adnan Mendered Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü , Aydın*
[2]*Aydın İl Sağlık Müdürlüğü, Aydın*

Amaç
Bartonella henselae önemli halk sağlığı sorunlarına neden olmaktadır.Türkiye'de Bartonella'lara bağlı kedi tırmığı hastalığı, basiller anjiyomatoz olgu sunuları bulunmaktadır. Ayrıca kan donörlerinde yapılan bir çalışmada B. henselae IgG seropozitifliği % 6 olarak bulunmuştur Aydın ilinde Bartonella henselae seroprevalansı bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı Bartonella hensela türünün erişkinlerde seroprevalansı ve risk faktörlerini belirlemektir.
Yöntem
Bu çalışmada Nisan 2009-Mart 2011 tarihleri arasında Aydın merkez ve ilçe sağlık ocaklarına başvuran 18 yaş üstü 344 erişkinden alınan kan örneklerinde çalışılmıştır. Örneklerde Bartonella henselae IgG, indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ile araştırılmıştır. Seropozitif saptanan örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile Bartonella henselae aranmıştır.
Bulgular
Serum örneklerinde Bartonella henselae IgG 1/64 dilüsyonda %6,1, 1/128 dilüsyonda %2,6, 1/256 dilüsyonda %2,6 oranında saptanmıştır. Seropozitif olarak saptanan serum örneklerinde PZR ile pozitiflik saptanmamıştır. Araştırmaya katılan kişilerin yaşam özellikleri ve demografik verileri incelendiğinde; Bartonella henselae seropozitifliğiyle; kadın cinsiyette olma, 20 yaş altında olma, kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü ve doğada uğraş öyküsü arasında anlamlı ilişki ($p<0.05$) bulunmuştur.
Sonuç
Aydın'da Bartonella henselae seroprevalansı % 6,1 oranında bulunmuştur. Aydın ve çevresinde özellikle çocuklarda ve genç erişkin yaş grubunda, özellikle lenfadenopatiyle seyreden infeksiyonların tanı ve ayırıcı tanısında Bartonella henselae düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: Bartonella henselae, IFA, PZR, seropozitiflik oranı, risk faktörleri

Resim1.Aydın İlinde Bartonella henselae seropozitifliğinin ilçelere göre dağılım oranları



Tablo 1. Serum dilüsyon titresine göre B. henselae seropozitifliği

Dilüsyon oranı	*B. henselae* IgG		*B. henselae* IgG	
	Pozitif	(%)	Negatif	(%)
1/64 dilüsyon	21	6,1	323	93,9
1/128 dilüsyon	9	2,6	335	97,4
1/256 dilüsyon	9	2,6	335	97,4
1/512 dilüsyon	0	0	0	0

Tablo2.Bartonella henselae seropozitifliğinin risk faktörleri ile ilişkisi.

Özellik	n	*B. henselae* IgG (+)	(%)	p
Cinsiyet				
Kadın	124	12	9,7	0.036
Erkek	210	8	3,8	
Yaş				
20 ve altı	25	4	16,0	0.046
21-30	67	7	10,4	
31-40	61	4	6,6	
41-50	90	2	2,2	
50 ve üzeri	101	4	4,0	
Eğitim durumu				
İlköğretim ve altı	162	8	4,9	0.5
Ortaöğretim ve üzeri	182	13	7,1	
Kedi/köpek teması				
Var	120	14	10,8	0.009
Yok	214	7	3,3	
Evde hayvan besleme				
Var	49	7	14,3	0,01
Yok	195	14	4,7	
Kedi tırmalaması öyküsü				
Var	13	5	38,5	0.02
Yok	331	16	4,8	
Doğada uğraş öyküsü				
Var	11	3	27,3	0.03
Yok	333	18	5,4	

P57- YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE ÇALIŞAN HASTANE PERSONELİNİN BURUNLARINDAN İZOLE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS KÖKENLERİNİN "PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESİS" YÖNTEMİ İLE TİPLENDİRMESİ

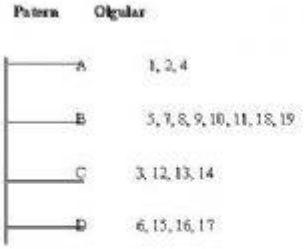
Fatma Şebnem Yıldız[1], **Süreyya Gül Yurtsever[2]**, Nisel Yılmaz[3], Aşkın Yıldız[4], Çağrı Büke[5]
[1]*Türkan Özilhan Bornova Acil ve Travmatoloji Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir*
[2]*İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuarı,İzmir*
[3]*İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuarı,İzmir*
[4]*İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir*
[5]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir*

Amaç
Yoğun bakım ünitesi infeksiyon etkenleri arasında en sık karşılaşılan mikroorganizmaların başında gelen S. aureus ile, hastane infeksiyonlarının oluşmasında en önemli faktörlerden biri, hastane personelinin burun taşıyıcılığıdır. Bu çalışmada yoğun bakım ünitelerinde çalışan hemşire ve yardımcı sağlık personelinin burunlarında S.aureus kolonizasyonu/taşıyıcılığının ortaya konması, bu kökenlerin PFGE yöntemi ile epidemiyolojik tiplendirilmesi ve fenotipik yöntemle karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Toplam 215 hemşire ve yardımcı sağlık personelinden alınan burun sürüntü örneklerinin kültürleri yapıldı ve kültürler konvansiyonel yöntemlerle değerlendirildi. MRSA'lar Oxacilin disk yöntemi ile tanımlandı. S. aureus'ların antibiyotik duyarlılıkları CLSI'ın önerileri doğrultusunda modifiye Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. İzole edilen S. aureus kökenlerinin epidemiyolojik tiplendirilmesi PFGE yöntemi ile yapıldı.
Bulgular
Çalışmaya alınan toplam sekiz ünitedeki sağlık personelinin yaşları 19-52 (yaş ortalaması:45) arasında bulundu. Bu kişilerden yapılan burun sürüntü kültürlerinde 169 kişide (%78.7) flora bakterileri üredi. 46 kişide (%21.3) ise S.aureus izole edildi. S.aureus kökenlerine disk difüzyon yöntemiyle yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, kökenlerin 27 (%58.7)'sinin metisiline duyarlı, 19 (%41.3)'unun ise dirençli olduğu saptandı. İzole edilen tüm S.aureus kökenleri penisiline dirençli, vankomisin ve teikoplanine duyarlı olarak bulundu. Çalışmada saptanan 19 MRSA kökeninin 5'i yardımcı sağlık personelinden, 14'ü hemşirelerden, 27 MSSA kökeninden 11'i hemşirelerden, 16'sı yardımcı sağlık personelinden izole edildi. Pulsed-field gel electrophoresis'de tüm suşların analizi yapıldı. MRSA kökenlerinde 4 (A, B, C, D), MSSA kökenlerinde ise 10 (a, b, c, d, e, f, g, h, ı, j) farklı patern elde edildi. Pulsed-field gel electrophoresis'in sonucuna göre aynı tür oldukları anlaşılan bazı izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarında farklar görüldü. Toplam 19 MRSA kökeninin sekizinin B paterni göstermesi (%42'si), bunların cerrahi ünitelerde yoğunlaşması ve ayrıca GKDC yoğun bakımı personelinden soyutlanan tüm MRSA'ların B paterni oluşu dikkati çekmiştir.
Sonuç
Farklı YBÜ'de benzer paternlerin görülmesi de hastane içinde personeller arası bulaşın olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca antibiyotik duyarlılık paterni aynı olan bakterilerin genotipik olarak aynı tip olmayabilecekleri veya genotipik olarak aynı tip oldukları kanıtlanan bakterilerin fenotipik olarak farklı antibiyotik duyarlılıkları gösterebilecekleri görülmüştür.

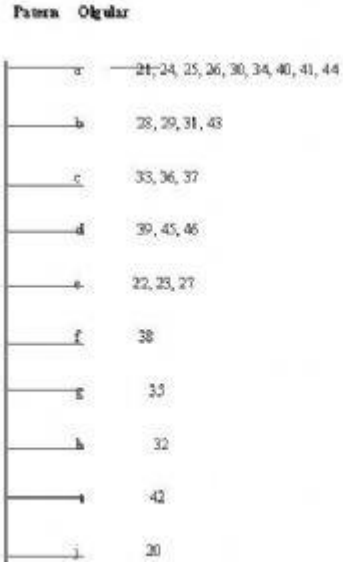
Anahtar Kelimeler: Nasal taşıyıcılık, PFGE, S. aureus

MRSA ve MSSA PFGE dendogramı

Şekil-3. MRSA için Elde Edilen PFGE Dendogramı

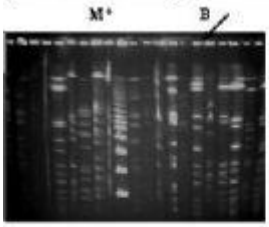


Şekil-4. MSSA için Elde Edilen PFGE Dendogramı

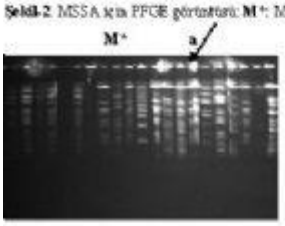


MRSA ve MSSA PFGE görüntüsü

Şekil-1. MRSA için PFGE görüntüsü. **M***: Molecular weight marker ve **B** paterni (okla gösterilmiştir)



Şekil-2. MSSA için PFGE görüntüsü. **M***: Molecular weight marker ve **a** paterni (okla gösterilmiştir)



MRSA ve MSSA'nın PFGE Sonuçlarının Ünitelere Göre Dağılımı

Table – 2. MRSA İçin PFGE Patern Sonuçlarının Ünitelere Göre Dağılımı

	Genel Cerrahi	NRŞ	GKDC	Anestezi yoloj i ve Reanimasyon	İç Hastalıkları
A	3	-	-	-	-
B	-	1	5	2	-
C	1	-	-	-	3
D	-	1	-	2	1

Table - 3. MSSA İçin PFGE Patern Sonuçlarının Ünitelere Göre Dağılımı

KLİNİK	Genel Cerrahi	Organ Nakli	NRŞ	GKDC	Yenidoğan	Anestezi yoloji ve Reanimasyon	Nöroloji
a	1	3	1	1	-	3	-
b	-	-	3	-	-	1	-
c	-	-	-	1	-	-	2
d	-	-	-	-	1	2	-
e	1	1	1	-	-	-	-
f	-	-	-	-	1	-	-
g	-	-	-	-	-	-	1
h	-	-	-	1	-	-	-
ı	-	-	-	-	-	1	-
j	1	-	-	-	-	-	-

P58- VEROCYTOTOXİN ÜRETEN ESCHERİCİIA COLİ (VTEC) VE ENTERİK ADENOVİRUSUN İKİSİNİN BİRLİKTE ETKEN OLDUĞU GASTROENTERİTLİ BİR PEDİYATRİK OLGU SUNUMU

Recep Keşli[1], Hüseyin Bilgin[2], Melike Emiroğlu[3]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya*
[2]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hastalıkları Kliniği, Konya*
[3]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Konya*

Gastroenterit etkenlerinin saptanması hastalığın tedavisi ve prognozunun öngörülmesinde önemlidir. Verotoksin üreten Escherichia coli (E. coli) O157 H7 (VTEC) diğer adı ile Enterohemorajik E. coli (EHEC) zoonotik patojen olup insanlarda hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom gibi bir çok hastalıkla ilişkilidir. Enterik adenovirüs, en sık 0-3 yaş grubu çocuklarda akut ve uzamış ishal nedeni olarak sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Üst solunum yolu enfeksiyonu sırasında ve sonrasında dışkıda bulunabilmektedir. Ancak, serotip 40,41 ve nadiren 31 gastroenterite neden olabilmektedir Burada 3.5 yaşındaki kız hasta, iki gündür ishal ve kusma, dünden beri de mevcut olan ateş yakınmalarıyla başvuran ve gaita numunesinde verotoksin üreten E. coli ve adenovirüs tespit edilen bir hasta sunulmuştur.
İshalli gaita örneğinden gastroenterit etkeni çeşitli bakteri ve virusların varlığı, Multipleks PCR ve mikrokapiller jel elektroforez tabanlı moleküler tanı yöntemi ile araştırıldı. Bir test ile (Seeplex® Diarrhea-B1 ACE Detection Kit, Seegene Inc., Seoul, Korea): Astrovirus, Group A rotavirus, Enteric adenovirus, Norovirus-G1, Norovirus-G1, Vibrio spp, Clostridium difficile toxin B, Salmonella spp, Shigella spp, Campylobacter spp., Clostridium perfiringens, Yersinia enterocolitica, E. coli 0157, E. coli H7, Verocytotoxin producing E. coli (VTEC), Aeromonas spp. varlığı araştırlıdı. Test sonucunda Adenovirus ve Verocytotoxin producing E. coli (VTEC) ikisi biden pozitif ancak test edilen diğer etkenlerin tamamı negatif olarak belirlendi. İlaveten E.coli O157:H7 gaita antijen testi de çalışıldı ve pozitif olarak değerlendirildi (E.coli O157: H7 Test CerTest Biotec, Zaragoze, Spain). Ayıca E.coli O157:H7 tanısı kültür ile ve anti-serumlar ile doğrulandı.
Bu olgu sunumunda adenovirüs ve ülkemizde nadir rastlanan verotoksin üreten E. coli klinik ve epidemiyolojik önemi yönünden olgu sunumu olarak tartışıldı.

Anahtar Kelimeler: Verotoksin üreten Escherichia coli O157 H7, Adenovirüs, Gastroenterit

P59- LİSTERİA MONOCYTOGENES'İN NEDEN OLDUĞU BİR MENENJİT OLGUSU

Yasemin Ay Altıntop[1], Nevin İnce[2], Hacer Salman[3]
[1]*Nevşehir Dr İ.Şevki Atasagun Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Nevşehir*
[2]*Nevşehir Dr İ.Şevki Atasagun Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Nevşehir*
[3]*Nevşehir Dr İ.Şevki Atasagun Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları, Nevşehir*

Amaç
Listeria monocytogenes immünitesi baskılanmış hastalarda; yaşlılarda, gebelerde,yenidoğanlarda hayatı tehdit eden bakteriyemi ve menenjite neden olur. Burada pemfigus vulgaris tanısı nedeniyle immünsüpresif tedavi alan ve *Listeria monocytogenes* menenjiti oluşan bir erişkin sunulmaktadır.
Vaka
62 yaşında bayan hasta Nevşehir Dr İ.Şevki Atasagun Devlet Hastanesi Dermatoloji Polikliniğine, aşırı halsizlik, genel durumda düşkünlük yakınması ile getirilmiş. Biyokimya tetkiklerinde Na değerinin 116 mmol/L (135-145) bulunması üzerine dahiliye bölümüne yönlendirilince yatışı yapıldı. Hastanın; bilinci açık, koopere, fakat halsiz ve bitkin görünümde, hafif uykuya meyilli idi. Özgeçmişinde altı ay önce pemfigus vulgaris nedeniyle 4x16 mg metil prednisolon ve 1x50 mg azotiyopurin başlandığı, takibinde diabetes mellitus geliştiği ve insülin kullandığı öğrenildi. İnsülin ve elektrolit tedavisi düzenlenen hastanın yatışının 2. günü ateşi olunca ampirik olarak 2x1 gr iv dozunda seftriakson başlandı, steroid tedavisine devam edildi, azotiyopurin tedavisi dermatoloji tarafından kesildi. Servise yatışının 3. gününde bilinçte bulanıklaşma, uykuya meyil gelişen hastaya nöroloji konsultasyonu istendi. Nörolojik muayene normal olarak değerlendirildi, beyin MR ve EEG planlandı. Mevcut tablosu metabolik ensefalopati olarak düşünüldü. Yatışının 4. gününde bilinçte kapanma, ağrılı uyarana yanıt vermeme, ateşinin devam etmesi üzerine infeksiyon hastalıkları tarafından konsulte edilen hastada ateş: 38.6ºC, kan basıncı: 90/50 mmHg, nabız:88/dk idi. Fizik muayenede ense sertliği mevcuttu. Hastada merkezi sinir sistemi infeksiyonu düşünüldü, ampirik olarak 2x2 gr iv seftriakson ile birlikte ensefalit şüphesiyle 3x750 mg iv asiklovir başlandı. Genel durum bozukluğunun devamı üzerine yoğun bakım servisine alındı. Antibiyotik tedavisinin 4. ve antiviral tedavisinin 2.gününde hastaya yapılan lumbal ponksiyonda BOS hafif bulanıktı, basıncı artmıştı, thoma lamı hücre sayımında mm3'te 1000 beyaz küre bulundu. BOS'ta bakılan glukoz düşük, protein yüksek saptandı. ARB bakısı negatif idi. BOS gram boyamasında gram pozitif basil görüldü. BOS örneği BACTEC standart aerobik otomatize kan kültür şişesine inoküle edildi. Ateşi süren hastanın ardışık iki kan kültürü ve BOS inoküle edilen kan kültür şişesinden pozitif sinyal alındı. Kan ve BOS kültürü gram boyamalarında gram pozitif basil görülmesi üzerine *Listeria monocytogenes*olabileceği düşünülerek hastaya ampisilin 200mg/kg/gün iv, 6 bölünmüş dozda başlandı. İzolat gram boyamasında gram pozitif kısa basil görünümünde, kanlı agarda dar beta hemoliz yapan, düz kenarlı, yarı saydam, hareketli, katalaz ve CAMP testi olumlu bir *Listeria monocytogenes* olarak tanımlandı. Antiserumla yapılan serotiplendirmesinde tip 4 olarak tanımlandı. Hasta yoğun bakıma alınışının 10. gününde sepsis ve DİK nedeniyle kaybedildi.
Sonuç
Yaşlı ve özellikle immunsupresif tedavi alan hastalarda menenjit bulguları geliştiğinde *Listeria monocytogenes* etken olarak akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, menenjit, immünsupresyon

P60- STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA'NIN ETKEN OLDUĞU GEÇ BAŞLANGIÇLI AKUT ENDOFTALMİ OLGUSU

Mehmet Burak Selek[1], Akın Çakır[2], Mustafa Özyurt[1], Bayhan Bektöre[1], Barış Yalçın[1], Orhan Baylan[1], Tunçer Haznedaroğlu[1]
[1]*Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul*
[2]*Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi, İstanbul*

Amaç
Akut endoftalmi olgularında nadir de olsa *Stenotrophomonas maltophilia*'nın etken patojen olarak görülebildiğini vurgulamaktır.
Yöntem
Akut endoftalmi ön tanısı ile hastanemiz Göz Hastalıkları servisine yönlendirilen hastaya vitrektomi ameliyatı yapılmış, intraoperatif olarak alınan vitreus sıvısı örneklerine laboratuvarımızda spesifik ve non spesifik kültür işlemlerinin yanısıra direkt mikroskopi ve boyalı preparasyonlar uygulanmıştır. İdentifikasyon, konvansiyonel yöntemlerle yapılmış ve VITEK2 otomatize cihazı ile de konfirme edilmiştir. İzolatın antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute 2010 (CLSI) kriterleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Hastaya ait vitreus sıvısı örneğinden yapılan direkt mikroskopik incelemeler ve gram boyalı preparasyonlarda enfeksiyonu destekler nitelikte yoğun parçalı lökositler ile gram negatif basil morfolojisinde bakteriler gözlendi. Örneğe ait kültür işlemleri sonrası %5 koyun kanlı agardaki üremelerde yuvarlak, düz, opak ve non-hemolitik koloniler izole edildi. İdentifikasyon amaçlı yapılan incelemelerde hareketli, gram negatif basil morfolojisinde non-fermentatif bir bakteri olduğu gözlendi. Ayrıca katalaz, üreaz ve oksidaz aktivitelerinin negatif, eskülin, DNAse, ONPG testlerinin pozitif olduğu saptandı. Otomatize sistem ile de *S.maltophilia* olarak tanımlanan etkenin, yapılan duyarlılık testi sonucunda Trimethoprim-Sulfamethoxazole (TMP-SXT) dirençli, levofloksasin, doksisiklin ve minosikline duyarlı olduğu bulundu.
Sonuç
Bu olguda *S. maltophilia* akut endoftalmi etkeni olarak izole edilmiştir. Klinik pratikte endoftalmiler akut (post – operatif ilk 6 hafta) ya da kronik (post – operatif 6.haftadan sonra) olarak sınıflandırılır. Akut endoftalmiler daha ziyade post-operatif 3-5.günlerde görme azlığı, konjonktival hiperemi, yoğun ön kamara reaksiyonu, hipopiyon ve vitritis bulguları ile karşımıza çıkarlar. Akut endoftalmiler de etken %80 gram pozitif bakteriler (stafilokok ve streptokoklar) olmakla birlikte gram negatif patojenlerin önemli bir kısmı pseudomonas ve diğer non-fermentatif bakterilerdir. Geç endoftalmiler ise klinikte karşımıza hafif bir konjonktival hipereminin eşlik ettiği üveit benzeri tablo ile çıkarlar. Geç endoftalmilerde sıklıkla *Propianobacterıum acnes* ve fungal patojenler etkendir.
Bu olguda endoftalmi tablosu post-operatif 30.günde gelişmiş olup akut endoftalmi tanısıyla hastanemiz göz hastalıkları kliniğine yatırılmıştır.
Olguya pars plana vitrektomi ile birlikte ampirik olarak irrigasyon sıvısına vankomisin ve gentamisin uygulaması yapılmıştır. Ancak kliniğinde belirgin bir gerileme olmamıştır. Operasyonda alınan vitreus sıvısı kültürü sonucunda izole edilen yapılan duyarlılık testinde levofloksasin, doksisiklin ve minosikline duyarlı bululunmuştur. Bunun üzerine tedaviye oral ve topikal levofloksasin uygulaması ilave edilmiş ve hastada tam tedavi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akut endoftalmi, pars plana vitrektomi, *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia



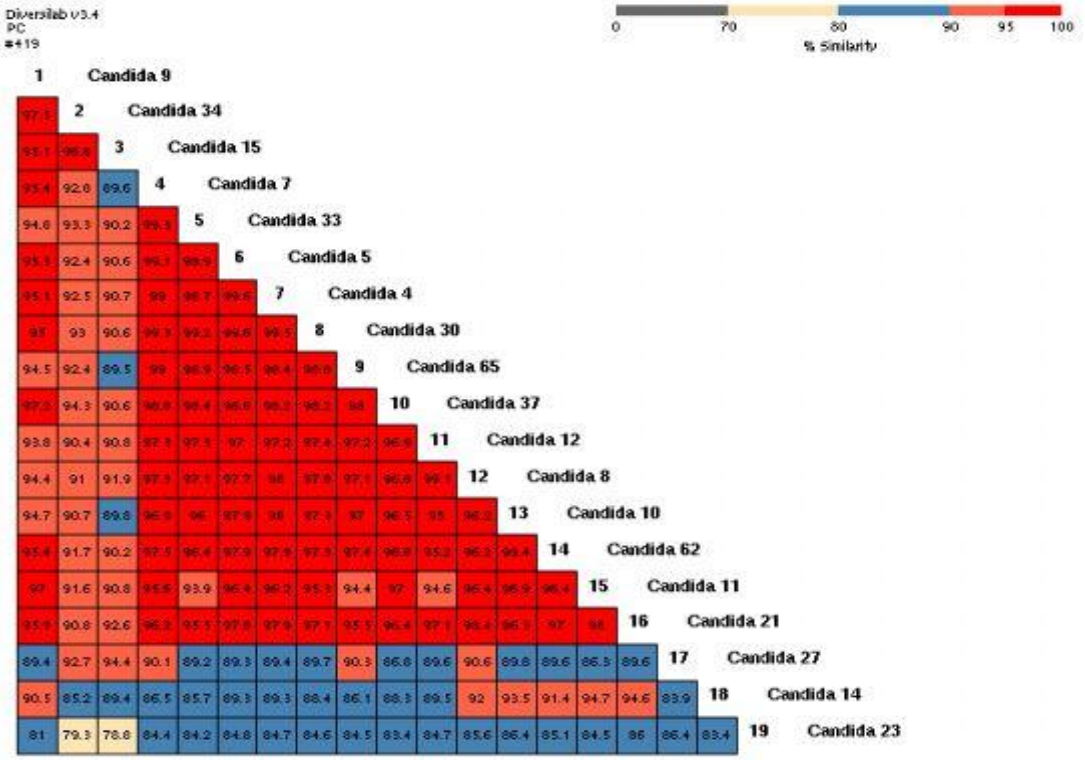
P61- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *CANDİDA ALBİCANS* SUŞLARININ ANTİFUNGAL DUYARLILIĞI VE MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

Mustafa Altay Atalay, **Selcan Çolakoğlu,** Süleyman Durmaz, Aslıhan Gültekin, Ayşe Nedret Koç
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

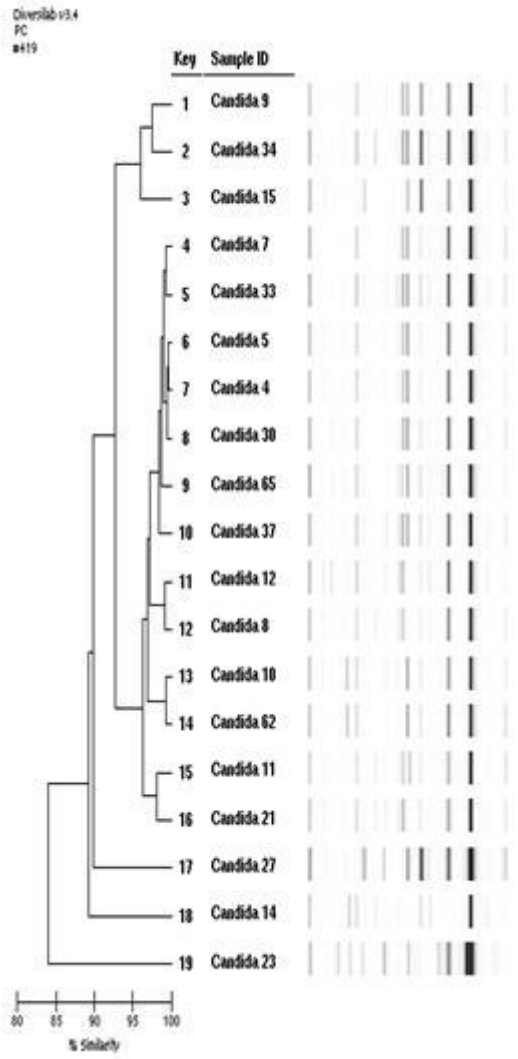
Amaç
Son yıllarda immunosupresif tedavi alan hastaların artması, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, transplantasyon cerrahileri, yoğun bakım hastalarında artış ve hastalara uygulanan invaziv işlemler nedeniyle candida türleri nozokomiyal patojenler içinde giderek önem kazanmaktadır. Nozokomiyal candida enfeksiyonlarının kontrol altına alınması için antifungal tedaviye en uygun ajanlarla ve en kısa sürede başlanmalıdır.
Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. albicans* suşlarının klonal yakınlığı ve antifungal duyarlılığının belirlemesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, 7' si kan, 6' sı bronkoalveoler lavaj (BAL), 3' ü periton mayi, 1' i beyin omurilik sıvısı (BOS), 1' i doku, 1' i plevral mayi olmak üzere toplam 19 örnekten enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *C. albicans* suşu çalışmaya alındı. Antifungal duyarlılık, E-test yöntemi ile çalışıldı. Amfotersin B, flukonazol, ketokonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin, posakonazol için MIK(minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerleri belirlendi. Suşların Diversilab parmak izi kiti kullanılarak klonal yakınlığı belirlendi.
Bulgular
Çalışılan 19 suş amfotersin B, flukonazol, ketokonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve posakonazol için düşük MIK değerleri gösterdi(tablo 1)
Klonal yakınlık çalışılan suşlar iki farklı klona ait bulundu. A klonuna ait 18 suşun 3' ü A1 alt klonuna, 13' ü A2 alt klonuna, 1' i A3 alt klonuna, 1' i ise A4 alt klonuna ait bulundu. B klonunda ise 1 tane suş saptandı.(Şekil.1)
Sonuç
Candida enfeksiyonlarında mortalite ve morbidite yüksektir. Mümkün olan en kısa zamanda en uygun tedaviye başlamak enfeksiyonu kontrol altına almak için önemlidir.
Sonuc olarak hastanemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *C. albicans* suşlarında amfotersin B, flukonazol, ketokonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve posakonazol için düşük MIK değerleri saptanmıştır. Farklı klona ait suşlarda antifungal duyarlılık açısından anlamlı bir fark gözlenmedi. Buna rağmen zaman içinde antifungal duyarlılık profillerinde olusabilecek değişimlerin ve direnç gelişiminin takip edilebilmesi için, antifungal duyarlılık ve moleküler epidemiyolojik testlerinin yapılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: antifungal duyarlılık, *C. albicans*, moleküler epidemiyoloji

Şekil. 1 C.albicans suşlarının klonal yakınlık matrixi



Şekil.2 C.albicans suşlarının klonal yakınlık dendogramı



Tablo.1 Suşların geldiği kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı	%
Göğüs Hastalıkları	7	37
Pediatri	4	21
Dahiliye	4	21
Enfeksiyon Hastalıkları	2	11
Kardiyoloji	1	5
Genel Cerrahi	1	5

Tablo.2 Suşların antifungal MIK değerlerine göre dağılımı

	0.004	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.50	1
Amfotersin B	-	-	-	4	13	2	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	6	10	3
Ketokonazol	15	4	-	-	-	-	-	-	-
Itrakonazol	-	13	4	1	1	-	-	-	-
Vorikonazol	1	11	7	-	-	-	-	-	-
Kaspofungin	-	-	1	9	9	-	-	-	-
Posakonazol	-	8	10	1	-	-	-	-	-

P62- INVESTİGATİNG BACTERİAL FACTORS WHİCH ARE AFFECTİVE İN DEVELOPİNG İNFECTİONS AFTER THE BURNS İN BURN WARD OF NEKUİE -HEDAİATİ HOSPİTAL, IRAN, QOM 2010-2011

Mohammad Khodadad Motlagh, Mohammad Reza Zolfaghari, Soheil Aghaie, Azam Heidarpour
Islamic Azad University of Qom, Iran, Qom

Burn wounds are suitable environments for the growth of various opportunistic microorganisms causing infections. The Knowledge of effective microorganisms in the incident of infection and their antibiotic susceptibility are fundamental in prevention, and proper and timely treatment of infections. In this study, bacterial factors effective in developing infections after burns and their pattern of antibiotic resistancy in burn wards of Nekuie hospital, Qom were determined.

Materıals-Method

In this study, 70 patients admitted in burn wards of Nekuie hospital, in a five-month period of sampling were sampled. After Sampling and isolation of bacteria biochemical standard test for determining microorganisms were done. Determination of antibiotic resistance patterns by using disc diffusion or Kirby Bauer that contain antibiotics cotrimoxazole, vancomycin, ciprofloxacin, cephalothin, ceftazidime, amoxicillin, amikacin, gentamicin, Klrafnykl, cefazolin, cefotaxime, ceftriaxone, ampicillin, oxacillin, and imipenem was performed.

Results

54 cases (77/14%) of a total of 70 samples taken from patients admitted in burns ward, the wounds showed positive cultures. The most common bacterial cause of nosocomial infection was Pseudomonas, 40 cases (38/09%), and after that Staphylococcus aureus, 12 cases (11/42%) and Enterococcus faecalis, 10 cases (9/52%).

Conclusıon

Results indicated that given the high incidence of nosocomial infections in burns ward, the use of new methods for prevention and transmission of infectious agents as well as effective use of antibiotics such as amikacin and gentamicin in the treatment are inevitable.

Anahtar Kelimeler: infection, burn wound, bacteria, antibiotic resistance

P63- Hekimlerin antibiyotik reçetesi yazma durumları ile ilişkili etmenlerin belirlenmesi araştırması

Mustafa Necmi İlhan[1], **Nilay Çöplü[2]**, Emine Füsun Civil[1], Zeynep Belma Şenlik[1], Berrin Esen[2], Mustafa Ertek[3]
[1]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, Ankara*
[2]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[3]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*

Amaç
Antibiyotikler birinci ve ikinci basamak hekimlikte en sık reçete edilen ilaçlar arasında yer almaktadır. Bu reçetelerin hepsinin de bakteriyel enfeksiyon durumda ve uygun doz, sıklık ve süre ile yazıldığını söylemek ne yazık ki mümkün değildir. Hekimlerin antibiyotik reçetesi yazma durumları ve etkileyen etmenlerin belirlenmesi, antibiyotiklere karşı gelişecek olan direnci azaltmak için alınacak önlemlere yol göstericektir. Ayrıca Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı tarafından antimikrobiyallere karşı direnç gelişimini engellemek için akılcı antimikrobiyal kullanımı stratejik eylem planı hazırlanmakta, bu plan çerçevesinde mevzuat çalışması, rehberlerin yazılması ve eğitiminin planlanması gibi önlemler yer almaktadır. Bu önlemlerin verimini ölçmekte de bu araştırmanın sonuçları karşılaştırma yapmak amacıyla kullanılacaktır.
Gereç-Yöntem
Çalışma Temmuz 2010-Şubat 2011'de, Türkiye genelinde 8 NUTS bölgesinde olan Edirne, Manisa, Sakarya, Ankara, Mersin, Nevşehir, Trabzon ve Elazığ'da yürütülmüştür. Kırsal ve kentsel dağılıma göre 80 Aile Hekimi ve 80 Uzman Hekim ile yüz yüze görüşülmüştür.
Bulgular
Hekimler "Muayene ettiğiniz her hastaya reçete yazar mısınız?" sorusuna %78,0; "Muayene ettiğiniz her hastaya antibiyotik yazar mısınız?" sorusuna %97,5 hayır demişlerdir. Hekimlerin %56,0'sı "Sağlık Bakanlığı Birinci Basamağa Yönelik Tanı ve Tedavi Rehberleri"ni kullanmadığını, %69,2'si de antibiyotik reçete ederken rehber kullanmadıklarını söylemişlerdir. Hekimler bir haftada ortalama 69,5±55,7 kişiye; 67,0±56,9 kutu; 6,5±1,5 günlük antibiyotik yazdıklarını söylemişlerdir. Hekimler antibiyotik yazma kararında, kendileri için %61,7, meslektaşları için %63,0 sıklıkta önceki deneyim ve bilgilerinin en etkili belirleyici etken olduğunu söylemişlerdir. Hekimler hastanın hastalığı ile ilgili antibiyotik yazılmasını istediğinde %86,7, evde bulundurma amaçlı antibiyotik yazılmasını istediğinde %93,1 sıklıkta yazmayacaklarını belirtmişlerdir. Hekimlerin %84,8'i antibiyotik yazmadan önce hastalardan tetkik istediklerini, %98,1'i hastanın kliniğinin yazılacak antibiyotiği seçmede en etkili etmen olduğunu ve %90,6'sı hastanın yaşının yazılacak antibiyotiğin dozunu ayarlamada en etkili etmen olduğunu belirtmiştir. Hekimler antibiyotik yazarken hastaların şikâyetlerine göre ateş (%83,64), idrar yolu şikâyetleri (%73,58) ve boğaz ağrısı (%47,79); tanısına göre idrar yolu enfeksiyonu (%49,1), tonsillit (%33,8) ve sinüzit (%30,3) ilk üç sırayı almaktadır. En çok yazılan antibiyotik grubu sıralaması penisilin (%67.8), sefalosporin (%36.6) ve makrolid (%13.8) şeklindedir. Hekimlerin %84,9'u, antibiyotik kullanımından ortalama 7,3±2,8 gün sonra hastaları tekrar gördüklerini belirtmişlerdir. Hekimlerin %52,5'i mezuniyet öncesi, %68,7'si mezuniyet sonrası akılcı ilaç/antibiyotik kullanımı ile ilgili eğitim aldıklarını, %60,0'ı ise akılcı ilaç/antibiyotik kullanımı ile ilgili eğitim almak istediğini belirtmiştir.
Sonuç
Hekimlerin rehberleri pek sık kullanmadıkları, buna karşılık eğitim almak istedikleri gözlenmiştir. Bu durum rehber yazmaya ek olarak eğitimlerin de planlanması gerektiğini ortaya koymaktadır. Hasta istediğinde antibiyotik yazmadıklarını söyleseler de, hastaların evdeki ilaçları bulundurma yolları sıklıkla doktordan rica etmek şeklindedir. Çoğunluk antibiyotik yazmadan önce tetkik istediğin belirtse de antibiyotik seçiminde hastanın kliniğine göre hareket ettiklerini belirtmişlerdir. Bunun yerini ülkedeki direnç verisi bilgisinin alması sağlanmalıdır. Hekimlerin antibiyotik yazarken gözettikleri semptomlar, tanılar ve seçilen antibiyotikler çok da hatalı bulunmamıştır. Ancak isim saklı kalsa da ankete verilen cevapların gerçekleri tam olarak yansıtmayabileceği de akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik, hekimler, anket çalışması

Hekimlerin Antibiyotik Reçetesi Yazması İle İlişkili Olabilecek Etmenler, Türkiye, 2010.

	n	%
Başvuran kişilerin sosyo-ekonomik düzeyi (n=160)		
Düşük	67	41,8
Orta	88	55,0
Yüksek	5	3,1
Muayene Edilen Her Hastaya Antibiyotik Yazma Durumu		

(n=158)		
Hayır	154	97,5
En Çok Reçete Edilen Antibiyotik Grubu (159)		
Pinisilinler	100	67,8
Sefalosporinler	54	36,3
Makrolidler	22	13,8
Florokinolonlar	15	9,5
Aminoglikozidler	2	1,2
Antibiyotik Reçete Ederken Rehber Kullanma Durumu (n=159)		
Hayır	110	69,2
Antibiyotik Reçete Ederken "Sağlık Bakanlığı Birinci Basamağa Yönelik Tanı ve Tedavi Rehberleri"ni Kullanma Durumu (n=159)		
Hayır	89	56,0
Antibiyotik Yazma Kararında Etkili Olan Etmen (n=159)		
Önceki Deneyim ve Bilgiler	99	61,7
Standart Rehberler/Tedavi Kılavuzları	64	39,6
Güncel Literatür Bilgileri	52	32,6
Tıbbi Mümessillerin Önerileri	3	1,8
Antibiyotik Yazma Amaçları (n=142)		
Profilaksi	7	4,9
Tedavi	130	91,6
Hastanın isteği	5	3,5
Hastanın Hastalığı ile İlgili Antibiyotik Yazılmasını İstemesi Halinde Yazma Durumu (n=158)		
Hayır	137	86,7
Hastanın Evde Bulundurma Amaçlı Antibiyotik Yazılmasını İstemesi Halinde Yazma Durumu (n=160)		
Hayır	149	93,1

P64- ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İBN-İ SİNA HASTANESİ MERKEZ BAKTERİYOLOJİ LABORATUVARI'NA EKİM 2010 – HAZİRAN 2011 TARİHLERİ ARASINDA GÖNDERİLEN SANTRAL VENÖZ KATETER UCU ÖRNEKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Duygu Öcal[1], Ebru Us[1], İştar Dolapçı[2], Devran Gerçeker[1]
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[2]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç

Santral venöz kateterler birçok hastanın gerek tedavisinde gerekse takibinde sıklıkla kullanılan araçlardır. Hastane kökenli primer kan dolaşım enfeksiyonlarının çoğunun kateterlere, özellikle de santral venöz kateterlere bağlı olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) İbn-i Sina Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen santral venöz kateter ucu kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

AÜTF İbn-i Sina Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarı'na Ekim 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli servislerden gönderilen 182 hastaya ait 223 kateter ucu örneği semikantitatif ve tam kantitatif kültür tekniklerine uygun olarak değerlendirilmiştir. Semikantitatif kültürde >15 kob veya kantitatif kültürde >103 kob/ml olması anlamlı üreme olarak kabul edilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların tür tayinleri ve antibiyotik duyarlılık testlerinin belirlenmesinde konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, A.B.D.) kullanılmıştır.

Bulgular

Çalışmamızda değerlendirilen santral venöz kateterlerin 144'ü (%64,57) reanimasyon, 51'i (%22,87) cerrahi servislerden, 28'i (%12,55) dahiliye servislerinden gönderilmiştir. 223 kateter ucu örneğinin 33'ünde (%14,79) anlamlı üreme olmuştur. Kültürlerde 39 farklı mikroorganizma izole edilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların 14'ü (%35,89) metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS), 7'si (%17,94) *Acinetobacter baumannii,* 3'ü (%7,69) *Escherichia coli,* 3'ü (%7,69) *Pseudomonas aeruginosa*, 2'si (%5,12) *Corynebacter spp*., 2'si (%5,12) *Klebsiella pneumoniae*, 2'si (%5,12) metisilin duyarlı KNS, 1'er adeti de (%2,56) *Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Staphylococcus warneri, Serratia spp.* olarak tiplendirilmiştir.

Antibiyogram duyarlılık testlerinin sonuçları değerlendirildiğinde, MRKNS'lerin hepsinin vankomisin ve linezolide duyarlı oldukları görülmüştür. İkinci sıklıkta izole edilen mikroorganizma olan*A.baumannii* suşlarının ise hepsinin karbapenem dirençli-kolistin duyarlı oldukları saptanmıştır.

Sonuç

Günümüzde gerek hastane gerekse kan dolaşımı enfeksiyonlarına kaynak oluşturmaları nedeniyle kateterlere bağlı enfeksiyonlar ciddi bir sorun oluşturmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonların başarılı tedavisi için etken mikroorganizma ve direnç profillerinin saptanması önemlidir. Bu etkenler ve direnç oranları hastaneler arasında ve zaman içinde farklılıklar gösterebilmektedir. Çalışmamızda saptanan kateter ucu kültür pozitifliği oranında (%14.79), AÜTF bünyesinde yer alan bazı kliniklerin Cebeci Hastanesi kampüsü içerisinde yer alması nedeniyle bu çalışmada değerlendirme dışı bırakılmış olmanın etkisi olabileceği düşünülmüştür. Kliniklerden laboratuvarımıza her kateter ucu örneğiyle birlikte eş zamanlı periferden ve kateterden kan kültürü örneği gönderilemediği için, katetere bağlı kan dolaşım enfeksiyonu sıklığı değerlendirilememiştir. Hastanemizde belirtilen süreler içinde değerlendirilen kateter ucu kültürlerinde ilk sıraları MRKNS ve*A. baumannii* türlerinin aldığı saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında etken mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık paternleri de göz önüne alınarak ampirik tedavinin düzenlenebileceği akılda tutulmalıdır. Ayrıca katetere bağlı kan dolaşım enfeksiyon sıklığının belirlenebilmesi için eş zamanlı olarak periferden ve kateterden kan kültürü için örnek gönderilme gerekliliğinin önemi vurgulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, kateter kültürü, MRKNS, santral venöz kateter

Tablo 1. Anlamlı üreme gösteren kateter örnek sayılarının kliniklere göre dağılımı

KLİNİKLER	Üreme olan kateter sayısı(%)	Üreme olmayan kateter sayısı(%)	TOPLAM
Reanimasyon	17 (11.8)	127 (88.2)	144
Nefroloji	2 (11.1)	16 (88.9)	18
Genel Cerrahi	3 (18.8)	13 (81.2)	16
Beyin Cerrahisi	5 (45.5)	6 (54.5)	11
Transplantasyon Ünitesi	-	9 (100)	9
Acil Servis Kliniği	3 (42.9)	4 (57.1)	7

Nöroloji	1 (100)	-	1
Kalp Damar Cerrahisi	1 (100)	-	1
Göğüs Cerrahisi	1 (33.3)	2 (66.7)	3
Diğer klinikler	-	13 (100)	13
TOPLAM	33 (14.8)	190 (85.2)	223

Tablo 2. Reanimasyon, cerrahi ve dahiliye kliniklerinden gönderilen kateter örneği sayıları ve anlamlı üreme oranları

KLİNİKLER	Üreme görülen kateter sayıları n (%)	Gönderilen toplam kateter sayısı
Reanimasyon	17 (11.8)	144
Cerrahi Klinikler	13 (25.5)	51
Dahiliye Klinikleri	3 (10.7)	28
TOPLAM	33 (14.8)	223

Tablo 3. Kateter ucu kültürlerinde üreyen mikroorganizma türleri ve kliniklere dağılımları

	Reanimasyon	Acil servis	Genel Cerrahi	Nefroloji	Beyin Cerrahisi	Nöroloji	Kalp Damar Cerrahisi	Göğüs Cerrahisi	TOPLAM(%)
MRKNS	7	1	2	1	1	1	1	-	14 (35.9)
A. baumannii	5	-	-	-	2	-	-	-	7 (17.9)
E.coli	1	1	1	-	-	-	-	-	3 (7.7)
Pseudomonas spp	1	1	-	-	1	-	-	-	3 (7.7)
Corynebacterium spp	-	-	-	1	1	-	-	-	2 (5.1)
Klebsiella spp	1	1	-	-	-	-	-	-	2 (5.1)
MSKNS	1	-	-	-	-	-	-	1	2 (5.1)
E. faecium	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
E. faecalis	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
P. mirabilis	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
P. vulgaris	-	1	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
Serratia spp.	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
S. warnerii	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2.6)
TOPLAM	21	5	3	2	5	1	1	1	39 (100)

P65- BALGAM KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN PSEUDOMONAS SPP. VE ACİNETOBACTER SPP.'LERİN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Derya Altun, Tolga Akcan, Gül Erdem, Mustafa Çağatay
S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
Balgam, solunum yolu örnekleri arasında pnömoni tanısı için sıklıkla incelenen bir örnektir. Hastaların çoğunda önceden antibiyotik tedavisi başlanmış olması, hastanın balgam çıkaramaması veya kaliteli balgam örneği alınamaması, balgamın laboratuvara ulaştırılmasında gecikme ve sonuçlanmasının 24-48 saat gerektirmesi balgam kültürünün tanı ve tedaviyi yönlendirmedeki değerini azaltmaktadır.
Bu çalışmada balgam kültürlerinden izole edilen Pseudomonas spp. ve Acinetobacter spp.'lerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan direnç pnömonilerin tedavisinde büyük sorun oluşturmaktadır.
Yöntemler
Haziran 2009-2011 tarihleri arasında S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü laboratuvarına servis ve polikliniklerden gönderilen 900 (669 servis, 231 poliklinik) balgam örneği retrospektif olarak incelenmiştir. Balgam kültürleri %5 koyun kanlı agar ve EMB agara ekilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonu yapılan etken bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılıp, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre değerlendirilirken, az duyarlı olarak saptanan antibiyotikler dirençli kabul edilmiştir.
Bulgular
Laboratuvarımıza gönderilen 900 balgam örneğinin 358'i (%39.8) makroskopik görünüm ve boyalı preparatlarının incelenmesi sonucu vasıfsız olarak değerlendirilmiş, 10'unda (%1.1) herhangi bir üreme saptanmamış, 345'inde (%38.3) ise normal boğaz florası bakterileri üremiştir. Anlamlı bakteri üremesi saptanan 187 (%20.8) balgam kültürünün 52'sinde (%27.8) Pseudomonas aeruginosa, 23'ünde (%12.3) Acinetobacter spp. (22'si Acinetobacter baumanii, biri Acinetobacter iwofii) üremiştir. 58 kültürdeki (%31.0) mükerrer P. aeruginosa ve Acinetobacter spp. üremeleri çalışmaya dahil edilmemiştir. Kolistin her iki etken için en etkili antibiyotik olarak saptanırken, Acinetobacter suşlarının Pseudomonas suşlarına göre diğer antibiyotiklere daha dirençli olduğu gözlenmiştir.
Sonuç
Hastanede kalış süresinin uzamasıyla artan kolonizasyon riski ve antibiyotik direnci nedeniyle, ampirik antibiyotik tedavisi başlanırken bölgesel direnç oranları ve hastane enfeksiyonu kaynakları mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Balgam kültürü, Pseudomonas spp, Acinetobacter spp

Etkenlerin antibiyotik duyarlılıkları

	P. aeruginosa		Acinetobacter spp.	
Antibiyotik	Duyarlı %	Dirençli %	Duyarlı %	Dirençli %
Siprofloksasin	71	29	17	83
Levofloksasin	77	23	21	79
Gentamisin	33	67	26	74
Amikasin	81	19	35	65
Seftazidim	77	23	13	87
Sefepim	60	40	13	87
İmipenem	71	29	21	79
Meropenem	90	10	26	74
Sefoperazon sulbaktam	81	19	21	79
Piperasilin Tazobaktam	77	23	21	79
TMP-SXT	-	-	35	65
Tigesiklin	-	-	35	65
Kolistin	94	6	100	0

P66- ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONU ETKENİ *E. COLİ* SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Derya Altun, Tolga Akcan, Gül Erdem, Mustafa Çağatay
S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
E.coli üriner sistem enfeksiyonlarında en sık izole edilen bakteridir. Ko-trimoksazol ve kinolon grubu antibiyotikler de dahil olmak üzere *E. coli* 'lerin etken olduğu üriner sistem enfeksiyonlarında antibiyotiklere direncin her geçen gün giderek artması tedavi başarısızlıklarına ve yeni ilaç arayışlarına neden olmaktadır. Bu çalışmada idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli*suşlarında antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Yöntem
Ocak 2010- Haziran 2011 tarihleri arasında hastanemiz poliklinik ve servislerinden gönderilen idrar örnekleri retrospektif olarak incelendi. Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapılıp, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre değerlendirilen 2270 *E.coli* suşu çalışmaya dahil edildi. Sonuçlar yorumlanırken orta duyarlı olarak saptanan suşlar dirençli olarak kabul edildi.
Bulgular
E.coli suşlarında en etkili antibiyotikler karbapenemler ve tigesiklin olarak saptanırken, en yüksek direnç tmp-sxt, levofloksasin ve sulbaktam-ampisiline karşı tespit edildi. *E.coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları tabloda gösterilmiştir.
Sonuç
Test edilen antibiyotiklerden karbapenemler ve tigesikline karşı direnç gözlenmezken, diğer antibiyotiklere karşı %2,4 ile %46,1 arasında değişen direnç oranları gözlenmiştir. Direnç artışına yol açan en önemli nedenlerden biri yanlış ve gereksiz antibiyotik kullanımıdır. Bu çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında tedavi planlanırken düzenli sürveyans verilerinin dikkate alınmasının önemi bir kez daha ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enfeksiyon, *E. coli* , Üriner

Antibiyotik duyarlılık yüzdeleri

	Duyarlı %	Dirençli %
Meropenem	100	0
İmipenem	100	0
Ertapenem	100	0
Seftazidim	72,5	27,5
Sefotaksim	71.2	28.8
Sefuroksim	61.5	38.5
Sefazolin	68.0	32.0
Sefepim	73.4	26.6
Sulbaktam-Sefoperazon	85.8	14.2
Piperasilin-Tazobaktam	87.9	12.1
Ampisilin-Sulbaktam	56.5	43.5
Amoksisilin-Klavulanik asit	58.9	41.1
Siprofloksasin	64.0	36.0
Norfloksasin	64.8	35.2
Levofloksasin	57.0	43.0
Amikasin	89.9	10.1
Gentamisin	77.9	22.1
TMP-SXT	53.9	46.1
Fosfomisin	97.6	2.4
Tigesiklin	100	0

P67- HASTANEMİZ BRUSELLOZ OLGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Hatice Uludağ Altun
Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, Ankara

Amaç
Brusella zoonotik bir hastalık olup ülkemizde endemik olarak görülmektedir. Bu çalışmada bruselloz olgularının klinik veri, tanı ve tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Hastanemizde 2011 mayıs- 2011 temmuz tarihleri arası bruselloz tanısı konulan 20 olgunun yaş, cinsiyet, klinik semptom ve bulguları, rutin laboratuvar sonuçları, rose bengal testi, standart tüp aglütinasyon testi, coombs'lu standart tüp aglütinasyon testi sonuçları ve tedavileri değerlendirildi.
Bulgular
Hastaların demografik özellikleri incelendiğinde yaş ortalaması 40.1 yıl olup %60'ı erkek, %40'ı kadındı. En sık görülen klinik semptomlar eklem ağrısı(%70), miyalji(%55), ateş(%50), halsizlik(%50), terleme(%40) ve iştahsızlıktı(%25). En sık başvurunun genel cerrahi (%35) bunu takiben dahiliye (%15), ortopedi (%10), enfeksiyon hastalıkları (%10), beyin cerrahisi (%10), fizik tedavi (%10), üroloji (%5) ve çocuk hastalıkları (%5) polikliniğine yapıldığı belirlendi. Fizik muayene bulgularında 11 olguda artrit, 15 olguda ateş, 1 olguda hepatomegali ve splenomegali, 1 olguda orşit tespit edildi. 12(%60) hastanın hemogram değerleri normal olarak bulunurken 6 hastada (%30) anemi, 2 hastada lökopeni(%10), 2 hastada lökositoz(%10), 1 hastada trombositopeni(%5), 12 hastada (%60) karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik, 16 hastada(%80) eritrosit sedimantasyon yüksekliği ve 15 hastada(%75)CRP pozitifliği saptandı. Hastaların 20'sinde rose bengal testi pozitif, 18'inde standart tüp aglütinasyon sonucu 1/160 ve üzerinde saptanırken, 2 olguda ise coombs'lu tüp aglütinasyon testi pozitif sonuç verdi. 2 olgudan kan kültürü isteminin yapıldığı ve üremenin pozitif olduğu görüldü. Tedavi protokolleri incelendiğinde %80 hastaya doksisiklin ve rifampisin kombinasyon tedavisi verildiği belirlendi.
Sonuç
Değişik semptom ve bulgularla farklı polikliniklere başvurabilen, eklem ağrısı ve ateş öyküsü olan hastalarda brusella ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken bir hastalıktır

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, klinik, tanı

P68- SON TRİMESTER GEBELERDE GRUP B STREPTOKOKLARIN FARKLI BESİYERLERİ İLE İZOLASYONU VE SEROTİPLENDİRİLMELERİ

Laser Şanal[1], Nedim Sultan[2]
[1]*Dr. Doğan Baran Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Niğde*
[2]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Bu çalışmada üçüncü trimester gebelerde rekto-vajinal Grup B Streptokok (GBS) kolonizasyon sıklığının saptanması, GBS kolonizasyonunun saptanmasında kullanılan kültür yöntemlerinin karşılaştırılması ve izole edilen GBS suşlarının serotiplendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu amaçla Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 200 anne adayından 200 vajinal ve 200 rektal örnek alınmıştır. Tüm örnekler Todd-hewitt besiyerine ve Granada besiyerine ekilmiştir. Alınan örnekler Gazi Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında değerlendirilmiştir. GBS üremesi saptandığında tipe özel antiserumlar kullanılarak serotiplendirme yapılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya alınan 200 gebenin 20'sinin vajinal örneğinde (%10) GBS ürediği görülmüştür. Bu 20 gebenin 15'inde eş zamanlı olarak rektal örneklerinde de GBS üremesi saptanmıştır. 5 gebede ise sadece vajinal örneklerde GBS üremesi saptanmıştır. Rektal üremenin görülüp vajinal üremenin görülmediği gebe saptanmamıştır. Gebelerde vajinal örneklerde saptanan GBS kolonizasyon sıklığı rektal örneklerdeki GBS kolonizasyon sıklığından belirgin derecede yüksek bulunmuştur (Fisher'in Kesin Ki-Kare testine göre, p=0.000).
Çalışmaya alınan 200 vajinal örneğin 20'sinde (%10) Todd-hewitt besiyerinde üreme saptanmıştır. Aynı 20 vajinal örneğin 12'si ise eş zamalı olarak Granada besiyerinde pigment vererek üremiştir. İzole edilen suşlar baz alındığında Granada besiyerinin % 40 oranında gerçek pozitif kültürleri atladığı, Todd-Hewitt besiyerinin ise daha duyarlı olduğu ancak tanıda zaman aldığı görülmüştür. İzolatların serotiplendirilmesi sonucu en sık gözlenen serotipler tip III (%35), tip Ia (%30) ve tip V (%15) olmuştur.
Sonuç
Bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında her iki besiyerinin de bu önemli patojen için tek başına tavsiye edilemeyeceği, kombine stratejiler kullanarak hem zamandan kazanmanın, hem de duyarlılığı arttırmanın mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca erken başlangıçlı GBS enfeksiyonlarında menenjitlerin % 80'den fazlasının, geç başlangıçlı GBS enfeksiyonlarında ise menenjitlerin % 95'inin GBS serotip III ile meydana geldiği göz önüne alındığında, izole edilen suşların serotiplendirilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. Yenidoğanlarda menenjit olgularının önüne geçilebilmesi için anne adaylarının GBS taşıyıcılığı açısından incelenmesi ve serotip III taşıyıcılığında anne adaylarının tedavi edilmesi, özellikle yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden bu tür enfeksiyonların önlenmesinde önemli bir adım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Granada besiyeri, Grup B Streptokok, kolonizasyon, serotip

Granada besiyeri



Sağda anaerob koşullar altında inkübe edilmiş Granada besiyeri, solda lamelle kapatılmış ve aerob koşullar altında inkübe edilmiş Granada besiyeri

Grup B streptokok izolatlarının serotip dağılımı

Serotip	Sayı	Yüzde(%)
Ia	6	30
Ib	1	5
II	2	10
III	7	35
IV	0	0
V	3	15
Tiplendirilemeyen	1	5
Toplam	20	100

P69- KOMBİNE YÜZEY DEZENFEKTANINA DİRENÇLİ İNATÇI E.CLOACAE KOLONİZASYONU: FENOTİPİK VE GENOTİPİK İZLEM

Tülin Güven Gökmen, Suna Kızılyıldırım, Mümtaz Güran, Fatih Köksal
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Adana

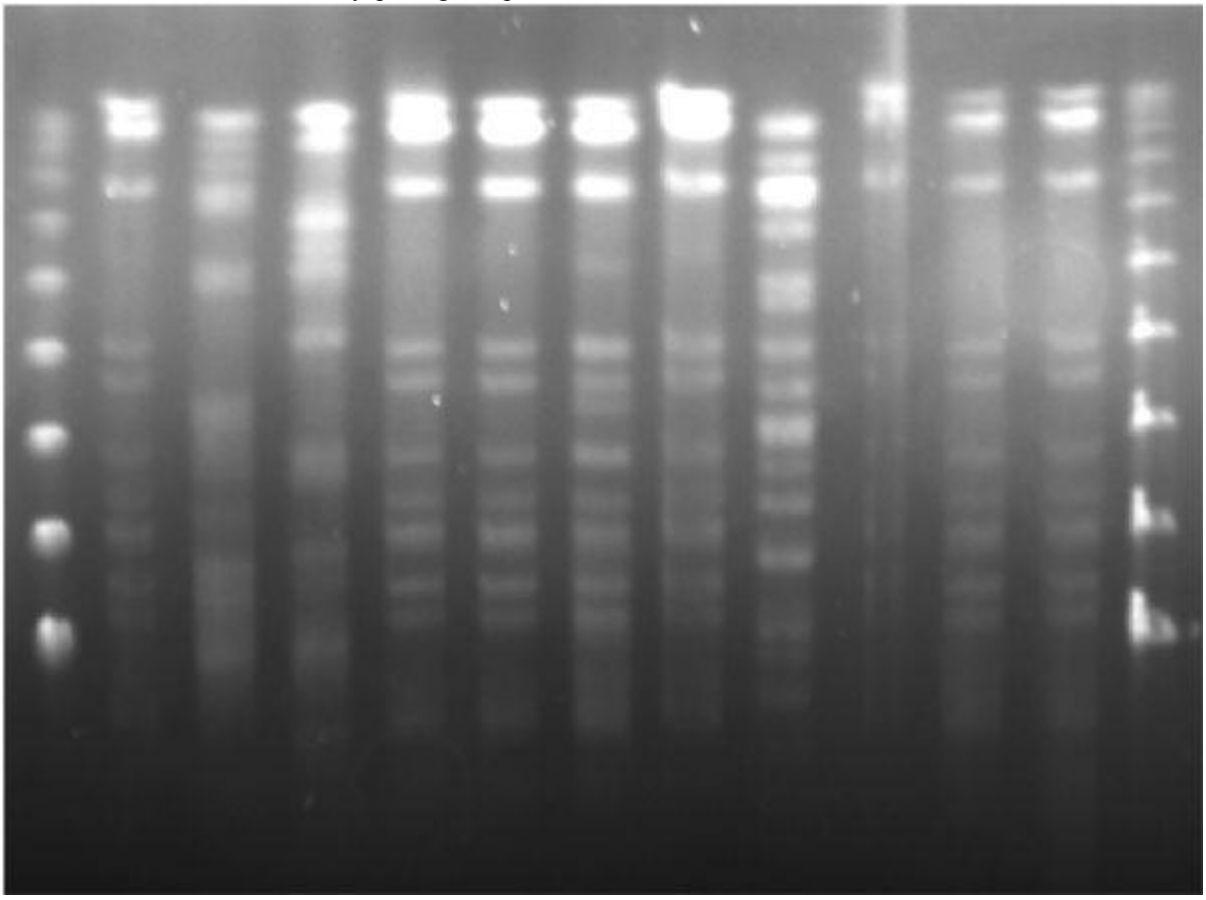
Amaç
E. cloacae, yoğun bakım ünitelerinde kullanılan kontamine tıbbi ekipmanların veya kişisel hijyene yeterince önem vermeyen personelin elleri ile duyarlı hastalara bulaşarak ciddi salgınlara yol açabilen nozokomiyal bir patojendir. Enterobacteraiaceae ailesinin diğer üyelerine göre dezenfektan ve antimikrobiyallere daha dirençli olan E.cloacae kökenli hastane enfeksiyonlarında kontrol programlarının temelini; klinik ve çevresel örneklerden elde edilen izolatların PFGE, MLST,AFLP ve AP-PCR gibi, klonal düzeyde ayırım gücüne sahip, moleküler epidemiyolojik yöntemlerle tiplendirilerek izolatlar arasındaki ilişkinin gösterilmesi ve bir salgın söz konusu ise salgına sebep olan suşların kaynak ve bulaş yollarının belirlenmesi oluşturur. Bu bağlamda elde edilecek short-term (kısa soluklu) ve long-term (uzun soluklu) salgın analizi sonuçları, uygulanan yer-yüzey dezenfektanlarının etkinliğinin belirlenmesi ve yeni kontrol stratejilerinin oluşturulmasında yol gösterici olacaktır.
Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Balcalı hastanesi Organ nakli ve nöroloji yoğun bakım servislerinde dezenfektan kullanımındaki değişme bağlı olarak muhtemel hastane enfeksiyonu patojenlerinin bulaş için risk oluşturan çevresel örneklerdeki dezenfeksiyon öncesi ve sonrası persistensinin, ve dolayısı ile H2O2 ve iyonize gümüş kombinasyonu ile oluşturulmuş yeni dezenfektanın etkinliğininde, tespiti amacı ile alınan örneklerden izole edilen E.cloacae ve diğer mikroorganizmaların epidemiyolojik ilişkisi PFGE yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada dezenfeksiyon öncesi ve sonrası yüksek oranda persiste ettiği tespit edilen E.cloacae suşları arasındaki epidemiyolojik ilişki antibiyotik duyarlılıklarının irdelenmesi ile fenotipik olarak da sorgulanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Organ nakli ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinden 13-14 Haziran 2011 tarihleri arasında yeni uygulanan dezenfektan ile yapılan ortam dezenfeksiyonu öncesinde ve sonrasında 2 yatak kenarı, 2 komodin, 2 hasta dolabı, 2 etajer, 2 yatak başı, 4 dosya masası ve 10 kapı kolundan alınan 25 çevresel örnekten dezenfeksiyon öncesi ve sonrası izole edilen 22 E.cloacae suşunun klonal ilişkileri XbaI enziminin kullanıldığı PFGE yöntemi ve Kirby-Bauer ile irdelendi.
Bulgular
E.cloacae izolatlarının, PFGE ile yapılan genotip analizi sonucunda da suşların A,B,C,D ve E olarak tanımlanan beş küme içerisinde toplandıkları tespit edildi. A kümesinde yakın ilişkili (>%80) olan A1 ve A2 olarak tanımlanan 2 suşun, C kümesinde ise %100 bant benzerliği gösteren 2 suşun olduğu görüldü. D kümesi ise %100 bant benzerliği gösteren 16 suşu içeren en büyük küme olarak belirlendi. Antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde, multi-drug dirençli suşların dezenfektanlara da dirençli olduğu tespit edilmiştir.
Sonuç
Dezenfeksiyon öncesi ve sonrası alınan çevresel örneklerden izole edilen E.cloacae suşlarının persistansı ve epidemiyolojik özelliklerinin PFGE ve antibiyotipleme yöntemleri ile araştırıldığı bu çalışmada; özellikle MDR-E.cloacae suşlarının dezenfeksiyon sonrası da hastane ortamında persiste ettikleri ve bu suşların klonal yayılımla ortama hakim olabildikleri, XbaI enziminin kullanıldığı PFGE protokolünün sürveyans çalışmaları için beklendiği gibi antibiyotipleme yöntemine göre daha yüksek ve yeterli ayrım gücüne sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: E.cloacae, PFGE, hastane enfeksiyonu, kolonizasyon

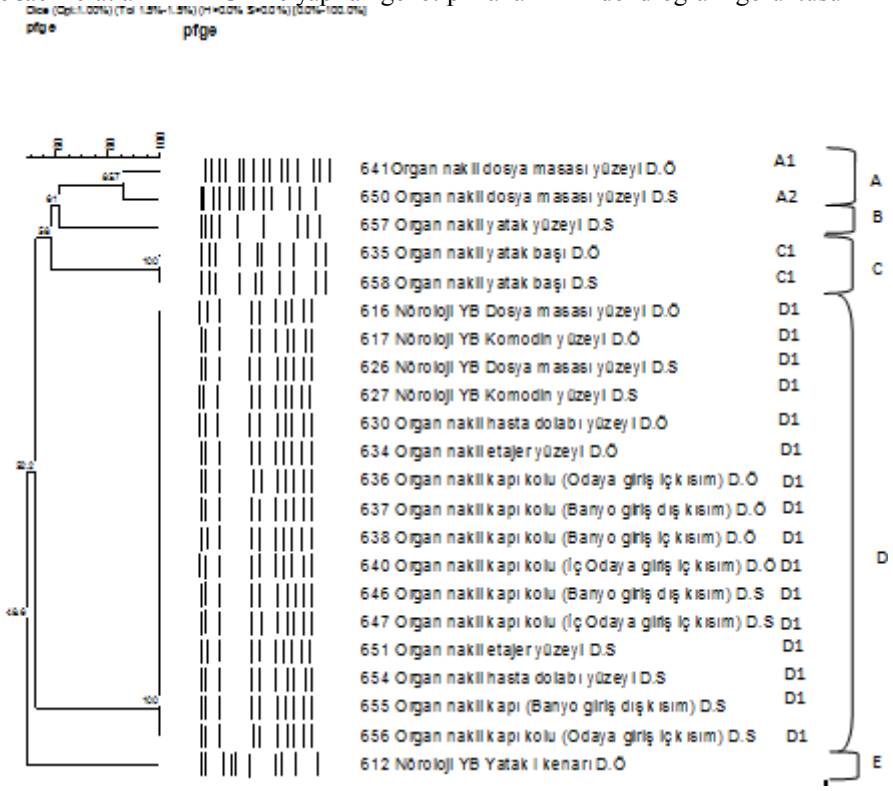
E.cloacae izolatların antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotik	Dezenfeksiyon öncesi E.cloacae suşları		Dezenfeksiyon sonrası E.cloacae suşlar	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Amikasin	0	11	0	10
Siprofloksasin	12	0	9	1
Sefaperazon	3	9	1	9
Amoksisilin+Klavulonik Asit	0	11	0	10

E.cloacae izolatlarının PFGE ile yapılan genotipik analizi



E.cloacae izolatlarının PFGE ile yapılan genotipik analizinin dendrogram görüntüsü



D.Ö:Dezenfekiyon öncesi D.S:Dezenfeksiyon Sonrası

Nöroloji ve Organ Nakli Ünitelerinden İzole edilen Bakteriler

Örnek Alınan Yer	Örnek Sayısı	Dezenfeksiyon öncesi üreyen mikroorganizmalar	Sayı	Dezenfeksiyon sonrası üreyen mikroorganizmalar	Sayı
Nöroloji Yatak Yüzeyi	2	*E.cloacae* *S.maltophilia*	1 1	*Üreme olmadı*	0
Nöroloji Dosya Masası yüzeyi	2	*E.cloacae* *A.baumannii*	1 1	*Üreme olmadı*	0
Nöroloji Komodin Yüzeyi	2	*E.cloacae*	1	*E.cloacae*	1
Organ nakli Hasta Dolabı Yüzeyi	2	*Enterococcus spp* *E.cloacae*	1 1	*E.cloacae*	1
Organ nakli Etajer Yüzeyi	2	*E.cloacae*	1	*E.cloacae*	1
Organ nakli Yatak Sayı ve Yüzeyi	4	*P.putida* *E.cloacae* *VRE*	1 2 1	*E.cloacae*	2
Organ nakli Kapı Kolları	10	*E.cloacae* *Enterococcus spp.* *E.coli*	4 1 1	*E.cloacae*	4
Organ nakli Dosya masası Yüzeyi	2	*Enterococcus spp.* *E.cloacae*	1 1	*E.cloacae*	1

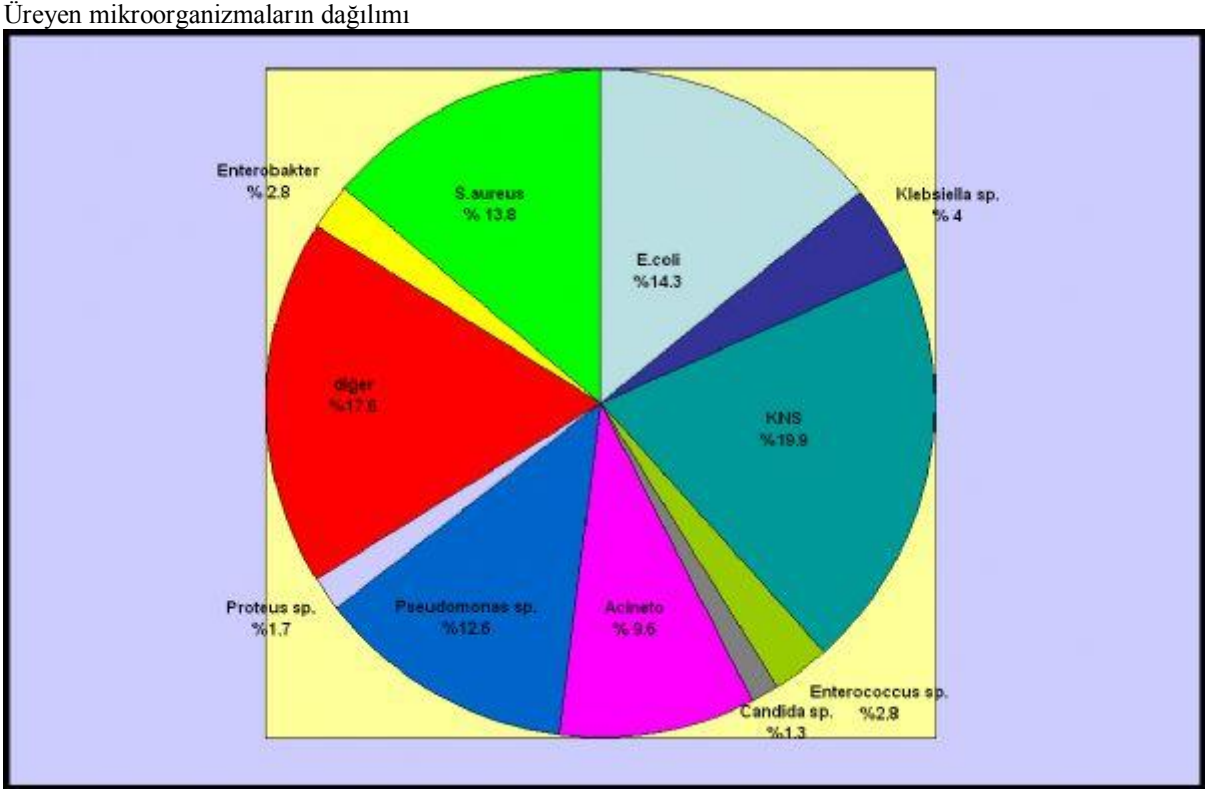
P70-YARA KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Osman Sezer Cirit, Tuba Müderris, Ayser Uzala Mızraklı, Ayşe Barış
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Şanlıurfa

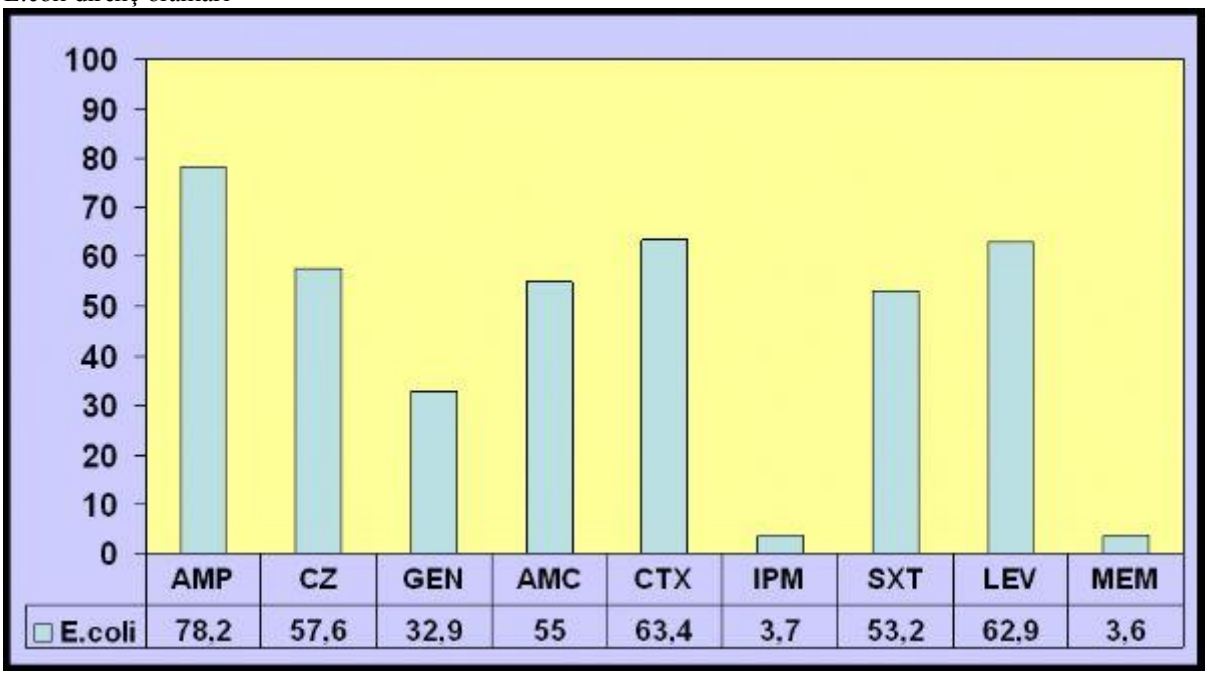
Amaç
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, 1 Eylül 2009-30 Haziran 2011 tarihleri arasında Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimine çeşitli kliniklerden gönderilen 2265 yara örneği incelenmiştir. Bakteri suşlarının tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve VITEK 2 Compact otomatik identifikasyon sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon ve VITEK 2 Compact otomatize sistemle belirlenmiştir.
Bulgular
Yapılan incelemelerde toplam 2665 yara örneğinin 2044 (%76.7)'ünde üreme olmamış, 621 (%23.3)' inde üreme olmuştur. Bakteriyoloji birimine gönderilen yara örneklerinin yarısından fazlası tek başına yanık ünitesinden gönderilmiştir. Üreyen mikroorganizmalar izolasyon sıklığına göre %17.4 Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), %12.5 E.coli, %12.1 S.aureus, %11 Pseudomonas spp., % 8.4 Acinetobacter spp. olarak saptanmıştır. En sık izole edilen KNS ve S.aureus' un direnç oranları sırasıyla eritromisin için %48.2, %19.7; oksasilin için %57.2, %22.9; penisilin için %85, %81.8 olarak bulunmuştur. E.coli için antibiyotik direnç oranları ampisilin için %78.2, sefazolin için %57.6, gentamisin için %32.9 olarak bulunmuştur. Acinetobacter spp. izolatlarında yüksek direnç oranları dikkati çekmektedir.
Sonuç
Yanık ünitesinde yatmakta olan hastaların cilt bütünlüğü bozulduğundan burada çalışmakta olan personelin gerek hastane gerekse kendi vücut floralarındaki mikroorganizmaları bulaştırma riskine karşı izolasyon kurallarına sıkı bir şekilde uyması ve bu konuda gereken eğitimlerin verilmesi bu hastaların iyileşme süresini hızlandıracağı gibi gereksiz antibiyotik kullanımını azaltarak antibiyotik direnç oranlarındaki artışın da önüne geçilmesi sağlanmış olur.

Anahtar Kelimeler: duyarlılık, yanık, yara

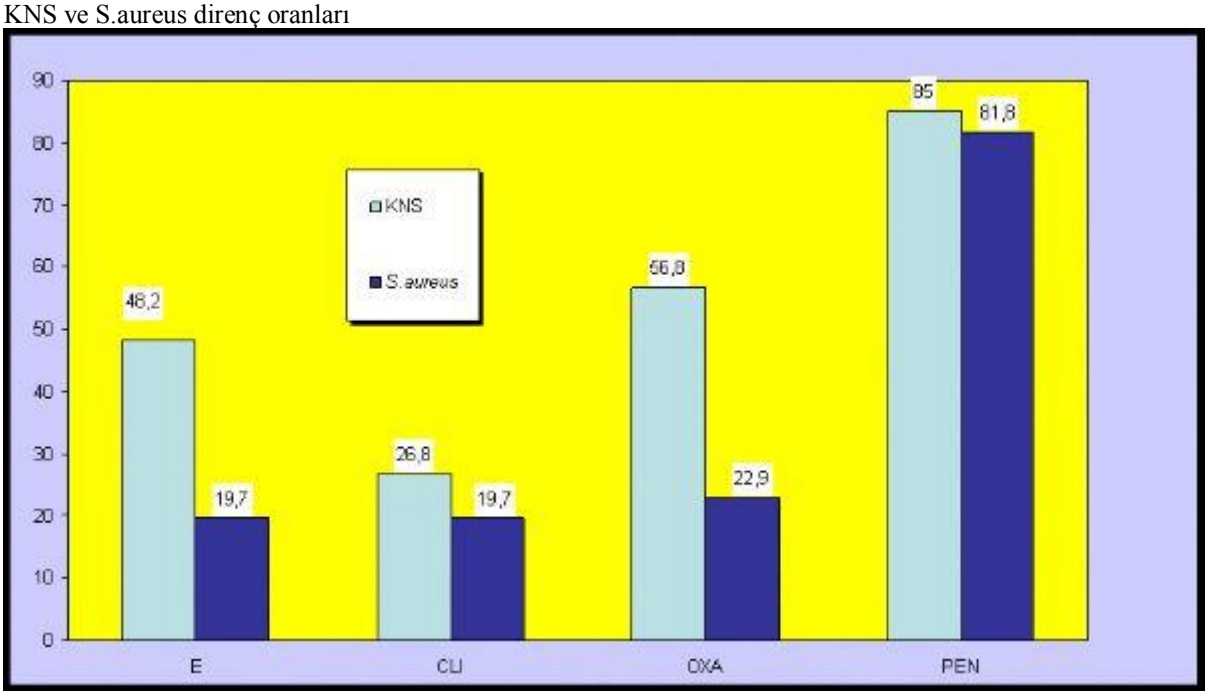
Üreyen mikroorganizmaların dağılımı



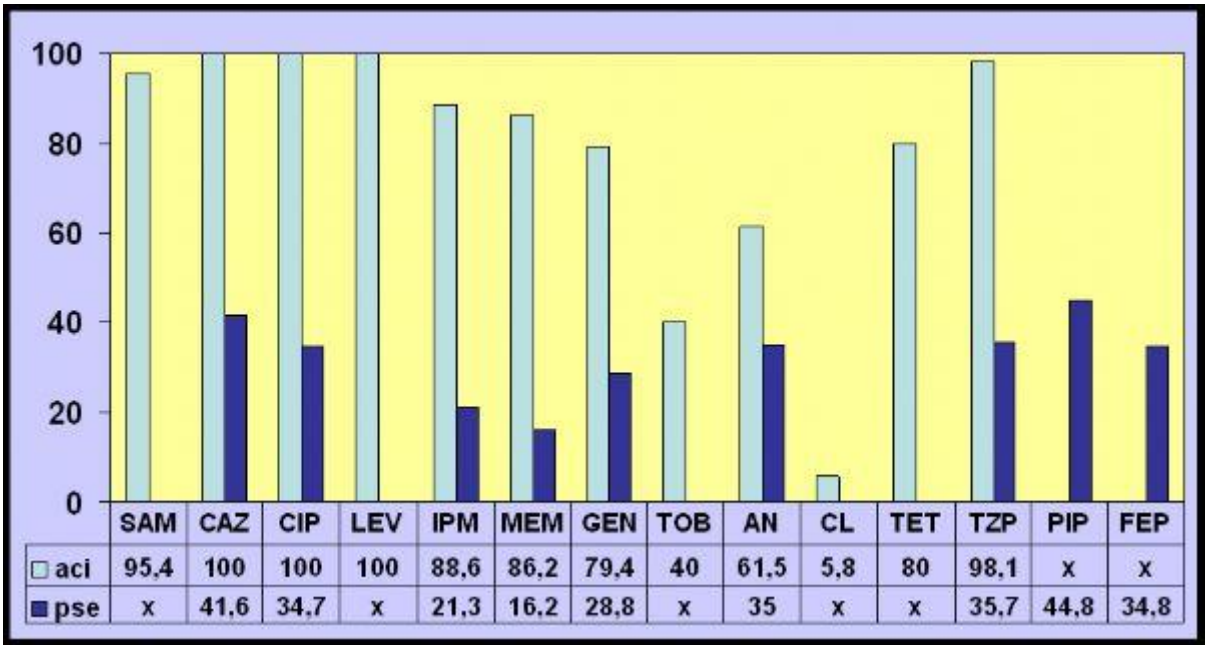
E.coli direnç oranları



KNS ve S.aureus direnç oranları



Acinetobacter spp. ve pseudomonas spp. direnç oranları



	SAM	CAZ	CIP	LEV	IPM	MEM	GEN	TOB	AN	CL	TET	TZP	PIP	FEP
aci	95,4	100	100	100	88,6	86,2	79,4	40	61,5	5,8	80	98,1	x	x
pse	x	41,6	34,7	x	21,3	16,2	28,8	x	35	x	x	35,7	44,8	34,8

P71- YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN HASTALARIN SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Osman Sezer Cirit, Tuba Müderris, Ayser Uzala Mızraklı, Ayşe Barış
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Şanlıurfa

Amaç
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına yoğun bakımlardan gelen solunum yolu örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımının ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, 1 Eylül 2009-30 Haziran 2011 tarihleri arasında Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimine yoğun bakımlardan gönderilen 941 solunum yolu örneği incelenmiştir. Bakteri suşlarının tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve VITEK 2 Compact otomatik identifikasyon sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon ve VITEK 2 Compact otomatize sistemle belirlenmiştir.
Bulgular
Toplam 941 solunum yolu örneğinin 719 (%76.4)'u trakeal aspirat, 222 (%23.6)' si balgamdı. Yapılan incelemelerde trakeal aspirat örneklerinin 405 (%56.3)' inde üreme olmuş, 314 (%43.7)'ünde üreme olmamışken balgam örneklerinin 111 (%50)' i normal üst solunum yolu florası olarak değerlendirilirken 111' (%50)' inde üreme saptanmıştır. Gelen örneklerin % 47.8'i cerrahi yoğun bakımdan, %47.7'si dahiliye yoğun bakımdan, %4.5'u koroner yoğun bakımdandı. Üreyen mikroorganizmalar izolasyon sıklığına göre %43.2 *Acinetobacter* spp., %19.9 *Pseudomonas* spp., %9.6*Klebsiella* spp., %9 *E.coli* , % 8.1 *S.aureus* olarak saptanmıştır. En sık izole edilen *Acinetobacter* spp. direnç oranları ampisilin-sulbaktam için %97.4, seftazidim için %93.9, siprofloksasin için %91.2, gentamisin için %69.8, tobramisin için %50.8, imipenem için %89.7 olarak bulunmuştur. *Pseudomonas* spp. direnç oranları seftazidim için %25.3, gentamisin için %17.7, piperasilin için %30.3 olarak bulumuştur. *E.coli* ve *Klebsiella* spp. için antibiyotik direnç oranları sırasıyla sefazolin için %67.4, %54; gentamisin için %41, %26.5 olarak bulunmuştur. *S.aureus*'un metisilin direnç oranı %41, penisiline direnç oranı %100 olarak bulunurken vankomisin ve linezolide direnç tespit edilmemiştir.
Sonuç
Çalışmamızda yoğun bakımlardaki hastalardan gönderilen solunum yolu örneklerinden en sık izole edilen *Acinetobacter* spp.'nin özellikle mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan hastaların solunum yollarında kolonize olarak hastane infeksiyonlarına yol açtığı bilinmektedir. Direnç oranlarındaki artış çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatlarının tedavisinde güçlüklere yol açmaktadır. Yeni geliştirilmiş ilaçların etkisizliği ve yeni ilaç gelişimindeki yetersizlikler, antimikrobiyal direnç sürveyans çalışmalarına daha fazla önem verilmesi gerektiğini ve hastane infeksiyon kontrol programlarının daha sıkı uygulanması gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: direnç, trakeal aspirat, yoğun bakım

P72- KOLİSTİN DİRENÇLİ *ACİNETOBACTER* SUŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

İpek Mumcuoglu[1], Neriman (balaban) Aksu[1], Arzu Yetkin[2], Irmak Baran[1], Feride Alaca Coşkun[1], Hürrem Bodur[2], Zeynep Ceren Karahan[3]
[1]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*
[2]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*
[3]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Acinetobacter baumanii özellikle yoğun bakım ünitesi hastaları için önemli bir fırsatçı patojendir ve bu mikroorganizmaya bağlı hastane kaynaklı salgınlar tüm dünyada artmaktadır. Hastane kaynaklı A. baumanii izolatlarında geniş spektrumlu beta laktamlara, karbapenemlere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara direnç oldukça yaygındır. Bunlara son zamanda tigesiklin direnci de eklenmiştir. Kolistin, bir çok olguda tedavide tek seçenek kalmış gibi görünmektedir. Hastanemizde ilk kolistin dirençli A. baumanii suşu Mart 2011'de tespit edilmiş bunu aralıklarla diğer dirençli suşlar izlemiştir. Bu çalışmada hastanemizde izole edilen kolistin dirençli suşların fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmaya yedi hastaya ait dokuz kolistin dirençli Acinetobacter suşu dahil edilmiştir. Bir hastaya ait birden fazla örneğin kabul edilmesinin nedeni farklı bölgelerden ve farklı MİK değerlerine sahip olmasıdır. Bu şuşların Hastane Enfeksiyon Komitesi tarafından yapılan değerlendirmede ikisi kolonizasyon, yedisi etken olarak kabul edilmiştir. Kültürde üretilen hareketsiz, oksidaz negatif, gram negatif kokobasil morfolojisindeki bakterilerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) sistemi kullanılarak yapılmıştır. Minimal inhibisyon konsantrasyonu değerlendirilirken; <=2 µg/ml duyarlı, >=4 µg/ml dirençli olarak kabul edilmiştir. Kolistin direnci tespit edilen suşlar E-test (AB Biodisk, İsveç) kullanılarak doğrulanmıştır. Suşların klonal analizi pulsed field jel elektroforez yöntemi (PFGE) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu süreçte ilgili servislerden alınan çevre kültürleri de Acinetobacter spp. açısından değerlendirilmiştir.
Bulgular
PFGE ile üç farklı grup bulunmuştur ve Grup A,B,C olarak isimlendirilmiştir. Grup A'da kolistin direncinin Mart ayında ilk olarak tespit edildiği yoğun bakım hastasına ait kan ve trakeal aspirat örnekleri yer almaktadır. Bu suşların E test ile belirlenen MİK'leri sırasıyla 4 ve 32µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu iki suşun netilmisin, gentamisin, tigesiklin ve trimetoprim-sulfametaksazole duyarlı olduğu görülmüştür. GrupB'de birinci hastadan farklı bir yoğun bakım ünitesinde yatan altı hastaya ait yedi örnek vardır. Bu örneklerin MİK değerleri 64µg/ml olarak bulunmuştur. Grup C'de ise yanık servisinden yoğun bakıma gönderilen tek bir hasta yer almıştır. Bu hastaya ait MİK değeri ise 7'dir. Grup B ve C'de ilgi çekici şekilde tek duyarlı antibiyotik trimetoprim-sulfametaksazol olarak tespit edilmiştir. Şuşların izole edildiği hastaların beşinin tedavilerinin değiştirilmesine fırsat bulunamadan öldüğü ikisininse taburcu edildiği tespit edilmiştir. Taburcu edilen hastalardan biri kolonizasyon olarak kabul edilip tedavi verilmemiştir. Diğeri ise dirençli ilk olgudur ve sadece kolistin kullanarak iyileşmiş ve taburcu edilmiştir. Servislerden alınan çevre kültürlerinde Acinetobacter spp. üretilememiştir.
Sonuç
PFGE sonuçlarına bakıldığında Grup A ve C'de yer alan hastalarda kolistin dirençli Acinetobacter suşlarının endojen kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Grup B'de yer alan 6 hastada aynı suşların tespit edilmiş olması kümelenme olarak kabul edilmiştir. Tüm suşların trimetoprim/sulfametaksazole duyarlı olması ilginçtir ve bu ilacın bu suşlarda invivo etkinliği araştırılmalıdır. Sonuç olarak çoklu dirençli Acinetobacter suşlarının tedavisinde son seçenek olarak görülen kolistine direnç çok önemli bir sorundur. Bu direncin artmasını engellemek için sağlık çalışanlarının enfeksiyon kontrol önlemlerine çok sıkı uyması, uygun çevre temizliğinin yapılması ve akılcı antibiyotik kullanımının artırılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter spp.*, kolistin direnci, pulsed field jel elektroforezi

P73- KARACİĞER SİROZLU HASTADA CAMPYLOBACTER JEJUNİ SPP. JEJUNİ' YE BAĞLI BAKTERİYEMİ: OLGU SUNUMU

Hafize Sav[1], Mustafa Altay Atalay[1], Duygu Perçin[1], Mehmet Yücesoy[2]
[1]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD Gastroenteroloji BD, Kayseri*

Amaç
C.jejuni spp. *jejuni* en yaygın görülen tür olmakla birlikte "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)" a bildirilen bakteriyemi olgularının hemen tamamında etken *C. fetus* spp. *fetus*'tur.*Campylobacter jejuni* spp. *jejuni* ile enfekte hastaların %1'inden azında bakteriyemi görülebilir. Kronik karaciğer hastalığı olan, hepatobiliyer ya da gastrointestinal kanserli ve HIV enfekte hastalarda bakteriyemi insidansı yüksektir. Çalışmamızda karaciğer sirozlu (KC-S) olguda gelişen *C. jejuni* spp. *jejuni* bakteriyemisi sunulmuştur.
Olgu
Yaklaşık 1,5 yıldır HBV'ye bağlı KC-S nedeniyle takip edilen 47 yaşındaki erkek hasta Ekim 2009 tarihinde halsizlik ve sarılık şikâyetleriyle Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine başvurdu. WBC:4,68 mm3, AST:1832, U/L, ALT: 179 U/L, Total/Direkt Billuribin: 21/9 mg/dL olan hasta Gastroenteroloji Servisine yatırıldı. HBV DNA'sı 640.000 IU/mL olan Lamivudin kullanan hastada Lamivudin dirençli kronik hepatit B enfeksiyonu düşünüldü. Hastanın takiplerinde ateş ve ishali olması üzerine Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen gaita örneğinden yapılan kültüründe özellik yok iken eş zamanlı gönderilen kan kültüründe üreme oldu.
Kan kültürü Gram boyamasında Gram negatif kıvrık, martı kanadı şeklinde basiller görüldü. Kan kültür şişesinden (BacT/Alert, BioMerieux, Fransa) %5–7 koyun kanlı agar, çukulatamsı agar ve EMB agara ekilerek aerobik koşullarda 37°C'de ve Blazer campylobacter selektif besiyerine ve çukulatamsı agara ekilerek mikroaerofilik ortamda 42°C'de inkübe edildi. 48 saat sonra üreme gözlenen plaklardan yapılan Gram boyalı preparatta Gram negatif martı kanadı morfolojisi görüldü. Bakterinin dryspot *Campylobacter* lateks aglütinasyon testi (Oxoid, UK) ile pozitiflik vermesi, oksidaz (+), katalaz (+) ve hareketli olması üzerine *Campylobacter* düşünülerek ileri tanımlama işlemleri yapıldı. Sefalotine dirençli, nalidiksik asite duyarlı olması, nitrat redüksiyonu ve hippurat hidrolizi pozitif olarak bulunması ve 42°C'de üreme özelliklerine bakılarak *C.jejuni* spp. *jejuni* olarak tanımlandı. Disk difüzyon yöntemi ile ampisilin, eritromisin, klindamisin ve siprofloksasine duyarlı bulundu. Hastaya 2X400 mg siprofloksasin başlandı. Genel durumu düzelen ve karaciğer transplantasyonu planlanan hasta, verici bulununca İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne sevk edildi.
Sonuç
C.jejuni spp. *jejuni*'ye bağlı bakteriyemi çok nadir olmakla birlikte, ileri yaşlarda ve immünsuprese hastalarda sebebi belirlenemeyen ateş durumunda kampilobaktere bağlı bakteriyemi akılda tutulmalı ve izolasyon için uygun mikrobiyolojik yöntemler kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *C.jejuni spp. jejuni* , bakteriyemi, siroz

P74- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Tolga Akcan, Derya Altun, Gül Erdem, Mustafa Çağatay
Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
Sepsis ve bakteriyemi tanısında kan kültürleri vazgeçilmez tanı yöntemidir. Bu çalışmada S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yatarak tedavi gören hastaların kan kültürlerinde üreyen aerop mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları retrospektif olarak araştırıldı.
Yöntemler
Haziran 2010-2011 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 3785 kan kültürü örneği Bactec 9050 BD (Becton Dickinson, US) hemokültür sisteminde inkübe edildi. Aynı hastaya ait şişelerin en az ikisinde aynı mikroorganizma üreyen kan kültürleri pozitif, tek şişede üreyen veya iki şişede farklı mikroorganizmalar üreyen kan kültürleri kontaminasyon, beş gün içerisinde hiçbir şişesinde üreme olmayan kan kültürleri ise negatif olarak rapor edildi. Üreme olan kültürlerdeki bakteriler VITEK2 Compact (bioMerieux, France) otomatize sistemi ile tanımlanarak antibiyogramları yapıldı.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen 3785 kan kültürü örneğinin 3272'si(%86,5) kontaminasyon ya da üreme olmadı olarak değerlendirildi. 513 örnekteki (%13,5) üreme pozitif olarak değerlendirildi. Gram-pozitif bakteriler %53,3, gram-negatif bakteriler %46,7 oranında izole edildi. İzole edilen mikroorganizmalar sırasıyla; koagülaz negatif stafilokok (KNS) (%24,1), *Enterococcus spp.*(%23,9),*Acinetobacter spp.* (%13,8), *Escherichia coli* (%11,6), *Klebsiella spp.* (%6,6), *Enterobacter spp.* (%6.4), *Pseudomonas spp.* (%5,6), *Staphylococcus aureus* (%4,4) diğer mikroorganizmalar (%3.6) idi. Metisilin direnci KNS'lerde %91,9, *S.aureus* suşlarında ise %13 oranında saptandı. Stafilokoklarda ve *E. faecalis* suşlarında vankomisin direncine rastlanmazken, *E. faecium* suşlarının %32,5'i vankomisine dirençli bulundu.*E. coli* ve *Klebsiella spp.*'lerin tamamı imipenem, meropenem, ertapenem, tigesiklin duyarlı idi. Amikasine *E. coli* suşlarının %3'ü, *Klebsiella spp.*'lerin %5.8'i dirençli bulundu.*Acinetobacter spp.*'ler imipenem ve meropenem'e %84,5, amikasin'e %62.0, kolistine %2,8, tigesiklin'e %28,1, *Pseudomonas spp.*'ler imipenem'e %44,8, meropenem'e %41,3, amikasin'e %24,1 oranlarında dirençli olarak saptandı.
Sonuç
Hastanemizde de kan kültürlerinde gram pozitif bakteriler daha sık etken olarak saptanmıştır. Periyodik olarak antimikrobiyal direnç oranlarının belirlenmesinin, sepsis ve bakteriyemi düşünülen hastalarda ampirik tedavi seçiminde antibiyotiklerin etkin kullanımında yararlı olacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik duyarlılığı, kan kültürü, mikroorganizma

P75- YOĞUN BAKIM ÜNİTELERİNDE YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Tolga Akcan, Derya Altun, Gül Erdem, Mustafa Çağatay
Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Amaç
Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, hastanede klinik tablosu en ağır seyreden, invaziv girişimlerin yoğun olarak uygulandığı, parenteral antibiyotiklerin en çok kullanıldığı ve hastanede yatış süresi en fazla olan hastalardır.Yapılan çalışmalarda hastanede yatan hastalarda gelişen hastane enfeksiyonlarının çoğunluğunun yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan gönderilen örneklerden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençlerinin retrospektif olarak saptanmasıdır.
Yöntemler
Mayıs 2010-2011 tarihleri arasında hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan gönderilen örnekler çalışmaya dahil edildi. Örneklerden izole edilen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle identifiye edildi ve antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptandı. Orta duyarlı olarak saptanan izolatlar dirençli olarak kabul edildi.
Bulgular
Plevra sıvısı, periton sıvısı, kist sıvısı, trakeal aspirat ve yara gibi çeşitli klinik örneklerden 62'si (%47,6), *Acinetobacter spp.*, 33'ü (%25,3) *Pseudomonas spp*., 14'ü (%10,7) *E.coli*, 12'si (%9,2)*Proteus spp*., 9'u (%7,2) *Klebsiella spp*., olmak üzere toplam 130 gram negatif bakteri izole edildi. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere direnç oranları Tablo'da sunulmuştur.
Sonuç
Yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerden en sık izole edilen gram negatif bakteri *Acinetobacter spp.* (%47,6) idi. Enterobacteriaceae'lerde karbepenemler, *Acinetobacter spp*.'lerde tigesiklin, *Pseudomonas spp*.'lerde ise seftazidim, piperasilin-tazobaktam ve sefeperazon-sulbaktam en etkili antibiyotikler olarak saptandı. Yoğun bakım ünitelerinden sık izole edilen etkenlerin ve antibiyotik duyarlılık oranlarının düzenli sürveyansı, ampirik antibiyotik tedavisinin seçiminde önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik, gram negatif, yoğun bakım

Gram negatif bakterilerin antibiyotik dirençlilik yüzdeleri

	IMP	MEM	CAZ	TZP	CES	TGC
	R	R	R	R	R	R
Acinetobacter spp.	%96,7	%100	%96,7	%100	%90,3	%34
Pseudomonas spp.	%42,4	%45,4	%36,3	%24,2	%30	_
Escherichia coli	_	_	%85,7	%50	%50	%14
Proteus spp.	%8,3	%8,3	%75	%8,3	%16,6	%16,6
Klebsiella spp.	%11,1	%11,1	%77,8	%66,7	%66,7	_

IMP:İmipenem, MEM:Meropenem, CAZ:Seftazidim, TZP:Piperasilin-tazobaktam, CES:Sefeperazon-sulbaktam, TGC:Tigesiklin R:Dirençli

P76- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN S. LUGDUNENSİS İZOLASYONU: 2004-2011 YILLARI ARASI DEĞERLENDİRME

Mahmut Celalettin Uner, Havva Özlem Altay, Gülşen Hasçelik
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Staphylococcus lugdunensis S. aureus'a klinik olarak benzeyen akut endokardit, osteomyelit, peritonit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olan koagülaz negatif stafilokoktur. S. lugdunensis lamda koagülaz pozitif olması nedeniyle S. aureus ile karışabilmekte ve hatalı tanımlamalara neden olabilmektedir. Ülkemizde bu bakterinin yaptığı enfeksiyonlar, koagülaz negative stafilokoklar (KNS) içindeki izolasyon oranı ve antimikrobiyal duyarlılığı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı laboratuvarımızda izole edilen S. lugdunensis suşlarının izole edildiği klinik örneklere göre dağılımını ve antibiyotik duyarlılığını saptamak ve aynı dönemde izole edilen diğer KNS suşlarındaki yerini belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Ocak 2004-Ağustos 2011 tarihleri arasında izole edilmiş 13705 KNS suşu değerlendirmeye alınmış, 230'unun (%1.7) S. lugdunensis suşu olduğu belirlenmiştir. S. lugdunensis suşlarının 205 hastadan izole edildiği saptanmıştır. Bu suşların tanımlama ve antibiyotik duyarlılıkları BD Phoenix (Becton Dickinson, USA) otomatize sistemi ile yapılmış, ayrıca tanımlamada Gram boyama ve tüpte koagülaz testi uygulanmıştır.
Bulgular
Hastalardan izole edilen S. lugdunensis suşlarının en fazla deri enfeksiyonuna {123 (% 53.4)} neden olduğu, bunu sırasıyla idrar {43 (% 18.6)}, kateter {15 (% 6.52)} ve kan {14 (% 6.08)} izlediği belirlenmiştir. Yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre en yüksek direncin % 20 oranla eritromisinde olduğu, bunu sırasıyla % 9.9 oranla trimethoprim-sulfametoksazol, % 7.9 oranla klindamisin ve %4.8 oranla oksasilin izlemiş, vankomisin, teikoplanin ve rifampisine karşı direnç saptanmamıştır.
Sonuç
Çalışmamızın sonucunda S. lugdunensis izolasyonunun KNS içinde çok az izole edilmesine rağmen, S. aureus'a benzer enfeksiyonlar yapması, tanımlamada S. aureus'la karışabilmesi ve antibiyotik duyarlılığının farklı olması nedeniyle tanımlamada dikkatli olunması ve bu konuda klinisyene doğru bilgilendirilme yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: KNS enfeksiyonları, *S. aureus, S. lugdunensis*

Tablo 1: S. lugdunensis'in yıllara göre koagülaz negatif stafilokoklar içindeki yeri

Yıllar	KNS *	*S.lugdunensis*	
	(n)	(n)	(%)
2004	1939	35	1,81
2005	2059	35	1,69
2006	1853	39	2,10
2007	2116	26	1,23
2008	1774	30	1,69
2009	1633	26	1,59
2010	1558	16	1,03
2011**	773	23	2,98
TOPLAM	13705	230	1,68

*Koagülaz negatif stafilokok,

**Ocak- Temmuz 2011

Tablo 2: S. lugdunensis izolasyonlarının enfeksiyon bölgelerine göre dağılımı

Enfeksiyon bölgesi	Sayı	(%)
Deri	123	(53,4)
İdrar	43	(18,6)
Kateter	15	(6,52)
Kan	14	(6,08)
Diğer*	35	(15,4)
TOPLAM	230	(100)

*eklem sıvısı, kemik iliği aspiratı, yara, ameliyat materyali, dren mayi, kist sıvısı, konjonktiva

Tablo 3: Çalışmaya alınan S. lugdunensis izolatlarının antibiyotik direnci

Antibiyotik (Çalışılan)	Direnç	
	Sayı	%
Eritromisin (n=229)	46	(20)
Trimetoprim-sülfometoksazol (n=211)	21	(9,9)
Klindamisin (n=215)	17	(7,9)
Oksasilin (n=228)	11	(4,8)
Vankomisin (n=229)	0	(0)
Teikoplanin (n=216)	0	(0)
Rifampisin (n=230)	0	(0)

P77- NOCARDİA SPP.'NİN ETKEN OLDUĞU BİR AKCİĞER ENFEKSİYONU OLGUSU

Neriman (balaban) Aksu[1], **Gülşen Hazırolan[1]**, İpek Mumcuoğlu[1], Fatmanur Ülgen Pepe[2], Şenol Kurşun[1], Mustafa Kerem Çalgın[3], Zeynep Ceren Karahan[3]
[1]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Mikrobiyoloji Kiniği, Ankara*
[2]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Ankara*
[3]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakiltesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Nocardia türü bakteriler aerobik Actinomycetes'lerin en önemli türüdür. Doğada, toprak ve sularda çok yaygın bulunur ve çoğu saprofittir. İnsanlarda daha çok sistemik ve kısmen lokalize mycetoma şeklinde enfeksiyonlar meydana getirir. Sistemik nocardiosis dünyada yaygın bir hastalıktır, özellikle inhalasyon yolu ile bulaşan akciğer nocardiosis'i, en çok görülen şeklidir. Nocardia asteroides'in oluşturduğu sistemik enfeksiyonlarda akciğer ve plevrada yalancı tüberküloz görünümünde lezyonlar oluşur. Nocardia spp. fakültatif intrasellüler bir patojen olup makrofaj ve PMNL içinde büyüme yeteneğindedir.Genel özellikleri bakımından Nocardia'lar dallanan filamanlı mikroorganizmalar olup, bazı türleri çomak veya kok görünümü verirler. Gram olumludurlar. Bazı türler belirli üreme evrelerinde aside dirençli boyanırken, diğer bir kısım bu özelliği taşımaz.Burada Nocardia spp'nin etken olduğu bir pnömonili olgu sunuldu.
Vaka
83 yaşında, şiddetli öksürük ve solunum sıkıntısı şikayeti ile hastanemize başvuran bayan hasta, pnömoni, hipertansiyon, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ön tanıları ile yoğun bakım servisine yatırıldı. PA akciğer grafisinde infiltrasyon ile uyumlu görünümü mevcut olan hastanın yapılan toraks BT incelemesinde, plevral efüzyon, sağ ve sol akciğerde buzlu cam alanları ve sol akciğer alt lobunda kalsifikasyonlar içeren nodüller tespit edildi. Ateş ve lökositozu bulunan hastada bakteriyel pnömoni düşünüldü. Ampirik olarak ampisilin ve moksifloksasin tedavisi başlandı. Hastadan alınan balgam, tüberküloz kültürü için laboratuvarımıza gönderildi. Balgam örneğine homojenizasyon- dekontaminasyon işlemi yapıldı ve Löwenstein- Jensen besiyerine ekildi. Kültür 37°C'de inkübe edildi. Yapılan günlük kültür değerlendirmelerinde 7. günde kültürde üreme tespit edildi. Erlich Ziehl Neelsen (EZN) yöntemi ile boyaması yapıldı. İnce, dallanan aside dirençli bakteriler görüldü. Löwenstein- Jensen besiyerinde üreyen koloniler subkültür için insan kanlı besiyerine pasajlandı. ve 37°C'de inkübe edildi. Kültür 24 saat sonra incelendiğinde çok zayıf, ince bir üreme gözlendi. 48 saat sonra incelenen kültürde ise tebeşir görünümünde, kuru, beyaz, rutubetli toprağa benzer kokusu olan koloniler izlendi. Gram boyamada hifli yapılı gram olumlu basiller görüldü. Yapılan modifiye EZN boyamada aside dirençli ince, dallanan, basiller görüldü. İzolatın Mycobacterium spp. olup olmadığının tespiti için universal Mycobacterium primeri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi yapıldı. Mycobacterium spp. olmadığı tespit edildi. Suş Nocardia spp. olarak tanımlandı. Kültürde Nocardia üremesi üzerine hastanın aldığı antibiyotikler kesilerek hastaya TMP-SMX tedavisi başlandı. Yapılan takiplerde hastanın ateşi, lökositozu olmadı. Çekilen kontrol PA akciğer grafisinde ise infiltrasyonlarda belirgin düzelme görüldü. Hastanın TMP-SMX tedavisine cevap vermesi suşun Nocardia spp. olarak tanımlanmasını destekledi.
Sonuç
Nocardia enfeksiyonları artan sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Makroskobik incelemede üredikleri besiyerinde beyaz, tebeşir görünümünde, R tipi koloni meydana getiren, tipik olarak rutubetli toprak kokusu oluşturan koloniler gözlenmesi ve mikroskobik incelemede gram boyamada gram olumlu, modifiye EZN boyamada aside dirençli basillerin görülmesi eğer hastanın klinik olarak durumu da uyumlu ise Nocardia enfeksiyonunu düşündürmeli ve ona göre klinik tedavi yönlendirilmelidir

Anahtar Kelimeler: Nocardia spp., Akciger nokardiyozu, Erlich Ziehl Neelsen boyama

P78- ÇOKLU DİRENÇLİ *CORYNEBACTERİUM MİNUTİSSİMUM* SUŞUNUN ETKEN OLDUĞU YARA ENFEKSİYONU

Sema Mumcu Alaçam, İpek Mumcuoğlu, Gülşen Hazırolan, Neriman (Balaban) Aksu
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

Amaç
Eritrazma etkeni olarak bilinen *Corynebacterium minutissimum* literatürde nadiren abse, bakteriyemi, endokardit etkeni olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada çoklu dirençli C. *minutissimum'a* bağlı gelişen cerrahi sonrası yara enfeksiyonu olgusu sunulmuş ve *Corynebacterium spp'nin* değerlendirilmesinde antimikrobiyal duyarlılık standartlarına olan ihtiyacın vurgulanması amaçlanmıştır.
Vaka
C. minutissimum, gram pozitif, spor yapmayan, aerop veya fakültatif anaerop basildir. Genellikle diabetik veya obez kişilerde deride kırmızı-kahverengi yama benzeri döküntülerle seyreden eritrazma etkeni olarak bilinir. Hastanemizde sol bacakta femur kırığı nedeniyle opere edilmiş tip 2 diabeti olan 86 yaşında kadın hastadan alınan akıntılı yara kültüründe çoklu dirençli *C. minutissimum* üremiştir. Örnek gönderildiği sırada hasta atrial fibrilasyon ve solunum sıkıntısı şikayetleriyle yoğun bakım servisinde yatmaktaydı. İdrar ve kan kültüründe üreyen *Klebsiella pneumoniae*ve *Acinetobacter baumanii* enfeksiyonları nedeniyle imipenem ve kolistin tedavisi almaktaydı. Alınan örneğin Gram boyalı preparatlarında 8-10 lökosit görülmüştür. Kanlı ve Eozin Metilen Blue agara yapılan ekimlerin 24 saat 37 santigrad derecede inkübasyonu sonrası, sadece kanlı agarda mat, sarımsı, hemolizsiz, maya kokulu koloniler izlenmiştir. Katalaz testi pozitiftir ve gram boyalı preparatlarda gram pozitif basiller izlenmiştir. CLSI önerilerine göre yapılan disk difüzyon testiyle penisilin, metisilin, eritromisin, klindamisin, rifampisin, gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, ofloksasin, trimetoprim/sulfametaksazole hiç zon açmamış şekilde dirençli olduğu tespit edilmiştir. Sadece vankomisin, teikoplanin, linezolid ve kinupristin/dalfopristine duyarlı bulunmuştur. Bunun üzerine tür düzeyinde tanımlama ve MİK duyarlılığının belirlenmesi için VITEK 2 sistemi kullanılmıştır. Duyarlılık zon çapları ve MİK sonuçları değerlendirilirken CLSI'ın *Corynebacterium spp.* için standardı olmadığından (bu konuda yapılan uluslararası çalışmalar referans alınarak) stafilokoklar için olan standartlar kullanılmıştır. Hastane enfeksiyon komitesi *C. minutissimum'u* bu hastada yara etkeni olarak kabul etmiştir ve tedaviye vankomisin eklenmesiyle hastada klinik iyileşme izlenmişir.
Sonuç
C. minutissimum kolonilerinin maya kokulu olması ön tanıda yardımcı olabilecek bir özelliktir. Bu bakterinin literatürde daha önce etken olarak izole edilen suşlarının da *Corynebacterium jeikeum* suşları gibi çoklu dirençli olması ilgi çekicidir. Laboratuvarımızda non-difteroidal *Corynebacterium* suşları yara, abse, kan örneklerinde artan sıklıkta etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun sebebinin altta yatan hastalık, invaziv işlemler ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olduğu düşünülmektedir. İnvazyon yapabilen *Corynebacterium* suşlarının daha dirençli olduklarını da gözlemlemekteyiz. Sonuç olarak, *Corynebacterium spp.* ile oluşan enfeksiyonların güvenilir tedavisi için antimikrobiyal standartlara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Corynebacterium minutissimum*, yara enfeksiyonu, direnç

P79- ANKARA İLİNDE İZOLE EDİLEN *SHİGELLA* KÖKENLERİNİN SEROTİP DAĞILIMI, ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI VE YILLAR İÇERİSİNDEKİ DEĞİŞİMİ

Begüm Saran[1], Birsel Erdem[1], Fazıl Alper Tekeli[1], Fikret Şahin[1], Ahmet Derya Aysev[2]
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara.*
[2]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.*

Amaç
Bu çalışmada Ankara ilinde 2001, 2008 ve 2009 yıllarında izole edilen *Shigella* türlerinin serotip dağılımlarının ve antibiyotiklere direnç oranlarının belirlenmesi ve bu oranların yıllar içerisindeki değişimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Ankara'da Ağustos 2001–Ekim 2001 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi, Ağustos 2008–Ekim 2008 ve Temmuz 2009–Ekim 2009 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında standart yöntemlerle klinik örneklerden izole edilen 60 *Shigella* kökeni alınmıştır. Antiserumlar kullanılarak (Becton Dickinson) lam aglütinasyonu yöntemi ile serotiplendirme yapılmış ve tür düzeyinde identifikasyonları sağlanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda disk diffüzyon yöntemi ile incelenmiştir. İstatistiksel analizde Pearson ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testi yöntemlerinden yararlanılmıştır.
Bulgular
İzolatların 49'u (%81,6) *S. sonnei*, 10'u (%16,6) *S. flexneri*, 1'i S. *dysenteriae* (%1,6) olarak tanımlanmış, *S. boydii* türüne rastlanmamıştır. 2001 yılında elde edilen izolatların %95,6'sı *S. sonnei* iken 2009 yılında elde edilen izolatların %66,6'sının *S. sonnei* olduğu bulunmuştur. Ankara ilinde *S.sonnei* kökenlerinin halen en sık görülen tür olduğu gösterilmiştir.
Çalışmamızda 2001 yılında izole edilen *S. sonnei* kökenlerinde ampisilin direnci görülmemiş ancak 2008 ve 2009 yılında izole edilen *S. sonnei* kökenlerinde %22,2 olarak saptanmıştır. 2001 ve 2008 *S. sonnei* kökenlerinde sefotaksim direnci görülmezken, 2009'da %22,2 oranında görülmüş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). *S. sonnei* kökenlerinde nalidiksik asite karşı direnç artışı tespit edilmiştir. Bu bulgu günümüzde *Shigella* infeksiyonlarında hala en potent ilaç olan siprofloksasine direnç gelişebileceği ve tedavide büyük sorunlarla karşılaşılabileceği endişesi yaratmaktadır. *Shigella* türlerinin antibiyotik dirençleri karşılaştırılmış *S. flexneri'*nin ampisilin, kloramfenikol, amoksisilin/klavulonik asit direnci *S. sonnei'*ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). *Shigella* kökenlerinde yüksek oranda trimetoprim/sülfametoksazol direnci görülmüştür (% 91,6). Bu bulgu Ankara'da giderek artan oranda trimetoprim/sülfametoksazol direnci görüldüğünü ve bu antibiyotiğin günümüzde ampirik tedavi seçeneği olarak uygun olmadığını göstermiştir. İzole edilen *Shigella* kökenlerinin antibiyotik direnç oranları ve direnç oranlarında yıllar içerisinde görülen değişim Tablo 1'de gösterilmiştir.
Sonuç
Çalışmamızda elde edilen bulgular düzenli sürveyans çalışmalarının devamlı yapılması ve akılcı antibiyotik kullanım politikalarının bu veriler ışığında uygulanması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik Duyarlılığı, Shigella, Tür Dağılımı

Tablo 1. İzole edilen Shigella kökenlerinin antibiyotik direnç oranları ve direnç oranlarında yıllar içerisinde görülen değişim

	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı	Dirençli İzolat sayısı
	S. sonnei	S. sonnei	S. sonnei	S. sonnei	S. flexneri	S. flexneri	S. flexneri	S. flexneri
Antibiyotikler	2001 (n:22) n (%)	2008 (n:9) n (%)	2009 (n:18) n (%)	Toplam (n:49) n (%)	2001 (n:1) n (%)	2008 (n:1) n (%)	2009 (n:8) n (%)	Toplam (n:10) n (%)
Ampisilin (A)	-	2 (22.2)	4 (22.2)	6 (12.2)	1 (100)	1 (100)	8 (100)	10 (100)
Amoksisilin/Klavulonik asit (A/K)	-	1 (11.1)	-	1 (2.0)	1 (100)	1 (100)	7 (87.5)	9 (90)

Gentamisin (G)	-	-	-	-	-	-	-	-
Kloramfenikol (C)	-	-	-	-	1 (100)	1 (100)	7 (87.5)	9 (90)
Nalidiksik asit (N)	1 (4.5)	-	5 (27.7)	6 (12.2)	-	-	-	-
Sefalotin (Cf)	4 (18.1)	2 (22.2)	7 (38.8)	13 (26.5)	-	-	1 (12.5)	1 (10)
Sefotaksim (Ct)	-	-	4 (22.2)	4 (8.1)	-	-	-	-
Seftazidim (Cz)	-	-	-	-	-	-	-	-
Siprofloksasin (Cip)	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetrasiklin (T)	20 (90.9)	2 (22.2)	10 (55.5)	32 (65.3)	1 (100)	1 (100)	7 (87.5)	9 (90)
Trimetoprim/Sülfametoksazol (Sxt)	22 (100)	8 (88.8)	18 (100)	48 (97.9)	1 (100)	1 (100)	7 (87.5)	9 (90)

P80- LABORATUVAR GÜVENLİĞİ KONUSUNDA MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARLARI ÇALIŞANLARININ BİLGİ DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

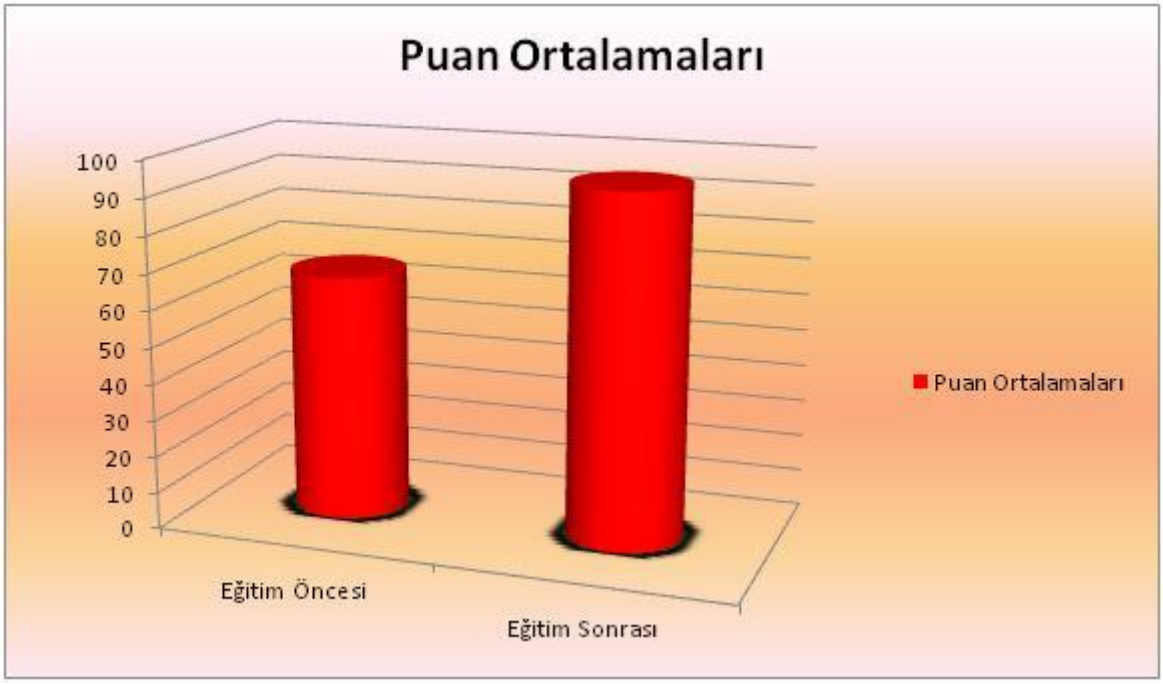
Sema Aydoğdu, Nevzat Ünal, Adil Karadağ, Murat Günaydın
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Samsun

Amaç
Tıp laboratuvarlarında çalışırken insan sağlığı ve çevrenin korunması için belirli kurallara uyulması gereklidir. Laboratuvarda güvenli çalışma teknikleri; laboratuvarlar ve laboratuvar dışı çalışma alanları dahil olmak üzere tüm çalışanların sağlık ve güvenlik şartlarının iyileştirilmesi için gerekli sorumluluklar ile alınacak önlemleri içerir. Bu çalışmada mikrobiyoloji laboratuvarları çalışanlarının, hizmet içi eğitimleri kapsamında laboratuar güvenliği hakkındaki bilgi düzeylerinin, eğitim öncesi ve sonrası karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Yöntem
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında çalışan 23 laboratuvar teknisyenine; laboratuvarda güvenli çalışma teknikleri, biyogüvenlik düzeyleri, laboratuvarlarda karşılaşılan risk faktörleri ve alınması gereken önlemlerle ilgili sorular içeren bir ön test uygulandı. Test sonrası çalışanları eğitime tabi tutuldu. Eğitim sonrası son test uygulandı. Çalışanların her iki testte verdikleri cevaplar ve aldıkları puanlar karşılaştırıldı. Eğitim sonrası, uygulama ile ilgili geri bildirimleri, South East Thames (SETh) kısa didaktik ve interaktif kurs değerlendirme ölçekleri ile alındı.
Bulgular
Eğitim öncesi yapılan ön testte çalışanların başarı düzeyinin % 67 olduğu bulunmuştur. Eğitim sonrası yapılan son testte ise personelin başarı düzeyinin % 95'e yükseldiği görüldü. SETh ölçekleri geri bildirim sonuçları ile çalışanların eğitimden duydukları memnuniyet oranı tespit edildi.
Sonuç
Ön test sonuçlarına göre laboratuvar çalışanlarının sürekli eğitimlere tabi tutulmadıkları zaman bilgi düzeylerinin düşük olduğu görülmüştür. Eğitimlerin bilgi düzeyini arttırdığı ve personelde de memnuniyete yol açtığı tespit edilmiştir. Laboratuvar güvenliği hakkında bilgilendirmeyi artırmak için hizmet içi eğitimler, bilgi düzeyini artırıcı ve ekip çalışmasını geliştirmeye yönelik olarak planlanmalıdır. Bununla uyumlu olarak laboratuvar güvenliğinin düzgün bir şekilde sürdürülebilmesi için sürekli eğitimlere devam edilmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Laboratuvar güvenliği, biyogüvenlik düzeyleri, hizmet içi eğitim

---

Puan ortalamaları grafiği



South East Thames (SETh) kısa didaktik kurs değerlendirme ölçeği

Lütfen bu kursu aşağıdaki sorulara göre değerlendiriniz.
Uygun bulduğunuz kutuya bir işaret koyunuz

Tarih:
Eğitici:
Ders:

South East Thames (SEth) kısa didaktik kurs değerlendirme ölçeği.

		Kesinlikle katılıyorum	Katılıyorum	Emin değilim	Katılmıyorum	Kesinlikle katılmıyorum
1	Verilen bilgiyi özümsemeye yeterli zaman vardı					
2	Bu oturum neleri bilmem gerektiğini anlamama yardım etti					
3	Eğitici(ler) konuyu iyi biliyorlardı					
4	Tartışma için yeterli zaman vardı					
5	Kişisel görüşler için yeterli zaman vardı					
6	Bu oturum, bu konuda kendime daha çok güven duymamı sağladı					
7	Bu oturum, konu hakkındaki bilgilerimi tazelememe yardımcı oldu					
8	Bilmediğim ancak bildiğimi sandığım şeyleri farkettim					
9	Bu oturum için harcadığım zamana değdi					

Diğer görüş ve önerileriniz:

South East Thames (SETh) kısa interaktif kurs değerlendirme ölçeği

SETh Kısa İnteraktif Kurs Değerlendirme Ölçeği

TARİH :
KONU :
EĞİTİCİ :
YER :

Katılmış olduğunuz eğitim oturumunu göz önünde bulundurunuz ve her cümle için ne oranda katılıp katılmadığınızı işaretleyiniz.

	Kesinlikle katılıyorum	Katılıyorum	Emin değilim	Katılmıyorum	Kesinlikle katılmıyorum
1. Duyuruda bilmek isteyeceğim herşey vardı					
2. Bu oturum için harcadığım zamana değdi					
3. Katılımcılar olaya hızla dahil olabildiler					
4. Beklentilerim karşılandı					
5. Benim bakış açıma değer verildiğini hissettim					
6. Bu oturuma katılmakla konuya bakış açım değişti					
7. Verilen bilgiyi özümsemeye yeterli zaman vardı					
8. Desteklendiğimi hissettim					
9. Oturum neleri bildiğimi anlamama yardım etti					
10. Oturum neleri bilmem gerektiğini anlamama yardım etti					
11. Oturum bu konudaki davranışımı değiştirmemi sağlayacaktır					
12. Oturum ihtiyaçlarım hakkındaki düşüncelerimi değiştirdi					
13. Artık bu konu hakkında daha çok şey bilmek istiyorum					
14. Bu oturumdan zevk aldım					
15. Eğitici(ler) tüm öğrencilerin katılımını sağlayabildi(ler)					
16. Eğitici(ler) çatışmalarla başedebildi(ler)					
17. Eğitici(ler) bu oturumun hedefine ulaşmasına yardımcı olabildi(ler)					
18. Eğitici seçimi uygundu					
Bu eğitim oturumu ile ilgili başka görüş ve önerileriniz varsa lütfen belirtiniz:					

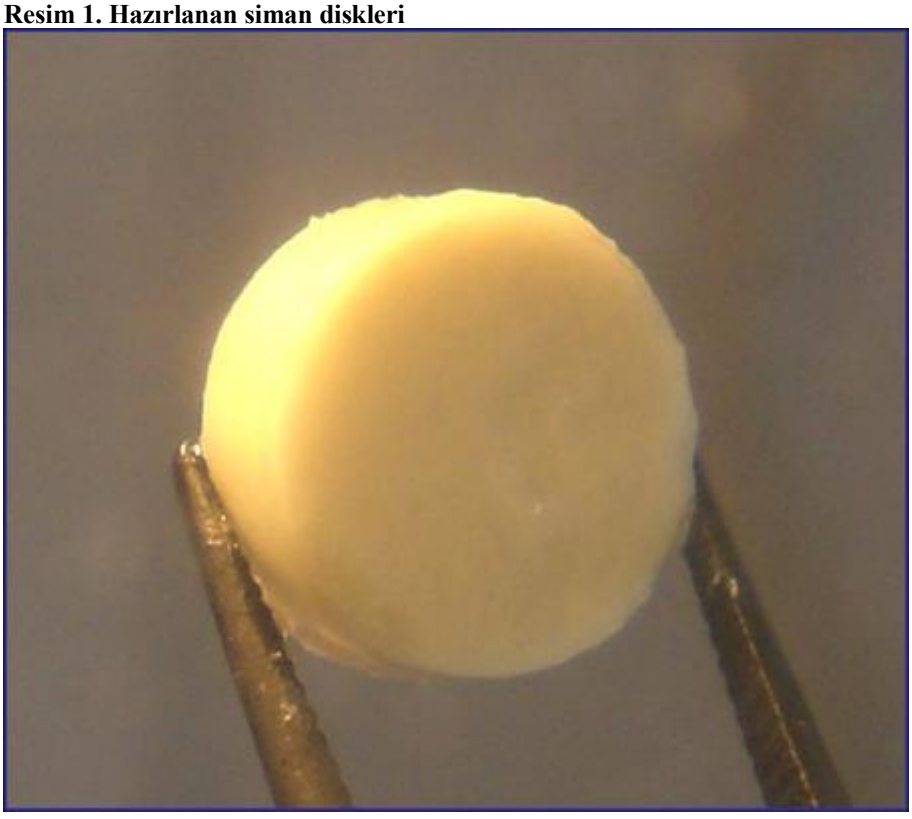
P81- PROPOLİS İÇEREN CAM İYONOMER SİMANLARIN İN VİTRO STREPTOCOCCUS MUTANS BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİ

Nursen Topcuoğlu[1], Fatih Özan[2], Güven Külekçi[1]
[1]*İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji BD, İstanbul*
[2]*Mevki Asker Hastanesi, Diş Servisi, Ankara*

Amaç
Çalışmamızda diş hekimliğinde özellikle atravmatik restoratif tedavide kullanılan geleneksel cam iyonomer siman diskleri ve değişik konsantrasyonlarda propolis katılmış cam iyonomer siman disklerinde *in vitro Streptococcus mutans* biyofilm oluşumunu karşılaştırarak propolisin cam iyonomer simanların antimikrobiyal etkinliğine etkisini araştırmayı amaçladık.
Gereç-Yöntem
Çalışma için propolisin etanol ekstresi saf cam iyonomer likitine %25 ve %50 oranlarında katılarak 14'er adet 10 mm çapında, 2 mm kalınlığında siman diskleri hazırlanmıştır. Kontrol için aynı boyutlarda hazırlanan saf cam iyonomer siman diskleri kullanılmıştır. Diskler tükürükle kaplandıktan sonra *S. mutans* ATCC 25175 standart suşu ile biyofilm oluşumu için uygun ortam sağlanmıştır. Kırk iki saat sonra disklerdeki kuru biyofilm ağırlıkları hesaplanmış ve bakteri yoğunluklarının spektrofotometrik (OD_{640}) ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar Kruskal -Wallis testi ile %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir.
Bulgular
Her iki propolisli siman diskinde oluşan biyofilmin kuru ağırlığı, kontrol disklerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$). %50 propolisli siman diskindeki bakteri yoğunluğu, %25 propolisli siman ve kontrol siman diskine göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$).
Sonuç
Bu ön çalışma ile propolisli cam iyonomer siman kullanımının biyofilm tabakası oluşumunu önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Bu siman çeşitli mekanik ve kimyasal deneylerin yapılması ile restorasyonda umut verici bir malzeme olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm oluşumu, cam iyonomer siman, propolis, *Streptococcus mutans*

Resim 1. Hazırlanan siman diskleri



Tablo 1. Cam iyonomer disklerinde oluşan biyofilmin kuru ağırlıkları (mg)

Cam iyonomer siman	Kontrol	%25 propolisli	% 50propolisli

n	13	14	14
Ortalama	0.5846	0.2429	0.1643
Standart sapma	0.3262	0.1555	0.1336
Ortanca	0.5	0.2*	0.2*

**İstatistiksel olarak anlamlı (p<0.001)*

Resim 2. Biyofilmlerin hazırlanması

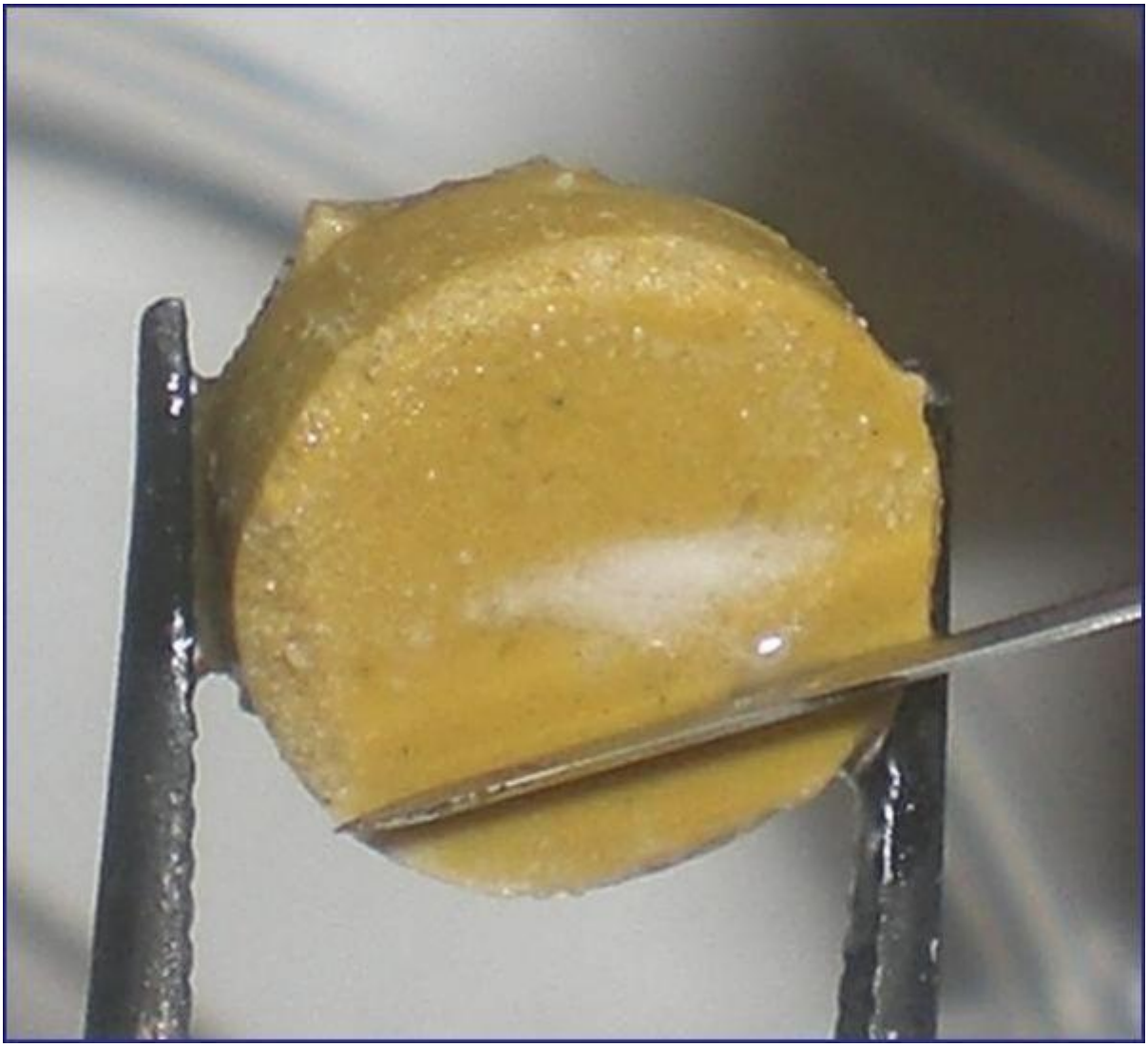


Tablo 2. Cam iyonomer simanlarda oluşan biyofilmlerin yoğunluk ölçümleri (OD640)

Cam iyonomer siman	Kontrol	%25 propolisli	%50 propolisli
n	13	14	15
Ortalama	0.028	0.018	0.01
Standart sapma	0.016	0.007	0.008
Ortanca	0.026	0.0175	0.009*

****İstatistiksel olarak anlamlı (p<0.001)***

Resim 3. Biyofilmlerin toplanması



P82 - SON İKİ YILDA HASTANEMİZDE KAN KÜLTÜRLERİNDE ÜRETİLEN GRAM POZİTİF VE GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN DAĞILIMI

Irmak Baran[1], **Gülşen Hazırolan[1]**, İpek Mumcuoğlu[1], Şenol Kurşun[1], Hürrem Bodur[2], Neriman (Balaban) Aksu[1]
[1]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*
[2]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. İntaniye Kliniği, Ankara*

Amaç
Yatan hastalarda bakteriyemi ve septisemi etkenlerinin ortaya çıkarılması sadece tanı açısından değil, hastanın tedavisi ve prognozu yönünden de son derece değerlidir. Yatan hastalarda septisemiye bağlı ölüm oranlarının %40'ın üzerinde olduğu önceki çalışmalarda bulunmuştur. Bakteriyeminin erken dönemde saptanması için yeni geliştirilen yöntemlere rağmen kan kültürleri hala pratik ve en güvenilir yöntem olma özelliğini korumaktadır. Kan kültürü pozitif olan hastalarda mortalitenin, negatif olanlara göre 12 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda geliştirilen otomatize sistemler ile kan kültürlerinde etken saptanma süresinde belirgin kısalma olmuştur. Bu çalışmada laboratuvarımıza gönderilmiş olan ve BacT/Alert otomatize sistemde kültürleri yapılmış olan ve bakteri saptanan kan örneklerinin sonuçlarını değerlendirmeyi amaçladık.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, Ocak 2010-Mart 2011 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Mikrobiyoloji laboratuarında BacT/Alert 3D (Biomérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak üretilen kan kültürlerinin sonuçları değerlendirildi. Pozitif ve negatif sinyal veren tüm şişelerin gram boyaması yapıldı. Pozitif üreme olarak saptanan şişeler %5 koyun kanlı agar ve EMB(Eosin Methylene Blue) agara (Oxoid,İngiltere) pasajlandıktan sonra 37°C'de 24-48 saat aerop ve %5-10 CO2'li ortamda inkube edildi. Bu süreler sonunda üreme saptanan örneklerde bakteri saptanan örneklerin ileri tanıları yapıldı. Bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra, VITEK 2 (Biomérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. Koagülaz negatif stafilokok (KNS) ile birlikte streptokok ve difteroid türleri gibi deri flora elemanları içeren ve saf olmayan kültürler ve Bacillus türleri kontaminasyon olarak değerlendirildi.
Bulgular
Bakteri üremesi saptanan 1588 kan kültürünün 944'ünde (%59.45) gram pozitif, 644'ünde (%40.55) gram negatif mikroorganizma saptandı. Gram pozitif organizmalar arasında en sık saptanan ilk üç bakteri sırası ile S. hominis (324 adet, %34.32), S.epidermidis (197 adet, %20.87) ve S.haemolyticus (136 adet, %14.40) olarak bulundu. Gram negatif organizmalar içinde en sık saptanan ilk üç bakteri sırası ile A. baumannii (207 adet, %32.14), P. aeruginosa (121 adet, %18.78) ve E. coli (113 adet, %17.55) olarak bulundu. Kan kültüründe bakteri saptanan örneklerin servislere göre dağılımında ise en sık saptanan ilk 3 servis sırası ile yoğun bakımlar (657,%41.37), iç hastalıkları (389,%24,50) ve cerrahi birimlerdir (373, %23,49).
Sonuç
Bakteriyeminin saptanması tanı ve tedavi açısından önemlidir. Çalışmamızda saptanan bakterilerin %59.45'ini gram pozitif, %40.55'ini gram negatif bakteriler oluşturmaktadır. Çalışmamızda kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalarda gram pozitif üstünlüğü olduğunu gözledik. Tür düzeyinde değerlendirildiğinde ise çalışmamızda gram pozitifler arasında KNS'lerin gram negatifler arasında ise non-fermenterlerin daha baskın olarak saptandığı gösterilmiştir. Üreme olan servislere bakıldığında yoğun bakım servislerinde üremenin daha sıklıkla gözlendiği saptanmıştır. Bu da burada yatan yaşlı, bağışıklık sistemi hasar görmüş, altta yatan kronik hastalığı bulunan, travmalı, ventilatöre bağlı vb. hastalar göz önüne alındığında şaşılacak bir sonuç değildir. Bakteriyemi hayatı tehdit eden bir durum olduğundan erken tanı konulup tedavi edilmesi gerekmektedir. Etken mikroorganizmalar çoğunlukla hastane enfeksiyonlarına sebep olanlarla aynıdır. Bu nedenle yapılacak ampirik tedaviye yol gösterici olması açısından çalışılan hastanede en sık saptanan etken mikroorganizmaların belirlenmesi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: BacT/Alert, kan kültürü, KNS, non-fermenter, yoğun bakım

Kan kültürlerinde üreyen bakterilerin dağılımı

Mikroorganizma	Sayı	%
Gram pozitifler	944	100
E.faecalis	56	5.932
E.faecium	61	6.462
Diğer enterokoklar	4	0.424
S.aureus	70	7.415
S.epidermidis	197	20.869

S.haemolyticus	136	14.407
S.hominis	324	34.322
Diğer KNSler	86	9.110
S.pneumoniae	4	0.424
S.sanguinis	3	0.318
S.pyogenes	3	0.318
Gram negatifler	644	100
A. baumannii	207	32.143
E.aerogenes	3	0.466
E.cloacae	19	2.950
E.coli	113	17.547
K.oxytoca	7	1.087
K.pneumoniae	112	17.391
M.morganii	5	0.776
P.mirabilis	23	3.571
P.vulgaris	2	0.311
P.aeruginosa	121	18.789
P.luteola	2	0.311
P.putida	2	0.311
Salmonella spp.	2	0.311
S.marcescens	11	1.708
S.maltophilia	15	2.329

P83- BİR DEVLET HASTANESİNDE YAPILAN KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN MİKROORGANİZMALARIN DAĞILIMI

Metin Sancaktar[1], Yelda Yazıcı[2], Recep Öksüz[3], Gülcan Kaçak Gül[3], Emine Taşçı[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi İnfeksiyon Kontrol Komitesi, Trabzon*

Amaç
Kasım 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların geriye dönük olarak dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Oxoid Signal Blood Culture System/Biomerieux BacT/Alert 3D sistemlerinin şişelerine alınarak gelen kan kültürleri inkübe edilmiştir. Üremeler uygun besiyerlerine ekildikten sonra tiplendirmeler klasik yöntem ve Remel RapID ONE, NH, NF Plus ve SS/u sistemleri kullanılarak yapılmıştır.
Bulgular
Bu tarihler arasında laboratuvara 4147 kan kültürü gelmiş olup, 968 örnekte üreme saptanmıştır. Bunların 359'u (%8.65) bulaş, 609'u (%14.68) anlamlı üreme olarak değerlendirilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların dağılımı aşağıdaki çizelgede verilmiştir.
Sonuç
Bakteriyemi düşünülerek kan kültürü alınan hastalarda, üreme öncesi olası mikroorganizmaların oranlarının bilinmesi, ampirik sağaltım başlanması sırasında yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kültür, kan kültürü, mikroorganizma

Kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımı

Adı	Sayı	%	Adı	Sayı	%
Koagülaz negatif stafilokoklar	315	51.7	Proteus spp.	5	0.8
Staphylococcus aureus	97	15.9	Acinetobacter spp.	4	0.7
E. coli	76	12.5	Haemophilus spp.	3	0.5
Pseudomonas spp.	31	5.1	Serratia spp.	3	0.5
Enterobacter spp.	19	3.1	Nonalbicans Candida	3	0.5
Klebsiella spp.	18	3.0	Listeria spp.	2	0.3
Salmonella spp.	15	2.5	Enterococcus spp.	2	0.3
Candida albicans	9	1.5	Sphingomonas paucimobilis	1	0.2
Moraxella spp.	6	1.0	Toplam	609	100

P84- ÇOCUK HASTALARDA KAN VE İDRAR KÜLTÜRLERİNDE ETKENLER VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLERİ

Başak Yıldız[1], Şöhret Aydemir[2], **Fatma Kamer Varıcı[2],** Feriha Çilli[2], Alper Tünger[2]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları BD, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Amaç
Çocuk hastalarda enfeksiyon ön tanısı ile alınan kan ve orta akım idrar kültür örneklerinde üreyen mikroorganizmaların belirlenmesi ve etkenlerin antibiyotik dirençlerinin gösterilmesi
Gereç-Yöntem
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi'nde 2010 yılında alınan kan ve idrar kültür örneklerinde üreyen etkenlerin dağılımı ve antibiyotik dirençleri geriye dönük olarak değerlendirildi.
Bulgular
Bir yıllık süreçte yatan hastalardan toplam 3651 hemokültür ve 3389 idrar kültür örneği alınmış olup kan kültürlerinin % 88'inde üreme olmadığı gösterilmiştir. Üreme olan kan kültürlerinde etken dağılımına bakıldığında % 35 Koagulaz (-) stafilokok, %25 Maya mantarı, % 8 Klebsiella pneumoniae, %7 Enterococcus spp., % 5 Pseudomonas aeroginosa, % 3 Enterobacter spp., % 2 oranında Staphylococcus aureus, % 2 Escherichia coli, % 2 Stenotrophomonas maltophilia, % 1 Neisseria meningitidis ve % 11 oranında diğer etkenlerin ürediği görüldü. Orta akım idrar kültürlerinde ise örneklerin % 10 oranında kontamine olduğu, % 74 idrar örneğinde üreme olmadığı gösterildi. Üreme olan kültürlerde etken mikroorganizmalar % 40 oranında E.coli, % 18 Klebsiella spp., % 15 Maya mantarı, % 12 Enterococcus spp., % 6 P.aeroginosa, % 2 Proteus mirabilis, % 2 oranında Enterobacter spp ve % 5 oranında diğer etkenler olarak saptanmıştır. Bu mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık paternleri değerlendirildiğinde ise en sık etkenler arasında yer alan Koagulaz (-) stafilokoklar Metisilin'e % 90 dirençli, Glikopeptidlere % 15 ve Linezolid'e % 2 oranında dirençli bulunmuşlardır. Sıklıkla etken olan E.coli; Karbapenem grubu (İmipenem ve Meropenem) antibiyotiklere dirençli değilken bu etkenlerin Amikasin'e % 41 oranında ve TMP-SMX 'e % 66 oranında dirençli olduğu ve % 55 oranında ESBL salgıladıkları gösterilmiştir. Diğer önemli bir hastane enfeksiyon etkeni olan P.aeroginosa'nın ise Piperasilin-Tazobactam, Meropenem, Seftazidim ve Amikasin gibi antipseudomonal etkinliği olduğu bilinen antibiyotiklere sırasıyla % 54, % 37, % 52, % 21 oranında dirençli olduğu görülmüştür. Bunun yanında K.pneumoniae; Karbapenem grubu ilaçlara direnç göstermezken Sefalosporin ve Aminoglikozid grubu ilaçlara sırasıyla % 45 ve % 38 düzeyinde dirençli bulunmuştur ve bu etkenlerin % 40 ESBL salgıladığı gösterilmiştir. Enterococcus spp.'nin ise Glikopeptid grubu ilaçlara dirençli değilken, Aminoglikozidlere % 54 dirençli olup, Acinetobacter spp. gibi hastane enfeksiyon etkenlerinin Karbapenem grubuna % 50 ve diğer birçok antibiyotiğe % 50-90 oranında dirençli olduğu gösterilmiştir.
Sonuç
Bu çalışmada Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi'nde yatan hastalardan alınan kan ve idrar kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar ve duyarlılıkları gösterilmiş olup bu hastane enfeksiyon etkenlerinin sıklıkla birçok antibiyotik grubuna direnç geliştirmekte olduğu gözlenmiştir.

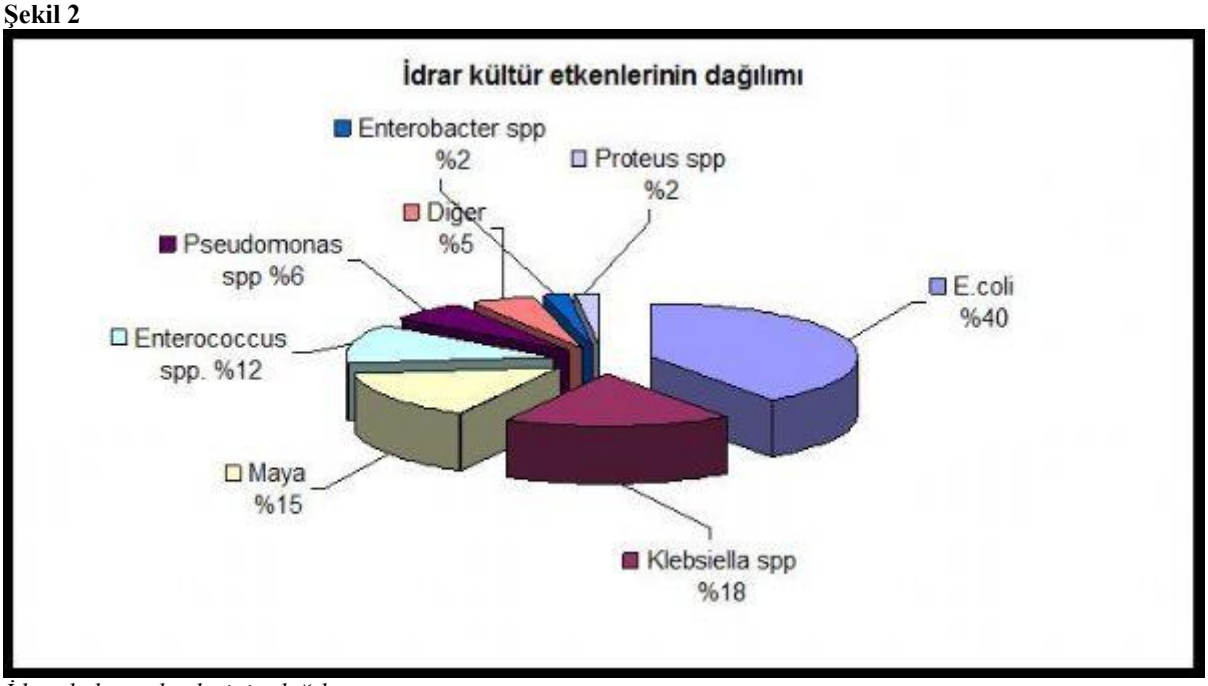
Anahtar Kelimeler: hastane enfeksiyon etkenleri, hemokültür, idrar kültürü, antibiyotik direnci

Şekil 1



Kan kültür etkenlerinin dağılımı

Şekil 2



İdrar kültür etkenlerinin dağılımı

P85- TOPLUM KÖKENLİ ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN *ESCHERİCHİAE COLİ* SUŞLARININ SIK KULLANILAN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Berrin Sarı, İpek Mumcuoglu, Sema Mumcu Alaçam, Şenol Kurşun, Neriman (Balaban) Aksu
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

Amaç
Üriner sistem enfeksiyonları sık görülen enfeksiyonlardır. En sık rastlanan etkenler gram negatif basiller olup *Escherichia coli* ilk sırayı almaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizmaların çoğunda tedavide kullanılan antimikrobiyal ajanlara artan oranda direnç geliştiği görülmektedir. Hastanemiz üroloji polikliniklerinde tedavide en sık kullanılan antibiyotiklerin, trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin ve ikinci kuşak sefalosporinler olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, ampirik tedavide yol gösterici olması amacıyla hastanemiz üroloji kliniğine son altı ayda başvuran hastalardan izole edilen toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonu etkeni olan *E. coli* suşlarının sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza gelen orta idrar örnekleri kanlı ve Eozin Metilen Blue agara ekilip 24 saat 37 santigrad derecede inkübe edilmiştir. Enfeksiyon etkeni sayılacak düzeyde üremesi olan örneklerin Gram boyamaları değerlendirilmiş ve bakteri tanımlamaları konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.
Bulgular
Laboratuvarımıza 01.01.2011-31.07.2011 tarihleri arasında polikliniklerden toplam 15.097 idrar kültürü gönderilmiştir. Üreme tespit edilen 1.503 (%9.95) kültürün 1.093'ünde (%72.2) *E. coli* üremiştir ve 227'si (%20.8) Üroloji polikliniklerinden gönderilen hastalara aittir. Bu suşların antibiyotik duyarlılıkları sırasıyla siprofloksasin için %52.4; norfloksasin için %52.1; trimetoprim-sulfametaksazol için %39.1; sefuroksim için %58.3; nitrofurantoin %92.0 ve fosfomisin için %100 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Çalışmamızda siprofloksasin, norfloksasin, trimetoprim-sulfametaksazol ve sefuroksim için azalmış duyarlılık oranları görülmüştür. Bu ilaçların sıklıkla kullanılıyor olması direnci artırmaktadır. Yakın bir gelecekte bu antibiyotikler iyi bir tedavi seçeneği olmaktan çıkabilirler. Nitrofurantoin ve fosfomisin ise komplike olmayan alt üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde uygun seçenekler gibi görülmektedir. Toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan direnç problemi hemen hemen tüm sistem enfeksiyonları için söz konusudur. Ancak en sık karşılaşılanlar üriner sistem enfeksiyonları olduğundan bu enfeksiyonlar için ulusal ölçekte tedavi rehberlerinin hazırlanması ampirik tedavi konusunda yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: üriner sistem enfeksiyonu, *Escherichiae coli*, antimikrobiyal direnç

P86- GIDA ÇALIŞANLARINDA PORTÖR TARAMA SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Yeliz Çetinkol[1], Arzu Altunçekiç Yıldırım[2]
[1]*Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ordu*
[2]*Ünye Devlet Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ordu*

Amaç
Gıda yolu ile bulaşabilen hastalıklar, toplumun her kesimini etkileyebilen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Portör muayeneleri T.C. Sağlık Bakanlığının 2005-1059 genelgesi ile sağlık çalışanları ve sıhhi müesseselerde yılda 1 kez zorunlu olarak uygulanmaktadır. Bu çalışmada gıda sektöründe çalışan kişilerin Staphylococcus aureus ve Salmonella-Shigella taşıyıcılık oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ağustos 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında rutin portör taraması amacıyla Ünye Devlet Hastanesi'ne başvuran toplam 655 gıda sektörü çalışanının burun, boğaz ve gaita kültür sonuçları S.aureus ve Salmonella-Shigella yönünden incelenmiştir. S.aureus identifikasyonunda koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz reaksiyonu ile koagülaz testlerinden yararlanılmış ve koagülaz pozitif stafilokok suşları S.aureus olarak tanımlanmıştır. Metisilin direnci Müeller-Hinton agarda standart disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Gaita kültürlerinde Salmonella-Shigella identifikasyonu ise EMB ve SS agarda üreyen şüpheli koloniler, çeşitli biyokimyasal testler ve özgül antiserumları ile aglütinasyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır.
Bulgular
Portör muayenesi amacıyla kültürü alınan 655 gıda çalışanında; burun kültürlerinin 71 (%10.83)'inde S.aureus izole edilmiş olup, bunların 66 (%10.07)'sı metisiline duyarlı olarak saptanmıştır. S.aureus suşlarının 5'inde metisilin direnci belirlenmiş olup bu oranın incelenen tüm kişilerdeki genel değeri %0.76 iken, izole edilen S. aureus'lar içindeki değeri %7'dir. Boğaz kültürlerinin 10'unda saptanan S.aureus izolatlarının tümü metisiline duyarlı izlenmiştir. Gaita kültürü sonuçlarında ise 2 Salmonella spp ve 2 Shigella spp ürediği gözlenmiştir.
Sonuç
Tespit etmiş olduğumuz taşıyıcılık oranları ülkemizde ve dünyada yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Gıda çalışanlarında, gıda yolu ile bulaşabilecek hastalıkları önlemek amacıyla yapılan portör taramaları yeterince etkin olmayıp bu kişilerin söz konusu hastalıklar ve uyulması gereken hijyen kuralları ile ilgili olarak eğitilmesinin daha öncelikli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Portör, Salmonella, Shigella, S.aureus

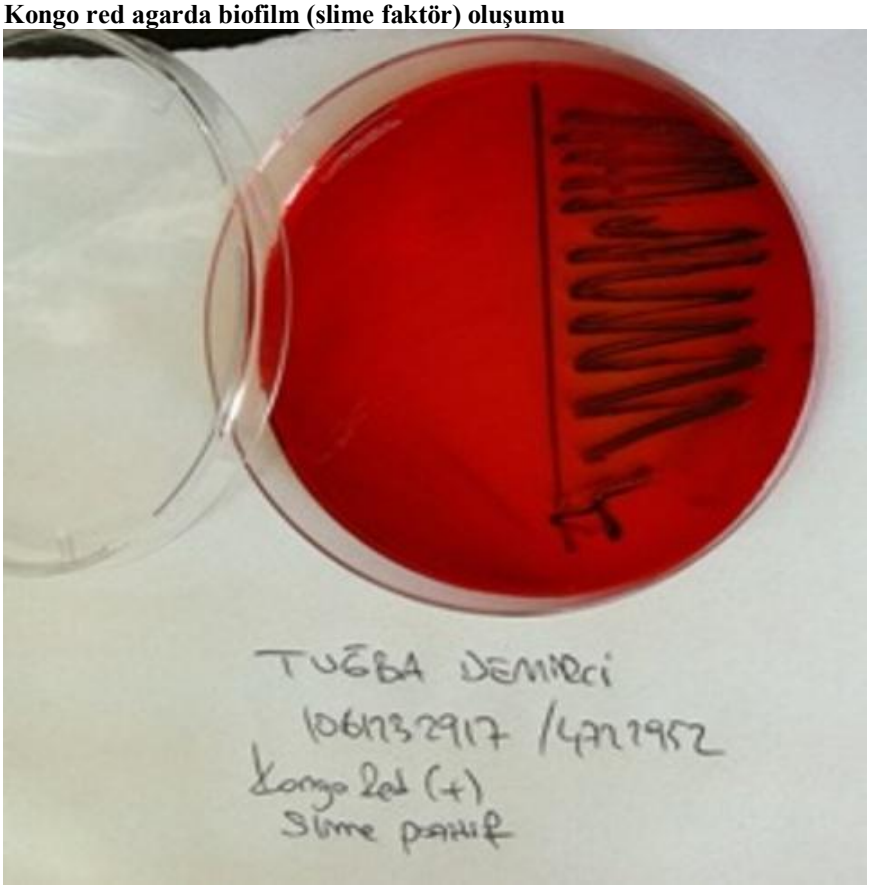
P87- TONSİLLEKTOMİ VE ADENOİDEKTOMİ YAPILAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARDA SLİME FAKTÖR(BİYOFİLM) OLUŞUMUN ARAŞTIRILMASI

Arzu Tatlıpınar[1], **Servet Delice[2]**, Nilgün Döşoğlu[2], Tanju Gökçeer[1], Sebahat Aksaray[2]
[1]*Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz Kliniği,İstanbul*
[2]*Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı,İstanbul*

Amaç
Biyofilm oluşturan bakteriler ile doğal kapak endokarditi, otitis media, kronik tonsillit, kronik bakteriyel prostatit, periodontit gibi enfeksiyonların yanında protez kapak, santral venöz kateter, üriner sonda, ortopedik protez, kontakt lens ve intrauterin cihazlar gibi yabancı cisim infeksyonları arasındaki epidemiyolojik bağ artık bilinmektedir. Bu çalışmamızda kronik tonsillit ve adenoidit etkeni bakterilerin slime faktör(biyofilm) oluşturma özellikleri araştırıldı.
Gereç-Yöntem
Hastanemiz Kulak Burun Boğaz kliniğinde Mayıs 2010-2011 tarihleri arasında opere edilen kronik tonsillit ve adenoidit hastalarının steril kapalı kaplarda gönderilen materyallerinden %5 koyun kanlı agar, çikolata agar, EMB agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Ekimler 35-37°C'de 24-48 saat,%5-10 karbondioksitli ortamda inkübe edildi. *S.aureus*,streptokoklar (*S.pneumoniae*,A ve B grupları), *H.influenzae* olarak tanımlanan bakterilerde kongo red agar yöntemiyle slime faktör üretimi araştırıldı.
Bulgular
Gönderilen 113 materyalin 90 tanesi tonsil, 23 tanesi adenoidti. Hastaların 42'si kadın, 61'i erkekti. Hasta materyallerinin 32 tanesinde *S.aureus* (%28.3), 30 tanesinde streptokok türeleri (%26.5), 11 tanesine *H.influenzae* (%9.7) izole edildi.Stafilokok suşlarının %62.5 (20 suş)'inde slime faktör pozitif saptanırken, streptokok suşlarının %13.3 (4 suş)'ünde slime faktör pozitif izlendi.*H.influenzae* suşlarında slime faktör oluşumu gösterilemedi.
Sonuç
Kronik tonsillit ve adenoidit enfeksiyonu nedeniyle opere olmak zorunda kalan hastalarda *S.aureus*'un başta gelen etken organizmalardan olduğu ve yüksek oranda biyofilm oluşturduğu tespit edildi. Çalışmamızda ikinci sıklıkta izole edilen streptokok türlerinin ise nadiren biyofilm oluşturduğu saptandı. Hemofilus cinsi bakterilerde biyofilm tespitinde kongo red agar yönteminin tek başına yeterli olmadığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: biyofilmler, kongo red, slime faktör, tonsillektomi, adenoidektomi

Kongo red agarda biofilm (slime faktör) oluşumu



Normal flora üremesi ile işleme alınan bakteri sayıları

	ADENOİD	TONSİL	TOPLAM
Normal flora üremesi	17	29	46
İşleme alınan bakteri sayısı	6	61	67
TOPLAM	23	90	113

Biyofilm (slime faktör) üretimine göre işleme alınan bakterilerin değerlendirilmesi

	BİYOFİLM		
Bakteriler	Negatif	Pozitif	
	n (%)	n (%)	p
Beta hemolitik streptekok	21 (%42,8)	25 (%37,3)	0,213
S.aureus	14 (%28,6)	18 (%72)	0,001*
H.influenza	11 (%22,4)	0 (%0)	0,010
S.pneumoniae	3 (%6,1)	0 (%0)	0,207

kikare testi kullanıldı. *p<0,05

P88- İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDA ANAEROB VE HAEMOPHİLUS BAKTERİ TÜRLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Gülçin Bayramoğlu, *Hikmet Öztel Ocak*, Yeşim Beşli, Neşe Kaklıkkaya, İlknur Tosun, Faruk Aydın
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

Amaç
Haemophilus species ve anaerob bakterilerin idrar yolu enfeksiyonuna neden olduğunu bildiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Standart idrar kültürü prosedürü bu bakteriler için uygun besiyerleri ve üreme koşullarını içermediği için gerçek insidansı bilinmemektedir. İdrar kültürlerinden anaerob bakterilerin izolasyonu tedavide seçilecek antibiyotiğin belirlenmesinde önemlidir. Bu çalışmada idrar yolu enfeksiyonlarında anaerob ve Haemophilus bakteri türlerinin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
30 Temmuz-12 Ağustos 2011 tarihleri arasında 268 kadın (%67.5) 129 erkek (%32.5) olmak üzere 152 çocuk (%38.3) ve 245'i erişkin (%61.7) toplam 327 hastaya ait 397 orta akım idrar örneği değerlendirilmiştir. Bakteriyel üremenin değerlendirilmesi için 0.001 mililitrelik öze kullanılarak % 5 koyun kanlı agar (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA) ve eosin methylene blue (EMB) agar (HiMedia Lab. Pvt. Mumbai, India) besiyerlerine ekilerek aerob ortamda 35-37°C'de 18-24 saat, çikolata agara (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA) ekilerek %5 CO2'li ortamda 35-37°C 'de 18-24 saat, Schaedler agara (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA) ekilerek anaerob koşullarda (AnaeroGen compact Oxoid, Basingstoke, England) 35-37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İdrar kültürlerinde >=10^4 cfu/ml üremeler dikkate alınarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasında geleneksel yöntemlere ilaveten Haemophilus spp. izolatları için BBL Crystal Neisseria/Haemophilus (Becton Dickinson, USA) ve anaerob bakteriler için BBL Crystal Anaerobe (Becton Dickinson, USA) tanımlama sistemleri kullanılmıştır.
Bulgular
İki farklı hastaya ait idrar örneklerinde Haemophilus influenzae (% 0.5) >=10^4 cfu/ml saf kültür olarak üremiştir. Bu hastalardan birisinde piyüri ile birlikte saptanmıştır. Yedi hastaya ait 8 idrar örneğinde anaerob bakteriler (%2) anlamlı sayıda ve baskın olarak üremiştir. Üç hastanın idrar örneğinde piyüri varlığı ile >=10^5 cfu/ml anaerob bakteri saf kültür olarak bulunmuştur. Dört hastanın idrar örneğinde ise piyüri ile birlikte polimikrobiyal üreme saptanmış olup ikisinde koliform bakteriler ile birlikte anaerob bakteri baskın (>= 10^5 cfu/ml), ikisinde de iki anaerob bakteri (>= 10^5 cfu/ml) üremiştir. Yalnızca bir idrar örneğinde piyüri olmadan 10^5 cfu/ml anaerob bakteri saf kültür halinde saptanmıştır. Klinik olarak anlamlı kabul edilen H. influenzae ve anaerob bakterilerin tümü kadın ve kız çocuk hastalardan izole edilmiştir. İzole edilen anaerob bakterilerin dağılımı 2 Peptostreptococcus prevotii, 2 Veillonella spp., 1 Peptococcus anaerobicus, 1 Prevotella bivia, 1 Prevotella disiens, 1 Prevotella melaninogenica, 1 Porphyromonas asaccharolytica, ve 1 Mobiluncus mulieris şeklindedir.
Sonuç
Haemophilus spp. ve anaerob bakteriler distal üretra ve vajen florasında bulunabildiğinden, orta akım idrar örneklerinin kültürlerinde ürediklerinde gerçek bakteriüri veya kontaminasyon ayrımını yapmak zordur. İdrar örneklerinin bakteriyolojik kültürü için altın standart suprapubik aspirat örneklerinin alınmasıdır. Fakat invaziv işlemler olduğu için az sayıda vakada kullanılmaktadır. Orta akım idrar örneklerinde Haemophilus spp. ve anaerob bakterilerin değerlendirilmesinde idrar yolu enfeksiyon semptomları ve piyüri varlığı ile bakterinin saf kültür olarak üremesi yardımcı olabilmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, Haemophilus spp. ve anaerob bakterilerin idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabileceği göz önünde bulundurulmalı, özellikle piyürüsi ve/veya idrar yolu enfeksiyonu semptomları olup rutin idrar kültürlerinde üreme olmayan hastalarda bu bakterilerin izolasyonuna yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Anaerobik bakteri, Haemophilus türleri, İdrar yolu enfeksiyonu

Tablo 1. Haemophilus spp. ve anaerob bakteri üreyen hastaların demografik ve laboratuar özellikleri.

Hasta No	Yaş	Piyüri	Bakteri Türü	Bakteri Sayısı (cfu/ml)	Başlıca Anomali
1	3	+	Prevotella disiens Peptococcus anaerobicus	10^5 10^5	–
2	29	+	Prevotella bivia	>=10^5	Reflü
3	55	+	Mobiluncus mulieris Peptostreptococcus prevotii	10^5 10^5	–
4	84	+	Veillonella spp. Citrobacter koseri Klebsiella pneumoniae	>=10^5 10^4 10^4	Mesane disfonksiyonu

5	60	+	Peptostreptococcus prevotii	>=10^5	_
6	69	+	Porphyromonas asaccharolytica	10^5	_
3	55	_	Prevotella melaninogenica	10^5	_
7	83	+	Veillonella spp. Escherichia coli Klebsiella pneumoniae	>=10^5 10^5 10^5	Mesane disfonksiyonu
8	62	+	Haemophilus influenzae	10^5	Mesane disfonksiyonu
9	9	_	Haemophilus influenzae	10^4	_

P89- ERİŞKİN İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN NONFERMANTATİF GRAM NEGATİF BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI:OCAK 2009-AĞUSTOS 2011

Meriç Yılmaz, Derya Aydın
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Amaç
Çalışmamızda Ocak 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında bakteriyoloji laboratuvarımızda incelenen erişkin hastaların idrar örneklerinde üropatojen Nonfermantatif Gram Negatif (NFGN) bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
Hastaların orta akım idrarları kromojenik agar (BBL CHROMAGAR Orientation) besiyerlerine ekilmiş, kültürler 35ºC'de 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Bakteri sayısı >=100.000/ml ve riskli hastalarda >=10.000 /ml olan bakteriler klasik yöntemler ve gerektiğinde Vitek-2 (BioMerieux) sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Aynı hastadaki tekrarlayan üremelerde farklı antibiyotik duyarlılığı olan suşlar çalışmaya alınmıştır.
Bulgular
En sık izole edilen NFGN bakteri olan Pseudomonas spp 'de incelenen süre içerisinde en düşük direnç beklendiği gibi kolistine karşı saptanmıştır. Pseudomonas suşlarında kinolon direnci %20-29 arasında saptanmıştır. 2009'da 11, 2010'da ve Ağustos 2011'e kadar birer Stenotrophomonas suşu izole edilmiştir; bir suş minosikline dirençli, bütün suşlar kotrimoksazole ve levofloksasine duyarlı bulunmuştur. Pseudomonaslarda yatan –ayaktan hasta bazında antibiyotik direnç oranları ile Acinetobacter ve identifiye edilmemiş NFGN bakterilerinin direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir. İzole edilmiş olan Pseudomonaslarda yatan- ayaktan hasta oranları ise Tablo 2'de verilmiştir.
Sonuç
Antibiyotik direncinde yıllara göre gözlenen değişimler nedeniyle uygun ampirik tedavi seçiminde bu tür çalışma sonuçları yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik direnci, NFGN bakteri, üropatojen

Tablo 1.

Tablo 1. 2009-2011*'de izole edilen NFGN bakterilerin antibiyotik direnç oranları (%)

	*Pseudomonas spp***			*Acinetobacter spp*			NFGN çomak		
	2009 n:61	2010 n:50	2011 n:44	2009 n:3	2010 n:8	2011 n:3	2009 n:13	2010 n:11	2011 n:2
Piperasilin	44/7	18/10	0/8	67	63	67	23	9	0
Seftazidim	44/4	27/18	0/9	100	88	33	15	9	0
İmipenem	13/2	18/8	0/11	67	75	0	23	9	0
Meropenem	31/4	36/3	22/14	67	75	67	39	15	0
Sefepim	38/7	36/8	0/6	67	63	33	31	36	50
Gentamisin	50/9	18/13	33/20	67	50	33	54	55	50
Tobramisin	56/9	18/10	33/14	33	25	33	0	36	50
Aztreonam	63/11	55/15	22/20	-	-	-	39	64	0
Amikasin	50/2	18/10	11/11	33	63	33	39	46	50
Siprofloksasin	56/9	36/15	33/29	67	75	33	46	36	50
Levofloksasin	38/16	36/15	33/29	67	38	33	46	36	50
Pip-tazobaktam	31/2	18/10	11/3	67	88	33	23	9	50
Norfloksasin	56/13	36/18	22/23	-	-	-	77	46	0
Netilmisin	44/11	18/8	33/14	-	-	-	54	36	0
Setp-sulbaktam	44/4	27/8	11/0	67	50	67	23	0	0
Kolistin	6/2	0/3	0/3	100	60***	33	-	-	-
Amp-sulbaktam	-	-	-	67	25	67	-	-	-
Kotrimoksazol	-	-	-	67	75	67	-	-	-

-çalışılmadı, * Ağustos 2011 tarihine kadar incelenmiştir, ** Yatan/ayaktan hasta direnç oranları,
*** 3 suşta kolistin duyarlılığı araştırılmamıştır.

Tablo2. Pseudomonasda yatan-ayaktan hasta oranları, n(%)

	2009 n:48	2010 n:50	2011 n:43
Yatan hasta	14(29)	11(22)	8(19)
Ayaktan hasta	34(71)	39(78)	35(81)

P90- HASTANEMİZDE İZOLE EDİLEN P.AERUGİNOSA SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN YILLARA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

Halil Er[1], Gülşah Aşık[1], İhsan Hakkı Çiftci[2], Özlem Yoldaş[1], Orhan Cem Aktepe[1]
[1]*Afyonkocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Afyonkarahisar*
[2]*Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Adapazarı*

Giriş
Nonfermentatif Gram negatif çomaklar içinde hastane infeksiyonu etkeni olarak en sık Pseudomonas aeruginosa izole edilmektedir. Hastane kaynaklı infeksiyonların %10'undan sorumludur. Bu bakteriler çoğunlukla invaziv girişimler, mekanik ventilasyon, yanık veya cerrahi girişim ile ilişkili infeksiyonlara; özellikle üriner sistemde, solunum sisteminde, dış kulak yolunda ve yanıklarda infeksiyona neden olmaktadır. Pseudomonas aeruginosa karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe karşı hızlı çoğul direnç geliştirmektedirler. Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen P. aeruginosa suşlarının 2010 yılındaki direnç oranları ile 2011 yılındaki direnç oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
2010-2011 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 200 P.aeruginosa suşu çalışmaya dahil edilmiştir. İdentifikasyon çalışmalarında konvansiyonel yöntemlerle ve gerektiğinde Vitek2 Compact cihazı kullanılmıştır. P.aeruginosa suşlarının antibiyotik duyarlılık testleri CLSI önerileri doğrultusunda Müller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemiyle yapılmıştır. 2010 yılında izole edilen 130 suş ile 2011 yılında izole edilen 70 suşun antibiyotik direnç oranları karşılaştırılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen 200 suşun 94(%47)'ü cerrahi birimlerden, 106(%53)'sı ise dahili birimlerden izole edilmiştir. İzole edilen suşların örnek türü dağılımı ise 63(%31,5) trakeal aspirat, 64(%32) yara kültürü, 29(%14,5) kan kültürü, 22(%11) balgam, 20(%10) idrar ve 2(%1) diğer örnek türleri şeklindedir. 2010 yılında izole edilen 130 suşta %10,8 amikasin(AK), %7,7 gentamisin(CN), %30,8 imipenem(IPM), %35,4 meropenem(MEM), %98,5 piperasilin(PRL), %91,5 piperasilin/tazobaktam(TZP), %98,5 sefotaksim(CTX), %98,5 seftazidim(CAZ), %10 siprofloksasin(CIP) ve %42,3 levofloksasin(LEV) direnci gözlenmiştir. 2011 yılında izole edilen 70 suşta ise direnç oranları %4,4 AK, %10,3 CN, %32,4 IPM, %27,9 MEM, %94,1 PRL, %77,9 TZP, %97,1 CTX, %88,2 CAZ, %19,1 CIP ve %25 LEV dirençli olarak saptanmıştır.
Sonuç
Çalışma sonuçlarımıza göre 2010 ve 2011 yılları arası hastanemizde izole edilen P. aeruginosa suşlarında AK, TZP, MEM ve LEV gibi antibiyotiklere direnç oranlarında bir azalma görülürken, CN, IPM ve CIP direncinde artış saptanmıştır. PRL, TZP, CAZ ve CTX gibi antibiyotiklere ise yüksek oranda direnç gözlenmiştir. Hastanemizde 2007-2008 yılları verilerini yansıtan bir çalışma ile bulgularımız karşılaştırılınca P.aeruginosa suşlarında saptanan karbapenem direncinin iki kat arttığı sefolosporinlere direncin %70'lerden %95'lere ulaştığı gözlenmiştir. Antibiyotik direncindeki değişimin hastanemizdeki tedavi protokollerinde bazı antibiyotiklerin sıklıkla kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle tedavi protokolleri belirlenirken antibiyotik duyarlılık sonuçları göz önünde bulundurulmalıdır. Yoğun bakım ünitelerinde sık tercih edilen antibiyotiklerin direnç oranlarındaki azalma hastanemizdeki enfeksiyon kontrol çalışmalarının etkin bir şekilde yürütüldüğünün laboratuar göstergesidir.

Anahtar Kelimeler: Pseudomonas, Antibiyotik Direnci, Hastane Enfeksiyonu

Örnek türlerinin yıllara göre dağılımı

	2010	2011	TOPLAM
Trakeal aspirat	46	17	63
Balgam	9	13	22
Yara yeri	43	21	64
Kan kültürü	14	15	29
İdrar	16	4	20
Diğer	2	-	2
TOPLAM	130	70	200

2010-2011 yılları antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırması

	2010						2011					
	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli		Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
AK	111	85,4	5	3,8	14	10,8	66	94,3	-	-	4	5,7
CN	116	89,2	4	3,1	10	7,7	58	82,9	4	5,7	8	11,4
IPM	80	61,5	10	7,7	40	30,8	46	65,7	2	2,9	22	31,4
MEM	78	60,0	6	4,6	46	35,4	46	65,7	5	7,1	19	27,1
PRL	2	1,5	-	-	128	98,5	4	5,7	-	-	66	94,3
TZP	8	6,2	3	2,3	119	91,5	11	15,7	4	5,7	55	78,6
CTX	2	1,5	-	-	128	98,5	2	2,9	-	-	68	97,1
CAZ	2	1,5	-	-	128	98,5	7	10,0	1	1,4	62	88,6
CIP	100	76,9	17	13,1	13	10,0	55	78,6	1	1,4	14	20,0
LEV	71	54,6	4	3,1	55	42,3	50	71,4	2	2,9	18	25,7

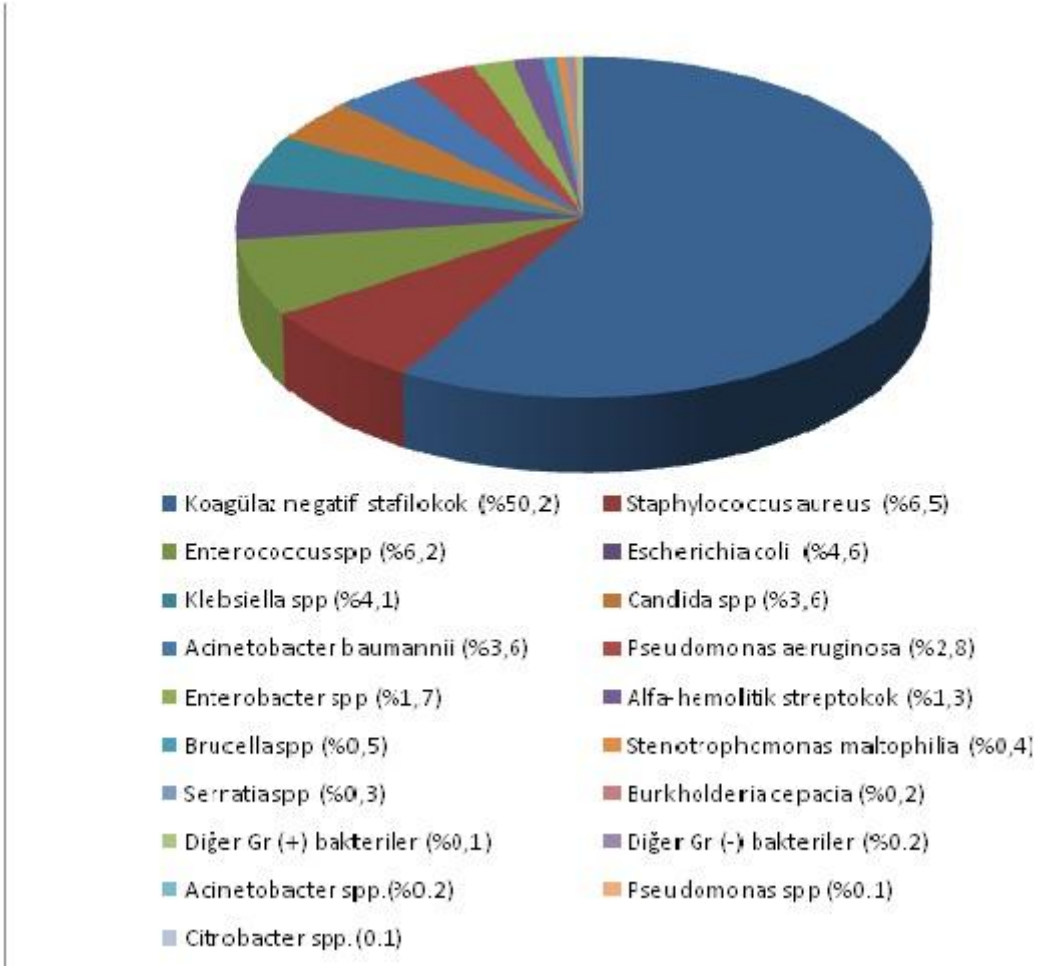
P91- 3 YILLIK DÖNEMDE KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Demet Gür, Adil Karadağ, Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Murat Günaydın
19 Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun

Amaç
Son yıllarda tanı ve tedavide invaziv girişimlerin artması, immunosüpresif tedavilerin uygulanması, ileri yaştaki birey sayısının artması nedeniyle bakteriyemi sıklığında artış dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalarda bakteriyemiye bağlı mortalite oranları ortalama % 35 olarak belirtilmektedir. Bu nedenle kandaki enfeksiyon etkeninin erken saptanıp, en kısa sürede uygun tedaviye başlanması çok önemlidir. Kandaki enfeksiyon etkenlerinin kısa sürede saptanabilmesi için otomatize kan kültür sistemleri kullanımı birçok merkez tarafından tercih edilmektedir.
Çalışmamızda 3 yıllık süre boyunca kan kültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların sıklığını belirlemeyi amaçladık.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Temmuz 2008 -Temmuz 2011 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuarı'na gönderilen kan kültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar incelenmiştir. Üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle ve Vitek2 Compact (Biomeriux, France), Phoenix (BD, USA) otomatize sistemleriyle tanımlanmıştır.
Bulgular
LaboratuarımızaTemmuz 2008-Temmuz 2011 tarihleri arasında gönderilen kan kültür örneklerinden tekrarlayan örnekler çıkarıldıktan sonra 8372 izolat çalışmaya dahil edilmiştir. Değerlendirilen örneklerin 5442'sinde (%65) gram pozitif bakteriler, 1613'ünde (% 19.2) gram negatif bakteriler ve 308'inde (%3.6) Candida türleri izole edilmiştir. Koagülaz negatif stafilokoklar(4203) tüm örnekler içerisinde(%50.2) ve Gram pozitif bakteriler içerisinde (%77.8) en fazla izole edilen mikroorganizma olmuştur. Gram negatiflerde E.coli(392) en sık(% 23.7) izole edilen bakteri olmuştur. Üreme olan örneklerde mikroorganizmaların dağılımı Tablo 1'de sunulmuştur.Üremelerin %11.2'si kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Kültür örneklerinde en fazla üreme dahiliye, cerrahi ve yoğun bakım ünitelerinde saptanmıştır.
Sonuç
Sonuç olarak, kandan izole edilen mikroorganizmalara ait verilerin periyodik olarak güncellenmesinin kullanılan tanı yöntemleri ve uygulanan tedavilerin gözden geçirilmesine katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, bakteriyemi, gram pozitif bakteriler, gram negatif bakteriler

Grafik 1



Kan kültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve sıklıkları

Tablo 1

MİKROORGANİZMA	Sayı	(%)
Koagülaz negatif stafilokok	4203	(50.2)
Staphylococcus aureus	547	(6.5)
Enterococcus spp.	527	(6.2)
Escherichia coli	392	(4.6)
Klebsiella spp.	350	(4.1)
Candida spp.	308	(3.6)
Acinetobacter baumanii	306	(3.6)
Pseudomonas aeruginosa	240	(2.8)
Enterobacter spp.	148	(1.7)
Alfa-hemolitik streptokok	115	(1.3)
Brucella spp.	44	(0.5)
Stenotrphonomonas maltophlia	35	(0.4)
Serratia spp.	25	(0.3)
Burkholderia cepacia	18	(0.2)
Acinetobacter spp.	21	(0.2)
Pseudomonas spp	14	(0.1)
Citrobacter spp.	12	(0.1)
Diğer gram negatif mikroorganizmalar	23	(0.2)
Diğer gram pozitif mikroorganizmalar	16	(0.1)

Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların dağılımı

P92 - Bir Devlet Hastanesinde Yapılan Kan Kültürlerinden Soyutlanan Non-Fermentatif Gram (-) Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıkları

Metin Sancaktar[1], Yelda Yazıcı[2], Celal Kurtuluş Buruk[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[3]*KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon*

Amaç
Kasım 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kan kültürlerinde üreyen non-fermentatif gram (-) bakterilerin antibiyotik duyarlılık sonuçlarının geriye dönük olarak taranması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Oxoid Signal Blood Culture System / Biomerieux BacT/Alert 3D sistemlerinin şişelerine alınarak gelen kan kültürleri inkübe edilmiştir. Üremeler uygun besiyerlerine ekildikten sonra tiplendirmeler klasik yöntem ve Remel RapID ONE, NH, NF Plus ve SS/u sistemleri kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır.
Bulgular
Kan kültürlerinde üreyen 31 Pseudomonas spp. sefoperazona %42.8, sefoperazon+sulbaktama %92.3, meropeneme %70.9, imipeneme %74.1 duyarlı bulundu. Acinetobacter spp. piperasilin+tazobaktama %75, seftazidime %100 duyarlı bulunurken; tamamı ampisilin-sulbaktama ve yarısı trimetoprim-sulfametoksazol'e dirençli bulundu. Sfingomonas ise seftazidim dışındaki çalışılan bütün antibiyotiklere invitro duyarlı bulundu. Antibiyotik direnç oranları çizelgede verilmiştir:
Sonuç
Kan kültüründe üreyen non-fermentatif gram (-) bakterilerin direnç durumlarının önceden bilinmesi, hastane infeksiyonlarının önlenmesinde ve sağaltıma hızlı yanıt alınarak yaşama dönüşte yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, antibiyotik direnci, Pseudomonas spp, Acinetobacter spp, Sfingomonas

Çizelge 1. Kan kültüründe üreyen non-fermentatif gram (-) bakterilerin antibiyotik direnç oranları.

% Direnç	CIP	LEV	CN	AK	TOB	TZP	CAZ	FEP
Pseudomonas spp. (n:31)	45	51.8	9.6	7.6	50	18.5	50	48.2
Acinetobacter spp. (n:4)	100	75	25	0	75	25	25	50
Sphingomonas paucimobilis (n:1)	0	0	0	0	0	0	100	0

CIP:Siprofloksasin AK:Amikasin CAZ:Seftazidim LEV:Levofloksasin TOB:Tobramisin CN:Gentamisin TZP:Piperasilin-Tazobaktam FEP:Sefepim

P93- BİR DEVLET HASTANESİNDE YAPILAN KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN STAFİLOKOKLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Metin Sancaktar[1], Yelda Yazıcı[2], Recep Öksüz[3], Gülcan Kaçak Gül[3], Emine Taşçı[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi İnfeksiyon Kontrol Komitesi, Trabzon*

Amaç
Kasım 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kan kültürlerinde üreyen stafilokokların antibiyotik duyarlılık sonuçlarının geriye dönük olarak taranması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Oxoid Signal Blood Culture System / Biomerieux BacT/Alert 3D sistemlerinin şişelerine alınarak gelen kan kültürleri inkübe edilmiştir. Üremeler uygun besiyerlerine ekildikten sonra tiplendirmeler klasik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmış, gerek duyulan örneklere e-test uygulanmıştır.
Bulgular
Kan kültürlerinde üreyen 412 stafilokok izolatının 315'i (%76.5) koagulaz negatif stafilokok, 97'si (%23.5) *Staphylococcus aureus* olarak bulundu. Stafilokokların 292'sinde (%70.9) metisiline direnç saptanmıştır. Vankomisine, linezolide ve teikoplanine direnç saptanmamıştır. (MRSA'lardan 1'i ve MRSE'lerden 2'si teikoplanine dirençli bulunmuş, ancak veri doğrulanamadığı için bu bilgi kullanılmamıştır). Antibiyotik direnç oranları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.
Sonuç
Kan kültüründe üreyen stafilokokların sayısal çoğunluğu, kan kültürü alınması uygulamasında olası bulaşı azaltıcı sürekli eğitimin verilmesi gereğini göstermektedir. Vankomisin, linezolid ve teikoplanine geçen yıllara karşın düşük direnç gelişimi de sevindiricidir.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, stafilokok, antibiyotik direnci, metisilin, teikoplanin

Çizelge 1. Kan kültüründe üreyen stafilokokların antibiyotik direnç oranları.

% Direnç	MET	PEN	VAN	TEC	AZM	FD	CIP	CN	E	DA	RIF	CLR
MSKNS (n:84)	0	50	0	0	24.5	16.6	16.3	4.1	26.5	6.9	4.8	23.3
MRKNS (n:231)	100	100	0	0	72.3	38.4	51.2	15.8	64.2	42.2	32.3	42.4
MSSA (n:36)	0	77.8	0	0	55	10	50	21	57.7	13.6	19.4	35.5
MRSA (n:61)	100	100	0	0	68.9	39.1	73.1	41.4	77	52.6	59	40
Toplam (n:412)	70.9	58.3	0	0	60.1	29.1	45.4	17.2	57.6	33.5	29.5	44.3

MSKNS:Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok MRKNS: Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok MSSA:Metisiline Duyarlı Staphylococcus aureus MRSA: Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus MET:Metisilin PEN:Penisilin VAN:Vankomisin TEC:Teikoplanin AZM:Azitromisin FD:Fusidik asit CIP:Siprofloksasin CN:Gentamisin E:Eritromisin DA:Klindamisin RİF:Rifampin CLR:Klaritromisin

P94 - HAEMOPHİLUS İNFLUENZAE'YA BAĞLI NEONATAL SEPSİS: BİR OLGU SUNUMU

Gülhan Yağmur, Barış Derya Erçal
Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Kayseri

Amaç
Haemophilus influenzae genital florada semptom oluşturmadan nadiren bulunabilen, ancak prematüre doğum, erken membran rüptürü, düşük doğum ağrlığı ve maternal korioamnionite bağlı olarak mortalitesi oldukça yüksek, erken neonatal sepsise neden olabilen bir mikroorganizmadır.
Vaka
Yirmi iki yaşında erken membran rüptürü ile başvuran annenin ilk gebeliğinden 29 haftalık olarak sezeryan ile doğan bebeğin doğum ağırlığı 1400 gram idi. APGAR Skoru 1-3-5 olarak değerlendirilen bebeğin spontan solunumu yoktu. Kalp atımı alınmayan, hipoaktif bebek entübe edilerek ventilatöre bağlandı ve yenidoğan yoğun bakıma alındı. Akciğer grafisinde parankim havalanması olmayan bebeğin CRP'si 13.4 mg/L idi. Korioamnionite bağlı sepsis olarak değerlendirilen bebekten kan ve idrar kültürü alınarak ampisilin ve sefotaksim başlandı. İkinci günde de genel durumu kötü olan bebeğin kontrol akciğer grafisinde parankim havalanması yetersiz olarak değerlendirildi. Kontrol CRP'si 60,8 mg/L idi. Kan kültüründe üremesi olan bebeğin yapılan gram boyamasında gram negatif kokobasil görülmesi üzerine kanlı ve çukulata besiyerine pasaj yapılarak yoğun bakıma bildirildi. İkinci günün sonunda kardiak nabız ve oksijen saturasyonu iyice bozulan bebeğe dopamin başlandı, eritrosit süspansiyonu verildi. Kliniği iyice kötüleşen bebeğin akciğerde kanaması başladı, dolaşımı bozuldu. Ambulanmaya rağmen cevap alınamayan bebek exitus olarak kabul edildi. Ertesi gün çukulata besiyerinde üremesi olan mikroorganizmanın tanımlanmasında API NH (Biomerieux, Fransa) manuel tanımlama sistemi kullanıldı. Haemophilus influenzae olarak tanımlanan bakterinin beta laktamazı pozitif idi.
Sonuç
Prematürite ve erken membran rüptürü olan, kısa süre içinde solunum güçlüğü başlayan ve hızlı bir şekilde kliniği kötüleşen bebeklerde Haemophilus influenzae sepsisi akla gelmelidir. Haemophilus influenzae'ya bağlı olan neonatal sepsis olgularında anneden alınacak olan vajinal kültürde bu etkenin üretilmesi anneden bebeğe asenden geçişi göstermesi adına anlamlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Haemophilus influenzae, neonatal sepsis, korioamnionit

P95 - BİR DEVLET HASTANESİNDE YAPILAN KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN ENTERİK BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Metin Sancaktar[1], Celal Kurtuluş Buruk[2]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon*

Amaç
Kasım 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kan kültürlerinde üreyen enterik bakterilerin antibiyotik duyarlılık sonuçlarının geriye dönük olarak taranması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Oxoid Signal Blood Culture System / Biomerieux BacT/Alert 3D sistemlerinin şişelerine alınarak gelen kan kültürleri inkübe edilmiştir. Üremeler uygun besiyerlerine ekildikten sonra tiplendirmeler klasik yöntem ve Remel RapID ONE ve SS/u sistemleri kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır.
Bulgular
Kan kültürlerinde üreyen 76 E.coli'nin 21'i (%27.6), 19 Enretobacter spp.'nin 7'si (%36.8), 18 Klebsiella spp.'nin 12'si (%66.6), 15 Salmonella spp.'nin 3'ü (%20) ve 5 Proteus spp.'nin 3'ü (%60) GSBL (+) bulunmuştur. 3 Serratia spp.'den hiçbirisi GSBL (+) bulunmamıştır. Hiçbir enterobakter kökeninde karbapenem direnci izlenmemiştir. Antibiyotik direnç oranları çizelgede verilmiştir:
Sonuç
Kan kültüründe üreyen enterik bakterilerin direnç durumlarının önceden bilinmesi, ampirik sağaltımın ivedilikle başlatılmasında ve sağaltıma hızlı yanıt alınarak yaşama dönüşte yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, antibiyotik direnci, enterik bakteriler, gsbl

Çizelge 1. Kan kültüründe üreyen enterik bakterilerin antibiyotik direnç oranları.

% Direnç	CXM	CFM	FEP	CRO	CAZ	TZP	SCF	CN	AK	TOB	SXT	FOS	CIP	LEV
E.coli (n:76)	36.8	52.2	32.3	30.2	36	20.4	4	10.8	35.5	40	51.7	8.8	48.7	19.4
Enterobacter spp. (n:19)	89.4	63.2	42.1	36.8	52.6	52.6	10.5	11.1	66.6	42.1	36.8	12.5	31.3	15.8
Klebsiella spp. (n:18)	83.3	88.2	70	72.2	77.7	27.7	0	22.2	35.3	77.7	66.6	33.3	23.1	38.5
Salmonella spp. (n:15)	100	20	20	13.3	0	0	0	100	100	100	13.3	0	0	0
Proteus spp. (n:5)	100	33.3	60	33.3	20	33.3	20	0	20	20	0	50	0	0
Serratia spp (n:3)	0	0	0	0	0	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	0
Toplam (n:136)	58.5	53.4	35.9	34.7	38.8	24.3	4.44	21.8	46.3	51.1	43.9	11.9	28.7	18.9

CXM:Sefuroksim CFM:Sefiksim FEP:Sefepim CRO:Seftirakson CAZ:Seftazidim TZP:Piperasilin-Tazobaktam SCF:Sefoperazon-Sulbaktam CN:Gentamisin AK:Amikasin TOB:Tobramisin SXT:Trimetoprim-Sulfametoksazol FOS:FosfomisinCIP:Siprofloksasin LEV:Levofloksasin

P96- DELFTİA ACİDOVORANS'IN NEDEN OLDUĞU NOZOKOMİYAL PNÖMONİ VE ARTERİYEL KATETER İLİŞKİLİ BAKTERİYEMİ BİRLİKTELİĞİ: BİR OLGU SUNUMU

Tekin Taş[1], Abdulkadir Küçükbayrak[2], Esra Koçoğlu[1], Şeyda Özsoy[1], Özlem Bucak[1], Ümit Yaşar Tekelioğlu[3], İsmail Necati Hakyemez[2]
[1]*Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Bolu*
[2]*Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Bolu*
[3]*Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD, Bolu*

Amaç
Delftia acidovorans, önceden *Comamonas acidovorans* veya *Pseudomonas acidovorans* olarak isimlendirilen, aerobik, non-fermentatif, gram-negatif bir basil olup Pseudomonas rRNA homoloji grup III içerisinde sınıflandırılmaktadır. Yapılan literatür araştırmasında ülkemizden bildirimi yapılan *Delftia acidovorans*'ın neden olduğu nozokomiyal infeksiyon olgusuna rastlanmamıştır. Bu raporda, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan erişkin bir hastada *D. acidovorans*'ın neden olduğu nozokomiyal bakteriyemi ve pnömoni olgusu sunulmaktadır.
Vaka
Dış merkezde kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı tanılarıyla yatarak takip edilen 79 yaşındaki erkek hasta genel durumunun bozulması üzerine hastanemize sevk edildi. Yoğun bakım ünitesine alınan hasta entübe edildi ve mekanik ventilasyona bağlandı. Hastanın şuuru kapalı, dinlemekle her iki akciğerinde solunum sesleri azalmış ve kaba ronküsleri mevcuttu. Beyaz küresi 11.700/mm3, C-reaktif protein (CRP) 4.15 mg/L (0-3.19) idi. Diğer laboratuvar değerleri normaldi. Hastaya ampirik antibiyotik tedavisi olarak sulbaktam/ampisilin 3x1 g/gün başlandı. Hastaneye yatışının yedinci gününde CRP ve beyaz küre sayısındaki artış, akciğer grafisinde sol akciğerde infiltrasyon olması üzerine hastadan kan kültürleri ve derin trakeal aspirat (DTA) kültürü alındı ve hastanın sulbaktam-ampisilin tedavisi kesilerek 3 x 1 g/gün seftriakson başlandı. Arteriyel kateterden alınan kan kültüründe ve DTA kültüründe üreyen gram negatif bakteri VITEK 2 otomatize sistemi (bioMerieux Inc, Mercy L'etoil, Fransa) ile *Delftia acidovorans* olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık testi VITEK 2 (bioMerieux Inc, Mercy L'etoil, Fransa) otomatize sistemi ile yapıldı. Bakteri ampisilin/sulbaktam, amikasin, gentamisin, tobramisin'e dirençli, piperasilin, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, seftriakson, sefoperazon/sulbaktam, sefepim, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin, trimetoprim/sulfametaksazol'a duyarlı olarak tespit edildi. Hastaya yatışının 11. günü *D.acidovorans*'a bağlı septisemi tanısıyla meropenem 2 g/gün başlandı. Hasta takibinin 17. gününde kaybedildi.
Sonuç
D.acidovorans sistemik gram negatif infeksiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçların çoğuna sıklıkla dirençlidir. Bu bakterinin etken olduğu infeksiyonlar nadir olarak görülmektedir. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış damar içi kateteri bulunan hastalarda *D.acidovorans* gibi nadir olarak izole edilen bakterilerin etken olabileceği düşünülmelidir ve bakterinin zamanında tür düzeyinde tanımlamasının yapılması uygun antibiyotik tedavine başlanması açısından gereklidir.

Anahtar Kelimeler: bakteriyemi, *Delftia acidovorans*, pnömoni, vasküler kateter infeksiyonu

P97- STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE S. EPİDERMİDİS İZOLATLARINDA BİYOFİLM ÜRETİMİNİN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI VE METİSİLİN DUYARLILIĞI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Sema Keçeli Özcan[1], Murat Sayan[2], **Zeynep Ocak[1]**
[1]*Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli*
[2]*Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuarı, Kocaeli*

Amaç
Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus ve S. epidermidis izolatlarının biyofilm üretiminin saptanmasında kullanılan kongo kırmızılı agar (KKA) ve mikropleyt yönteminin metisilin duyarlılığına göre karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çeşitli klinik örneklerden etken olarak izole edilen 99 stafilokok izolatı çalışmaya alındı. Bakterilerin identifikasyonu otomatize VITEK-2 (BioMerieux) sistemiyle yapıldı. Metisilin duyarlılığı oxacillin agar tarama yöntemi ile saptandı. Biyofilm üretiminin saptanmasında KKA ve mikropleyt yöntemleri kullanıldı. Biyofilm oluşumu, KKA yönteminde siyah koloni oluşumu ile, mikropleyt yönteminde ise mikropleytlerde oluşan biyofilmin 570 nm'de spektrofotometride okutulması sonucunda değerlendirildi.
Bulgular
Çalışmaya alınan stafilokok izolatlarının çoğunluğu kan 60 (%60.6) olmak üzere, 39 (%39.4)'ü diğer örneklerden (yara, solunum örnekleri, BOS, idrar, periton) izole edildi. Stafilokok izolatları içerisinde 50 (%50.5)'i S.aureus olup, bunların 18 (%36)'sı metisilin dirençli (MRSA), 32 (%64)'ü metisilin duyarlı (MSSA) ve diğer stafilokokların 49 (%49.4)'ü S.epidermidis olup, bunların 45(%92)'si MRSE ve 4(%8)'i MSSE olarak tanımlandı. İzolatların 29 (%29.3)'ü KKA yöntemiyle ve 41 (%41.4)'i ise mikropleyt yöntemi ile pozitif bulunmuştur (Tablo 1). Stafilokok izolatlarının 41'i her iki yöntemle de negatif, 12'si ise her iki yöntemle de pozitif saptanmıştır. Mikropleyt yöntemi ile pozitif bulunan 41 izolatın 12 (%29.2)'si KKA ile pozitif ve 29 (%70.7)'si KKA ile negatif bulunmuştur (Tablo 2). KKA yöntemi ile MRSA suşlarının 14(%77.7)'i ve MRSE suşlarının 3 (%6.6)'sı pozitif saptanmıştır. Mikropleyt yöntemi ile ise MRSA suşlarının 9 (%50)'si ve MRSE suşlarının ise 15 (%33.3)'ü pozitif bulunmuştur.
Sonuç
Bu çalışmada, kongo kırmızılı agar yöntemi ile mikropleyt yöntemine göre, özellikle MRSA izolatlarında daha fazla biyofilm üretimi saptanmıştır. Kongo kırmızılı agar yöntemi MRSA izolatlarının biyofilm üretiminin saptanmasında daha pratik ve ekonomik olması açısından önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Staphylococcus aureus, S. epidermidis, biyofilm, metisilin

Stafilokok izolatlarının Kongo kırmızılı agar ve mikropleyt yöntemleri ile biyofilm üretiminin metisilin duyarlılığına göre karşılaştırılması.

Bakteri	Kongo kırmızılı agar yöntemi	Mikropleyt yöntemi
MRSA	14	9
MSSA	12	17
MRSE	3	15
MSSE	0	0
Toplam	29	41

Biyofilm üretiminin saptanmasında Kongo kırmızılı agar yönteminin mikropleyt yöntemi ile karşılaştırılması.

	Mikropleyt pozitif	Mikropleyt negatif	Toplam
Kongo agar pozitif	12	17	29
Kongo agar negatif	29	41	70
Toplam	41	58	99

P98- BAKTERİYEL MENENJİT ETKENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Sağlam, **Yasemin Zer,** İclal Balcı
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Gaziantep

Amaç
Santral sinir sistemi enfeksiyonları (SSS); menenjit, ensefalit, ensefalomiyelitten beyin apselerine, subdural ampiyem, epidural apse, nörit ve intrakraniyal flebitlerden prion hastalıklarına kadar geniş bir klinik dağılımı içerir. Bu klinik tabloların seyri ve sonucu değişkendir. En sık rastlanan bakteriyel menenjitler, komplikasyon gelişimi açısından da ciddi sonuçlara yol açar. Bu çalışma, bakteriyel menenjit etkenlerinin araştırılması ve tanıda kullanılan çeşitli spesifik ve non-spesifik testlerin tanısal değerinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
Klinik olarak menenjit ön tanısı konan 100 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların beyin omurilik sıvıları (BOS) alınarak, BOS biyokimyası (glikoz ve protein düzeyi) hücre sayımı, Gram boyama, giemsa boyama yapıldı. Örnekler bakteriyolojik değerlendirme amacıyla koyun kanlı agar, eozin-metilen mavisi agar ve çikolata agara ekildi. Üreme olan örneklerin değerlendirilmesinde konvansiyonel yöntemler ve Vitek2 (Biomerieux) tam otomatik tanımlama sistemi kullanıldı.
Örneklerin moleküler değerlendirilmesi hibridizasyon esasına dayalı multipleks PCR ile yapıldı. Bu amaçla Speed-Oligo Bacterial Meningitis (Vircell Microbiologists) kiti kullanıldı ve H. influenza, N. meningitidis ve S. pneumoniae araştırıldı.
Bulgular
Alınan örneklerin 24'ünde kültür ile bir etken izole edilmiş olup, en sık izole edilen mikroorganizmalar S. epidermidis (% 16.6), Corynebacterium spp. (%12.5) ve S. pneumoniae (% 8.3) olarak bulunmuştur. Moleküler olarak da örneklerin 10'unde (% 10) S. pneumoniae, 5'inde (% 5) H. influenzae tespit edilirken, hiçbir örnekte N. meningitidis saptanmamıştır.
Sonuç
Bakteriyel menenjitler sık rastlanan ve ciddi seyirli klinik tablolar olduğundan, spesifik tanısının yapılmasına yönelik uygulamaların kullanılması ve geliştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel menenjit, H. iİnfluenzae, N. meningitidis, S. pneumoniae

---

tablo1

Tablo.1. BOS kültüründe üreyen bakteriler.

Mikroorganizma	Sayısı	%
Staphylococcus epidermidis	4	16.6
Corynebacterium spp.	3	12.5
Streptococcus pneumoniae	2	8.3
Staphylococcus warneri	2	8.3
Staphylococcus hominis	2	8.3
Enterococcus faecalis	2	8.3
Staphylococcus capitis	1	4.2
Staphilococcus haemolyticus	1	4.2
Staphilococcus aureus	1	4.2
Staphylococcus lentus	1	4.2

tablo2

Tablo 2. Kültür ve/veya PCR ile etken mikroorganizma saptanan örneklere ait bulgular

Yaş-cinsiyet	Hücre Sayısı-tipi (%)	BOS/Kan Glukozu (mg/dL)	MTP (mal/L)	Gram Boyama	Kültür	PCR
15-E	380 % 79 PMNL	0.32	247	Bakteri görülmedi	*S. pneumoniae*	*S. pneumoniae*
21-K	350 % 100 PMNL	0.39	140	Bakteri görülmedi	*Kocuria kristina*	Negatif
14-E	Yoğun PMNL	0.33	219	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*H. influenzae*
28-E	350 % 86 PMNL	0.15	712	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*H. influenzae*
10-K	70 % 57 PMNL	0.51	223	Gr (+) kok	*E. faecalis*	Negatif
8-E	350 % 55 PMNL	0.32	241	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
10-K	180 % 100 PMNL	0.50	466.62	Bakteri görülmedi	*E. faecalis*	Negatif
46-K	Yoğun PMNL	0.02	177	Gr (+) diplokok	*S. pneumoniae*	*S. pneumoniae*
8-E	Normal	0.58	59	Bakteri görülmedi	*S. warneri*	Negatif
10-K	250 % 100 PMNL	0.40	223	Gr (-) kok	Üreme yok	*H. influenzae*
46-K	800 % 100 PMNL	0.39	111.11	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
21-E	620 % 68 PMNL	0.55	61	Bakteri görülmedi	*Corynebacterium spp.*	Negatif
10-K	200 %80 PMNL	0.45	136	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*H. influenzae*
54-E	510 % 100 PMNL	0.37	128.75	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
80-K	Normal	0.11	621.35	Bakteri görülmedi	*Micrococcus luteus*	Negatif
1,5-K	Yoğun PMNL	0.21	198	Bakteri görülmedi	*Corynebacterium spp.*	*S. pneumoniae*
22-K	Yoğun PMNL	0.35	174.74	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
6-E	Normal	0.57	7.21	Bakteri görülmedi	*S. epidermidis*	Negatif
10-K	Normal	0.53	32.79	Bakteri görülmedi	*S. capitis*	Negatif
3-E	550 % 100 PMNL	0.36	259.40	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
1 ay-E	25 % 80 PMNL	0.10	1446.1	Gr (-) basil	*E. coli*	Negatif
19-K	230 % 78 PMNL	0.59	99.27	Bakteri görülmedi	*S. haemolyticus*	Negatif
19-E	Yoğun PMNL	0.47	131.73	Bakteri görülmedi	*S. warneri*	*S. pneumoniae*
30-E	10.000 % 100 PMNL	0.11	200.36	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*S. pneumoniae*
15-E	Yoğun PMNL	0.37	283.82	Bakteri görülmedi	Üreme yok	*H. influenzae*
5-E	Normal	0.61	63.96	Bakteri görülmedi	*S. hominis*	Negatif
1-E	Normal	0.24	1213.7	Bakteri görülmedi	*Candida parapsilosis*	Negatif
1-E	Normal	0.37	617.88	Bakteri görülmedi	*S. epidermidis*	Negatif
2-E	Normal	0.57	50.23	Bakteri görülmedi	*S. epidermidis*	Negatif

P99- İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Harun Ağca
Kütahya Tavşanlı Doç. Dr. M. Kalemli Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Kütahya

Amaç
İdrar yolu infeksiyonları toplum kökenli ya da nozokomiyal infeksiyonlar içerisinde ilk sıralarda yer alır. Bu çalışmada idrar örneklerinden en sık izole edilen bakteriler ve bu bakterilerin duyarlılık oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Ocak 2010-Nisan 2011 tarihleri arasında gönderilen 1644 idrar örneği retrospektif olarak incelenmiştir. 105 CFU/ml ve üzerinde üreme saptanan 495 bakterinin antibiyotik duyarlılık oranları incelenmiştir. Antibiyotik duyarlılığı Müller-Hinton Agarda disk diffüzyon yöntemi ile CLSI kriterleri doğrultusunda değerlendirilmiştir.
Bulgular
İzole edilen bakteriler arasında ilk sırayı E. coli alırken (%52.1), bunu sırasıyla Pseudomonas aeruginosa (%10.9), Enterococcus spp.(%7.1), Staphylococcus aureus (%5.3) ve Acinetobacter baumanii (%4.8) takip etmiştir. Gram negatif enterik bakterilere karşı en etkili antibiyotiklerin amikasin ve imipenem olduğu, Pseudomonas aeruginosa'ya karşı en etkili antibiyotiklerin ise seftazidim ve amikasin olduğu tespit edilmiştir. Gram pozitif bakterilere karşı ise en etkili antibiyotik vankomisindir.
Sonuç
İdrar yolu infeksiyonlarına neden olan bakterilerin tanımlanmasının, antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesinin, merkezlerin antibiyotik kullanım politikalarının belirlenmesinde gerekli ve önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İdrar kültürü, antibiyotik duyarlılığı, E. coli

İdrar örneklerinden izole edilen bakterilerin servis ve polikliniklere göre dağılımları

Mikroorganizma	Servis		Poliklinik		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
E.coli	94	36.7	164	68.6	258	52.1
Pseudomonas aeruginosa	40	15.6	14	5.9	54	10.9
Enterococcus spp.	24	9.4	11	4.6	35	7.1
S. aureus	16	6.3	10	4.2	26	5.3
Acinetobacter baumanii	18	7.0	6	2.5	24	4.8
Klebsiella spp.	7	2.7	13	5.4	20	4.0
Enterobacter spp.	9	3.5	7	3	16	3.2
Diğerleri	48	18.8	14	5.9	62	12.6
Toplam	256	100	239	100	495	100

P100- BRUSELLOZDA SPESİFİK OLMAYAN LABORATUVAR TESTLERİNİN TANIDAKİ ÖNEMİ

Güliz Doğan Toklu[1], Arzu Etem Akağaç[2]
[1]*Uşak Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı, Uşak*
[2]*Uşak Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Uzmanı, Uşak*

Amaç
Bruselloz, *Brucella spp.*'nin neden olduğu, sistemik, zoonotik infeksiyoz bir hastalıktır. İnsanlarda infeksiyon oluşturan türleri *B.melitensis, B.abortus, B.suis, B.canis* olup, Türkiye'de en sık hastalık etkeni olan tür *B. melitensis'* tir.
Brusella infeksiyonları klinik olarak asemptomatik, akut veya kronik olarak seyreder. Relaps sık görülür. En sık rastlanan semptomlar, ateş, halsizlik, terleme, kas ağrısı, eklem ağrısı, kilo kaybı ve iştahsızlıktır.
Brusellanın spesifik laboratuvar tanısı kültür, serolojik testler ve moleküler testlerle konulmaktadır. Kültür koşullarının oluşturulması ve bakterinin üretilmesindeki zorluklardan ötürü, klinik laboratuvarlarda bruselloz tanısı genellikle serolojik testlere dayanarak konulmaktadır.Bruselloz tanısında spesifik olmayan laboratuvar testleri, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) yüksekliğidir. Ayrıca, anemi, lökopeni, lökositoz, trombositopeni, trombositoz şeklinde hematolojik bozukluklar da görülmektedir.
Brusella infeksiyonlarının kendine özgü ayırt edici klinik özelliği olmadığından, ateşle seyreden diğer hastalıklarla karışır. Bu çalışmada, brusellozlu hastalarda tanıya spesifik olmayan laboratuvar testlerinin brusella tanısındaki değerini saptamak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Uşak Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarina gelen örneklerden STA testi ve Coombslu STA testi çalışılan hasta örnekleri geriye dönük olarak tarandı. Değerlendirme sonucunda rastgele seçilen tüp aglütinasyon titresi >= 1/160 olan 62 hasta çalışmaya alındı. Hasta grubu belirlenirken STA testinin yanında, hasta örneğinde eş zamanlı olarak tam kan sayımı, ESH, CRP, ALT-AST ve ferritin testleri çalışılmış olan hastalar çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak rastgele seçilen STA testi sonucu negatif olan 62 hasta gruba alındı. Hasta ve kontrol grubunda ayrıca, yaş ve cinsiyet sorgulandı.
İstatistiksel analizler, SPSS 11.5 for Windows bilgisayar programında yapıldı. Veriler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi için lineer korelasyon testleri yapıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için gruplar arasındaki ortalama değerlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasındaki fark $p<0.05$ olduğunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular
Toplam 62 hastanın 26'sı (%42) kadın, 36'sı (%58) erkek; toplam 62 kontrol grubunun ise 46'sı (%74) kadın, 16'sı (%26) erkekti. Yaş ortalaması hastalarda 41.7 (yaş aralığı: 4-77 yıl), kontrol grubunda 39.2 (yaş aralığı: 7-66 yıl) yıl idi. Hasta grubunda olan 62 hastanın 54'ünde (%87.0) CRP yüksekliği, 44'ünde (%70.9) ESH yüksekliği, 22'sinde (%35.4) AST yüksekliği, 7'sinde (%11.2) ALT yüksekliği, 19'unda (%30.6) Ferritin yüksekliği, 8'inde (% 12.9) anemi, 6'sında (%9.6) lökositoz, 1'inde (%1.6) lökopeni, 3'ünde (% 4.8) trompositopeni saptandı. Kontrol grubunda olan 62 hastanın 7'sinde (%11.2) CRP yüksekliği, 10'unda (%16.1) ESH yüksekliği, 1'inde (%1.6) AST yüksekliği, 1'inde (%1.6) ALT yüksekliği, 6'sında (% 9.6) anemi, 4'ünde (%6.4) lökositoz, 3'ünde (%4.8) lökopeni, 3'ünde (% 4.8) trompositopeni saptanırken, ferritin düşüklüğü saptanmadı
Tablo 1'de Hasta ve kontrol grubunda brusella infeksiyonuna spesifik olmayan laboratuvar testlerinin en düşük, en yüksek, ortalama ve p değerleri gösterilmiştir.

Sonuç
Sonuç olarak, bruselloz tanısında, spesifik testlerin yanında, spesifik olmayan laboratuvar testleri içinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan CRP, ESH, ALT, AST ve ferritin yüksekliğinin tanıyı destekleyici testler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, tanı, laboratuvar testleri

Tablo 1:Hasta ve kontrol grubunda brusella infeksiyonuna spesifik olmayan laboratuvar testlerinin en düşük, en yüksek, ortalama değerleri ve p değerleri

	Hasta Grubu n=62	Hasta Grubu n=62	Hasta Grubu n=62	Kontrol Grubu n=62	Kontrol Grubu n=62	Kontrol Grubu n=62	P Değeri
	Ortalama±SD	En düşük	En yüksek	Ortalama±SD	En düşük	En yüksek	
CRP	29.0±27.7	3.4	127.0	4.2±2.6	3.4	21.3	0.000*
Sedimentasyon	29.5±17.7	5.0	78.0	11.2±7.8	1.0	40.0	0.000*

ALT	33.4±37.0	7.0	280.0	18.0±10.8	7.0	62.0	0.000*
AST	37.1±34.6	13.0	254	18.2±5.4	10.0	44.0	0.000*
Ferritin	192.5±186.1	4.2	1122.0	39.5±39.4	4.6	203.8	0.000*
Hemoglobin	13.5±1.4	10.1	17.2	13.7±1.4	10.1	17.2	0.555
Lökosit	8.5±7.0	3.8	53.0	6.8±1.8	3.2	13.5	0.153
Trombosit	243.7±80.7	107.0	495.0	245.6±63.2	82.0	416.0	0.422

P değeri<0.05 anlamlı kabul edildi.

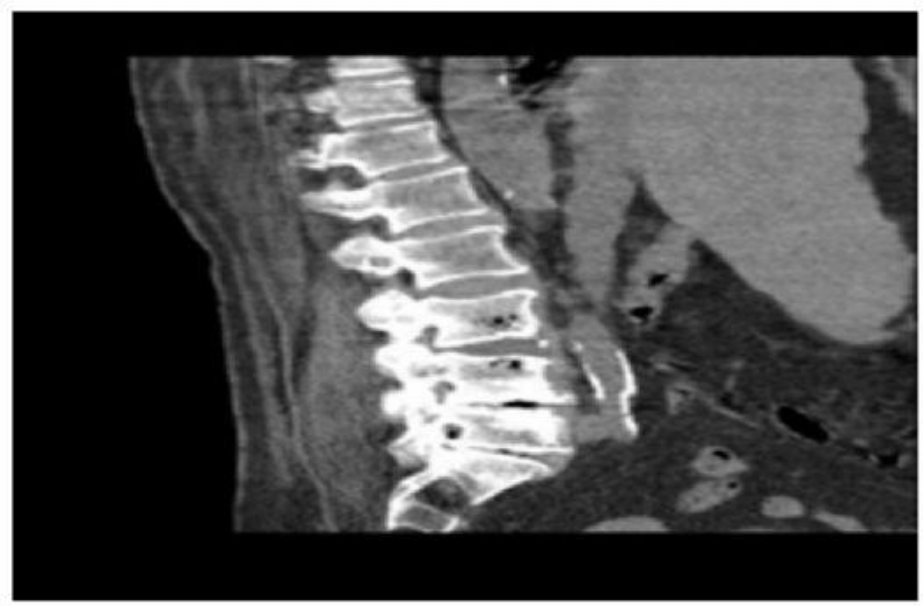
P101- SALMONELLA ENTERİTİDİS: ERİŞKİN HASTADA NADİR SPONDİLODİSKİT ETKENİ

Süleyman Durmaz[1], Suat Ali Doğan[2], İdris Kandemir[1], Duygu Perçin[1], Mustafa Altay Atalay[1], Ahmet Menkü[3], Bilgehan Aygen[2]
[1]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[3]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin, Sinir ve Omurilik Cerrahisi ABD, Kayseri*

Amaç
Salmonella enfeksiyonları tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Salmonella türleri enterokolitten sepsise kadar pek çok değişik enfeksiyona neden olabilir. Salmonella spondilodiskiti ise erişkin hastalarda nadir olarak görülür.Bu yazıda romatoid artrit nedeni ile iki yıldır kortikosteroid kullanan bir hastada *Salmonella enteritidis*'in etken olduğu lomber spondilodiskit olgusu sunulmuştur.
Vaka
Romatoid artrit (RA) tanısıyla iki yıldır prednisolon tedavisi kullanan hastanın son 2 aydır belinde olan ağrılarında artma olması nedeniyle acil polikliniğimize başvurdu. Hastanın gelişindeki laboratuar değerleri; Beyaz küre: 11.86 10^3/µL (4.8-10.8), Hemoglobin: 9.3 g/dL (12-16), Plt: 296 10^3/µL (130-400), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) 117mm/saat, C reaktif protein (CRP): 105mg/L idi. Vertabral hassasiyet olan hastanın bilgisayarlı tomografisinde (BT) L3-4, L4-5, L5-S1 düzeyinde intervertebral disk mesafelerinde azalma, vertebra endplatolarında sklerotik dejeneratif değişiklikler ve disk mesafelerinde vakum fenomenine ait gaz dansiteleri izlendi (şekil 1). Cerrahi operasyon ile hastanın L3-4 disk mesafesinden yeşil sarı renkte, kokusuz ampiyem boşaltıldı ve posterior enstrümanla stabilize edildi. Hastanın operasyon materyalinden gönderilen gram boyamasında bol lökosit az gram negatif basil görülmesi üzerine ampirik olarak ampisilin/sulbaktam tedavisi başlandı. Apse materyalinde *S. enteritidis* üremesi ve antibiyotik duyarlılık sonucuna göre siprofloksasin tedavisi başlandı. Klinik olarak belirgin düzelme görülen hastaya oral siprofloksasin tedavisine üç ay devam etmesi önerilerek taburcu edildi ve poliklinik takibi önerildi.
Sonuç
Salmonella spp. enfeksiyonları çok farklı klinik şekillerde karşımıza çıkabilmekte, immunsüprese bireylerde hayatı tehdit eden hastalıklara neden olabilmektedir. Kişisel ve çevresel hijyene özellikle immunsüprese hastalarda özen gösterilmelidir. Herhangi bir nedenle immunsüprese duruma gelen hastalarda komplike *Salmonella* spp. enfeksiyonları akla getirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: immünsüpresyon, *Salmonella enteritidis*, Spondilodiskit

Şekil 1: Lumbar vertebra MR görüntüsü



L3-4, L4-5, L5-S1 düzeyinde intervertebral disk mesafelerinde azalma, vertebra end platolarında sklerotik dejeneratif değişiklikler ve disk mesafelerinde vakum fenomenine ait gaz dansiteleri

P102- ÇOKLU DİRENÇLİ *CAPNOCYTOPHAGA OCHRACEA* İZOLE EDİLEN ODONTOJENİK REZİDÜEL KİST OLGUSU

Nursen Topcuoğlu, Selin Topuk, Güven Külekçi
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Mikrobiyoloji BD, İstanbul

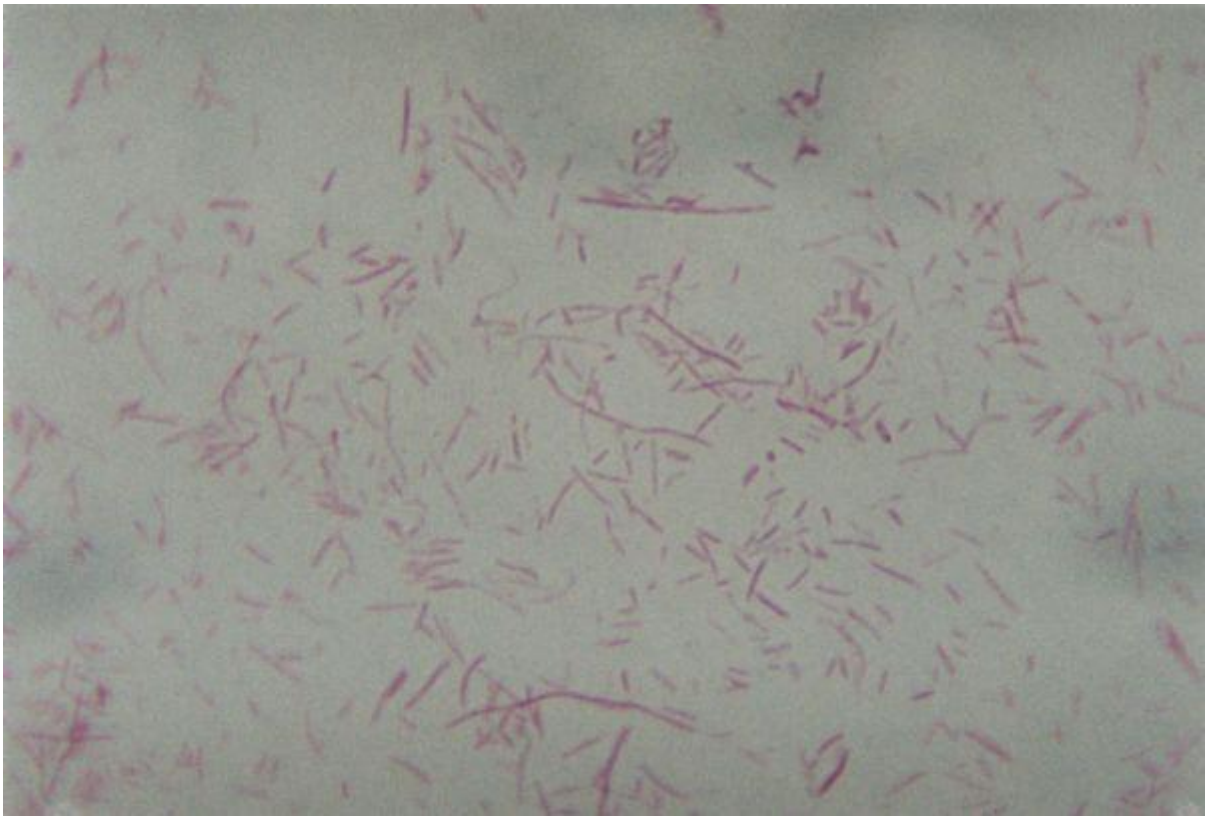
Amaç
Capnocytophaga türleri insan normal ağız mikroflorasında yer alan CO_2 gereksinimi olan, kayma hareketi nedeniyle ıslak yayılma gösteren koloniler oluşturan gram-negatif fusiform çomaklardır.*Capnocytophaga ochracea*, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde bakteremi, endokardit, peritonit ve beyin absesi gibi ciddi infeksiyonlara yol açabilen önemli bir potansiyel patojendir. Ağız içi kist sıvısından izole edilen *C. ochracea*'nın çoğul dirençli bulunması nedeniyle bu olgu bildirilmeye değer bulunmuştur.
Vaka
Üst çenesindeki şişlikle İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran, sistemik açıdan sağlıklı 56 yaşındaki kadın hastanın ağız içinden ponksiyonla alınan kist sıvısı örneği kantitatif anaerop bakteriyolojik kültür yöntemiyle incelenmiştir. CDC anaerop kanlı agar besiyerinde saf kültür halinde $8x10^8$ cfu/ml sayısında üreyen kolonilerden elde edilen izolatların ön tanısı koloni morfolojisi, gram boyama, negatif katalaz ve oksidaz reaksiyonlarına göre *Capnocytophaga* cinsi olarak; kesin tanısı API 20A ve API ZYM profillerine göre *C. ochracea* olarak belirlenmiştir. Agar disk difüzyon yöntemine göre yapılan antibiyotik duyarlılık testine göre izolat, ampisilin, sefuroksim sodyum ve meropeneme duyarlı; seftriakson, trimetoprim-sulfametoksazol, klindamisin ve kloramfenikole dirençli bulunmuştur.
Sonuç
Normal ağız mikroflorasında yer alan potansiyel patojenlerin etken olabileceği ağız içi ve ağız dışı infeksiyonların tedavisinde çoklu antibiyotik direnci göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Capnocytophaga ochracea*, odontojenik kist, çoklu direnç

Resim 1. C.ochracea suşunun CDC anaerop kanlı agardaki koloni görüntüsü



Resim 2. C.ochracea suşunun gram boyalı preperatının x100 büyütmede mikroskop görüntüsü



P103 - POSTMORTEM KÜLTÜR SONUÇLARININ RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Melek Demir, Nural Cevahir, Osman Acar, Ergun Mete, Çağrı Ergin, İlknur Kaleli
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Denizli

Amaç
Ölüm nedeni olarak enfeksiyon hastalıklarının patogenezinin anlaşılabilmesi için, öncelikle kan ve BOS örnekleri olmak üzere bakteriyolojik inceleme amacıyla postmortem çeşitli örnekler tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmektedir. Özellikle ani bebek ölümü sendromunda postmortem bakteriyolojik inceleme önerilmektedir. Bu çalışmada laboratuvarımıza postmortem gönderilmiş kültürlerin sonuçlarının retrospektif olarak incelenmesi amaçlanmıştır
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza farklı kliniklerden Ocak 2005- Ağustos 2011 tarihleri arasında gönderilmiş olan postmortem kültürler değerlendirmeye alındı. Kültür sonuçları retrospektif olarak laboratuvar kayıtlarından incelendi ve veriler SPSS bilgisayar programına girilerek analiz edildi.
Bulgular
Belirtilen tarihler arasında 94 olgudan bakteriyolojik inceleme amacıyla postmortem çeşitli klinik örnekler gönderilmiştir. Örnek gönderilmiş olguların 89'u çocuk/çocuk acil, 5'i diğer servislerdendi. Olguların 26'sından tek bir örnek gönderilmiş iken, 68 olgudan 2 ve daha fazla klinik örnek bakteriyolojik inceleme amacıyla gönderilmiştir. Örneklerin 60'ı kan, 58'i BOS, 48'i' idrar, 36'sı trakeal aspirat, ve 6'sı diğer klinik materyallerdi. 60 kan kültürünün 21'inde, 58 BOS kültürünün 6'sında, 48 idrar örneğinin 9'unda ve 36 trakeal aspirat örneğinin 29'unda üreme rapor edilmiştir. Postmortem üreme rapor edilmiş kültür örnekleri arasında trakeal aspirat ve kan örneklerinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Trakeal aspirat örneklerinde en fazla Candida türleri ve P.aeruginosa izole edilmiş iken, kan kültürlerinde KNS ve K.pneumoniae izole edilmiştir. Postmortem kültür sonuçları değerlendirilmiş olan 94 olgunun 78'nin ölüm öncesi en az bir klinik örnekten kültür isteminin olduğu saptanmıştır.
Sonuç
Postmortem bakteriyoloji, adli olgularda ölümün infeksiyondan kaynaklanıp kaynaklanmadığı konusunda bilgi vermesi bakımından önemlidir. Postmortem bakteriyolojik inceleme hastane kaynaklı nozokomiyal mikroorganizmalar ve hastane çevresinden kaynaklanan mikroorganizmaların varlığı konusunda bilgi vermesi bakımından da değerlidir.
Bu çalışmada postmortem kültür amacıyla en fazla kan ve BOS örneklerinin gönderilmiş olduğu, üreme rapor edilmiş örnekler arasında trakeal aspirat ve kan kültürlerinin ön planda olduğu saptanmıştır. Postmortem kan veya BOS örneklerinde bakteriyel pozitiflik nedenleri; gerçek pozitiflik, agonal yayılım, postmortem translokasyon veya kontaminasyona bağlı olabilmektedir. Bu nedenle laboratuvara incelenmek üzere gönderilmiş postmortem örnekler değerlendirilirken postmortem çevresel koşulların ve zamanın bakteriyel invazyonda rol alabileceği bilinmelidir. Postmortem kültür sonuçlarının tek başına yanıltıcı olabileceği, postmortem diğer inceleme bulgularının ve ölüm öncesi öykünün de önemli olduğu unutulmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Postmortem, bakteriyoloji, kültür

Tablo 1: Postmortem kültür için gönderilmiş klinik örneklerde üreme oranı

Üreme	Kan (n=60) n (%)	BOS (n=58)	İdrar (n=48)	Trakeal aspirat (n=36)	Diğer (n=6)
Var	21(35)	6 (10,3)	9 (18,7)	29 (80,5)	1(16,6)
Yok	39 (65)	52 (89,6)	39 (81,2)	7 (19,4)	5 (83,3)

Tablo 2: Postmortem örneklerden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı

	Kan	BOS	İdrar	Trakeal aspirat	Diğer
E.coli	2	1	2	1	-
K.pneumoniae	5	-	3	1	-
E.aerogenes	1	-	-	1	-
P.aeruginosa	3	-	-	4	-

A.baumannii	-	1	-	1	-
A.lwoffii	-	-	-	2	-
S.maltophilia	-	-	-	2	-
S.marcescens	-	-	-	1	-
KNS	5	1	-	1	-
S.aureus	-	-	-	2	-
E.faecium	1	-	1	-	-
C.albicans	1	-	1	4	-
Candida spp (albicans dışı)	1	1	2	2	1
Normal flora elamanları + Candida spp	-	-	-	2	-
E.coli+K.pneumoniae	-	1	-	-	-
A.lwoffii + Candida spp	-	-	-	1	-
P.aeruginosa+ K.pneumoniae	-	1	-	-	-
K.pneumoniae+Candida spp	-	-	-	1	-
E.aerogenes+Candida spp	1	-	-	-	-
P.aeruginosa+ K.pneumoniae+ E.coli	-	-	-	1	-
P.aeruginosa+S.aureus	1	-	-	-	-
Normal flora elamanları	-	-	-	2	-
Toplam	21	6	9	29	1

P104 - ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA SUŞLARININ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Burçak Cömert, İlknur Tuğba Çakıroğlu, Filiz Demirel Kaya, Kayhan Çağlar, Nedim Sultan
Gazi Üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Bu çalışmada hastanemizin çeşitli servislerinde yatmakta olan veya değişik polikliniklerine başvurmuş olan hastalardan laboratuvarımıza yollanan çeşitli klinik örneklerden izole edilen Stenotrophomonas maltophilia suşlarının antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gazi Hastanesi'nin farklı poliklinik ve yataklı servis hastalarından Ocak 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında Merkez Mikrobiyoloji Laboratuarı'na gönderilen klinik örnekler değerlendirilmiştir. Kan, yara yeri, plevral sıvı, endotrakeal aspirat, doku-biyopsi, idrar, kateter, ve balgam gibi çeşitli hasta örneklerinden yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonucu Stenotrophomonas maltophilia olduğu tespit edilen bakteri izolatları çalışmada kullanılmıştır.
Konvansiyonel yöntemlerle (Gram boyanma, koloni morfolojisi, oksidaz negatif, TSI agarda laktoz ve glukoz fermentasyonu negatif, nonfermenter) Stenotrophomonas maltophilia olduğu düşünülen izolatların kesin identifikasyonu API 20NE (Biomerieux, Fransa), Remel (Remel Inc, USA) ve/veya MicroScan Walkaway (Siemens, Almanya) gibi çeşitli otomatize/yarı otomatize bakteri identifikasyon sistemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Toplam 143 suşun 9'u polikliniklerden 134'ü (%93.7) ise hastanemizin çeşitli yataklı servislerinden gönderilen örneklerden izole edilmiştir. İzolatların 69'u (%48.2) 18 yaş ve altındaki hastalardan elde edimiştir. İzolatların %86'sını kan kültüründen elde edilen suşlar oluşturmaktadır.
Antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda suşların tamamı trimetoprim-sulfametoksazol'e ve levoflaksosine karşı duyarlı bulunmuştur. İzolatların 17'si (%11.8) seftazidime duyarlı bulunurken, izolatların %99'u meropeneme ve %100'ü de imipeneme dirençli olarak bulunmuştur.
Sonuç
Yaptığımız incelemede, çalışmada kullanılan suşların hiçbirinde, Stenotrophomonas maltophilia enfeksiyonlarının tedavisinde en uygun seçenekler olan trimethoprim–sülfametoksazol ve levofloksasine karşı direnç saptanmamıştır. Ancak, seftazidime karşı yüksek oranda direnç (%88.2) görüldüğü için, bu antibiyotik S.maltophilia enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Stenotrophomonas maltophilia, antibiyotik duyarlılığı, trimethoprim–sülfametoksazol, levofloksasin

Tablo 1. İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	Duyarlı Sayı	Duyarlı Yüzde(%)	Dirençli Sayı	Dirençli Yüzde(%)
TMP-SMZ	143	(100)	0	(0)
CAZ	17	(11.8)	126	(88.2)
LEV	143	(100)	0	(0)
IMP	0	(0)	143	(100)
MEM	1	(0.7)	142	(99.3)

TMP-SMZ: trimetoprim+sulfametoksazol, CAZ: seftazidim, LEV: levofloksasin, IMP: imipenem, MEM: meropenem.

P105- ACİNETOBACTER BAUMANNİİ'YE BAĞLI GELİŞEN NOZOKOMİYAL MENENJİT GELİŞEN OLGUSU

Nilgün Altın[1], Salih Cesur[1], Mehmet Kalan[2], Göknur Yapar Toros[1], Fatih Ayvalık[2], **Kamer Koldaş[3]**, İrfan Şencan[4]
[1]Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Ankara
[2]*Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği, Ankara*
[3]*Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[4]*Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*

Amaç
Nozokomiyal menenjitler; nöroşirüjik işlemlerden sonra, kafa travmasını, eksternal veya internal ventriküler kateterlerin yerleştirilmesini takiben gelişebilir. Menenjite neden olan mikroorganizmalar toplum kaynaklı menenjit etkenlerinden farklı olup, hastane ortamında bulunan stafilokoklar ve Gram negatif basiller menejite neden olabilir. Gram negatif basillerden Acinetobacter baumannii (A.baumannii) postnöroşirujik nozokomiyal menenjit etkenleri içerisinde sık bildirilmektedir.
Bu yazıda, A.baumannii'nin etken olduğu nozokomiyal menenjit olgusu ve tedavisi tartışıldı.
Vaka
Elli dört yaşında erkek hasta intraserberal hematom nedeniyle opere edilen hastada postoperatif 16.günde menenjit ön tanısıyla konsülte edildi. Fizik muayenede; ateş: 38 ◦C, bilinci kapalı, ense sertliği (+), Kernig ve Brudzinski değerlendirilemedi. BOS hücre sayımında 6000 hücre/ mm3 saptandı. Gram boyamasında Gram negatif kokobasiller rapor edildi. Menenjit tanısı ile hastaya ampirik olarak meropenem 3x2gr intravenöz (i.v.) ve vankomisin 2x1gr i.v. başlandı. BOS kültüründe üreyen etken VİTEK 2 otomatize sistemiyle Acinetobacter baumannii olarak tanımlandı. Bu suşun antibiyotik duyarlığı; sefaperazon-sulbaktama dirençli, piperacillin-tazobaktama dirençli, meropeneme dirençli, imipeneme dirençli, ampisilin- sulbaktama dirençli, amikasine dirençli, kolistin, tigesiklin ve tobramisine duyarlı olarak rapor edildi. Vankomisin tedavisi kesildi. Meropenem tedavisine kolistin 2x 150 mgr i.v. eklendi. BOS hücre sayısı 6000/mm3 den 360 /mm 3 'e düştü, ancak; tekrarlanan BOS kültüründe aynı suşun izole edilmesi üzerine tedaviye netilmisin 2x150 mg intratekal olarak eklendi. Beyin omurilik sıvısı bulgularında düzelme olan hasta tedavinin dördüncü gününde kardiyopulmoner arrest sonucu kaybedildi.
Sonuç
Acinetobacter baumannii'nin neden olduğu menenjitte ampirik tedavide karbapenemler tek başına veya aminoglikozitlerle kombine edilerek intravenöz, intratekal ve/veya intraventriküler yollarla kullanılabilir. Kültürden izole edilen suş karbepenemlere dirençli ise intravenöz ve /veya intratekal yolla kolistin, intratekal netilmisin de tedavide kullanılabilecek antibiyotiklerdir.
Sonuç olarak, çok ilaca dirençli A.baumannii'ye bağlı menenjitlerin mortalite oranı yüksek ve tedavi seçenekleri kısıtlı olduğundan, tedavide kombine intravenöz antibiyotik tedavisi yanı sıra intratekal netilmisin, kolistin gibi tedavi seçenekleri de akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Nozokomiyal menenjit, Acinetobacter baumannii, tedavi

P106- ANNE VE YENİDOĞAN *LİSTERİA MONOCYTOGENES* SEPSİS OLGUSU

Orhan Bedir[1], Uğur Keskin[2], Turan Tunç[3], Seyit Temel Ceyhan[2], Serhat Duyan[1], Ferhat Çekmez[3], Ahmet Celal Başustaoğlu[1]
[1]*Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Ankara*
[2]*Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara*
[3]*Gülhane Askeri Tıp Akademisi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Ankara*

Amaç
Doğada yaygın olarak bulunan *Listeria monocytogenes*, anne ve bebekte ciddi enfeksiyonlara yol açan gıda kaynaklı bir patojendir. Listeryoz hamilelerde genel popülasyona göre 20 kat daha sık görülen nadir bir enfeksiyondur. Tüm listerial enfeksiyonların yaklaşık dörte biri hamilelerde görülmektedir. Gebelikle ilişkili enfeksiyonlar, annede grip benzeri hafif belirtiler veya belirtisiz seyrederken fetusta ciddi hastalıklara ve ölümlere yol açabilir. Listeryoz tanısı atılmış fetal doku ya da ateşli gebelerden alınan kan ve doku örneklerinden kültür yapılmadığında kolayca gözden kaçırılabilir. Dışkı ve vajinal kültür, asemptomatik taşıyıcılık nedeniyle tanı için yardımcı değildir.
Vaka
İkinci çocuğuna 31 haftalık hamile hasta, üç gündür devam eden ateş ve vajinal akıntı şikayetiyle kliniğe başvurmuştur. Yapılan tetkik ve muayenesindede; 40.5°C derece ateş ve lökosit sayısı 26 000/mm3, makadi geliş, fetal disstres ve doğum eyleminin başlaması nedeniyle sezeryan ile doğum gerçekleştirilmiştir. Doğum sonrası üç gün daha ateşi devam eden hasta bu süre boyunca seftriakson ve metronidazol tedavisi almış, kültürde *L.monocytogenes* üremesi ile tedavi ampisilin ile değiştirilmiştir. Doğumda apgar skoru 1-5 dakikalarda 0-4 olan bebek, doğum odasında resüte edilip, yenidoğan yoğun bakım bölümüne sevk edilmiştir. Ampirik tedavi olarak ampisilin ve netilmisin başlanmıştır. Alınan kan kültürlerinden bakterinin üreme ve tanımlanması hastanın ölümünden sonra gerçekleşmiştir.
Yenidoğan ve anneye ait kan kültürleri (Bactec 9240) birer gün arayla pozitif sinyal verdi. Yapılan Gram boyamada gram pozitif basil görüldü. Yirmi dört saatlik inkübasyonu takiben yapılan değerlendirmede koyun kanlı agar besiyerinde yarı saydam, çok dar beta hemoliz (koloni kaldırıldığında daha net belli olan) yapmış, koloniler gözlendi. Bakteri katalaz pozitif, oksidaz negatif, hareketli, Gram boyamada gram pozitif basil olarak değerlendirilmesi ve hasta (yenidoğan) olması nedeniyle listeria ön değerlendirmesiyle otomatize tanımlama ve antibiyogram sistemine (Phoenix 100 ID/AST system) ve biyokimyasal ve üreme özelliklerini değerlendirmek için eskülin, CAMP, +4°C'de inkübasyon, %6.5 NaCl içeren besiyerine ekim yapıldı. Otomatize tanımlama sisteminde *Listeria monocytogenes/innocua* olarak tanımlanan, eskülin pozitif, CAMP pozitif, +4°C'de ve %6.5 NaCl'lü besiyerinde üreyen beta hemoliz yapmış bakteri Listeria monocytogenes olatrak tanımlandı
Sonuç
Hamilelerde listeria bakteriyemisini gösterecek spesifik klinik bulgu yoktur Bu yüzden hamilelerde üriner enfeksiyon veya farenjit gibi ateşi açıklayacak belirgin bir bulgu yoksa mutlaka kan kültürü alınmalıdır. Bu olgu ülkemizden bildirilen ulaşabildiğimiz kadarıyla ikinci yenidoğan *L.monocytogenes* olgusudur.

Anahtar Kelimeler: hamilelik, *Listeria monocytogenes*, sepsis, yenidoğan

P107- YOĞUN BAKIM HASTASINDA COMAMONAS TESTOSTERONİ ENFEKSİYONU

Sevinç Özden[1], Sümeyra Alkış Koçtürk[1], Selma Güler[2], Demet Kılınç[1]
[1]*Yenişehir Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kahramanmraş*
[2]*Yenişehir Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları, Kahramanmraş*

Amaç
Bin dokuz yüz seksen yedi yılına kadar Pseudomonas testosteroni olarak adlandırılan Comamonas testosteroni, ender bir enfeksiyon etkeni olmakla birlikte hayvansal kaynaklardan, yiyecek artıklarından, hastane donanımlarından, idrar ve balgam gibi insan örneklerinden izole edilmektedir. Bu olguda mikroorganizmanın patojenik potansiyelini göstermek amacıyla gelişen bir C. testosteroni enfeksiyonu bildirilmektedir.
Vaka
Öyküsünde yüksek tansiyon, diabetes mellitus ve demansı olan 71 yaşında erkek hasta yoğun bakımımıza yüksek ateş, bilinç kaybı ve solunum sıkıntısı nedeni ile kabul edildi. İdrar kültüründe 100.000CFU / ml ESBL pozitif İmipenem duyarlı, amikasin dirençli, siprofloksasin dirençli, trimetoprim- sulfamethoksazol dirençli Escherichia coli üredi. Kan kültüründe üreme saptanmadı. Hastanın yatışının 15. gününde ateşinin tekrar çıkması üzerine kan ve solunum yolu aspirat, idrar kültürü alındı. Kan ve idrar kültüründe üreme saptanmadı. Aspirat kültüründe Comamonas testosteroni üredi.Etken mikroorganizma piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, levofloksasin, amikasin, seftazidim, sefoperazon-sulbaktam, sefepim, imipenem, aztreonam, seftriaksona dirençli ve kolistine duyarlı idi. Hastanın antibiyoterapisi bu veriler dikkate alınarak düzenlendi. Yatışının 20. gününde hastada yapılan batın USG de ileus saptanması üzerine hasta yüksek riskle operasyona alındı. Ameliyattan 4 gün sonra hastada kardiyak arrest gelişti ve yapılan kardiyak resusitasyona rağmen hasta kaybedildi.
Sonuç
Comamonas testosteroni invaziv girişimlerin uygulandığı ve altta yatan hastalıkları nedeniyle immün yanıtı bozulmuş olan yoğun bakım hastalarında ender de olsa enfeksiyonlara yol açabilir.

Anahtar Kelimeler: Comamonas testosteroni, yoğun bakım enfeksiyonu, sepsis

P108 - ESKİŞEHİR'DE KLİNİK ÖRNEKLERDE VE SULARDA *LEGİONELLA* SPP. ARAŞTIRILMASI

Münire Pınarbaşlı[1], Yurdanur Akgün[2]
[1]*Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Yozgat*
[2]*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir*

Amaç
Legionellozis; asemptomatik enfeksiyondan hayatı tehdit eden ölümcül hastalıklara kadar değişen kliniği, özellikle hastanelerin su sistemlerinde kolonize olarak immündüşkün ve risk faktörleri bulunan duyarlı kişilerde enfeksiyona yol açması ve etken bakterilerin eradikasyonu ile enfeksiyonlarının önlenebildiği önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmada hastanelerdeki su sistemleri ile pnömoni tanısıyla izlenen hastalarda etken olarak *Legionella* araştırılması amaçlandı.
Gereç ve Yöntem
Eskişehir'de, çeşitli hastanelerdeki 100 musluktan toplam 200 su ve sürüntü örneği alınıp *Legionella* cinsi bakteri varlığı yönünden incelendi. Her örnekten, hem doğrudan hem de asitle muamele sonrasında olmak üzere toplam 400 örnek BCYE (Buffered Charcoal Yeast Extract) ve MWY (Modifiye-Wadosky-Yee) besiyerlerine ekildi. 48-72 saatlik inkübasyon sonrası, morfolojileri*Legionella* spp.'ye benzeyen koloniler saptanarak Gram boyama yapıldı. Şüpheli kolonilerden BCYE ve kanlı agara pasaj yapıldı. Kanlı agarda üremeyip, BCYE besiyerinde üreyen kolonilere *Legionella*lateks aglütinasyon testi uygulanarak serogrup tayini yapıldı Ayrıca pnömonili 50 hastada alt solunum yolu örneklerinin kültüründe *Legionella* aranırken, idrarlarında *L.pneumophila* antijeni ve serumlarında *L.pneumophila* total antikoru bakıldı.
Bulgular
Çalışmamızda 100 musluktan 23'üne (%23) ait 29 örnekte *Legionella* izole edildi. *Legionella* üretilen örneklerin 12'si su, 17'si sürüntü örneğiydi. İzolatların 23'ü *L.pneumophila* serogrup 2-14, 6'sı serogrup 1 idi. İzolatların 17'si immündüşkün hastaların bulunduğu ünitelerde üredi. *L.pneumophila* izole edilen 17 sürüntü örneğinin 12'sinde asitle muamele sonrası, 4'ünde asitle muamele öncesi ve sonrası, 1'inde ise asitle muamele yapılmadan direkt ekimde izolasyon sağlandı. *L.pneumophila* izole edilen 12 su örneğinin 6'sında asitle muamele edilmeden direkt ekimde, 3'ünde asit uygulanması sonrası, ve 3'ünde ise hem asitle muamele öncesi hem de sonrası izolasyon sağlandı. Hastalarımızın hiçbirisinde kültürde üreme olmadı. 50 hastadan 1'inde idrar antijeni pozitif iken, bu hasta dahil 5 (%10) hastada *L.pneumophila* serogrup 1-6'ya karşı seropozitiflik saptandı. *Legionella* antikor testi pozitif olan 5 hastanın 3'ünde KOAH ve 1'inde de kronik kalp hastalığı mevcuttu. Hastaların 2'sinde sigara kullanma öyküsü vardı.
Sonuç
Çalışmamızda su örneklerinde *Legionella* izolasyon oranı: %23 olarak bulunmuştur. Sürüntü örneklemesinin *Legionella* izolasyonunda su örneklemesine göre daha başarılı olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Su örneklerinde direkt ekim ile sürüntü örneklerinde ise asitle muamele sonrası *Legionella* daha fazla izole edilmiş ve anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). *L.pneumophila* serogrup 1 ile serogrup 2-14 izolasyonlarımız arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). *Legionella* enfeksiyonlarının tanısı için altın standart olan *Legionella* izolasyonunun zor ve zahmetli olduğu ve rutin laboratuvarlarda pozitif kültür yüzdesinin çok düşük olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda da pnömoni tanısı ile izlenen 50 hastanın hiçbirinde alt solunum yolu örneklerinin kültüründe *Legionella* üretilememiştir. İdrarında *L.pneumophila* antijeni varlığı gösterilen ve aynı zamanda serumunda total antikoru pozitif olan hastamızın; klinik özellikleri ve alt solunum örneğinin direkt mikroskopik inceleme bulgularının da uyumlu olması nedeniyle, Lejyoner Hastalığı olgusu olduğu kabul edilmiştir. *Legionella* antikor testi pozitif olan 5 hastada lejyonellozis için belirlenen risk faktörleri mevcuttu. Risk faktörlerinin varlığında pnömoni etiyolojisinde *Legionella* mutlaka araştırılmalıdır. *Legionella* tür ve serogruplarının dağılımına uygun, duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksek tanı testlerinin geliştirilmesine ve daha fazla araştırmaya gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Hastane, *Legionella*, pnömoni, su

Tablo 1. Su kaynaklı izole edilen Legionella türlerinin serogrup dağılımı

L.pneumophila (+) Örnek cinsi ve sayısı	*L.pneuomophila* serogrup 1 n (%)	*L.pneumophila* serogrup 2-14 n (%)
Su : 12	3 (25.0)	9 (75.0)
Sürüntü : 17	3 (17.6)	14 (82.4)
Toplam : 29	6 (20.7)	23 (79.3)

Tablo 2. Örneklerin asitle muamele işlemine göre Legionella üretilme durumları

Örnek cinsi	*Legionella pneumophila* izole edilen suş sayısı (n)			
	Direkt ekimle üreyen n (%)	Asitle muamele ile üreyen n(%)	Hem direkt ekim hem de asitle muamele ile üreyen n (%)	Toplam
Su n=100	6 (50.0)	3 (25.0)	3 (25.0)	12
Sürüntü n=100	1 (5.9)	12 (70.6)	4 (23.5)	17
Toplam	7 (24.1)	15 (51.8)	7 (24.1)	29

Tablo 3. L.pneumophila testlerinde pozitiflik saptanan hastaların test sonuçları ile risk faktörlerinin dağılımı

Hasta No	Kültür		İdrar antijen	*Legionella* total antikor	Risk faktörü
	Örnek	*L.pneumophila* üremesi			
1	Balgam	-	+	+	*KKH(+) İleri yaş
2	Balgam	-	-	+	**KOAH(+) Sigara(+) İleri yaş
3	Balgam	-	-	+	KOAH(+) Sigara(+) İleri yaş
4	Balgam	-	-	+	İleri yaş
5	Balgam	-	-	+	KOAH(+) İleri yaş

P109 - HASTANEMİZDE YAPILAN İDRAR KÜLTÜRLERİNDE TEKRAR ORANLARINI AZALTMAK AMACIYLA YAPILAN BİR İYİLEŞTİRME ÇALIŞMASI VE SONUÇLARI

Metin Sancaktar[1], Figen Bilgi[2], Fatih Niyazoğlu[2], Bedia Aydın[2], Saadet Bayram[2], Fatma Eren[2], Sibel Dinçel[2]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*

Amaç
Mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılan kültür tahlilleri arasında idrar kültürleri genellikle ilk sıraları almaktadır. Bu denli sık yapılmasına karşın uygun biçimde alınamayan idrar kültürleri zamanında sonuçlanamamakta ve flora bulaşı (kontaminasyon) nedeniyle tekrara yol açmaktadır. Oysa idrar örneğinin klasik yöntemlerle ekimi, tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılması kesin sonuç için en az 2 gün geçmesine gereksinim duyar. İdrar örneğinin uygun olmayan biçimde alınması sonrası tekrarlanması, sonucu ve dolayısıyla sağaltımı da geciktirir. Yanlış yorumlanmasıyla gereksiz sağaltım uygulanmasına da yol açar. Bu çalışmada Eylül 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen idrar kültürlerinin flora bulaşı nedeniyle tekrar oranlarının geriye dönük olarak taranması, uygun örnek alımı için yapmaya başladığımız iyileştirme çalışmasının tekrar oranlarına olan etkisinin bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Önceleri idrar kültürü verecek olan erişkin/çocuk hastalara yalnızca steril idrar kültür kabı verilerek sözel bilgilendirme yapılmaktaydı. 2008 yılı ortalarında, iyileştirme amacıyla idrar kültür örneği veren erişkin/çocuk ve bebek tüm hasta/yakınlarına uygun örnek için sözel bilgilendirmenin yanında görsel ve basılı bilgilendirme de yapılmaya başlanmıştır. Bu amaçla orta akım idrarı veren her erişkin/çocuk hastaya bilgilendirme kağıdının yanında dezenfektanlı mendil, steril gazlı bez ve steril idrar kültür kabından oluşan bir set verilmeye başlanmıştır. Bebek hastalar içinse bilgilendirme kağıdının yanında en az üçer kız/erkek naylon steril idrar torbası, dezenfektanlı mendil, steril gazlı bez ve steril idrar kültür kabından oluşan bir set verilmeye başlanmıştır. Ek olarak, bilgilendirme kağıtları hastane içerisinde servis ve polikliniklerde idrar örneğinin verildiği tuvaletlerde görünen yerlere asılmaya çalışılmıştır. Servis hemşireleri ve idrar kabul sekreterleri de uygun idrar örneği alımı konusunda basılı kitapçık ve işbaşı sözel eğitimlerle sık sık bilgilendirilmişlerdir.
Bulgular
Yalnızca sözel bilgilendirmeyle yetinilen dönemde flora bulaşına bağlı tekrar oranları, iyileştirme amacıyla bilgilendirmenin yapıldığı dönemdeki tekrar oranlarından yüksek bulunmuştur. Israrla iyileştirmenin sürdürülmesi yanında hastanemiz çocuk hastalıkları uzmanları ve servislerinin 2009 yılı sonlarında hastanemizden ayrılmasıyla tekrar oranları beklediğimizden daha da düşük çıkmıştır. Yalnızca sözlü olarak yapılan bilgilendirmenin anımsanması ve uygun örnek verilme oranı, sözlüye ek olarak görsel ve basılı bilgilendirme yapılanlara göre düşük bulunmuştur. Buna bağlı olarak bu örneklerde flora bulaşına ilişkin tekrar oranları ve yeniden ekim yapılacağından dolayı örneğin sonuçlanma süreleri yüksektir. İkili özel görüşmelerde, kadın hastaların uygun örnek vermek için temizlik yapmaya uyum oranlarının erkeklerden daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Özellikle steril naylon torbalara idrar kültür örneği alınan bebeklere uygulanan art arda temizlik ve bekleme sürelerinin, tekrar oranlarını azaltmada etkili olduğu söylenebilir.
Sonuç
Yalnızca idrar kültürü için değil; özellik gösteren bütün tahlillerde, sözlüye ek olarak görsel ve basılı bilgilendirme yapılması; örneğin uygun alınmasını, hızlı ve doğru sonucu, gereken ölçüde sağaltımı sağlar. Kültür örneklerine flora bulaşının engellenmesi bilinçli antibiyotik kullanımın sağlarken, gereksiz antibiyotik kullanımını da önemli ölçüde azaltır. Bu bilimsel yaklaşım, pek çok gereksiz yan etkiden hastayı korurken, sağaltım giderini de önemli ölçüde düşürecektir.

Anahtar Kelimeler: İdrar kültürü, kültür tekrarı, tekrar oranının azaltılması, iyileştirme, tahlil bilgi kağıdı

Resim 1. İdrar kültürü alımı için erişkin/çocuk ve bebek hastalara verilen bilgilendirme kağıtları.



Çizelge 1.Yıllara göre idrar kültürlerinde flora bulaşına bağlı tekrar oranları.

Yıllar	Çalışılan İdrar Kültürü Sayısı	Tekrarlanan İdrar Kültürü Sayısı	Tekrar Oranı (%)
2007	827	71	8.6
2008	2.690	113	4.2
2009	3.041	37	1.2
2010	2.329	18	0.8
2011	1.592	5	0.3
Toplam	10.479	244	2.3

P110 - KARDİYOVASKÜLER CERRAHİ YOĞUN BAKIM SERVİSİNDE YATAN HASTALARDA CLOSTRİDİUM DİFFİCİLE TOKSİN A/B ARAŞTIRILMASI

Günay Göker[1], Canan Tülay Işık Önaldı[2], Korhan Erhanlı[2], Ufuk Topuz[2], İhsan Bakır[2]
[1]*İstanbul Mehmet Akif Ersoy Göğüs Kalp Ve Damar Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuarı, İstanbul*
[2]*İstanbul Mehmet Akif Ersoy Göğüs Kalp Ve Damar Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Kardiyovasküler Cerrahi Bölümü, İstanbul*

Amaç
Hastanemiz koşullarında, antibiyotiğe bağlı psödomembranöz kolit ve hastane kaynaklı diyarenin en sık rastlanan etkenlerinden biri olan C.difficile'nin hızlı tanısı, yaygınlık, hasta bakım ve enfeksiyon kontrolündeki yerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
18 yaşından büyük, kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım servisinde yatmış, en az 2 günlük sefalosporin rutin profilaksi veya buna ek olarak son bir ayda başka antibiyotikler almış, ishal veya karın ağrısı olan hastalardan antibiyotik alımından sonraki herhangi bir gün, gastrointestinal şikayeti olmayan hastalardan yatışın en az 10. veya daha sonraki günlerde (asemptomatik hastalar düşünülerek), dışkı örnekleri alınmıştır. C.difficile toksin A ve B'ye karşı spesifik antikor içeren membran ELİSA prensibiyle çalışan Wampole TOX A/B QUIK CHEK (TECHLAB, USA) kitiyle örnekler incelenmiş, pozitif veya negatif olarak sonuçlandırılmıştır.
Bulgular
Kasım 2010- Eylül 2011 tarihleri arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuarında 100 hasta (38 kadın, 62 erkek) dışkı örneği incelenmiştir ve bunların ikisi (%2) pozitif bulunmuştur. C.difficile toksin A /B pozitif bulunan hastalardan biri kronik iskemik kalp hastası olup, koroner arter bypass grefti (CABG) ameliyatı yapılmış ve profilaksi amacıyla 48 saat sefazolin uygulanmış, 68 yaşında, batın şikâyeti olmayan, eşlik eden hastalıkları hipertansiyon ve peptik ülser olan, şifa ile taburcu edilen bir erkek hasta. Diğeri ise aort kalp replasmanı yapılmış, kronik iskemik kalp hastalığının yanında KOAH, hipertansiyon, diyabet tanısı olup, sefazolin dışında siprofloksasin, tazobaktam-piperasilin ve vankomisin kullanılmış, batın şikâyeti olmamış ve çoklu organ yetmezliği sonucu kaybedilmiş 88 yaşında bayan hastadır.
Tüm hastaların yaş, yapılan cerrahi girişim, eşlik eden hastalıklar ve kullanılmış antibiyotikler açısından dağılımları tablolarda(1,2,3,4) gösterilmiştir.
Sonuç
Clostridium difficile toksin A ve/veya B pozitifliği en az üç risk faktörü (altta yatan kalp hastalığı, yoğun bakım servisine yatış, sefalosporin kullanımı) olan rastgele seçilmiş 100 hastada %2 ve asemptomatik olduğu belirlenmiştir. Hastanemiz koşullarında rasyonel antibiyotik kullanımı, yoğun bakım servisinde kalım sürelerinin kısaltılması konularında harcanan çabaların yanında, özellikle batın şikâyeti olan hastalarda dışkıda C.difficile toksin belirleyen testler hızlı ve basit bir tanı yöntemi olarak akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Clostridium difficile, Toksin A/B, Kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım

Tablo 1. Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş aralığı	20-30	31-40	41-50	51-60	61-70*	71-80*	81-90*	Toplam (n=%)
Kadın	1	0	4	16	7	8	2	38
Erkek	1	3	7	14	25	10	2	62
Toplam (n=%)	2	3	11	30	32	18	4	100

**Literatüre göre risk faktörü*

Tablo 2. Operatif girişime göre hasta dağılımı

Cerrahi girişim	Kadın (n=%)	Erkek (n=%)	Toplam (n=%)
Koroner arter bypass (CABG)	25	46	71
Valf onarım /replasmanı	11	10	21
Diğer (Atrioseptal defekt onarımı, aortofemoral bypass vs)	2	6	8

Tablo 3. Kalp hastalığına eşlik eden diğer hastalıklar

Eşlik eden hastalık	Kadın (n=%)	Erkek (n=%)	Toplam (n=%)
Esansiyel hipertansiyon	19	23	42
Diabet	23	15	38
Solunum yolları enfeksyonu	12	19	31
KOAH *	8	13	21
Lipoprotein bozukluğu	7	13	20
Böbrek yetmezliği	10	2	12
Serebrovasküler hastalık	6	5	11
İdrar yolu enfeksyonu	6	2	8
Peptik ulcus*	3	3	6
Karsinom veya başka sebepten immünyetmezlik*	4	-	4

**Literatüre göre risk faktörü*

Tablo 4. Hastalara uygulanmış antibiyotikler

Antibiyotik	Sefazolin	Ampisilin/sulbaktam	Tazobaktam/piperasilin	Seftriakson	Vankomisin	İmipenem	Teikoplanin	Sulbaktam/sefoperazon	Siprofloksasin	Seftazidim	Rifampin	Ampisilin	Gentamisin	Meropenem	Seftriaksim	Amikasin	Kolistin	Moksifloksasin	Linezolid	Sefepim	Levofloksasin
Kullanıldığı hastalar (n=%)	100	30	16	14	13	12	12	11	9	5	5	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1

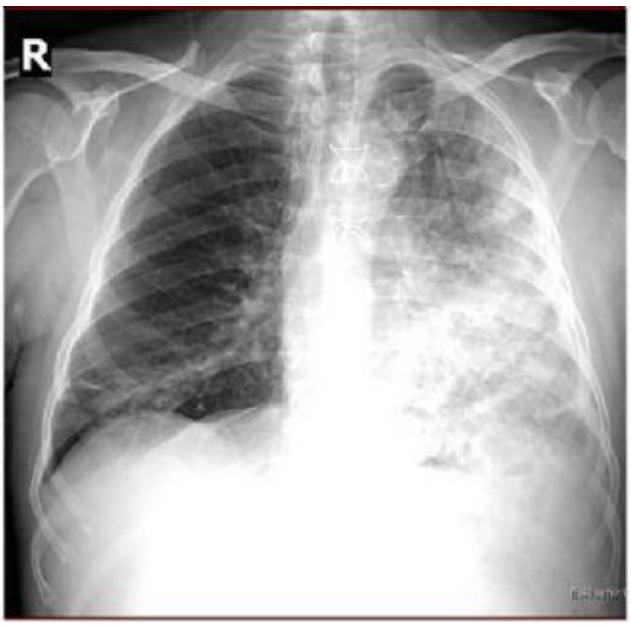
P111-HİPONATREMİ İLE SEYREDEN *LEGİONELLA* OLGUSU

Münire Pınarbaşlı[1], Yurdanur Akgün[2], İrfan Uçgun[3]
[1]*Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Yozgat*
[2]*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir*
[3]*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Eskişehir*

Amaç
Legionella, doğada yaygın, kontamine sularla insana bulaşan, nozokomiyal pnömoni olgularının %1-40'ında etken olup,toplum kökenli pnömonilerin de en sık dört etkeninden biridir. Su sistemlerinde kolonize olan bakteri immündüşkünlerde, risk faktörleri ve altta yatan hastalıkları bulunan kişilerde enfeksiyona yol açar. Sigara içiciliği, alkolizm, ilerlemiş yaş, erkek cinsiyet, kardiyak ve akciğer hastalığı öyküsü ve immündüşkünlük Lejyoner hastalığına hazırlayıcı faktörlerdir. Burada 72 yaşında, kronik kalp hastalığı olan bir *Legionella* pnömonisi olgusu bildirilmiştir.
Vaka
72 yaşında erkek hasta, 7 gündür devam eden yüksek ateş (39-40 ºC), dispne, kuru öksürük ve halsizlik şikayetleriyle acil servise başvurdu. Hastanın 4 gün sefazolin 2x1g/gün tedavisi aldığı, şikayetleri gerilemeyince hastanemize başvurduğu öğrenildi. Özgeçmişinde, bir yıl önce akut myokart infarktüsü ve ardından koroner bypass operasyonu geçirdiği öğrenildi. Sigara ve alkol kullanma öyküsü yoktu. Fizik muayenesinde; ateş 39.2ºC, nabız 120 atım/dk, solunum sayısı 24/dk, kan basıncı 140/90 mmHg bulundu. Akciğer sol alt lobda nadir raller, yaygın inspiratuvar ve ekspiratuvar ronküs saptandı. Kan gazı sonuçları; pH 7.48, PaCO2 44.9 mmHg, PaO2 31mmHg, SaO2% 63.5 idi. Laboratuvar sonuçları; sedimantasyon hızı 86, CRP 138 mg/L, BK 13.700/mm3, AST 55 U/L, LDH 1307 U/L, Na 129 mmol/L, P 2.46 mg/dL idi. Akciğer grafisinde sol orta ve alt lobda konsolidasyonlar vardı. Balgamda ARB negatif idi ve Gram boyamada az miktarda, soluk boyanan gram negatif basil görüldü. Rutin balgam kültüründe patojen bakteri üremedi. Balgamın BCYE besiyerinde yapılan kültüründe üreme olmadı. Kan ve idrar kültürlerinde de üreme olmadı. Toplum kökenli pnömoni tanısı ile ampirik tedaviye başlandı. Hastaneye yatışından 24 saat sonra ateşi düştü, 9. günde semptomları geriledi ve taburcu edildi. Üç hafta sonraki kontrolde öksürük ve halsizliği devam etmekteydi. Akciğer grafisinde regresif heterojen dansite artışı görüldü. Hastaneye yatışının 2. gününde alınan idrarında *Legionella* antijeni (EIA) pozitif bulundu ve yine aynı gün alınan serumunda *Legionella*serogroup 1-6'ya karşı total antikor pozitif idi. Hasta doğrulanmış *Legionella* pnömonisi olgusu kabul edildi. (İdrar Ag testi ile serumda özgül Ab testi, kitin geç temini nedeniyle ancak bir ay sonra çalışıldı.)
Sonuç: *Legionella* spp. toplum kökenli ciddi pnömoninin en sık etkeninden biridir. Ateş, kuru öksürük, myalji, dispne ve diyare gibi spesifik olmayan bulgularla seyreder. Ancak hiponatremi, karaciğer fonksiyon testleri bozukluğu, beta-laktam antibiyotiklere cevapsızlık ve yoğun bakımı gerektirecek ağır pnömoni olgularında *Legionella* pnömonisi mutlaka düşünülmelidir. Bizim olgumuzda da alt lob pnömonisine ilaveten hiponatremi ve hipofosfateminin varlığı, karaciğer enzim yüksekliği ve sefalosporin tedavisine cevap alınamaması dikkat çekicidir. Ayrıca olgumuzda *Legionella* için risk faktörleri de (kronik kalp hastalığı, erkek cinsiyet, ilerlemiş yaş) mevcuttu. *Legionella* spp. tanısında kültür pozitifliği oranı çok düşüktür. İdrar antijen testleri *L. pneumophila* serogrup 1'in etken olduğu durumlarda tanıda önemli iken, diğer tür ve serogrupların tanısında değeri sınırlıdır. Bizim olgumuzda *Legionella* pnömonisi tanısı, idrar antijen testi ve serumda özgül antikor varlığı ile doğrulanmıştır.

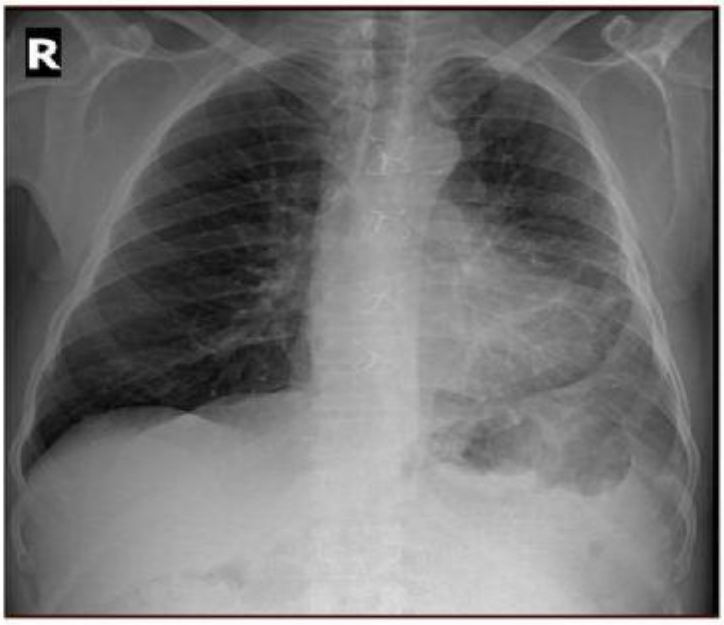
Anahtar Kelimeler: hiponatremi, *Legionella*, pnömoni

Figür 1



Acil serviste çekilen akciğer grafisinde sol orta ve alt lobda görülen konsolidasyon alanı

Figür 2



Kontrol akciğer grafisinde görülen regresif heterojen dansite artışı

P112- NKÜ ARAŞTIRMA VE UYGULAMA HASTANESİ'NE BAŞVURAN ÇOCUKLARDA İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN ETKENLER VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ ORANLARI

Hayati Güneş[1], M. Metin Donma[2], Burçin Nalbantoğlu[2], **Mine Aydın[1]**, A. Demet Kaya[1]
[1]*Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Tekirdağ*
[2]*Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Tekirdağ*

Amaç
İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) çocukluk çağında sık görülen enfeksiyonlardan olup, etken sıklıkla Escherichia coli'dir. Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımı ile beraber bakterilerdeki antibiyotik direnci ciddi bir sorun haline gelmiştir. Bölgesel antibiyotik direnç oranlarının bilinmesi ampirik tedavide yararlı olmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda bölgemizde çocukluk yaş grubundaki hastalarda idrar kültürlerinde üreyen bakteriler ve antibiyotik direnç oranlarının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Namık Kemal Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran ve idrar yolu enfeksiyonu belirtileri gösteren çocukluk yaş grubundaki hastaların idrar örnekleri kanlı ve EMB besiyerlerine ekildi. İzolatlar konvansiyonel ve/veya yarım otomatik testlerle tanımlandı ve CLSI'nin önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik direnç oranları belirlendi.
Bulgular
03.02.2010 ile 15.08.2011 tarihleri arasında gönderilen toplam 609 idrar örneğinin 72(%11.8)'sinde üreme oldu. Üreyen bakteri sayı ve oranları: Escherichia coli:45(%62,5), Citrobacter spp:7(%9,7), Proteus spp:6(%8,4) Staphylococcus spp: 5 (%6,9), Enterococcus spp: 5(%6,9), Klebsiella spp 2(%2.8), Pseudomonas aeruginosa 1(%1.4) ve Enterobacter spp.1(%1.4)'dir.
İzole edilen Gram negatif bakterilerde en yüksek direnç oranları sırasıyla ampisilin (%66,1), ampisilin/sulbaktam (%50), trimetoprim- sulfametoksazol(%48,4) ve en düşük direnç oranları ise sırasıyla imipenem(%0), amikasin (%8) ve gentamisin (%24,2) olarak bulundu. Gram pozitif izolatlardan, stafilokoklarda eritromisin ve gentamisine %40, enterokoklarda ise penisiline %100, eritromisine %80, ampisiline %40, vankomisine %25 oranlarında direnç saptandı. Bu bakterilerin kullanılan diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu belirlendi.
Sonuç
Çalışma sonuçlarımız, Gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda imipenem ve amikasin'in, Gram pozitif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda ise teikoplanin ve linezolid'in tedavide seçilebilecek ajanlar olduğunu ortaya koymaktadır. Direnç oranlarının sıklıkla oral kullanımı olan ve sık kullanılan antibiyotiklerde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Hastanelerin, bölgelerindeki antibiyotik direnç oranları konusunda bilgi sahibi olması ile ampirik antibiyotik kullanımında, uygun antibiyotik seçimi sağlanacak ve bu sayede ortaya çıkacak olan tedavi sorunları, mali yük ve antimikrobiyal direnç gelişimi gibi problemler engellenecektir.

Anahtar Kelimeler: antimikrobiyal direnç, çocukluk yaş grubu, idrar yolu enfeksiyonu

Tablo-1

Antibiyotikler	AK	AMC	AMP	SAM	CAZ	CRO	CXM	CN10	IPM	SXT
E. Coli (n:45)	3 (6,7)	15 (33,3)	26 (57,8)	22 (48,9)	16 (35,6)	12 (26,7)	18 (40)	11 (24,4)	0 (0)	25 (55,6)
Citrobacter (n:7)	0 (0)	2 (28,6)	7 (100)	2 (28,6)	3 (42,9)	1 (14,3)	2 (28,6)	2 (28,6)	0 (0)	5 (71,4)
Proteus (n:6)	2 (% 33,3)	2 (33,3)	4 (66,7)	4 (66,7)	1 (16,7)	0 (% 0)	5 (83,3)	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)
Diğer (n:4)	0 (% 0)	1 (25)	4 (100)	3 (75)	1 (25)	4 (100)	4 (100)	0 (% 0)	0 (0)	0 (0)
Toplam (n: 62)	5 (8)	20 (32,3)	41 (66,1)	31 (50)	21 (33,9)	17 (27,4)	29 (46,8)	15 (24,2)	0 (0)	30 (48,4)

AK: Amikasin, AMC: Amoksisilin/Klavulanat, AMP: Ampisilin, SAM: Ampisilin/Sulbaktam, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, CXM: Sefuroksim, CN10: Gentamisin, IPM: İmipenem, SXT: Trimetoprim/Sulfometoksazol

Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç oranları

P113- ZONGULDAK İLİNDEKİ *STREPTOCOCCUS PNEUMONİAE* KLİNİK İZOLATLARININ FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE EPİDEMİYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

E. Nur Sari[1], **Canan Kulah[1]**, Baris Otlu[2], Elif Aktas[1], Fusun Comert[1]
[1]*Zonguldak Karaelmas Universitesi Tip Fakultesi, Tibbi Mikrobiyoloji ABD, Zonguldak*
[2]*Inonu Universitesi Tip Fakultesi, Tibbi Mikrobiyoloji ABD, Malatya*

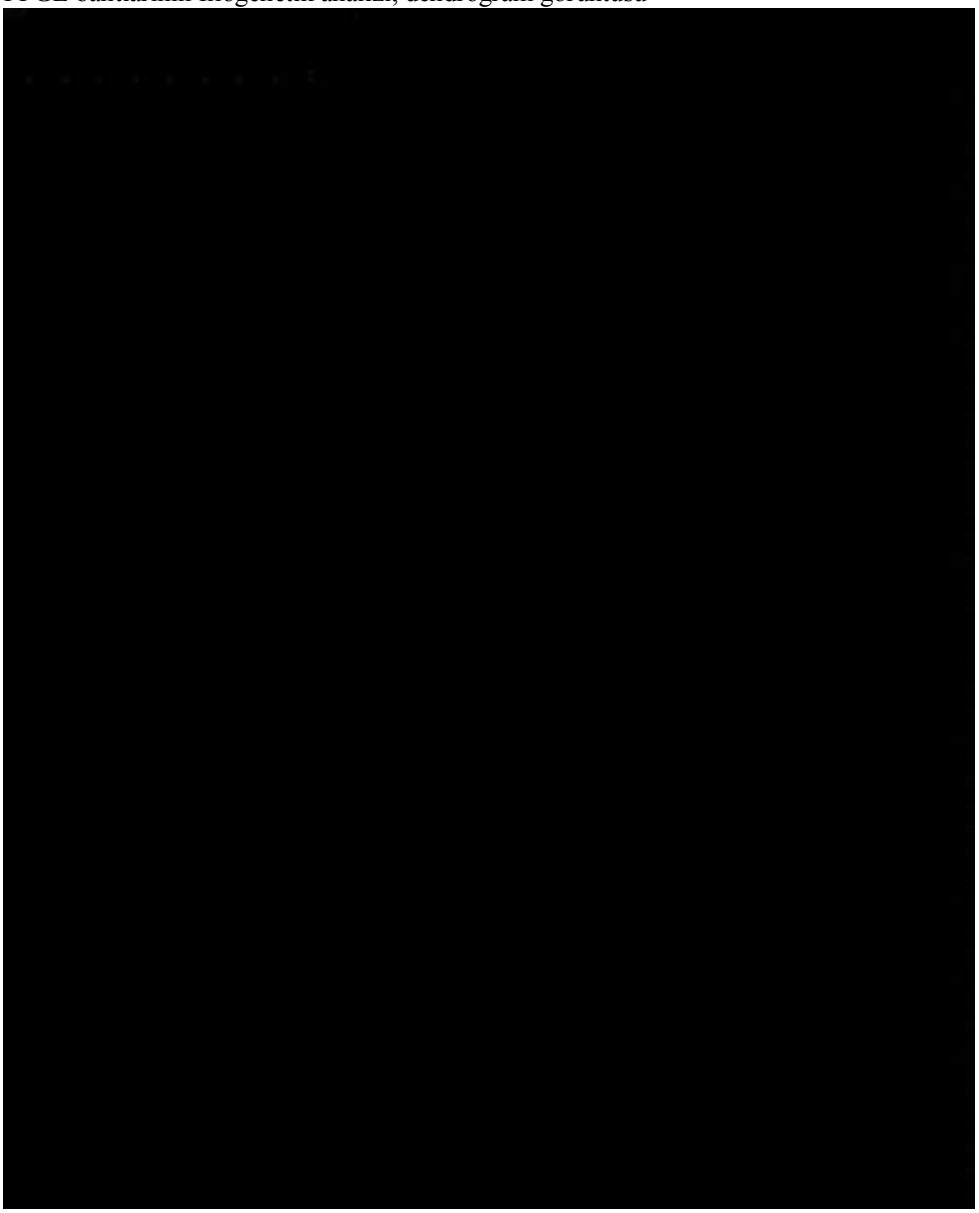
Amaç
Bu çalışmada bölgemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiş *Streptococcus pneumoniae* suşlarının moleküler epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla suşların antibiyotik duyarlılık profilleri, çoğul ilaç direnç durumu, serotipleri, genotipleri, ve bunlar arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Zonguldak ilindeki hastalardan 2005-2011 yılları arasında izole edilen 46 *S. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon (DD) yöntemi ile, düşük ve yüksek düzeyde penisilin direnci ise Penisilin G Etest kullanılarak MİK yöntemi ile belirlenmiştir. Serotipler, hızlı lateks aglutinasyon yöntemi ile çalışan Pneumotest –Latex (Statens Serum Institute, Danimarka) ticari kiti kullanılarak belirlenmiştir. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi için "Pulse Field" Jel Elekroforez (PFGE) yöntemi kullanılmıştır.
Bulgular
Dokuz (%19,5) suşta DD ile oksasiline direnç saptanmakla beraber, E-test yöntemiyle penisiline karşı sadece bir suşta (%2,1) düşük düzeyde direnç, iki suşta (%4,3) yüksek düzeyde direnc tespit edilmiştir. Antibiyotik direnç oranları, eritromisine %19,5, levofloksasine %2.1, moksifloksasine %2.1 trimetoprim/sülfametoksazole %23.9, tetrasikline %17.3 olarak belirlenmiş, vankomisin direnci tespit edilmemiştir. Suşlar 11 serotipe dağılmıştır. Sıklık sırasıyla serotip 19 (n=9), serotip 8 (n=7), serotip 6 (n=4), serotip 23 (n=3) ve serotip 18 (n=3); serotip 7 (n=3), serotip 20 (n=2), serotip 14 (n=2), serotip 1 (n=1), serotip 4(n=1), serotip15(n=1) bulunmuştur. Serotip 8 diğer çalışmalardan daha sık olarak saptanmıştır. Altı suşta (%13) çoğul direnç saptanmış, bunların serotipleri 19 (n=3), 23 (n=2) ve 14 (n=1) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda belirlenen serotipler hem 23 valanlı polisakkarit aşı hem de 7 valanlı aşı ile ilişkili bulunmuştur. PFGE dendrogram analiziyle 15 genotip ve 40 alttip bulunduğu saptanmıştır. İki genotipte kümeleşme olduğu gözlenmiştir. Çalışılan suşlar epidemiyolojik olarak birbirleri ile ilişkisiz olarak değerlendirilmiştir. Serotipler ve PFGE tipleri arasında bir ilişki kurulamamıştır.
Sonuç
Sonuç olarak calisilan *S. pneumoniae* suşlarında penisiline direnç oranları oldukça düşük bulunmustur. Eritromisin, TMP/SXT'den sonra en yüksek oranda direnç görülen antibiyotik olarak bulunmuştur. En sık rastlanan serotipler 19 ve 8 olmuştur. Aşıların kapsamında olmayan serotip saptanmamıştır. Cok sayıda genotip ve alttip belirlenmiş, suşlar arasında epidemiyolojik ilişki kurulamamıştır. Çalışma sonuçlarımızdaki bazı faklılıkların bölgesel ve çalışılan hasta populasyonu gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus pneumonia*, direnc, genotip, serotip, PFGE

Serotiplerin Klinik Örneklere göre Dağılımı

Serotip	Beyin omurilik sıvısı	Kan Kan	Bronkoalveolar lavaj sıvısı	Trakeal aspirat	Balgam	Kulak Örneği	Göz Sürüntü Örneği
19	1	2	1	1	3		1
8		2		2	3		
6					2	1	1
18				1	2		
23		2			1		
7		1		1	1		
20			1		1		
14		1			1		
1		1					
4		1					
15		1					
Tiplendirilemeyen		2	1	1	5		1

PFGE bantlarının filogenetik analizi, dendrogram görüntüsü



P114- *HELİCOBACTER PYLORİ* İLE BENİGN VE MALİGN BRONŞ PATOLOJİLERİNİN İLİŞKİSİ

Canan Kulah[1], Özlem Aydın[2], Figen Atalay[3], Işın Akyar[4], Elif Aktaş[1], Fusun Comert[1], Ümit İnce[2], Tanıl Kocagöz[4]
[1]*Zonguldak Karaelmas Universitesi Tip Fakultesi, Tibbi Mikrobiyoloji ABD, Zonguldak*
[2]*Acıbadem Patoloji Laboratuvarı, Istanbul*
[3]*Zonguldak Karaelmas Universitesi, Tip Fakultesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Zonguldak*
[4]*Acibadem Universitesi Tip Fakultesi, Tibbi Mikrobiyoloji ABD, Istanbul*

Amaç
Helicobacter pylori' nin gastrik adenokarsinoma ve MALT lenfoma gelişimindeki rolü bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar H. pylori'nin, solunum sisteminde de bulunabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte günümüze kadar alt solunum yollarında *H. pylori* kendisi ya da bileşenleri henüz gösterilmemiştir. Bu calışma ile bronşial kitlelerde *H. pylori* varlığının araştırılması ve aynı zamanda patolojinin benign ya da malign olması ile *H. pylori* varlığı arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.
Gereç-Yöntem
Bronşial kitle nedeni ile küretaj ya da punch biyopsi yapilan ve histopatolojik inceleme ile 15 benign ve 29'u malign patoloji olarak tanı alan toplam 44 hastanın doku örnekleri retrospektif olarak calismaya dahil edilmistir. Tek kullanımlık bıçaklar kullanılarak her parafin bloktan 5 µm kalınlığında en az iki kesit alınmistir. Xylene ve soğuk etanol kullanilarak deparafinizasyon gerceklestirilmistir. Nukleik asitler klasik fenol –kloroform/ alkol yöntemi ile saflaştırılmis, *H. pylor*i varlığı, Real-Time Polimerize Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile arastirilmistir. Real Time PZR, 23SrRNA gen bölgesini hedef alan primer ve problar ile ticari (Applied Biosystem) amplifikasyon karisimi kullanilarak ABI PRISM® 7700 cihazında gercekleştirilmistir. Hicbir ornekte pozitif sonuc elde edilemediginden, ayni orneklerden deparafinizasyon islemi sonrasinda QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) kullanilarak nukleik asit izolasyonu yapilmis ve iceriginde internal kontrol bulunduran multipleks PZR temelli bir ticari system (Seeplex ClaR-H.pylori ACE Detection, Seegene) ile *H.pylori* varligi birkez daha arastirilmistir.
Bulgular
Calisilan doku orneklerinde her iki molekuler yontem ile de *H.pylori* varligi saptanamamistir.
Sonuç
Bu calışma ile benign ya da malign bronşial kitlelerde *H. pylori* varlığı gosterilememistir. Bronsiyal patolojiler ile *H. pylori* varlığı arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi icin daha genis kapsamli arastirmalar gerektigi sonucuna varilmistir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, bronşial, solunum, PZR, Real-time PZR

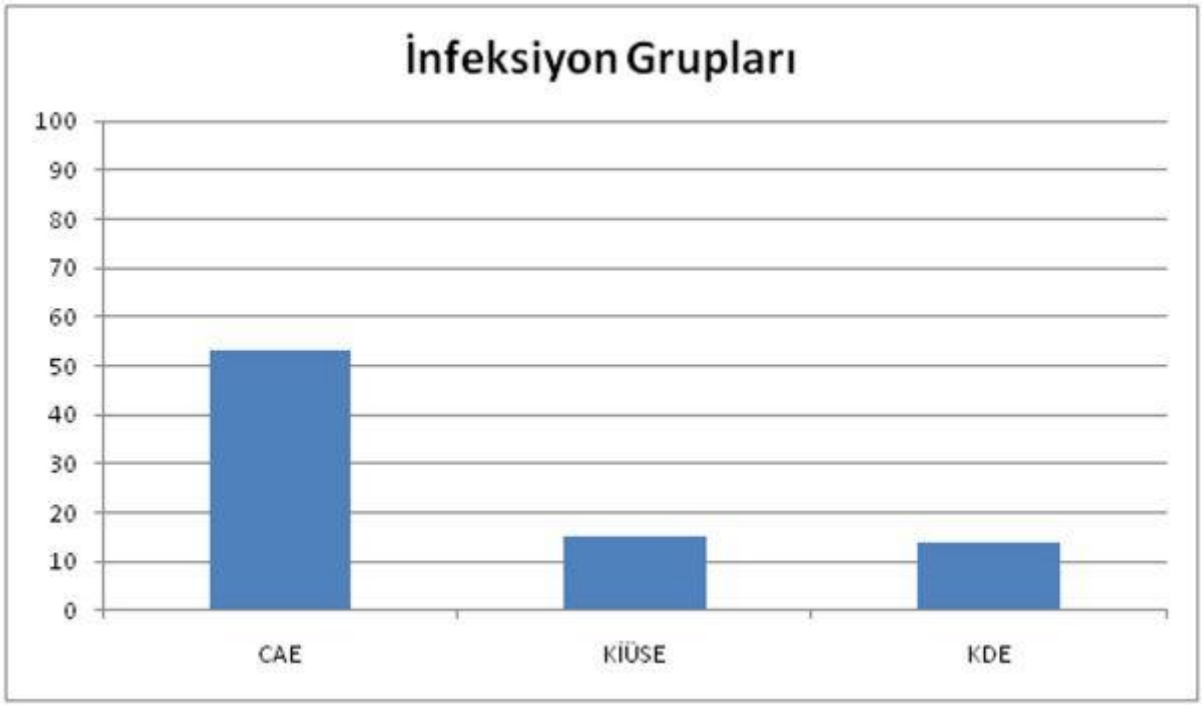
P115- ÜMRANİYE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ 2010 YILI HASTANE İNFEKSİYONLARI SURVEYANS SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Gül Karagöz, Ayten Kadanalı, Mehmet Fatih Bektaşoğlu, Ahmet Bülent Fetvacı, Serpil Aksu, Rüveyda Karacan, Sevda Babacan Altuğ, Behiye Dede
Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul

Amaç
Hastane infeksiyonları, tüm dünyada ve ülkemizde önemli mortalite ve morbidite nedenidir Düzenli olarak yapılan sürveyans çalışmaları ile infekte hastalar saptanmakta, infeksiyon sıklıkları ve infeksiyona neden olan faktörler belirlenmekte ve gerekli infeksiyon kontrol önlemleri alınabilmektedir. Çalışmamızda 350 yataklı hastanemizde 2010 yılında tespit edilen hastane infeksiyonları, üreyen mikroorganizmalar ve dirençleri değerlendirilmiştir.
Gereç ve Yöntem
Hastanermizde, hastane infeksiyonları klinik ve laboratuvara dayalı aktif surveyans yöntemi ile takip edilmiştir. Hastane infeksiyonları tanısı CDC kriterlerine göre konulmuştur. Etken mikroorganizmaların identifikasyonunda ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde otomatize sistem (Vitec-2/Biomerioux, Fransa) kullanılmıştır.
Bulgular
Hastanemizde 2010 yılında tedavi gören toplam hasta sayısı 22848 olup, 92736 hasta gününde takip edilmiştir. Bu süre içerisinde 94 hastane infeksiyonu saptanmıştır. Hastane infeksiyon dansitesi bin hasta gününde cerrahi branşlarda 0.88, dahili branşlarda 0.21, yoğun bakım ünitesinde 13.12, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde 1.83 olarak hesaplanmıştır. Hastane infeksiyon hızı en yüksek erişkin yoğun bakım ünitesinde olup % 8.55 olarak hesaplanmıştır. İnfeksiyon gruplarına göre ilk sırada cerrahi alan infeksiyonları %53, ikinci sırada kateter ilişkili üriner sistem infeksiyonları % 14.9 ve üçüncü sırada kan dolaşımı infeksiyonları % 13.8 görülmüştür (Şekil 1). Hastane infeksiyon etkenlerinden en çok gram pozitif bakteriler izole edilmiş olup S.aureus suşlarında metisilin direnci % 61, koagülaz-negatif stafilokoklarda (KNS) metisilin direnci % 83 olarak saptanmıştır. Gram negatif bakterilerden en çok Acinetobacter spp. izole edilmiş olup karbapenem direnci % 67 iken suşların hiçbirinde kolistine direnç saptanmamıştır.E. coli' de karbapenem direnci, Candida spp. lerde çalışılan antifungallere direnç saptanmamıştır.
Sonuç
Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2010 yılı surveyans verilerinin incelenmesi, cerrahi alan infeksiyonlarını azaltmada yeni stratejiler oluşturulmasına katkıda bulunacaktır. Ayrıca hastane infeksiyonlarını azaltmak için başta el yıkama olmak üzere infeksiyon kontrol önlemlerine uyumun artırılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: İnfeksiyon, Hastane, Surveyans

Şekil 1



Hastane infeksiyonlarının infeksiyon gruplarına göre dağılımı (CAE: Cerrahi alan infeksiyonları, KİÜSE: Katater ilişkili üriner sistem infeksiyonları, KDE: Kan dolaşımı infeksiyonları)

P116- DIŞKI ÖRNEKLERİNDEN ELDE EDİLEN SALMONELLA VE AEROMONAS TÜRLERİNİN KROMOJENİK BESİYERİ VE "MATRİX-ASSİSTED LASER DESORPTİON IONİZATİON- TİME OF FLİGHT MASS SPECTROMETRY"(MALDI-TOF) YÖNTEMİYLE BİRLİKTE HIZLI TANIMLANMALARI

Işın Akyar[1], Simge Can[2]
[1]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*

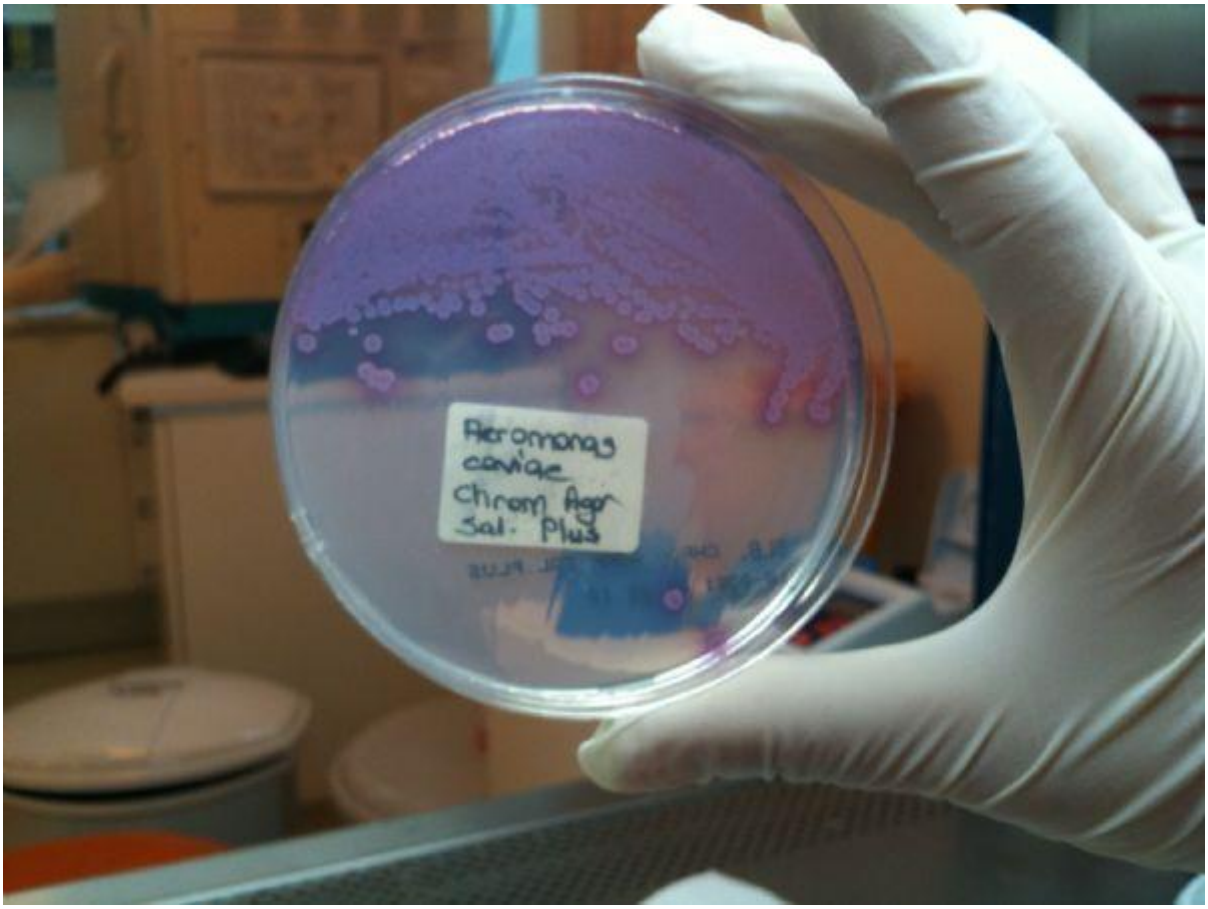
Amaç
Salmonella ve Aeromonas türlerinin tanımlanmaları rutin laboratuvar işlemleri sırasında zaman zaman uzun sürebilmektedir. MALDI TOF-MS (matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi – matrix assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry) mikroorganizmaların hızlı ve doğru olarak tanımlanmasını sağladığı için son yıllarda klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki kullanımı gittikçe yaygınlaşan bir yöntemdir.
Bu çalışmanın amacı, Salmonella ve Aeromonas türlerinin CHROMagar Salmonella plus kromojenik besiyeri ve "Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry"(MALDI-TOF) yönteminin birlikte kullanılarak kısa sürede ve güvenilir bir şekilde tanımlanmalarının değerlendirilmesidir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada "CHROMagar Salmonella plus"(CHROMagar, Paris, Fransa) kromojenik besiyeri ile birlikte bakteri tanımlamalarında kütle spektrometrisi yöntemine dayanan (MALDI-TOF MS yöntemi birlikte kullanılmıştır. Bu yöntemde örnek metal bir plak üzerine damlatılarak, üzerine bir matriks solüsyonu eklenerek havada kurutulmaktadır. Aygıt içine yerleştirilip lazer ışınları ile vuruşlar yapıldıktan sonra, matriks ışığı emerek ilgilenilen molekül(ör; DNA veya proteinler) haline dönüştürmektedir. Genellikle, tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluşmakta ve "Biotyper" ile mikroorganizma tür tanımlamaları yapılmaktadır. Kromojenik besiyerinde hem Salmonella hem de Aeromonas kolonileri besiyeri içerisinde pembe koloniler oluşturmaktadır. Bununla birlikte, Salmonella olduğu düşünülen ancak, Aeromonas saptanan örneklerde kolonilerin etrafında da pigment gelişimi olduğu ve besiyeri içerisine diffüz bir şekilde yayıldığı gözlenmiş ve bu veri tüm incelemelerde araştırılarak kromojenik besiyerinde Salmonella ve Aeromonas kolonileri makroskopik olarak değerlendirilmiştir. Şüpheli mikroorganizmaların tanımlanmaları için ayrıca Phoenix (Becton Dickinson, ABD) otomatize sistemi ile de çalışılarak karşılaştırma yapılmış gerektiğinde de biyokimyasal besiyerleri kullanılmıştır.
Bulgular
Çalışmamıza Ağustos 2007-Ağustos 2011 arasında kurumumuza başvuran 11186 hastanın dışkı örnekleri dahil edilmiştir. Bu örneklerden 347 Salmonella ve 58 Aeromonas türü saptanmıştır. Her iki mikroorganizma için otomatize sistemle MALDI-TOF MS sistemi tanımlamaları arasında tür düzeyinde bir farklılık saptanmazken alttür düzeyinde farklılıklara rastlanmıştır. Salmonella'larda alt tür tanımlamada MALDI-TOF ile antiserumlar kullanılarak yapılan tiplendirmeler arasında uyumlu bir sonuca rastlanmamıştır. Aeromonas alttürlerinde ise Phoenix otomatize sistemi ile MALDI-TOF MS yöntemleri birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermişlerdir. Bu şekilde 58 Aeromonas(21 A. caviae, 13 A. veronii, 13 A. hydrophila, 9 A. sobria and 2 A. salmonicida spp.) ve 347 Salmonella(190 S. enteriditis, 144 S. gallinarum/pullorum, 5 S. paratyphi B, 4 S. typhimurium, 2 S. paratyphi A, 1 S typhi and 1 S. paratyphi C) tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları Phoenix otomatize sistemi ile çalışılmıştır.
Sonuçlar
CHROMagar Salmonella Plus kromojenik besiyeri ile birlikte MALDI-TOF MS yönteminin birlikte kullanılarak Salmonella ve Aeromonas türlerinin tanımlanmasında pratik, maliyet-etkin ve hızlı sonuç verdiği gösterilmiştir. Bu şekilde en fazla 48 saat içerisinde antibiyotik duyarlılıkları ile birlikte doğru ve güvenilir sonuç verilebilmektedir. Salmonella'larda alt tür tanımlamasında antiserum kullanımı ile desteklenmesi daha uygun görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: MALDI TOF-MS, Salmonella, Aeromonas, enfeksiyon

Bruker Autoflex II Smartbeam

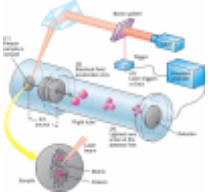


Figür1/ Aeromonas



Aeromonas caviae'nin Salmonella Chromagar plus besiyerinde görünümü

Maldi-tof MS



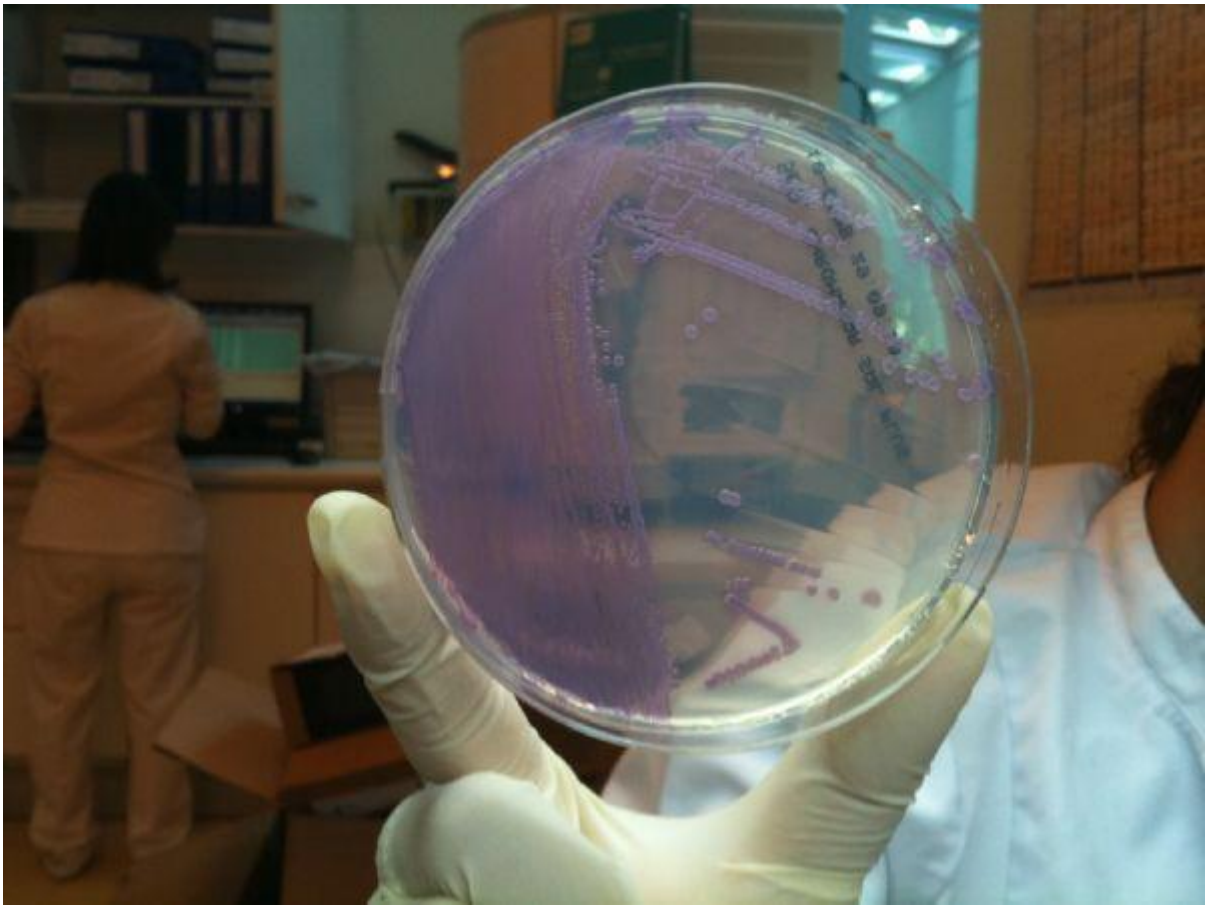
Maldi-tof MS çalışma prensibi

Tablo 1

Antibiyotik direnci (n/%)	A.caviae (n=21)	A.veronii (n=13)	A. hydrophilia (n=13)	A.sobria (n=9)	A.salmonicida (n=2)
Ampicillin	3/14.3	1/7.7	6/46.2	6/66.7	0
Cefazolin	12/57.1	8/61.5	7/53.8	9/100	0
Cefoxitin	12/57.1	3/23.0	4/30.8	9/100	0
Amikacin	0	0	1/7.7	0	0
Amoxicillin/Clavulinic acid	2/9.5	0	5/38.5	1/11.1	0
Ceftazidime	3/14.3	0	0	0	0
Ciprofloxacin	3/14.3	0	1/7.7	0	0
Ceftriaxone	1/4.8	0	1/7.7	0	0

Aeromonas türlerinin antibiyotik duyarlılıkları

Figür 2/Salmonella



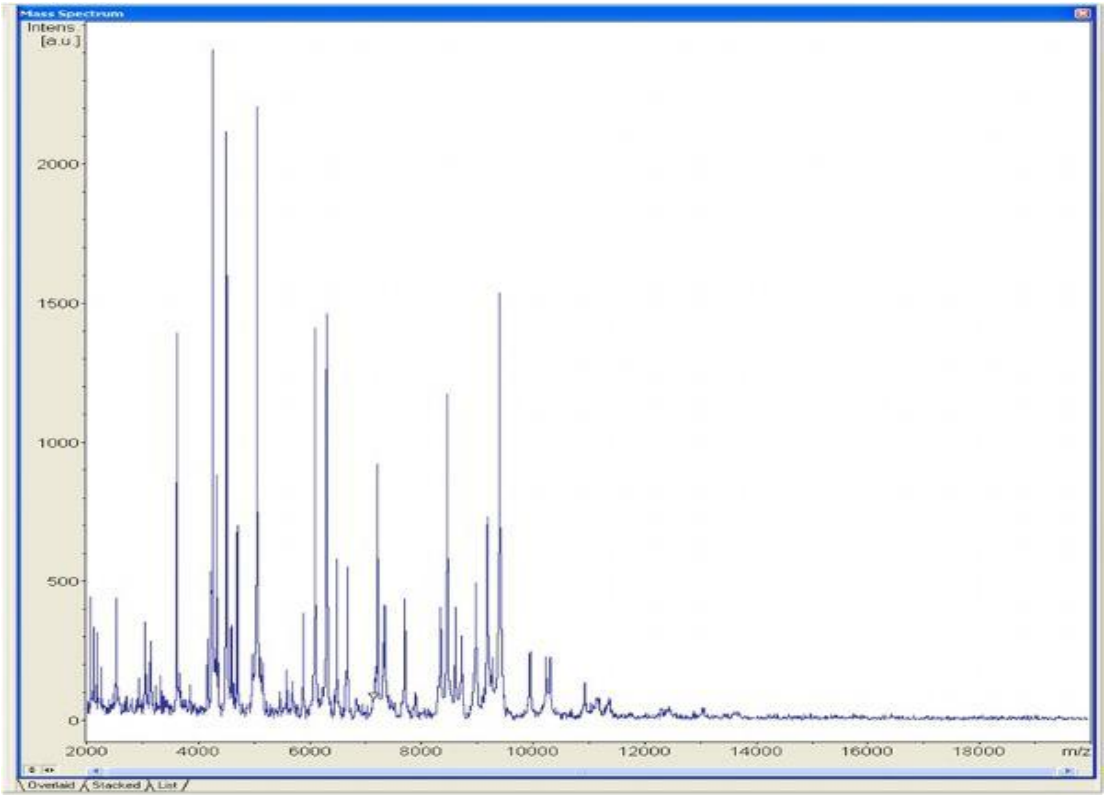
Salmonella'nın Salmonella Chromagar plus besiyerinde görünümü

Tablo 2

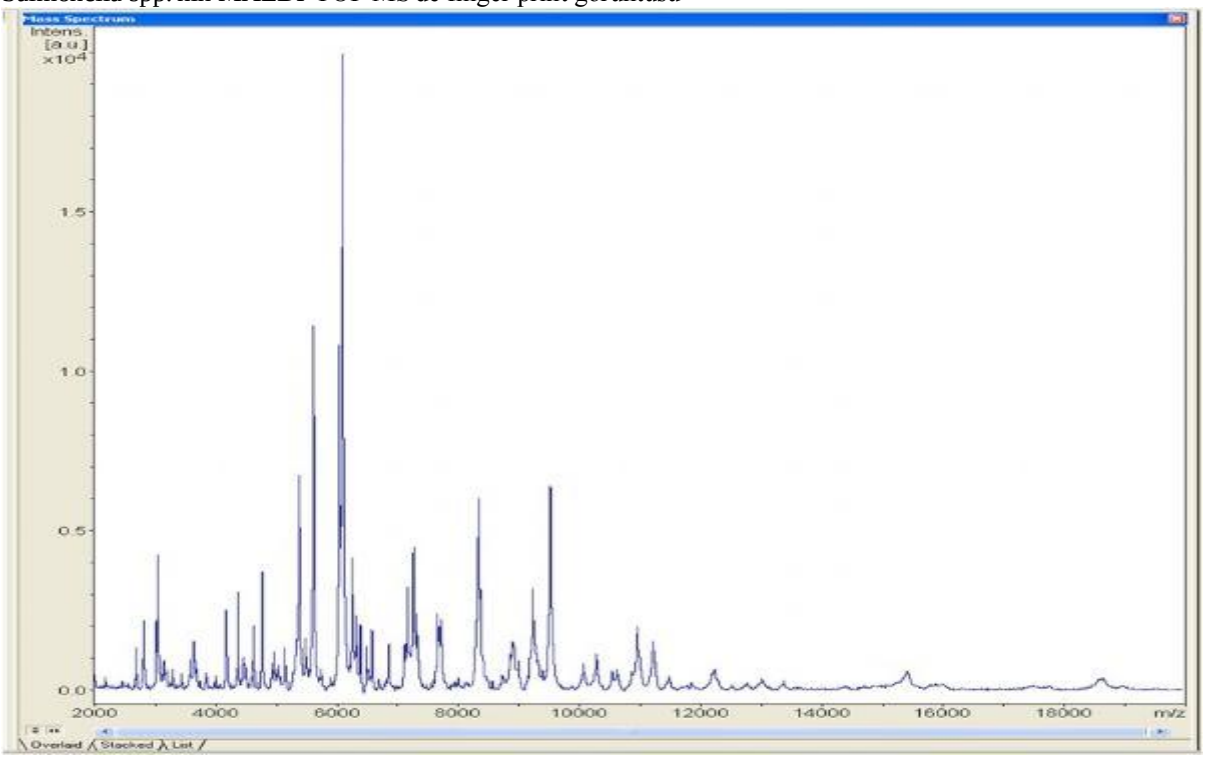
Antibiyotik direnci (n/%)	S.enteritidis (n=190)	S. gallinarum/pullorum (n=144)	S.paratyphi B (n=5)	S.typhimurium (n=4)	S.paratyphi A (n=2)	S typhi (n=1)	S.paratyphi C (n=1)
Ampicillin	28/14.8	19/13.2	0	0	0	0	1/100
Trimethoprim/sulfamet.	6/3.2	4/2.8	0	1/25.0	0	0	0
Ceftriaxone	5/2.7	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacin	6/3.2	4/2.8	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	8/4.2	2/1.4	0	0	0	0	1/100

Salmonella türlerinin antibiyotik duyarlılıkları

Aeromonas caviae'nin MALDI-TOF MS'de finger print görüntüsü



Salmonella spp.'nin MALDI-TOF MS'de finger print görüntüsü



P117- SİLİKON HİDROJEL KONTAKT LENS VE SIK DEĞİŞİMLİ YUMUŞAK KONTAKT LENS KULLANIMININ KONJONKTİVA FLORASI ÜZERİNE ETKİSİ

Zeynep Güngördü[1], Güzin İskeleli[2], Müzeyyen Mamal Torun[1], Penbe Çağatay[3], **Hrisi Bahar[1]**
[1]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İstanbul*
[2]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Oftalmoloji ABD,İstanbul*
[3]*İstanbul Üniversitesi,İstanbul Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilimleri ABD,İstanbul*

Amaç
Görme bozukluklarında en sık kullanılan kontakt lensler Yumuşak Kontakt Lenslerdir. Bu çalışmada, sık değişimli hidrojel ve silikon hidrojel kontakt lens kullanmaya hazırlanan hastalarda lens kullanmadan önce konjonktiva florasının belirlenmesi ve lenslerin kullanımıyla bu floradaki değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Temmuz 2010-Şubat 2011 tarihleri tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Kontakt Lens Birimi'ne lens almak üzere başvuran 100 hastadan, hidrojel ve silikon hidrojel kontakt lens kullanmadan önce ve lens kullandıktan sonra alınan konjonktiva sürüntüleri ve atılmak üzere çıkarılmış kontakt lensleri aerop ve anaerop bakteriler yönünden yarıkantitatif sayımla değerlendirildi. Üretilen aerop bakterilerin tür tanımları standart klinik mikrobiyolojik yöntemler ile anaerop bakterilerin tanımı ise multipleks PZR kiti ile yapıldı.
Bulgular
Lenslerin kullanımı sonrası hastalarımızın konjonktiva florasından izole edilen Gram pozitif aerop ve anaerop bakteri türleri *S.caprae* ve *S.viridans* dışında farklılık göstermemiştir ancak her iki kontakt lensin kullanımı sonrasında oranları düşük olmakla beraber, değişik Gram negatif çomak türlerinin ürediği saptanmıştır. Lens kullanım sonrası konjonktivada üreyen toplam bakteri sayısı öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Her iki lens grubundaki hastalarda lens kullanım öncesi bakterilerin üreme yoğunlukları +1, +2, +3 iken, lens kullanım sonrasında +2, +3 ve +4 üreme yoğunlukları görülmüştür. Hidrojel kontakt lens kullananlarda *S.aureus* ve *P.acnes'te* ($p<0,05$), silikon hidrojel kontakt lens kullananlarda ise sadece *P.acnes'te*($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı sayısal artış belirlenmiştir.
Sonuç
Kontakt lens kullanımı ile konjonktiva normal florasında değişim olacağı ve bu durumun oküler enfeksiyonların gelişiminde bir risk teşkil edeceği göz önünde bulundurularak, kontakt lens kullanıcılarının hijyen koşullarına uyulması konusunda daha fazla bilinçlendirilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Hidrojel kontakt lens, Konjonktiva Florası, Silikon Hidrojel kontakt lens

TABLO 1.Hidrojel kontakt lens kullanan 60 hastanın konjonktiva sürüntülerinde üreyen aerop bakterilerin 1+, 2+, 3+ ve 4+ üreme yoğunluklarına göre dağılımı. Sayı(%)

Aerop Bakteriler	Lens Kullanım Öncesi Sayı(%)	Lens Kullanım Sonrası Sayı(%)	P
(1+ üreme)			
Haemophilus parainfluenzae	(-)	2(100)	p>0,05
(2+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	16(53,3)	(-)	p>0,05
Staphylococcus lugdunensis	4(100)	(-)	p>0,05
Staphylococcus caprae	(-)	2(100)	p>0,05
Staphylococcus aureus	6(100)	6(50)	p>0,05
Difteroid çomak	4(100)	6(75)	p>0,05
Bacillus spp.	(-)	2(100)	p>0,05
Viridans grubu streptokoklar	2(100)	(-)	p>0,05
Proteus mirabilis	(-)	2(100)	p>0,05
Serratia spp.	(-)	4(100)	p>0,05
Moraxella spp.	(-)	2(100)	p>0,05
(3+ üreme)			

Staphylococcus epidermidis	14(46,7)	8(22,2)	p>0,05
Staphylococcus capitis	2(100)	(-)	p>0,05
Staphylococcus aureus	(-)	2(16,7)	p>0,05
Difteroid çomak	(-)	2(15)	p>0,05
(4+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	(-)	28(77,8)	p<0,05
Staphylococcus lugdunensis	(-)	6(100)	p>0,05
Staphylococcus capitis	(-)	2(100)	p>0,05
Staphylococcus aureus	(-)	4(33,3)	p>0,05

TABLO 2.Hidrojel kontakt lens kullanan 60 hastanın konjonktiva sürüntülerinde üreyen ve Multipleks PZR ile tanımlanan anaerop bakterilerin 1+, 2+, 3+ ve 4+ üreme yoğunluklarına göre dağılımı. Sayı(%)

Anaerop Bakteriler	Lens Kullanım Öncesi Sayı(%)	Lens Kullanım Sonrası Sayı(%)	P
(1+ üreme)			
Propionibacterium acnes	6(17,6)	(-)	p>0,05
(2+ üreme)			
Propionibacterium acnes	24(70,6)	6(13,1)	p>0,05
(3+ üreme)			
Propionibacterium acnes	4(11,8)	14(30,4)	p<0,05
(4+ üreme)			
Propionibacterium acnes	(-)	26(56,5)	p<0,05

TABLO 3.Silikon Hidrojel kontakt lens kullanan 40 hastanın konjonktiva sürüntülerinde üreyen aerop bakterilerin 1+, 2+, 3+ ve 4+ üreme yoğunluklarına göre dağılımı. Sayı(%)

Aerop Bakteriler	Lens Kullanım Öncesi Sayı(%)	Lens Kullanım Sonrası Sayı(%)	P
(1+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	2(9,1)	(-)	p>0,05
Viridans streptokoklar	2(100)	(-)	p>0,05
Micrococcus spp.	2(100)	(-)	p>0,05
Serratia spp.	(-)	4(100)	p>0,05
(2+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	12(54,5)	8(28,6)	p>0,05
Staphylococcus lugdunensis	2(100)	(-)	p>0,05
Staphylococcus aureus	6(100)	(-)	p>0,05
Staphylococcus epidermidis	16(53,3)	(-)	p>0,05
Difteroid çomak	4(100)	2(33,3)	p>0,05
Serratia spp.	(-)	(-)	p>0,05
Moraxella spp.	(-)	2(100)	p>0,05

Viridans streptokoklar	(-)	2(100)	p>0,05
Acinetobacter spp.	(-)	2(100)	p>0,05
Pseudomonas aeruginosa	(-)	2(100)	p>0,05
(3+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	8(36,4)	4(14,3)	p>0,05
Staphylococcus lugdunensis	(-)	2(33,3)	p>0,05
Staphylococcus aureus	(-)	4(40)	p>0,05
Difteroid çomak	(-)	4(66,7)	p>0,05
(4+ üreme)			
Staphylococcus epidermidis	(-)	16(57,1)	p<0,05
Staphylococcus lugdunensis	(-)	4(66,7)	p>0,05
Staphylococcus aureus	(-)	6(60)	p>0,05

TABLO 4.Silikon Hidrojel Kontakt Lens kullanan 40 hastanın konjonktiva sürüntülerinde üreyen ve Multipleks PZR ile tanımlanan anaerop bakterilerin 1+, 2+, 3+ ve 4+ üreme yoğunluklarına göre dağılımı. Sayı(%)

Anaerop Bakteriler	Lens Kullanım Öncesi Sayı (%)	Lens Kullanım Sonrası Sayı (%)	P
(1+ üreme)			
Propionibacterium acnes	8(33,3)	(-)	p>0,05
(2+ üreme)			
Propionibacterium acnes	14(58,3)	4(11,8)	p>0,05
(3+ üreme)			
Propionibacterium acnes	2(8,4)	8(23,5)	p>0,05
(4+ üreme)			
Propionibacterium acnes	(-)	22(64,7)	p<0,05

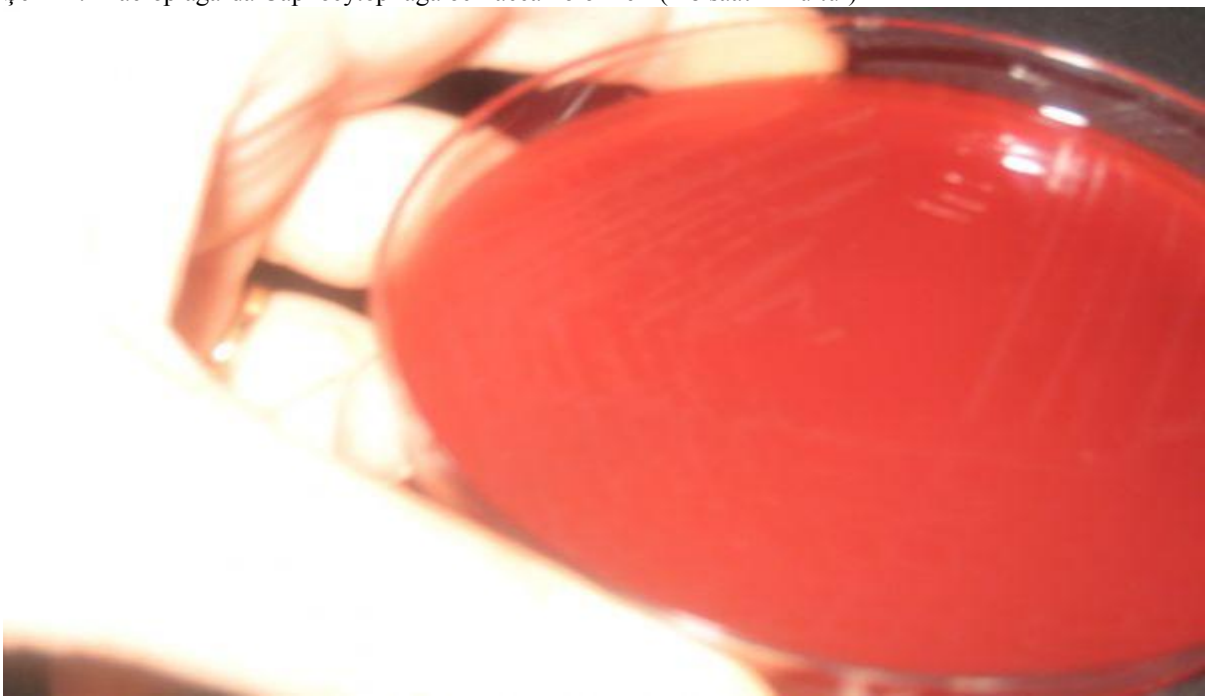
P118- CAPNOCYTOPHAGA OCHRACEA İLE GELİŞEN BİR HUMERUS OSTEOMİYELİTİ OLGUSU

Hrisi Bahar, Erol Gündüz, Sinem Özdemir, Sezer Toprak, Mert Kuşkucu, Sevgi Ergin, Kenan Midilli, Arif Kaygusuz, Müzeyyen Mamal Torun
İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İstanbul

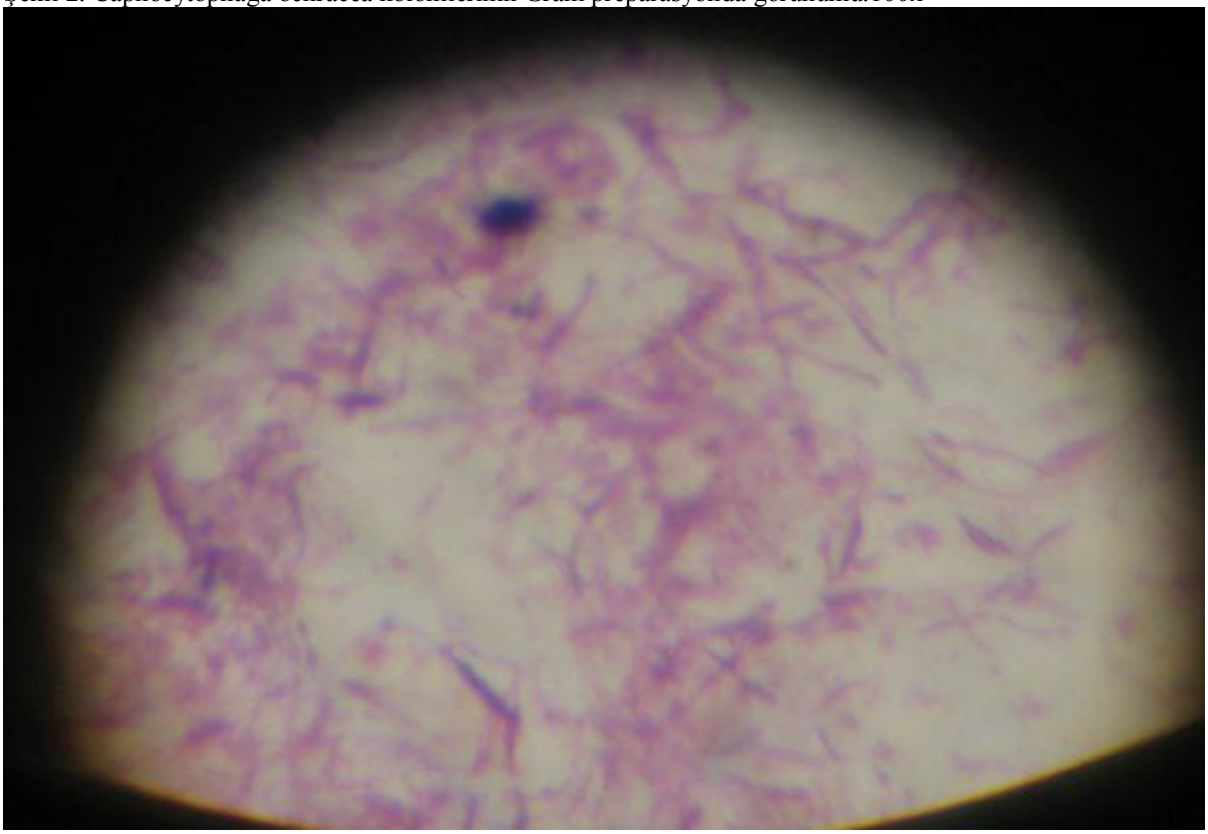
Amaç
Capnocytophaga ochracea orofarinks florasında yer alan kapnofilik bir Gram negatif çomak olarak bilinmektedir. Kaynaklarda,başta immün sistemi zayıf kişiler olmak üzere, sınırlı sayıda olguda, periodentit, endokardit, septik artrit, osteomiyelit ve septisemi etkeni olarak gösterilmiştir.Bu çalışmada *Capnocytophaga ochracea* ile gelişen bir humerus osteomiyeliti olgusu hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.
Vaka
K,23 yaşında bayan hasta, aile fertlerinin ölümü ile sonuçlanan bir trafik kazası sonrası hastaneye yatırılmış ve sol kolundaki humerus kırığı,ameliyat sonucu çivi ile sabitlenmiştir.Taburcu olmasını takiben, hasta, ameliyat yerinde ağrı, şişlik, kızarıklık, ısı artışı ve ateş yükselmesi şikayetleri ile hastaneye başvurmuş ve antibiyotik tedavisine alınmıştır.Yakınmaları artan hastada ameliyat bölgesinde pürülan akıntı başlamış ve tedaviye cevap vermeyerek akıntı giderek artış göstermiştir.Klinik ve radyolojik bulgulara göre osteomiyelit tanısı konan hastanın pürülan akıntısından yapılan mikrobiyolojik incelemede, bol lökositle birlikte, Gram negatif, pleomorfizm gösteren, iğ şeklinde füziform bakteriler görülmüştür. Schaedler agar ile hazırlanmış fenil etil alkol,%5 koyun kanı ve K1 vitamini ilave edilmiş,anaerobik ortamda,72 saat tutulan besiyerine ayrıca kanlı,çukulatamsı ve MacConkey agar besiyerlerine ekilen akıntı numunesinde,yalnızca anaerop ortamda tutulan besiyerinde üreyen ve koyu sarı pigment yapan kolonilerden hazırlanan Gram preparasyonlarda kolonilerin Gram negatif ipliksi bakteriler olduğu görülmüştür.APİ 20 A kiti ile tanımlanmaya çalışılan bakterinin oxidaz,üreaz, katalaz, indol ve eskülin testleri negatif bulunmuştur.Köken,glükoza, maltoza, sakaroza etkili iken mannitole etkisiz bulunmuştur. Kültürde üretilen bakteriden PCR ile çalışılan, 23S rRNA analizi sonucuna göre, üretilen bakteri *Capnocytophaga ochracea* olarak tanımlanmıştır.Antibiyogram sonucuna göre bakteri beta laktam antibiyotiklere ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur.Siprofloksasin ve metronidazol ile antibiyotik tedavisine alınan hastada yakınmalar kısa bir süre kesilmiş,ağrı ve şişlik azalmış ancak bir ay sonra hasta tekrar aynı yakınmalarla hastaneye başvurmuştur. Hasta yeniden ameliyata alınarak çiviler çıkarılmış ve osteomiyelit olan humerus bölgesi kesilerek çıkarılmıştır.Ameliyat sonrası hastadan infeksiyon belirtilerinin gerilemiş olduğu ancak yumuşak dokudan hala akıntı geldiği bilgisi alınmıştır.
Sonuç
Kapnofilik mikroorganizmaların klinik infeksiyonlardan sorumlu olabileceği düşünülerek,özellikle immün sistemi zayıf hastalara ait numuneler ile çalışırken az rastlanan enfeksiyon etkenlerinin üretilebilmesine olanak sağlayacak besi yerlerinin ve atmosferik şartların sağlanmasında yarar olacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: 23S r RNA, Capnocytophaga ochracea, kültür, osteomiyelit

Şekil 1.Anaerop agarda Capnocytophaga ochracea kolonileri (48 saatlik kültür)



Şekil 2. Capnocytophaga ochracea kolonilerinin Gram preparasyonda görünümü.100x



P119- CHARACTERİZATİON OF CLİNİCAL STRAİNS OF UROPATHOGENİC ESCHERİCHİA COLİ İSOLATED İN SOUTH OF IRAN

Shohreh Farshad[1], Reza Ranjbar[2], Marziyeh Hosseini[1], Mojtaba Anvarinejad[1], Reza Mohammadzadegan[3]
[1]*Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*
[2]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[3]*iNANO (Interdisciplinary Nanoscience Center), Århus University, Århus, Denmark*

Background
Urinary tract infections (UTIs), including cystitis and pyelonephritis, are the most common infectious diseases in childhood. Escherichia coli accounts for as much as 90% of the community- acquired and 50% of the nosocomial UTIs. Therefore, Identification of E. coli strains is important for both clinical and epidemiological implications. Understanding antibiotic resistance patterns and molecular characterization of plasmids and other genetic elements is also epidemiologically useful.
Methods
To characterize uropathogenic strains of E. coli we studied 96 E. coli strains recovered from urine samples of children aged from l month to 14 years with community-acquired urinary tract infection in Jahrom, Iran, for their virulence factors, drug sensitivity and plasmid profiles
Results
Drug sensitivity of the isolates was 19.8%, 75.5%, 80.4%, 84.6%, 91.4%, 96.8%, 96.8% and 100% to ampicilin, nalidixic acid, cefixime, gentamycin, ciprofloxacin, nitrofurantoin, amikacin and imipenem, respectively. Totally 76 isolates harbored plasmids with an average of 5.5 plasmids (range from 1-10) in each strain. Plasmid profiling could distinguish 22 different E. coli genotypes in all isolates with a range of similarities from 50% to 100%. PCR showed that the prevalence of virulence genes ranged from 15.62% for hly to 30.2% for pap.
Conclusion
These data mandate local monitoring of drug resistance and its consideration in empirical therapy of E. coli infections. Plasmid analysis of representative E. coli isolates also demonstrates the presence of a wide range of plasmid sizes, with no consistent relationship between plasmid profiles and resistance phenotypes. Plasmid profiles distinguished more strains than did the antimicrobial susceptibility pattern.

Anahtar Kelimeler: E. coli, UTI, plasmid, virulence genes, children

P120 - YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Harun Ağca
Kütahya Tavşanlı Doç. Dr. M. Kalemli Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Kütahya

Amaç
Hastanemiz yoğun bakım ünitesinde Ocak 2010- Haziran 2011 döneminde çeşitli klinik örneklerden izole edilen mikroorganizamaların belirlenmesi ve antibiyotik duyarlılık oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Klinik örneklerden bakterilerin izolasyonu için standart mikrobiyolojik yöntemler kullanılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılığı, CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Çeşitli klinik örneklerden gönderilen toplam 538 örneğin 236'sında mikroorganizma izole edilmiştir. Üreyen mikroorganizmalardan en sık görülenler sırasıyla Acinetobacter baumanii 49 (%21), Pseudomonas aeruginosa 49 (%21), E. coli 47 (%20), Candida spp. 22 (%9), Enterococcus spp. 21 (%9) olarak saptanmıştır. En sık izole edilen bakterilerden Acinetobacter baumanii suşlarının oldukça dirençli olduğu, amikasin ve imipenem duyarlılıklarının %8 oranında olduğu saptanmıştır. Pseudomonas aeruginosa suşlarında siprofloksasin duyarlılığı %35 iken amikasin duyarlılığı %80 oranında bulunmuştur. E. coli'de en yüksek direnç oranı %87 ile ampisiline karşı iken en düşük direnç oranı %5 ile imipeneme karşıdır. Enterokoklarda vankomisin direnci görülmezken penisilin direnç oranı %86 olarak bulunmuştur. S. aureus'da penisilin direnç oranı %86 olup oksasilin direnç oranı %43 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Yoğun bakım üniteleri gibi infeksiyon yönünden riskli birimler başta olmak üzere hastanede üreyen mikroorganizma çeşitliliğinin bilinmesi, antibiyotik direnç profillerinin bilinmesi, akılcı antibiyotik kullanımı ve infeksiyon kontrol önlemleri açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Yoğun bakım, Acinetobacter, Pseudomonas

Sık izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılık oranları

Antibiyotik	E.coli		Pseudomonas aeruginosa		Acinetobacter baumanii	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	6	13	-	-	0	0
AMC	16	34	-	-	0	0
Sefuroksim	10	21	-	-	0	0
TMP-SXT	26	55	-	-	4	8
Siprofloksasin	11	23	17	35	0	0
Seftazidim	10	21	32	65	0	0
Sefepim	10	21	20	41	0	0
Gentamisin	32	68	22	45	4	8
Amikasin	40	85	39	80	4	8
İmipenem	45	96	20	41	4	8

P121 - YARA YERİ ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mehmet Parlak, Bilge Gültepe, Aytekin Çıkman, Hüseyin Güdücüoğlu, Mustafa Berktaş
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Çalışmada, yüzeyel yara yeri örneklerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin tür düzeyinde belirlenmesi ve antibiyotik direnç oranlarının saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2009 - Temmuz 2011 tarihleri arasında laboratuvarımıza çeşitli kliniklerden gönderilen 344 yara yeri sürüntü örneğine ait bakteriyolojik identifikasyon ve antibiyotik direnç sonuçları retrospektif olarak incelendi. Yara yerinden steril eküvyonla alınarak laboratuvarımıza ulaştırılan yüzeyel sürüntü örneklerinin %5 koyun kanlı agar, McConkey agar ve çikolatamsı agara ekimleri yapıldı. Daha sonra 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Üç türden az sayıda mikroorganizma tespit edilen örneklerdeki üremeler konvansiyonel yöntemlerle tanımlandıktan sonra Phoenix (Becton Dickinson, ABD) otomatize sisteminden yararlanılarak bu tanıları doğrulandı ve antibiyotik direnç testi uygulanarak sonuçlar kaydedildi. Antibiyotik seçiminde CLSI 2010 klavuzundan yararlanıldı.
Bulgular
Çalışmaya alınan 344 yara örneğinde en sık olarak 99 E.coli (%29) izole edilmiş olup bunu sırasıyla 59 Klebsiella spp. (%17), 63 Acinetobacter baumannii (%18), 42 Pseudomonas aeruginosa (%12), 3 Stenotrophomonas maltophilia (%1) ve 78 diğer (%23) (Enterobacter spp., Proteus spp., Morganella morganii, Serratia spp., Citrobacter spp, Providencia spp.) türlerin izlediği bulundu. E.coli ve Klebsiella pneumoniae türlerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretme sıklığı sırasıyla %60 ve %42 olarak saptandı. Etkenlere ait antibiyotik direnç durumları tablo 1 ve tablo 2'de gösterildi.
Sonuç
Hastanemizde yara yeri enfeksiyonlarında Gram negatif bakteriler önemli bir yer tutmakta ve antibiyotiklere direnç oranları tedavide sorun oluşturmaktadır. Bu bakterilerin antibiyotik direnç durumlarının ortaya çıkarılarak etkene yönelik antibiyotik kullanılması tedavinin temelini oluşturmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Yara, Gram negatif bakteri, antibiyotik direnci

Non-fermentatif Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç oranları [n(%)].

	A.baumannii	P.aeruginosa	S.maltophilia
Aztreonam	-	42 (55)	-
Sefotaksim	61 (93)	-	-
Siprofloksasin	62 (92)	42 (40)	-
Piperasilin-Tazobaktam	62 (92)	42 (21)	-
Gentamisin	62 (90)	42 (43)	-
Sefepim	60 (90)	42 (33)	
Seftazidim	62 (89)	42 (29)	3 (100)
Amikasin	62 (82)	42 (12)	-
İmipenem	62 (63)	42 (36)	-
Levofloksasin	61 (62)	42 (43)	3 (33)
Meropenem	62 (55)	42 (21)	-
Trimetoprim-Sulfametoksazol	62 (52)	-	3 (100)
Tetrasiklin	61 (21)	-	-
Kolistin	61 (0)	-	-

E.coli, Klebsiella ve diğer enterobakterilerin antibiyotik direnç oranları [n(%)].

	E.coli	Klebsiella spp.	Diğerleri

ESBL Oranı	99 (60)	59 (47)	-
Sefazolin	99 (67)	58 (76)	78 (86)
Sefotaksim	96 (65)	58 (66)	76 (25)
Sefepim	99 (63)	58 (67)	78 (6)
Trimetoprim-Sulfametoksazol	98 (58)	55 (58)	76 (42)
Siprofloksasin	97 (46)	55 (42)	78 (17)
Levofloksasin	94 (46)	55 (35)	76 (12)
Gentamisin	98 (33)	55 (31)	78 (27)
Piperasilin-Tazobaktam	97 (23)	55 (53)	78 (14)
Ertapenem	26 (4)	19 (21)	24 (13)
Sefoksitin	97 (4)	55 (18)	78 (63)
Amikasin	97 (1)	55 (4)	78 (0)
İmipenem	97 (0)	55 (0)	77 (0)
Meropenem	97 (0)	55 (0)	78 (0)

P122- İSTANBUL'DAKİ BAZI SAĞLIK OCAKLARINDA ÇALIŞAN HEKİM VE HEMŞİRELERİN DEZENFEKSİYON VE STERİLİZASYON UYGULAMALARI HAKKINDAKİ DEĞERLENDİRMELERİNİ SAPTAMAYA YÖNELİK NİTELİKSEL BİR ÇALIŞMA

Mustafa Taşdemir, Seyhan Hıdıroğlu, Cem Emrah Kalafat**, Fatih Torlak**, Pelin Elibol, Berna Ferman, Ayşenur Özel, Melda Karavuş
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, İstanbul

Amaç
1.basamak sağlık kuruluşlarında dezenfeksiyon ve sterilizasyon uygulamalarının ne şekilde yapıldığını, Yapılması sırasında öne çıkan problemleri tanımlamak ve koşulların ne şekilde iyileştirilebileceğini tespit etmek.
Gereç-Yöntem
Niteliksel tipte bir araştırma olup İstanbul'un göç alan ilçelerinden biri olan Ümraniye 'de bulunan sağlık ocaklarında 8-12 şubat 2010 tarihlerinde hekimler ve hemşirelerle odak grup görüşmeleri aracılığıyla gerçekleştirildi. Her odak grup görüşmesi bir moderatör, iki gözlemci ve iki yazıcı olarak 5 kişilik ekipler halinde gerçekleştirildi.Gruplar toplandıktan sonra araştırmanın amacı anlatılarak, yazım ve ses kaydı için izin istenerek görüşmeler sürdürüldü.
6 mini grup halinde süreleri 30 – 45 dakika arasında değişen beşer kişilik görüşmeler gerçekleştirilmiştir. Kaydedilen görüşmeler araştırmacılar tarafından birebir çözümlenmiş, kodlanmış, örnek ifadelerle süslenmiş ve rapor haline getirilmiştir.
Bulgular
Görüşmelere deneyimi 4 ay ile 13 yıl arasında değişen 14 hekim, 4 yıl ile 23 yıl arasında değişen 15 hemşire katıldı. Hekimler sterilizasyon ile ilgili eğitimlerini mezuniyet öncesinde almış olup, bazı hekimler aile planlaması kurslarına katılarak mezuniyet sonrası da eğitim almış olduklarını ifade ettiler. Katılımcı hemşireler mezuniyet öncesinde okulda ve mezuniyet sonrasında oryantasyonlarda eğitim aldıklarını belirttiler.
Hekimler sağlık bakanlığı tarafından gönderilmiş sterilizasyon ve dezenfeksiyon için özel bir talimatname olmadığını, kendi imkanlarıyla internetten buldukları mevzuat bilgileri ya da önceden çalıştıkları yerlerdeki kuralları uyguladıklarını ifade ettiler.
Diğer önemli bir sorun da dezenfeksiyonda kullanılan malzemelerdir.En büyük sıkıntı malzemelerin yetersiz olmasıdır. Sağlık müdürlüğünden aylık gönderilen malzemeler ile 1 haftalık bile ihtiyaçlarını karşılayamadıkları ve mecbur kaldıkları için ilaç mümesillerine aldırdıklarını belirttiler. Gönderilen malzemelerin de kalitesinde şüpheleri olduğu için dışardan belirli marka ürünleri kullandıklarını ifade ettiler.
Öne çıkan bulgular ve örnek ifadeler şu şekilde saptandı:
A.Hem doktorlar hem de hemşireler şu an ki durumdan memnuniyetsizliklerini dile getiriyorlar fakat bu durumu düzeltmek için kendileride fazla birşey yapamadıklarını ifade ediyorlar:
-"H1N1 gündeme geldiği zaman kendimiz aletlerin sterilizasyonu konusunda hizmet içi eğitimler yaptık.Örneğin lavabolara vs. uyarılar koyduk.Kendimizi nasıl koruyacağımız konusunda eğitim aldık".(Hekim,13 yıl)
B.Hekimler dezenfeksiyon ve sterilizasyon yöntemlerini teorikte biliyor ama uygulanmasının denetimini hemşirelere bırakıyorlar. Hemşireler konuya daha vakıf olmakla beraber yoğunluktan dolayı uygulamada sıkıntı yaşıyorlar.Aile Planlaması (AP) polikliniklerinde dez.-ster. olmazsa olmaz bir uygulama olduğunu diğer poliklinikler için aynı durum söz konusu olmadığını belirttiler:
-"Hemşire hanımlar yapıyor. Sterilizatör var. Sudan geçirip otoklav değil de etüv var kuru. Sürelerini bilmiyorum. Sanırım kovalar var AP'ye ait. Temizleri kullanıp kirliye bırakıyorlar. Dr masalarını personel temizliyor, her taraf berbat, ben üzerinde durursam yapıyor. Bir tane bez var zaten, yıkanmıyor bile rengi simsiyah olmuş. (Hemşire,15 yıl)''
Sorumlu olarak belirlenen kişiler sadece dezenfeksiyon ve sterilizasyonla uğraşmıyorlar.Eğitimli personel değiller ve denetlenmesi hekim/hemşire tarafından yapılamıyor.Dolayısıyla yanlış ve eksikler sık görülüyor.
-'20 hastaya elimi yıkamadan baktığım oluyor, hasta hapşurunca, öksürünce yıkıyorum. Bakanlığın verdiği bir talimat yok. (Hekim, 12 yıl)'
Sonuç
Sağlık Bakanlığı tarafından gönderilmiş sterilizasyon ve dezenfeksiyon için özel bir talimatname bulunmamaktadır. Hekimler ve hemşireler kendi imkanlarıyla buldukları mevzuat bilgileri ya da önceden çalıştıkları yerlerdeki kuralları uygulamaktadırlar. Dezenfeksiyonda kullanılan malzemelerin yetersiz olması en büyük sıkıntılardan biridir. Malzemeler ile ihtiyaçlarını karşılayamamakta ve mecbur kaldıkları için ilaç mümesillerine aldırmaktadırlar. Çalışanlara eğitim verilmeyişi ve bu açığın özel temizlik şirketlerinden karşılanması uygulamada açık oluşturmaktadır.Sterilizasyon ve dezenfeksiyon uygulamalarında doktor ve hemşirelerin en çok üzerinde durduğu sorun yetersiz malzeme ve eğitimsiz personel sayısıydı.

Anahtar Kelimeler: dezenfeksiyon, sterilizasyon, sağlık hizmetleri

P123- BRUCELLA'NIN VE DİĞER BAZI GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN NEDEN OLDUĞU BAKTERİYEMİLERDE PROCALSİTONİN VE C-REAKTİF PROTEİN DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Muhammet Güzel Kurtoğlu, Meral Kaya, Ayşegül Opuş**, Serife Yüksekkaya**, Asuman Güzelant
Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya

Amaç
Brucella spp., E.coli, Klebsiella spp. ve *Acinetobacter spp.* gibi Gram-negatif bakteriyemisi saptanan hastalarda Procalsitonin (PCT) ve C-Reaktif Protein (CRP) düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Hastadan alınan kan örneğinden eş zamanlı olarak kültür, PCT ve CRP çalışıldı. Kan örnekleri Bactec plus Aerobic/F kan kültür sişelerine alınarak BACTEC 9120 kan kültür sisteminde inkübe edildi. *E.coli, Klebsiella spp.* ve *Acinetobacter spp.* bakterilerin identifikasyonunda Phoenix-100 otomatize identifikasyon cihazına ait paneller kullanıldı. *Brucella spp*. identifikasyonunda konvansiyonel yöntemlerin yanısıra Brucella polivalan serum kullanıldı.
Bulgular
Kan kültüründe 100 *Brucella spp*., 50 *E.coli,* 50 *Klebsiella spp.* ve 40 da *Acinetobacter spp.* saptanan toplam 240 hasta çalışmaya alındı. PCT değerleri Grup 1(<0.5 ng/mL), Grup 2 (0.5-2.0 ng/mL) ve Grup 3 (>2.0 ng/mL) olmak üzere üç grupta değerlendirildi. CRP düzeyleri >5 mg/l olanlar patolojik olarak kabul edildi. Kan kültüründe *Brucella spp*. saptanan 100 hastanın tümünde (% 100) PCT değerlerinin Grup 1'de olduğu, 92'sinde CRP seviyesinin >5 mg/l olduğu saptandı. Kan kültüründe *E.coli* saptanan hastaların 34'ünün PCT değerlerinin Grup 3'de olduğu, 46'sında CRP seviyesinin >5 mg/l olduğu saptandı. *Klebsiella spp*. saptanan hastaların 47'sinde PCT değerlerinin Grup 3'de olduğu, 39'unda CRP seviyesinin >5 mg/l olduğu saptandı. *Acinetobacter spp.* saptanan hastaların 24'ünde PCT değerlerinin Grup 2 olduğu ve tümünde CRP seviyesinin >5 mg/l olduğu saptandı.
Sonuç
Bazı Gram-negatif bakteri enfeksiyonlarında PCT ve CRP seviyelerinin yükseldiği ancak *Brucella spp*. üreyen hastalarda CRP seviyesinin yükselmesine karşın PCT seviyesinin yükselmediği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Procalcitonin, C-Reactive Protein, *Brucella spp*., Gram-Negative Bacteri

PCT ve CRP değerlerinin saptanan bakterilere göre dağılımı

Bakteri	PCT Grup 1	PCT Grup 2	PCT Grup 3	CRP <5 mg/l	CRP >5 mg/l
Brucella spp.(100)	100	0	0	8	92
E.coli (50)	0	16	34	4	46
Klebsiella spp. (50)	0	3	47	11	39
Acinetobacter spp. (40)	0	24	16	0	40

P124- ANAEROP ETKENLİ ENFEKSİYONLARDA, ANAEROP BAKTERİLERİN KLİNİK ÖRNEKLERE GÖRE DAĞILIMI: BEŞ YILLIK RETROSPEKTİF BİR ÇALIŞMA

Müzeyyen Mamal Torun, Sinem Özdemir, Erol Gündüz, Nida Küçük, Hrisi Bahar
İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İstanbul

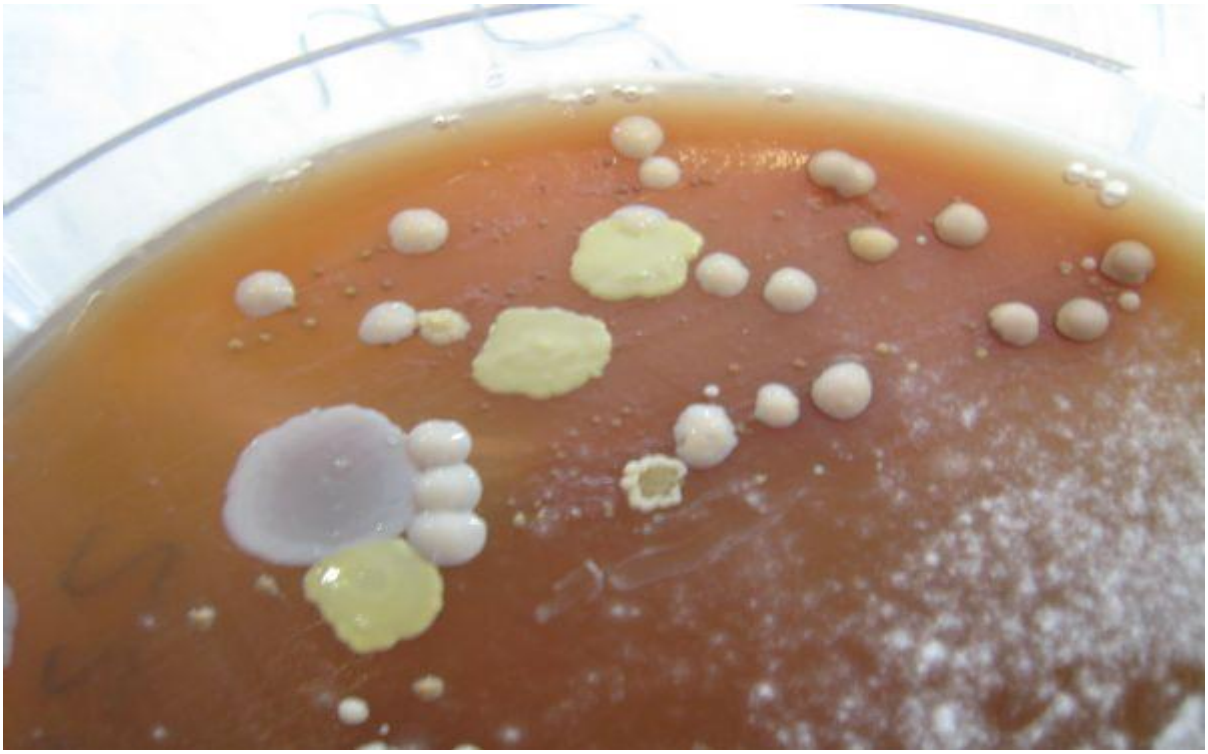
Amaç
Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin değişik birimlerine başvuran hastalara ait, Anabilim dalımız anaerop bakteriyoloji laboratuarına gönderilmiş olan klinik örneklerden beş yıl süresince enfeksiyon etkeni olarak üretilen anaerop bakterilerin prevalensinin belirlenmesi ve üretilen anaeropların örneklere göre dağılımının saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Haziran 2006-Haziran 2011 tarihleri arasında 6117 Abse, 3043 doku biyopsi örneği,1212 aspirasyon sıvısı, 869 vücut sıvısı anaerop bakteriler yönünden incelemeye alınmıştır. Anaerop bakterilerin üretimi için K 1 vitamini ve %5 konu kanı ilave edilerek zenginleştirilmiş Schaedler agar kullanılmıştır. Bu temel besiyerine, kanamisin, vankomisin, fenil etil alkol gibi maddeler eklenerek, fenil etil alkollü anaerop agar, kanamisin ve vankomisinli anaerop agar besiyerleri hazırlanmıştır. Sıvı besiyeri olarak tiyoglikolatlı broth kullanılmıştır. Bu besiyerlerine ekilen numuneler en az 72 saat anaerop jarlarda tutulmuştur. Oksijensiz ortam, kuru sistem gaz paketleri (AnaeroGen) ile sağlanmıştır. İnkübasyon sonucu anaerop olduğu belirlenen bakterilerin tür tanımı APİ 32 ID kiti ile yapılmıştır.
Bulgular
Toplam 11241 klinik numunenin 112 sinde anaerop bakteriler tek başına 2048 inde ise aerop bakterilerle birlikte üremiştir. 112 numunede saf üreyen anaeropların 59u abse cerahatinden 31 i aspirasyon sıvılarından,22 si ise vücut sıvılarından üretilmiştir. Aerop bakterilerle birlikte karışık üreyen 2048 numunenin 1217 si abse, 616 sı doku biyopsisi, 152si aspirasyon örneği ve 63 ü plevra ponksiyon sıvısıdır. Toplam 2160 numunede en sık üreyen anaerop bakteriler Peptostreptococcus anaerobius (%41) ve siyah pigmentli anaerop Gram negatif çomaklardır (%28). Bunu anaerop spor oluşturmayan Gram pozitif çomaklar (%12), Bacteroides fragilis (%11) izlemektedir. Numunelerin %5 kadarında Clostridium sp ve % 3 kadarında Fusobacterium sp üremiştir.

Anahtar Kelimeler: Anaerop bakteriler, enfeksiyon, klinik örnekler

Tablo 1. Aerop ve anaerop bakteri üremesinin bir arada görüldüğü numunelerin dağılımı

KLİNİK NUMUNE S:2048	AEROP -ANAEROP BAKTERİ ÜREMESİNİN BİR ARADA GÖRÜLDÜĞÜ NUMUNE SAYISI
Abse Cerahati	1217(59.4)
Doku biyopsisi	616(30.1)
Aspirasyon sıvısı	152(7.4)
Plevra ponksiyon sıvısı 63(3.1)	63(3.1)

Resim 2.Anaerop besiyerinde P.acnes,peptostreptokoklar ve diğer aerop bakteriler



Resim 1.Anaerop besiyerinde siyah pigmentli Gram negatif çomaklar ve aerop bakteriler



Tablo 2.Toplam 2160 numunede üreyen anaerop bakterilerin üreme sıklığına göre dağılımı

ANAEROP BAKTERİ	ÜREME SIKLIĞI S(%)
Peptostreptococcus anaerobius	885 (41)
Siyah pigmentli anaerop Gram negatif çomaklar	605(28)
Anaerop spor oluşturmayan Gram pozitif çomaklar	259 (12)
Bacteroides fragilis	238(11)
Clostridium spp	108(5)
Fusobacterium spp	65(3)

P125- YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDEN İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER SUŞLARININ SLİME FAKTÖR ÜRETİMLERİNİN VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Sinem Solmaz[1], Nihal Sarıca[2], **Meltem Yalınay Çırak[1]**
[1]*Gazi Üniversitesi Tıp fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Bitlis Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bitlis*

Acinetobacter türleri başta yoğun bakım olmak üzere hastane ortamında çeşitli yüzeylerde bulunabilen, immün sistemi zayıf, kemoterapi veya uzun süreli antibiyotik tedavisi alan hastalarda önemli fırsatçı patojen olabilen bir etkendir. Fırsatçı patojen olarak çoklu ilaca dirençli A. baumannii infeksiyonlarının sayısı küresel olarak son beş yılda artmıştır. Endotrakeal tüp ya da trakeostomilerle ilişkili pnömoni,endokardit,menejit,deri ve yara enfeksiyonları,peritonit ve üriner yol enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Acinetobacter baumannii'nin biyofilm oluşturması, hastane ortamında ve aygıtların yüzeyinde uzun süre canlı kalabilmesi nedeniyle, özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilm oluşturma özelliği hastane ortamında uzun süre canlı kalmasını sağlamasının yanısıra, bakteriyi bazı antimikrobiyal ajanlara karşı da korumaktadır.

Amaç

Bu çalışmanın amacı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi 'nde endotrakeal aspirat (ETA) veya balgam örneklerinden izole edilen Acinetobacter spp. suşlarında slime faktör üretiminin ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasıdır.

Gereç-Yöntem

Suşlar:

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Ağustos 2007-Haziran 2010 tarihleri arasında Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi (DYBÜ) veya Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde (NYBÜ) yatan hastaların endotrakeal aspirat (ETA) veya balgam örneklerinden izole edilen ve Acinetobacter spp. olarak tiplendirilen 100 suş çalışmaya alındı.

Slime faktör yapımı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması:

Slime faktör üreten kökenlerin belirlenmesinde standart tüp yöntemi kullanıldı. Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon testi ile kökenlerin imipenem,meropenem, sefaperazon/sulbaktam, amikasin, ampisilin-sulbaktam, siprofloksasin, sefepim, netilmisin, piperasilin-tazobaktam, gentamisin, tobramisin, seftazidim, trimetoprim/sulfametaksazol, kolistin direnç durumları araştırıldı.

Bulgular

100 Acinetobacter suşunun 37 tanesinde (%37) slime faktör üretimi saptanmıştır. İzole edilen 100 suşun çeşitli antibiyotiklere gösterdikleri direnç Tablo 1' de verilmiştir.

Sonuç:

Çalışmaya alınan 100 acinetobacter suşu kolistin haricinde antibiyotiklere yüksek düzeyde dirençli bulunmuştur. Slime faktör pozitif olan suşlardaki antibiyotik direnci ile slime faktör negatif olanlardaki antibiyotik direnci arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlar Acinetobacter suşlarında slime faktör üretimi ile antibiyotik direnci arasında anlamlı bir ilişki ortaya koymamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter, antibiyotik duyarlılığı, slime faktör, yoğun bakım

Tablo 1

Antibiyotik	Antibiyotik Direnci Oranı n(%)	Slime Pozitif Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı n(%)	Slime Negatif Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı n(%)
İmipenem	84(84)	29(78)	55(87)
Meropenem	96(96)	36(97)	60(95)
Kolistin	0(0)	0(0)	0(0)
Sefaperazon/sulbaktam	85(85)	32(86)	53(84)
Amikasin	85(85)	31(83)	54(85)
Netilmisin	44(44)	19(51)	25(39)
Ampisilin/sulbaktam	84(84)	33(89)	51(80)
Siprofloksasin	99(99)	36(97)	63(100)
Sefepim	86(86)	32(86)	54(85)
Seftazidim	86(86)	30(81)	56(88)

Piperasilin/tazobaktam	97(97)	37(100)	60(95)
Gentamisin	73(73)	24(64)	49(77)
Tobramisin	47(47)	18(48)	29(46)
Trimetoprim/sulfametaksazol	95(95)	36(97)	59(93)

Toplam 100 Acinetobacter suşundaki antibiyotik direnç oranı ve slime faktör üreten ve üretmeyen suşlardaki antibiyotik direnç oranları

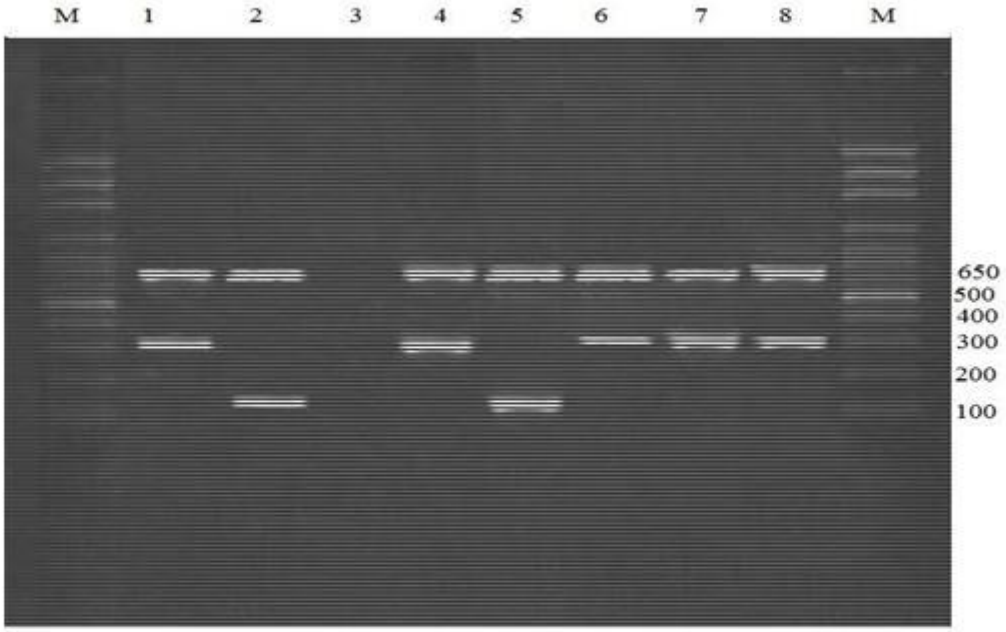
P126 - GASTROENTERİT OLGULARINDAN İZOLE EDİLEN CAMPYLOBACTER SPP. SUŞLARININ MOLEKÜLER YÖNTEMLE İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Tuba Kayman[1], Seçil Abay[2], Harun Hızlısoy[2]
[1]*Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*

Amaç
Bu çalışmada yetişkin ve çocuk hastalardan izole edilen Thermophilic *Campylobacter* spp.'nin moleküler analiz ile identifikasyonu ve elde edilen türlerin 11 farklı antimikrobiyale karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Eylül 2010-Mart 2011 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına diyare ön tanısı ile gönderilen dışkı örnekleri materyal olarak kullanıldı. Toplam 1641 adet örnek kültüre alındı. Thermophilic *Campylobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla Cefoperazone, Amphotericin B, Teicoplanin (CAT) supplement (Oxoid SR174) ilave edilmiş Campylobacter Blood-free Selective Medium (modified CCDA-Preston, Oxoid CM739, İngiltere) kullanıldı. Dışkı örneklerinden ekim yapılan besiyerleri 42^{o}C'de mikroaerobik olarak 72-96 saat inkübe edildi. Fenotipik yöntemlerle ayrımlanan Kampilobakter izolatlarının cins ve tür düzeyinde identifikasyonları multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) (Fermentas, Litvanya) ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde ise %5 koyun kanlı Mueller-Hinton besiyeri kullanıldı. Test agar disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M100-S20, 2010) önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.
Bulgular
Test edilen toplam 1641 adet dışkı örneğinin 69 (%4,2) tanesi Thermophilic *Campylobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Altmış dokuz adet izolatın 58'i *C. jejuni*, 11'i de *C. coli* olarak identifiye edildi. İzolatların antibiyotik direnç oranları tabloda gösterilmiştir.
Sonuç
Termofilik kampilobakterler için, bu çalışmada elde edilen yüksek izolasyon oranı ve çeşitli antimikrobiyal ajanlara değişen oranlarda direnç saptanması nedeniyle ishalli hastalarda bu mikroorganizmalar yönünden dışkı kültürünün yanı sıra antibiyotik duyarlılık testinin de yapılarak eldeki sonuçlara göre klinik tedavinin yönlendirilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, gastroenterit, antibiyotik direnci

Resim. Campylobacter spp. izolatlarının mPCR ile tür düzeyinde identifikasyonları



Şekil 1. Klinik olgulardan izole edilen termofilik kampilobakterler ile standart *Campylobacter* suşlarına ait mPCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü (%1,5 agaroz jel). M: Marker (100 bp), 1: *C. jejuni* NCTC 11168 standart suş (323 bp), 2: *C.coli* DCC2 standart suş (126 bp), 3: Negatif kontrol (steril distile su). Klinik izolatlar: 4-6-7-8. *C. jejuni*, 5 *C. coli.*

Tablo. C. jejuni ve C. coli izolatlarının antibiyotik direnç oranları [n(%)].

Antibiyotik	C. jejuni(n=58)	C. coli(n=11)
Trimetoprim/ Sulfometoksazol	54 (93,1)	10 (91)
Nalidiksik Asit	42 (72,4)	8 (72,7)
Siprofloksasin	46 (79,3)	7 (63,6)
Levofloksasin	42 (72,4)	5 (45,6)
Ampisilin	23 (44,8)	3 (27,3)
PiperasilinTazobaktam	14 (24,1)	1 (9)
Sefotaksim	18 (31)	5 (45,6)
Doksisiklin	14 (43,1)	2 (18,2)
Klindamisin	6 (10,3)	1 (9)
Eritromisin	3 (5,17)	0 (0)
Amikasin	0 (0)	0 (0)

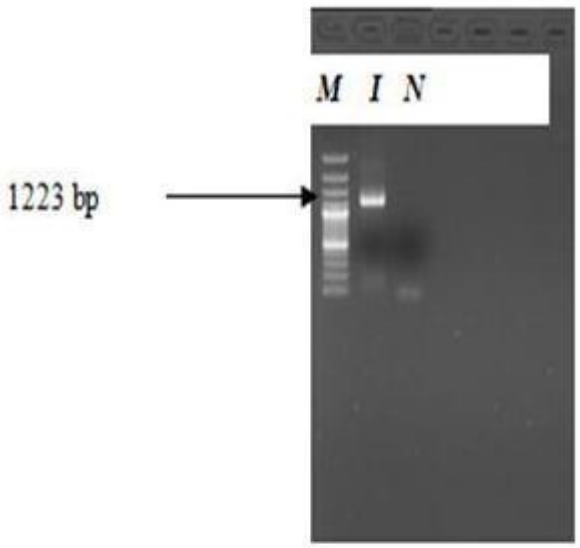
P127- AKUT GASTROENTERİT OLGULARINDAN *ARCOBACTER BUTZLERİ* İZOLASYONU VE İZOLATLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLE İDENTİFİKASYONU

Tuba Kayman[1], Seçil Abay[2], Harun Hızlısoy[2], Halil İbrahim Atabay[3], Fuat Aydın[2]
[1]*Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[3]*Şifa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Amaç
Arcobacter genusu *Campylobacteraceae* familyasında yer almaktadır. Gıda ve su kaynaklı patojenler içinde yer alan arkobakterler insanlarda gastrointestinal sistem infeksiyonları ve bakteriyemi gibi ekstraintestinal invaziv hastalık tablolarından izole edilmişlerdir. Genus içinde en önemli tür *A. butzleri* olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada akut gastroenterit olgularından *A. butzleri*izolasyonu, izolatların moleküler yöntemle identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına Mart 2010-Mart 2011 tarihleri arasında diyare ön tanısı ile gönderilen dışkı örnekleri materyal olarak kullanıldı. Çalışma için bu tarihler arasında toplam olarak 3287 adet dışkı örneği kültüre alındı. *Arcobacter* spp.'nin izolasyonu amacıyla Cefoperazone, Amphotericin B, Teicoplanin (CAT) supplement (Oxoid SR174) ilave edilmiş *Campylobacter* Blood-free Selective Medium (modified CCDA-Preston, Oxoid CM739) kullanıldı. Dışkı örneklerinden ekim yapılan besiyerleri 37^{o}C'de mikroaerobik olarak 72-96 saat inkübe edildi. Fenotipik yöntemlerle *Arcobacter* spp. olarak değerlendirilen izolatların Genus düzeyinde identifikasyonları moleküler yöntemle gerçekleştirildi. Cins-spesifik PCR için, 16S rRNA gen bölgesine göre sentezlenmiş, ArcoI ve ArcoII forward ve reverse primerleri kullanıldı. Elde edilen izolatların tür düzeyinde identifikasyonları ise multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) ile yapıldı. İdentifikasyonları yapılan izolatlardan bir tanesinin, 1223 bp uzunluğundaki ürünü otomatize dizi analiz sistemiyle analize tabi tutuldu ve AB PRISM sequencing analysis software kullanılarak elde edilen dizi, BLAST programıyla analiz edildi. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları agar disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.
Bulgular
Test edilen toplam 3287 adet dışkı örneğinin 9 (%0.3) tanesi *Arcobacter* spp., yönünden pozitif bulundu. Dokuz olgudan ayrılan izolatların tümü, Cins-spesifik PCR analizinde *Arcobacter* spp. olarak tespit edildi. Tüm izolatlar multiplex Polymerase Chain Reaction (mPCR) ile de *A. butzleri* olarak identifiye edildi. Bu izolatlardan bir tanesine yapılan sekans analizinde, izolatın gen bankasında yer alan birçok *A. butzleri* suşuyla %100 benzerlik gösterdiği bulundu. İzolatların tamamı, ampisilin, sefotaksim ve klindamisine dirençli, gentamisin, amikasin, tetrasiklin ve doksisikline duyarlı bulundu. İzolatlarda nalidiksik asite %55,5, siprofloksasin ve levofloksasine %11,1, amoksisilin klavulanik asite %88,8, kotrimoksazole %66,6 ve eritromisine %22,2 oranında direnç saptandı.
Sonuç
Sunulan bu çalışmada 1 yıllık periyotta, gastroenteritlerde bu mikroorganizmanın prevalansı %0.3 (9/3287) olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız literatür taramasında yurdumuzda gastroenteritlerde bu etken yönünden herhangi çalışma olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre sindirim sistemi enfeksiyonlarının etiyolojisi araştırılırken arkobakterlerin de göz önünde bulundurulması önerilmektedir.

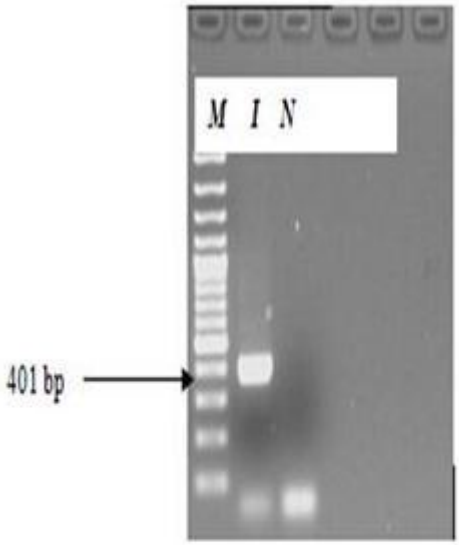
Anahtar Kelimeler: *Arcobacter butzleri*, gastroenterit, prevalans, antibiyotik duyarlılık

Arcobacter butzleri izolatının Genus ve tür spesifik PCR ile identifikasyonu



0.6% TAE-agarose gel

Resim 1. Arkobakter izolatının Genus düzeyinde identifikasyonu. Lane 1: M, Marker (100 bp plus DNA ladder), Lane 2: I, arkobakter izolatı, Lane 3: negatif kontrol



1% TAE-agarose gel

Resim 2. Arkobakter izolatının tür düzeyinde identifikasyonu. Lane 1: M, Marker (100 bp plus DNA ladder), Lane 2: I, *A.butzleri*, Lane 3: negatif kontrol

Tablo: Arcobacter butzleri izolatının BLAST analiz sonuçları

		Maksimum benzerlik
DQ464342.1	Arcobacter butzleri strain 1340-2003 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	% 100
DQ464341.1	Arcobacter butzleri strain 1137-2003 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	% 100
AY621116.1	Arcobacter butzleri strain ATCC 49616 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	% 100

P128- A GRUBU BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOK TANISINDA KÜLTÜR VE HIZLI ANTİJEN TESTİNİN KARŞILAŞTIRMASI

Mustafa Berktaş, **Mehmet Parlak**, Aytekin Çıkman, Ayşe Özkaçmaz, Hüseyin Güdücüoğlu
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
A grubu beta hemolitik streptokokların (AGBHS) neden olduğu hastalıkların başında akut tonsillofarenjitler gelmekte, bunun sonucunda akut romatizmal ateş ve akut glomerülonefrit gibi nonsüpüratif sekeller gelişebilmektedir. AGBHS infeksiyonlarının tanısında kültür altın standarttır. Boğaz salgılarından AGBHS'ların direkt tanısında kullanılan antijen saptayan testler son yıllarda klinisyenler tarafından oldukça rağbet edilen ve yaygın kullanılan testler olmuştur. Çalışmada laboratuvarımızda boğaz enfeksiyonlarında rutin olarak kullanılan hızlı antijen testi, kültür ile karşılaştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Tonsillofarenjit tanısı ile gönderilen 206 farklı hastaya ait boğaz sürüntü örneği çalışmaya dâhil edilmiştir. Hastalardan iki farklı eküvyon çubuğu ile alınan boğaz sürüntü örneklerinin biri ile Strep A Rapid Test (ACON Biotech Co., P.R.China) kiti kullanılarak hızlı antijen testi yapılmıştır. Diğeri ise kültürü yapılmak üzere koyun kanlı agar besiyerine (RTA, Türkiye) ekimi yapılmış ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda, streptokok morfolojisine sahip, katalaz negatif, PYR pozitif ve basitrasin duyarlı saptanan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Tanıda altın standart olan kültür sonuçlarına göre hızlı antijen testinin duyarlılığı, özgüllüğü ve doğruluğu hesaplanmıştır.
Bulgular
Kültürle 83 örnekte AGBHS üremesi saptanmış ve bu örneklerin 14'ünde hızlı antijen testi ile de pozitiflik bulunmuştur. Kültürü negatif bulunan 4 örnekte ise hızlı antijen testi ile pozitiflik saptanmıştır. Bu sonuçlara göre hızlı antijen testinin duyarlılığı, özgüllüğü ve doğruluğu sırasıyla %17, %97 ve %65 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Hızlı antijen testinin duyarlılığı, diğer çalışmalarla kıyaslandığında düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca duyarlılığın özgüllüğüne göre düşük olması nedeniyle hızlı antijen testi negatif saptanan hastalarda A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonu açısından boğaz kültürü mutlaka yapılması gerekmektedir. Pozitif saptananlarda ise özgüllüğünün yüksek olması nedeni ile kültür beklenmeden tedaviye başlanmasının uygun bir yaklaşım olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: A grubu beta hemolitik streptokok, boğaz kültürü, hızlı antijen testi

Kültür ve hızlı antijen testinin karşılaştırılması

	Kültür (+)	Kültür (-)	Toplam
Hızlı Antijen Testi (+)	14	4	18
Hızlı Antijen Testi (-)	69	119	188
Toplam	83	123	206

P129- YÜKSEK RİSKLİ HASTALARDA KONVANSİYONEL KÜLTÜR VE "LİGHTCYCLER® MRSA ADVANCED TEST-EŞ ZAMANLI PCR" İLE METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) BURUN TAŞIYICILIĞININ SAPTANMASI

Melda Özdamar[1], Salih Türkoğlu[1], Yeşim Biçer[2], İpek Değer Kahraman[1], Ahmet Hulusi Arslan[2], Sertaç Çiçek[2]
[1]*Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Kocaeli*
[2]*Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi Göğüs Kalp ve Damar Sağlığı Bölümü, Kocaeli*

Amaç
Metisiline dirençli Staphylococcus aureus tüm dünyada büyüyen bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmakta ve gerek yatarak, gerekse ayaktan tedavi gören hastalarda tedavisi zor, ölümcül sonuçlara yol açan infeksiyonlar olarak sağlık sistemlerinde sorun yaratmaktadır.
Bu çalışmada hastanemize elektif ameliyatlar için başvuran hastalarda MRSA infeksiyonlarının önlenmesine yönelik olarak yatış öncesi taşıyıcılığın saptanması, varolan yöntemlerin, kullanılabilirliğinin ve maliyet etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Yüksek riskli hasta grubu kriterleri, daha önce MRSA (+) olduğu bilinen hastalar, başka bir hastaneden transfer edilen hastalar, açık yarası olan hastalar, kemoterapi alan hastalar (yatan hasta veya ilk yatışında), son 6 ay içerisinde hastane yatışı olan hastalar, uzun süreli (bir hafta üzeri) üriner kateteri olan hastalar, santral venöz kateteri ve portu olan hastalar olarak belirlenmiştir.
Ameliyat edilmek üzere yatırılan çoğunluğu yabancı uyruklu, yüksek riskli 437 hastanın her iki burun deliğinden UTM Kit (Copan innovation) ve Amies taşıma besiyeri içeren (Copan innovation) sürüntü çubukları kullanılarak alınan örnekler laboratuvara gönderilmiştir. Her hasta için alınan örneklerden kanlı agar (Salubris) besiyerine ekim yapılmış, aynı anda LightCycler® MRSA Advanced Test (real-time PCR), kitin kullanım yöntemine uyularak LightCycler 2.0 cihazında uygulanmıştır.
Bulgular
Tabloda özetlenmiştir:
Sonuç
Hasta grubunda MRSA burun taşıyıcılığı oranı %6,4 çıkmıştır. Bu oran ülke prevalansı, önceden hastanede yatarak tedavi görme gibi faktörler ile de ilgilidir.
MRSA'nın hastaneye yatış öncesi taranması ek maliyet getirmekte, tüm hastalara uygulanması ise teknik ve mali açıdan mümkün görünmemektedir. Bu yüzden yüksek riskli hastalar öncelik almalıdır.
MRSA taşıyan kişilerin hızla ortaya çıkarılması, hasta izolasyonunun erken yapılmasını ve infeksiyonun yayılmasını önlemek için kritik önemdedir ve bu çalışma bunu göstermiştir. PCR yöntemi bu açıdan kültüre göre belirgin üstündür, ancak hastanın yattığı gün testin çalışılabilmesine göre uygun yöntem için karar verilmelidir; duruma göre yöntem değiştirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus, burun taşıyıcılığı, eş zamanlı PCR

Tablo 1

			KÜLTÜR	
		POZİTİF	NEGATİF	TOPLAM
	POZİTİF	21	6**	27
PCR	NEGATİF	1	400	401
	TOPLAM	22	406	437

**** 9 hasta örneği inhibitör varlığından dolayı en az 2 kez tekrar edilmesine rağmen sonuç vermemiştir ** tekrarlanan örneklerde aynı sonuç elde edilmiştir***

P130- PSEUDOMONAS AERUGİNOSA SUŞLARININ BAZI ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE VİTEK 2'NİN PERFORMANSI

Hüseyin Uzuner, Devrim Dündar
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Bu çalışmada, Pseudomonas aeruginosa suşlarının Vitek 2 (bioMérieux, France) otomatize sistemi ile saptanmış olan bazı antibiyotik duyarlılıklarının konvansiyonel yöntemler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Hastane enfeksiyon etkeni olarak izole edilmiş 41 P.aeruginosa suşunun, ceftazidime (CAZ), cefepime (FEP), imipenem (IPM), colistin (CS) ve piperacillin-tazobactam (TZP) antibiyotiklerine olan duyarlılıkları önce Vitek 2 sistemi ile belirlenmiş, daha sonra agar dilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri kullanılarak elde edilen sonuçlar otomatize sistem sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ceftazidime ve cefepime için 0,5 - 256 µg/ml, imipenem için 0,5 - 128 µg/ml, colistin için 0,25 - 64 µg/ml ve piperacillin - tazobactam için ise 4 - 1028 µg/ml aralıklarındaki dilüsyonlar çalışılmıştır. Kalite kontrol suşu olarak Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 kullanılmıştır.
Bulgular
Agar dilüsyon metodu referans alındığında, Vitek 2 sistemi ile çalışılan antibiyotiklerden hiçbirinde çok büyük hata görülmemiştir. Büyük hata oranları piperacillin - tazobactam'da % 29, ceftazidime ve colistin'de ise % 12 olarak gözlenmiş, küçük hata oranları ise piperacillin - tazobactam için % 29, ceftazidime, cefepime ve imipenem için % 24, colistin için ise % 7 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre, duyarlılık testlerinde çok büyük hata ve büyük hata oranı <= %10 ve küçük hata oranı <= %40 ise bunlar kabul edilebilir hatalar olarak değerlendirilmektedir. Bizim çalışmamızda çok büyük hata görülmemiş fakat büyük hata oranının kabul edilebilir değerden fazla olduğu gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalar da göstermektedir ki VITEK 2 sistemi P. aeruginosa'nın bazı antibiyotik duyarlılıklarının çalışılmasında hatalı sonuçlar verebilmektedir. Laboratuvarların bu tip hatalarla karşılaşabileceklerinin farkında olmaları gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pseudomonas aeruginosa, Vitek 2, direnç

Tablo 1. Agar Dilüsyon (Referans Metot) ile VITEK 2 ve Disk Difüzyon sonuçlarının karşılaştırması (n=41).

ANTİBİYOTİK	HATA	VITEK 2 Suş Sayısı (%)	DİSK DİFÜZYON Suş Sayısı (%)
Ceftazidime	Küçük Hata Büyük Hata Çok Büyük Hata	10 (%24) 5 (%12) --	2 (%5) -- --
Cefepime	Küçük Hata Büyük Hata Çok Büyük Hata	10 (%24) -- --	8 (%20) -- --
Imipenem	Küçük Hata Büyük Hata Çok Büyük Hata	10 (%24) -- --	9 (%22) -- --
Colistin	Küçük Hata Büyük Hata Çok Büyük Hata	3 (%7) 5 (%12) --	3 (%7) -- --
Piperacillin-Tazobactam	Küçük Hata Büyük Hata Çok Büyük Hata	-- 12 (%29) --	-- 8 (%20) --

Tablo 2. Agar Dilüsyon, Disk Difüzyon ve VITEK 2 duyarlılık test sonuçları (sayı).

ANTİBİYOTİK	DUYARLILIK TESTİ	S*	I*	R*
Ceftazidime	Agar Dilüsyon Disk Difüzyon VITEK 2	29 30 20	6 4 4	6 7 17

Cefepime	Agar Dilüsyon Disk Difüzyon VITEK 2	28 29 20	7 3 13	6 9 8
Imipenem	Agar Dilüsyon Disk Difüzyon VITEK 2	22 26 23	9 2 7	10 12 11
Colistin	Agar Dilüsyon Disk Difüzyon VITEK 2	38 41 36	3 0 0	0 0 5
Piperacillin-Tazobactam	Agar Dilüsyon Disk Difüzyon VITEK 2	40 32 16	-- -- 12**	1 9 13

**: S: Duyarlı, I: Orta Duyarlı, R: Dirençli **: VITEK 2 panelinde 16 - 64 µg/ml arası I olarak değerlendirilmiştir. Bu aralık CLSI' de S olarak değerlendirildiğinden, bizim çalışmamızda da bu aralık S olarak dikkate alınmıştır.*

Tablo 3. Agar dilüsyon referans metot olarak dikkate alındığında, diğer yöntemlerin hatalarının dağılımı.

YÖNTEM	ANTİBİYOTİK (HATA SAYISI)	DAHA DUYARLI	DAHA DİRENÇLİ
VITEK 2	Ceftazidime (15) Cefepime (10) Imipenem (10) Colistin (8) Pip - Tazo (12)	0 0 5 3 0	15 10 5 5 12
Disk Difüzyon	Ceftazidime (2) Cefepime(8) Imipenem (9) Colistin (3) Pip - Tazo (8)	1 3 5 3 0	1 5 4 0 8

P131- VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ ETKENLERİ VE DİRENÇ PROFİLLERİNİN YILLARA GÖRE DEĞİŞİMİ

Özlem Yoldaş[1], Gülşah Aşık[1], Mustafa Altındiş[1], İhsan Hakkı Çiftci[2]
[1]*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Afyonkarahisar*
[2]*Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Adapazarı*

Amaç
Ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) yoğun bakım ünitelerinde sık görülen, yüksek mortalite ile seyreden bir enfeksiyondur. Tanıda en sık kullanılan yöntem endotrakeal aspirat örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesidir. Çalışmamızda AKÜ Tıp Fakültesi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan gönderilmiş endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen etkenlerin dağılımının, antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi ve yıllara göre değişimin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ağustos 2008-Ağustos 2011 tarihleri arasında laboratuarımıza anestezi reanimasyon ünitesi başta olmak üzere yoğun bakım ünitelerinden gönderilen 673 endotrakeal aspirat örneğine ait kültür sonuçları etken patojenin türü ve antibiyogram profili açısından retrospektif olarak araştırılmıştır. Üreme sonuçları değerlendirilirken 105 cfu/ml ve üzeri üreme baz alınmış ve bu değerin altındaki üremeler kolonizasyon olarak kabul edilmiştir. Kültür sonucu patojen mikroorganizma izole edildiğinde konvansiyonel yöntemler ve vitek 2 otomatize identifikasyon sistemi ile tanımlanarak, antibiyotik duyarlılıkları test edilmiştir.
Bulgular
Değerlendirilen örneklerin 223'ünde (%33.1) üreme gözlenmezken 34'ü (%5) kolonizasyon olarak raporlanmıştır. Tüm örnekler değerlendirildiğinde etken dağılımı; Gram pozitifler 174(%41.8), Gram negatifler 222(%53.3), Candida türleri 20(%4.8) şeklinde olduğu gözlenmiştir. Sıklık sırasına göre %36. 5(152) metisilin dirençli Staphylococcus aureus (MRSA), %20.1(84) Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa) ve %16.1 (67) Acinetobacter baumannii (A.baumannii) etken patojen olarak saptanmıştır. Bu etkenlerden; MRSA izolatları ağırlıklı olarak 2008-2009 yıllarında izole edilirken, 2010-2011 yılları arasında P.aeruginosa ve A. baumannii izolatlarında artış gözlenmiştir. P.aeruginosa'da karbapenem ve aminoglikozid direncinde yıllara göre değişim saptanmazken sefalosporin ve kinolon direncinin arttığı görülmüştür. A. baumannii suşlarında karbapenem direncinin ürkütücü boyutlara ulaştığı, sefalosporin ve kinolon direncininde yıllar içerisinde giderek arttığı görülmüştür. Etkenlerin antibiyotik direnç profillerinin yıllara göre değişimi tabloda özetlenmiştir.
Sonuç
Yoğun bakım ünitelerinde hastanelerin diğer servislerine oranla daha çok antibiyotik kullanıldığından, dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılmaları kolaylaşmakta, bu nedenle dirençli bakterilerle meydana gelen enfeksiyonlardan VİP tedavisinde güçlükler yaşanmaktadır. Bölgemizde daha önce yapılan ve 2004-2006 yıllarını kapsayan bir çalışmada en sık Gram negatif etkenlerin izole edildiği bildirilmiş ve etken dağılımının kalitatif kültürlerde P.aeruginosa (% 29) ve MRSA (% 20), kantitatif kültürlerde ise S.aureus (% 28) ve P.aeruginosa (% 22) şeklinde olduğu raporlanmıştır. İzole edilen Gram negatif etkenlerde en etkin antibiyotik; imipenem, amikasin ve siprofloksasin olarak bildirilmiştir. Kültür sonucuna göre etkenlerin dağılımı karşılaştırıldığında toplamda MRSA izolatlarının en sık izlendiği ancak sonraki yıllarda P. aeruginosa başta olmak üzere nonfermenterlerin göreceli olarak arttığı görülmüştür. Bu izolatlarda ki karbapenemleride kapsayan çoklu antibiyotik direnci, aminoglikozidleri ön plana çıkarmıştır. Çalışmamızda, yıllar içerisinde etken yelpazesinin değişmediği ancak nonfermenterlerin sıklığının göreceli olarak arttığı ve direnç profilinde değişim görüldüğüne işaret etmektedir. Özellikle nonfermenter etkenlerde artan karbapenem direnci nedeniyle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere tüm birimlerin tedavi seçeneklerinin yeniden gözden geçirilmesi ve bu bilgiler ışığında güncellenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Endotrakeal aspirat, Ventilatör ilişkili pnömoni, Antibiyotik direnci

Nonfermenter etkenlerin antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre dağılımı (%)

Antibiyotikler	YIL	P.aeruginosa	A.baumannii
Imıpenem	2008-2009	%58	%56.2
Imıpenem	2010-2011	%56.6	%90.1
Meropenem	2008-2009	%51.6	%62.5
Meropenem	2010-2011	%49	%92.1
Gentamisin	2008-2009	%20	%56.2
Gentamisin	2010-2011	%20.7	%40

Amikasin	2008-2009	%9.5	%5o
Amikasin	2010-2011	%7.5	%13.7
Seftazidim	2008-2009	%90	%93.7
Seftazidim	2010-2011	%100	%100
Sefepim	2008-2009	%54.8	%93.7
Sefepim	2010-2011	%58.4	%90.1
Siprofloksasin	2008-2009	%19	%56.2
Siprofloksasin	2010-2011	%26.4	%86.2

P132 - STAPHYLOCOCCUS AUREUS ÜROSEPSİSİNDE PANTON-VALENTINE LEUKOCİDİN'İN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Esra Gövce[1], Kurtuluş Buruk[1], Gülçin Bayramoğlu[1], Burak Aksu[2], İlknur Tosun[2]
[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon*
[2]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*

Amaç
Staphylococcus aureus; pnömoni, menenjit, sepsis gibi hayatı tehdit eden enfeksiyonlara neden olan önemli patojenlerden biridir. Çeşitli klinik durumlarla ilişkilendirilmiş toksinler salgılamaktadır. Bunlardan biri de beyaz küre hücrelerini parçalayan Panton-Valentine lökosidindir (PVL). PVL; doku nekrozları, tekrarlayan deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, nekrotizan pnömoni, derin yerleşimli apseler gibi enfeksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada idrar yolu infeksiyonu sonrası bakteriyemiye neden olan S.aureus izolatlarında PVL'nin rolünün araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Bu amaçla 2009–2011 yıllarında KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD Hasta Hizmetleri Laboratuarı Bakteriyoloji Bölümünde çalışılan kan ve idrar kültürlerinin sonuçları incelendi. İdrar yolu enfeksiyonuna neden olan 16 ve idrar yolu enfeksiyonu sonrası sepsise yol açan 17 S.aureus suşu olmak üzere toplam 33 izolat belirlendi. Pozitif kontrol olarak S.aureus ATCC49775 suşu kullanıldı. Yeniden pasajlanan izolatlardan DNA izolasyonu yapıldı. 16S rRNA genine özgül primerlerle DNA izolasyonu ve inhibitör varlığı kontrol edildikten sonra PVL genine özgül primerlerle geleneksel PZR yöntemiyle toksin geni varlığı araştırıldı.
Bulgular
Pozitif kontrol olarak kullanılan standart suş dışında PVL pozitifliği saptanmadı
Sonuç
Sonuç olarak S.aureus ürosepsisinde PVL'nin rolü olmadığı belirlendi. Çalışma kapsamında diğer virulans faktörlerinin araştırılması devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ürosepsis, Panton-Valentıne Leukocidin, S.aureus

P133- VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOK TARAMASINDA KULLANDIĞIMIZ GENEL ÜRETİM BESİYERİ İLE REAL-TİME PCR SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Reyhan Yiş, Süleyman Değirmenci
Gaziantep Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Gaziantep

Giriş
Enterokoklar insan gastrointestinal sisteminde normal flora elemanı olarak bulunmakta ve nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadırlar. VRE kaynağı hastanede yatan hastalardaki GİS kolonizasyonu olup hastanede yatış süresinin uzaması, antibiyotik kullanım öyküsü ve altta yatan ciddi hastalıklar kolonizasyon riskini arttırmaktadır. Yüksek risk grubuna giren hastalardan sürveyans kültürleri alınması ile kolonizasyonun erken saptanması, olası infeksiyonların oluşumunu engelleyeceği için önem taşımaktadır. Bu amaçla kullanılacak besiyerleri ve yöntem seçimi VRE'lerin hızla saptanarak kliniklere bildirilmesi ve izolasyon önlemlerinin zaman kaybetmeden alınması açısından büyük önem taşımaktadır.
Amaç
Gaziantep Çocuk Hastanesinde yoğun antibiyotik kullanımının olduğu servislerde yatan hastaların VRE taraması amacıyla alınan perirektal sürüntü örneklerinin değerlendirilmesinde genel üretim besiyeri ile Real time PCR sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç Yöntem
Çocuk cerrahi servisinden 60, Çocuk Cerrahi Yoğun Bakımdan 19, Yandallar servisinden 9, Yandallar yoğun bakımdan 47, Yenidoğan yoğun bakımdan 111 olmak üzere toplam 246 örnek alınmış ve Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Servislerden gönderilen perirektal sürüntü örneklerinin %5'lik koyun kanlı agara ekimi yapılmış ve 35 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirmeye alınmıştır. İdentifikasyonda konvansiyonel yöntemlerin yanında API 20 Strep (BioMerieux-Fransa) bakteri identifikasyon kiti ve VITEK2 (BioMerieux-Fransa) tam otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır. İzolatların vankomisin (30 µg) ve teikoplanin (30 µg) duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine uygun olarak araştırılmıştır. Bunun yanında VITEK2 antibiyogram kartı AST-592 kullanılarak vankomisin ve teikoplanin duyarlılıkları belirlenmiştir. Eş zamanlı olarak perirektal sürüntü örnekleri BD GeneOhm VanR kiti (BD Diagnostics) kullanılarak Real-Time PCR cihazı SmartCycler (Cepheid) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.
Bulgular
Her iki yöntem ile negatif çıkan örnek sayısı 163 iken, 40 örnek her iki yöntem ile pozitif olarak saptanmıştır. Kültür sonucu negatif olduğu halde BD GeneOhm VanR kiti ile pozitif saptanan 41 örnek ve kültür sonucu pozitif olduğu halde BD GeneOhm VanR kiti ile negatif saptanan 2 örnek olduğu belirlenmiştir. Yöntemler arası toplam uyum % 83 (203/ 246) olarak belirlenmiş ve uyumun değerlendirilmesinde Cohen kappa değeri 0.56 (orta düzeyde uyumlu) olarak hesaplanmıştır. Kültür pozitif saptanan örneklerde 1 tanesi haricinde tümü VanA fenotipi taşıyan *E. faecium* olarak saptanmış, diğer örnek hem kültür hem de Real time PCR yöntemi ile VanB fenotipi taşıyan *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır.
Sonuç
BD GeneOhm VanR kiti VRE kolonizasyonun saptanmasında kullanılabilecek iki saatte sonuç veren hızlı bir yöntem olup bu yöntem ile pozitif, ancak kültür ile negatif saptanan örnek sayısının fazlalığının, izolasyonda kullanılan besiyerinin selektif olmayan genel üretim besiyeri olmasından ve bu nedenle VRE'lerin normal gaita florası ile baskılanarak saptanamamış olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Tüm hastaneler VRE ile kolonize olan hastaları erken dönemde saptayarak gerekli izolasyon önlemlerini almak, hastane içi yayılımı ve klinik infeksiyonların ortaya çıkışını önlemek amacıyla uygun izolasyon ve identifikasyon yöntemini belirlemeli, gerekli durumlarda moleküler yöntemlerden faydalanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: İzolasyon, Real-Time PCR, VRE

P134- GAZİANTEP ÇOCUK HASTANESİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN VRE'LERİN VANKOMİSİN, TEİKOPLANİN VE LİNEZOLİD DUYARLILIKLARININ SAPTANMASINDA DİSK DİFÜZYON, E TEST VE OTOMATİZE SİSTEM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Reyhan Yiş, Süleyman Değirmenci
Gaziantep Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Gaziantep

Giriş
Enterokoklar insan gastrointestinal sisteminde normal flora elemanı olarak bulunmakta ve nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadırlar. Sefalosporinlere, penisilinlere, linkozamidlere, aminoglikozidlere (düşük düzeyde) intrensek olarak dirençlidir. En belirgin olarak penisilin/ampisilin, aminoglikozidler (yüksek düzey direnç) ve glikopeptidlere karşı kazanılmış direnç gösteren izolatlar giderek artan sayıda rapor edilmekte ve bu vakalarda tedavi spektrumları kısıtlılık göstermektedir. Linezolid vankomisin dirençli enterokolar ile oluşan infeksiyonların tedavisinde klinik kullanıma giren antimikrobiyallerden biri olup vankomisin direncinden bağımsız olarak bütün enterokok türlerine karşı etkindir.

Amaç
Çalışmamızda Gaziantep Çocuk Hastanesinde yoğun antibiyotik kullanımının olduğu servislerde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen vankomisin dirençli 43 adet E. faecium izolatının vankomisin, teikoplanin ve linezolid duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç Yöntem
Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerin %5'lik koyun kanlı agar, EMB agar ve Çukulata agara ekimi yapılmış, plaklar 35 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirmeye alınmıştır. Üreyen bakterilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntemlerin yanında VITEK2 (BioMerieux-Fransa) tam otomatize identifikasyon sistemi ile belirlenmiştir. Çalışmaya alınan izolatların vankomisin (10 µg, Oxoid), teikoplanin (10 µg, Oxoid) ve linezolid (30 µg, Oxoid) antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar'da (Oxoid, UK) çalışılmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri de VITEK2 antibiyogram kartı AST-592 ile ve Mueller Hinton agar'da Etest® (AB Biodisk, Solna, İsveç) yöntemleriyle çalışılmış, sonuçlar Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşları olarak *E. faecium* ATCC 29212 ve *E. casseliflavus* ATCC 700327 kullanılmıştır.

Bulgular
Toplamda 29 kan kültürü, 9 trakeal aspirat ve 5 idrar kültüründe vankomisin dirençli E. faecium üremesi saptanmıştır. Tüm izolatlarda VITEK2 sistemi ile vankomisin ve teikoplanin MIK değerleri >32 mcg/ml olarak belirlenmiş, Linezolid için aynı sistem ile MIK değerleri 0,75 - 2 mcg/ml arasında bulunmuştur. İzolatların E test ile vankomisin ve teikoplanin MIK değerleri 64 -256 mcg/ml olarak belirlenmiş, bunun yanında Linezolid tüm izolatlarda duyarlı olarak saptanmış MIK değerleri 0,75 -2 mcg/ml olarak belirlenmiştir. Vankomisin, teikoplanin ve linezolid duyarlılıkları değerlendirilen 43 izolat için sonuçlar tablo1'de yer almaktadır. İzolatların vankomisin ve teikoplanin için MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 96 ve256 mcg/ml, linezolid için ise 1 ve 2 mcg/ml olarak saptanmıştır.

Sonuç
Çalışmamızda yer alan vankomisin dirençli *E. faecium* izolatları arasında linezolide dirençli izolat saptanmamıştır. VRE'lerde Vankomisin, teikoplanin ve linezolid duyarlılıklarının saptanmasında önerilen E test yönteminin ve otomatize sistem sonuçlarının bu izolatlar için disk difüzyon yöntemi sonuçları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: VRE, Linezolid, E Test

İzolatların vankomisin, teikoplanin ve linezolid duyarlılık sonuçları

	Disk difüzyon Sonucu	n	E test ile MIC değeri	n	VITEK2 ile MIC değeri	n
Vankomisin	<6 mm	34	64 mcg/ml	12	>32 mcg/ml	43
	8 mm	6	128 mcg/ml	18		
	10 mm	3	256 mcg/ml	13		
Teikoplanin	<6 mm	33	64 mcg/ml	12	>32 mcg/ml	43
	8 mm	7	128 mcg/ml	20		
	10 mm	3	256 mcg/ml	11		
Linezolid	26 mm	10	0,75 mcg/ml	13	0,75 mcg/ml	10
	28 mm	17	1 mcg/ml	13	1 mcg/ml	16

	30 mm	13	1,5 mcg/ml	9	1,5 mcg/ml	7
	32 mm	3	2 mcg/ml	8	2 mcg/ml	10

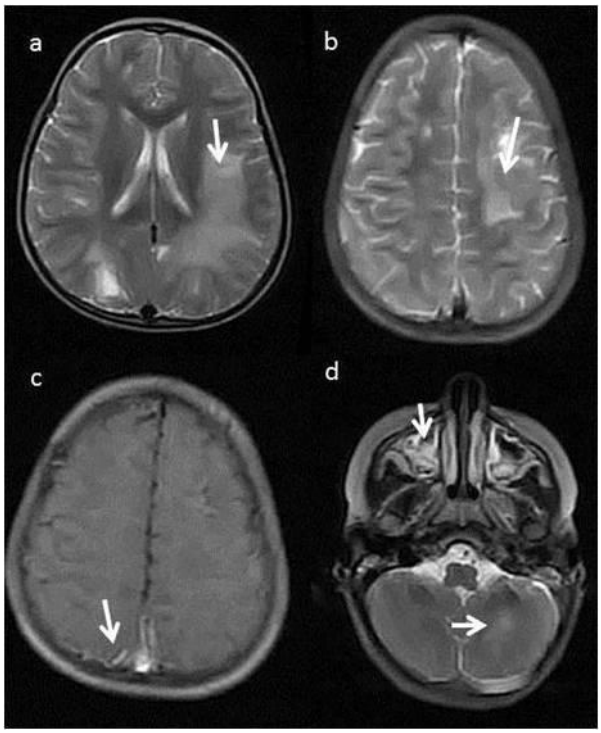
P135- SAĞLIKLI İKİ ÇOCUK OLGUDA *STREPTOCOCCUS MİTİS*'E BAĞLI MENENJİT VE BEYAZ CEVHER LEZYONLARI

Reyhan Yiş[1], Uluç Yiş[2]
[1]*Gaziantep Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Gaziantep*
[2]*Gaziantep Çocuk Hastanesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları, Çocuk Nöroloji, Gaziantep*

Giriş
S. mitis; orofarinks, gastrointestinal sistem, dişi genital sistemi ve derinin normal florasında bulunmaktadır. Virulans ve patojenitesi düşük olup immun sistemi baskılanmış hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir. *S. mitis'*in etken olduğu menenjit; spinal anestezi uygulanmış, beyin-omurilik cerrahisi geçirmiş, maligniteli, oral hijyeni bozuk, maksiler sinüziti olan, bakteriyel endokarditi olup nörolojik komplikasyon gelişen hastalarda ve alkoliklerde tanımlanmış olup öncesinde tamamen sağlıklı olan hastalarda nadiren görülmektedir.
Olgu 1
Hastaneye ateş, bilinç değişikliği ve baş ağrısı yakınmaları ile getirilen ve daha öncesinde sağlıklı olan sekiz yaşında kız hasta, menenjit tanısı ile yoğun bakıma yatırıldı. Öyküsünden başvurusundan on gün önce akut sinüzit nedeniyle tedavi aldığı öğrenildi. Tam kan sayımında hemoglobin 13 gr/dL, beyaz küre 18.6×109/L (%90 nötrofil) ve trombositi 200 × 109/L olan hastanın BOS incelemesinde 150 lökosit saptandı. Beyin omurilik sıvısı protein ve glukoz değerleri sırasıyla 80 mg/dL (10-40) ve 40 mg/dL (eş zamanlı kan şekeri 100 mg/dL) idi. Bilinç bulanıklığı nedeniyle yapılan beyin MR incelemesinde yaygın beyaz cevher lezyonları ve sinüzit görüldü. Ampirik olarak seftriakson (100 mg/kg/gün) ve Vankomisin (60 mg/kg/gün) tedavisi başlanan hastaya beyaz cevher lezyonları için deksametazon tedavisi verildi.
Olgu 2
Hastaneye bilinç değişikliği ve jeneralize konvulsiyon yakınmaları ile getirilen, üç günlük ateş geçmişi olan ve öncesinde sağlıklı olan altı yaşında erkek hasta, menenjit tanısı ile yoğun bakıma yatırıldı. Fizik bakıda çocukta bilinç bulanıklığı, ense sertliği, ateş saptanırken, kötü oral hijyen dikkat çekici bulundu. Hastanın derin tendon refleksleri hiperaktif olarak alınırken beyin BT sonucu normal olarak saptandı. Tam kan sayımında beyaz küre 16.6×103 /uL ve serum CRP düzeyi 3.53 mg/dl olarak saptandı. Beyin omurilik sıvısında mm3'te 20 hücre varken protein ve glukoz değerleri sırasıyla 91.3 mg/dl ve 76 mg/dl idi. Bilinç bulanıklığı nedeniyle yapılan beyin MR incelemesinde yaygın beyaz cevher lezyonları görüldü. Ampirik olarak seftriakson (100 mg/kg/gün) ve Vankomisin (60 mg/kg/gün) tedavisi başlanan hastaya beyaz cevher lezyonları için intarvenöz immunglobulin tedavisi verildi.
Gereç Yöntem
Kan ve BOS kültürleri mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen her iki hastanın kan kültürlerinde üreme olmazken, beyin omurilik sıvısı (BOS) kültürlerinde alfa hemolitik streptokok üremesi saptandı. BOS kültürlerinde üreyen kolooninin identifikasyonu amacıyla koloni morfolojisinin değerlendirilmesi, Gram boyama, optokin testi, bile esculin agar ve % 6,5 NaCl'lü besiyerinde üreme ve katalaz testi gibi standart testler uygulandı. API 20 STREP (BioMerieux- Fransa) ve VITEK2 (BioMerieux- Fransa) tam otomatize sistem kullanılarak *S. mitis* identifikasyonu kesinleştirildi. İzolatın antibiyotik duyarlılıkları %5 koyun kanlı Mueller Hinton agar kullanılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre belirlendi. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre izolat penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, sefotaksim, vankomisin ve kloramfenikole karşı duyarlı olarak bulundu.
Sonuç
Her iki hastanın öyküsünde immun sistem disfonksiyonu düşündürecek bulgu olmamakla birlikte tam kan değerleri, periferik yayma, immunglobulin ve kompleman düzeyleri normaldi. İlk hastanın MR incelemesinde özellikle maksiller sinüslerde inflamasyon devam ettiği için menenjitin, öncesinde geçirilmiş sinüs infeksiyonu ile, ikinci hastada ise kötü oral hijyen ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Her iki hasta da 14 günlük tedavinin ardından sekelsiz taburcu edildi. Sonuç olarak daha öncesinde sağlıklı olup predispozan bir faktöre sahip immunkompetan çocuklarda S. mitis menenjit ve beyaz cevher lezyonlarına yol açabileceği için ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Çocuk hasta, S. mitis, menenjit

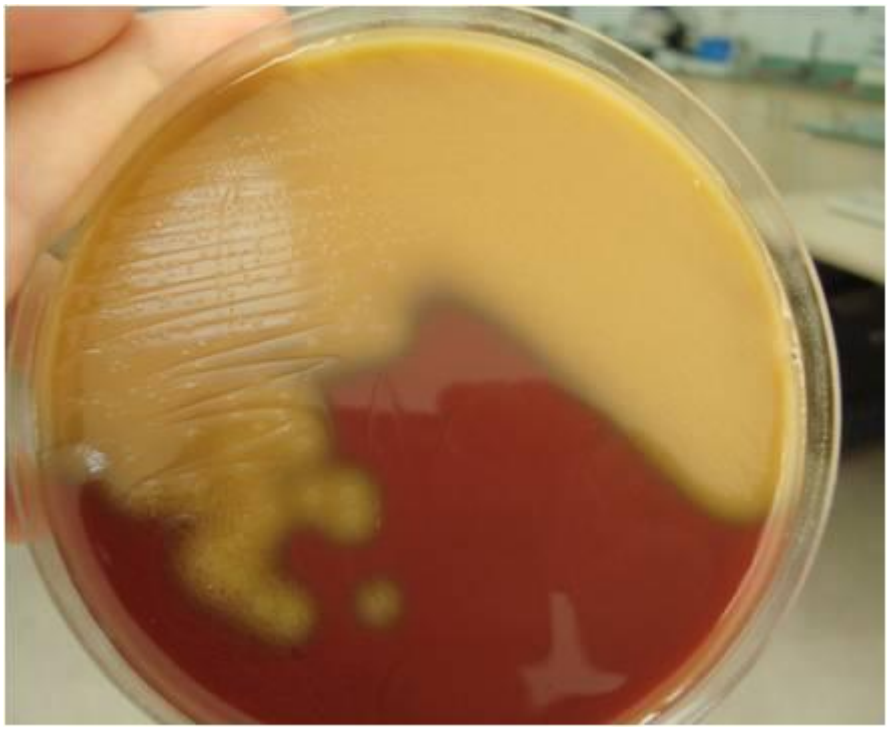
Resim1. Sağ parietal ve frontal lobda beyaz cevher değişiklikleri (oklar) (a,b); hafif meningial kontrast tutulumu (oklar) (c); sağ serebellumda beyaz cevher değişikliği ve sinüzit (oklar) (d)



Resim2. Alfa hemolitik kolonilerin %5 koyun kanlı agardaki görünümleri



Resim3. Alfa hemolitik kolonilerin çukulata agardaki görünümleri



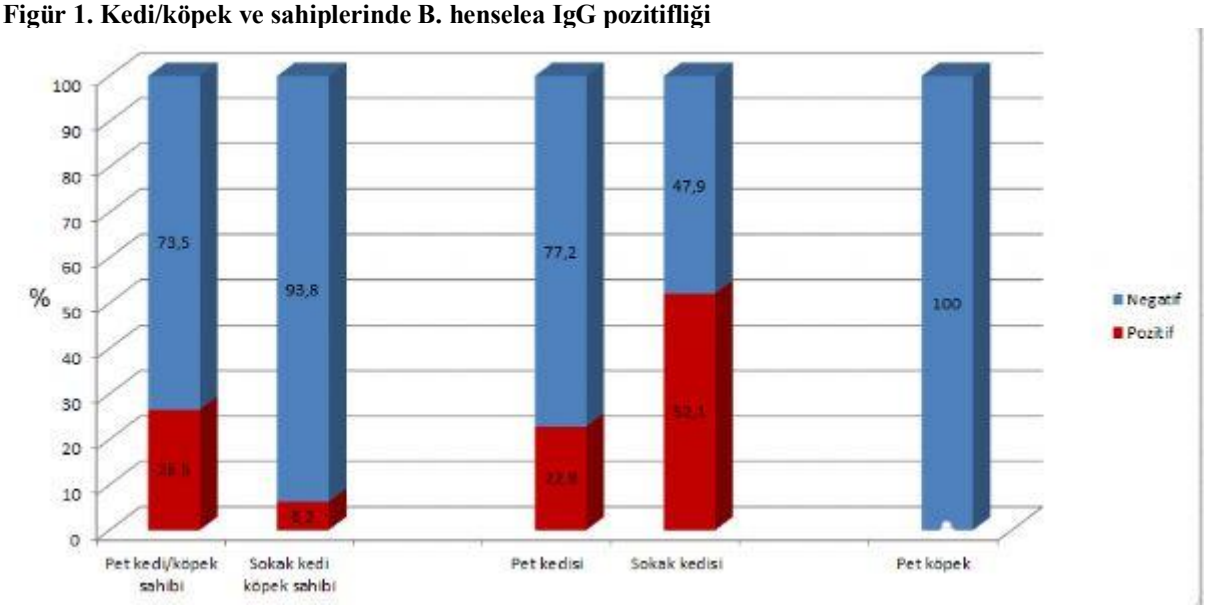
P136 - RİSK GRUBU İNSANLARDA, KEDİ VE KÖPEKLERDE *BARTONELLA HENSELAE* SEROPREVALANSI

Neriman Aydın[1], Berna Gültekin[1], Şükrü Kırkan[2], Murat Telli[1], Mete Eyigör[1], Meltem Aksoy[1], Serten Tekbıyık[2]
[1]*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Aydın*
[2]*Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Aydın*

Amaç
Bu çalışmada bartonelloz açısından risk grubunda bulunan kedi ve/veya köpek sahibi olan insanlarda, kedilerde ve köpeklerde Bartonella henselae seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada 34'ü pet kedi/köpek sahibi ve 97'si sokak/köpek kedisi sahibi olmak üzere toplam 131 insan, 57'si pet 48'i sokak kedisi olmak üzere toplam105 kedi ve 45 pet köpek olmak üzere toplam 281 örnekte indirekt immünofloresan yöntem (IFA) ile B. henselae IgG pozitifliği araştırılmıştır. Serum örnekleri Bartonella henselea&quintana IFA IgG (Vircell, İspanya) kiti ile 1:32 ve 1:64 titrede çalışılmış, 1:64 titrede pozitiflik saptanan örnekler 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 dilüsyonlarda B. henselea&quintana IFA IgG (Vircell, İspanya) ve B. henselea&quintana IFA IgG (Focus Technologies, ABD) kitleri ile test edilmiştir. Kedi ve köpek serumları için testin konjugat aşamasında sırası ile keçi anti-kedi ya da keçi anti-köpek IgG-floresein izotiyosiyonat (Santa Cruz Biotechnology, ABD) kullanılmıştır. Test lamları, iki ayrı araştırmacı tarafından floresan mikroskopta x400 büyütme ile incelenerek floresans +1-+4 olarak skorlanmış, >=1:64 titrede >=+2 floresans saptanan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Bartonella henselae IgG risk gubu insanlarda (kedi/köpek sahibi) ortalama %11,5, pet kedi/köpek sahiplerinde %26,47 oranında bulunmuştur. Pet hayvan sahiplerinin B. henselae seroprevalansı sokak hayvanı sahipleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu belirlenmiştir
Kedilerde B. henselae seroprevalansı ortalama %36,2, pet kedilerinde %22,80, sokak kedilerinde ise %52.08 oranında bulunmuştur. Sokak kedilerinde B. henselae seroprevalansı pet kedilerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Köpeklerden alınan örneklerin hiçbirinde pozitiflik saptanmamıştır.
Sonuç
Bu çalışma ile evde pet hayvan besleyen insanlarda ve sokak kedilerinde B. henselae IgG pozitifliğinin yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle kediler ile yakın teması olan hastalarda ayırıcı tanıda B. henselae infeksiyonları düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Bartonella henselae*, kedi, köpek

Figür 1. Kedi/köpek ve sahiplerinde B. henselea IgG pozitifliği



Tablo 1. Kedi/köpek sahibi insanlarda B. henselae IgG seroprevalansı

Grup	B. henselae IgG pozitif	B. henselae IgG negatif	Toplam
Pet kedi/köpek sahibi	9 (%26,5)	25 (%73,5)	34 (%100)

Sokak kedi/köpek sahibi	6 (%8,2)	91 (%91,8)	97 (%100)
Toplam	15 (%11,5)	116 (%88,5)	131 (%100)

Tablo 2. Kedilerde B.henselae IgG pozitifliğinin gruplara göre dağılımı

Grup	B.henselae IgG pozitif	B.henselae IgG negatif	Toplam
Pet kedisi	13 (%22,8)	44 (%77,2)	57 (%100)
Sokak kedisi	25 (%52,1)	23 (%47,9)	48 (%100)
Toplam	38 (%36,2)	67 (63,8)	105 (%100)

Tablo 3. Kedilerde B. henselae IgG pozitifliğinin sulandırımlara göre dağılımı

Pozitiflik Titresi	B. henselae IgG pozitif
1/64	21 (%20,0)
1/128	14 (%13,3)
1/256	3 (%2,8)
Toplam	38 (%36,2)

P137 - KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN METİSİLİNE DİRENÇLİ STAFİLOKOK SUŞLARININ DAPTOMİSİN DUYARLILIK SONUÇLARI

Hayrunisa Hancı, M. Hamidullah Uyanık, Dilek Bilici, Ayşe Albayrak, **Ahmet Ayyıldız**
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Erzurum

Amaç
Gram pozitif mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonların insidansı dünya genelinde artmaktadır. Genelde hastane kökenli enfeksiyonlardan izole edilen metisilin-dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) toplum kaynaklı enfeksiyonlara da neden olmaktadır. Septiseminin en önemli etkeni olan koagülaz negatif stafilokoklar ortopedik ve kardiak protez kullananlarda, uzun süreli kateter kullanımında, immunsüpresif ve yenidoğan hastalarda artan oranlarda izole edilmektedir.
MRSA tedavisinde glikopeptidler ilk önerilen ilaçlardandır ancak vankomisin ve teikoplaninin uzun süreden beri MRSA enfeksiyonlarında ilk tercih olarak kullanılması orta düzeyde direncin gelişmesine neden olmuştur. Ayrıca yavaş öldürücü etkileri ve yan etkileri de glikopeptidlere alternatif yeni antibiyotiklerin arayışını beraberinde getirmiştir. Streptomyces roseosporus tarafından üretilen doğal bir ürün olan ve klinik kullanıma yeni giren daptomisin etkinliğini bakteri membranı sentezini bloke ederek gösterir. Metisilin dirençli stafilokoklar da dahil aerob ve anaerob gram pozitif mikroorganizmalarda hızlı bakterisidal etkiye sahiptir. Çalışmamızda daptomisinin MRSA ve MRKNS suşlarındaki etkinliği araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvara gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 54 MRSA ve kan kültürlerinden izole edilip hastane enfeksiyonu etkeni olduğu belirlenen 29 MRKNS suşu çalışmaya dahil edildi. Stafilokokların tanımlanmaları konvansiyonel yöntemlerle, metisilin duyarlılıkları ise Mueller- Hinton agarda (bioMe´rieux, Marcy l'Etoile, France) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda 30 µg sefoksitin diski (Oxoid) kullanılarak yapıldı. Suşların daptomisin duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) yöntemiyle saptandı. Minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri <=1 µg/ml olan suşlar duyarlı kabul edildi.
Bulgular
Çalışmamızda tüm suşlar vankomisine duyarlı idi. MRSA suşlarından 1 tanesi daptomisine dirençli (3 µg/ml), MRKNS suşlarının ise tümü daptomisine duyarlı idi. MRSA ve MRKNS suşlarında MIC50 ve MIC90 değerleri eşit bulundu (MIC50=0.125 µg/ml, MIC90=0.25 µg/ml).
Sonuç
Glikopeptidler, MRSA infeksiyonlarının tedavisi için altın standart antibiyotikler olmasına rağmen, son yıllarda glikopeptidlere azalmış duyarlılığı olan Stafilokok suşları ortaya çıkmaya başlamıştır. Vankomisinin MİK değerindeki küçük değişiklikler bile klinik olarak anlamlı olabileceğinden, vankomisin MİK'i duyarlılık sınırını geçtiğinde, olası tedavi başarısızlığını önlemek için son yıllarda kullanıma giren alternatif ajanlar önerilmektedir. Daptomisin özellikle ciddi ve dirençli Gram pozitif bakteri infeksiyonlarında iyi bir antimikrobiyal ajandır. Çalışmamızda saptanan in-vitro duyarlılık sonuçlarına göre MRSA ve MRKNS suşlarının neden olduğu infeksiyonların tedavisinde Daptomisinin etkili bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Daptomisin, MİK, MRKNS, MRSA

P138 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK SUŞLARINDA METİSİLİN VE LİNEZOLİD DİRENÇ ORANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Alicem Tekin[1], Tuba Dal[1], Özcan Deveci[2], Recep Tekin[2], Nida Özcan[1], Selahattin Atmaca[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.BD, Diyarbakır*

Amaç
Linezolid, oksazolidinon adı verilen yeni bir sınıfın ilk üyesi olup klinik açıdan önem taşıyan gram pozitif bakterilere karşı etkili bir antibakteriyel ajandır. Linezolid, ribozomal 50S altbirimine bağlanarak 70S bağlanma kompleksinin oluşumunu engeller. Böylece protein sentezi sırasında translasyonun bağlanma fazını inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir. Linezolid hem oral hem de parenteral olarak kullanılabilen bir antibakteriyeldir. Bu çalışmanın amacı; klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen metisiline duyarlı ve dirençli stafilokokların linezolid direncini in-vitro olarak araştırmaktır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2007-Ağustos 2011 tarihleri arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürlerinden izole edilen toplam 800 stafilokok izolatı çalışma kapsamına alındı. Kan kültürü şişeleri Bactec 9120 ve 9240 (Becton Dickinson, USA) cihazında inkübe edildi. Mikroorganizma üremesi saptanan kan kültürü şişelerinden kan örnekleri alınarak %5 koyun kanlı agar ve Eosin Metilen Blue (EMB) besiyerlerinin yüzeyine kantitatif olarak inoküle edildi. Besiyeri plakları 37°C'lik inkübatörde 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yüzeyinde bakteri üreyen besiyeri plakları incelemeye alındı. Sadece koyun kanlı agar besiyerinde üreyen stafilıkok izolatlarının identifikasyonu konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama, katalaz testi, lam ve tüp koagülaz testleri, DNAse testi) ve Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi kullanılarak yapıldı. Ayrıca, stafilokok izolatlarının metisilin ve linezolid duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile de çalışıldı. Disk difüzyon yönteminde kültür besiyeri olarak Müller-Hinton agar (Oxoid, Basingstoke, U.K.) ve antibiyotik içeren diskler olarak 1µg oksasilin, 30 µg sefoksitin ve linezolid (Oxoid, Basingstoke, U.K.) diskleri kullanıldı. Orta duyarlı olarak belirlenen izolatlar duyarlı kabul edildi. Antibiyotik duyarlılık testinde kalite kontrol amacıyla standart suş olarak Staphylococcus aureus ATCC 25923 kullanıldı.
Bulgular
Klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden elde edilen 771 (%88.6) koagülaz negatif stafilokok (KNS) ve 99 (%11.4) Staphylococcus aureus olmak üzere toplam 870 izolat çalışma kapsamına alındı. Antimikrobiyal duyarlılık testi çalışmalarında 870 stafilokok izolatının; 700'ünün (%80.5) metisiline dirençli, 170'inin (%19.5) metisiline duyarlı olduğu saptandı. Metisiline dirençli 700 izolatın 15'inin (%1.9) ayrıca linezolid direnci olduğu da tespit edildi (Tablo 1).
Sonuç
Günümüzde, beta-laktam halkası taşıyan antibiyotiklere dirençli MRSA suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan glikopeptidlere alternatif bir seçenek olabilecek yeni antibiyotik arayışları hız kazanmıştır. Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda stafilokok izolatlarının linezolid duyarlılıkları incelenmiş olup MSSA izolatlarınnın tamamının duyarlı, buna karşılık MRSA izolatlarından 15'inin aynı zamanda linezolide dirençli olduğu tespit edilmiştir. Linezolid, metisiline dirençli stafilokokların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde iyi bir alternatif seçenek olarak karşımızda durmaktadır. Ancak, linezolide karşı hızla direnç gelişmekte olduğu da göz ardı edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler: Linezolid, metisilin, stafilokok, oksazolidinon, KNS

Tablo 1. Kan kültürlerinden elde edilen metisilin ve linezolid dirençli stafilokok izolatlarının kliniklere göre dağılımı.

no	mikroorganizma türü	metisilin	linezolid	gönderen klinik adı
1	Staphylococcus kloosii	R	R	Plastik Cerrahi Servisi
2	Staphylococcus aureus	R	R	Nefroloji Polikliniği
3	Staphylococcus hyicus	R	R	Pediatrik Enfeksiyon Servisi
4	Staphylococcus cohnii	R	R	Onkoloji Servisi
5	Staphylococcus cohnii	R	R	Göğüs Hastalıkları Servisi
6	Staphylococcus kloosii	R	R	Yenidoğan Servisi

7	Staphylococcus cohnii	R	R	Kardiyoloji Servis
8	Staphylococcus kloosii	R	R	Yenidoğan Servisi
9	Staphylococcus schleiferi	R	R	Yenidoğan Servisi
10	Staphylococcus kloosii	R	R	Pediatrik Enfeksiyon Servisi
11	Staphylococcus capitis	R	R	Yenidoğan Servisi
12	Staphylococcus kloosii	R	R	Yenidoğan Servisi
13	Staphylococcus capitis	R	R	Endokrinoloji Servisi
14	Staphylococcus cohnii	R	R	Pediatrik Enfeksiyon Servisi
15	Staphylococcus hominis	R	R	Hematoloji Servisi

R: Dirençli

P139 - YATAN HASTALARDA İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN TÜR DAĞILIMI VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI

Tuba Dal[1], **Alicem Tekin[1]**, Recep Tekin[2], Özcan Deveci[2], Şükran Can[1], Tuncer Özekinci[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*

Amaç
İdrar yolu enfeksiyonlarına yol açan etkenler arasında gram negatif mikroorganizmalar özellikle de Enterobacteriaceae ailesi üyeleri önemli bir yer tutmaktadır. İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizma türlerinin dağılımı ile antimikrobiyal duyarlılıkları bölgeden bölgeye farklılık gösterebilmekte ve bu mikroorganizmaların antimikrobiyallere direnci hızla artmaktadır. Günümüzde, hızla artan direnç nedeniyle özellikle hastanede yatan hastalarda gelişen idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde güçlüklerle karşılaşılmaktadır. Bu nedenle her hastanede idrar yolu enfeksiyonu etkenlerinin tanımlanması, antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması ve elde edilen verinin belirli aralıklarla değerlendirilmesi, uygun tedavi stratejilerinin belirlenmesi için zorunlu hale gelmiştir. Bu çalışmada; hastanede yatan ve idrar yolu enfeksiyonu gelişen hastaların idrar örneklerinden izole edilen gram negatif mikroorganizmaların belirlenmesi ve bu mikroorganizmaların tedavide sıklıkla kullanılan antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının saptanması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Ocak 2006-Eylül 2011 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastaneleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar örneklerinden izole edilen gram negatif mikroorganizmalar retrospektif olarak çalışma kapsamına alındı. İdrar yolu enfeksiyonu ön tanısı konulan hastalardan steril şartlarda alınan orta akım idrar örnekleri %5 koyun kanlı agar ve Eosin-Methylene Blue (EMB) agar besiyerlerinin yüzeyine kantitatif olarak inoküle edildi. İnokülasyon 4 mm çapında 0.01 ml idrar alabilen standart özeler kullanılarak yapıldı. Besiyeri plakları 37°C'lik inkübatörde 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yüzeyinde tek tip bakteri üreyen ve %5 koyun kanlı agardaki koloni sayısı >=105 cfu/ml olan idrar örnekleri incelemeye alındı. Elde edilen izolatların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama, İMVİC reaksiyonları) ve Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi kullanıldı. İzole ve identifiye edilen suşların tamamının antimikrobiyal duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak otomatik identifikasyon sistemi tarafından Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenerek çalışıldı. Ayrıca, E.coli ve K.pneumoniae izolatlarında otomatik identifikasyon sistemi ile geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) taraması da yapıldı. Otomatik identifikasyon sisteminde kalite kontrol amacıyla standart suş olarak E.coli ATCC 25922 kullanıldı.
Bulgular
Yapılan kültürlerde gram negatif bakteri üremesi saptanan 3.548 idrar örneğinin; 2.341'inde (%66) E.coli, 674'ünde (%19) Klebsiella pneumoniae, 177'sinde (%5) Acinetobacter baumannii, 176'sında (%5) Enterobacter spp., 142'sinde (%4) Pseudomonas aeruginosa ve %1'inde diğer mikroorganizmalar izole ve identifiye edildi. Elde edilen bu izolatların; %34.5'inin seftazidime, %38'inin trimetoprim/sülfametoksazole, %42'sinin siprofloksasine, %50'sinin piperasilin/tazobaktama, %70'inin sefoperazon/sülbaktama, %87'sinin amikasine, %90'ının imipeneme ve %92'sinin meropeneme duyarlı olduğu saptandı. Ayrıca, E.coli izolatlarının %43'ünün ve K.pneumoniae izolatlarının %36'sının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif olduğu da tespit edildi.
Sonuç
İdrar yolu enfeksiyonlarının etkin tedavisi ancak etkene yönelik ve uygun antimikrobiyallerin kullanımı ile mümkündür. İdrar yolu enfeksiyonu etkenlerinin türlere göre dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılıkları bölgeden bölgeye değişmekte, günümüzde GSBL üretimine bağlı ve diğer mekanizmaların neden olduğu antimikrobiyallere direnç hızla artmaktadır. Bu nedenle idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar ve antimikrobiyallere duyarlılıkları mutlaka belirlenmeli ve takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: İdrar yolu enfeksiyonu, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, GSBL, antibiyotik duyarlılık

Tablo 1. İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen gram negatif bakterilerin türe göre dağılımı.

Bakteri adı	n (%)
Escherichia coli	2.341 (66)
Klebsiella pneumoniae	674 (19)
Acinetobacter baumannii	177 (5)
Enterobacter spp.	176 (5)

Pseudomonas aeruginosa	142 (4)
Diğer gram negatif bakteriler	38 (1)
Toplam	3.548 (100)

Tablo 2. İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen gram negatif bakterilerin antimikrobik duyarlılık oranlarının dağılımı.

Antibiyotik adı	n (%)
Seftazidim	1.224 (34.5)
Trimetoprim/sulfametoksazol	1.348 (38)
Siprofloksasin	1.490 (42)
Piperasilin/tazobaktam	1.774 (50)
Sefoperazon/sulbaktam	2.484 (70)
Amikasin	3.087 (87)
İmipenem	3.193 (90)
Meropenem	3.264 (92)
Toplam	3.548 (100)

P140 - ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERİCHİA COLİ* SUŞLARINDA ERTAPENEMİN İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tuba Dal[1], **Alicem Tekin[1],** Özcan Deveci[2], Recep Tekin[2], Fatma Bacalan[1], Nezahat Akpolat[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*

Amaç
Ertapenem; uzun etki süreli, yüksek konsantrasyon ve hızlı aktivite sağlayan geniş spektrumlu karbapenem türevi bir antibakteriyel ajandır. Gram pozitif ve geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşlar dahil olmak üzere gram negatif ve anaerob bakterilere karşı da etki gösteren 1β-metil karbapenemdir. Yarı ömrünün uzun olması nedeniyle günde tek doz kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen Escherichia coli izolatlarında ertapenemin in-vitro duyarlılığının araştırılmasıdır.
Gereç-Yöntem
Aralık 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastaneleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 334 E.coli suşu retrospektif olarak çalışma kapsamına alındı. Tüm klinik örneklerden elde edilen E.coli izolatlarının tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi kullanıldı. İzole ve identifiye edilen E.coli izolatlarının tamamının antimikrobik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak otomatik identifikasyon sistemi tarafından Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenerek çalışıldı. Ayrıca, E.coli izolatlarında otomatik identifikasyon sistemi ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) taraması da yapıldı. Otomatik identifikasyon sisteminde kalite kontrolü amacıyla standart suş olarak E.coli ATCC 25922 kullanıldı.
Bulgular
Laboratuvara gönderilen çeşitli klinik örneklerden; 233'ü (%69.8) idrar, 55'i (%16.4) kan, 32'si (%9.6) yara ve 14'ü (%4.2) diğer örneklerden olmak üzere toplam 334 E.coli suşu izole ve identifiye edildi. 334 E.coli suşunun 177'sinin (%52.5) GSBL pozitif olduğu saptandı. Ayrıca, GSBL negatif E.coli suşlarının tamamı ertapeneme duyarlı iken GSBL pozitif E.coli suşlarından %12.4'ünün ertapeneme dirençli olduğu tespit edildi.
Sonuç
GSBL pozitif E.coli suşlarının neden olduğu enfeksiyonların antimikrobiyallerle tedavisinde yüksek duyarlılık oranına sahip olan ertapenem iyi bir seçenek olarak karşımızda durmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ertapenem, karbapenem, GSBL, *Escherichia coli*

Tablo 1. İzole edilen E.coli suşlarının klinik örneklere göre dağılımı.

Örnek adı	n (%)
İdrar	233 (69.8)
Kan	55 (16.4)
Yara sürüntüsü	32 (9.6)
Diğer lezyon örnekleri	14 (4.2)
Toplam	334 (100)

Tablo 2. İzole edilen E.coli suşlarının GSBL varlığı ve ertapenem duyarlılığına göre dağılımı.

Özellik	S [n (%)]	R [n (%)]	Toplam
GSBL (+)	155 (46.4)	22 (6.6)	177 (53)
GSBL (-)	157 (47)	0	157 (47)
Toplam	312 (93.4)	22 (6.6)	334 (100)

S: Duyarlı, R: Dirençli

P141- MİDE, DUODENUM BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDEN HELICOBACTER PYLORI İZOLASYONU VE ANTİMİKROBİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Umut Çağdaş, **Feza Otağ,** Seda Tezcan, Gönül Aslan, Gürol Emekdaş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

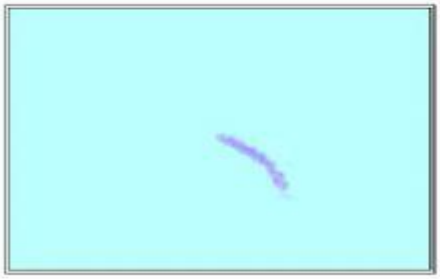
Amaç
H.pylori gastrit, gastrik ve duodenal ülser, gastrik adenokarsinoma ve mukoza-ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfomada major patojen olarak bildirilmektedir. H.pylori'nin tanımlanmasında C13 üre nefes testi, serolojik yöntemler, dışkı kültürü, dışkıda antijen aranması, dışkıdan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile etkenin aranması gibi endoskopi gerektirmeyen non-invaziv testler ya da endoskopi gerektiren invaziv yöntemler; kültür, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi, moleküler yöntemler kullanılmaktadır. İnfeksiyonun eradikasyonunda klaritromisin ve amoksisilin ya da metranidazol ile proton pompa inhibitörü (PPI) veya ranitidin bizmut sitratın kombine kullanıldığı üçlü tedavi protokolü uygulanmaktadır. Ancak günümüzde antibiyotik direnci artmakta ve eradikasyon tedavisinin başarısını azaltmaktadır. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Polikliniği'ne dispeptik şikâyetlerle başvuran hastaların çeşitli örneklerinde çeşitli yöntemlerle H.pylori varlığının araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
149 hastanın mide antrum biyopsi örneklerinde kültür, PZR ve üreaz testi; dışkı örneklerinde ise ELISA yöntemiyle H.pylori varlığı araştırılmış ve tetrasiklin, amoksisilin, metronidazol, levofloksasin antimikrobik dirençleri E-test ile, klaritromisin direnci ise hem E-test, hem PCR-RFLP yöntemleriyle araştırılmıştır.
Bulgular
Kültür yöntemiyle 43, üreaz test ile 80, HpSA ile 65, PZR ile 102 olguda H.pylori saptanmıştır. Kültür, PZR, HpSA ve üreaz testi yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %52,4 ve %100, %96,3 ve %62,3, %80,3 ve %81,4, %86,6 ve %85,7 olarak saptanmıştır. E-test ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde klaritromisine %18,2, tetrasikline %9,1, metronidazole %45,5, levofloksasine %18,2, PCR-RFLP ile klaritromisine %18,1 direnç saptanırken amoksisilin direncine rastlanmamıştır. Nükleotid 2144'te %64,7, nükleotid 2143'te %35,3 nokta mutasyonu saptanmıştır.
Sonuç
H.pylori'nin doğru tanı ve tedavisi oldukça önemlidir. Bakteri varlığını göstermek için non-invaziv bir test olan HpSA kullanılabilir. Tedavi başarısızlığı durumunda kültür yapılarak antibiyotik duyarlılığı araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: C13 üre nefes testi, Helicobacter pylori, HpSA, klaritromisin direnci, PCR-RFLP

Boyama ve kültür yöntemleriyle H.pylori varlığı



Resim 1. Çalışmamızdan kolonideri Gram ile boyanmış *H. pylori*



Resim 2. Mide biyopsi örneğinde Giemsa ile boyanmış *H. pylori*



Resim 3. %7 At kanlı seçtirici Columbia agarda *H. pylori* kolonileri



Resim 4. *H. pylori* suşunun E-test yöntemi ile tetrasiklin duyarlılığı

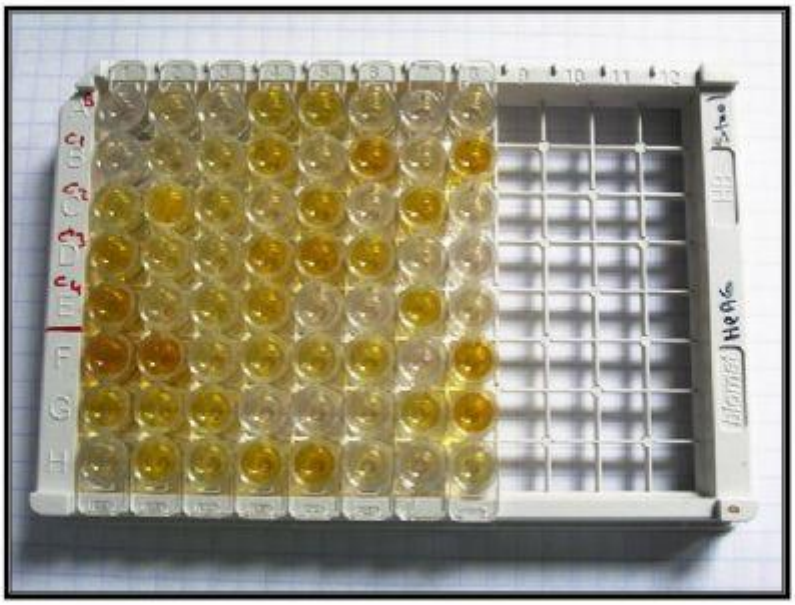
H pylori varlığı araştırılmasında kullanılan testlerin değerleri

Tablo 2. Kültür, PZR, HpSA ve Üreaz yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD değerleri.

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD[a] (%)	NPD[b] (%)
Kültür	52.44 (41.11-63.59)	100.00 (94.3-100.00)	100.00 (91.78-100.00)	61.76 (51.61-71.21)
PCR	96.34 (89.68-99.24)	62.30 (48.96-74.39)	77.45 (68.11-85.14)	92.68 (80.08-98.46)
HpSA	80.28 (69.13-88.78)	81.40 (66.60-91.61)	87.69 (77.18-94.53)	71.43 (56.74-83.42)
Üreaz	86.59 (77.26-93.11)	85.71 (74.61-93.25)	88.75 (79.72-94.72)	83.08 (71.73-91.24)

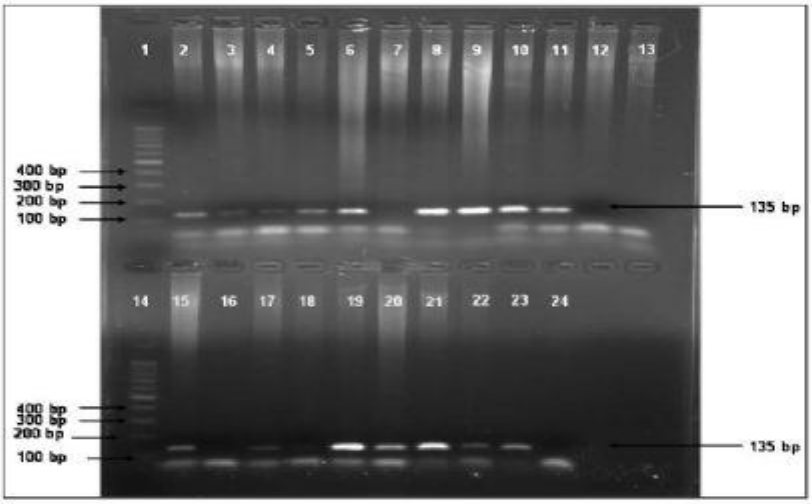
a. PPD= Pozitif prediktif değer; b. NPD=Negatif prediktif değer

HpSA testi



Resim 5. HpSA testi, *H. pylori* antijenleri varlığında renk değişikliği gözlenmiştir.

PZR jel görüntüsü



Resim 6. PZR görüntüsü (1; DNA Ladder, 2; pozitif kontrol, 3-6; *H.pylori* pozitif, 7; *H.pylori* negatif, 8-11; *H.pylori* pozitif, 12; *H.pylori* negatif, 13; negatif kontrol)

H pylori E-test duyarlılık deneyi sonuçları

Tablo 1. *H.pylori* suşlarının E-test yöntemi ile tespit edilen MIK değerleri.

Sıra No	Klaritromisin (µg/ml)	Amoksisilin (µg/ml)	Metronidazol (µg/ml)	Tetrasiklin (µg/ml)	Levofloksasin (µg/ml)
1	0.047	0.015	>256	0.06	0.03
2	0.016	0.25	64	0.015	4
3	8	0.015	2	4	0.5
4	0.032	0.06	0.025	0.015	0.06
5	0.047	0.03	32	0.06	1
6	0.032	0.015	2	0.03	0.5
7	0.064	0.12	64	0.015	0.12
8	>250	0.015	>256	0.06	2
9	0.016	0.06	2	0.5	0.25
10	0.023	0.03	0.5	0.06	0.15
11	0.25	0.015	0.03	2	0.15

P142- HASTANEMİZ MİKROBİYOLOJİ VE ACİL LABORATUVARLARINA GÖNDERİLEN TAM KAN SAYIM (HEMOGRAM) VE ALYUVAR ÇÖKELME HIZI (SEDİMENTASYON) DENEYİ ÖRNEKLERİNDEN UYGUNSUZ BULUNUP GERİ ÇEVRİLENLERİN NEDENLERİ

Metin Sancaktar[1], Şenel Avcı[2], Ayhan Genç[1], Meryem Selim[1], Hakan Usta[3], Talat Pekşen[4], Süleyman Kadakal[4], Şenay Bıçak[4], Sedat Çakıroğlu[4], Ali Kemal Salkı[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*
[4]*Fatih Devlet Hastanesi Acil Laboratuvarı, Trabzon*

Amaç
Laboratuvarlarda çalışılan tüm örnekler çalışma öncesi belirli kurallara göre alınıp laboratuvarlara gönderilirler. Kan örneklerinde uygun damardan uygun tüpe alım, hemoliz, pıhtı, lipemi varlığı, örneğin yeterli olması, doğru etiketlenmesi, saklanması ve taşınması vb. örneklerin uygun olup olmadığını belirler. Uygun bulunan örnekler çalışılırken, uygun bulunmayan örnekler geri çevrilirler. Bu çalışmada Haziran 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen tam kan sayım ve alyuvar çökelme hızı deneyi örneklerinden uygunsuz bulunup geri çevrilenlerin geriye dönük olarak taranıp oranlarının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalıştığımız bütün test ve deneylerin çalışma ilkeleri hastanemiz Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu'nda önceden belirlenip sözel/işbaşı eğitimlerle çalışanlara aktarılmıştır. Ek olarak, yazılı ve basılı bir kitapçık olarak ta bu bilgiler tahlilleri isteyen hekim ve hemşirelere ulaştırılmıştır. Buna göre tam kan sayım için örnek geri çevirme nedenleri: örneğin pıhtılı, lipemik, hemolizli ya da yetersiz olması ve uzun süre bekletilmesidir. Alyuvar çökelme hızı deneyi için ise: yine örneğin pıhtılı, lipemik, hemolizli, gerekenden az ya da çok olması, uzun süre bekletilmesi ile kan/sitrat oranının uygunsuz olmasıdır.
Bulgular
Bu dönem içerisinde mikrobiyoloji ve acil laboratuvarlarımızda 115.479 tam kan sayım ile 48.330 alyuvar çökelme hızı deneyi çalışılmıştır. Tam kan sayım ölçümlerinde en yüksek uygunsuzluk oranı %1.13 ile barkod kusuru bulunmuştur. Bu, acil polikliniğinden gelen ve hastane işletim sistemine (HIS) kaydedilen hastaların tahlillerinin, laboratuvar işletim sistemine (LIS) atılmamasının oluşturduğu bir uygunsuzluktu. Israrlı çabalarımız sonucu acildeki hasta yoğunluğu bahanesinin arkasına saklanan bu uygunsuzluk çözümlenmiştir. Yine örnekte hemoliz (%0.2) ve pıhtı (%0.16) oluşumu da sayısal olarak yüksek bulunmuştur. Bunlar ise kan alma hatalarına bağlı oluşmaktadırlar. Alınan kanın tüpe döküldükten sonra birkaç kez alt üst edilmemesi pıhtı oluşumuna; iğne ile alınan kanın tüpün lastik tıpasını delerek akıtılmaya çalışılması da hemoliz oluşumuna yol açmaktadır. Genellikle pıhtı oluşumu servis hemşirelerinin özensizliğinden, hemoliz oluşumu ise acil hemşirelerinin aceleciliğinden kaynaklanmaktaydı. Alyuvar çökelme hızı deneyi *Westergren* yöntemine göre sodyum sitratlı tüplerde çalışılmıştır. Bu tüplerde kan alma düzeyi iki çizginin arası olarak belirlendiği için örnek miktarında az ya da çok alım oranı düşüktür. Ancak yine çoğunluğunu servis hemşirelerinin aldığı 52 (%0.1) örnekte, kanın tüpe döküldükten sonra birkaç kez alt üst edilmemesi sonucu pıhtı oluşumuna rastlanmıştır. Aşağıdaki tabloda hastanemiz laboratuvarlarına gelen tam kan sayım ve alyuvar çökelme hızı deneyi örneklerinden uygunsuz bulunup geri çevrilenlerin nedenleri gösterilmiştir.
Sonuç
Yalnızca laboratuvar çalışmasının doğru ve özenli bir biçimde yapılması sağlıklı ve hızlı sonuç için yeterli değildir. Laboratuvar öncesi (preanalitik) dönem için de belirlenen örnek alma, etiketleme, saklama, taşıma kurallarına uymaya özen gösterilmelidir. Laboratuvar kendinden önceki dönemi eğitmeli, denetlemeli ve yönlendirmelidir.
Anahtar Kelimeler: Uygunsuz örnek, geri çevrilen örnek, hemolizli örnek, hemogram, sedimentasyon

Tablo 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji ve Acil Laboratuvarları'na gelen tam kan sayım ve alyuvar çökelme hızı deneyi örneklerinden uygunsuz bulunup geri çevrilenlerin nedenleri.

Uygunsuzluk Tanımı ve Geri Çevirme Nedeni	Tam Kan Sayım Deneyi	Alyuvar Çökelme Hızı Deneyi
Örnekte pıhtı oluşması	188 (%0.16)	52 (%0.1)
Örnekte hemoliz oluşması	247 (%0.2)	2 (%0.004)
Örneğin yetersiz alınması	0	4 (%0.008)
Örneğin fazla alınması	0	5 (%0.01)
Yanlış tüp kullanılması	32 (%0.02)	1 (%0.002)
Barkod kusuru	1.305 (%1.13)	0

Toplam	1.772 (%1.53)	64 (%0.13)

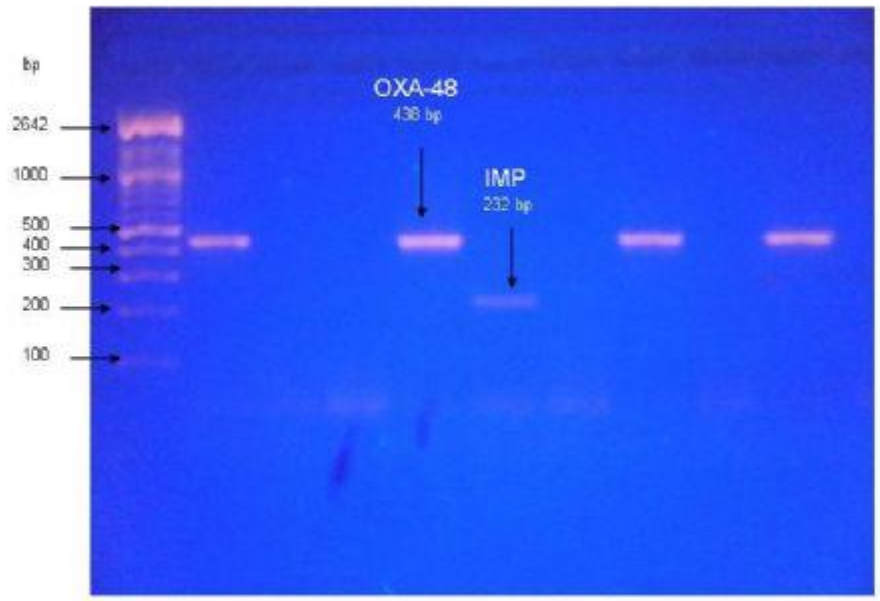
P143 - REKTAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDE KARBAPENEME DİRENÇLİ *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* TARANMASINDA YENİ VE HIZLI BİR SEÇİCİ BESİYERİ

Duygu Perçin, Selcan Çolakoğlu, Süleyman Durmaz, Pınar Ekincioğlu
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbı Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* (KDKP) suşları ile oluşan enfeksiyonlar özellikle kritik hastalarda morbidite ve mortaliteyi artıran ve bütün dünyada sıklığı giderek artan bir problemdir. Direnç mekanizması çoğunlukla, KPC, NDM-1, OXA-48 ve IMP tipi beta laktamazlar ile ilişkilidir. Bu enfeksiyonların önlenmesinde rektal sürüntü örneklerinden tarama yapılması ve pozitif hastaların izolasyonu önerilmektedir. Bu çalışmada rektal sürüntü örneklerinin KDKP yönünden taranmasında laboratuara hız kazandıracak ve iş yükünü azaltacak yeni bir seçici besiyerinin (2mg/L ertapenem içeren EMB Agar [A]) önerilen yöntemlerle (direkt ekim üzerine ertapenem diski yöntemi [B], 2mg/L ertapenem içeren triptik soy buyyonda zenginleştirme [C]) karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
KDKP olarak önceden doğrulanmış 8 kinik izolatın $1x10^5$-50 CFU/mL arasında 10 farklı dilüsyonu ile zorlaştırıcı simülasyon seti hazırlandı. Her bir dilüsyonun içine son konsantrasyon $1x10^4$ CFU/mL olacak şekilde imipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii*, vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* ve *Candida albicans* eklendi. Hazırlanan dilüsyonlar 3 farklı yöntemin KDKP taranmasındaki etkinliğini test etmek üzere kullanıldı. Rektal sürüntü örneklerinde saptama yeteneğini test etmek için yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalara ait 801 örnek üç farklı yöntemle değerlendirildi. Her üç yöntem için ortalama süre (izolasyon + identifikasyon + modifiye Hodge testi [MHT] için), A için 48 saat, B ve C için 96 saat olarak belirlendi. Herhangi bir yöntemle pozitif bulunan tüm suşlara MHT ve *bla*IMP, *bla*KPC, *bla*NDM ve *bla*OXA-48 için multiplex PCR uygulandı.
Bulgular
Zorlaştırıcı simülasyon seti ile ertapenemli EMB besiyeri 50 CFU/mL'lik en düşük inokülumu saptayabilirken bu sayı B besiyerinde $1x10^5$, C besiyerinde $1x10^3$ olarak bulundu. Rektal sürüntü örneklerinden bir veya daha fazla yöntemle izole edilen 33 izolatın 13 (%39,4)'ünde PCR ile herhangi bir direnç geni saptanamazken, 20 pozitif suşun 19 (%95)'unda *bla*OXA-48, 1 (%5)'inde ise*bla*IMP saptandı. Direnç geni gösterilemeyen tüm suşlarda MHT negatif iken, *bla*OXA-48 saptanan iki suşta MHT negatif bulundu. PCR sonuçlarına göre üç yöntemin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değer (NPD) sonuçları sırasıyla A için %70, 15.4, 56, 25; B için %73.7, 18.1, 60.9, 28.6 ve C için %80, 61.5, 76.2, 66.6 olarak bulundu.
Sonuç
1. Erciyes Üniversitesi Hastanesinde izole edilen KDKP suşlarında hakim olan karbapenamaz OXA-48'dir.
2. Besiyerimizin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'i direkt ekim üzerine ertapenem diski yöntemi ile eşdeğer, ertapenem içeren TSB'da zenginleştirme yöntemine göre daha düşüktür.
3. Besiyerinde laktoz pozitif, mukoid Klebsiella kolonileri saf halde ürediği için identifikasyon ve duyarlılık için ek pasajlara ihtiyaç kalmamaktadır. Diğer yöntemlere göre 48 saat erken sonuç verilebildiğinden hastaların erken izolasyonuna imkan sağlanmaktadır.
4. Besiyerimiz zorlaştırıcı simülasyon testinde en yüksek performansı gösterdiğinden dışkı örneklerinde az sayıda bakteriyi yakalayabilmesi bir avantajdır.
5. Bu besiyerinde izole edilen tüm suşlara doğrulama yapılmalıdır. PCR ile doğrulama yapılamayan rutin laboratuarlarda MHT ile doğrulama güvenilir bir yöntemdir.
6. Bu bir ön çalışmadır. Besiyerindeki ertapenem konsantrasyonu değiştirilerek duyarlılık ve özgüllüğünü artıracak ek çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Karbapenemaz, Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*, OXA-48, rektal tarama

Şekil 1. blaOXA48 ve blaIMP pozitif suşların PCR jel görüntüsü



Tablo 1. Multiplex PCR

Primer Sequence (5'–3')	Gen ürünü	Boyut (bp)
IMP-F GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC IMP-R GGTTTAAYAAAACAACCACC	blaIMP	232
OXA-F GCGTGGTTAAGGATGAACAC OXA-R CATCAAGTTCAACCCAACCG	blaOXA-48	438
NDM-F GGTTTGGCGATCTGGTTTTC NDM-R CGGAATGGCTCATCACGATC	blaNDM	621
KPC-Fm CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG KPC-Rm CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	blaKPC	798

Tablo 2. PCR'a göre üç yöntemin duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD sonuçları

Yöntem	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
(A) 2mg/L ertapenem içeren EMB Agar	70	15.4	56	25
(B) Direkt ekim üzerine ertapenem diski yöntemi	73.7	18.1	60.9	28.6
(C) 2mg/L ertapenem içeren triptik soy buyyonda zenginleştirme	80	61.5	76.2	66.6

PPD: Pozitif prediktif değer NPD: Negatif prediktif değer

P144- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLERİ

Vildan Demiray[1], Engin Karakeçe[1], **İhsan Hakkı Çiftçi[2]**
[1]*Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuarı, Sakarya*
[2]*Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Sakarya*

Amaç
Kan kültürleri, sepsis ve bakteriyemi şüphesi olan hastalar için vazgeçilmez tanı yöntemidir. Bu çalışmada hastanemizde sepsis şüpheli hastalardan alınan kan kültürlerinin retrospeskif olarak değerlendirilmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya 1 Ocak 2011- 31 Ağustos 2011 tarihleri arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 941 hastaya ait kan kültürü örneği dahil edildi. Pediatrik örnekler hariç her hastadan en az iki örnek kabul edildi. İnkübasyon için BacT Alert 3D/60 (Biomerieux, Fransa) cihazı kullanıldı. Hastalardan alınan kan kültürü örneklerinden iki kez aynı mikroorganizmanın izole edilmesi anlamlı kabul edildi ve değerlendirmeye alındı. Aksi belirtilmediği sürece yedi günlük inkübasyon neticesinde üreme tespit edilmeyen kültürler negatif olarak sonuçlandırıldı. Anlamlı üremeler için identifikasyon ve antibiyogram çalışmaları konvansiyonel yöntemlerle ve otomatize sistemlerle (VITEC 2, Biomerieux, Fransa) yapıldı.
Bulgular
Laboratuarımıza gönderilen kan kültürü örneklerindeki üreme oranı %14,7 (138) olarak saptandı. Ek olarak değerlendirmeye alınan 941 hastaya ait kan kültürü numunelerinden 565'inde (%60,0) üreme olmaz iken, 238'i (%25,3) kontaminasyon olarak değerlendirildi. En sık izole edilen mikroorganizma Koagülaz Negatif Stafilokok (KNS) olurken (%42,7), onu sırasıyla Escherichia coli (17,3), Enterococcus spp. (% 10,1), Staphylococcus aureus (10,1) ve Non fermentatif mikroorganizmalar takip etti (%8,7). Diğer bulgular Tablo da özetlendi.
Oksasilin direnci stafilokok suşlarında en sık tespit edilen direnç oldu. İzole edilen E. coli suşlarının dokuzunda kinolon direnci gözlemlenirken, Non fermentatif enfeksiyon etkenlerinin de hastanemizde sık kullanılan antibiyotiklere genelde dirençli oldukları belirlendi. Gram negatif mikroorganizmalardaki genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) varlığına bakıldığında ise izole edilen sekiz Klebsiella suşunun yedisinde, yirmidört E.coli'nin ise sekizinde GSBL tespit edildi.
Sonuç
Çalışma bölgemizde kan kültürlerinin değerlendirilmesi, etken ve kontaminantların ayırt edilip tanımlanması açısından yapılan ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Yüksek kontaminasyon oranımızın, örnek alımıyla ilişkili yapılacak bilgilendirme çalışmaları ile azaltılacağı inancındayız.

Anahtar Kelimeler: kan kültürü, sepsis, bakteriyemi

Etken mikroorganizmaların sayı ve oranları

Etken mikroorganizmalar	n	%
Koagülaz negatif stafilokok	59	42,7
Escherichia coli	24	17,4
Enterococcus spp.	14	10,2
Staphylococcus aureus	14	10,2
Acinetobacter spp.	9	6,5
Klebsiella spp.	8	5,8
Enterobacter spp.	7	5,1
Pseudomonas spp.	3	2,1
Toplam	138	100

P145- HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLARAK KARŞILAŞILAN BAZI BAKTERİLERİN ÇEŞİTLİ KUMAŞ TÜRLERİNDE YAŞAM SÜRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özlem Koca, **Ülkü Altoparlak**, Ahmet Ayyıldız
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Erzurum

Amaç
Hastane infeksiyonlarına yol açan mikroorganizmaların hastadan hastaya geçişinde, hastane yüzeylerindeki geçici kolonizasyonları önemli bir role sahiptir. Hastanelerde sık kullanılan yüzeylerden birisi de kullanılan kumaşlar olup, mikroorganizmaların transferindeki kritik nokta, onların bu yüzeylerdeki yaşayabilme kabiliyetleri ve süreleridir. Bu çalışmada hastane infeksiyonlarından sıklıkla izole edilen bazı bakterilerin çeşitli kumaş türlerindeki yaşam süreleri araştırıldı.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda, hastanede yatan hastalardan izole edilen metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA), vankomisine dirençli Enterococcus faecium (VRE), Genişletilmiş spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL, ESBL) pozitif Escherichia coli, İndüklenebilir Beta-Laktamaz (IBL) pozitif Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, S. maltophilia suşları ile günlük hayatta ve hastanelerde sık kullanılan bazı kumaş tipleri (yün, ipek, pamuk, pamuk-polyester) kullanıldı. Bu mikroorganizmaların her birinden hazırlanan McFarland 1 bulanıklığındaki süspansiyonlardan deney için hazırlanmış 1 cm2' lik kumaş parçaları üzerine 10 µl damlatıldı ve kumaş parçaları steril petri kutuları içinde oda sıcaklığındaki loş bir ortamda bekletildi. Dört seri halinde hazırlanan, her bir seride 45 adet petri kutusu bulunan ve her bir petri kutusunda da bir cins bakteri ile kontamine edilmiş 4 çeşit kumaş parçası bulunan petri kutularından birer tanesi 24 saat sonra açılarak içindeki kumaş parçaları steril koşullarda koyun kanlı agar besiyeri yüzeyine bırakıldı ve 5-10 dakika bu şekilde bekletildikten sonra kumaş parçaları besiyeri yüzeyinden kaldırılarak atıldı. Plaklar 35-37 °C'lik etüvde 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaklar incelenerek üreme olup olmadığına bakıldı. Bu işlem örnekte bakteri üremeyinceye kadar devam edildi.
Bulgular
P. aeruginosa'nın yünlü ve ipek kumaşlarda 32 gün, pamuklu kumaşta 12 gün, pamuk-polyesterli kumaşta 23 gün; E. coli'nin yün, ipek ve pamuklu kumaşlarda 44 gün, pamuk-polyester kumaşta 36 gün; S. aureus'un yün kumaşta 40 gün, ipek, pamuk ve pamuk-polyester kumaşlarda 36 gün; E faecium'un da yün, pamuk ve ipek kumaşlarda 48 gün, pamuk-polyester kumaşlarda 50 gün, S. maltophilia'nın tüm kumaşlarda 7'şer gün, A. baumannii'nin pamuk, pamuk-polyester ve ipek kumaşlarda 18 gün, yün kumaşta 7 gün canlı kaldığı tespit edildi.
Sonuç
Hastane infeksiyonu etkenleri, hastanelerde sıklıkla kullanılan kumaş türleri üzerinde uzun süre canlılıklarını devam ettirmektedirler. Bu durum; yatak çarşafları, battaniye, havlu, personel önlükleri, hasta kıyafetleri, üniforma ve perdelerin değiştirilmesi, temizlenmesi ve dezenfeksiyonunda var olan standartlara hassas bir şekilde uyulması gerekliliğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kumaşlar, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa

P146 - KAN KÜLTÜRÜ ÖRNEKLERİNDEN HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ VE KONTAMİNANT OLARAK SOYUTLANAN KOAGULAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN SLİME ÜRETİMİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

M. Hamidullah Uyanık[1], Halil Yazgı[1], Kemalettin Özden[2], Ahmet Ayyıldız[1]
[1]*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Erzurum*
[2]*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ABD, Erzurum*

Amaç
Septiseminin en önemli etkenlerinden olan Koagulaz Negatif Stafilokoklar (KNS) ortopedik ve kardiak protez kullananlarda, uzun süreli kateter kullanımında, immunsüpresif ve yenidoğan infeksiyonlarında sorumlu patojen olarak giderek artan oranlarda izole edilmektedir. Stafilokoklar, protez, endotrakeal tüp, kateter gibi biyomateryallere adheransı kolaylaştıran slime oluşturabilme yeteneğine sahiptirler. Slime bakteriyi fagositozdan korur ve bu özelliğe sahip bakteriler antibakteriyal tedaviye, slime oluşturmayanlara göre daha dirençlidirler.
Bu çalışmada kan kültüründen izole edilen KNS'lerden hastane enfeksiyonu etkeni olarak tanımlananlar ile kontaminant olarak değerlendirilenler slime üretimleri ve metisiline dirençleri bakımından kıyaslanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çeşitli kliniklerinden gönderilen kan kültürlerinde üretilen KNS'ler çalışma kapsamında değerlendirildi. Kan kültürlerindeki izolatın gerçek bakteremi etkeni KNS olup olmadığı CDC tarafından tanımlanan kan dolaşımı infeksiyon kriterlerine göre belirlendi. CDC tarafından belirtilen kriterleri karşılamayan kan kültürlerinde üreyen KNS'ler kontaminant olarak değerlendirildi. Üreme saptanan KNS'lerden 58 farklı hastaya ait suş gerçek bakteremi etkeni olarak, ayrıca kan kültürlerinde üreyen KNS'lerden gerçek bakteremi etkeni olmayanlar arasından randomize olarak seçilen 50 farklı kişiye ait suş kontaminant olarak çalışma kapsamına alındı.
KNS'lerdeki slime varlığını saptamak için Christensen methodu kullanıldı. Metisilin duyarlılıkları ise Mueller-Hinton agarda (bioMe´rieux) 30 µg sefoxitin (oxoid) diski kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile CLSI kriterlerine göre saptandı.
Bulgular
Çalışmamızda da gerçek bakteremi etkeni olarak değerlendirilen 58 KNS'nin 23'ünde (%39.7); kontaminant olarak değerlendirilen 50 KNS'nin 9'unda (%18.0) slime üretimi saptanmıştır. Slime üreten gerçek bakteremi etkeni KNS'lerin %82.6'sının, kontaminant olanların ise %77.8'inin metisiline dirençli oldukları tespit edilmiştir.
Sonuç
Elde edilen bu sonuçlara göre, slime üretimi gerçek bakteremi etkeni olarak izole edilen KNS türlerinde kontaminantlara oranla yüksek olarak bulunmuştur. Slime üreten KNS'lerin üretmeyenlere göre anlamlı derecede metisiline dirençli oldukları saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, KNS, metisilin direnci, Slime

P147 - VAN BÖLGE VE EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ YANIK MERKEZİNDE ÜREYEN MİKROORGANİZMALAR VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLERİ

Yasemin Bayram[1], Hayriye Eren[1], Ali İmran Çalışkan[1], Mustafa Berktaş[2]
[1]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı,Van*
[2]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği,Van*

Amaç
Yanık yaralanmaları ve infeksiyonları gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli morbitide ve mortalide nedenidir. Hasta vücut yanık alanının büyüklüğü, immünsüpresyon, hastanede yatış süresinin uzunluğu gibi faktörler başlangıçta steril olan yanık yarasında enfeksiyon oluşmasında en önemli risk faktörleridir. Yanık enfeksiyonları yüksek morbitide ve mortaliteye neden olması açısından da önemli bir sağlık ve ekonomik sorun oluşturmaktadır. Bu çalışmada yanık ünitemizde yatan hastalarda gelişen enfeksiyonlarda etkenler ve antibiyotik dirençlerinin retrospektif değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
2008-2011 tarihleri arasında Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yanık Merkezinden gönderilen kültür örnekleri değerlendirilmeye alındı. Üreyen örneklerin tür tayini ve antibiyotik duyarlılıkları Phonex(BD, ABD) sistemi ile yapıldı. Ayrıca bazı antibiyotikler için antibiyotik duyarlılık testleri ise Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agarda (Oxoid) yapıldı.
Bulgular
Bakteriyoloji Laboratuvarı'na Yanık Merkezi'nden 2605 kültür örneği gönderildi. Örneklerin % 31.5'inde (n: 820, Aynı hastaya ait tekrar örneği: 315) üreme saptandı. En sık üreyen bakteriler sırasıyla; Acinetobacter baumanii %17. 6, Candida spp. %13.3 Pseudomonas aeroginosa % 11. 7, Koagülaz negatif Staphylococcus'lar %11.5 ve Escherichia coli % 8. 4 olarak değerlendirildi. Acinetobacter baumanii'ye en duyarlı antibiyotik %100 oran ile tigesiklin ve kolistin bulunurken, en dirençli ise % 100 oran ile sefazolin bulunmuştur. Escherichia coli için en duyarlı % 100 oran ile amikasin, imipenem ve meropenem iken en dirençli % 81.8 oran ile ampisilin-sulbaktam tespit edilmiştir.
Sonuç
Bizim çalışmamızda da görüldüğü gibi yanık merkezinde yatan hastalarda enfeksiyon gelişme riski yüksektir. Bu nedenle yanık merkezine yatırılan hastalar risk faktörleri de dikkate alınarak mortalite ve morbitide gelişimi açısından dikkatle takibe alınmalıdır.

P148 - ORTA KARADENİZ BÖLGESİNDE TÜKETİLEN HAYVANSAL GIDALARDAN ELDE EDİLEN STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

Tuba Yıldırım[1], Belgin Sırıken[2], **Akif Koray Güney[3]**, İrfan Erol[4], Belma Durupınar[3]
[1]*Amasya Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Amasya*
[2]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Samsun*
[3]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun*
[4]*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Ankara*

Amaç
Metisilin dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) birçok ülkede en önemli halk sağlığı problemlerinden biridir. Son yıllarda, hayvansal gıdalardaki MRSA varlığı ve çiftlik hayvanları, hayvansal gıdalar ve insanlar arasındaki transferi moleküler tiplendirme çalışmaları ile gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı Orta Karadeniz Bölgesinde tüketilen hayvansal gıdalardan elde edilen Staphylococcus aureus suşlarının varlığının, metisilin direncinin ve klonal ilişkisinin araştırılmasıdır.
Gereç-Yöntem
Et, süt ve balık ürünlerinden izole edilen toplam 62 Staphylococcus aureus suşu çalışmaya dahil edilmiştir. İdentifikasyon ve metisilin direnci, nuc ve mecA genleri için uygun primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi ile doğrulanmıştır. Suşlar arasındaki klonal ilişki Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Onbeş Staphylococcus aureus suşunda metisilin direnci tespit edilmiştir. Onbeş MRSA suşu arasındaki klonal ilişki PFGE yöntemi ile araştırılmış ve 6 PFGE paterni elde edilmiştir. Çalışmamızda, patern A ve E baskın tipler olarak bulunmuştur. Yedi suş içeren patern E balık ürünlerinden oluşmaktaydı. Dört suş içeren patern A et ve balık ürünlerinden oluşmaktaydı. Patern B, C, D ve F ise sırasıyla süt, et, et ve süt ürünlerinden oluşmaktaydı.
Sonuç
Çalışmamızda, hayvansal gıdalarda Staphylococcus aureus (MRSA) varlığı ve aynı ürünlerden izole edilen suşlarda klonal yakınlık gösterilmiştir. Toplumda hayvansal gıdalar, hijyen kaidelerine dikkat edilmediği takdirde MRSA transferinde önemli rol oynayabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hayvansal Gıdalar, PFGE, Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus

P149 - HASTANE ENFEKSİYON ETKENİ OLAN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARDA SLİME ÜRETİMİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yasemin Işık Koç, Sarmad Wahab Shahab, **Meltem Yalınay Çırak**, Kayhan Çağlar
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) damar içi kateter kullanılan, immün yetmezliği olan ve yoğun bakım ünitelerinde bulunan hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara ve hastane enfeksiyonlarına yol açmaları nedeniyle giderek önemleri artan bakterilerdir.
KNS'ların slime oluşturması ile biyomateryallere yapışması kolaylaşmaktadır. Polisakkarit sentezi spesifik intersellüler adezyon (ica) bölgelerini özellikle de icaA ve icaD genlerini içerir. Ica operonunu kodlayan enzimler stafilokoklardaki biyofilm gelişiminin şu ana kadar en iyi anlaşılmış mekanizmasıdır.

Amaç
Bu çalışmanın amacı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu ve kateterle ilişkili enfeksiyona neden olan KNS suşlarında slime üretiminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması ve antibiyotik duyarlılıkları arasındaki ilişkinin saptanmasıdır.

Yöntem
Suşlar:Ekim 2010-Haziran 2011 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu ve kateterle ilişkili enfeksiyona neden olan 50 KNS suşu çalışmaya alındı. Bu suşlar otomatize bakteri tanı sistemi kullanılarak 31'i (%62) S.epidermidis, 14 tanesi (%28) S.hominis, 1 tanesi (%2) S.haemolyticus, 2 tanesi (%4) S.simulans, 1 tanesi (%2) S.auricularis, 1 tanesi (%2) S.capitis olarak tiplendirildi.
Slime faktör üretimin fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması
Slime faktör üretimi fenotipik olarak Kongo kırmızılı agar yöntemi ile tespit edildi. Biyofilm genlerini (icaA, icaD) saptamak amacıyla genomik DNA'sı izole edilen suşlara özgül primerler kullanılarak PZR yapıldı. Amplikonlar agaroz jel elektroforezinde görüntülendikten sonra gözlenen bantlar yorumlandı. İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları için Microscan Walkaway Otomatize Antibiyogram Sistemi kullanıldı.

Bulgular
Çalışmaya alınan 50 KNS suşu içinde fenotipik testlerle incelenen slime üretimi pozitifliği %88 (44 suş) oranında saptanmıştır. icaA pozitifliği % 36 (18 suş), icaD pozitifliği % 46 (23 suş), biyofilm genlerinin her ikisinin de birlikte pozitifliği %36 (18 suş) oranında bulunmuştur.
Fenotipik yöntemlerle slime üretim gücü ile biyofilm genlerinin varlığının birlikteliği değerlendirildiğinde, güçlü pozitif olan 14 izolatın 8'inde (%57) biyofilm genlerinin varlığı tespit edilirken, fenotipik olarak biyofilm üretimi negatif olan 1 örnekte ise biyofilm genlerinin varlığı gözlenmiştir. Bu örnekte gen tespit edilmesine rağmen fenotipe yansıması gözlenmemiştir.
Bu çalışmada fenotipik yöntemlerle slime yapımı yüksek oranda tespit edilirken, genotipik olarak ise daha düşük oranda tespit edilmiştir.
Slime oluşumu pozitif ve negatif olan suşların antibiyotik direnç sonuçları ve biyofilm genleri ile olan ilişkisi tabloda gösterilmiştir. Slime oluşturan suşlarda antibiyotik direnci slime oluşturmayan suşlara oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
Biyofilm geni ve slime oluşturma özellikleri antibiyotik direnç oranıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Wilcoxon, $p>0.05$).
Biyofilm oluşturan suşların birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğu gözlenirken, en fazla direnç %100 oranında gentamisine ve %93 oranında metisiline karşı bulundu. Biyofilm genleri metisiline dirençli izolatlarda daha yüksek oranda saptanırken metisiline duyarlı olan sadece 4 suşta ica pozitifliği saptanmıştır. Gentamisine dirençli olan 2 suşta ica pozitifliği tespit edilmiştir.

Sonuçlar
Sonuçlar irdelendiğinde slime üreten suşlarda antibiyotiklere yüksek oranda direnç saptanmıştır. Biyofilm gen pozitifliği ile metisilin ve gentamisine karşı direnç arasındaki ilişki ise dikkat çekicidir. Biyofilm genleri ile slime üretimi arasındaki ilişki birlikteliği yüksek oranda saptanmadığı için slime üretiminde başka gen bölgelerinin de rol alabileceği düşünülmektedir.
Slime yapımında birçok gen bölgesinin yer alabileceği dikkate alındığında, slime üretiminin değerlendirilmesinde fenotipik yöntemlerin klinik olarak daha yol gösterici olacağını sonuçlar ortaya koymaktadır. Bu slime üreten suşlarda tedavi stratejileri planlanırken slime üretimi de dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Koagülaz Negatif Stafilokok, Slime, ica

Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Slime Oluşumu



Tablo 1

Antibiyotikler	Slime Oluşturan Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı (%)	Slime Oluşturmayan Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı (%)	ica Pozitif Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı (%)	ica Negatif Suşlardaki Antibiyotik Direnç Oranı (%)
Gentamisin	100	0	4	18
Siprofloksasin	53	50	83	30
Klindamisin	32	17	9	48
Metisilin	93	50	57	100
Trimetoprim sulfometaksazol	52	0	35	70

Slime oluşturan ve oluşturmayan suşların antibiyotik direnç sonuçları ve biyofilm genleri (ica) ile olan ilişkisi

P150 - YAYGIN ÖDEM VE NEKROZUN EŞLİK ETTİĞİ DERİ ŞARBONU

Recep Tekin[1], Özcan Deveci[1], **Alicem Tekin[2]**, Tuba Dal[2], Muhammet Bekçibaşı[1], Saim Dayan[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Diyarbakır*

Amaç,
Şarbon (antraks) doğada yaygın olarak bulunan, gram pozitif, hareketsiz, aerop veya fakültatif anaerop, endospor oluşturan bir basil olan Bacillus anthracis tarafından oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Genellikle inek, kuzu gibi hayvanlarda primer olarak görülen hastalık, mesleği gereği enfekte hayvanlarla veya hayvan ürünleriyle temas eden insanlarda da görülmektedir. Deri şarbonu en sık görülen enfeksiyon formu olup, olguların yaklaşık %95-99'unu oluşturur. Lezyonlar genellikle el, kol, bacak ve yüz gibi açıkta kalan ve enfekte materyaller ile temas olasılığı yüksek olan vücut bölgelerinde karşımıza çıkar. Bu çalışmamızda nadir görülen yaygın cilt tutulumlu şarbon olgusunun tanı ve tedavisini irdelemeyi amaçladık.
Olgu
Dört gündür devam eden yüksek ateş, sağ kolunda şişlik ve yara şikayetleri ile enfeksiyon hastalıkları polikliniğine başvuran otuz iki yaşındaki erkek hasta şarbon (antraks) ön tanısı ile kliniğe yatırıldı. Hastanın anamnezinde beş gün önce hayvan kesimi, derisinin yüzülmesi ve etinin parçalanması öyküsü mevcuttu. Hastaneye yatış esnasında yapılan genel fizik muayenesinde; ateş: 39°C, TA: 100/60 mmHg, nabız: 96/dk, solunum sayısı: 20/dk, genel durumu orta ve şuur açık olarak tespit edildi. Hastanın sağ kolunda yaygın ödemin eşlik ettiği eritemli zemin üzerinde, düzensiz kenarlı, üzerinde nekrozun olduğu kurutlu ülsere lezyonun mevcut olduğu görüldü. Laboratuvar incelemesinde; lökosit sayısı: 12.300/mm3, eritrosit sedimentasyon hızı: 22 mm/saat, C-reaktif protein düzeyi: 37 mg/dl olarak saptandı. Lezyondan alınan materyalden hazırlanan gram boyalı preparatın mikroskop altında incelenmesinde zincir şeklinde gram pozitif basiller görüldü. Mikroskobik inceleme sonucuna göre hastaya penisilin G tedavisi başlandı. Penisilin tedavisinin üçüncü gününde şikayetlerinde herhangi bir azalma görülmeyen ve ödemi giderek artan hastanın tedavisi imipenem ile değiştirildi. İmipenem tedavisinin ikinci gününde ateşi düşen, ödem ve şikayetleri azalan hastanın tedavisi yirmi bir güne tamamlanarak kontrole gelmek üzere taburcu edildi.
Sonuç
Deri şarbonu hastalığın klinik formları arasında en fazla görülür ve sıklıkla şarbon şüpheli hayvanların kesilmesi, derisinin yüzülmesi, etinin parçalanması veya kıyılması sırasında direkt temasla deri bütünlüğünün bozulduğu bir bölgeden basilin vücuda alınması ile oluşur. Antimikrobiyal tedavi skar ve kurut oluşumunun evrelerini ve sürelerini etkilemezken sistemik semptomların gelişimini önleyebilir. Ancak antimikrobiyal tedavinin verilmediği olgularda mortalite %20'lere kadar çıkarken antimikrobiyal tedavi alan olgularda mortalite nadir görülür. Penisilin tedavisine yanıt alınmayan, sistemik semptomları mevcut olan ve sekonder enfeksiyon gelişen olgularda imipinem bir tedavi seçeneği olarak akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Bacillus anthracis, antraks, zoonotik, şarbon

---

Şekil 1. Sağ kolda yaygın ödemin eşlik ettiği eritemli zemin üzerinde, düzensiz kenarlı, üzerinde nekroz bulunan kurutlu ülsere lezyon ve siyah eskar dokusu.



P151- BİLATERAL ÖDEM VE YAYGIN NEKROZ İLE SEYREDEN GÖZ KAPAĞI ŞARBONU

Özcan Deveci[1], Recep Tekin[1], **Alicem Tekin[2]**, Tuba Dal[2], Muhammet Bekçibaşı[1], Saim Dayan[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AB.D., Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AB.D., Diyarbakır*

Amaç
Şarbon (antraks) Bacillus anthracis'in neden olduğu nadir görülen bir zoonotik hastalıktır. Bacillus anthracis gram pozitif, aerobik, spor oluşturan bir mikroorganizmadır. Şarbon temel olarak bir hayvan hastalığı olup, hayvancılıkla uğraşan kişilerde daha sık olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanlarda görülen şarbonun yaklaşık %95-99'unu deri şarbonu oluşturmaktadır. Deri şarbonu en çok baş, boyun ve üst ekstremitede görülmekte olup, göz kapağı tutulumu ise nadirdir. Bu olguda; göz kapaklarında gelişen şarbon olgusuun tanı ve tedavisi irdelenmiştir.
Olgu
Seksen bir yaşındaki bayan hasta üç gündür devam eden sol gözde şişlik ve kızarıklık şikayetleri ile hastanemiz göz hastalıkları kliniğine yatırıldı. Enfeksiyon hastalıklarından konsültasyon istenen hastanın sol göz alt ve üst kapaklarında kaşıntılı ve eritemli, papül şeklinde başlayan, bilateral ödemin de eşlik ettiği lezyonunun mevcut olduğu öğrenildi. Hastanın anamnezinde yedi gün öncesinde hayvan kesimi, derisinin yüzülmesi ve etinin parçalanması öyküsü mevcuttu. Yapılan fizik muayenesinde bilateral periorbital ödem ile birlikte, sol göz alt ve üst kapağından sol yanağına kadar ilerleyen nekrozun olduğu siyah kurutlu ülsere lezyon (Şekil 1) izlenmiş olup diğer sistem muayeneleri normal idi. Hastanın laboratuvar muayenesinde; lökosit sayısı: 14.300/mm3, eritrosit sedimantasyon hızı: 60 mm/saat, C-reaktif protein düzeyi: 15 mg/dl olarak saptandı. Lezyondan alınan materyalden hazırlanan gram boyalı preparatın mikroskobik incelemesinde zincir şeklinde gram pozitif basiller görüldü ve alınan sürüntü materyalinden yapılan kültür ekimlerinde Bacillus anthracis kolonileri üredi (Şekil 2). Bu bulgular ile hastaya deri şarbonu tanısı konulup 6 g/gün dozunda ampisilin/sulbaktam tedavisi başlandı. Tedavinin on birinci gününde hastanın periorbital ödeminin azaldığı ve ülsere lezyonun siyah, keskin sınırlı eskar dokusu halini aldığı görüldü. Antibiyotik tedavisi yirmi bir güne tamamlanan hasta daha sonra kontrole gelmek üzere taburcu edildi.
Sonuç
Şarbon dünyada gittikçe azalan enfeksiyon hastalıklarından biri olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde halen sorun olmaya devam etmektedir. Göz kapağı şarbonu, mortalite ve sekel bırakma oranı yüksek olduğundan oldukça ciddi bir hastalıktır. Erken tanı ve tedavi hayat kurtarıcıdır. Özellikle hayvanlar ile sıkı teması olan hastalarda preseptal ve orbital sellülitin ayırıcı tanısında şarbon mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Bacillus anthracis, antraks, zoonotik, şarbon

Şekil 1. Alt ve üst göz kapağında ödem, ülsere lezyon ve siyah eskar dokusu.



P152 - PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBİUS İLE GELİŞEN BİR İNFEKTİF ENDOKARDİT OLGUSU

Müzeyyen Mamal Torun[1], Sinem Özdemir[1], Hrisi Bahar[1], Ali Mert[2]
[1]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İstanbul*
[2]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Enfeksiyon Hastalıkları ABD,İstanbul*

Amaç
Peptostreptokoklar ağız, üst solunum yolu, kolon ve vajenin normal florasında bulunan anaerop bakterilerdir. Klinik örneklerden izole edilen anaeroplar içinde, Gram negatif anaerop basillerden sonra, ikinci sırayı almaktadırlar. Önemli infeksiyonlardan izole edilen anaeropların %20-40'ını oluştururlar. Peptostreptokok türleri kronik otit, mastoidit, kronik sinüzit, akciğer apsesi ve özellikle beyin apselerinden saf kültür olarak izole edilen en önemli bakteriler arasındadır.Peptostreptokoklarla gelişen infektif endokardit olguları nadir olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada Peptostreptococcus anaerobius ile gelişen bir enfektif endokardit olgusu hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.
Vaka
Romatizmal kapak hastalığı olan 57 yaşında erkek hastaya 4/2007 de valvul replesmanı (AVR ve MVR) yapılmıştır. 9/2010 da 3 aydır akşamları ateş gece terlemesi ve gittikçe artan kilo kaybı ve halsizlik şikayeti olmuş ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları servisine yatırılan hastanın Rose-Bengal testi negatif saptanmıştır. Hastanın 3 set aerop ve anaerop kan kültürü gönderilmiştir. Acil yapılan Transtorasik ekokardiyografik (TTE) ve transözefageal ekokardiyografik (TEE) incelemelerinde mitral kapakta vejetasyon (mitral kapak üzerinde 1.9x0.7cm;1.6x0.5 ve aortada 1.6x0.5 cmlik vejetasyon) görülmüştür. Kültür alınmasından sonra hastaya ampisilin/sulbaktam (4x3gr/gün) ve gentamisin (3x80 mg) başlanmıştır. Hastadan alınan kan kültür şişeleri Bactec hemokültür cihazında 5 gün inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrasında aerop şişelerden negatif, anaerop şişelerden ise pozitif sonuç alınmıştır. Pozitif şişelerden hazırlanan Gram preparasyonlarda, Gram pozitif zincir yapmış koklar görülmüştür. Schaedler agar besiyerine, fenil etil alkol, %5 koyun kanı, K1 vitamini ve hemin ilave edilerek hazırlanmış olan fenil etil alkollü anaerop besiyerine, kanlı agar, çukulatamsı agar ve MacConcey agar besiyerlerine ekilen kan kültürü örneğinden, sadece anaerop ortamda tutulan besiyerinde üreme görülmüştür.Anaerop besiyerindeki kolonilerden hazırlanan Gram preparasyonda yine Gram pozitif zincir yapan ya da diplokok şeklinde görülen bakteriler saptanmıştır. APİ 20A kiti ile bakterinin Peptostreptococcus anaerobius olduğu belirlenmiştir.
Sonuç
Anaerop bakterilerin de infektif endokardit etkeni olabileceği göz önünde bulundurularak,infektif endokardit düşünülen olgularda, klinisyenin anaerop etkenlere yönelik kültürler de istemesinde yarar olacağı görüşündeyiz. Ayrıca günümüzde pek çok mikrobiyoloji laboratuvarında, anaerop etkenlerin üretilmesine olanak sağlayacak besiyerlerinin ve atmosferik şartların sağlanması gerektiği görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: Peptostreptococcus anaerobius, enfektif endokardit, hemokültür, Api 20 A

P153- SAĞLIK TEKNİKERİ ADAYLARINDA SAĞLIK HİZMETLERİNDE KALİTE ALGILARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Lale Türkmen[1], Aydın Kıvanç[2]
[1]*Gazi Üniversitesi,Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,Ankara*
[2]*Gümüşhane Üniversitesi,Sağlık Yüksekokulu,Gümüşhane*

Son yıllarda toplam kalite yönetimi uygulamalarının laboratuvar alanına taşınmasıyla birlikte laboratuvar hizmetlerine verimlilik, etkinlik ve müşteri memnuniyeti kavramları girmiştir. Bilindiği gibi sağlık hizmetlerinin ilk seferde doğru yapılma zorunluluğu vardır. Hizmet hemen verilir, bilgi hemen kullanılır ve insan sağlığıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle sağlık sektöründe her kademedeki uygulamanın geçerliliğinin kanıtlanmış olması gereklidir. Araştırmamaızda,sağlık hizmetlerinin önemli bir bölümünü oluşturan ve klinik laboratuvarlar da görev alacak tıbbi laboratuvar ile çevre sağlığı programı öğrencilerinin, kaliteli sağlık hizmeti konusundaki görüşleri sorgulanmıştır. Çalışmada, bilgi, eğitim, kalite, problem çözme, kalite düzeyi faktörlerini içeren açık uçlu anket formu uygulanmıştır. Verilerin analizinde % önemlilik testi kullanılmıştır.
Bulgularımız değerlendirildiğinde, II.sınıf öğrencilerinden tüm seçenekler açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir.Buna göre; sağlık hizmetlerinde bilginin varlığı(%100)sürekli eğitim gerekliliği(%95), kalite düzeyi ile sağlık ilişkisi (%100) seçenekleri en yüksek oranları oluşturmuştur. I.sınıf öğrencileri ise; bilginin varlığı, sürekli eğitim gerekliliği kalite düzeyi ile sağlık ilişkisi sorularını sırasıyla; %80, %65 ve%70 oranında yanıtlamışlardır. Diğer taraftan, özellikle problem çözme konusunda farklı sonuçlar elde edilmiş olup, her öğrenciye göre değişen görüşler dikkati çekmiştir. Oysa hataya tahamülü olmayan bir sektör olan sağlık hizmetleriyle ilgili problemlerin çözümünde daha sistematik düşünmek kaçınılmazdir.
I ve II.sınıf öğrencileri arasındaki bilme oranlarının farklı olması, eğitimin birkez daha varlığını ortaya koymaktadır. Hastalıkların tanısında görev alacak sağlık teknikeri adaylarının kalite-sağlık konusundaki bilinç düzeylerinin yüksek olması,kaliteli sağlık hizmeti açısından sevindiricidir.

Anahtar Kelimeler: Sağlık, kalite, sağlık hizmeti

P154 - ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN SAĞLIK DURUMLARI VE SAĞLIK KONUSUNDA BİLGİ,TUTUM VE DAVRANIŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Aydın Kıvanç[1], Lale Türkmen[2]
[1]*Gümüşhane Üniversitesi,Sağlık Yüksekokulu,Gümüşhane*
[2]*Gazi Üniversitesi,Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,Ankara*

Amaç
İnsanların mutlu, başarılı ve kaliteli bir yaşam sürdürmelerinde sağlık önemli bir yer tutmaktadır. Geçmiş dönemlerde ve geleneksel anlayışta sağlık kavramı, yalnızca hastalık ve sakatlığın olmayışı şeklinde algılanmış ve tanımlanmıştır. Bu tanım hastalık kavramını öne çıkarmış, kişilerin sağlığı bu kavrama bağlı olarak değerlendirilmiş ve belirli semptomları yada sakatlığı olmayan herkes sağlıklı olarak kabul edilmiştir. Günümüzde geçerliliği olan ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 1947'de yapılan sağlık tanımında ise sağlık; "sadece hastalık ve sakatlığın olmayışı değil, bedensel, ruhsal ve sosyal yönden tam bir iyilik hali" olarak tanımlanmaktadır (Dünya Sağlık Örgütü). Gençlik dönemi, birey ve toplum açısından en dinamik dönem olarak bilinmektedir. Birey için gençlik dönemi, toplumsallaşma yoluyla çocukluktan yetişkinliğe geçiş ve kişiliğin oluşması sürecidir. Bu değişim özellikle sağlık alanındaki tutum ve davranışlar yönünden önemlidir. Gençler bu dönemde, sağlıklarını geliştiren davranış biçimlerini benimseyebilir ya da hem kendilerine hem de başkalarına zarar verecek olan sağlıksız yaşam biçimi davranışları kazanabilirler. Gencin sağlık ile ilgili tutum ve davranışları özelde bireysel olarak kendisini, genelde ailesini ve toplumu etkilemektedir.Toplumun büyük bir kesimini oluşturan ve sağlık davranışlarını kolaylıkla benimseyebilen önemli bir grup olan genç kesime ulaşmak bu nedenlerle daha çok önem kazanmaktadır.İşte bu nedenlerle araştırmamızın amacı; üniversite öğrencilerinin sağlık durumlarını ve sağlık konusunda bilgi, tutum ve davranışlarını değerlendirmektir.
Gereç-Yöntem
Bu araştırma tanımlayıcı bir araştırmadır. Araştırmaya 2009-2010 eğitim-öğretim yılında Gümüşhane Üniversitesi'nde öğrenim gören yaşları 16 ile 30 arasında değişen 702 erkek ve 314 kız öğrenci katılmıştır. Katılımcıların sağlık durumları ve sağlık konusunda bilgi, tutum ve davranışlarını durumlarını saptamak için yüz yüze görüşme tekniği ile anket uygulanmıştır. Veriler bilgisayarda SPSS 16.0 paket programı ile değerlendirilmiş, istatistiksel analizlerde ki-kare testi kullanılmıştır.
Bulgular
Öğrencilerin % 61.9' u normal kiloya sahiptir. % 38.1'inin ise kilosu normalden fazla veya düşüktür. % 52.7'si düzenli spor aktivitesine katılmadıklarını beyan etmiştir.% 22.3'ünün bir zararlı alışkanlığı vardır.% 9.4'ünün takip gerektiren bir sağlık sorunu bulunmaktadır.% 4.7'si sürekli bir ilaç kullanmak durumundadır.%58.6' sı sağlık durumlarını iyi veya mükemmel olarak görmektedir. % 68.8' i herhangi bir sağlık sorununda hastaneye başvurmaktadır. % 65.6'sı sağlık konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıklarını düşünmektedir.Sağlık konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıklarını düşünenlerin % 61.2'si sağlık konusunda eğitim almak istemektedir.Öğrencilerin sağlıkla ilgili şikayetleri arasında en fazla baş ağrısı (%25.1), halsizlik (%18.7), görme bozukluğu (%14.9) ve öksürük (% 12.5) bulunmaktadır.
Sonuç
Üniversite öğrencilerinin yarıdan fazlası sağlığını iyi olarak görmektedir. Ancak yarıya yakınının kilosu normal değerlerde değildir. Az bir oranda da olsa takip gerektirecek sağlık sorunları bulunmaktadır.Yine yarıdan fazla oranda düzenli bir spor aktivitesi yapılmamaktadır.Yine az bir oranda da olsa devamlı bir ilaç kullanma durumunda olanlar bulunmaktadır.Ayrıca baş ağrısı, halsizlik, görme bozukluğu ve öksürük yakınması olanlarda hiç de azımsanmayacak oranlardadır. Öğrencilerin çoğu sağlık konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıklarını düşünmektedir.Öğrencilerin ¼'üne yakın oranının zararlı alışkanlıkları bulunmaktadır.Bu sonuçlar ışığında genel olarak sağlıkları orta derece olarak değerlendirilebilir. Ama daha gençlik yıllarında olduğu için sağlık durumlarının ileri yaşlarda bozulabileceği düşünülerek sağlığı koruyucu tedbirler için eğitilmeleri ve bu tedbirlerin uygulanması için kendilerinin ve yönetici konumundaki kişilerin çaba harcaması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sağlık, Üniversite öğrencileri, bilgi, tutum, davranış

P155- EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ 2. SINIF TIBBİ MİKROBİYOLOJİ EĞİTİM PROGRAMININ YENİLENMESİ: ÖĞRENCİLERİN ÖĞRENME DÜZEYİ VE BEĞENİSİNE İLİŞKİN İLK SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Süleyman Ayhan Çalışkan[1], **Dilek Yeşim Metin[2]**, Sabire Şöhret Aydemir[2], Cengiz Çavuşoğlu[2]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi ABD, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*

Amaç
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF)'nin, toplumun sağlık sorunlarına yüksek nitelikli sağlık hizmeti ile yanıt verebilecek bilgi, beceri ve tutuma sahip yeterlik ve yetkinlikte hekimler yetiştirmeyi amacıyla geliştirdiği yeni eğitim programı 2003 yılından bu yana uygulanmaktadır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin yeni eğitim programı içinde yer alan 2. Sınıf Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar-Demonstrasyon (TM-LD) derslerinin, 2005 yılından bu yana uygulanan biçiminin öğrencilerde ilgi ve öğrenme hevesi oluşturmadığı, teorik derslere istenilen katkıyı sağlamadığı düşünülerek EÜTF Evre 3 Eğitim Programı'nın hedefleri, Ulusal Çekirdek Eğitim Programı çerçevesinde gözden geçirilerek, amaç ve öğrenim hedefleri yeniden belirlenmiş, dersler öğrencilerin etkin katılım ve ilgilerini artıracak, öğrenme düzeylerinde kalıcılık sağlayacak bir yapıya dönüştürülmeye çalışılmıştır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ve Tıp Eğitimi Anabilim Dalları tarafından 2009-2010 akademik yılında yürütülen bu çalışmada, yeniden yapılandırılan Evre 3 TM-LD derslerine ilişkin öğrenci beğenisi ve bilgi düzeylerine ilişkin ilk sonuçların paylaşılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Eğitim programı içinde Evre 3 TM-LD dersleri "hastalık etkeni mikroorganizmanın tanımlanmasında mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneğin, laboratuvara girişinden rapor edilişine kadar geçen tüm basamakların gerçekle eşzamanlı simüle edilecek" şekilde birbirini izleyen dört günde yapılmıştır. Böylece hem öğrencilerin günlük pratikte karşılaşacakları bir ders akışının oluşturulması hem de teorik bilgilerin anlaşılırlığının desteklenmesi hedeflenmiştir. Öğrencilere eğitim sonunda ve beş ay sonra yeniden 25 doğru/yanlış tipi sorudan oluşan bilgi testi uygulanmıştır.
Bulgular
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi 2. Sınıfı'na kayıtlı (N=351) öğrencinin 284'ü (%80,9) uygulanan dört dersin tümüne katılmış, geri kalan 67 (%19,1) öğrenci ise yalnızca bir derse katılmamıştır. Eğitim sonunda öğrencilerden 14 soruluk yapılandırılmış geribildirim formunu 9'lu Likert Ölçeği'ne göre yanıtlamaları istenmiş ve 328 (%93,4) öğrenci formu yanıtlamıştır. Öğrenciler geribildirimlerinde; derslerde kullanılan araç-gereç ve malzemeyi uygun (ort:7,37), eğiticileri konularına hakim (ort:7,26), genel olarak da eğitimleri iyi bulduklarını (ort:6,91) belirtmişlerdir. Öğrenciler, eğitimler sırasında uygulanan sesli slayt sunumunu ise; çok sık kesintiye uğraması nedeniyle dikkat dağıtıcı olduğunu belirtmişler ve bu değerlendirme başlığı en düşük ortalama (5,25) değeri almıştır. Öğrencilerin ikinci bilgi testinde doğru yanıt ortalamalarının (19,48) ilk teste göre (18,60) anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İkinci Sınıf (Evre 3) öğrencilerinin, Tıbbi Mikrobiyoloji kuramsal eğitimlerini pekiştirmek amacıyla uygulanan TM-LD derslerinin yeniden yapılandırılmış biçimine ilişkin beğenilerinin iyi düzeyde olduğu, geri bildirim formundaki hemen tüm başlıkların büyük oranda ortalamanın üzerinde puan değeri aldığı, bilgi düzeylerinde test-yeniden test uygulamasında anlamlı artış olduğu saptanmıştır.
Sonuç
Bu geri bildirim dikkate alınarak bir sonraki dönemde sesli sunumun daha az kesintiye uğrayacak biçimde değiştirilmiş ve TM-LD derslerinin yeni biçimiyle sonraki akademik yıllarda uygulanması kararı alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Laboratuvar-Demonstrasyon Dersleri, Tıbbi Mikrobiyoloji, Tıp Fakültesi Öğrenci Eğitimi

Tablo 1. Anket ölçeği ve öğrencilerin değerlendirme başlıklarına verdikleri puanların ortalama ve standart sapmaları (SS).

FY	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Fikrim yok	Kesinlikle Katılmıyorum / çok kötü		Katılmıyorum / kötü		Nötr / ortalama		Katılıyorum / iyi		Kesinlikle Katılıyorum / çok iyi

Değerlendirme Başlığı	**Ortalama ± SS**
1. Eğitici bizi eğitmek konusunda hevesliydi.	7,04 ±1,79
2. Eğitici konulara hakimdi.	7,26 ±1,50
3. Ders notları öğrenmemi kolaylaştırdı.	6,21 ±1,94
4. Bu eğitim için uygun araç-gereç ve malzeme seçilmişti.	7,37 ±1,34
5. Seçilen eğitim yöntemi (slayt eşliğinde anlatım, gösterme ve yaptırma) hedeflere uygundu.	6,58 ±1,92
6. Slayt sunumlarını dikkatim dağılmadan izledim.	5,25 ±2,20
7. Eğitim yöntemini beğendim.	6,28 ±1,87
8. Lab-Demo eğitim içeriği teorik eğitimle uyumluydu.	6,72 ±1,51
9. Bu eğitimler için ayrılan süre (1 çok kısa....5 uygun....9 çok fazla)	5,37 ±1,59
10. Eğitimin içeriğini ilerideki mesleğim açısından (1 çok yararsız-9 çok yararlı) buldum.	6,48 ±1,80
11. Bu eğitimin fakülte programı içindeki zamanlamasını uygun buluyorum.	6,63 ±1,78
12. Genel olarak bu eğitim konusundaki düşünceniz nedir? (1 çok kötü- 9 çok iyi)	6,91 ±1,30

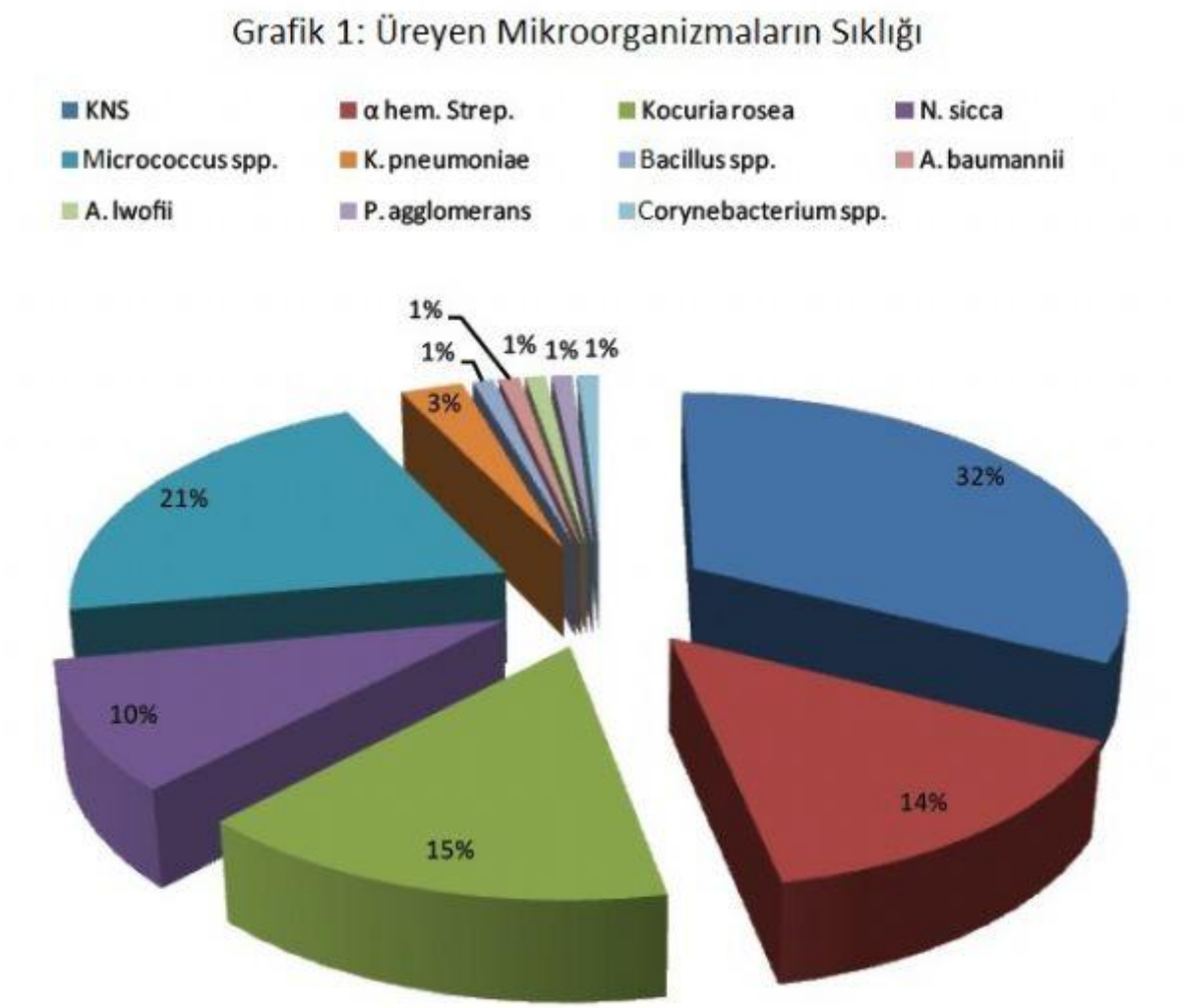
P156- OYUNCAKLAR: DOST MU, DÜŞMAN MI?

Nur Doğanay[1], İpek Kavakoğlu[1], Onur Kumcu[1], Arın Öztürk[1], Emre Tunç[1], **Zeynep Ceren Karahan[2]**
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dönem 3, Ankara*
[2]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Oyuncaklar, özellikle hastanede uzun süre yatan çocukların vazgeçilmez arkadaşlarıdır. Oyuncakların hastane florasında bulunan bakterilerle kontaminasyonu, özellikle altta yatan hastalıkları olan çocuklarda enfeksiyon riskini arttırabileceğinden önemlidir. Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (ÇSH) kliniğine ait oyun odasında ortak kullanılan oyuncaklarla, ÇSH ve Çocuk Cerrahisi (ÇC) kliniklerinde yatan hastaların kendilerine ait oyuncaklarda bakteri varlığının araştırılması; ayrıca oyuncak kullanım şekli (ortak veya kişisel); oyuncağın yapıldığı materyal (sert veya yumuşak) ve temizlik/dezenfeksiyon işlemlerinin oyuncakta üreyen bakteri türlerine üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya, ÇSH kliniğinde yatarak tedavi gören hastalara ait 10, Çocuk Cerrahisi kliniğinde yatarak tedavi gören hastalara ait 15 oyuncak ile, ÇSH kliniği oyun odasında ortak kullanılan 29 oyuncak dahil edilmiş, örnekler oyuncağın yapıldığı materyale ve kullanım şekline göre gruplandırılmıştır. Hastalara ait oyuncaklardan bir defa, ortak kullanılan oyuncaklardan ise temizlikten önce bir defa, temizlik/ dezenfeksiyon işleminden hemen sonra ve 3.günde kontrol örnekleri alınmıştır. Sert materyalden yapılmış oyuncakların temizlikleri su ve sabunla yapılmış, kuruduktan sonra oyuncaklar alkollü pamukla silinmiştir. Yumuşak oyuncaklar çamaşır makinesinde yıkanıp kurutucuda kurutularak temizlenmiştir. Sürüntü örnekleri Stuart taşıma besiyeri içerisinde laboratuvara ulaştırılmış ve koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra üreyen kolonilerden mikroorganizmaların identifikasyonu standart mikrobiyolojik yöntemler ve Phoenix (Becton Dickinson, ABD) otomatize identifikasyon sistemi kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar SPSS programında Fisher's Extract ve Mc Nemar testleri kullanılarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
ÇSH kliniği oyun odasından alınan 29 oyuncağın beşinde temizlikten önceki ilk günde tek bakteri türü (birinde Micrococcus spp, diğer dört örnekte koagülaz negatif stafilokok) ürerken, 23'ünde birden fazla tür üremiştir. ÇSH kliniğinde yatan ve ÇC'de yatan çocukların oyuncaklarından alınan 25 örneğin üçünde sadece koagülaz negatif stafilokok üremiş, diğerlerinde birden fazla bakteri türü üremiştir. Alınan örneklerde üreyen mikroorganizmalar tabloda verilmiştir.
Sonuç
Temizlenmemiş oyuncaklarda, özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda enfeksiyona neden olabilen çeşitli bakteri türlerinin ürediği gözlemlenmiştir. Oyuncağın kullanım şekli (ortak/ kişisel) ve oyuncağın yapıldığı materyal (yumuşak/sert) üreyen mikroorganizmalar açısından bir fark yaratmamaktadır ($p>0.05$). Temizlik sonrasında alınan iki örnekte de üreyen mikroorganizma sayısı, temizlik öncesine kıyasla anlamlı düşük bulunmuştur (Sırasıyla, $p<0.0001$, ve $p= 0.008$). Örnek alınan oyuncaklarla çocukların sıklıkla temas ettiği göz önünde bulundurulursa, bu oyuncakların ciddi enfeksiyonların bulaşında bir vektör olabileceği dikkate alınmalıdır. Bu risk, ortak kullanılan oyuncaklar kadar kişisel oyuncaklar açısından da sözkonusudur. Basit temizlik ve dezenfeksiyon işlemleriyle oyuncakların üzerinde bulunan mikroorganizma yükünün anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında ÇSH ve ÇC Anabilim Dalı sorumluluarı, çalışanları ve hasta yakınları bilgilendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çocuk, oyuncak, bakteri, hastane enfeksiyonu

Grafik 1



Oyuncaklar



Tablo-1

Tablo 1: Oyuncaklarda Üreyen Mikroorganizmalar

Üreyen Bakteri	ÇSH Kliniği – Ortak Oyun Alanı (n=29)						ÇSH ve ÇC Klinikleri- Çocuklara Ait Oyuncaklar (n=25)			
	TÖ		TS-1		TS-2		ÇSH Kliniği (n=10)		ÇC Kliniği (n=15)	
	Sert (n=14)	Yumuşak (n=15)	Sert (n=14)	Yumuşak (n=15)	Sert (n=14)	Yumuşak (n=15)	Sert (n=7)	Yumuşak (n=3)	Sert (n=10)	Yumuşak (n=5)
Koagülaz (-) stafilokok	7	10	1	2	10	10	6	2	10	1
α hemolitik streptokok	5	2	-	-	1	1	1	2	3	3
Kocuria rosea	8	2	-	-	-	-	4	-	1	2
Neisseria sicca	4	2	-	-	-	-	1	2	1	1
Micrococcus spp.	7	10	-	1	-	-	1	-	3	2
Klebsiella pneumoniae	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2
Bacillus spp.	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Acinetobacter baumanni	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Acinetobacter lwoffi	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Pantoea agglomerans	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Corynebacterium spp.	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-

P157 - YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ETKENLER VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Birol Şafak, Nedim Tunç
Balıkesir Atatürk Devlet Hastanesi, Balıkesir

Giriş
Maliyeti ve mortalitesi yüksek olmasına rağmen önlenebilir enfeksiyonlar olan HE(Hastane enfeksiyonları) son yıllarda giderek önem kazanmaktadır.

Materyal-Metod
Ocak-Ağustos 2011 tarihleri arasında hastanemizde yatan hastalardan gelen kültür örnekleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Etkenlerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde Vitek-2 otomatize identifikasyon cihazı kullanılmıştır.

Bulgular
867'si kan, 533'ü idrar, 258'i yara, 197'si solunum, 32'si balgam, 74'ü diğer olmak üzere toplam 1961 örnekten 504'ünde (%25,7) üreme tespit edilmiştir. Örneklerin 901'i YBÜ(Yoğun Bakım Ünitesi), 612'si Dahili klinikler, 448'i Cerrahi kliniklerden gelmiştir. En sık izole edilen etken E. coli(%20.6)'dir. Etkenlerin kliniklere ve örneklere göre dağılımı Tablo-1'de özetlenmiştir. Etkenlerin antibiyotik duyarlılık oranları ise Tablo-2'de gösterilmiştir.
Bu çalışmada A. baumannii'de en etkin antibiyotik amikasin, P. aeruginosa'da karbapenem ve siprofloksasin, E. coli'de 2. ve 3. kuşak sefalosporinler, betalaktam-betalaktam inhibitörü kombinasyonu ve karbapenemler, Klebsiella spp.'de trimetoprim-sülfametaksazol, siprofloksasin ve karbapenmeler olarak tespit edilmiştir. Enterik bakterilerde karbapenem direnci %2 olarak bulunmuştur.
Kolistin direnci P. aeruginosa'da %14 olarak tespit edilirken, A.baumannii'de direnç görülmemiştir. Oksasilin direnci S.aureus'da %52, KNS(Koagulaz Negatif Stafilokok)'de %78, MLSB(Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B) oranı S. aureus için %40, KNS'de %46, siprofloksasin duyarlılığı S.aureus'da %69, KNS'de %52, trimetoprim-sülfametaksazol duyarlılığı S.aureus'da %68 KNS'de %78 tespit edilirken S.aureus ve KNS suşlarında glikopeptid direnci gösterilmemiştir.
Enterokoklar için glikopeptid %90, siprofloksasin %52 duyarlı bulunmuştur.

Sonuç
Sonuç olarak hastanede sık görülen etkenlerin ve bunların direnç durumlarının bilinmesi, ampirik tedavide kullanılacak ilaçların seçiminde büyük önem taşıdığı gibi, direnç gelşiminin önlenmesine de katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik duyarlılığı, yatan hasta, enfeksiyon etkenleri

Tablo-1: Kliniklerden Gelen Örneklere Göre Üreyen Bakteriyel Etkenler

	Yoğun Bakım Üniteleri								Dahili Klinikler								Cerrahi Klinikler											
	Kan (%40,6)		Solunum(%31,6)		İdrar (%22,2)		Yara (%5,6)		İdrar (%44,4)		Kan (%38,1)		Yara (%11,9)		Balgam (%4,8)		Yara (%60)		İdrar (%16,7)		Kan (%8,9)		Balgam (%2,2)		Diğer (%12,2)		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
E. coli	2	1,7	12	13,2	25	39,1	4	25	27	48,2	6	12,5	2	13,3			12	22,2	8	53,3					6	54,5	104	20,6
MRKNS	50	42,			4	6,2	1	6,2	3	5,4	12	25	2	13,			6	11,			3	37,			1	9,1	83	16,

		7												3				1				5					5
P. aeruginosa	2	1,7	29	31,8	5	7,8	3	18,8	5	8,9	3	6,2	2	13,3	2	33,3	13	24,1	3	20	3	37,5	1	50	2	18,2	73	14,5
A. baumannii	7	6	24	26,4	10	15,6	2	12,5	1	1,8					1	16,7							1	50			46	9,1
Klebsiella spp.	10	8,6	12	13,2	8	12,5			3	5,4	1	2,1	1	6,7	3	50	2	3,7	1	6,7					1	9,1	42	8,3
MRSA	20	17,1	3	3,3	2	3,1	1	6,2			4	8,3	2	13,3			2	3,7									34	6,7
S. aureus	6	5,1	4	4,4			3	18,8			8	16,7	3	20			6	11,1			1	12,5					31	6,2
Enterococcus spp.	5	4,3			6	9,4			10	17,9	2	4,2	1	6,7			5	9,3	2	13,3							31	6,2
Enterobacteriaceae	5	4,3	6	6,6	2	3,1	1	6,2	6	10,8	1	2,1	2	13,3			6	11,1									29	5,8
KNS	9	7,7			1	1,6	1	6,2			11	22,9					2	3,7									24	4,8
Nonfermenterler					1	1,6			1	1,8									1	6,7	1	12,5			1	9,1	5	0,9
S. agalactiae	1	0,8	1	1,1																							2	0,4
Toplam	117		91		64		16		56		48		15		6		54		15		8		2		11		504	

Tablo-2: Etkenlere Göre Antibiyotik Duyarlılık Oranları

	GSBL		KZ		CXM		CRO		AMC		SXT		CIP		CN		KP		AK		CAZ		Metisilin		GP		AMP	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
E. coli(104) Klebsiella spp.(42)	27	26	54	52	66	64	70	67	71	68	51	49	55	53	69	66	104	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Klebsiella spp.(42)	20	48	19	45	20	48	21	50	26	62	34	81	30	71	27	64	39	93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Enterobacteriaceae(29)	-	-	7	24	10	34	17	59	22	76	14	49	21	72	23	79	25	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P. aeruginosa(73)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	65	89	52	71	68	93	58	79	46	63	-	-	-	-	-	-
A. baumannii(46)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	28	16	35	13	28	23	50	9	20	-	-	-	-	-	-
Nonfermenterler(5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	60	3	60	2	40	0	0	2	40	3	60	-	-	-	-	-	-
S. aureus(65)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44	68	45	69	-	-	-	-	-	-	-	-	31	48	65	100	-	-
KNS(107)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83	78	56	52	-	-	-	-	-	-	-	-	24	22	107	100	-	-
Enterococcus spp.(31)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	90	23	74
S.agalactiae(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz, KZ: Sefazolin, CXM: Sefuroksim Aksetil, CRO: Seftriakson, AMC: Amoksisilin Klavulanikasit, SXT: Trimetoprim sülfametaksazol, CIP: Siprofloksasin, CN: Gentamisin, KP: Karbapenemler, AK: Amikasin, CAZ: Seftazidim, GP: Glikopeptidler, AMP: Ampisilin, -: Değerlendirilmedi

P158 - ALT SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE; Q SKOR MU, Q2-3-4 MÜ?

Zübeyde Eres Sarıtaş[1], Dilara Öğünç[1], Betil Özhak Baysan[1], Levent Dönmez[2], Meral Gültekin[1]
[1]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[2]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, Antalya*

Giriş-Amaç
Alt solunum yolu enfeksiyonu düşünülen hastalardan alınan balgam ve endotrakeal aspirat örneklerinin değerlendirilmesinde gram boyama anahtar değere sahiptir. Bu örnekler alımları esnasında tükrük ve dolayısıyla orofarengeal flora elemanları ile kontamine olabilmektedir. Kontaminasyon objektif olarak gram boyamadaki lökosit ve epitel hücrelerinin miktarıyla veya birbirlerine oranlarıyla tanımlanmaktadır. Bu tanımlama için farklı yöntemler bulunmaktadır.
Çalışmamızda alt solunum yolu örneklerinin değerlendirilmesinde Q skor ve Q2-3-4 prensiplerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına gelen toplam 140 balgam ve endotrakeal aspirat örneğindeki potansiyel patojenlerin varlığı (S. pneumoniae, Enterobacteriacea, diğer gram negatif basiller, M. catarrhalis, N. meningitidis, C. neoformans) Q skor ve Q2-3-4 prensipleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Q skor prensibinde, örneklerin gram boyalı yaymaları Tablo-1 'e göre değerlendirilmiş, elde edilen Q skoru kadar (Q0 skoru için sıfır, Q1'de bir, Q2'de iki ve Q3'de üç olmak üzere maksimum üç) potansiyel patojen tanımlanmıştır. Q2-3-4 yönteminde ise örnek kalitesi yayma ile değerlendirilip maksimum iki potansiyel patojen tanımlanmıştır.
Bulgular-Sonuç
Çalışılan 140 örneğin Q skor ve Q2-3-4 yöntemleriyle değerlendirilmesi sonucu 127 örnekte aynı potansiyel patojenler saptanmıştır. On üç örnekte ise Q skor yöntemiyle, Q2-3-4 yöntemine göre fazladan birer mikroorganizma tanımlanmasına daha gidilmiştir. Bunlardan dördünde P. aeruginosa, birinde E. coli saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alt solunum yolu örneği, Q skor, Q2-3-4

Tablo-1

Q-Skor

			Yassı epitel hücresi			
			Hücre sayısı	1-9/lpf	10-24/lpf	≥25/lpf
		Skor → ↓	0	-1	-2	-3
Nötrofil	Hücre sayısı	0	3	0	0	0
	1-9/lpf	+1	3	0	0	0
	10-24/lpf	+2	3	1	0	0
	≥25/lpf	+3	3	2	1	0

P159 - HASTANEMİZ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINA GÖNDERİLEN MİKROBİYOLOJİK BAKI VE KÜLTÜR ÖRNEKLERİ İLE VİROLOJİ/SEROLOJİ ÖRNEKLERİNDEN UYGUNSUZ BULUNUP GERİ ÇEVRİLENLERİN NEDENLERİ

Metin Sancaktar[1], Çiğdem Yoloğlu[1], Meltem Öksüz[1], Ayhan Genç[1], Meryem Selim[1], Zeynep Yıldız[1], Figen Bilgi[2], Fatih Niyazoğlu[2], Hakan Usta[2], Talat Pekşen[3], Tülin Uzunoğlu[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi Acil Laboratuvarı, Trabzon*

Amaç
Laboratuvarlarda çalışılan tüm tahliller çalışma öncesi belirli kurallara göre alınıp laboratuvarlara gönderilirler. Uygun bulunan örnekler çalışılırken, uygun bulunmayan örnekler geri çevrilirler. Bu çalışmada Haziran 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kültür ve mikroskopik bakı ile seroloji/viroloji örneklerinden uygunsuz bulunup geri çevrilenlerin geriye dönük olarak taranıp oranının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Uygunsuzluk ve geri çevirme nedenleri hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kılavuzu'nda daha önceden belirlenip yazılan, dağıtımı ve eğitimi yapılan nedenlerden oluşmuştur. Kültür ve mikroskopi örnekleri için uygun ve steril kapların/şişelerin kullanımı, örneğin doğru yerden doğru zamanda alınması, etiketlenmesi, saklanması ve taşınması uygunluğu; seroloji örnekleri için hemoliz, lipemi, ikter görülmesi; viroloji örnekleri için hemoliz, lipemi, ikter görülmesi yanında uygun olmayan tüple alınan örnekler uygunsuzluğu belirlemiştir.
Bulgular
Bu dönem içerisinde mikrobiyoloji kültür laboratuvarımızda çalışılan toplam 29.407 tahlilin 11.611'ini (%39.2) kültür ve 8.100'ini (%27.8) bu örneklerin boyalı ve boyasız mikroskopik bakısı oluşturmuştur. Geriye kalan 9.696 (%33) mikrobiyolojik bakıyı 97 direkt mantar bakısı, 46 EZN boyama, 167 *H.pylori* üreaz deneyi, 453 spermogram, 5.044 dışkı mikroskopisi, 480 dışkı HPSA ve*E.histolytica/Giardia spp.* antijen-antikor deneyi, 3.409 dışkıda gizli kan deneyi oluşturmuştur. Yine bu dönemde mikrobiyoloji seroloji/viroloji laboratuarımızda 247 *Salmonella spp.* tüp aglütinasyon deneyi, 748 *Brucella spp.* tüp aglütinasyon deneyi, 12 heterofil antikor deneyi, 3.415 VDRL, 28 TPHA deneyi, 134.423 hepatit belirteçleri, Anti-HIV, Anti-Toksoplazma/Rubella/CMV IgM/IgG olarak toplam 138.873 test çalışılmıştır. Uygunsuz bulunup geri çevrilen örneklerin (%0.35) çoğunluğunu sırasıyla kültür ekimi için gönderilen ve uygunsuz bulunup geri çevrilen örnekler (%0.15), barkot kusuru bulunan örnekler (%0.09), yetersiz olan ya da alınmadan boş gönderilen örnekler (%0.05), yanlış alınan örnekler (%0.04), yanlış kap/tüp kullanımı (%0.02) oluşturmuştur. Uygunsuz alınan örneklerin tamamına yakınını idrar kültür örnekleri oluşturmaktaydı. Barkot kusuru genellikle örneğin barkotsuz olması ya da birden çok örneğin aynı barkotla gelmesinden kaynaklanıyordu ve çoğunlukla kan kültürlerinde bu sorunla karşılaştık. Boş gönderilen örneklerle de kan kültürlerinde karşılaştık. Bunlar, genelde birisi kan ekilmiş, diğeri kan ekilmeden gönderilmiş şişelerden oluşuyordu. Yanlış alınan örnekler dışkı yerine idrar verilen örneklerdi. Yanlış tüp/kap kullanılan örnekler steril olmayan tüplere, jelli biyokimya tüplerine ya da patoloji laboratuvarının formaldehitli şişelerine alınan yara ve vücut sıvısı kültürleriydi. Seroloji/viroloji örnekleri tek tip jelli biyokimya tüplerine alındığı için uygunsuzluk ve geri çevirme oranı (%0.009) çok düşük bulunmuştur. Yetersiz kan alımı (%0.005) ve lipemik ya da hemolizli uygunsuz örnek alımı (%0.003) düşük oranlarda bulunmuştur. Aşağıdaki çizelgede hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gelen mikrobiyolojik bakı ve kültür örnekleri ile seroloji ve viroloji örneklerinden uygunsuz bulunan ve geri çevrilenlerin dağılımı görülmektedir.
Sonuç
Genelde tüm mikrobiyoloji örnekleri, özelde bakı ve kültür örnekleri, alınması/çalışması zahmetli ve sonuçlanması uzun sürdüğü için mikrobiyoloji laboratuvarları için "en değerli" örnekler arasındadır. Mikrobiyolojik bakı ve kültür örneklerinin doğru biçimde, uygun kaplara alınıp mikrobiyoloji laboratuvarlarına ulaştırılması gerektiği için yönlendirici bir eğitim verilmesi gerekir. Bu hem gereksinim duyulduğunda telefonla bilgi verilmesini, hem de yazılı/basılı kılavuzları ve işbaşı eğitimini kapsar. Uygun olmayan örneklerin kabul edilmeyip geri çevrilmesi mikrobiyoloji laboratuvarının güvenilirliğini arttıracaktır. Uygun olamayan örneklerin geri çevrilmesi sanıldığının aksine bir zaman kaybına yol açmaz. Aksine hastanın/hekimin doğru ve güvenilir sonucu daha erken almasına yol açar.

Anahtar Kelimeler: Uygunsuz örnek, reddedilen örnek, örnek geri çevirme, kültür örnekleri, seroloji örnekleri

Çizelge 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen mikrobiyolojik bakı ve kültür örnekleri ile seroloji ve viroloji örneklerinden uygunsuz bulunan ve geri çevrilenlerin dağılımı.

Uygunsuzluk Tanımı ve Geri Çevirme Nedeni	Kültür ve Mikrobiyolojik Bakı	Seroloji ve Viroloji
Örnek yok/yetersiz/ekilmemiş	14 (%0.05)	7 (%0.005)

Uygunsuz örnek alınması	44 (%0.15)	5 (%0.003)
Yanlış kap/tüp kullanılması	6 (%0.02)	0
Yanlış örnek alınması	13 (%0.04)	0
Barkod/otomasyon kusuru	28 (%0.09)	1 (%0.0006)
Toplam	105 (%0.35)	13 (%0.009)

P160 - KAN KÜLTÜRÜNDEN İZOLE EDİLEN *ENTEROKOK* TÜRLERİNİN İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Pınar Etiz[1], Yağmur Ekenoğlu[1], Filiz Kibar[2], Akgün Yaman[1]
[1]*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Adana*
[2]*Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Adana*

Amaç
Son yıllarda *Enterokok* bakteriyemisinde ki artış ile beraber, *Enterokok*'ların antimikrobiklere karşı direnç geliştirmesi bu tür olguların tedavisindeki problemleri artırmaktadır. Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen *Enterokok* suşlarının identifikasyonu ve in-vitro antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmaya, Ocak 2011- Eylül 2011 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji birimine çeşitli kliniklerden gönderilen 16775 kan kültürlerinden izole edilen 50 adet *Enterokok* suşu dahil edilmiştir. Kliniklerden gönderilen kan kültür şişeleri BACTEC 9240 (Becton-Dickinson) otomotize kan kültür cihazında inkübe edilmiştir. Pozitif kan kültürlerinden % 5 koyun kanlı agara (bioMerieux) pasaj yapılarak 37°C'de, 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda bakteri üremesi saptanan kolonilerden Gram boyası ve katalaz testi yapılmıştır. Suşların tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 (bioMerieux) otomotize sistemi ile yapılmıştır.
Bulgular
İzole edilen toplam 50 *Enterokok* suşun % 66'sı (n=33) *Enterococcus faecalis*, % 28'si (n=14) *Enterococcus faecium*, %4'ü (n=2) *Enterococcus gallinarum* ve % 2'si (n=1) de *Enterococcus avium* olarak tiplendirilmiştir. Suşların antibiyotiklere direnç oranları tablo I de gösterilmiştir.
Çalışmamızda izole ettiğimiz *E. faecalis*, *E. faecium* suşlarının tamamı tigecycline duyarlı bulunurken, trimethoprim/sulfamethoxazol'e karşı dirençli olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda tespit edilen VRE suşunun Clinical Laboratory Standards Institude (CLSI) kriterlerine göre E-Test yöntemi ile de değerlendirilmesi yapılmıştır.
Sonuç
Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde, antibiyotik direnç paternlerinin türlere göre farklılık göstermesinden dolayı mutlaka türlerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmalıdır.

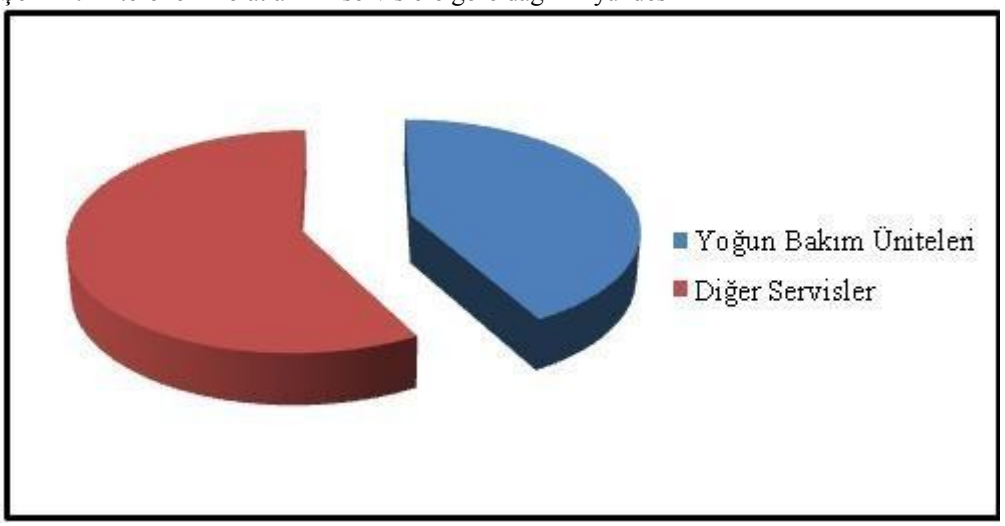
Anahtar Kelimeler: Antibiyotiklere duyarlılık, *Enterokok*, Kan kültürü

Tablo I. Kan kültüründen izole edilen Enterokok türlerinin antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	E. faecalis (n=33)	E. faecalis (n=33)	E. faecium (n=14)	E. faecium (n=14)
	Dirençli* n	Dirençli* %	Dirençli* n	Dirençli* %
Ampicillin	33	100	12	85,7
Ciprofloxacin	11	33,3	13	92,8
Clindamycin	33	100	13	92,8
Moxifloxacin	11	33,3	12	85,7
Tetracycline	30	90,9	6	42,8
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	33	100	14	100
Vancomycin	0	0	1	7,1
Erytromycin	19	57,5	14	100
Gentamycin**	11	33,3	6	42,8
İmipenem	1	3	12	85,7
Linezolid	3	9,09	0	0
Streptomycin***	9	27,2	9	64
Teicoplanin	0	0	1	7,1
Tigecycline	0	0	0	0

Orta duyarlı suşlar dirençli olanlara dahil edilmiştir. **Yüksek düzey gentamycin direnci ***Yüksek düzey streptomycin direnci

Şekil 1. Enterokok izolatlarının servislere göre dağılım yüzdesi



P161- KAN KÜLTÜRLERİNDE ETKEN DAĞILIMI VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Mustafa Altındiş, Özlem Yoldaş, Gülşah Aşık
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Afyonkarahisar

Amaç
Günümüzde tanı ve tedavi amaçlı invaziv girişimlerdeki artış bakteriyemi riskinin de artışına neden olmuştur. Hastane enfeksiyonları arasında önemli yer tutan, yüksek mortalite ile seyreden bakteriyeminin tanısında ve tedavinin yönlendirilmesinde en geçerli yöntem kan kültürüdür. Bu çalışmada 2008-2011 yıllarında kan kültürlerinden izole edilen etkenlerin dağılımının, antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi ve yıllara göre değişimin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
AKÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD. Laboratuarına, 2008- 2011 tarihleri arasında çeşitli ünitelerden gönderilen 5147 kan kültür örneğinin sonuçları etken patojenin türü açısından retrospektif olarak araştırılmıştır. Hasta kanları aerop ve anaeorop kültür şişelerine 5-10 ml, pediatrik şişelere 0,5-2ml olacak şekilde ekilmiştir. Örnekler BacT/ALERT (Biomeriux) sistemi ile inkübe edilmiş, üreme olanlardan, Gram boyalı preparat hazırlanmış ve %5 koyun kanlı agar ile EMB agara subkültürleri yapılmıştır. Kültür sonucu patojen mikroorganizma izole edildiğinde konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 Compact otomatize identifikasyon sistemi ile tanımlanarak, antibiyotik duyarlılıkları test edilmiştir.
Bulgular
Değerlendirilen örneklerin 1512'sinde (%29.4) üreme gözlenmiştir. Tüm örnekler değerlendirildiğinde etken dağılımının; Gram pozitifler 943 (%62.4), Gram negatifler 520 (%34.4), Candida türleri 49 (%3.2) şeklinde olduğu gözlenmiştir. Sıklık sırasına göre %31 (469) Staphylococcus aureus, %20 (296) koagülaz negatif stafilokoklar, %10.4 (157) Escherichia coli, %6.8 (103) Acinetobacter baumannii, %5.4(82) Pseudomonas aeruginosa etken patojen olarak saptanmıştır. Antibiyotik direnç profillerinin yıllar içinde değişim gösterdiği görülmüş olup, Siprofloksasin direnç oranının %56'dan %95'lere artışı dikkat çekici bulunmuştur.
Sonuç
Çalışmada etken olarak Gram pozitifler ön planda görülmüş, Gram negatif etkenler sırasıyla E. Coli, A. baumannii, P.aeruginosa olarak saptanmıştır. Direnç gelişiminin önlenmesinde kültür antibiyogram sonuçları ile desteklenen akılcı antibiyotik kullanımı önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, Bakteriyemi, Kan kültürü

Kan kültürlerinden izole edilen etkenlerin dağılım yüzdeleri

ETKENLER	%
GRAM POZİTİF ETKENLER	62.4
Staphylococcus aureus	31.0
Enterococcus faecalis	3.4
Enterococcus faecium	6.1
Koagülaz negatif stafilokok	20.0
GRAM NEGATİF ETKENLER	34.4
Escherichia coli	10.4
Pseudomonas aeruginosa	5.4
Acinetobacter baumannii	6.8
Klebsiella pneumoniae	6.1
CANDİDA TÜRLERİ	3.2

P162 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN BAKTERİYEMİ NEDENİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Semra Kurutepe, Hörü Gazi, **Nuray Cılız,** Tuğba Balaban Eraz
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa

Amaç
Çoğunlukla kontaminant olarak kabul edilen koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) günümüzde primer nozokomiyal bakteriyemi nedenlerinin başında gelmektedir Bu çalışmada, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, bakteriyoloji laboratuvarında Ocak-2009 - Aralık-2010 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen koagülaz negatif stafilokokların bakteriyemi nedeni olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza gönderilen kan kültürü örnekleri BACTEC 9120 (Becton-Dickinson, ABD) aerop kan kültür sistemlerinde değerlendirilmiş, üreyen bakterilerin tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi konvansiyonel yöntemler ve gerektiğinde Phoenix (Becton-Dickinson, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.
Bulgular
Ocak-2009 - Aralık-2010 yılları arasında üreme saptanan toplam 2205 kan kültürünün 536 (%24.3)'sında KNS tanımlanmış olup, bu izolatlar 324 hastadan izole edilmiştir. KNS tanımlanan 536 üremenin ortalama üreme saati 26 (4-168) olup, üreme saatlerine göre incelendiğinde 8>= saat %0.9, 16>= saat %12.9, ilk 24 saat içinde ise %46.1'inde üreme saptanmıştır.
Üreme saptanan 324 hastanın 225 (%69.5)'inde tek örnekte, 99 (%30.5)'unda ise >=2 üreme, saptanmıştır. İki ve üzerinde üreme saptanan 99 hastanın sadece 44 (%44.4)'ünde aynı etken izole edilmiştir. Bu 44 hastanın %63.3'ünde 16 saatin altında üreme bulunmuştur.Tek örnekte üreme saptanan 225 olgunun %50.7'sinde tek kan kültürü, %49.3'ünün ise ikinci örneği olup üreme saptanmamış veya farklı etken üremiştir. Labratuvar verilerimiz üreme saati ve >=2 örnekte üreme dikkate alındığında 324 hastanın 58 (%17.9)'i bakteriyemi, 214 (%66.1) 'ü kontaminasyon, 110 (%34)'u ise labratuvar verileri ile değerlendirilememiştir.
En sık izole edilen etken %28.5 ile Staphylococcus epidermidis bunu %13.5 Staphylococcus haemolyticus izlemektedir. Üreme saptanan 324 olgunun %28.1 iç hastalıkları, %19.1 pediatri, %10.8 nöroloji servisinde izlenmektedir.
Sonuç
Toplam kan kültürü üremelerinin %25'ini oluşturan KNS'lerin labratuvar verileriyle ancak %18'inde bakteriyemi ön tanısına varılmış olup %34'ünde herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır. KNS bağlı bakteriyemi tanısı için mikrobiyolojik veriler kadar hasta bilgilerinin laboratuvar tarafından izlenmesinin gerekli olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyemi, Kan kültürü, Koagülaz negatif stafilokok

---

Tablo1. Kan kültürlerinden izole edilen KNS'ların üreme saatlerinin kümülatif dağılımı

Üreme saati	Pozitif Örnek		Kümülatif Dağılım	
	N	%	N	%
4	1	0.2	1	0.2
8	2	0.4	5	0.9
12	8	1.5	16	3.0
16	15	2.8	69	12.9
18	14	2.6	102	19.0
24	21	3.9	247	46.1
30	14	2.6	338	63.1
36	9	1.7	403	75.2
48	4	0.7	484	90.3
72	2	0.4	523	97.6
168	1	0.2	536	100.0
Toplam			536	100.0

Tablo 2. KNS izole edilen olguların kliniklere göre dağılımı

KNS	KNS N	%
İç hastalıkları	91	28.1
Çocuk Sağ veHas.	62	19.1
Nöroloji	35	10.8
Yoğun bakım	27	8.3
Genel cerrahi	23	7.1
Beyin cerrahisi	22	6.8
Diğer	64	19.8
Toplam	324	100.0

Tablo 3. KNS tür dağılımı

Servis	KNS N	%
S.epidermidis	20	34.5
S.haemolyticus	13	22.4
S.hominis	6	10.3
S.saprophyticus	2	3.5
S. capitis	3	7.1
KNS*	14	24.1
Toplam	58	100.0

P163- MAKROLİD DİRENÇLİ KLİNİK *STREPTOCOCCUS PNEUMONİAE* İZOLATLARINDA EFLUKS POMPASINDAN SORUMLU MEKANİZMANIN ARAŞTIRILMASI

Nebahat Tiryakioğlu, Burak Aksu, **Münevver Ufuk Hasdemir**
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Amaç

Streptococcus pneumoniae izolatlarında makrolid direncinin temelinde iki ana mekanizma rol alır. *erm(B)* tarafından kodlanan metilazlar aracılığıyla oluşan ribozomal hedef değişikliği, makrolidler, linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı yüksek dirence neden olur ve MLS_B fenotipi olarak adlandırılır. İkinci mekanizma ise, efluks pompasını kodlayan *mef* genleri tarafından oluşturulan ve sadece 14 - 15 üyeli makrolidlere karşı direnç ile karakterize olan M fenotipini tanımlar.

S. pneumoniae'de *mef* geni alt tipleri olarak, *mef(A)* ve *mef(E)* genleri belirlenmiştir. Bu genlerin arasında nükleotid bazında %90, protein bazında %88 homoloji söz konusu olmasına rağmen, her iki genin de farklı genetik elemanlar üzerinde taşındığı saptanmıştır. *mef(A)*, Tn1207.1 ya da yakın ilişkili Tn1207.3 transpozonları ile, *mef(E)* ise "MEGA" (Macrolide Efflux Genetic Assembly) olarak adlandırılan bir genetik eleman üzerinde taşınır.

Bu çalışmada, efluks pompasına bağlı makrolid direnci gösteren klinik *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında bu mekanizmadan sorumlu genetik altyapının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu özelliği ile çalışmamız, Türkiye'de yapılmış ilk araştırma özelliğini taşımaktadır.

Gereç-Yöntem

Eritromisin dirençli 97 klinik *S.pneumoniae* izolatı, makrolid direnç genlerinin saptanması amacıyla çalışmaya alınmıştır. İzolatlarda *erm(B), erm(TR) ve mef(A)/(E)* genleri PCR yöntemiyle araştırılmıştır.*mef(A)/(E)* geni pozitif saptanan izolatlarda, bu genin alt sınıflarını ayırmak için, Del Grosso ve ark. uyguladıkları yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla, *mef(A)/(E)* geninin önündeki ve arkasındaki bölgeyi kapsayacak şekilde PZR amplifikasyonu yapılmış; elde edilen 1743 bp'lik ürün, *DraI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile üreticinin önerileri doğrultusunda kesim işlemine alınmıştır. Oluşan parçalar %2 agaroz jelde yürütülerek, elde edilen bant profilleri görsel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

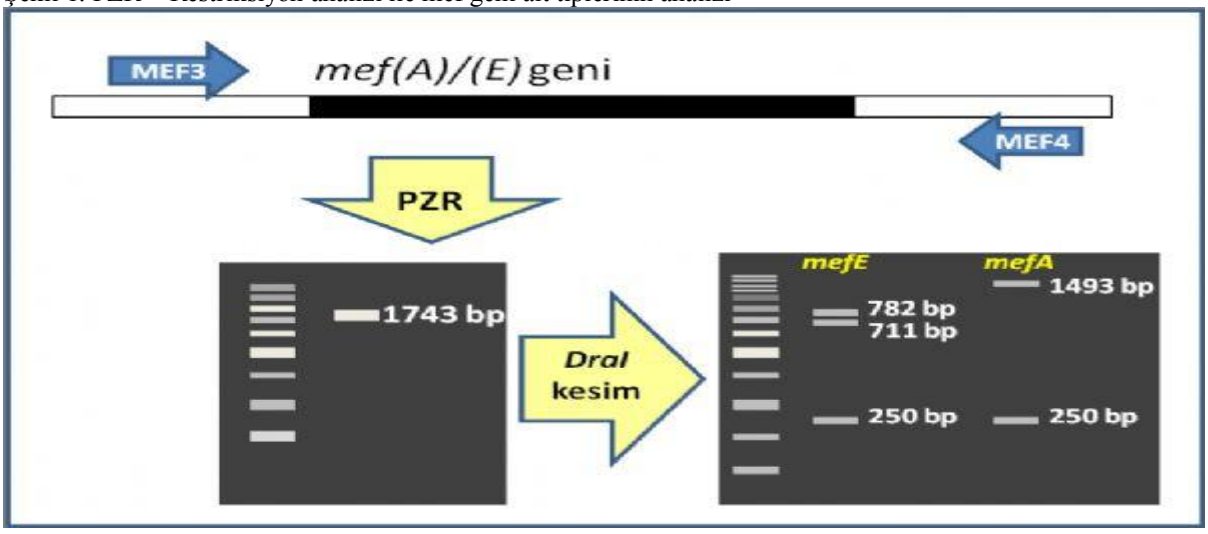
Makrolid dirençli olan ve *mef(A)/(E)* geni taşıdığı saptanan 97 klinik *S.pneumoniae* izolatı çalışmaya alınmıştır. Bu izolatların %74.2'sinde *erm(B)* ve %61.9'unda *mef(A)/(E)* geni pozitif bulunmuştur.*mef(A)/(E)* geni taşıdığı belirlenen 52 izolat, genin alt tiplerinin ayrımına yönelik olarak analiz edilmiş ve bunların tamamının *mef(E)* geni taşıdıkları ortaya konmuştur.

Sonuç

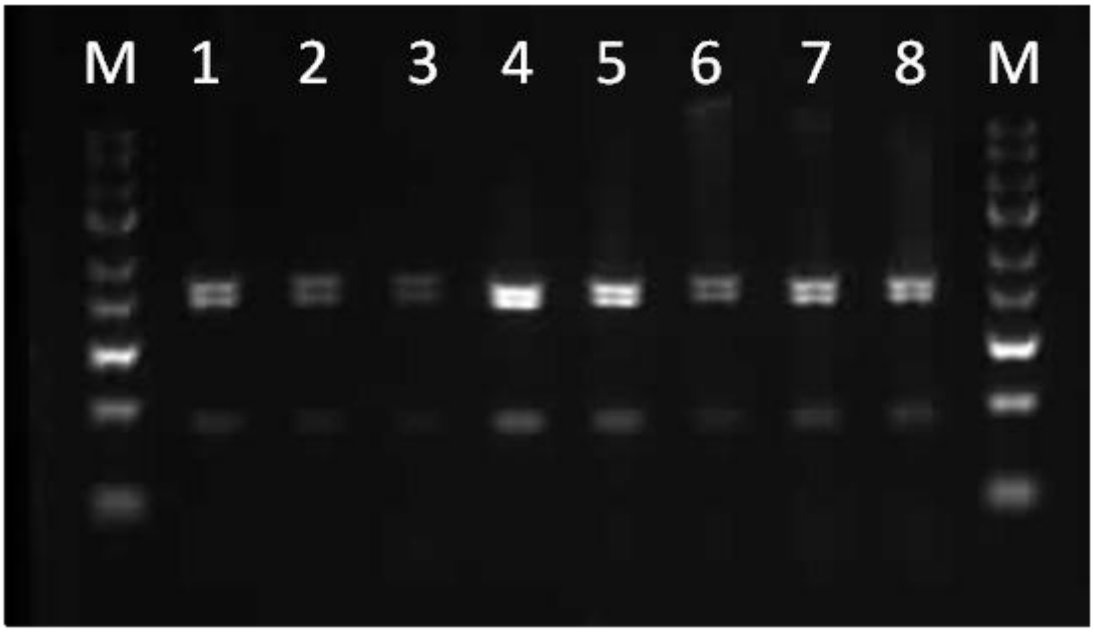
Klinik *S.pneumoniae* izolatlarımızda *mef(A)/(E)* geni sıklığının yüksek olması, ayrıca bu gen ile birlikte *erm(B)* taşıyan kökenlerin de %36'ya varan yüksek oranlarda saptanması önemli verilerdir. Efluks geninin alt tiplerinin belirlenmesi, özellikle *mef(A)* taşıyan suşların klonal olarak ilişkili olması ve *mef(A)* genini taşıyan transpozonların konjugasyonla daha kolay aktarılabildiğinin gösterilmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Bu açıdan, analiz edilen izolatlarımızın hepsinde *mef(E)*geninin saptanmış olması bir avantaj olarak kabul edilebilir. Bu çalışma, ülkemizde, makrolid direncinden sorumlu efluks geni alt sınıflarını saptamaya yönelik olarak ilk veriyi oluşturmaktadır. Gelecekte bu izolatların klonal ilişkilerinin ortaya konmasına yönelik çalışmalar planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus pneumoniae*, makrolid direnci, efluks, *mef(A), mef(E)*

Şekil 1. PZR + Restriksiyon analizi ile mef geni alt tiplerinin analizi



Şekil 2. mef(E) geni taşıyan S.pneumoniae izolatlarında DraI restriksiyon enzimi ile kesim sonuçları



M: 100 bp DNA Marker, 1-8: S.pneumoniae izolatları

P164- İDRAR KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ESCHERİCHİA COLİ SUŞLARINDA NİTROFURANTOİNİN İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Alicem Tekin[1], Tuba Dal[1], Özcan Deveci[2], Recep Tekin[2], Hasan Bozdağ[1], Tuncer Özekinci[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Diyarbakır*

Amaç
Escherichia coli toplum ve hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarından en sık izole edilen etiyolojik etkendir. Çalışmamızda son yıllarda kullanımı oldukça azalmış olan, hatta birçok antimikrobik duyarlılık testlerinin sonuç raporlarında bildirilmeyen nitrofurantoinin E.coli suşları üzerindeki in vitro etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.
Gereç-Yöntem
Ocak 2005-Eylül 2011 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastanelerinin çeşitli poliklinik ve kliniklerinden klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar örneklerinden izole edilenE.coli suşları retrospektif olarak çalışma kapsamına alındı. Elde edilen izolatların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi kullanıldı. İzole ve identifiye edilen E.coli izolatlarının antimikrobik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi tarafından Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenerek çalışıldı. Ayrıca, E.coli izolatlarında Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA) otomatik identifikasyon sistemi ile geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) taraması da yapıldı. Otomatik identifikasyon sisteminde kalite kontrolü amacıyla standart suş olarak E.coli ATCC 25922 kullanıldı.
Bulgular
Dicle Üniversitesi Hastanelerine başvuran poliklinik hastalarından 1.777 (%65.8) ve çeşitli kliniklerde yatan hastalardan 924 (%34.2) olmak üzere toplam 2.701 idrar örneğinden yapılan kültürlerde etiyolojik ajan olarak E.coli üredi. Nitrofurantoine orta duyarlı izolatlar dirençli olarak kabul edildi. Nitrofurantoine duyarlı izolatlar ile dirençli E.coli izolatlarının sayısı sırasıyla; 2.453 (%90.8), 248 (%9.2) olarak saptandı. Çalışmada poliklinik hastalarından elde edilen izolatlarda nitrofurantoine duyarlılık oranı %91.7 (n=1.629) iken, dirençli izolatların oranı ise %8.3 (n=148) olarak tespit edildi. Yatan hastalardan elde edilen izolatlarda nitrofurantoine duyarlılık oranı %89.2 (n=824), direçlilerin oranı ise %10.8 (n=100) olarak belirlendi. İzolatların 674'ü (%25) GSBL pozitif olarak saptandı. GSBL pozitif suşlarda nitrofurantoine direnç oranının %14.2 (n=96) [%58.3'ü yatan hasta (n=56)], GSBL negatif olan 2.027 (% 75) E.coli suşunda ise nitrofurantoine direncin %1.7 (n=34) olduğu tespit edildi.
Sonuç
Toplum ve hastane kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarından en sık izole edilen etken olan E.coli'de antimikrobiklere direnç her geçen gün artmaktadır. Direnç oranlarının artması E.coli'ye bağlı idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde yeni alternatiflere ve eskiden yoğun olarak kullanılan ancak son yıllarda kullanımı oldukça azalmış olan antimikrobiyal ajanlara yönelime neden olabilir. Düşük direnç oranları ve tedavi maliyetleri nedeniyle nitrofurantoin bölgemizdeki idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Escherichia coli, nitrofurantoin, idrar kültürü, antibiyotik duyarlılık

Tablo 1. Hastaların idrar örneklerinden elde edilen E.coli izolatlarının nitrofurantoin duyarlılığı ve geldikleri kliniklere (poliklinik-yatan hasta) göre dağılımı.

Özellik	S [n (%)]	R [n (%)]	Toplam [n (%)]
Poliklinik hastası	1.629 (91.7)	148 (8.3)	1.777 (65.8)
Yatan hasta	824 (89.2)	100 (10.8)	924 (34.2)
Toplam [n (%)]	2.453 (90.8)	248 (9.2)	2.701 (100)

S: Duyarlı, R: Dirençli

Tablo 2. Hastaların idrar örneklerinden elde edilen E.coli izolatlarının nitrofurantoin duyarlılığı ve GSBL varlığına göre dağılımı.

Özellik	S [n (%)]	R [n (%)]	Toplam [n (%)]
GSBL (+)	578 (85.8)	96 (14.2)	674 (25.0)
GSBL (-)	1993 (98.3)	34 (1.7)	2.027 (75.0)
Toplam [n (%)]	2.571 (90.8)	130 (9.2)	2.701 (100)

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, S: Duyarlı, R: Dirençli

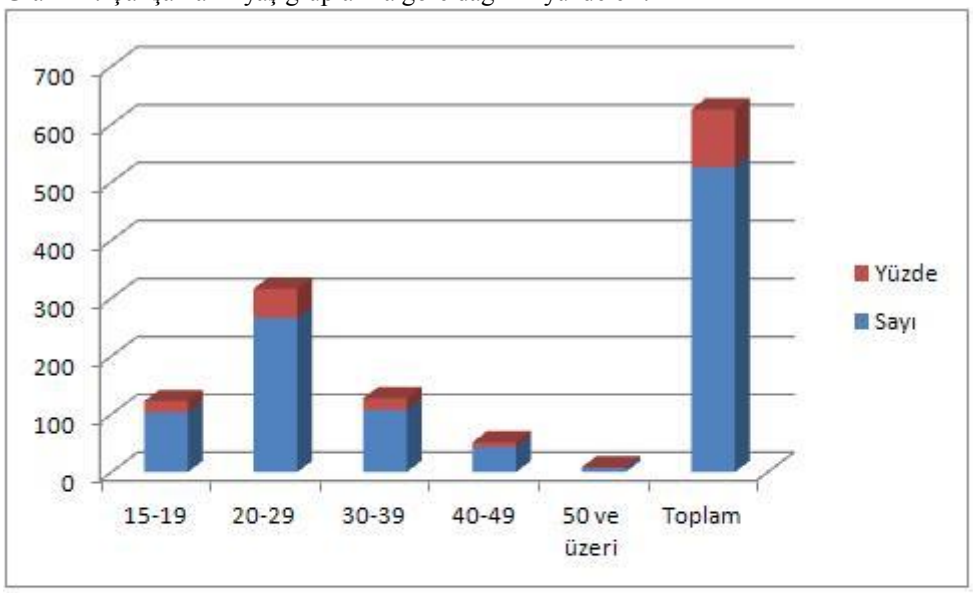
P165 - ANTALYA İLİ GIDA ÇALIŞANLARINDA NAZAL S.AUREUS TAŞIYICILIĞININ VE MRSA ORANLARININ BELİRLENMESİ

Nevgün Sepin Özen[1], Şenay Tuğlu Ataman[1], Derya Seyman[2], Hilal Aldağ[1], Mestan Emek[1]
[1]*Antalya Hıfzıssıhha Enstitüsü, Antalya*
[2]*Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Antalya*

Amaç
Gıda kaynaklı enfeksiyonlar sporadik vaka olarak görülebilir ya da ortak kontamine gıda kaynaklı birden fazla kişiyi etkileyen bir salgın şeklinde karşımıza çıkabilir. Yapılan araştırmalarda gıda kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık üçte biri bakteriyel etkenlerdir. Bakteriyel enfeksiyonların oluşumunda Salmonella spp. ilk sırada iken Staphylococcus aureus'un onu takip ettiği belirlenmiştir. S. aureus en fazla burun ve boğaz boşluğundan, insan ve hayvan dışkılarından, ciltte apseli yaralardan ve aknelerden yoğun olarak izole edilirler. Nazal stafilokoklar, taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar.
Taşıyıcı olan ve özellikle gıda sektöründe bizzat elleriyle gıda hazırlayanlar stafilokok besin zehirlenmelerinin önemli kaynağıdırlar. Antalya bölgesinde portör tarama testleri turizm sektöründe gıda çalışanların çoğunlukta olmasından dolayı yoğun olarak yapılmaktadır. Bu çalışmamızda gıda sektörü çalışanlarında bölgesel olarak nazal taşıyıcılık oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Antalya ve civarında farklı gıda sektöründe çalışanlardan Eylül 2009 – Nisan2010 tarihleri arasında toplam 15600 kişinin portör muayeneleri sırasında nazal sürüntü örnekleri steril eküvyon çubukla alınmış, alınan örnekler % 5'lik koyun kanlı agar besiyerine ekim yapılmıştır. Örnekler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında şüpheli kolonilere Gram boyama, katalaz, koagülaz testi uygulanmıştır. Referans S.aureus olarak tanımlanan izolatların cefoksitin ve oksasilin duyarlılıkları Mueller Hinton agar besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle incelenmiştir. suş olarak ATCC 29213 kullanılmıştır. İzolatlar tanımlandıktan sonra ayrıca BBL CHROMAGAR MRSA II besiyerine pasajlanarak sonuçlar değerlendirilmeye alınmıştır.
Bulgular
Çalışmamızda 15600 kişiden örnek alınmış olup, 526 (% 3.37) kişinin burun kültüründen S. aureus izole edilmiştir. Bu şuşlardan 28 tanesi(% 5,3) MRSA (metisilin dirençli Staphylococcus aureus) olarak tanımlanmıştır. Burun taşıyıcısı olarak belirlenen toplam 526 kişinin 125'ini kadın çalışan (% 23,8), 401'ini erkek çalışan (% 76,2) oluşturmaktadır. Çalışanların yaşları 16 ile 63 yaş arasında olup yaş ortalaması 26.83 olarak bulunmuştur. BBL CHROMAGAR MRSA II besiyerinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 82,75 ve % 99 olarak saptanmıştır.
Sonuç
Yetişkinlerde S. aureus'un nazal taşıyıcılığı en yoğun çocukluk yaş döneminde olmakla birlikte genel populasyonda % 1-40 arasında saptanabilmektedir. Ülkemizden yapılan çalışmalarda Kütahya yöresi gıda sektörü çalışanlarında % 7.1, Erzurum il merkezinde gıda işi ile uğraşan kişilerde % 33, Şanlıurfa'da gıda sektörü çalışanlarında % 23.1 oranında saptanırken çalışmamızda S. aureus'un nazal taşıyıcılık oranı % 3.37 olarak saptanmıştır. Nazal stafilokok taşıyıcılığı üreticiden tüketiciye uzanan bir kontaminasyon zinciri oluşturmakta ve stafilokoksik besin zehirlenmelerine neden olmaktadır. Toplum sağlığı açısından gıda üretilen yerlerin hijyeninin yanı sıra çalışanlarında, kişisel hijyen uygulamalarına dikkat etmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gıda sektörü çalışanları, MRSA, *S. Aureus*

Grafik 1: Çalışanların yaş gruplarına göre dağılım yüzdeleri.



P166- ANTALYA BÖLGESİNDE İNCELENEN SU NUMUNELERİNDE *LEGİONELLA SP* ARAŞTIRILMASI

Şenay Tuğlu Ataman, Nevgün Sepin Özen, Mestan Emek
Antalya Hıfzıssıhha Enstitüsü, Antalya

Amaç
Turizm sektörü Antalya ili ekonomisi için oldukça önemli olup, Legionella sp.'ye bağlı seyahat ilişkili infeksiyonlar bu sektör için ciddi risk oluşturmaktadır. Legionella türleri, genelde doğada oldukca yaygın olarak tatlı su ve nemli toprakta yaşamakta, laboratuarda üretilmeleri için özel şartlar gerektirmektedir. Bakterinin tanımlanan 48 türünden yaklaşık 20 kadarının insanlarda hastalık yapabilme yeteneğinde olduğu kanıtlanmıştır. Legionella ile kontamine suların kullanılması aerosollerin özellikle bağışıklık sistemi zayıf veya baskılanmış olan kişiler tarafından solunum yolundan alınması, legionella infeksiyonlarına neden olmaktadır. Legionella pneumophila serogrup 1 olguların %80-85 inden sorumludur.

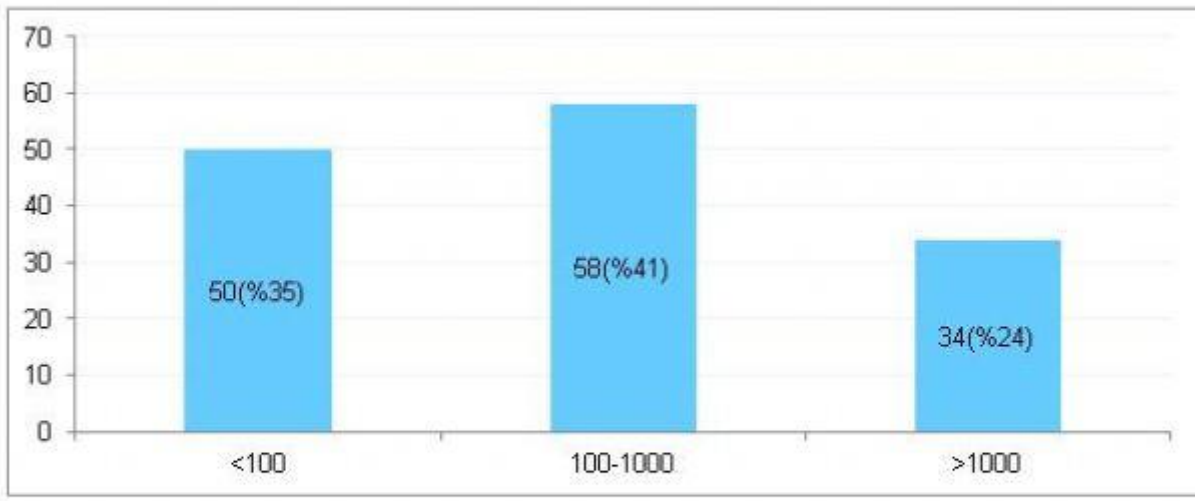
Gereç-Yöntem
2010 yılı içinde Antalya bölgesinde bulunan çeşitli otellerin su sistemlerinin soğutma kulesi, sıcak su kazanı, depo, duş başlıkları, lavabo çeşmeleri gibi değişik noktalarından uygun koşullarda alınan 1419 adet 1 litre su örneği laboratuvarımıza kabul edilerek " ISO 11731-2: Water quality — Detection andenumeration of Legionella —Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts" metoduna göre çalışılmıştır.

Bulgular
En çok örnek gelen ay temmuz ayı 273/1419 (%19,2) en az örnek gelen ay kasım ayı 22/1419 (%1,6) olmuştur. En çok örnek duş başlıkları ve lavabo çeşmeleri 867/1419 (%61,1) en az örnek yumuşatma tanklarından 16/1419 (%1,1) alınmıştır. Gelen 142/1419 (%10) örnek pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif örneklerin 50/142 (35,2) 100 cfu/L nin altında, 58/142 (40,8) 100-1000 cfu/L arası, 34/142 (%23,9) 1000 cfu/L nin üstünde saptanmıştır. Örnek alım yerine göre en çok pozitiflik saptanma yeri hamam 8/55 (%14.5), sonra sıcak su deposu 34/267 (%12,7) olarak saptanmıştır. Pozitif örneklerde L. pneumophila serogrup 2-14 saptanma sıklığı %85 (121/142), L.pneumophila serogrup 1 saptanma sıklığı %15 (21/142) dir.

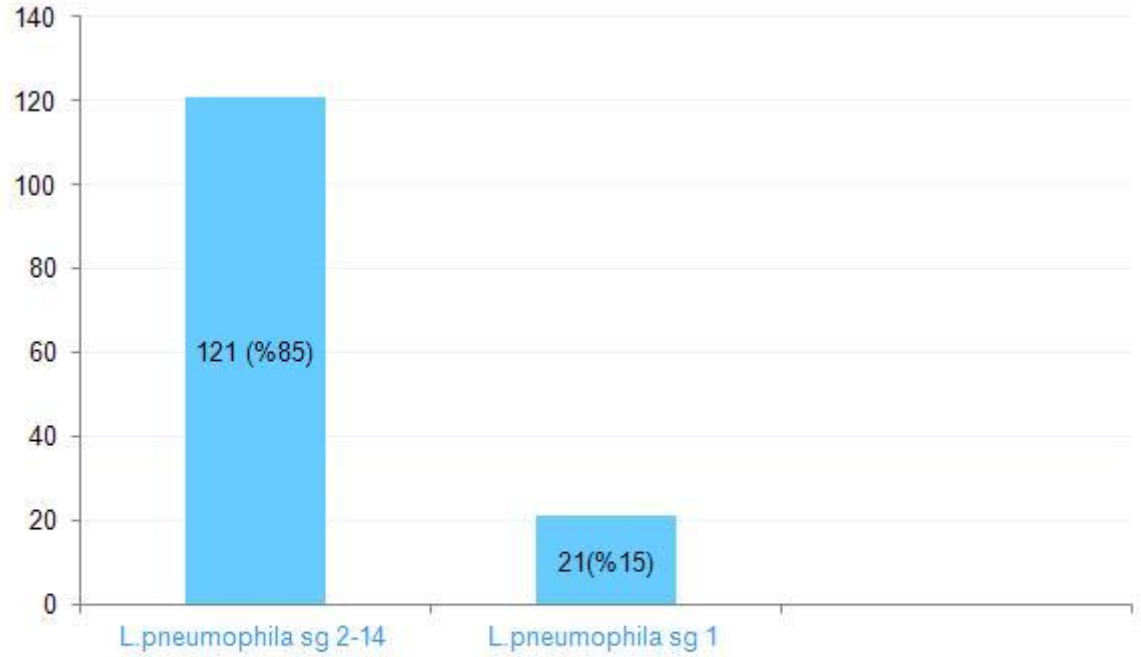
Sonuç
İncelenen su örneklerindeki Legionella sp. Pozitiflik oranları bölgeye göre farklılıklar göstermektedir. İtalyadaki 30 otelin sıcak sularında yaptıkları bir çalışmada Borella ve ark. pozitiflik oranını %60,5 olarak saptamışlardır. Goutziana ve ark.'nın Yunanistanda yaptığı bir çalışmada feribotların soğutma sistemleri ve sıcak su sistemlerinden alınan örneklerde pozitiflik oranı % 66,7 saptanmıştır. Bizim çalışmamızda Legionella kontaminasyonu oldukça düşük gözükmektedir. Yapılan çalışmalarda L.pneumophila serogrup 2-14 ve L.pneumophila serogrup 1 saptanma oranları eşit gibi olmasına rağmen çalışmamızda % 85 gibi yüksek bir oranda L.pneumophila serogrup 2-14 bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Legionella sp.*, su sistemleri, su örnekleri

Grafik -1: Pozitif örneklerin koloni sayılarına göre dağılımı



Grafik-2: Pozitif örneklerde L. pneumophila serogrup 2-14 saptanma sıklığı



P167- İDRAR YOLU ENFEKSİYON ETKENLERİ VE ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI

Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Bu çalışmada laboratuvarımızda 2010 yılında idrar yolu enfeksiyon etkeni olarak üretilen mikroorganizmaların ve bunların antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanarak ampirik tedavi seçimine yardımcı olunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza Ocak 2010 – Aralık 2010 tarihleri arasında gelen idrar kültürü sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Santrifüj edilmemiş bir damla idrarın Gram boyası yapılarak piyüri varlığı değerlendirilmiş, piyürisi ve >=10^5 cfu/ml üremesi olan kültürler üriner sistem infeksiyonu kabul edilmiştir. Bakterilerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılık testleri VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ve gerektiğinde konvansiyonel yöntemler ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları çift örnekler ayıklandıktan sonra değerlendirilmiştir.
Bulgular
Laboratuvarımıza bir yıl içinde gelen 14210 idrar kültürünün 3371'i (%24) idrar yolu enfeksiyonu, 434'ü (%3) kolonizayon-kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Gram negatif basil, gram pozitif kok ve maya üreme oranları sırasıyla polikliniğe başvuran hastalarda %80, %19 ve %1, yatan hastalarda %69, %22 ve %9 olarak belirlenmiştir. Poliklinik hastalarının 1310'unda (%57), yatan hastaların 372'sinde (%35), *Escherichia coli* izole edilmiştir. İkinci sırayı *Klebsiella* spp. almaktadır.
İdrar yolu enfeksiyon etkeni olarak en çok izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları tabloda gösterilmiştir. *Klebsiella* spp. ve *E.coli'* de ESBL saptanma oranları sırasıyla; poliklinikten başvuran hastalarda %28 ve %22, yatan hastalarda %36 ve %31 olarak saptanmıştır.
Sonuç
Geçmiş yıllarda olduğu gibi, idrar yolu enfeksiyonlarında *E.coli* başta olmak üzere gram negatif basiller ilk sırayı almaktadır. Komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde önerilen trimetoprim/sulfametoksazol ve kinolon grubu antibiyotiklere direncin özellikle *E.coli'* de %30-40'larda seyretmesi, bu ilaçların ampirik kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle idrar yolu enfeksiyonlarında ampirik tedaviye başlanmadan önce idrar kültürü alınması ve tedavinin kültür sonucuna göre yönlendirilmesi en doğru yaklaşım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: İdrar yolu enfeksiyonu, antimikrobiyal direnç, idrar kültürü

İdrar kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizma		Poliklinik sayı (%)	Servis sayı (%)	Toplam sayı (%)
Gram negatifler	Escherichia coli	1310 (57)	372 (35)	1682 (50)
	Klebsiella spp.	257 (11)	173 (16)	430 (13)
	Proteus spp.	79	36	115
	Enterobacter spp.	47	34	81
	Citrobacter spp.	24	11	35
	Morganella spp.	14	1	15
	Serrratia spp.	11	3	14
	Diğer enterikler	5	1	6
	Pseudomonas spp.	73	53	126
	Acinetobacter spp.	16	28	44
	Diğer nonfermentatifler	22	8	30
	Toplam	1858 (80)	720 (69)	2578 (76)
Gram pozitifler	Enterococcus spp.	197 (8)	166 (16)	363 (11)
	S.aureus	24	14	38

	KNS	101	37	138
	S.agalactiae	94	17	111
	Diğer	13	1	14
	Toplam	429 (19)	235 (22)	664 (20)
Mayalar	Candida albicans	8	33	41
	Candida spp.	23	65	88
	Toplam	31 (1)	98 (9)	129 (4)
Genel toplam		2318	1053	3371

İdrar kültürlerinden izole edilen E.coli ve Klebsiella suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları (%)

Antibiyotik	E.coli		Klebsiella spp.	
	Poliklinik n = 979	Servis n = 283	Poliklinik n = 211	Servis n = 139
AMP	41	33	0	0
AMC	77	66	81	58
PTZ	85	71	75	59
CXM	72	61	67	60
CAZ	79	69	74	65
CRO	78	69	71	64
IMP	100	100	100	99
ETP	100	100	100	98
CIP	70	64	86	80
SXT	58	51	72	72
GM	85	77	86	83
AK	70	63	89	86

AMP:Ampisilin, AMC:Amoksisilin/klavulonat, PTZ:Piperasilin/tazobaktam, CXM:Sefuroksim, CAZ:Seftazidim, CRO:Seftriakson, IMP:İmipenem, ETP:Ertapnem, CIP:Siprofloksasin, SXT:Kotrimoksazol, GM:Gentamisin, AK:Amikasin.

İdrar kültürlerinden izole edilen enterokokların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları (%)

Antibiyotik	Poliklinik n = 174	Servis n = 137
Pen	64	32
VM	94	88
EM	36	28
CIP	54	47

Pen:Penisilin, VM:Vankomisin, EM:Eritromisin, CIP:Siprofloksasin.

İdrar kültürlerinden izole edilen stafilokokların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları (%)

Antibiyotik	S.aureus		KNS	
	Poliklinik n = 21	Servis n = 11	Poliklinik n = 9	Servis n = 35
Pen	24	18	8	9

OX	95	100	35	26
VM	100	100	100	100
EM	95	91	45	37
CIP	90	91	63	60
CLM	90	91	71	66
GM	100	100	86	77
SXT	100	100	85	43

Pen:Penisilin, OX:Oksasilin, VM:Vankomisin, EM:Eritromisin, CIP:Siprofloksasin, CLM:Klindamisin, GM:Gentamisin, SXT:Kotrimoksazol.

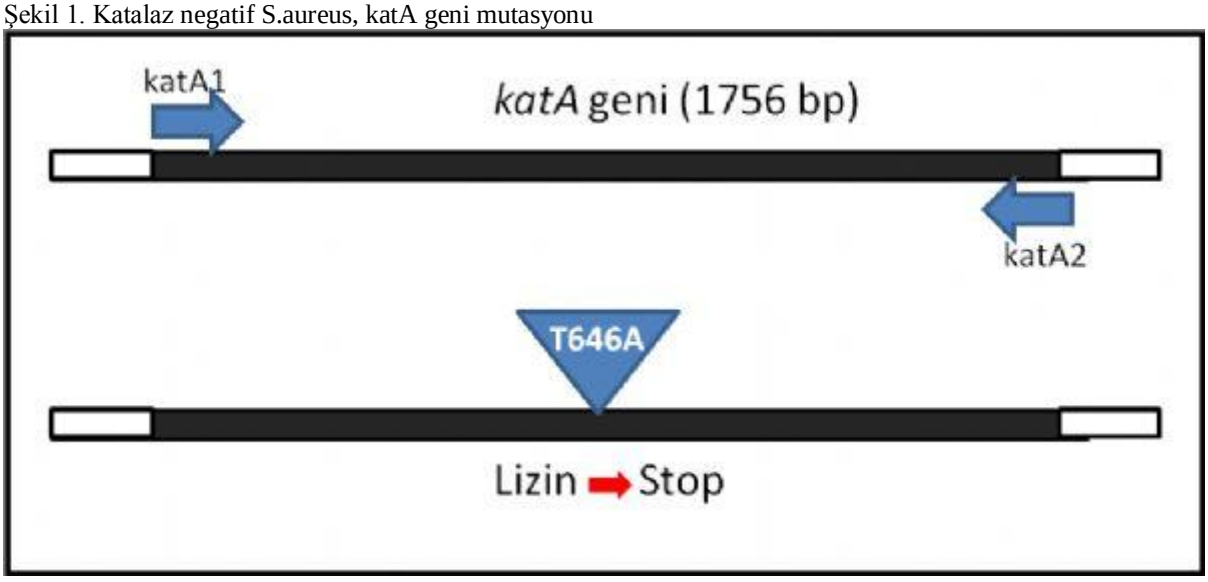
P168 - METİSİLİNE DUYARLI, KATALAZ NEGATİF S.AUREUS KLİNİK İZOLATININ MOLEKÜLER VE FENOTİPİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Nurver Toprak Ülger[1], Burak Aksu[1], Silva Polat[1], Serap Demir Tekol[2], Y. Hakan Başaran[3]
[1]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*MNT Laboratuvarı, İstanbul*
[3]*Özel Avicenna Hastanesi, İstanbul*

Amaç
Katalaz negatif *Staphylococcus aureus* kökenlerine ilişkin bilimsel literatüre girmiş kısıtlı sayıda da olsa çalışmalar mevcuttur. 2009 yılında, 26 yaşındaki immun yeterli bir hastanın yarasından metisiline duyarlı, katalaz negatif bir *S.aureus* izolatı soyutlanmıştır. Önemli bir virulans faktörünün yokluğuna ve antibiyotiklere duyarlı olmasına rağmen, izolatın, enfeksiyon etkeni olması dikkat çekmiştir. Bu çalışmada, izolatın, moleküler ve fenotipik özelliklerinin yanı sıra temel virulans faktörlerinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Aynı açık yaradan alınan iki farklı biyopsi örneğinden üretilen, katalaz negatif *S.aureus* izolatı çalışmaya alınmıştır. Tanımlama amacıyla yapılan fenotipik testlere ek olarak, 16S rRNA genine yönelik DNA dizi analizi uygulanmıştır. Katalaz gen bölgesi (*katA*) PZR ile çoğaltılarak, DNA ve protein dizi analizi yapılmıştır. Çeşitli toksin genlerinin (*pvl, sea, seb, see*) ve metisilin direncinden sorumlu *mecA*geninin varlığı PZR ile araştırılmıştır. Virulans faktörlerine yönelik olarak yüzey hidrofobisitesi, biyofilm üretimi ve hemolitik aktivite analizi gerçekleştirilmiştir.
Bulgular
Geleneksel tanımlama yöntemleri ve yarı otomatize identifikasyon sistemleri ile izolat, *Staphylococcus aureus* olarak tanımlanmıştır. 16S rRNA dizi analizi sonucunda, *S.aureus* DSM20231 ile %100 homoloji gösterdiği saptanmıştır.
katA geninin dizi analizi sonucunda ise, 646.nükleotitde adenin yerine timin değişikliği olduğu ve buna bağlı olarak, lizin yerine stop kodon translasyonu ile enzim sentezinin tamamlanamadığı belirlenmiştir. Araştırılan toksin genleri ve *mecA* geni negatif bulunmuştur. Çalışılan virulans özellikleri açısından değerlendirildiğinde, izolatın yüzey hidrofobitesi (%5.1), *S.aureus* ATCC 29213 kökenine (%47.8) göre çok düşük bulunmuştur. Aksine, izolatın biyofilm üretiminin, standart kökenden daha yüksek, hatta pozitif kontrol olarak kullanılan *S.epidermidis* RP62a kökenine yakın düzeyde olduğu görülmüştür. Hemolitik aktivite, katalaz negatif S.aureus izolatında (%3.42), ATCC 29213 (%2.79) ve ATCC 25923 kökenlerine (%2.88) eşdeğer seviyede belirlenmiştir.
Sonuç
Katalaz aktivitesi olmamasına karşın, izolatın yüksek düzey biyofilm üretimine sahip olması ve yüzey hidrofobisitesinin belirgin olarak düşük olmasının enfeksiyon gelişiminde kolaylaştırıcı faktörler olabileceği varsayılabilir. Bunu desteklemek için, bu kökenle ilişkili diğer virulans özelliklerinin çalışması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, katalaz, *katA*, virulans

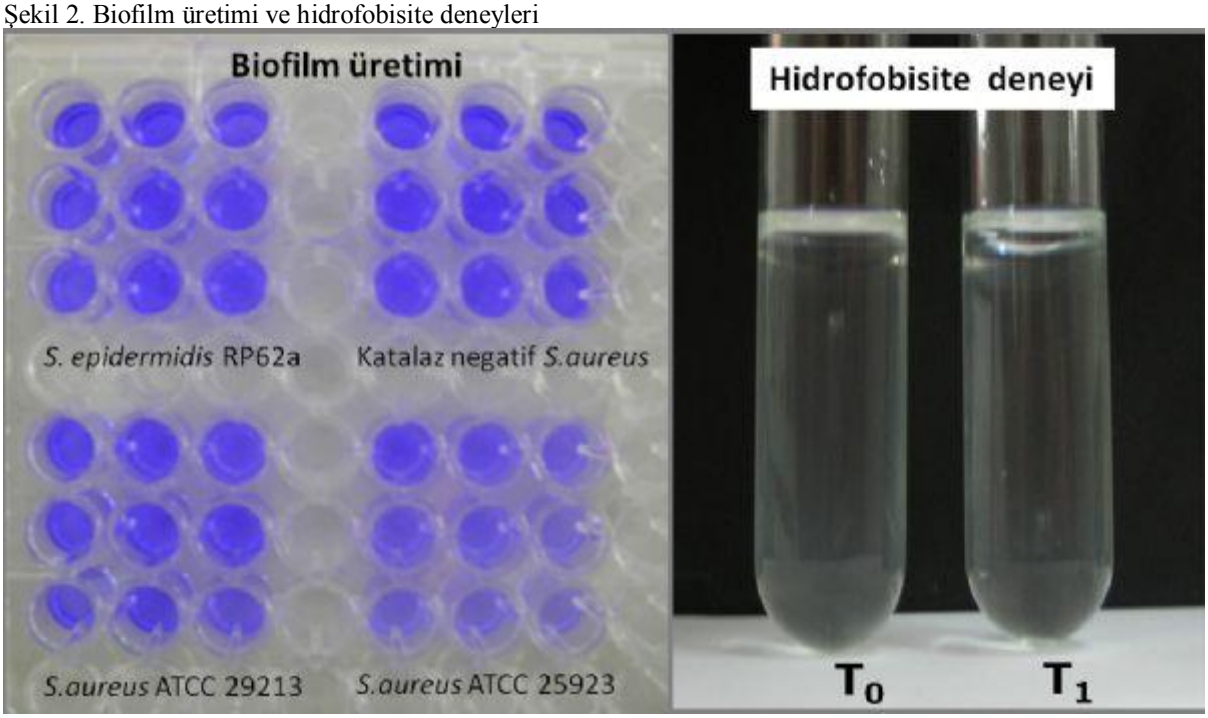
Şekil 1. Katalaz negatif S.aureus, katA geni mutasyonu



Tablo 1. Katalaz negatif S.aureus karakterizasyonu için kullanılan PZR primerleri

Primer	Dizi (5′-3′)
8UA	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
907B	CCGTCAATTCMTTTAGTTT
katA-1	AGCTGTTACAACAAGGTTT
katA-2	TTTGATTATCTCCAACCGGA
SEA-F	CCTTTGGAAACGGTTAAAACG
SEA-R	TCTGAACCTTCCCATCAAAAAC
SEB-F	TCGCATCAAACTGACAAACG
SEB-R	GCAGGTACTCTATAAGTGCCTG
SEE-F	CAGTACCTATAGATAAAGTTAAAACAAGC
SEE-R	TAACTTACCGTGGACCCTTC
PVL-F	CTTGATCAAATGGCACAACG
PVL-R	CTTTTTCTGCAGGTGGTTGG

Şekil 2. Biofilm üretimi ve hidrofobisite deneyleri



P169 - NADİR BİR TONSİLLOFARENJİT ETKENİ: STREPTOCOCCUS DYSGALACTİAE SUBSP. EQUİSİMİLİS

İdris Kandemir[1], Selçuk Mıstık[2], **Süleyman Durmaz[1],** Selcan Çolakoğlu[1], Duygu Perçin[1]
[1]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği ABD, Kayseri*

Amaç
G grubu beta-hemolitik streptokoklar insanlarda nazofarinks, deri, genital ve intestinal bölgede kolonize olabilir. Bu bakteriler son yıllarda bakteriyemiden yumuşak doku infeksiyonlarına, menenjitten septik artrit ve nazofarenjite kadar değişen çeşitli enfeksiyonlarda etken olarak izole edilmektedir. Bunun yanı sıra nadirende olsa farenjit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu enfeksiyonların görülmesinden göze çarpan altta yatan faktör malignite olmakla beraber alkolizm ve diyabet de önemli konakçı faktörleri olarak sayılmaktadır. G gruplarının rutin olarak boğaz enfeksiyonlarında aranmaması bu etkenin gözden kaçmasına ya da ihmal edimesine yol açmaktadır. Bu çalışmada bilinen altta yatan hastalığı olmayan bir hastada Grup G beta-hemolytic Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis neden olduğu tonsillofarenjit olgusu sunulmuştur.
Vaka
Beş yaşındaki erkek çocuk aniden başlayan baş ağrısı, bulantı, kusma, ateş, boğazda hassasiyet ve yutma güçlüğü şikayeti ile hastanemize başvurmuştur. Hastanın yapılan muayenesinde tonsillerde hipertrofi, hiperemi ve postnasal akıntı bulguları tespit edildi. Yüksek ateş görülmedi. Hastanın öyküsünde ateş düşürücü ilaç kullandığı öğrenildi. Hastaya ampirik tedavi olarak amoksisilin-klavulonik asit başlandı ve boğaz kültürü alındı. Kültürde saf basitrasine direçli beta hemoliz yapan mikroorganizma üredi. etken olduğu düşünülen mikroorganizma katalaz negatif gram pozitif zincirli kok görüldü. Lancefield gruplaması için yapılan lateks aglunitasyon testinde G grubu ile aglunitasyon verdi. Tür tayini için yapılan API STREP(bioMeriux, Fransa) ile Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis olarak tanımlandı. Suş penisilin, eritromisin, kloramfenikol, seftriakson, siprofloksasine duyarlı bulundu. Kontrol muayenesinde kliniğinde belirgin bir düzelme görülen hasta amoksisilin-klavulonik asit tedavisi 10 güne tamamlanarak tedavi edildi.
Sonuç
G grubu beta hemolitik streptokokların neden olduğu farenjit klinik açıdan A grubu ile benzer olması, kültür morfolojilerinin benzerliği ve yeterince laboratuvar araştırılması yapılmaması gözden kaçmasına sebep olmaktadır. Bu yüzden boğaz kültürlerinde basitresine dirençli beta hemoliz yapan suşların A grubu dışında etken olabilecek diğer etkenler açısından da değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: G grubu beta hemolitik streptokok, Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis, Tonsillofarenjit

P170 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Aytekin Çıkman, Mehmet Parlak, Bilge Gültepe, Hüseyin Güdücüoğlu, Mustafa Berktaş
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen Enterobacteriaceae suşlarının GSBL üretimi ile çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürlerinden izole edilen 167 Enterobacteriaceae suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Kan kültür şişelerinde gönderilen örnekler BacT/Alert (bioMérieux, France) otomatize sistemde inkübe edilmiştir. Pozitif sinyal veren şişelerden koloni morfolojisi, Gram boyama özellikleri ile konvansiyonel yöntemler kullanılarak bakteri tanımlaması yapılmıştır. Enterobacteriaceae olduğu düşünülen mikroorganizmaların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testlerinde BD Phoenix (Becton Dickinson, USA) otomatize mikrobiyoloji sisteminden yararlanılmıştır. GSBL pozitif ve negatif suşlarda amikasin, gentamisin ve sefoksitin için bulunan direnç farklarının istatistik olarak değerlendirilmesinde Z testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır.
Bulgular
İzole edilen suşların 75'i Klebsiella spp, 59'u E.coli ve 33'ü diğer türler (Enterobacter spp., Citrobacter spp., Serratia spp., Proteus vulgaris, Morganella morganii, Pantoea agglomerans) olarak belirlenmiştir. Klebsiella spp.nin 54'ünün (%72), E.coli suşlarının ise 31'inin (%53) GSBL oluşturduğu bulunmuştur. GSBL üretimi olmayan Klebsiella suşları sefazolin, sefepim, aztreonam, piperasilin-tazobaktam ve seftazidime dirençli olarak bulunurken; E.coli suşları ise gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin, levofloksasin ve siprofloksasine dirençli olarak bulunmuştur. Tüm suşlar için amikasin en duyarlı antibiyotik olarak bulunmuştur. Klebsiella spp. ve E.coli'de imipenem ve meropeneme karşı direnç görülmemiştir. Klebsiella spp.'de amikasine, E.coli'de ise gentamisin ve sefoksitine karşı direnç oranları, GSBL negatif suşlarda daha yüksek saptanmış ancak bu farkın istatistik olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Tüm suşlar için antibiyotik direnç oranları tabloda verilmiştir.
Sonuç
Kan kültürlerinden elde edilen Enterobacteriaceae suşlarında (Klebsiella spp.'de daha fazla olmak üzere) yüksek oranda GSBL üretimi saptanmıştır. GSBL üretimine paralel olarak artan oranlarda direnç görülmesi, bu grup bakteriler için rutin antibiyotik testlerinin yapılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: antibiyotik direnci, Enterobacteriaceae, kan kültürü

Tüm suşlar için elde edilen antibiyotik direnç oranları

		Klebsiella spp.		E.coli		Diğerleri[1]
Antibiyotikler		Direnç Oranı (%)		Direnç Oranı (%)		Direnç Oranı (%)
	n	ESBL (+)/(-)	n	ESBL (+)/(-)	n	
Sefazolin	75	100/57,1	59	100/7,1	33	100
Sefepim	75	100/42,9	59	100/7,1	32	15,6
Aztreonam	75	100/38,1	59	100/7,1	32	28,1
TMP-SMZ	75	98,1/33,3	59	58,1/39,3	32	21,9
Siprofloksasin	75	70,4/23,8	59	61,3/21,4	32	9,4
Levofloksasin	74	69,8/23,8	53	63,3/21,7	31	6,5
Seftazidim	75	68,5/38,1	59	100/7,1	32	37,5
Tetrasiklin	74	66/19	54	83,3/33,3	31	32,3
Piperasilin-Tazobaktam	75	63/42,9	58	33,3/10,7	32	21,9
Sefoksitin	74	49,1/28,6	58	6,7/7,1	33	90,9
Gentamisin	75	44,4/33,3	59	35,5/50	32	18,8
Amikasin	75	1,9/9,5	59	0/0	32	3,1

İmipenem	75	0/0	59	0/0	32	3,1
Meropenem	75	0/0	59	0/0	32	3,1

n: çalışılan suş sayısı, TMP-SMZ: Trimetoprim-Sulfametoksazol, [1]: Enterobacter spp., Citrobacter spp., Serratia spp., Proteus vulgaris, Morganella morganii, Pantoea agglomerans.

P171- FOSFOMİSİN TROMETAMOL'UN STAPHYLOCOCCUS TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Keramettin Yanık, Osman Aydın, Mustafa Öztürk, Şaban Abdullah Kaya
Sabuncuoğlu Şerefeddin Devlet Hastanesi, Amasya

Amaç
Stafilokoklar ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotik sayısı sınırlı olması, bazı klinik durumlarda kullanımı kontredike olmaları ve mevcut kullanılanlara karşı ise gelişen direnç nedeniyle yeni antimikrobiyaller için arayışlar devam etmektedir. Bu çalışmada geniş antimikrobiyal etkinliğe sahip olan Fosfomisin Trometamol (FT)'ün Staphylococcus türleri üzerine etkinliği araştırılarak, FT'ün bu türler üzerindeki etkinliğinin türlere göre değişip değişmediği ve tedavide alternatif bir ajan olup olamayacağı araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Kasım 2010-Haziran 2011 tarihlerinde hastanemizde çeşitli kliniklere başvuran hastalardan alınan toplam 310 adet kan, idrar, yara ve kateterden oluşan klinik örnekl çalışmaya alındı. Bu örneklere ait kültüler mikrobiyoloji laboratuarında EMB ve kanlı agara ekimleri yapılarak bir gecelik inkübasyona bırakıldı. Sonraki gün kültür plakları değerlendirilerek bu kültülerden izole edilen 310 Staphylococcus suşunun idendifikasyon ve antibiyogramları Vitec2 compact (Biomerux, Fransa) tam otomatik identifikasyon sistemi ile yapıldı. Türlerin metisilin direnci, oksasilin ve sefoksitin duyarlılığına göre değerlendirildi. Tüm suşların tiplendirme sonuçları ile bazı antibiyotiklere ve FT'ye duyarlılıkları belirlendi. Çalışmada S.aureus ATCC 29213 referans suşu kullanıldı.
Bulgular
Hastalardan sıklık sırasına göre, 181(%58) kan, 64(%20,6), 46(%14,8) yara ve 19 (%6,6) kateter örnekleri olmak üzere toplam 310 klinik örnek alındı. Bu örneklerin kültürlerinde üreyen Staphylococcus'ların indendifikasyonunda toplam 13 farklı Staphylococcus türü tanımlandı. Bu suşların örneklere göre dağılımı tablo 1'de verildi. Klinik örneklerde en fazla tanımlanan S.aureus türünün FT'e duyarlılığı %75 olarak bulunurken, yara ve kateterden izole edilen S.aureus türünün idrar ve kandan izole edilenlere göre FT'ye daha duyarlı olduğu görüldü. Bu türün oksasilin ve fusidik asid duyarlılığı sırası ile % 69, % 79' idi. Örneklerden ikinci sıklıkla tanımlanan S.hominis türünün FT duyarlılığı % 19 olarak bulunurken, bu türün oksasilin ve fusidik asid duyarlılığı sırası ile %58, %45 idi. Bu klinik örneklerden izole edilen S.haemolyticus, S.simulans, S.saprophyticus, S.capitis türlerinin hiçbiri FT'e duyarlı bulunmadı. Bu türlerin oksasilin ve fusidik asid duyarlılığı sırası ile %56,%79; %50, %80; %100,%100; %80,%80 olarak tespit edildi. S.epidermidis, FT'e karşı en duyarlı Staphylococcus türü olarak tespit edilirken bu türün oksasilin ve fusidik asid duyarlılığı sırası ile % 75, %60 olarak bulundu. S.cohnii sadece bir kan örneğinden izole edilirken bu türün FT'ye duyarlı olduğu görüldü. Tüm Staphylococcus türlerinde Vankomisin duyarlılığı % 100 olarak saptanmıştır.
Sonuç
Çalışmamızda, FT'nin Staphylococcus türleri üzerine farklı duyarlılığının olduğunu tespit ettik. Aynı zamanda türlerin izole edildiği örneğe göre de FT duyarlılığının değiştiğini gördük. Bazı türlerin sayısı az olduğu için FT'e karşı duyarlılığıyla ilgili yeterli bilgi elde edemedik. Bu konuda suş sayısı arttırılarak daha fazla in-vivo çalışmalarla bilgilerin desteklenmesi gererektiği kanısına vardık. Böylece FT'nin, diğer tedavi ajanlarının yetersiz kaldığı veya kontendikasyon olduğu durumlarda Staphylococcus tülerinin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasıyla ilgili bilgimiz daha da artacaktır.

Anahtar Kelimeler: Staphylococcus türleri, Fosfomisin trometamol, duyarlılığı

Tablo1: Fosfamisin trometamol'in Staphylococcus türleri üzerine etkinliği

	İDRAR N:64	KAN N:181	YARA N:46	KATATER N:19	TOPLAM DİRENÇ n:310
TANIMLANAN TÜRLER	R	R	R	R	R
S.aureus (n:90)	23(%82)	7(%23)	1(%4)	0(% 0)	31(%34)
S.hominis(n:74)	5(%83)	50(%82)	1(%25)	4(%100)	60(%81)
S.epidermidis (n:66)	3(%25)	9(%15)	0(% 0)	1(%17)	13(%20)
S.haemolyticus (n:24)	6(%85)	12(%92)	2(%100)	1(%50)	21(%87)
S.lentus (n:11)	2(%100)	4(%66)	0(% 0)	0(% 0)	6(%55)
S.warneri (n:7)	1(%100)	3(%100)	3(%100)	-	-
S.capitis (n:7)	-	5(%100)	-	2(%100)	7(%100)

S.sciuri (n:4)	2(%100)	0(% 0)	1(%100)	-	3 %75
S.lugdinensis (n:3)	-	1(%100)	1(%50)	-	2(%66)
S.airucularis (n:3)	-	2(%66)	-	-	2(%66)
S.saprophyticus (n3:)	3(%100)	-	-	-	3(%100)
S.simulans (n:2)	2(%100)	-	-	-	2(%100)
S.cohnii (n:1)	-	0(% 0)	-	-	0(% 0)

n:Toplam suş sayısı, N: Çalışmaya alınan örnek sayısı

Tablo2:Kan kültüründen izole edilen türler ve duyarlılıkları

KAN	Fosfamisin	Oksasilin	Siprofloksasin	Klindamisin	Fusidik asit	Eritromisin	Vankomisin	Gentamisin
n: 181	R	R	R	R	R	R	R	R
S.aureus (n:30)	7	9	15	12	3	13	3	10
S.haemolyticu (n:13)	12	2	4	1	2	4	2	4
S.hominis (n:61)	50	12	21	18	11	21	0	16
S.sciuri (n:1)	0	0	0	0	0	0	0	0
S.warneri (n:2)	0	0	0	0	0	0	2	0
S.epidermidis (n:58)	9	4	12	10	7	10	1	8
S.lentus (n:6)	4	3	4	3	2	3	0	0
S.lugdinensis (n:1)	1	1	1	0	1	0	0	1
S.capitis (n:5)	5	0	1	1	1	0	0	1
S.airucularis (n:3)	2	0	1	1	0	1	1	0
S.cohnii (n:1)	0	0	0	0	0	1	0	0

n:Toplam suş sayısı.

Tablo3:İdrar kültüründen izole edilen türler ve duyarlılıkları

İDRAR	Fosfamisin	Oksasilin	Siprofloksasin	Klindamisin	Gentamisin	Eritromisin	Vankomisin
n: 64	R	R	R	R	R	R	R
S.aureus (n:28)	23	12	14	14	10	17	0
S.haemolyticus (n:7)	6	0	2	3	2	5	0
S.hominis (n:6)	5	3	4	4	1	3	0
S.sciuri (n:3)	3	2	1	2	1	2	0
S.warneri (n:1)	1	1	0	0	0	0	0
S.simulans (n:2)	2	0	0	1	0	1	0
S.epidermidis (n:12)	3	5	6	6	4	8	0
S.lentus (n:2)	2	1	1	1	1	0	0
S.saprophyticus (n:3)	3	0	0	0	0	0	0

n:Toplam suş sayısı.

Tablo4:Yara kültüründen izole edilen türler ve duyarlılıkları

YARA	Fosfamisin	Oksasilin	Siprofloksasin	Klindamisin	Fusidik asit	Eritromisin	Vankomisin
n: 46	R	R	R	R	R	R	R
S.aureus (n:29)	1	2	2	2	0	2	0
S.haemolyticus (n:2)	2	1	1	1	0	1	0
S.hominis (n:3)	1	0	1	1	1	1	0
S.sciuri (n:1)	1	0	0	0	0	0	0
S.warneri (n:2)	2	0	2	1	2	2	0
S.epidermidis (n:4)	0	1	1	1	0	1	0
S.lentus (n:11)	0	0	0	0	0	0	0
S.lugdinensis (n:3)	1	0	0	0	0	0	0

n:Toplam suş sayısı.

Tablo5:Katater kültüründen izole edilen türler ve duyarlılıkları

KATETER	Fosfamisin	Oksasilin	Siprofloksasin	Klindamisin	Fusidik asit	Eritromisin	Vankomisin	Gentamisin
n: 19	R	R	R	R	R	R	R	R
S.aureus (n:3)	0	0	1	1	0	1	0	1
S.haemolyticus (n:2)	1	0	0	0	0	0	0	0
S.hominis (n:4)	4	0	0	0	0	0	0	0
S.epidermidis (n:6)	1	0	0	0	0	0	0	0
S.lentus (n:2)	0	0	0	0	0	0	0	0
S.capitis (2)	2	0	0	0	0	0	0	0

n:Toplam suş sayısı.

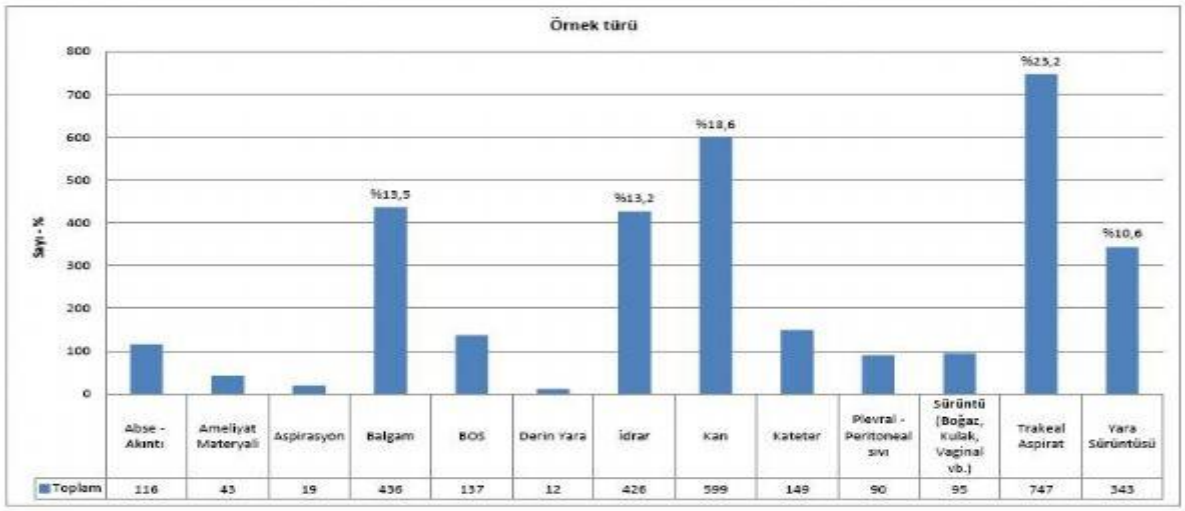
P172- ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER TÜRLERİ VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Cafer Eroğlu[1], **Nevzat Ünal[1]**, Adil Karadağ[1], Hava Yılmaz[2], İ. Çağatay Acuner[3], Murat Günaydın[1]
[1]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun*
[2]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD Samsun*
[3]*Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*

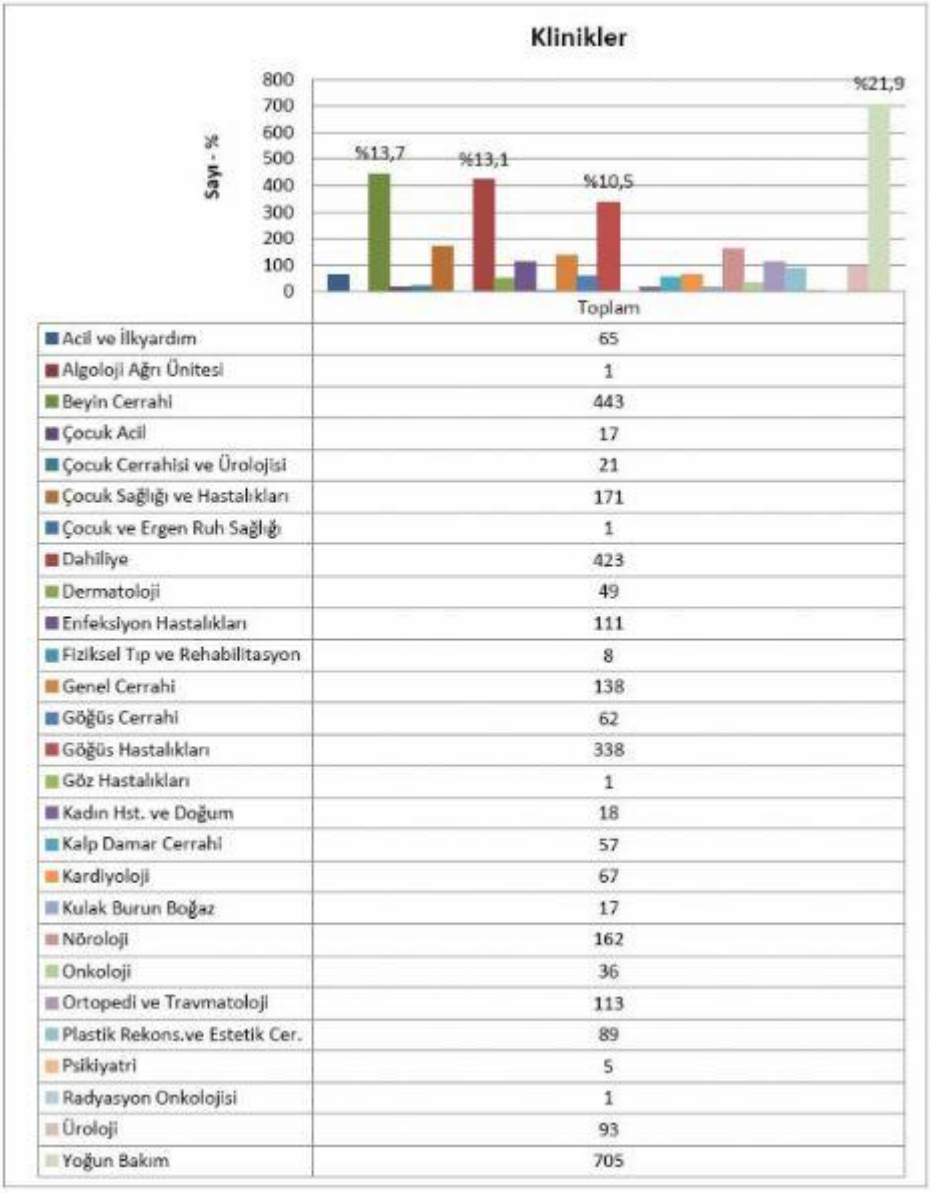
Amaç
Acinetobacter türleri pnömoni, endokardit, menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, peritonit ve idrar yolu enfeksiyonlarını içeren bir dizi hastane enfeksiyonuna neden olmaktadır. Acinetobacter türlerinin özellikle hastanede yatan hastalarda oluşan kolonizasyon ve enfeksiyonlarda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Son yıllarda, hastane enfeksiyonlarına neden olan Acinetobacter türlerinde görülen artmış antibiyotik direnci tedaviyi daha da güçleştirmektedir. Çalışmamızda son 6 yılda hastanemizde izole edilen Acinetobacter türlerinin dağılımının ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuarı Bakteriyoloji Subdisiplin Laboratuarına Ocak 2006 - Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen Acinetobacter türleri kullanılmıştır. İzolatların tanımlanmasında ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 Compact (bioMerieux-SA France) otomatize sistemi kullanılmıştır. Aynı hastada tekrar eden aynı türe ait izolatlar çalışmaya dahil edilmemiştir.
Bulgular
Çalışma döneminde toplam 3212 Acinetobacter türü izole edilmiştir. Acinetobacter izolatlarının tür dağılımı ve oranları; Acinetobacter baumannii- Acinetobacter calcoaceticus complex 3006 (% 93,6), Acinetobacter lwoffii 83 (% 2,6), Acinetobacter junii 27(% 0,8) ve Acinetobacter haemolyticus 19 (% 0,6) Acinetobacter spp. 77 (%2,4) olarak bulunmuştur. En fazla Acinetobacter izolatı trakeal aspirat örneklerinden 747 (% 23,2) elde edildi. Acinetobacter izolatları en çok yoğun bakım ünitesinden 705 (% 21,9) gönderilen örneklerden elde edilmiştir. Yıllara göre antibiyotik direnç oranları tabloda verilmiştir. Buna göre 2006- 2011 yılları arasında IMP ve MEM direncindeki artış, SAM, GN, TZP, FEP, CAZ, CRO, LVX, CIP, TE direncindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$)
Sonuç
Çalışmamızda, Acinetobacter türleri arasında en sık Acinetobacter baumannii-Acinetobacter calcoaceticus complex'in klinik örneklerden izole edildiği tespit edilmiştir. 2011 yılı ilk yarısı itibarı ile meropenem ve imipeneme, birçok β-laktam antibiyotiğe, siprofloksasin ve levofloksasin'e yüksek oranda direnç saptandığı ve bu oranın artış eğiliminde olduğu görülmüştür. Kolistin için direnç minimal oranlarda gözlenmektedir. Aminoglikozid grubundan olan tobramisin ve gentamisin de yıllar içinde görülen direnç oranındaki azalma, son yıllarda kullanım sıklığının düşmesine bağlanmıştır. Sonuç olarak akılcı antibiyotik kullanımına önem verilerek yakın gelecekte ciddi sorun olabilecek panrezistan suşların gelişiminin yavaşlatılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter, Antibiyotik direnci, Kolistin

Grafik 1: Acinetobacter türlerinin izole edildiği klinik örnekler



Grafik 2: Acinetobacter türlerinin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler



Tablo: Acinetobacter türlerinin antibiyotik direnç oranları (%)

Yıllar/ Antibiyotik (%)	GN	TOB	SAM	TZP	FEP	CAZ	CRO	IMP	MEM	LVX	CIP	TE	Cl	TGC
2006	64,3	15,9	83	46,4	26,4	70,2	94	27,2	4,5	14,9	40,4			
2007	63,3	12,9	76,2	46,7	24,9	68,9	92,2	35,2	6,1	13,7	47,2		0	
2008	66,3	11,6	86,8	64,4	56,8	73,6	88,1	47,8	41,8	46,2	57	64,2	0	
2009	72	15,3	66,1	74,1	74,1	75,3	76,9	65,4	63,8	74,5	73,7	67,3	0	
2010	50,8	5,3	70,5	72,2	72,1	74,5	85,6	68,3	67,6	69.0	72,2	67,5	0,2	3
2011 ilk 6 ay	52,6	6,3	82,5	81,1	79,7	82,7	95,7	77,2	77	74,7	78,9	59,9	0,2	5,9
p değeri	0,000	0,120	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,035	0,799	0,275

NOT: SAM: Ampisilin-Sulbaktam, GN: Gentamisin, TOB: Tobramisin, TZP: Piperasilin-Tazobaktam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, LVX: Levofloksasin, CIP: Siprofloksasin TE: Tetrasiklin, IMP: Imipenem, MEM: Meropenem, Cl: Kolistin, TGC: Tigesiklin

P173- HASTANEMİZDE ANAEROP KAN KÜLTÜRLERİNDEN İLK KEZ İZOLE EDİLEN EGGHERTELLA LENTA BAKTERİYEMİSİ OLGUSU

Eylem Turhan Özcan[1], Emel Üzmez[1], Nurver Ülger[1], Doğukan Anğın[2], Tanju Pekin[2], Güner Söyletir[1]
[1]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, İstanbul*

Amaç
Egghertella lenta; anaerobik, spor yapmayan, gram pozitif bir çomaktır. Normal barsak florasında bulunur. Nadiren maligniteli veya immünsüprese hastalarda mortal seyredebilen bakteriyemilere neden olabilmektedir. Bu bakterilerin epidemiyolojisi, patogenezi ve antibiyotik duyarlılıkları üzerine yapılmış çalışmaya rastlanmamaktadır. Az sayıda laboratuvarda anaerop kültür yapılmaktadır. Zorlukla izole edilebilen bu bakterilerin biyokimyasal yönden inert olmaları geleneksel yöntemler ve otomotize sistemler ile tanımlanmalarını olanaksız kılmaktadır. Kesin tanımlamada değerli bir yöntem olan 16S rRNA dizi analizi ise çok az laboratuvarda yapılmaktadır. Mortalitesi çok yüksek olan bakteriyemilerde, etkenin tanımlanıp, uygun tedavinin verilmesi hayat kurtarıcıdır. Hastanemizde etkenlerin belirlenmesi için rutinde aerop kan kültür ortamlarının yanısıra anaerop kan kültür ortamları da kullanılmaktadır. Bu çalışmada, bakteriyemi etkeni Egghertella lenta'nın tanımlanmasının önemi ve bakteriyemi tanısının eksiksiz yapılması için anaerop kan kültürünün gerekliliğini vurgulamak amaçlanmıştır.

Vaka
Hastanemizde, sağ adneksiyel kitle ve GİS metastazı nedeniyle TAH+BSO+Omentektomi+Koledokojejunostomi+Transvers kolon anastomozu yapılan 58 yaşındaki bayan hastanın, post-op 2. ayında aerop ve anaerop kan kültürleri laboratuvarımıza gönderilmiştir. Aerop kan kültüründe üreme olmazken, anaerop kan kültüründe üreme tespit edilmiştir. Kültürden hazırlanan preparatta Gram pozitif, pleomorfizm gösteren çomaklar görülmüştür. Koyun kanı (%5) ve K1 vitamini ilave edilmiş Burusella agara yapılan ekim anaerop ortamda 72 saat, diğer besi yerlerinden koyun kanlı, çukulata ve MacConkey agar besiyerlerine ekilenler ise oda atmosferinde 37◦C'de inkübe edilmiştir. Yalnızca anaerop ortamda tutulan besiyerinde üreme gerçekleşmiştir. Minik renksiz kolonilerden hazırlanan Gram preparatlarında Gram pozitif pleomorfik basiller görülmüştür. Geleneksel ve yarı otomotize ticari kitler ile çalışıldığında <%90 oranında Egghertella lenta tanısı konmuştur. Kültürde üretilen bakteriden PZR ile çalışılan, 16S rRNA analizi sonucuna göre, üretilen bakteri Egghertella lenta olarak tanımlanmıştır. Antibiyogram sonucuna göre bakteri beta laktam antibiyotiklere, klindamisin ve metronidazole duyarlı bulunmuştur. Hastanın kan kültürleri alındıktan iki gün sonra Girişimsel Radyoloji tarafından alınarak laboratuarımıza gönderilen batın içi apse drenaj materyalinin aerop pyojen kültüründen ESBL(+) E.coli ve Enterococcus avium izole edilirken, anaerop pyojen kültüründen ESBL(+) E.coli, Enterococcus avium, Peptoniphilus asaccharolyticus, Prevotella sp. ve Egghertella lenta izole edilmiştir. Antibiyotik tedavisine alınan hasta iyilik haliyle taburcu edimiştir.

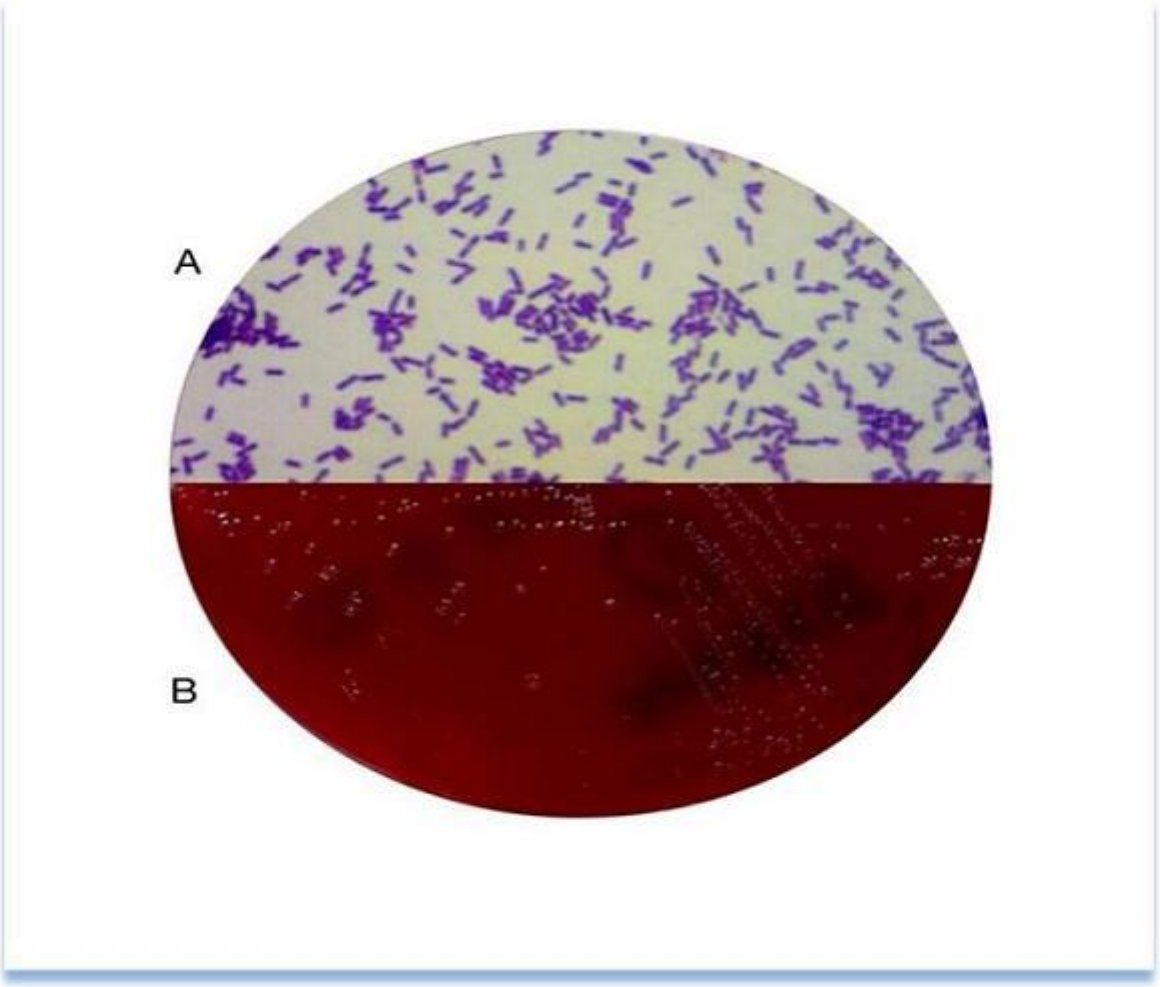
Sonuç
Sınırlı sayıda çalışma bildirilmekle beraber, kandan izole edilen Egghertella lenta'nın gerçek bakteriyemi etkeni olduğu, genellikle ağır gastrointestinal hastalığı veya malign hastalığı olanlarda görüldüğü ve %30'lara varan oranda ölümle seyrettiği bildirilmiştir. Henüz patogenezi yeterince aydınlatılamamış bakterinin, tanımlanıp antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi önemlidir. Bu olgu; anaerop kan kültürlerinin ve anaerop pyojen kültürlerin, nadir görülen, yavaş üreyen ve izole edilmesi güç olan anaerop mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonlarının klinik öneminin altını çizmekle birlikte, hastanemizde anaerop kan kültürlerinden izole edilen ilk Egghertella lenta bakteriyemisi olma özelliğini de taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Egghertella lenta, anaerop, bakteriyemi

KLİNİK ÖRNEKLER VE SONUÇLARI

	İdrar Kültürü	Yara Yeri Sürüntüsü	Apse Kültürü		Kan Kültürü	
			Aerop	Anaerop	Aerop	Anaerop
16.03.2011	Üreme Yok	Cilt Florası	Üreme Yok	Üreme Yok	Üreme Yok	Üreme Yok
28.03.2011	Üreme Yok	Cilt Florası	-	-	Üreme Yok	E.LENTA
30.03.2011	-	-	ESBL (+) E.coli Enterococcus avium	ESBL (+) E.coli Enterococcus avium Peptoniphlus assaccharolyticus Prevotella sp E.lenta	-	-

EGGERTHELLA LENTA



A - Gram pozitif, sporsuz, pleomorfik basiller B - %5 koyun kanı ve K1 vitamini ilaveli Brucella agarda E.lenta kolonileri

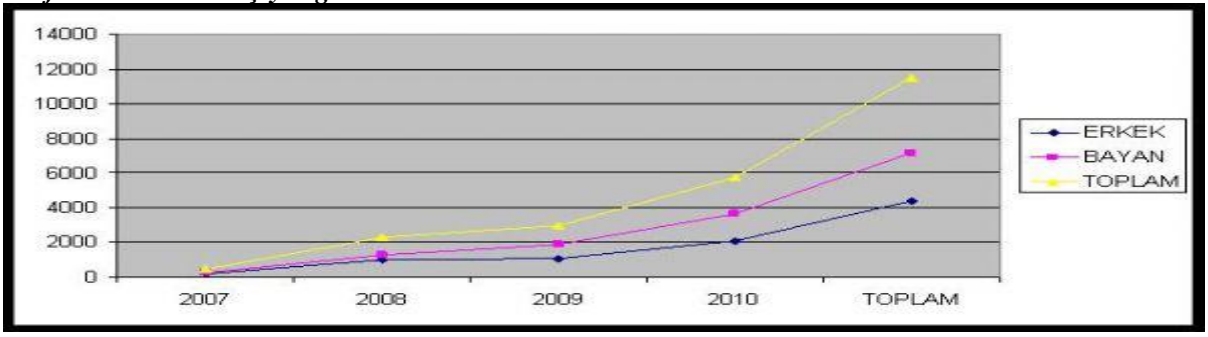
P174 - DEVLET HASTANESİNDE EN SIK TERCİH EDİLEN KÜLTÜR TESTİ: İDRAR KÜLTÜRÜ VE SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Keramettin Yanık, Osman Aydın, Gözde Taç, Kasım Demir, Mustafa Çapraz, Şaban Abdullah Kaya
Şerefeddin Sabuncuoğlu Devlet Hastanesi, Amasya

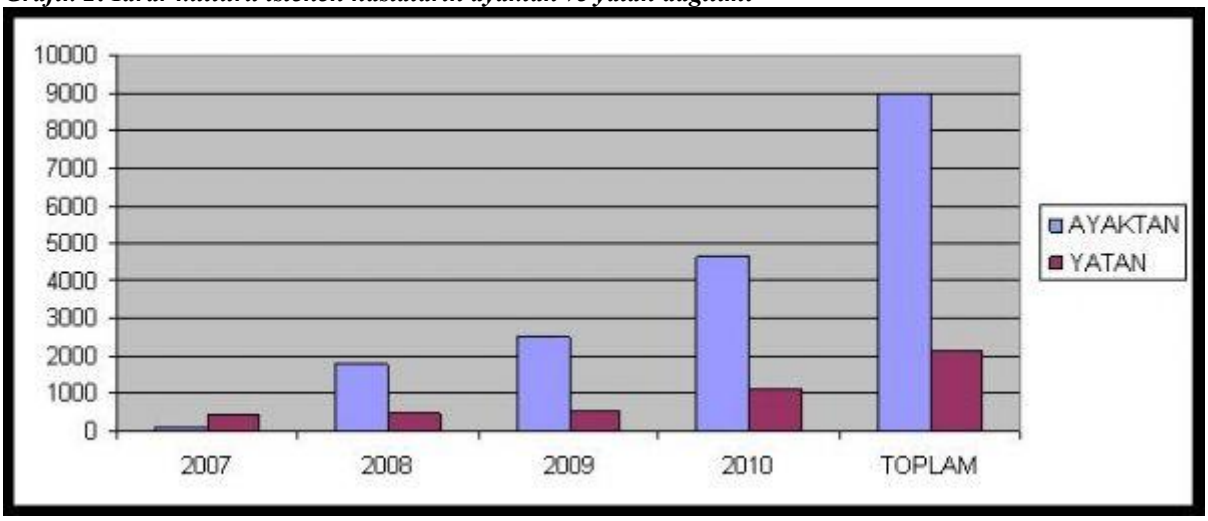
Amaç
İdrar kültürü, günlük pratiğimizde en sık karşılaştığımız üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE)'nın tanı ve tedavinin etkinliğini değerlendirmede sıklıkla kullanılan bir tetkiktir. Tetkike kolay erişilmesi ve ÜSE düşünülen hastaların giderek artması nedeniyle devlet hastanelerinde tercihi de artmaktadır. Son zamanlarda ülkemizde ÜSE artış nedenleri arasında, poliklinik başvurularında hızlı artış trendinde olan diabetes mellitusun hastalarının, yaşlı populasyonun ve immun direnci zayıf altta yatan ikinci hastalığı olanların sayısının gittikçe artması gibi birçok neden sayılabilir. ÜSE düşünülen hastalara idrar kültürü sonucuna göre düzenlenecek tedavilerin maliyet etkinliğinin yanı sıra, ilaç direncinin önlenmesi ve bölgesel ilaç kullanımlarının etkinliği konularında yararlı olacağı düşünülmelidir.
Çalışmamızda hastanemize başvuran hastalarımıza istenen idrar kültürlerinin yıllara göre durumunu, test sonucunda izole edilen etkenlerini ve antibiyotik direnç paternlerini belirleyerek, ilk kez bölgemizden elde ettiğimiz bu bilgileri klinisyenlerle paylaşmayı ve bu enfeksiyonlarda ampirik antibiyotik tedavide onlara yol gösterici olmayı amaçladık.
Gereç-Yöntem
Sabuncuoğlu Şerefeddin Devlet Hastanesinde, 2007-Aralık 2010 yılları arasında çeşitli kliniklerde yatan hastalara ve ayaktan başvuran hastalara istenen 11526 idrar kültürü mikrobiyoloji laboratuarında yapılan çalışmalarla sonuçları değerlendirildi. Üreme tespit edilen kültürlerden izole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testleri CLSI standartlarına uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılarak değerlendirildi. Kültürlerden izole suşların idendifikasyonları yarı otomatize sistem (BBL™ Crystal™ Enteric/Nonfermenter ID, Amerika. Sensititre Trek Diagnostic,İngiltere) kullanılarak firmaların önerileri doğrultusunda çalışılarak yapılmıştır.
Bulgular
Dört yıl içinde kliniklere göre hastalarımızdan istenen kültür miktarının yıllara göre giderek arttığını gördük. 2007 yılında 500 idrar kültürü çalışılırken 2010 yılında 5735 idrar kültürü çalışılmıştır. Dört yılda toplam idrar yolu enfeksiyonu düşünülen hastalara ait 11526 adet idrar kültürü çalışılmıştır. Bu hastaların %62,2'si bayan diğerleri erkek hastalardı. Yıllara göre bayan hasta oranı erkeklerden fazla olmuştur. Hastaların %18,6'sı hastanede yatan hastalardı. En fazla kültür gönderen klinik üroloji olup onu dahiliye kliniği izlemiştir. 3069 (%26,6) hastanın idrar kültüründe üreme saptanmıştır. Bu hastaların 1952 (%83,5)'sinde Gram negatif bakteri izole edilmiştir. Gram negatif bakterilerden en fazla izole edilen tür, E.coli olurken (%73,7) onu Klebsiella türleri izlemiştir. Gram pozitiflerden ise (%16,5) en fazla izole edilen tür Enterococcus faecalis olmuştur. E.coli suşlarında, ampisiline % 67,7, siprofloksasine % 28,3 ve trimetoprim-sulfametaksazol % 37,8 direnç saptanmıştır. Gram negatif bakterilere karşı en duyarlı antibiyotik karbapenemler olmuştur. Enterokoklarda ampisilin direnci ise %43 olarak bulunmuştur. Bazı antibiyotiklere yıllara göre artan direnç tespit edildi.
Sonuç
Son zamanlarda çeşitli kliniklerden istenen idrar kültürü testinin artması hastanemizde artan doktor sayısının yanında bu testin öneminin zaman içinde klinisyenler tarafından daha da kavranıldığını düşündürdü. Hastanemizde idrar kültürlerinden izole edilen suşlarda oral tedavide kullanılan antibiyotiklere son zamanlarda yapılan çalışmalara göre bazı merkezlere oranla daha düşük direnç bulunmuştur. Bölgemizde bu direncin artmaması için, ampirik tedaviye başlanmadan önce idrar kültürü yapılması ve antibiyogram test sonuçları ile tedavinin yeniden gözden geçirilmesi önemli olduğunu bu yöntemin tedavinin başarısına da katkı sağlayacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İdrar kültürü, bakteri türleri, antibiyotik duyarlılıkları

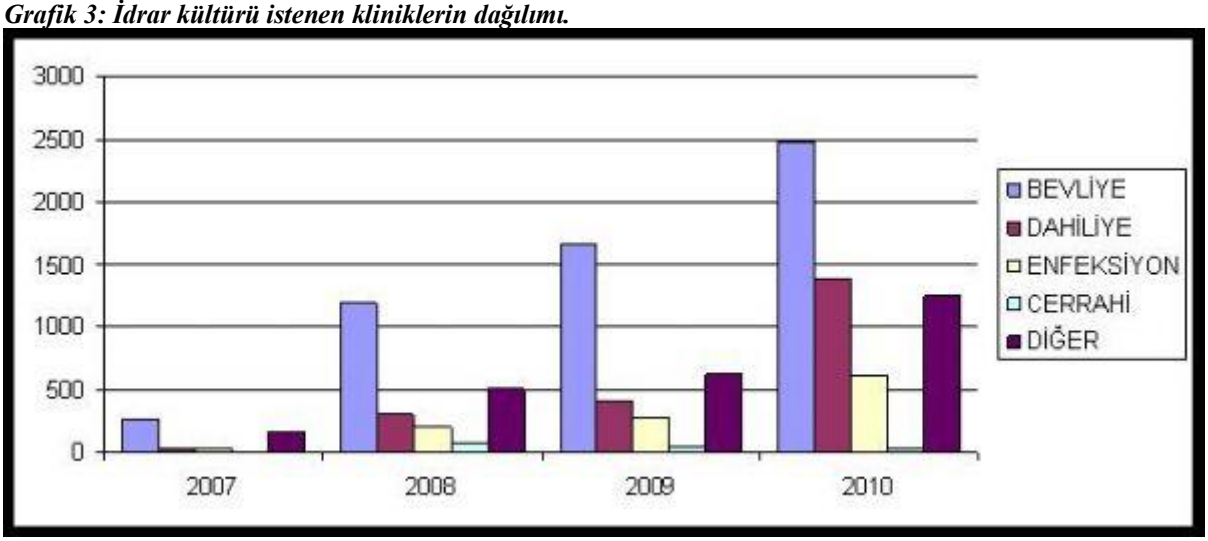
Grafik 1: Hastaların eşey dağılımı



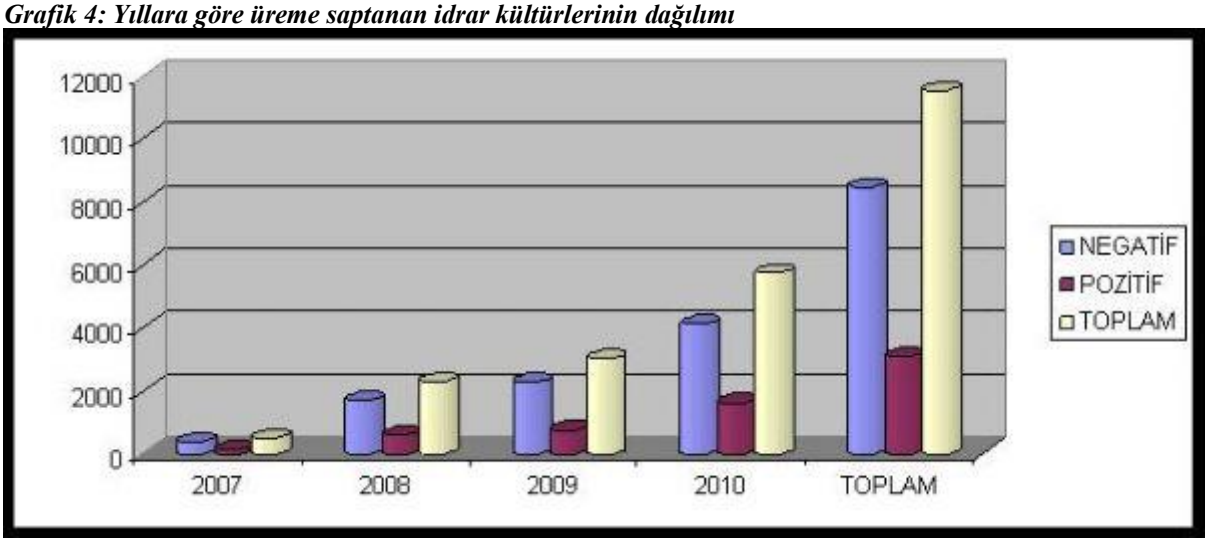
Grafik 2: İdrar kültürü istenen hastaların ayaktan ve yatan dağılımı



Grafik 3: İdrar kültürü istenen kliniklerin dağılımı.



Grafik 4: Yıllara göre üreme saptanan idrar kültürlerinin dağılımı



Tablo1: İdrar kültürlerinden izole edilen bakterilerin dağılımı.

	2007	2008	2009	2010	TOPLAM

E. coli	29	225	399	785	1438
K.pneumoniae	4	24	42	122	191
K. oxytoca	14	16	28	51	109
Enterobacter spp.	9	26	38	109	182
E. cloacea	4	2	10	38	54
E. faecalis	-	18	46	102	166
Enterococcus spp.	2	24	-	-	26
P. aeruginosa	4	19	20	61	104
P. mirabilis	1	7	9	47	64
S. aureus	2	19	24	33	98
S. agalita	2	3	14	20	39

Tablo2: Sık üreyen türlerin bazı antibiyotiklere duyarlılıkları

	E: coli n:1438 R	Klepsiella spp. n:300 R	Enterobacter spp. n:236 R	P. aeruginosa n:104 R
Ampisilin	963 (%67)	-	-	-
Amikasin	29 (%2)	9 (%3)	9 (%4)	5 (%5)
Gentamisin	172 (%12)	60 (%20)	54 (%23)	27 (%26)
İmipenem	14 (%1)	6 (%2)	5 (%2)	9 (%9)
Piperasilin/tazobaktam	43 (%3)	24 (%8)	28 (%12)	5 (%5)
Seftriakson	244 (%17)	93 (%31)	64 (%27)	-
Seftazidim	144 (%10)	39 (%13)	38 (%16)	22 (%21)
Sefepim	129 (%9)	33 (%11)	38 (%16)	19 (%18)
Siprofloksasin	402 (%28)	84 (%28)	76 (%32)	29 (%28)
Sefuroksim	561 (%39)	126 (%42)	123 (%52)	-
Trimetprim/sulfametaksozol	532 (%37)	114 (%38)	90 (%38)	-
Azitreonam	230 (%16)	69 (%23)	76 (%32)	40 (%38)
Sefazolin	590 (%41)	180 (%60)	184 (%78)	-

n:Toplam suş sayısı

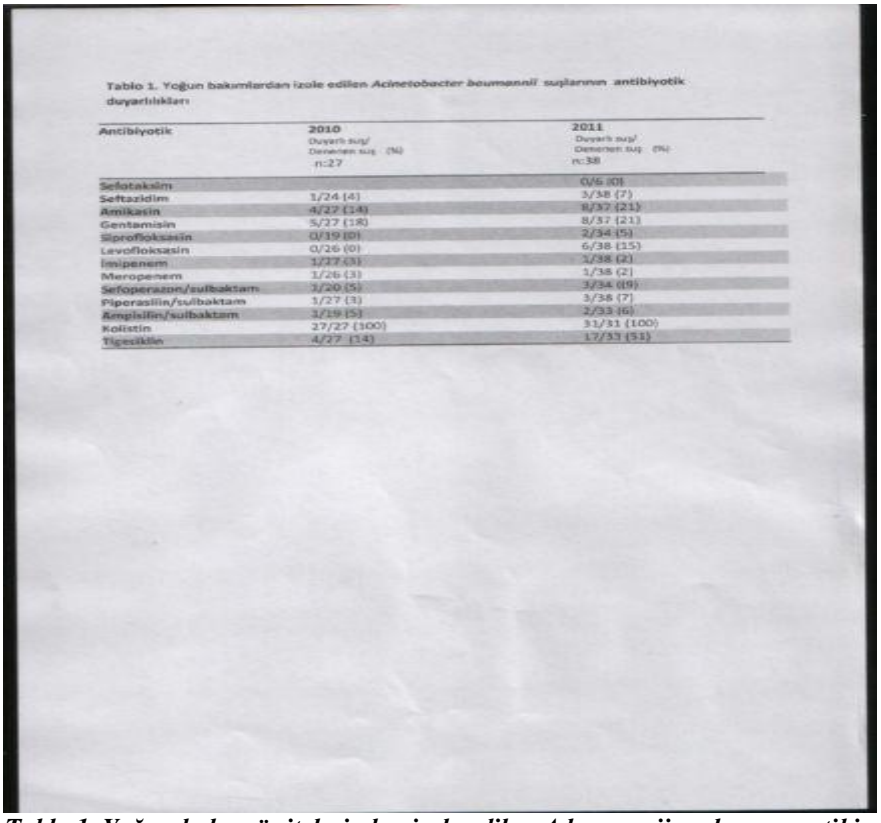
P175 - S.B. ETLİK İHTİSAS EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ'NDE YATAN HASTALARIN ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER BAUMANNİİ SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Nilgün Altın[1], Göknur Yapar Toros[1], Salih Cesur[1], **Kamer Koldaş[2]**, Gülkan Solgun[2], İrfan Şencan[3]
[1]*S.B. Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi*
[2]*S.B. Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı*
[3]*S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Ankara*

Amaç
Acinetobacter baumannii (A.baumannii) başta yoğun bakım üniteleri olmak üzere hastanelerde en sık karşılaşılan Gram negatif nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinden biridir. Çoğul antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle tedavisi güçtür. A.baumannii, çeşitli direnç mekanizmaları ile farklı antibiyotik gruplarına direnç geliştirebilir. Sıklıkla nozokomiyal pnömoni, ventilatörle ilişkili pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, bakteremi ve menenjit gibi ciddi mortalite oranı yüksek enfeksiyonlara neden olur.
Bu çalışmada; Etlik İhtisas Eğitim Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitesi (YBÜ) ve yoğun bakım ünitesi dışındaki servislerde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen ve nozokomiyal enfeksiyon etkeni olan Acinetobacter baumannii suşlarının 2010-2011 yılları arasındaki antibiyotik duyarlılık oranlarının belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya YBÜ yatan hastalardan izole edilen 31, YBÜ dışındaki kliniklerde yatan hastalardan izole edilen 50 olmak üzere toplam 81 Acinetobacter baumannii suşu dahil edildi.
Bakterilerin identifikasyonu VİTEK- 2 (Biomerioux,Fransa) otomotize sistemi ile yapıldı. Suşların antibiyotik duyarlılıkları ise VİTEK-2 ve Kirby- Bauer disk difüzyon yöntemleri ile belirlendi.
Bulgular
Hastanemizde A. baumannii suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotikler sırasıyla; kolistin (%100), tigesiklin (%14-63) ve amikasin (%14-54) olarak belirlendi.
Diğer antibiyotik gruplarına (beta-laktam, kinolon, aminoglikozid grubu) karşı direnç oranlarlının yüksekliği dikkat çekiciydi. Seftazidim duyarlılığı %0-7, piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %0-7, imipenem duyarlılığı %2-18, meropenem duyarlılığı %2-18, ampisilin-sulbaktam duyarlılığı %0-6, siprofloksasin %0-5, levofloksasin %0-15, gentamisin duyarlılığı %18-36 olarak belirlendi.
A. baumannii suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının yıllara ve kliniklere göre dağılımları Tablo-1 ve Tablo- 2 de gösterildi.
Sonuç
Sonuç olarak, hastanemizde nozokomiyal enfeksiyon etkeni olan A. baumannii suşlarında çoğul antibiyotik direnci ve yıllar içerisinde direnç oranında artış saptanırken, pan-rezistan (kolistine dirençli) suşlar saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter baumannii, antibiyotik duyarlılığı, yoğun bakım ünitesi, klinikler

Tablo 1

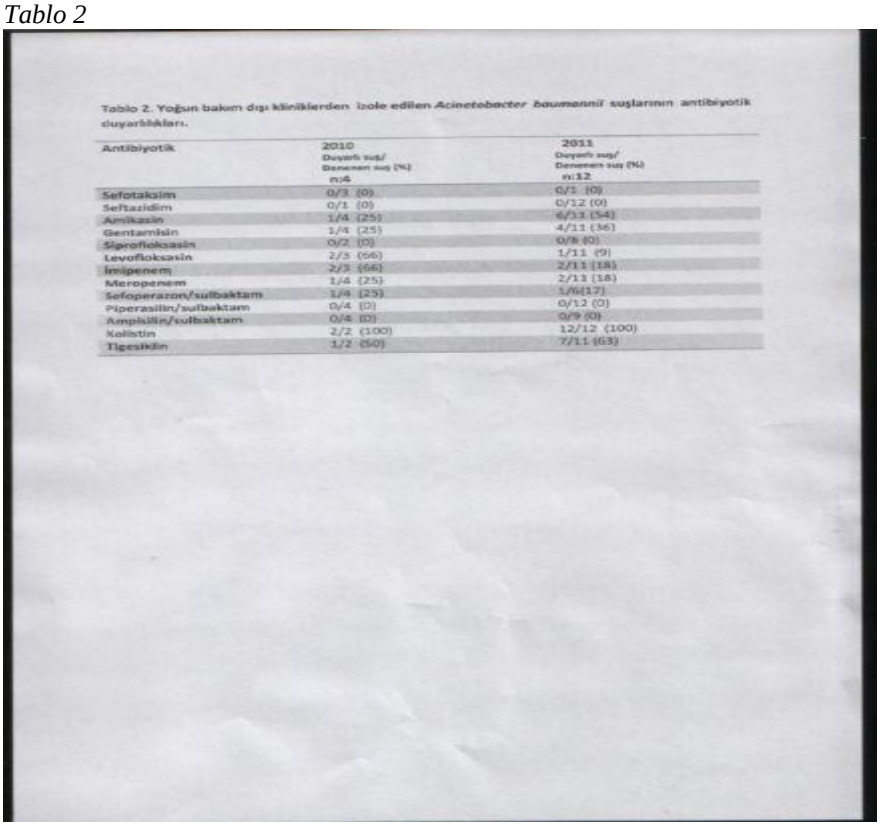


Tablo 1. Yoğun bakımlardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotik	2010 Duyarlı suş/ Denenen suş (%) n:27	2011 Duyarlı suş/ Denenen suş (%) n:38
Sefotaksim		0/6 (0)
Seftazidim	1/24 (4)	3/38 (7)
Amikasin	4/27 (14)	8/37 (21)
Gentamisin	5/27 (18)	8/37 (21)
Siprofloksasin	0/19 (0)	2/34 (5)
Levofloksasin	0/26 (0)	6/38 (15)
İmipenem	1/27 (3)	1/38 (2)
Meropenem	1/26 (3)	1/38 (2)
Sefoperazon/sulbaktam	1/20 (5)	3/34 (9)
Piperasilin/sulbaktam	1/27 (3)	3/38 (7)
Ampisilin/sulbaktam	1/19 (5)	2/33 (6)
Kolistin	27/27 (100)	31/31 (100)
Tigesiklin	4/27 (14)	17/33 (51)

Tablo 1. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen A.baumanii suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Tablo 2



Tablo 2. Yoğun bakım dışı kliniklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	2010 Duyarlı suş/ Denenen suş (%) n:6	2011 Duyarlı suş/ Denenen suş (%) n:12
Sefotaksim	0/3 (0)	0/1 (0)
Seftazidim	0/1 (0)	0/12 (0)
Amikasin	1/4 (25)	6/11 (54)
Gentamisin	1/4 (25)	4/11 (36)
Siprofloksasin	0/2 (0)	0/8 (0)
Levofloksasin	2/3 (66)	1/11 (9)
İmipenem	2/3 (66)	2/11 (18)
Meropenem	1/4 (25)	2/11 (18)
Sefoperazon/sulbaktam	1/4 (25)	1/6(17)
Piperasilin/sulbaktam	0/4 (0)	0/12 (0)
Ampisilin/sulbaktam	0/4 (0)	0/9 (0)
Kolistin	2/2 (100)	12/12 (100)
Tigesiklin	1/2 (50)	7/11 (63)

Tablo 2. Yoğun bakım dışı kliniklerden izole edilen A.baumannii suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

P176- ORDU ÜNİVERSİTESİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNDE İDRAR ÖRNEKLERİNDE İZOLE EDİLEN BAKTERİLER VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Fazilet Özenç Çakır[1], **Yeliz Çetinkol[2]**
[1]*Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Ordu*
[2]*Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ordu*

Amaç
Bu çalışmada Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuarına Eylül 2010-Eylül 2011 tarihleri arasında gönderilen idrar örneklerinden izole edilen bakterilerin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.
Yöntem
Hastanemiz laboratuvarına belirtilen dönemde ayaktan başvuran ve yatarak tedavi gören hastalardan gönderilen orta akım idrar örnekleri %5 koyun kanlı ve EMB besiyerine ekimi yapılmış, 35ºC'de 18-24 saat sonrası değerlendirmeye alınmıştır. Üreyen mikroorganizmaların tanımlanmasında klasik bakteriyolojik yöntemler kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır
Bulgular
Yapılan incelemelerde toplam 1290 idrar örneğinin 865(%67)'sinde üreme olmamış, 57(4.4)'si kontaminasyon olarak değerlendirilmiş ve 368(%28.5)'inde üreme saptanmıştır. Kültürlerden en sık izole edilen bakteri Escherichia coli (%18.9) olup bunu sırasıyla Klebsiella sp.(%2.8), Enterococcus sp.(%2.4), Candida sp. (%1.8), Pseudomonas sp. (%1.7), Proteus sp.(%0.4), Staphylococus aureus (%0.2), Acinetobacter sp.(%0.15) ve diğer Gram negatif bakteriler (%0.15) takip etmiştir. E. coli izolatlarında en etkili antibiyotik karbapenemler olarak saptanmış ve sadece bir izolat imipeneme dirençli bulunmuştur. En düşük direnç oranları imipenemden sonra %5.7 ile amikasine, en yüksek direnç oranları ise %67.9 ile ampisiline ait bulunmuştur. Stafilokok suşlarının birinde metisilin direnci saptanırken, enterokok türlerinde glikopeptid direnci saptanmamıştır.
Sonuç
İdrar yolu enfeksiyonu gelişen hastaların tedavisinde genellikle kültür sonuçlarının beklenmemesi ve ampirik olarak tedavi edilmesinden dolayı, bölgesel olarak sık izole edilen etken bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık profillerinin bilinmesi uygun tedavi seçeneklerinin belirlenmesi için önemlidir. Ayrıca bu oranların belirli periyotlarla hastane enfeksiyon kontrol komitesine sunulması kliniklerin antibiyotik politikalarının düzenlenmesine de katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: İdrar yolu enfeksiyonu, etken bakteri, antibiyotik duyarlılığı

P177 - KRONİK MEME APSESİNDE ÜRETİLEN BACTEROİDES FRAGİLİS VE PROPİONİBACTERİUM GRANULOSUM MEME KANSERİNİN HABERCİSİ OLABİLİR Mİ?

Abdurrahman Sarmış[1], Buket Ertürk Şengel[2], Elvan Sayın[1], Nurver Toprak Ülger[1], Lütfiye Mülazımoğlu[2], Güner Söyletir[1]
[1]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD İstanbul*
[2]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*

Amaç
Hızlı büyüyen solid tümörlerde, damarlanmanın aynı hızda olmadığı ve tümör içinde oksijen ve besinlerden fakir ceplerin bulunduğu gösterilmiştir. Ceplerdeki hipoksik alanlar anaerop bakterilerin üremesi için uygun ortam oluşturmaktadır. Bu özelliği göz önüne alan bazı araştırmacılar anaerop bakterileri tümörün gelişmesini geriletmek için kullanmışlardır. Yapılan deneysel çalışmalarda toksik etkisi zayıflatılmış bakterilerin intravenöz yolla verilmesiyle, bakterilerin hipoksik kısımlara gidip çoğaldıkları ve tümörde yıkım oluşturduğu gösterilmiştir. Bu sunumda, zemininde meme kanseri bulunan bir meme apsesinde Bacteroides fragilis ve Propionibacterium granulosum izole edilen olgu ele alınmış ve meme apsesi yaptığına dair çok az olgunun bildirildiği, normal flora elemanı olan bu bakterilerin kanserli meme apsesinde bulunmasının önemini vurgulamak amaçlanmıştır.
Vaka
Marmara Üniversitesi Hastanesi'ne sol memesinde ağrı ve kızarıklık şikayetleri başvuran 33 yaşındaki, bekar, bayan hastanın yapılan muayenesinde, sol meme üst iç kadranda portakal kabuğu görünümü, ısı artışı,eritem ve hassasiyet saptanmıştır. Aksillalar da lenfadenopatiye rastlanmamıştır. Hastanın benzer yakınmaları 2 yıl önce başlamış, günümüze kadar zaman zaman tekrarlamış, hastanın adını bilemediği, çok sayı ve çeşitte antibiyotikler kullanmıştır. Antibiyotiklerle geçici rahatlayan hastanın eritemli bölgesi sık sık ülsere olup drene olmaktadır.
Hastanemize başvurmadan 3 gün önce ampisilin-sulbaktam kullanmaya başlayan hastanın, zaman zaman da yüksek ateş şikayetleri olmaktaymış. Hastanın kullandığı antibiyotik değiştirilmiş, ampisilin sulbaktam alımı durdurulmuş, amoksisilin klavulonik asit 1000 mg günde 3 defa reçete edilmiştir. Apse drene edilmiş ve mikrobiyolojik kültür için örnek laboratuvara gönderilmiştir. Koyun kanı (%5), hemin ve K1 vitamini ilave edilmiş Burusella agar a yapıla ekim anaerop ortamda 72 saat, diğer besi yerlerinden koyun kanlı, çukulata ve MacConkey agar besiyerlerine ekilenler ise oda atmosferinde 37◦C'de inkübe edilmiştir. Üretilen organizmaların aerotolerans özelliklerine göre zorunlu anaerop olup olmadıkları anlaşılmıştır. Geleneksel yöntemler ve yarı otomatize sitemler ile tanı konulmuştur.
Yapılan meme absesi kültüründe; Bacteriodes fragilis, P.granulosum ve metisiline hassas koagülaz negatif stafilokok üretilmiştir.
Hastanın antibiyotik tedavisine rağmen memesindeki şişlik şikayetinin devam ettiği ve hastanın ifadesine göre biraz daha artmış olduğu belirtilmiştir. Kültür sonucu göz önüne alınarak, kullanılmakta olan antibiyotiklere ek olarak, metronidazol (500 mg günde 3 defa eklendi) başlanmıştır. İki hafta sonra yapılan kontrolde hasta, drenaj sonrasında iyileştiği, ancak ağrı şikayetinin devam ettiğini belirtmiştir. Bunun üzerine tedaviye yanıtsız olduğu düşünülerek maligniteye sekonder yumuşak doku enfeksiyonu açısından Meme MR çekilmesi önerilmiştir.
Dış merkezde yapılan MR görüntüleme sonucunda maligniteye dair bir bulguya saptanmadığı, ancak apsenin var olduğu belirtilmiştir. Bunun üzerine antibiyotik tedavisi düzenlenmiş ve ek olarak cerrahi drenaj önerilmiştir. Antibiyotik tedavisi olarak amoksisilin klavulanik asit durdurulmuş, rifampisin ve clindamisin tedavisine başlanmıştır.
Uygulanan tedaviye karşın iyileşmeyen hastanın dış merkeze başvurması sonucu memede kitle olduğu saptanmış ve cerrahi operasyon yapılmıştır. Patolojik inceleme ve hasta takibi dış merkezde devam etmektedir.
Sonuç
Kronik meme apsesi varlığında, anaerop bakterilerin üretilmesi, zeminde anaerop bakterinin çoğalmasını kolaylaştıran bir ortamın, dolayısı ile hipoksik tümör alanlarının bulunabileceğini akla getirebilir. Anaerop bakterinin kanser varlığı için bir ip ucu olabileceği varsayımı rutin laboratuvarda anaerop kültürün yapılmasını daha da önemli ve gerekli kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bacteroides fragilis, meme apsesi, Propionibacterium granulosum, solid tümör

P. granulosum kolonileri



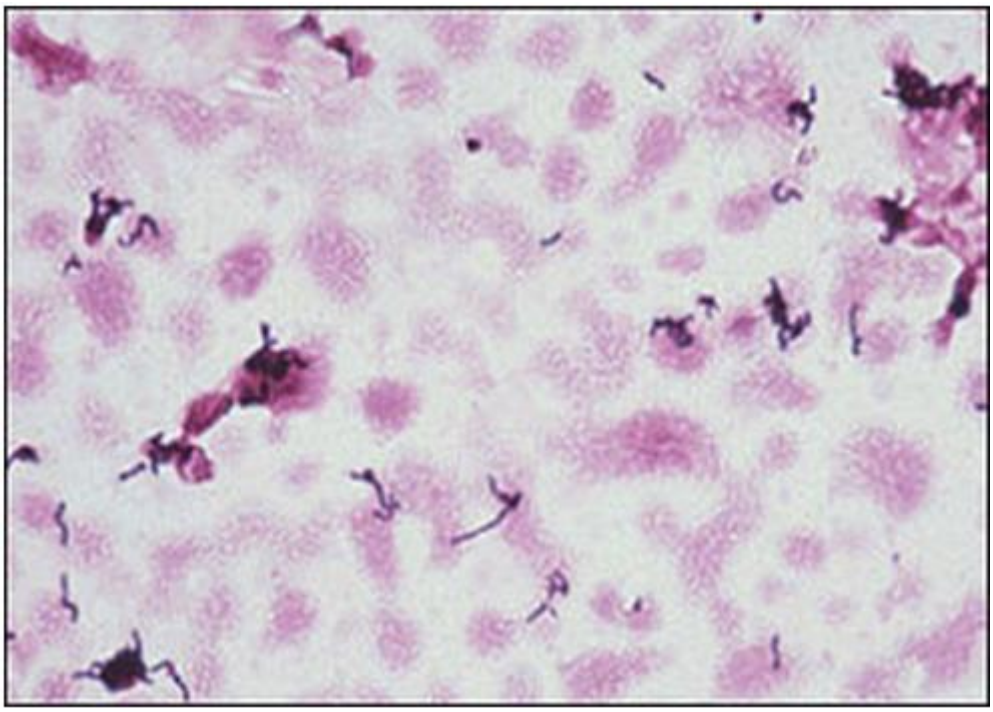
Koyun kanlı agarda, anaerop ekim sonrası Propionibacterium granulosum kolonileri

Antibiyogram sonuçları

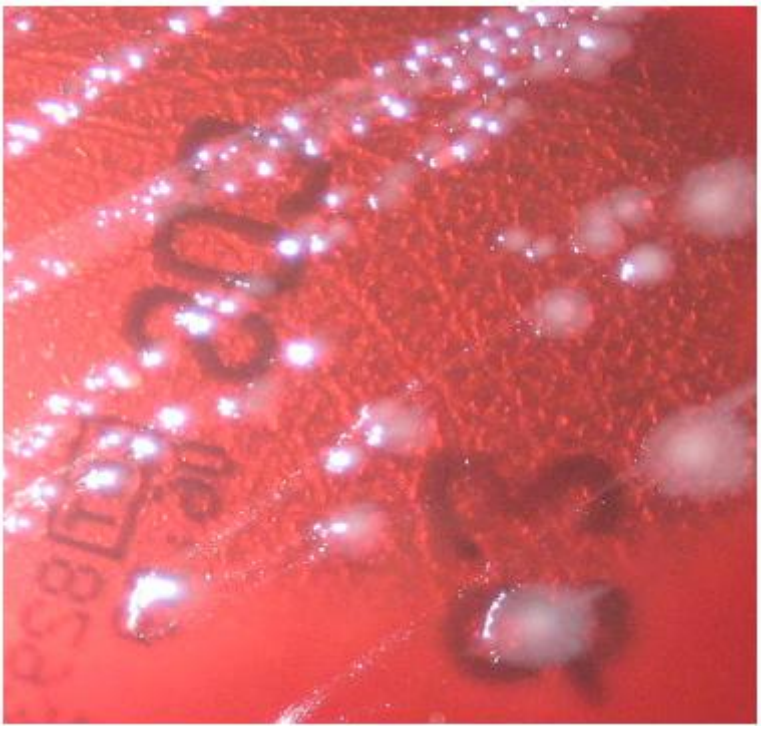
Antibiyotik	B. fragilis	P. granulosum
Klindamisin	>256 *	>256 *
Metronidazol	1,5	>256 *
Amoksisilin klavulanik asit	1	0.19
Meropenem	0,064	0,13

E-test ile MİK tayini yöntemine göre antibiyogram sonuçları *ilgili antibiyotiklere dirençli

P. granulosum mikroskopik görünümü

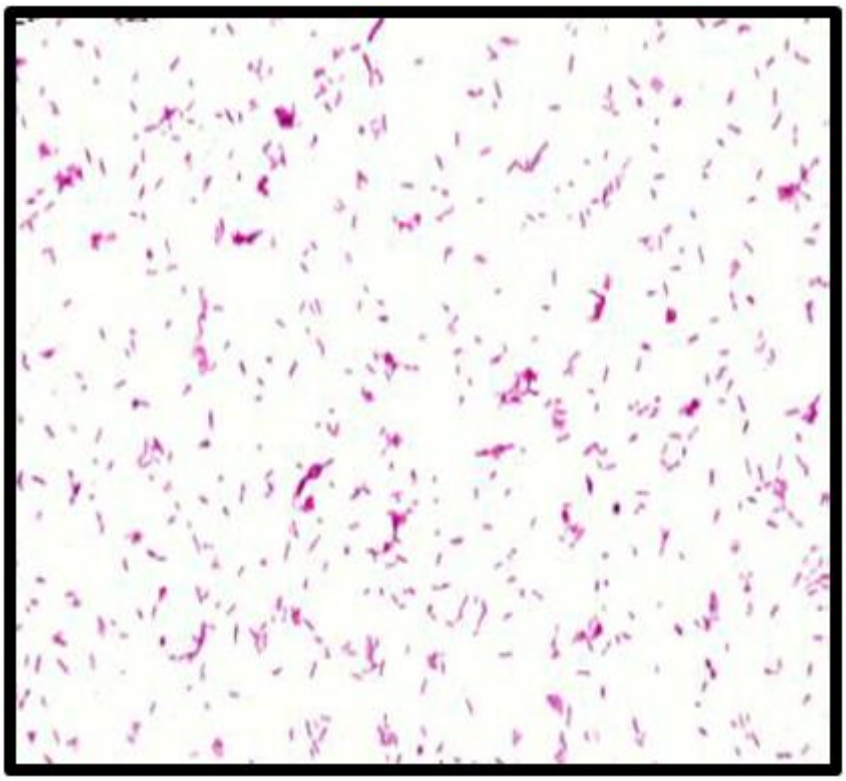


B.fragilis kolonileri



K vitamini, hemin ve %5 koyun kanı bulunduran Brucella agarda B.fragilis kolonileri

B.fragilis mikroskopik görünümü



P178 - ISOLATİON AND CHARACTERİZATİON OF PASTEURELLA MULTOCİDA İSOLATES OF CLİNİCAL SİGNİFİCANCE

Rabia Na Durrani[1], Irfan Ullah[1], Naeem Ali[1], Qurban Ali[2]
[1]*Microbiology Research Lab, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Quaid-I-Azam University*
[2]*National Veterinary Labs. Islamabad, Disease Diagnosis and Surveillance Section*

Hemorrhagic septicemia has been an acute and fatal disease among cattle and buffaloes caused by Pasteurella multocida. The prevalence of this disease is 49% in animals of Pakistan. The present study was to evaluate the prevalence, multidrug resistance and the molecular heterogeneity within clinical strains of P. multocida collected from different cities of Pakistan. Tissue samples of lung and spleen of dead animals were used for diagnostics. Rapid plate screening test for Hyaluronidase of clinical Isolates showing clear and white zones proved that given isolate is pathogenic. Amongst one hundred and ninety nine total isolates, only one hundred and one isolates were found to be virulent as clinical isolate of P. multocida. Isolates were confirmed through amplification (PCR) of specie–specific and Hemorrhagic septicemia type B causing test. The primer pair of specie –specific test showed a band of 300bp in all subspecies of P.multocida whereas the primer pair of HS type B causing test showed a band of 460bp in all HS-causing serotype of P.multocida. The high prevalence was found only in Karachi. Whole cell and envelope protein profile of the isolates on SDS-PAGE showed presence of common proteins of 55, 43 and 26kDa indicating no molecular heterogeneity among strains. Representative samples of clinical Isolates from nine different cities were tested for antibiotics sensitivity test. Isolates from Karachi, Badin, Taxila and Abbotabad showed resistant against, Ciprofloxacin, Neomycin, Ofloxacin and Norfloxacin. This study concluded that organism was genetically conserved and there is no diversity within the number of samples tested.

Anahtar Kelimeler: Hamemorrhagic septicemia, SDS-PAGE, Hyaluronidase, BHI (Brain Heart Infusion)

P179 - VAN YÖRESİ ÇOCUK YAŞ GRUBUNDA ALLERJENLERİN DAĞILIMI

Mehmet Parlak, *Aytekin Çıkman, Ulaş Çalışır, Mustafa Berktaş*
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Alerjik hastalıkların tedavisinde birinci prensip, alerjiyi ortaya çıkaran alerjenlerden uzaklaşmaktır. Bunun için alerjiye neden olan alerjenlerin tespiti önemli bir rol oynar. Alerjik hastalıkları ortaya çıkaran etkenler, iklimsel, coğrafi, kültürel ve çeşitli sosyal koşullara bağlı olarak ülkeden ülkeye veya bir ülkenin bölgesinden bölgesine farklılık gösterir. Çalışmada, ilimizdeki çocuklarda en sık alerji nedeni olabilecek etkenlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışma, alerji tanısı almayan 1052 serum örneği üzerinde yürütüldü. Serum örnekleri, üzerinde 28 farklı (elma, patates, havuç, fındık, yer fıstığı, bakla, pirinç, buğday unu, BSA [Bovine serum albumin], kazein, β-laktoglobulin, α-laktoalbumin, morina balığı, inek sütü, yumurta sarısı, yumurta beyazı, Alternaria alt., Aspergillus fumigatus, Cladosporium herbarum, at, köpek, kedi, Dermatophagoides farinae [mite], Dermatophagoides pteronyssinus [mite], misk otu, huş ağacı, grass mix alerjenleri ile CCD [Cross-reactive Carbonhydrate Determinant] ve indikatör bandını içeren) alerjen extraktlarının paralel olarak bağlandığı stripleri içeren Euroline Pediatric IgE (Euroimmun, Almanya) kiti kullanılarak test edildi. Test stripleri; Test sonunda band yoğunlukları, EUROLineScan dijital değerlendirme sistemi kullanılarak EAST (Enzyme-Allergo-Sorbent Test) sınıflandırması ile 0-6 arasında hesaplandı. Çalışmada herhangi bir alerjen için 1 derece ve üzeri elde edilen sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi.
Bulgular
Alerji testi yapılan 1052 serum örneğinin 143'ünde CCD pozitifliği saptanması nedeni ile çalışmadan çıkarıldı. Değerlendirmeye alınan 909 örneğin 513'ü (%56) erkek, 396'sı (%44) kızlardan oluşmaktaydı. Erkek ve kız grubunda eşit olarak %61 oranında en az bir alerjene karşı pozitiflik saptandı. En sık saptanan alerjen türleri morina balığı (%34), kedi (%11), köpek (%11), grass mix (%6), Dermatophagoides pteronyssinus (mite) (%5) ve patates (%5) olarak belirlendi.
Sonuç
Çalışmamızda alerjik hastalıkların prevalansının yüksek olduğu görülmektedir. Bölgemizde alabalık ve Van Gölü'nde endemik olarak bulunan inci kefali balığı yoğun olarak tüketilmektedir. Morina balığının en sık saptanan allerjen olması bu iki türle aynı sınıfta yer alması ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve bu konu ile ilgili kapsamlı çalışmaların gerekliliğini ortaya koymuştur. Ayrıca bu çalışma alerjik hastalıkların önüne geçebilmek için gerekli olan alerjenlerin belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alerjen dağılımı, çocuk, Van

P180 - ANTİ-HIV VE ANTİ-HCV TANISINDA KULLANILAN İKİ FARKLI KEMİLÜMİNESANS YÖNTEMİNİN İMMUNOBLOT İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Aytekin Çıkman, Mehmet Parlak, Hüseyin Güdücüoğlu, Mustafa Berktaş
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Çalışmada anti-HCV ve anti-HIV varlığını ortaya koymak için kullanılan iki farklı kemilüminesans yönteminin duyarlılık ve özgüllükleri açısından immunoblot doğrulama yöntemi ile karşılaştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çeşitli kliniklerden gönderilen 84 serum örneğinde anti-HCV; 33 örnekte ise anti-HIV varlığı Architect i2000SR (Abbott Diagnostics) ve Siemens Centaur XP (Siemens, IRL) sistemleri kullanılarak araştırıldı. Doğrulama yöntemi olarak Inno-Lia HCV Score ve Inno-Lia HIV I/II Score (Innogenetics, Almanya) kitleri kullanıldı. Her iki kemilüminesans yönteminin duyarlılık ve özgüllükleri immunoblot testi referans alınarak belirlendi.
Bulgular
Anti-HCV çalışılan toplam 84 örneğin 27'sinde, anti-HIV çalışılan toplam 33 örneğin 1'inde immunoblot doğrulama yöntemi ile pozitiflik saptandı. Anti-HCV açısından Architect i2000SR ile duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla %96 ve %58 olarak bulunurken Siemens Centaur XP için %93 ve %86 olarak tespit edildi. Anti-HIV açısından yapılan çalışmada ise Architect i2000SR ile duyarlılık ve özgüllük oranları sırasıyla %100 ve %63 olarak bulunurken, Siemens Centaur XP için bu oranlar %100 ve %97 olarak tespit edildi.
Sonuç
Gerek anti-HCV gerekse de anti-HIV sonuçları açısından bakıldığında her iki sistemin de birbirlerine üstün yönleri bulunduğu görülmektedir. Her iki yöntemin de duyarlılık oranlarının yüksek olmasına karşın Siemens Centaur XP sisteminin özgüllük açısından daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir. Ancak bütün bu değerlere karşın yanlış pozitiflerin önüne geçebilmek için sonuçların immunoblot yöntemi ile doğrulaması gerekliliği de bir kez daha ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: anti-HCV, anti-HIV, kemilüminesans, immunoblot

P181 - ANTİNÜKLEER ANTİKOR POZİTİF SERUMLARIN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Nevreste Çelikbilek, **Birsen Özdem**, Ziya Cibali Açıkgöz
Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

Amaç
Bu çalışmada 2009-2011 yıllarında laboratuarımızda yapılan 5068 antinükleer antikor (ANA) tetkik sonucu retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
ANA testi immunfloresan antikor (IFA, Euroimmun) ile HEP-2 ve maymun karaciğeri dokuları kullanılarak, 1/100 sulandırımla çalışılmıştır. Sonuç verilirken ışıma seviyesi ve patern birlikte raporlanmıştır. ANA pozitif bulunan 982 örnek dsDNA (ELISA, Organtec Diagnostica) ve ekstrakte edilebilir nükleer antijenler (ENA profil, immünblot, Euroimmun) açısından incelenmiştir.
Bulgular
ANA sonucu pozitif bulunan hastaların 756'ı (%77) kadın, 226'ı (%23) erkektir. Pozitif örneklerin %50'i Romatoloji, %20'i Gastroenteroloji, %5'i Fizik Tedavi, %25'i diğer birimlerdendir. ANA pozitif örneklerin %62.6'ında sınır/zayıf, %24.5'inde 1+,% 12.9'unda >=2+ ışıma düzeyleri gözlenmiştir. %23 homojen, % 22 benek, %15.5 homojen/benek ve % 13.5 nükleolar en sık saptanan 4 patern olmuştur. ANA pozitif 759 hastada dsDNA çalışılmış, 66'ı (%8.7) pozitif, 693'ü (%91.3) negatif bulunmuştur. dsDNA pozitif 44 örnekte (%68.8) homojen patern; diğerlerinde ise benek, nükleolar, nükleer dots, sentromer ve midbody paternleri gözlenmiştir. 414 ANA pozitif örnekte ENA profil immunblot yöntemi ile çalışılmıştır. Bunların 131'i (%31.6) pozitif, 283'ü (%68.4) negatif bulunmuştur. ENA pozitifliklerinde ilk 4 sırayı SSA (%31.6), SSA-SSB (%16.8), Scl70 (%16) ve Sm/RNP (%9.2) almıştır.
Sonuç Kadın hastalarda saptadığımız %77 ANA pozitifliği otoimmün hastalıkların kadınlarda daha sık görülmesi ile uyumlu bir bulgudur. Yine ANA pozitif örneklerin %50'inin Romatoloji polikliniği kaynaklı olması da beklenen bir durumdur. İkinci en yüksek pozitiflik oranı %20 ile Gastroenteroloji bölümünde olmuştur ki bu da otoimmün hepatitlerin prevalansı ile ilişkilidir. ANA pozitifliklerinde sık gördüğümüz patern tipleri ve yine ENA profilde en fazla saptadığımız antijen tipleri ilgili literatür ile uyumludur. ANA pozitifliklerinin %62.6'ı sınır veya zayıf ışıma düzeyindedir. Genelde önerilen 1+ ve üzeri ışımaların pozitif kabul edilmesidir. Bu düşük ışıma düzeylerinin geldiği bölümler incelendiği zaman % 43.4' Romatoloji, % 13.6'ının Gastroenteroloji kaynaklı olduğu belirlenmiştir. Işıma düzeylerinin ilk incelemeyi izleyen yıllarda artma olasılığı olduğu için bu hastaların takibe alınmaları uygun olacaktır. Beklendiği gibi dsDNA pozitifliklerinin çoğu (%68.8) homojen paternde çıkmıştır. ANA pozitifler arasında dsDNA pozitiflik yüzdesini düşük (%8.7) bulmamız ise ışıma düzeylerinin genelde sınır veya zayıf olması ile açıklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Antinükleer antikor, dsDNA, ekstrakte edilebilir antijen, immünfloresan antikor

Tablo 1. ANA pozitif örneklerin bölümlere göre dağılımı

Bölüm	Sayı	%
Romatoloji	491	50
Gastroenteroloji	196	20
Fizik Tedavi	49	5
Gögüs	40	4
Dermatoloji	40	4
Nöroloji	39	4
Dahiliye	29	3
Hematoloji	29	3
Nefroloji	9	1
Enfeksiyon Hastalıkları	20	2
Endokrinoloji	20	2
Diğer	20	2

Toplam	982	100

Tablo2. ANA pozitif örneklerin ışıma düzeylerinin dağılımı

Işıma Düzeyleri	Sayı	%
Sınırda	352	36
Zayıf	259	26.6
1+	238	24.5
2+	68	7
3+	31	3.3
4+	21	2.3
Miks	3	0.3
Toplam	982	100

Tablo 3. ANA pozitif örneklerin ışıma patern dağılımı

Patern	Sayı	%
Homojen	226	23
Benek	212	22
Homojen/benek	152	15.5
Nükleolar	133	13.5
Midbody	37	3.7
Sitoplazma benek	36	3.6
Homojen/Nükleolar	32	3.2
Nükleer dots	23	2.3
Benek/nükleolar	22	2.2
Sentromer	18	1.8
Nükleer lamin	12	1.2
Diğer	80	8
Toplam	982	100

P182 - KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ALLERJİ-İMMÜNOLOJİ LABORATUVARINDA TEST EDİLEN ALLERJEN SPESİFİK IGE POZİTİFLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Neşe Kaklıkkaya[1], **Tuba Köse[1]**, Fazıl Orhan[2], Kurtuluş Buruk[1], Gülçin Bayramoğlu[1], Faruk Aydın[1]
[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon*
[2]*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları ve Sağlığı ABD, Trabon*

Giriş
Atopi, çevresel antijenlere karşı yüksek miktarda IgE türü antikorların üretilmesi ile karakterize, bireylerde çeşitli alerjik hastalıkların oluşmasına neden olabilen genetik yatkınlık olarak tanımlanmaktadır. Atopiye neden olan çevresel alerjenler iklim, bitki örtüsü ve rakım gibi faktörlerden kaynaklanan bölgesel farklılıklar göstermektedir. Atopinin saptanmasında en önemli serolojik test serumda alerjene spesifik IgE düzeylerinin belirlenmesidir.
Amaç
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Alerji-İmmünoloji laboratuvarına gönderilmiş olan hasta serumlarında çeşitli alerjenlere-spesifik IgE pozitiflik oranlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlandı.
Materyal-Metod
Ocak 2007-Temmuz 2011 tarihleri arasında Alerji-İmmünoloji laboratuarına 16 farklı alerjen/alerjen grubuna spesifik IgE varlığının araştırılması amacıyla gönderilen 9638 serum örneği çalışmaya dahil edildi. Serum Spesifik IgE ölçümleri flouresan enzim immün assay (FEIA) yöntemi ile Pharmacia CAP System (Phadia AB, Upsala, İsveç) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına uygun olarak yapıldı. Serum Spesifik IgE düzeyi 0.35 kU/L ve üzerindeki değerler pozitif olarak değerlendirildi.
Bulgular
En çok istem yapılan testlerin ev tozu akarlarına spesifik IgE testleri (Dermatophagoides pteronyssinus (d1); (%11.12), Dermatophagoides farinae (d2) (%8.94) olduğu görüldü. En yüksek pozitiflik oranları ise sırasıyla balarısı zehrine spesifik IgE (i1) (%40.90), eşek arısı zehrine spesifik IgE (i3) (%37.40), karma spesifik IgE (%35.54) ve ev tozu akarlarına spesifik IgE (Dermatophagoides farinae (d2) (%29.81), Dermatophagoides pteronyssinus (d1); (%28.54)) testlerinde elde edildi (Tablo).
Sonuç
Az sayıda test ediliyor olmasına rağmen, bölgemizde arı zehirlerine karşı duyarlılığın en yüksek oranda olduğu görülmüştür. Bunun nedeni bölgede arıcılığın yaygın olarak yapılması ve klinisyenlerin iyi bir anamnez sonucu laboratuar istemi yapmış olmalarına bağlanabilir. Ev tozu akarlarına duyarlılık oranları çayır ve ağaç polenlerine duyarlılık oranlarından daha fazla bulunmuştur. Tüm örnekler ele alındığında %21.57 oranında spesifik IgE pozitifliği görülmüştür. Bununla birlikte atopiyi belirlemede tek başına da duyarlı bir yöntem olarak görülen ve yaygın solunum sistemi alerjenlerine spesifik IgE antikorlarının test edildiği karma spesifik IgE testinin (phadiatop) %35.54 oranında pozitiflik göstermesi bölgede atopik hastalıkların sıklığının daha fazla olabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Allerjen, Atopi, Spesifik IgE

Spesifik IgE düzeylerinin pozitiflik oranları

Alerjenler	Sayı	Pozitif	%
Bal arısı zehiri (i1)	374	153	40.90
Eşek arısı zehiri (i3)	254	95	37.40
Karma spesifk IgE (phadiatop)	681	242	35.54
Ev tozu akarı (d2)	862	257	29.81
Ev tozu akarı (d1)	1072	306	28.54
Çayır polenleri (gx1)	717	155	21.61
Çayır polenleri (gx2)	611	132	21.60
Ağaç polenleri (tx5)	689	128	18.57
Latex (naylon) (k82)	224	41	18.30
Ağaç polenleri (tx9)	579	98	16.92
Fındık (f17)	481	74	15.38

Soya fasulyesi (f14)	424	63	14.85
Çavdar unu (f5)	203	29	14.28
Yumurta beyazı (f1)	797	110	13.80
Süt proteini (f2)	804	110	13.68
Mantar sporları (mx1)	648	75	11.57
Penicilloyl G (c1)	218	11	5.04
TOPLAM	9638	2079	21.57

P183 - EPSTEİN-BARR VİRUS ENFEKSİYONLARININ SEROLOJİK TANISINDA VIRAPID MONO M&G TESTİNİN İMMÜNBLOT VE ELFA YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

İmran Sağlık, Gözde Öngüt, Derya Mutlu, Dilek Çolak
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya

Amaç
Epstein-Barr virus (EBV) enfeksiyonlarının serolojik tanısında uygulanması kolay yeni yöntemler hızlı tanı için kullanıma sunulmaktadır. Bu çalışmanın amacı EBV serolojisinin saptanması için laboratuvarımıza gönderilen serum örneklerinin değerlendirilmesinde çabuk sonuç veren ticari bir kart testinin sonuçları ile ELFA ve immünblot yöntemleri ile elde edilen test sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.
Gereç-Yöntem
EBV serolojisinin saptanması için laboratuarımıza gönderilen 23 adet serum örneği eş zamanlı olarak VCA IgM, VCA IgG, EBNA IgG ve Hemaglütinin antikorlarını saptayan Virapid Mono M&G (Vircell, İspanya), Enzime Linked Fluorescent Assay (ELFA) yöntemi ile çalışan ve VCA IgM, VCA IgG ve EBNA IgG antikorlarını saptayan VIDAS EBV (BioMerieux, Fransa) sistemi ve immünblot yöntemi ile çalışan EA, anti p22, VCA IgM, VCA IgG ve EBNA IgG antikorlarını saptayan Euroline EBV IGM ve Euroline EBV Profile 2 (Euroimmün, Almanya) ile çalışılmıştır.
Bulgular
Virapid Mono M&G testinin VCA IgM, VCA IgG ve EBNA IgG için Vidas EBV testi ile tutarlılıkları sırası ile %78 (kappa 0.46), %82 (kappa 0.51) ve %100 (kappa 1,0); immünblot testi ile tutarlılıkları sırası ile %78 (kappa 0.46), %73 (kappa 0.18) ve %95 (kappa 0.87) olarak bulunmuştur.
Sonuç
Çalışılan örnek sayısı az olmakla birlikte, Virapid Mono M&G testinin her iki testle de genel olarak tutarlı olduğu görülmüştür. Ancak daha fazla örnekle elde edilecek sonuçlar değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Epstein-Barr, kart test, immünblot, ELFA*

Tablo 1. Testlerin serolojik tanısının karşılaştırılması

Virapid Mono sonucu				Testlere göre serolojik tanı		
VCA IgM	VCA IgG	anti-EBNA	sayı	Virapid Mono	EBV Vidas	EBV İmmünblot
(-)	(-)	(-)	2	2 SN	1 SN, 1 tanımsız	1 SN, 1 PE
(+)	(-)	(-)	3	3 PE	3 PE	3 PE
(+)	(+)	(-)	1	1 PE	1 tanımsız	1PE
(+)	(+)	(+)	3	3 PEGDvR	1 PEGDvR 2 GE	1 PEGDvR 2 GE
(-)	(+)	(+)	12	12 GE	10 GE 2 PEGDvR	10 GE 2 PE
(-)	(-)	(+)	2	2 tanımsız	1 tanımsız 1GE	2GE

SN:Seronegatif, PE:Primer enfeksiyon, PEGDvR: primer enfeksiyonun geç dönemi veya reaktivasyon, GE:Geçirilmiş enfeksiyon

Tablo 2. Virapid Mono test sonuçlarının diğer iki testle uyumu

	EBV İmmünblot			GT %, k		EBV Vidas			GT %, k
Virapid		poz	neg		Virapid		poz	neg	
VCA IgM	poz	4	3	78, 0.46	VCA IgM	poz	4	3	78, 0.46
	neg	2	14			neg	2	14	
VCA IgG	poz	16	0	73, 0.18	VCA IgG	poz	16	0	82, 0.51
	neg	6	1			neg	4	3	
EBNA	poz	17	0	95, 0.87	EBNA	poz	17	0	100, 1.0
	neg	1	5			neg	0	6	

GT: Gözlenen tutarlılık, k:kappa değeri

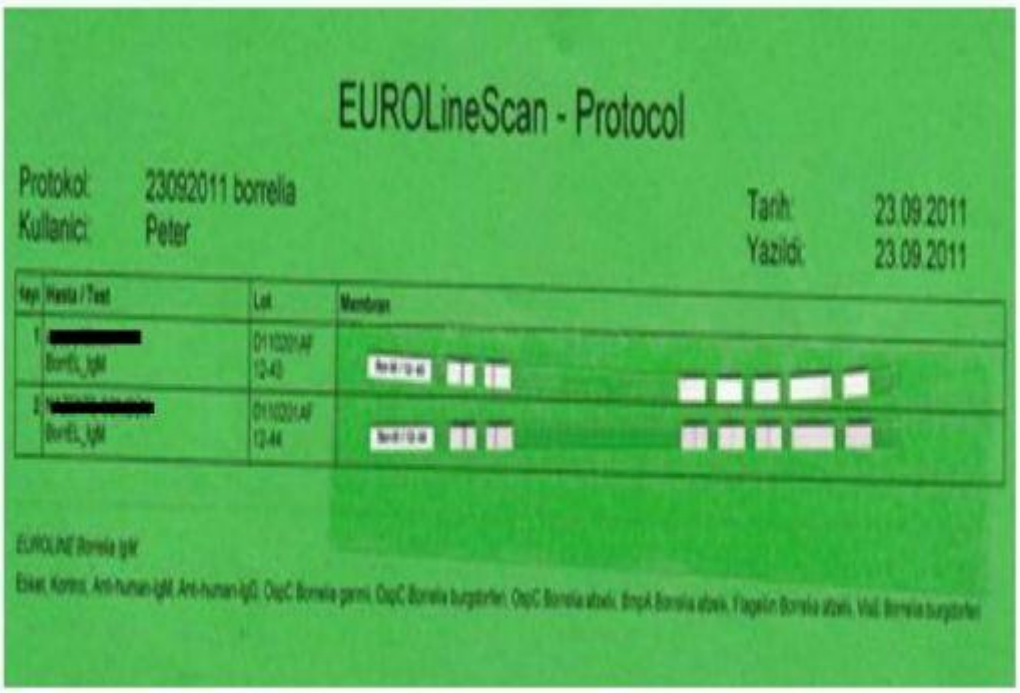
P184 - LYME HASTALIĞINDA SEROLOJİK TANI

Selcan Çolakoğlu, Mustafa Altay Atalay, Selma Gökahmetoğlu, Hüseyin Kılıç
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Lyme hastalığının etkeni, 1980' li yılların basında Burgdorfer ve ark. tarafından tanımlanmış ve Borrelia burgdorferi olarak isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 1992 yılından bu yana patojen olarak üç tür tanımlanmıştır(B. Burgdorferi sensu stricto, B.afzelii ve B. garinii)
Lyme hastalığı tanısı serolojik olarak iki aşamalı test algoritması içermektedir. Birinci aşamada ELİSA yöntemi ile çalışılıp, pozitif bulunan sonuçlar doğrulama testi ile çalışılmaktadır.
Bu çalışmada rutin laboratuvarda Borrelia Ig M pozitif bulunan hasta örneklerinde doğrulama testi ile antikor varlığı araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Seroloji Ünitesi' ne Eylül 2010 ile Temmuz 2011 tarihleri arasında gönderilen serum örneklerinde Borrelia Ig M ve Ig G antikorları ELISA (Euroimmun, Almanya) yöntemi ile araştırılmıştır. Örneklerden Borrelia Ig M pozitif bulunan 31 örnekte immunoblot (Euroimmun, Almanya) yöntemi ile antikor varlığı saptanmıştır.
Bulgular
ELISA ile Ig M pozitif bulunan 31 örneğin 2' sinde Ig G pozitif; 29' unda Ig G negatif bulunmuştur. Ig M pozitif bulunan örneklerin 23 (%74) ' ünde immunoblot yöntemi ile pozitiflik saptanmıştır.
Sonuç
Lyme hastalığı tanısında rutin tarama testlerinde bulunan pozitif sonuçların doğrulama testi ile çalışılması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Borrelia, Lyme, serolojik tanı*

Şekil.1 Immunoblot yöntemi



P185 - KAN DONÖRLERİNDE HEPATİT B, HEPATİT C, HIV VE SİFİLİZ İNFEKSİYONLARI SEROPREVALANSI

Gül Karagöz, Ayten Kadanalı, Mehmet Fatih Bektaşoğlu, Behiye Dede, Sevda Babacan Altuğ
Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Servisi, İstanbul

Amaç
Kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonrasında bir çok komplikasyonlar gelişebilir. Bunlar içerisinde en önemlilerinden biri infeksiyonlardır. Bu retrospektif çalışmada hastanemizdeki kan donörlerinde Hepatit B, Hepatit C, HIV ve Sifiliz infeksiyonları prevalansının ortaya konulması amaçlandı.
Yöntem
Hastanemiz kan merkezine Ocak 2009 – Temmuz 2011 tarihleri arasında donör sorgu formu doldurulmuş ve kan vericisi olarak uygun görülen donörlerde HBsAg, Anti HCV, Anti HIV 1-2 ve VDRL testleri ELISA yöntemi ile çalışıldı. Sonuçların yıllara, donörlerin cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları belirlendi ve bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi.
Bulgular
Çalışmada, 2,5 yıllık süreç içerisinde yaşları 18 – 64 (34,26±9,52) arasında değişen 10151 erkek (%96.05), 417 (%3.95) bayan toplam 10568 kan donörüne ait serum örneği incelendi. Çalışma süresince 144 (% 1,4) hastada HBsAg, 17 (% 0,2) hastada Anti HCV, 3 (% 0,03) hastada Anti HIV ve 71 (% 0,7) hastada VDRL pozitifliği tespit edildi. Pozitiflik tespit edilen hastalar ileri tetkik ve takip amacıyla enfeksiyon hastalıkları polikliniğine yönlendirildi. Her iki cinste de HbsAg pozitiflik oranı en fazla 2009, VDRL pozitiflik oranıda en fazla 2010 yılında görüldü. HBsAg, Anti HCV ve Anti HIV sonuçları ile donör yaşı ve cinsiyeti arasındaki ilişki incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklık saptanmadı ($p>0,05$). Ancak VDRL pozitif olan donörlerin yaş ortalamasının VDRL negatif olan donörlerden anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı ($p<0,01$).
Sonuç
HBV, HCV ve HIV gibi infeksiyonların temel geçiş yolu kan ve kan ürünleri transfüzyonudur. Rutin olarak transfüzyon öncesi bu testlerin uygulanması güvenli transfüzyonu sağlaması nedeniyle çok önemli olmakla birlikte, pozitif vakaların saptanması bu kişiler ile ilgili tedavi olanaklarının değerlendirilmesi halk sağlığı açısından da büyük önem arzetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti-HCV, Anti-HIV, HBsAg, Kan donörü, Sifiliz

P186 - HASTANEMİZDE YAPILAN ANTİ-HIV TARAMA TESTİNDE POZİTİF BULUNAN ÖRNEKLERİN SONUÇLARI

Metin Sancaktar, Zeynep Yıldız, Figen Bilgi, Türkan Lakot
Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon

Amaç
Anti-HIV tarama testleri bütün mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Tanıda oldukça yararlı olmalarına karşın pozitif çıkan örneklerin ileri yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir. Mayıs 2007 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen kanlardan çalışılan anti-HIV sonuçlarının geriye dönük olarak taranıp anti-HIV (+) bulunan örneklerin oranının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu süre içerisinde 60.972 kan örneğinden farklı makro-ELISA sistemleri/kitleri ile (Beckman Coulter UniCel®DxI 800, Beckman Coulter Access® 2, Roche Cobas® 6000 e601) anti-HIV çalışması yapılmıştır. Tarama sonucu >=1 COI bulunan örnekler olası pozitif kabul edilmiş, ancak aynı kandan bir kez daha çalışılmıştır. Yine pozitif bulunan örnekler Western-Blot yöntemiyle doğrulanmak üzere Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'ne gönderilmiştir.
Bulgular
Anti-HIV tarama testinde ve yinelemelerinde pozitif bulunan ve Western-Blot yöntemiyle doğrulanmak üzere gönderilen 23 (%0.037) örneğin 4'ü (%0.0065) pozitif olarak bildirilmiştir. Doğrulamaya gönderilen kanların 9'u (%39.1) ameliyat ve gastroendoskopik girişim öncesi, 8'i (%34.8) işe giriş öncesi ve yıllık esnaf taraması, 4'ü (%17.4) servis ve yoğun bakım, 2'si (%8.7) ise poliklinik hastalarınındı. Pozitif bulunan 4 kandan 2'si ameliyat öncesi hastalardan taramalarda ilk kez yakalanmıştır. Bir tanesi yoğun bakımda yatan bilinen bir hasta iken, bir tanesi de işe giriş öncesi ve yıllık esnaf taraması sırasında yakalanmıştır. Yalancı pozitiflik bulunan örneklerin 4'ü (%17.4) HBV iyileşmiş/aşılanmış hasta, 4'ü gastrointestinal yakınması olan/sağaltım alan hasta, 1'i (%4.3) psikotrop ilaç kullanan hasta, 1'i (%4.3) kanser kemoterapisi gören hastaydı. Diğerlerinde ise kayda değer bir özellik bulunamamıştır. Anti-HIV (+) bulunup doğrulamaya gönderilen örneklerin bilgileri aşağıda verilmiştir.
Sonuç
Tarama testlerindeki anti-HIV >=1 COI değerinin büyüklüğü ile infeksiyon arasında doğrudan bir ilişki kurulamamıştır. Çalışmamızda bulunan %82.6'lık yalancı pozitifliğin çeşitli nedenleri olabilir. Ayrıca sadece antikor pozitif hastaların mümkün olduğu kadar tamamının saptanabilmesi için, tarama testlerinin cut-off değerlerinin maksatlı olarak düşük tutulduğu, bu nedenle yalancı pozitif vakalarının hiç bir nedeni olmadan da olabileceği akılda tutulmalıdır. Tarama testleri yüksek oranda yalancı pozitifliğe neden olmasına karşın, yine de (taramalarda gerçek anti-HIV pozitifliğini yakaladığı için) günümüzde önemini koruyor gözükmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Anti-HIV, anti-HIV pozitifliği, anti-HIV tarama testleri*

Çizelge 1. Anti-HIV (+) bulunup doğrulamaya gönderilen örneklerin dağılımı.

	Dağılım	Ölçülen En Düşük COI Değeri	Ölçülen En Yüksek COI Değeri
Western-Blot (-)	19 (%82.6)	1.2	99.6
Western-Blot (+)	4 (%17.4)	30.1	316

COI:Cut Off Index.

P187 - DOĞURGANLIK ÇAĞINDAKİ KADINLARDA RUBELLA VE SİTOMEGALOVİRÜS ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI

Harun Ağca
Kütahya Tavşanlı Doç. Dr. M. Kalemli Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Kütahya

Amaç
Doğurgan çağdaki kadınlarda konjenital infeksiyonlara sebep olabilen etkenlerin takibinde Rubella ve CMV IgG antikorlarının araştırılması gebelikte geçirilebilecek infeksiyonların takibi açısından önemlidir. Bu çalışmada hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran, doğurgan çağdaki kadınlarda rubella ve CMV IgG antikorlarının retrospektif olarak araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Eylül 2009 ile Ağustos 2011 arasındaki iki yılda Tavşanlı Devlet Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na doğurganlık çağındaki 15-45 yaş arasındaki kadınlardan gönderilen toplam 1332 numunede rubella IgG ve CMV IgG antikorları araştırıldı. Rubella ve CMV IgG antikorlarının araştırılması için hastalardan 8-10 ml. venöz kan alındı ve günlük olarak çalışıldı. Rubella IgG ve CMV IgG antikoru araştırılması için enzim immünassay yöntemi ile çalışan AXSYM System (Abbott, ABD) kitleri kullanıldı. Rubella için 0-4,9 IU/ml arası negatif, 5-9,9 arası sınır değer, 10 ve üzeri ise pozitif kabul edildi. CMV için 0-14,9 IU/ml arası negatif, 15 ve üzeri ise pozitif kabul edildi.
Bulgular
Rubella IgG olumluluğu %94.6 (1260), sınır değer %2,7 (36), olumsuzluğu %2,7 (36), CMV IgG olumluğu %98.9 (1318), olumsuzluğu %1,1 (14) oranında saptandı.
Sonuç
Gebelikte birincil infeksiyon geçirilmesi ile ortaya çıkabilecek sorunlar düşünüldüğünde; rubella infeksiyonu açısından aşılamanın ve CMV açısından gebelik öncesi serolojik incelemenin önemi ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Rubella, sitomegalovirus, doğurgan yaş grubu

P188 - BRUSELLOZDA STANDART TÜP AGGLÜTİNASYON TİTRELERİNİN BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Harun Ağca[1], Gülin Ertugay[2]
[1]*Kütahya Tavşanlı Doç. Dr. M. Kalemli Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Kütahya*
[2]*Kütahya Tavşanlı Doç. Dr. M. Kalemli Devlet Hastanesi Biyokimya laboratuarı, Kütahya*

Amaç
Ülkemizde bruselloz, morbiditesi oldukça yüksek olmasına karşın mortalitesi çok düşük olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Her yıl binlerce insan hastalığa yakalanmakta ve hastalık insanlarda fiziksel yetersizliğe ve iş kaybına neden olmaktadır. Çalışmada Tavşanlı Devlet Hastanesi poliklinik ya da servislerinde bruselloz ön tanısı alan hastalardan standart tüp agglütinasyon titreleri 1/160 ve üzerinde olan serum örneklerinde çeşitli biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya dahil edilen 91 hastada ALT, AST, CRP, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), lökosit, eritrosit ve trombosit sayımı sonuçları araştırılmıştır.
Bulgular
Standart tüp agglütinasyon testi pozitif bulunan hastaların 74'ünde (%81) CRP pozitifliği, 7'sinde (%8) ALT pozitifliği, 13'ünde (14) AST pozitifliği, 27'sinde (%30) ESH yüksekliği saptandı. Hastalardan 10'unda (%11) lökositoz, 5'inde (%5) lökopeni, 2'sinde (%2) eritrosit sayısında azalma, 5'inde (%5) trombositopeni görüldü.
Sonuç
Biyokimyasal testlerden ALT ve AST ile CRP'nin brusella tüp agglütinasyon testi sonucu ile korelasyon gösterdiği tespit edildi. Bu bulgular; Bruselloz tanısında CRP'nin gerek hastaların %81'inde pozitif bulunması ve gerekse korelasyon göstermesi nedeniyle bruselloz düşünülen hastalarda bakılması gerektiğini göstermekte, ALT ve AST titrelerinin ise özellikle standard tüp agglütinasyon testi yüksek titrelerde pozitif bulunan hastalarda yüksek çıkması nedeniyle tanıyı desteklemek üzere araştırılması gerekli parametreler olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Brusella, tüp agglütinasyon testi, biyokimyasal parametre

Standart tüp agglütinasyonu ile CRP, ALT ve AST düzeylerinin karşılaştırılması

Standart tüp agglütinasyon		CRP pozitifliği		ALT yüksekliği		AST yüksekliği	
Titre	n	n	%	n	%	n	%
1/160	39	29	74	0	0	3	8
1/320	28	23	82	1	4	3	11
1/640	17	15	88	4	24	4	24
1/1280	7	7	100	2	29	3	43
Toplam	91	74	81	7	8	13	14

P189 - TRABZON FATİH DEVLET HASTANESİ ÇALIŞANLARINDA HBV, HCV VE HIV YAYGINLIĞI

Metin Sancaktar[1], Serkan Taktak[2], Figen Bilgi[2], Fatih Niyazoğlu[2], Hakan Usta[2], Recep Öksüz[3], Gülcan Kaçak Gül[3], Emine Taşçı[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi Hasta ve Çalışan Güvenliği Kurulu, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi İnfeksiyon Kontrol Komitesi, Trabzon*

Amaç
Hekimden hizmetliye değin tüm sağlık çalışanları hastalarla az ya da çok yakın temas içindedirler. Önerilen tüm önlemler alınmaya çalışılsa da, işleri gereği toplumdan daha yüksek oranda bulaşıcı hastalığa yakalanma riski taşırlar. Özellikle solunum yoluyla, yakın temasla, kan ve vücut sıvılarıyla bulaşan hastalıklara yakalanabilmektedirler. Bu çalışmada hastanemiz çalışanlarının HBV, HCV ve HIV yönünden durumlarının irdelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mart 2009- Temmuz 2011 tarihleri arasında hastanemiz çalışanlarından hekim, hemşire, laborant, sağlık ve röntgen teknisyenleri ile riskli kabul edilen birimlerde (diyaliz, kan alım, laboratuvar, endoskopi vb.) çalışan teknisyen, sekreter ve hizmetlilerin kendi doldurdukları bilgi formları geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya katılan 389 kişinin [291 (%74.8) kadın, 98 (%25.2) erkek] kanları alınmış; hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında Roche Cobas® 6000 e601 aygıtı ile HBs Ag, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV çalışılmıştır.
Bulgular
HBV aşısı olmamış ya da aşının koruyuculuğu kalmamış (HBs Ag negatif ve Anti-HBs negatif/düşük pozitif) olan 63 (%16.2); HBV aşılı ve Anti-HBs pozitif 240 (%61.7); taşıyıcı (HBs Ag pozitif, Anti-HBs negatif) olan 3 (%0.8) ve doğal bağışıklık saptanan (aşısız ve Anti-HBs pozitif) 83 (%21.3) kişi bulunmuştur. Anti-HCV pozitifliği yalnızca 2 (%0.7) hemşirede saptanmıştır. Anti-HIV pozitifliği hiçbir çalışanda saptanmamıştır. Hekimlerin 5'i (%19.3) aşısız, 13'ü (%50) aşılı, 1'i (%3.8) taşıyıcı ve 7'si (%26.9) doğal bağışıktı. Hemşire kümesindekilerin 22'si (%8.1) aşısız, 190'ı (%69.8) aşılı, 2'si (%0.7) taşıyıcı ve 58'i (%21.4) doğal bağışıktı. Laboratuvar teknisyeni kümesindekilerin 3'ü (%13) aşısız, 11'i (%47.8) aşılı, 9'u (%39.2) doğal bağışıktı. Sağlık teknisyeni kümesindekilerin 2'si (%15.4) aşısız, 7'si (%53.8) aşılı, 4'ü (%30.8) doğal bağışıktı. Röntgen teknisyenlerinin 26'sı (%66.7) aşısız, 12'si (%30.7) aşılı, 1'i (%2.6) doğal bağışıktı. Teknisyenlerin tamamı (%100) aşılı; hizmetlilerin 4'ü (%36.4) aşısız, 3'ü (%27.2) aşılı, 4'ü (%36.4) doğal bağışık; bir sekreter ise (%100) aşısızdı.
Sonuç
Bulduğumuz HBs Ag pozitifliği (%0.8), Anti-HBs pozitifliği (%83.0) ve Anti-HCV pozitifliği (%0.5) ülkemizdeki genel ve sağlık çalışanları verileriyle uyumlu bulunmuştur. Aşı yaptırma oranı ülkemizde yapılan benzer çalışmaların aksine en yüksek hemşirelerde (%69.8) ikinci olarak hekimlerde (%50) bulunmuştur. Röntgen teknisyenleri en az aşı yaptıran (%30.7) küme olurken; hekimler en yüksek taşıyıcılığın (%3.8), laboratuvar teknisyenleri en yüksek doğal bağışıklığın (%39.2) saptandığı kümeler oldular. Yüksek doğal bağışıklık oranı laboratuvar ortamının kan ve vücut sıvılarıyla bulaşan hastalıklar açısından (çalışmamızda HBV) sanılandan daha yüksek risk taşıdığını düşündürmektedir. Uygulanan kişisel koruyucu önlemlere karşın, hastalığı geçirmeden aşılanma tartışılmaz önemini korumaktadır. Hemşireler ise HBV yanında HCV'ye de en riskli kümeyi oluşturdukları için eğitim, tarama ve kişisel koruyucu kullanımı konusunda hedef kümeyi oluşturmaktadırlar.

Anahtar Kelimeler: HBV, HCV, HIV, Anti-HBs, hastane çalışanları

Çizelge 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi çalışanlarında HBs Ag, Anti-HBs ve Anti-HCV tarama sonuçlarının mesleklere göre dağılımı.

Meslek	Sayısı (%)	HBs Ag (%)	Anti-HBs (%)	Anti-HCV
Hekim	26 (6.7)	1 (3.8)	20 (76.9)	0
Hemşire*	272 (69.9)	2 (0.7)	248 (91.2)	2 (0.7)
Laboratuvar Teknisyeni**	23 (5.9)	0	20 (86.9)	0
Sağlık Teknisyeni***	13 (3.3)	0	11 (84.6)	0
Röntgen Teknisyeni	39 (10)	0	13 (33.3)	0
Teknisyen	4 (1)	0	4 (100)	0
Hizmetli	11 (2.9)	0	7 (63.6)	0
Sekreter	1 (0.3)	0	0	0

Toplam	389 (100)	3 (0.8)	323 (83.0)	2 (0.5)

**** Hemşire kümesi içerisinde erkek ve bayan hemşireler ile ebe ve sağlık memurları da vardır. ** Laboratuvar teknisyeni kümesi içerisinde laborantlar ile kimyager ve biyologlar da vardır. *** Sağlık teknisyeni kümesi içerisinde acil tıp teknisyenleri ile anestezi teknisyenleri vardır.***

P190 - HASTANEMİZ MİKROBİYOLOJİ VE ACİL LABORATUVARLARINDA ÇALIŞILAN TAM KAN SAYIM (HEMOGRAM) ÖRNEKLERİNDEN YAPILAN PANİK DEĞER BİLDİRİMLERİ VE NEDENLERİ

Metin Sancaktar[1], Meryem Selim[1], Ayhan Genç[1], Hakan Usta[2], Fatma Eren[2], Turan Küçük[3], Alpay Kutanoğlu[3], Refik Bayram[3], Bülent Uzun[3], Ayşegül Ayaz[3]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*
[3]*Fatih Devlet Hastanesi Acil Laboratuvarı, Trabzon*

Amaç
Mikrobiyoloji ve acil laboratuvarlarında her gün tam kan sayım aygıtlarıyla yüzlerce test çalışılmaktadır. Bu testleri isteyen servis ve kliniklerin, yaşamsal olarak önemli sonuçları hızlı ve özenli bir biçimde alması için panik değer bildirimi yapılmaktadır. Her laboratuvarın birbirine benzer biçimde, gereksinimine göre kendi belirlediği yaşamsal önemi olan test sonuçlarını özellikle tahlili yapılan hastanın doktoruna ya da servis hemşiresine telefonla bildirerek dikkat çekmesi; tahlilin atlanmasını engellemekte, hastaya ve hekime, sağaltıma geçişte hız kazandırmaktadır. Bu çalışmada Ocak 2011 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji ve Acil Laboratuvarları'na gelen tam kan sayım örneklerinden panik değer bildirimi yapılanların geriye dönük olarak taranıp bildirim oranının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nde geçen ve bütün hastane laboratuvarlarının uygulamaları gereken, denetimlerde sorumlu tutulduğumuz panik değerlerin kayıtları ve oranları geriye dönük olarak taranmıştır. Çizelgede hastanemiz mikrobiyoloji ve acil laboratuvarlarında kullanılan tam kan sayım panik değerler dizelgesi verilmiştir.
Bulgular
Bu dönem içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarımızda 32.042 (%61.3) ve acil laboratuarımızda 20.248 (%38.7); toplam 52.290 tam kan sayım deneyi çalışılmıştır. Mikrobiyoloji laboratuvarımızda çalışılanların 55'i (%0.17) için, acil laboratuvarımızda çalışılanların 63'ü (%0.31) için panik değer bildirimi yapılmıştır.
Sonuç
Genelde iş yoğunluğundan ve önemini tam kavrayamamaktan dolayı panik değer bildirimi gerektiği kadar yapılmamakta ya da telefonla yapılan bildirimin kaydı düzenli tutulmamaktadır. Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nin gereği olarak yapılmaya başlanan panik değer bildiriminin önemi ilgili çalışanlara anlatılmalı ve panik değer bildiriminin daha yüksek oranlarda yapılması sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Panik değer, tam kan sayım panik değer, hemogram panik değer, hemogram, tam kan sayım

Çizelge 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji ve Acil Laboratuvarları tam kan sayım panik değerler dizelgesi.

Tam Kan Sayım Deneyinin Adı	Düşük Panik Değeri	Yüksek Panik Değeri
Hematokrit (Htc)	< % 18 (yetişkin) < % 25 (3-12 ay arası) < % 25 (1 aylık çocuk) < % 30 (0-1 hafta yeni doğan)	> % 60 (yetişkin) > % 65 (3-12 ay arası) > % 65 (1 aylık çocuk) > % 65 (0-1 hafta yeni doğan)
Hemoglobin (Hb)	< 6 g/dL(yetişkin) < 9 g/dL (3-12 ay arası) < 8 g/dL (1 aylık çocuk) < 10 g/dL (0-1 hafta yeni doğan)	> 20 g/dL (yetişkin) > 21 g/dL (3-12 ay arası) > 21 g/dL (1 aylık çocuk) > 21 g/dL (0-1 hafta yeni doğan)
Akyuvar (Wbc)	< 2.000 mm3	> 30.000 mm3
Kan Pulcuğu (Trombosit)	< 30.000 mm3	> 600.000 mm3

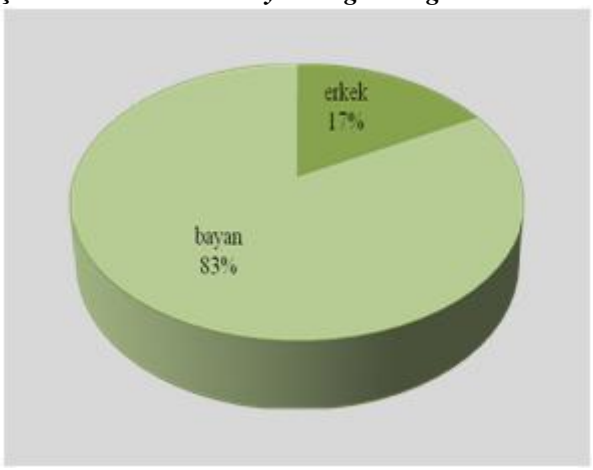
P191 - ROMATOİD ARTRİT TANILI HASTALARDA ANA, ENA VE ANTİ-CCP ANTİKORLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Hüseyin Güdücüoğlu, Ulaş Çalışır, Mustafa Berktaş
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Bu çalışmada; Romatoid artrit (RA) tanısı almış olguların serumlarında Anti nükleer antikor (ANA), anti- cyclic citrullinated peptid (anti-CCP) ve anti-extractible nuclear antigens (ENA) arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Romatoloji veya Fizik Tedavi polikliniklerine başvuran ve RA tanısı alan 83 kadın ve 17 erkek, toplam 100 hastaya ait serum örneklerinde ANA, ENA ve anti-CCP testleri çalışıldı. Hastaların 59(%59)'unda anti-CCP, 57(%57)' sinde ANA ve 39(%39)'unda ENA pozitif olarak belirlendi. ANA(Euroimmun, Germany) indirek immün floresans, ENA(Euroimmun, Germany) western blot ve anti-CCP (Aesku Diagnostics® Germany) Elisa yöntemleri ile çalışıldı.
Bulgular
Anti-CCP testi referans test olarak kabul edildiğinde ANA için duyarlılık %62.7, özgüllük %51.2, pozitif prediktif değer %64.9, negatif prediktif değer %48.8, ve p değeri %16.6 olarak bulundu. Yine anti-CCP testi referans test olarak kabul edildiğinde ENA için duyarlılık %42.4, özgüllük %65.9, pozitif prediktif değer %64.1, negatif prediktif değer %44.3 ve p değeri %28 olarak bulundu. ANA referans test olarak kabul edildiğinde ENA için duyarlılık %49.1, özgüllük %76.7, pozitif prediktif değer %73.7, negatif prediktif değer %53.2, ve p değeri %0.8 olarak bulundu.
Sonuç
Elde ettiğimiz tüm veriler anti-CCP'nin RA'nın erken tanısında çok önemli bir belirteç olduğunu göstermektedir. Ayrıca RA'lı hastalardaki ANA varlığının küçümsenmeyecek oranda olduğunu ve bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerektiği kanısındayız. Sonuç olarak ANA, ENA ve anti-CCP testlerinin üçünün birden çalışılmasının RA'nın oluşturacağı hasarın daha erken anlaşılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Romatoid artrit, ANA, ENA, anti-CCP

Şekil 1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı



Tablo 1. ANA pozitif hastaların (farklı dilüsyonlarda) subtiplere göre dağılımı

Ana subtip	1/100	1/320	1/1000	1/3200	TOPLAM
Homojenus	23	3	3	0	29
Nüklear membran	0	0	0	0	0
Nükleoplasma Dot	9	0	0	0	0
Nükleoli	9	5	1	0	15
Nükleoplazma granüler	8	0	1	2	11

Sitoplazma granüler	1	0	0	0	1
Mitotik hücreler	1	0	0	0	1
Sitoplazma filamentöz	0	0	0	0	0
Toplam	42	8	5	2	57

Tablo 2. ENA pozitif hastaların subtiplere göre dağılımı.

ENA subtip	+	++	+++	TOPLAM
AMA-M2	0	0	0	0
Ribozomal P protein	2	1	0	3
Histon	18	0	0	18
Nükleozom	2	0	0	2
dsDNA	5	2	0	7
PCNA	1	0	0	1
Centromere B	0	0	0	0
Jo-1	0	0	0	0
Pm-Scl	0	0	0	0
Scl-70	0	0	2	2
SS-B	2	0	1	3
Ro-52	2	0	3	5
SS-A	2	1	2	5
Sm	2	0	0	2
Rnp-Sm	0	0	2	2
Toplam	36	4	10	50

Tablo 3. ANA ve ENA sonuçlarının karşılaştırılması (ANA referans test olarak kabul edildiğinde)

	ENA(+)	ENA(-)	Toplam
ANA (+)	29	28	57
ANA (-)	10	33	43
	39	51	100

Duyarlılık: (%) 49.1 Özgüllük: (%) 76.7 Pozitif tahmin değeri: (%) 73.7 Negatif tahmin değeri: (%) 53.2 Yanlış pozitiflik oranı: (%) 23.3 Yanlış negatiflik oranı: (%) 50.9 Gerçek doğruluk oranı: (%) 61 p değeri: (%) 0.8

Tablo 4. ANA ve anti-CCP sonuçlarının karşılaştırılması (CCP testi referans test olarak kabul edildiğinde)

	CCP (+)	CCP (-)	Toplam
ANA (+)	37	20	57
ANA (-)	22	21	43
Toplam	59	41	100

Duyarlılık: (%) 62.7 Özgüllük: (%) 51.2 Pozitif tahmin değeri: (%) 64.9 Negatif tahmin değeri: (%) 48.8 Yanlış pozitiflik oranı: (%) 48.8 Yanlış negatiflik oranı: (%) 37.3 Gerçek doğruluk oranı: (%) 58 p değeri: (%) 16.6

Tablo 5. Titreli ANA sonuçlarının anti-CCP sonuçları ile karşılaştırılması

			ANA			

Anti-CCP	Negatif	1/100	1/320	1/1000	1/3200	Toplam
Pozitif	23	30	3	3	0	59
Negatif	20	12	5	2	2	41
Toplam	43	42	8	5	2	100

Tablo 6. ENA ve anti-CCP sonuçlarının karşılaştırılması (CCP testi referans test olarak kabul edildiğinde)

	CCP (+)	CCP (-)	Toplam
ENA (+)	25	14	39
ENA (-)	34	27	61
Toplam	59	41	100

Duyarlılık: (%) 42.4 Özgüllük: (%) 65.9 Pozitif tahmin değeri: (%) 64.1 Negatif tahmin değeri: (%) 44.3 Yanlış pozitiflik oranı: (%) 34.1 Yanlış negatiflik oranı: (%) 57.6 Gerçek doğruluk oranı: (%) 52 p değeri: (%) 28

P192 - EVLİLİK ÖNCESİ TESTLERİN YAPILMASI İÇİN KONYA MERKEZ LABORATUVARINA BAŞVURAN SAĞLIKLI POPULASYONDA HBS AG, ANTİ-HBS, ANTİ-HCV, ANTİ-HIV VE VDRL SONUÇLARININ RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Konya*

Amaç
Evlilik öncesi çalışılan HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, anti-HBs ve Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.
Yöntem
Bu çalışmada; 2005-2010 yılları arasında Konya'daki 1. Basamak sağlık kuruluşlarına evlilik öncesi testler için başvuran ve Konya Merkez Laboratuvarında HBsAg anti-HCV, anti-HIV, anti-HBs ve VDRL parametreleri çalışılan hastaların sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Bu parametrelerin araştırılmasında mikropartikül enzimimmünassay (MEIA) yöntemi (Axsym - Architect C8000- Abbott-ABD) kullanılmıştır. Anti-HCV ve anti-HIV 1/2 pozitif çıkan testler ikinci kez aynı sistemle tekrarlanmıştır.
Bulgular
HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, anti-HBs ve VDRL parametreleri için pozitiflik oranları sırasıyla %0.016, %0.005, %0.002, %0.147 ve %0.0034 olarak tespit edilmiştir.
Sonuç
Evlilik öncesi bu infeksiyöz ajanlar, bulaş ve korunma yolları hakkında bilgi verilmesi ve mümkünse evlilik öncesi Hepatit B aşısının yapılması toplum sağlığının korunmasında etkili uygulamalar olacaktır.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, anti-HBs, VDRL

Değerlendirilen parametrelerdeki pozitiflik dağılımı

Test	Toplam populasyon	Pozitif	Pozitif(%)
HBsAg	68930	1160	1.68
Anti-HCV	65078	348	0.53
Anti -HIV	69173	140	0.20
Anti-HBs	68870	10139	14.72
VDRL	68460	236	0.34

Yıllara göre HBsAg pozitiflik oranları

HBsAg-Yıllar	Pozitif	Pozitif(%)	Toplam da çalışılan test sayısı
2006	118	1.49	7905
2007	325	1.88	17272
2008	289	1.71	16876
2009	270	1.67	16137
2010	158	1.47	10740

Yıllara göre Anti-HBs pozitiflik oranları

Antİ-HBs-Yıllar	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam da çalışılan test sayısı
2006	1008	12.78	7885
2007	2180	12.63	17258
2008	2341	13.88	16868
2009	2707	16.75	16165
2010	1903	17.79	10694

Yıllara göre Anti-HCV pozitiflik oranları

Anti-HCV -Yıllar	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam da çalışılan test sayısı
2006	22	0.75	2900
2007	89	0.51	17263
2008	93	0.55	16871
2009	79	0.48	16139
2010	65	0.59	11005

Yıllara göre Anti-HIV pozitiflik oranları

Anti-HIV -Yıllar	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam da çalışılan test sayısı
2006	3	0.03	7913
2007	38	0.22	17274
2008	60	0.35	16865
2009	37	0.22	16129
2010	2	0.018	10992

Yıllara göre VDRL pozitiflik oranları

VDRL-Yıllar	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam da çalışılan test sayısı
2006	12	0.16	7061
2007	61	0.35	17166
2008	81	0.48	16868
2009	54	0.33	16203
2010	28	0.25	11162

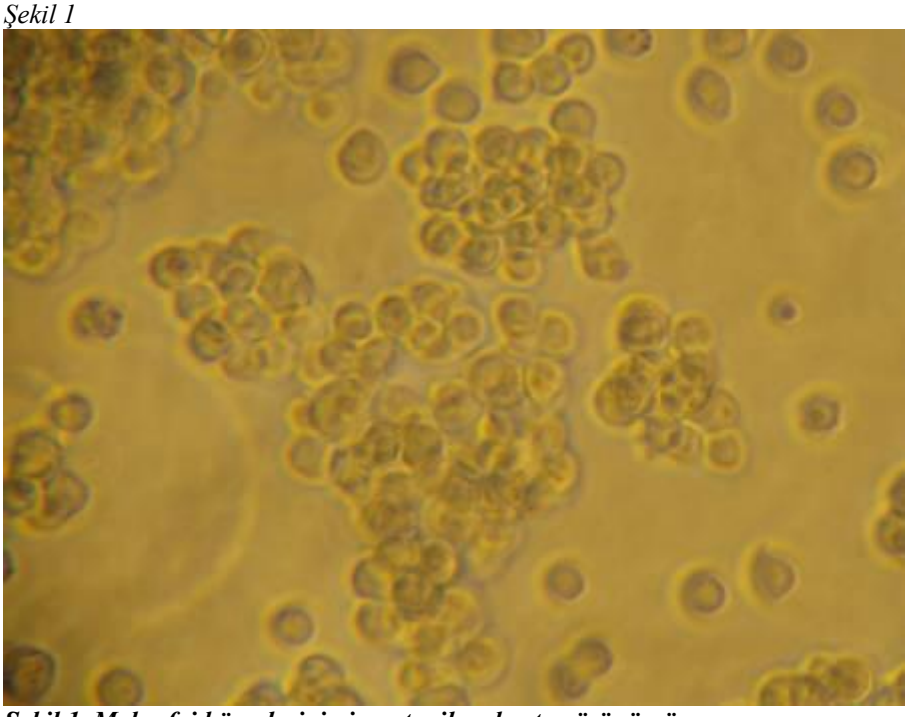
P193 - PROPOLİSİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE UYARILMIŞ MAKROFAJLARIN SİTOKİN SALINIMINA ETKİLERİ

Esma Gündüz Kaya, Hatice Özbilge
Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Propolis, çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı son yıllarda yoğun araştırma konusu olan bir arı ürünüdür. Lipopolisakkarit (LPS), Gram negatif bakterilerin dış membran komponenti olup, inflamatuar sitokinlerin aşırı üretimi ile seyreden septik şok patogenezinde önemli rol oynar. Bu çalışmada Kayseri ve çevresinden toplanan propolisin etanolik ekstraktının, lipopolisakkarit ile uyarılmış makrofajlarda pro-inflamatuar sitokinlerin üretimi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Fetal bovin serum (%10) ve penisilin-streptomisin (%2) ilaveli RPMI-1640 besiyerinde üretilen U-937 insan makrofaj hücreleri, kontrol, LPS uygulanan ve propolis + LPS uygulanan hücreler olmak üzere üç gruba ayrıldı. Hücrelerin 37^{o}C ve %5 CO_2'li atmosferde inkübasyonu sonunda, hücre süpernatanlarında interlökin (IL)-1β, IL-6 ve tümör nekrozis faktör (TNF)-α düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.
Bulgular
LPS uygulanan hücre grubunda, IL-1β, IL-6 ve TNF-α düzeylerinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, LPS ve propolis uygulanan hücre grubunda -yalnız LPS uygulanan hücre grubuna göre- her üç sitokin düzeyinde de anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).
Sonuç
Propolis, pro-inflamatuar sitokinlerin baskılanması gerektiği durumlarda kullanılabilecek bir ajan olarak incelenmesi gereken doğal bir üründür.

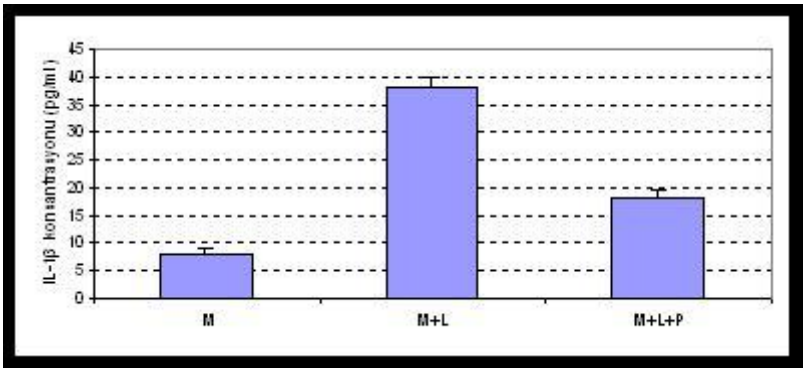
Anahtar Kelimeler: Lipopolisakkarit, makrofaj, pro-inflamatuar sitokin, propolis

Şekil 1



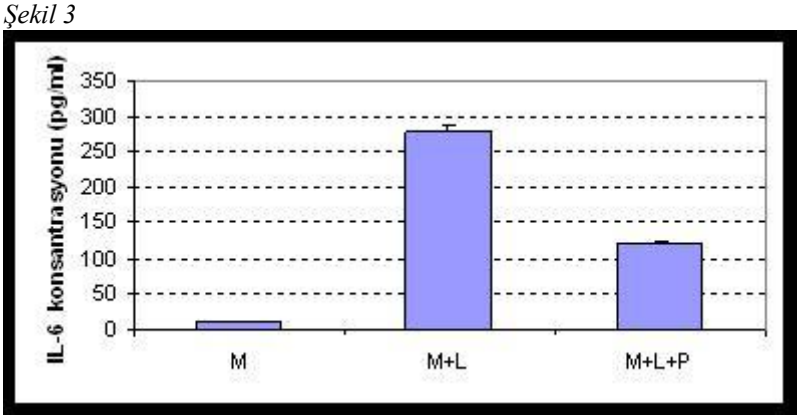
Şekil 1. Makrofaj hücrelerinin invert mikroskopta görünümü

Şekil 2



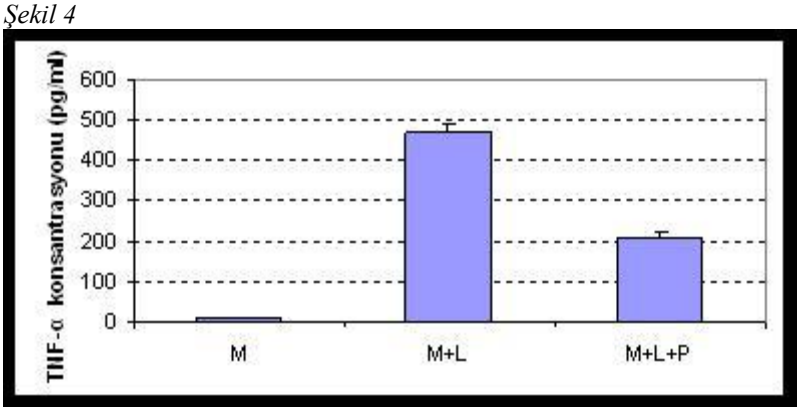
Şekil 2. LPS ve propolisin U937 hücrelerinde IL-1beta üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+L, makrofaj hücreleri ve LPS içeren kuyucuk; M+L+P, makrofaj hücreleri + LPS + propolis içeren kuyucuk)

Şekil 3



Şekil 3. LPS ve propolisin U937 hücrelerinde IL-6 üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+L, makrofaj hücreleri ve LPS içeren kuyucuk; M+L+P, makrofaj hücreleri + LPS + propolis içeren kuyucuk)

Şekil 4



Şekil 4. LPS ve propolisin U937 hücrelerinde TNFalfa üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+L, makrofaj hücreleri ve LPS içeren kuyucuk; M+L+P, makrofaj hücreleri + LPS + propolis içeren kuyucuk)

P194 - İNDİREKT İMMÜNOFLORESAN YÖNTEMİYLE SAPTANAN ANA PATERNLERİNİN İMMÜNOBLOT YÖNTEMİYLE KARŞILAŞTIRILMASI VE YENİ BİR NÜKLEER OTOANTİJEN DFS70'İN KLİNİK ÖNEMİ

Yeşim Çekin[1], Nilgün Gür[1], Hasan Fatih Çay[2], İlhan Sezer[2], Ayhan Hilmi Çekin[3]
[1]*Anatalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya*
[2]*Anatalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Romatoloji Kliniği, Antalya*
[3]*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, Antalya*

Amaç
Dense Fine Speckles 70 kDa (DFS70), oldukça sık rastlanan hücre çekirdeğinde ince yoğun benekler ve güçlü mitotik kromozom boyanması ile karakterize yeni bir ANA paternidir. Bu patern IIF yöntemiyle tanımlanabilmektedir. Vücutta pek çok biyolojik fonksiyonu bilinmektedir ancak hastalıklarla ilgisi tam olarak ortaya konmamıştır. Sağlıklı yetişkinlerde yüksek oranda bulunması, otoimmün hastalıklarla bağlantısının kesin olmaması ve klinisyenlerin bu paterni yeterince bilmemesi nedeniyle klinik laboratuvarlarda DFS70 paterninin rapor edilip edilmeyeceği halen tartışılan bir konudur. Araştırmamızda altı aylık süreçte romatolojik şikayetlerle polikliniğe başvuran hastaların IIF yöntemiyle ANA çalışılması ve İB testi ile yapılan doğrulama ve spesifik antijen sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirerek bu tartışmaya katılmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem
IIF testinde (hep2, euroimmun, GERMANY) 1/100 oranında dilüe edilerek çalışılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda boyanan preparartlar floresan mikroskopta (xxxx) X40 objektifle değerlendirilmiştir. Floresan keskinliği negatif kontrol (-) ve pozitif kontrol (+4) olmak üzere +1'den +5'e kadar semikantitatif olarak değerlendirilmiştir (3). Nükleer paternler granüler, homojen, sitoplazmik membran, nükleer noktalanma ve DFS70 olarak rapor edilmiş ayrıca nükleolar ve setromer paternler de bildirilmiştir.
IB testi ANA profil 3 (EUROLİNE, EUROIMMUN, GERMANY) kiti kullanılarak 1/100 dilüsyonda üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Testte kullanIlan her bir strip nRNP/Sm (U1-nRNP), Sm, SS-A, Recombinant Ro-52 (Ro-52, 52kDa), SS-B, DNA-Topoisomerase I (Scl-70), PM-Scl, Histidyl tRNA synthetase (Jo-1), Centromer protein B (CENP B), double stranded DNA (dsDNA), Nucleosome, Histones, Pyruvate dehydrogenase complex,AMA-2 antijenlerini içermektedir. Test üzerindeki antijenler, insanda IgG sınıfında bulunan otoantikorların kalitatif değerlendirilmesini yapabilecek niteliktedir.

Bulgular
Ocak 2010- Temmuz 2010 tarihleri arasında romatoloji polikliniğine başvuran ve IIF yöntemiyle ANA çalışılan1050 örnek çalışmaya dahil edilmiş, 365 (%35) ANA pozitifliği saptanmıştır. Toplam 93 örnekte tek başına ya da diğer paternlerle birlikte DFS70 paterni saptanmıştır (ANA pozitif hastaların % 25.3'ünde, tüm hastaların ise %8.8'inde). Tek başına DFS70 paterni 78 (ANA pozitif hastaların %21.3'si, tüm hastaların %7.4'u) hastada saptanmıştır.
IIF yöntemiyle ANA pozitif hastaların 231'ine, ANA negatif olan 685 hastanın 268'ine IB çalışılmıştır. Tüm ANA paternleri dikkate alındığında IB testi ile Ro-52, SS-A, SS-B ve dsDNA antijenleri sırasıyla 36 (%), 29 (%), 21 (%), 17(%) olmak üzere en sık tespit edilen antijenlerdir. Bizim çalışmamızda da ANA negatif olan268 hastanın IB sonuçlarına baktığımız zaman Ro-52, SS-A, SS-B ve dsDNA antijenleri sırasıyla 14(%5.2), 1 (%2.2), 2 (%), 6(%) oranda rastlanmıştır. Aynı şekilde DFS70 paterni için bu oranlar sırasıyla 7(%), 4(%), 2(%), 1(%)'dir.
Çalışmaya dahil edilen ANA pozitif hastalar arasında sistemik otoimmun hastalık tanısı olan 137 hastanın DFS70 paterni sıklığına bakıldı. Tanı kriterlerine uygun sistemik lupus eritamatosus (SLE), sjögren sendromu (SS) ve romatoit artrit (RA) tanısı alan hastalar incelendi.
SLE tanısı alan 20 hastasının sadece birinde(%5), SS tanısı alan 35 hastanın ise 2'sinde DFS70 paternine rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde SLE ve Sjögren sendromuyla bağlantısı kurulamadı. Ancak RA tanısı almış 64 hastaların 18 (%29)'unda DFS70 paternine raslandı.

Sonuç
Bizim verilerimize göre DFS70 paterninin hastalıklara özgül antijenlerle bağlantısı diğer paternlerden anlamlı oranda düşük olarak saptanmıştır. Ancak RA tanısı alan hastalarda yüksek oranda DFS70 paterni saptanmıştır. Bu nedenle DFS70'i sağlıklı yetişkinlerde saptanan doğal otoantikorlar olarak kabul etmek yerine hastalıklarla bağlantısının ve biyolojik fonksiyonlarının daha fazla çalışılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: DFS70, ANA, İndirekt İmmünofloresan Yöntemi

P195 - TOXOPLASMA GONDİİ, SİTOMEGALOVİRUS VE RUBELLA İNFEKSİYONLARININ TANISINDA AVİDİTE TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nükhet Kurultay, Mustafa Özdemir
Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi TIbbi Mikrobiyoloji, İzmir

Amaç
Bu çalışmada ocak 2010 - ocak 2011 tarihleri arasında T. gondi, CMV ve Rubella Avidite (IgG AI)testlerinin çalışılması amacıyla mikrobiyoloji-seroloji/ELİSA laboratuvarına serum örnekleri gönderilen 134 olgunun serolojik profillerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi ve IgG avidite indeks (AI) testlerinin, her üç etkenin (T. gondii, CMV, Rubella) akut infeksiyonlarını, olası etyolojisini ve zamanını belirlemede, dolayısıyla tanıdaki yerinin saptanması amaçlanmıştır
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda; hastanemizin mikrobiyoloji-seroloji/ELİSA laboratuarına ocak 2010 - ocak 2011 tarihleri arasında başvuran 134 olgunun T. gondi, CMV ve Rubellaya yönelik serolojik testleri (IgM ve IgG) ve IgG AI test sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Üç etkene yönelik serolojik test istemi yapılan 134 olgunun 118'i kadın, 16'sı erkekti. Olguların gönderildikleri kliniklerin dağılımları incelendiğinde kadın olguların çoğu kadın doğum kliniğinden (102 gebe), erkeklerin 14'ü çocuk hastanesi yenidoğan ünitesinden gelmekteydi. Her üç etkenin antikorları Enzymimmünoassay (ELİSA) ile saptanmış, IgG AI testi ise mikroelisa yöntemiyle RADİM S.P.A. Pomezia (Roma) İtalia ticari kiti kullanılarak çalışılmıştır.
Bulgular
Ocak 2010- ocak 2011 tarihleri arasında IgG AI test istemiyle gelmiş 134 olgunun 118'i (%88) kadın, 16'sı (%12) erkek idi. Herbir infeksiyon etkeni ile ilgili ikili test(IgG,IgM) veya üçlü test(IgG,IgM,Avitite)istenen toplam 187 IgG AI testi çalışılmıştır. Bu testlerin 75'i T. gondii, 54'ü CMV, 58'i Rubella için çalışılmıştır.
IgG avidite indekslerini dağılımına göre 134 olgunun 75'inde T. gondii, 54'ünde CMV, 58'inde Rubella IgG AI testi çalışılmıştır. T. gondii'de 15 olguda (%20), CMV'de 12 olguda (%22), Rubella'da ise 9 olguda (%15,5) düşük AI saptanırken, T. gondii, CMV ve Rubella için sırasıyla 39 (%52), 30 (%55,5) ve 42 (%72,4) olguda yüksek AI saptanmıştır. (tablo 1). Çalışmamızda her bir infeksiyon etkeni ile direk üçlü test isteği yapılan toplam 157 test sayısının 65'i T. gondii, 46'sı CMV ve 46'sı Rubella için çalışılmıştır(Tablo2) I gM ve IgG'leri pozitif olan olgulardan 23 T. gondii testinin 6'sında düşük AI, 15'inde yüksek AI, 13 CMV testinin; 1'inde düşük AI, 8'inde yüksek AI, 9 Rubella testinde düşük AI saptanmazken, 8'inde yüksek AI tespit edilmiştir. IgM'leri negatif, IgG'leri pozitif olanlarda T. gondii için çalışılan 20 testin 1'inde düşük AI, 17'sinde yüksek AI tespit edildi. CMV için çalışılan 31 testin 10'unda düşük AI, 17'sinde yüksek AI edildi. Rubella için çalışılan toplam 34 testin 6'sında düşük AI, 23'ünde yüksek AI saptandı.
Sonuç olarak 157 testin 25'inde düşük AI, 88'inde yüksek AI saptandı. Düşük AI saptanan 8 olgunun IgM ve IgG'leri pozitif, 17 olgunun IgM'leri negatif, IgG'leri pozitif olarak saptandı. Yüksek AI saptanan 88 olgunun 57'sinde IgM ve IgG'leri pozitif, 31'inde IgM'leri negatif, IgG'leri pozitif olarak saptandı.
Sonuç
Hastaların çoğunun Kadındoğum kliniğinden gebe kadınlardan ve yeni doğandan geldiği düşünülürse özellikle gebelik ve immünyetmezlik gibi durumlarda T. gondii, CMV ve rubella infeksiyonlarının kesin tanısı için sensitivite ve spesifitesi yüksek olan serolojik testlerin ve IgG avidite testlerinin mutlaka yapılması gerektiği kanısına varılmıştır. özellikle gebelerde akut infeksiyonlar ile önceden geçirilmiş infeksiyonların ayrımında IgG avidite testlerinin IgG ve IgM antikorlarına yönelik testlerle birlikte yapılmasının gerekliliği vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: antikor, avidite, sitomegalovirus, toksoplazma, rubella

Tablo 1: Etkenlerin Avidite İndekslerinin Dağılımları

	NEGATİF AI	DÜŞÜK AI)	ARA DEĞER A	YÜKSEK AI(> %30)
T. gondi 75	17 %22,6	AI(< %20) 15 %20	(%20-%30 4 %5,4	(> %30) 39 %52
CMV 54	1 %1,8	(< %35) 12 %22,2	(%35-%45) 11 %20,3	(> %45) 30 %55,5
Rubella 58	0 - -	(< %50) 9 %15,54	(%50-%60) 7 %12,06	(> %60) 42 %72,4
Toplam 187	18	36	22	111

Tablo 2: Etkenlerin Serolojik Göstergelerine Göre Avidite İndekslerinin Dağılımları

Etken n:	negatif avitide	düşük avidite	ara değer avitide	yüksek avitide
T.gondii n:65	n:11 %17	n:11 %17	n:4 %6	n:39 %60
IgM+IgG+ n:23	0	6	2	15
IgM- IgG- n:21	10	4	0	7
IgM- IgG+ n:20	0	1	2	17
IgM+ IgG- n:1	1	0	0	0
CMV n:46	n:0	n:12 %26	9 %19.5	25 %54.5
IgM+ IgG+ n:13	0	1	4	8
IgM- IgG- n:0	0	0	0	0
IgM- IgG+ n:31	0	10	4	17
IgM + IgG- n:2	o	1	1	0
Rubella n:46	n:0	n:7 %15	n:6 %13	n:33 %72
IgM+ IgG+ n:9	0	0	1	8
IgM- IgG- n:3	0	1	0	2
IgM- IgG+ n:34	0	6	5	23
IgM+ IgG- n:0	0	0	0	0

P196 - KONYA İLİNDE 1. BASAMAK SAĞLIK KURULUŞLARINA ÇEŞİTLİ SEBEPLERLE BAŞVURAN HASTALARDA ANTİ-CMV IGG VE IGM, ANTİ- TOXOPLASMA GONDİİ IGG VE IGM ANTİKOR SONUÇLARININ RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2], Fatih Kara[3], Berna Erayman[2]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*
[3]*Selçuk Üniversitesi Halk Sağlığı ABD, Konya*

Amaç
Toxoplasma gondii; en sık et ve et ürünlerinden, özellikle ılıman iklimlerde T. gondii ile kontamine sulardan bulaşmaktadır ve dünya çapında yaygın olarak görülmektedir. Sitomegalovirüs (CMV) ise özellikle immunsupresif hastalarda önemli bir infeksiyon etkenidir. Bu iki infeksiyon ajanı gebelikte geçirilen diğer konjenital anomalilere neden olan infeksiyonlar gibi gelişmekte olan ülkelerde, perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindendir. Bu iki infeksiyon hastalığında da doğru ve hızlı bir şekilde tanı konabilmesi çok önemlidir. Bu çalışmanın amacı; 2006-2007yılları arasında 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin Sitomegalovirüs ve Toxoplazma gondii'ye karşı seropozitifliğinin retrospektif değerlendirilmesi idi.
Yöntem
Bu çalışmada Konya'da 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinden araştırılan CMV IgG ve IgM, Toksoplazma IgG ve IgM antikor test sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. CMV IgG, IgM, Toksoplazma IgG ve IgM testleri mikropartikül enzimimmünassay (MEIA) yöntemi ile (Axsym- Abbott Laboratories, ABD) çalışılmıştır.
Bulgular
Anti- CMV IgM antikorları 306 hastada, Anti- CMV IgG antikorları ise 376 hastada araştırılmış. CMV IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik yüzdeleri sırasıyla
%0.35 ve %97.3 olarak saptanmıştır. Bu hastalardan 15-45 yaş grubunda ki kadın hastalardaki CMV IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik yüzdeleri ise sırasıyla; % 0.37 ve % 98 olarak saptanmıştır.
Anti- Toxoplasma gondii IgM antikorları 571 hastada, Anti- Toxoplasma gondii IgG antikorları ise 574 hastada araştırılmış. Anti-Toxoplasma gondii IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik yüzdeleri sırasıyla % 0.26 ve % 33.6 olarak saptanmıştır. Bu hastalardan 15-45 yaş grubunda ki kadın hastalardaki Anti-Toxoplasma gondii IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik yüzdeleri ise sırasıyla; % 0.18 ve % 31.6 olarak saptanmıştır.
Sonuç
Bölgemizde hem genel populasyonda hemde doğurgan dönemde ki kadın hastalarda CMV için seropozitivite oldukça yüksek bulunmuştur. Toxoplasma gondii infeksiyonu; bölgenin coğrafik özellikleri ve yaşam tarzı(beslenme, evcil hayvan besleme… vb) ile ilişkilidir. Bölgemizde seronegatiflik oranları Toxoplasma gondii infeksiyonu için yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla bölgemizde Toxoplasma gondii açısından tarama yapılması ayrıca topluma özellikle de doğurganlık çağındaki kadınlara eğitim verilmesi oldukça önemlidir. Bu konulara 1.basamak sağlık hizmetlerinde daha çok yer verilmesi bu infeksiyonlardan korunmada etkili olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Anti-Toxoplasma gondii IgM, Anti-Toxoplasma gondii IgG, Anti- CMV IgM, Anti- CMV IgG

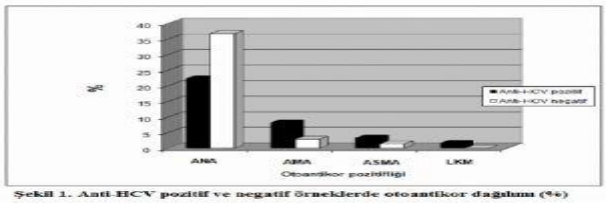
P197 - KRONİK HEPATİT C HASTALARINDA OTOANTİKOR SIKLIĞI

Işıl Fidan[1], Turgut İmir[1], Seyyal Rota[1], Resul Karakuş[2], Hülya Duran[1], Melek Ertaş[1], Zübeyde Lale[1]
[1]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ABD, Ankara*

Amaç
Hepatit C virüsü (HCV), Flaviviridia ailesinde yer alan zarflı, tek iplikli bir RNA virüsüdür. HCV, parental yolla geçen non-A, non-B hepatitlerin esas etkenidir ve tüm dünyada akut ve kronik hepatitlerin en önemli nedenlerindendir. HCV enfeksiyonu otoimmün yanıta ve otoantikor oluşumuna neden olabilir. Çalışmamızda, kronik hepatit C hastalarında otoantikor sıklığı ve bunun HCV RNA düzeyi ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
121 Anti-HCV pozitif, 68 Anti-HCV negatif serum örneği çalışma kapsamına alınmıştır. Anti-HCV pozitif örneklerde HCV RNA düzeyleri, kantitatif Real time PCR yöntemi ile tespit edilmiştir. Viral RNA kantitasyonu, Qiagen Artus RG PCR kiti kullanılarak yapılmıştır (Qiagen, Almanya). Anti-nükleer antikor (ANA), Anti-düz kas antikor (ASMA), anti-mitokondriyal antikor (AMA), anti-karaciğer böbrek mikrozomal antikor (LKM) indirek immünofloresan ve immünoblot yöntemleriyle incelenmiştir (Euroimmun, Almanya).
Bulgular
Çalışmaya alınan 121 Anti-HCV pozitif örnekten 51'inde Real time PCR yöntemi ile HCV RNA pozitif olarak bulunmuştur. Anti-HCV pozitif örneklerde %22.3 ANA, %8.2 AMA, %3.3 ASMA, %1.6 LKM pozitifliği tespit edilmiştir. Anti-HCV negatif örneklerde %36.7 ANA, %2.9 AMA, %1.4 ASMA pozitifliği saptanırken, LKM pozitifliği tespit edilmemiştir. ANA pozitifliği açısından anti-HCV negatif ve pozitif örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. HCV RNA pozitif örneklerde AMA pozitiflik oranları istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p<0.05$).
Sonuç
Sonuç olarak, HCV infeksiyonunun otoantikor oluşumuna neden olabileceği ve bazı kronik hepatit C hastalarının otoimmün hepatit geliştirebileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, HCV ile infekte hastalarda otoantikor yanıtının incelenmesi, HCV ile birlikte bulunan otoimmün hastalıkların veya HCV infeksiyonuna bağlı gelişen otoantikor yanıtının ayrımını sağlaması açısından da önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kronik hepatit C, otoantikor, HCV RNA

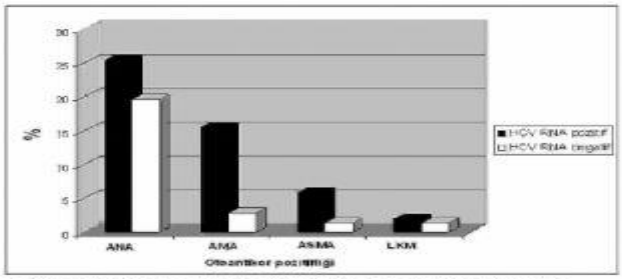
Şekil



Şekil 1. Anti-HCV pozitif ve negatif örneklerde otoantikor dağılımı (%)

UNREGISTERED VERSION
REGISTERED VERSION ADDS NO WATERMARK
www.print-driver.com

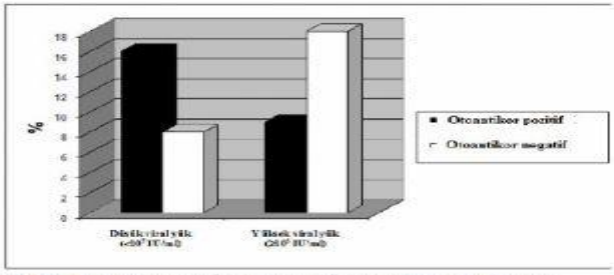
Şekil2-3



Şekil 2. HCV RNA pozitif ve negatif örneklerde otoantikor dağılımı (%)

UNREGISTERED VERSION
REGISTERED VERSION ADDS NO WATERMARK
www.print-driver.com

Şekil3



Şekil 3. HCV RNA viral yük miktarına göre otoantikor dağılımı (%)

P198 - KONYA İLİNDE 2005-2010 YILLARI ARASINDA 1. BASAMAK SAĞLIK KURULUŞLARINA ÇEŞİTLİ SEBEPLERLE BAŞVURAN HASTALARDA ANTİ-HAV IGM VE IGG TEST SONUÇLARININ RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2], Berna Erayman[2], Fatih Kara[3]
[1]*Meram Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*
[3]*Selçuk Üniversitesi Halk Sağlığı ABD, Konya*

Amaç
Hepatit A virüs (HAV) infeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Bu retrospektif çalışmanın amacı; 2005-2010 yılları arasında 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin anti-HAV immunoglobulin M (IgM) ve IgG seropozitifliği yönünden retrospektif değerlendirilmesi idi.
Yöntem
Bu çalışmada Konya'da 2005-2010 yılları arasında 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin anti-HAV IgM ve IgG test sonuçları retrospektif olarak incelenmiş ve yıllara ve ilçelere göre dağılımı değerlendirilmiştir. Anti-HAV IgM ve IgG testleri mikropartikül enzimimmünassay (MEIA) yöntemi ile (Axsym-Architect, Abbott Laboratories, ABD) incelenmiştir.
Bulgular
2005-2010 yılları arasında Konya'da toplam 14457 hastanın 368 'inde(% 0.0254) anti-HAV IgM pozitifliği, 12887 hastanın 10042'sinde (% 77.9) ise anti-HAV IgG pozitifliği saptanmıştır.
Sonuç
İnsana çoğunlukla ağız-dışkı yoluyla bulaşan Hepatit A virüs (HAV) infeksiyonu küçük yaşlarda klinik bulgu vermezken, artan yaşla beraber klinik bulgular daha ağır ve uzun süreli olmaktadır. Bu çalışma 5 yılık bir dönemi ve Konya ilinin tüm 1. Basamak sağlık kuruluşlarını kapsamaktadır. Yukarıda toplu olarak veri sunulmuştur. Posterimizde Konya ilinin merkez ve perifer ilçeleri ve yaş grupları ve yıllar arasında ki farkları ayrıntılı olarak sunulacak ve Konya'nın hepatit A infeksiyonu yönünden serolojik değerlendirilmesi yapılacaktır.

Anahtar Kelimeler: anti-HAV IgM, anti-HAV IgG, Hepatit A virüs infeksiyonu

Anti-HAV IgM test sonuçlarının yıllara göre dağılımı

	Pozitif	Pozitif(%)	Toplam
2005	59	1.86	3162
2006	140	2.98	4691
2007	28	4.59	610
2008	73	2.68	2722
2009	118	3.60	3273
Toplam	418	2.89	14458

Anti-HAV IgG test sonuçlarının yıllara göre dağılımı

	Pozitif	Pozitif(%)	Toplam
2005	2187	75.36	2902
2006	2114	78.09	2707
2007	485	81.23	597
2008	2317	79.48	2915
2009	2939	78.01	3767
Toplam	10042	77.00	12888

P199 - KONYA İLİNDE 2005-2010 YILLARI ARASINDA 1. BASAMAK SAĞLIK KURULUŞLARINA ÇEŞİTLİ SEBEPLERLE BAŞVURAN HASTALARDA HBSAG VE ANTİ-HBS TEST SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*

Amaç
Bu retrospektif çalışmanın amacı; 2005-2010 yılları arasında 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin HBsAg ve anti-HBs seropozitifliği yönünden retrospektif olarak değerlendirilmesi idi.
Yöntem
HBsAg ve anti-HBs testleri mikropartikül enzimimmünassay (MEIA) yöntemi ile (Axsym-Architect, Abbott Laboratories, ABD) çalışılmıştır.
Bulgular
Konya'da toplam 177282 hastanın 7365'inde(% 4.1) HBsAg pozitifliği, 105474 hastadan 38483'ünde (% 36.4) ise anti-HBs pozitifliği saptanmıştır.
Sonuç
Ülkemizin değişik bölgelerinde, çoğunluğunu kan donörlerinin oluşturduğu retrospektif değerlendirmeler yapılmıştır. Bu sonuçlara göre HBsAg pozitifliği; %1.8-4.23 arasında değişmektedir. Bu çalışmaların dönem dönem tekrarlanarak toplumda HBsAg pozitifliğinin irdelenmesi ile HBV infeksiyonu açısından ülkemizin durumu belirlenmelidir. Halkımızın bu infeksiyon konusunda bilinçlendirilmesi ve koruyucu önlemlerin arttırılması HBV infeksiyonunu görülme sıklığının gün geçtikçe azalmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, anti-HBs, Hepatit B infeksiyonu

HBsAg ve anti-HBs test sonuçlarının dağılımı

	Pozitif	Pozitif(%)	Toplam
HBsAg	7365	4.1	177282
Anti-HBs	38483	36.4	105474

P200 - KONYA İLİNDE 2005-2010 YILLARI ARASINDA 1. BASAMAK SAĞLIK KURULUŞLARINA ÇEŞİTLİ SEBEPLERLE BAŞVURAN HASTALARDA ANTİ-HCV, ANTİ-HIV VE VDRL TEST SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], *Fatma Kalem*[2]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*

Amaç
Bu retrospektif çalışmanın amacı; 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin anti-HCV, anti-HIV ve VDRL seropozitifliği yönünden değerlendirilmesi idi.
Yöntem
Bu çalışmada Konya'da 2005-2010 yılları arasında 1. basamak sağlık kuruluşlarına çeşitli sebeplerle başvuran hastaların kan örneklerinin anti-HCV, anti-HIV ve Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Testler mikropartikül enzimimmünassay (MEIA) yöntemi ile (Axsym-Architect, Abbott Laboratories, ABD) çalışılmıştır. Anti-HCV ve anti-HIV 1/2 pozitif çıkan testler ikinci kez aynı sistemle tekrarlanmıştır.
Bulgular
Konya ilinde 115750 hastanın 1197'inde (% 1.03) anti-HCV pozitifliği saptanmıştır. Anti-HCV pozitifliği saptanan hastaların % 29.2'si 50 yaş üstündeydi. 100004 hastanın 187'inde (% 0.18) anti-HIV 1/2 sonucu reaktif saptanmış olup; serum örnekleri doğrulama amacıyla Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı'na gönderilmiştir. Ancak bu sonuçlara ulaşılamamıştır. Reaktif çıkan örneklerin % 82'si 20-40 yaş grubuna ait örneklerdi. 55660 hastanın 251'inde(% 0.45) ise VDRL pozitifliği saptanmıştır.
Sonuç
Aşısı olmadığından dolayı HCV infeksiyonunda danışmanlık ve eğitim oldukça önemli yer tutmaktadır. Koruyucu önlemlerin alınması beraberinde diğer bulaşıcı hastalıkların insidansı da azalacaktır. Genç ve seksüel olarak aktif yaş grubunun nüfusa oranının yüksek olması, bu hastalıklar için endemik olan bölgelerden göç, aile bağlarının kopması, sosyoekonomik seviye hastalıkların sık görülmesinde önemli faktörlerdir. Toplumsal özelliklere göre pozitiflik oranları değişmektedir.Gebe kadınlar infekte olabilir ve bu etkenler vertikal olarak bebeğe geçebilir. Sonuç olarak potansiyel bir sağlık problemi olan infeksiyonlar gelişebilir. Gerek anne-bebek sağlığını,gerek toplum sağlığını koruyucu stratejiler planlanırken bu hastalıkların toplumda ki insidans ve prevalansını bilmek büyük önem taşımaktadır. Bu çalışma ise farklı sebeplerle 1.basamak sağlık kuruluşlarına başvuran 5 yıllık bir populasyonu kapsadığından dolayı toplumsal sağlık politikalarını oluşturmada yön gösterici olabilir

Anahtar Kelimeler: anti-HCV, anti-HIV, VDRL

Anti-HCV, anti-HIV ve VDRL test sonuçlarının dağılımı

	Pozitif	Pozitif(%)	Toplam
Anti HCV	1197	1.03	115750
Anti HIV	187	0.18	100004
VDRL	251	0.45	55660

P201 - AYIRICI TANIDA BRUCELLOZİS DÜŞÜNÜLEN VAKALARDA BRUCELLA CANİS SIKLIĞININ SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Şerife Yüksekkaya[1], Zeki Aras[2], Uçkun Sait Uçan[3]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya İl Sağlık Müdürlüğü, Konya*
[3]*S.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Konya*

Amaç
Brucella canis insanlarda asemptomatik infeksiyonlara neden olmakta ve hastanelerde rutin olarak araştırılmamaktadır. Bu çalışmada, Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne ayırıcı tanıda brusellozis düşünülen hastalarda B.canis varlığının serolojik olarak araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yönte
Araştırmada ayırıcı tanıda brusellozis düşünülen toplam 1000 hastaya ait serum örneği kullanıldı. B. canis' e karşı oluşmuş antikorları tespit etmek amacıyla kullanılan R tipi antijen B. canisNCTC 10854 suşundan hazırlandı. B.canis infeksiyonunun sıklığının belirlenmesinde Çabuk Lam Aglütinasyon Testi (ÇLAT) ile Modifiye Yavaş Aglütinasyon testi (MYAT) kullanıldı.
Bulgular
Örneklerden 34'ü ÇLAT ile pozitif bulunurken 966'sı negatif olarak bulundu. Antikor titresinin belirlenmesi amacıyla yapılan MYAT ile örneklerin 22'inin 1/48 ve üstü titre verdiği ve hastalardaB.canis' in serolojik sıklığının % 0.22 olduğu belirlendi.
Sonuç
B. canis infeksiyonunun doğrulanması için kültür ve moleküler gibi yöntemlerle daha ileri çalışmalara ihtiyaç olmakla birlikte, ayırıcı tanıda brusellozis düşünülen hastalarda B. canis varlığı serolojik olarak ülkemizde ilk kez ortaya konuldu. Dolayısıyla hastanelerde rutin teşhiste kullanılan antijenler ile belirlenemeyen ve gözden kaçan B. canis infeksiyonları dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Brucella canis, seroprevalans, brusellozis

---

MYAT ile elde edilen Pozitif Reaksiyonlu Serum Sayıları

Serum Titre	Kadın		Erkek		Genel	
	n*	%	N	%	n	%
1/48	1	5,9	-	-	1	4.5
1/96	5	29,4	-	-	5	22,7
1/192	4	23,5	2	40	6	27,3
1/384	5	29,4	1	20	6	27,3
1/768	2	11,8	2	40	4	18,2
Toplam	17	100	5	100	22	100

n* Serum sayısı

P202 - HASTANEMİZ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN SEROLOJİ/VİROLOJİ ÖRNEKLERİNDEN YAPILAN PANİK DEĞER BİLDİRİMLERİ VE NEDENLERİ

Metin Sancaktar[1], Zeynep Yıldız[1], Figen Bilgi[1], Türkan Lakot[1], Ahmet Başer[1], Fatih Niyazoğlu[2], Bedia Aydın[2]
[1]*Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon*
[2]*Fatih Devlet Hastanesi Yönetim Sistemleri Birimi, Trabzon*

Amaç
Genelde tüm laboratuvarlarda ve özelde mikrobiyoloji laboratuvarlarında elle ya da aygıtlarla binlerce test çalışılmaktadır. Bu testleri isteyen servis ve kliniklerin, yaşamsal olarak önemli sonuçları hızlı ve özenli bir biçimde alması için panik değer bildirimi yapılmaktadır. Her laboratuvarın birbirine benzer biçimde, gereksinimine göre kendi belirlediği yaşamsal önemi olan test sonuçlarını özellikle tahlili yapılan hastanın doktoruna ya da servis hemşiresine telefonla bildirerek dikkat çekmesi; tahlilin atlanmasını engellemekte, hastaya ve hekime, sağaltıma geçişte hız kazandırmaktadır. Bu çalışmada Haziran 2009 - Ağustos 2011 tarihleri arasında Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen seroloji/viroloji örneklerinden panik değer bildirimi yapılanların geriye dönük olarak taranıp bildirim oranının bulunması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nde geçen ve bütün hastane laboratuvarlarının uygulamaları gereken, denetimlerde sorumlu tutulduğumuz panik değerlerin kayıtları ve oranları geriye dönük olarak taranmıştır. Çizelgede hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan seroloji/viroloji örnekleri panik değerler dizelgesi verilmiştir.
Bulgular
Bu dönem içerisinde çalışılan 38.744 HBs Ag'nin 50'sinden (%0.13), 36.983 Anti-HCV'nin 76'sından (%0.2), 25.526 Anti-HIV'ın 17'sinden (%0.07), 3.405 VDRL'nin 10'nundan (%0.3), 28 TPHA'nın 1'inden (%3.6), 247 Salmonella "Gruber-Widal" Tüp Aglütinasyonunun 1'inden (%0.4), 748 Brusella "Wright" Tüp Aglütinasyonunun 12'sinden (%1.6) panik değer bildirimi yapılmıştır. 518 Anti-HBc IgM ile toplamda 484 Anti-Toksoplazma/Rubella/CMV IgM/IgG testlerinden hiçbir panik değer bildirimi yapılmamıştır
Sonuç
Sağlık Bakanlığı Hastane Hizmet Kalite Rehberi'nin gereği olarak yapılmaya başlanan panik değer bildiriminin önemi ilgili çalışanlara anlatılmalı ve panik değer bildiriminin daha yüksek oranlarda yapılması sağlanmalıdır. Bu aynı zamanda mikrobiyoloji uzmanının kliniğe danışman (konsültan) konumunu da pekiştirecektir.

Anahtar Kelimeler: Panik değer, brusella panik değer, salmonella panik değer, hepatit panik değer, sifiliz panik değer

Çizelge 1. Trabzon Fatih Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı seroloji/viroloji örnekleri panik değerler dizelgesi.

Deneyin Adı	Bildirilen Panik Değer Sonucu
HBs Ag	>= 1 COI (Kan Merkezi ve Diyaliz Servisi)
Anti-HCV	>= 1 COI (Kan Merkezi ve Diyaliz Servisi)
Anti-HIV	>= 1 COI
Anti-HBc IgM	>= 1 COI (Kan Merkezi ve Diyaliz Servisi)
Anti-Toksoplazma IgM	>= 1 COI (Gebelerde)
Anti-Toksoplazma IgG	>= 3 COI (Gebelerde)
Anti-Rubella IgM	>= 1 COI (Gebelerde)
Anti-Rubella IgG	>= 10 COI (Gebelerde)
Anti-CMV IgM	>= 1 COI (Gebelerde)
Anti-CMV IgG	>= 1 COI (Gebelerde)
VDRL	Pozitif (Kan Merkezi, Diyaliz Servisi ve Gebelerde)
TPHA	Pozitif (Kan Merkezi, Diyaliz Servisi ve Gebelerde)
Salmonella "Gruber-Widal" Tüp Aglütinasyonu	>= 1/200 (+)
Brusella "Wright" Tüp Aglütinasyonu	>= 1/160 (+)

coi: cut off index

P203 - TUNCELİ İLİNDE BRUCELLA SEROPREVALANSI

Fatma Hakim, Özlem Hamança, Hasan Şahin
Tunceli Devlet Hastanesi, Tunceli

Bruselloz, bütün dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen zoonotik bir hastalıktır. Birçok ülkede ekonomik kayıplara ve ciddi halk sağlığı problemlerine sebep
olur. Ülkemizde Özellikle Ankara ovasında, Konya yöresinde, Güneydoğu Anadolu'da, Diyarbakır ve Urfa yörelerinde hayvanlarda yaygındır. Bu çalışmada Tunceli ilinin bruselloz seroprevalansının belirlenmesi amaçlandı. 2009-2011 yılları arasında Tunceli Devlet Hastanesine Brucellozis şüphesi ile başvuran 832 hastanın laboratuvar sonuçları geriye dönük olarak değerlendirildi.Hastaların 69'unda Rose-Bengal testi pozitif (%8,2) bulundu. Bu hastaların 48'inde (%5,7) brucellacapt 1/160 ve üzerindeki dilüsyonlarda pozitif olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, seroprevalans, tunceli

Tunceli



Tunceli dağlık bir ildir.

Brusella Serolojik Test Sonuçları

Test Adı	Pozitif Hasta Sayısı	%
Rose Bengal	69	8,2
Coombslu Standart Tüp Aglütinasyon	48	5,7

P204 - TUNCELİ İLİNDE HEPATİT C SEROPOZİTİFLİK ORANI

Fatma Hakim, Özlem Hamança, Saliha Çevik
Tunceli Devlet Hastanesi, Tunceli

Tunceli Devlet hastanesine 03.01 2009-01.12 Eylül 2010 tarihleri arasında çeşitli nedenlerden dolayı başvuran hastalarda anti-HCV seropozitiflik oranları retrospektif olarak incelendi. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay yöntemi ile üretici firmanın önerdiği prosedüre göre anti-HCV parametreleri çalışıldı. Hastalarda bulunan pozitif değerler olgu sayısı ve % değerler olarak gösterildi. Tunceli Devlet hastanesine başvuran toplam 14887 hastanın 172'sinde (%1,1) anti-HCV pozitif bulundu.

Anahtar Kelimeler: anti-HCV, seroprevalans, tunceli

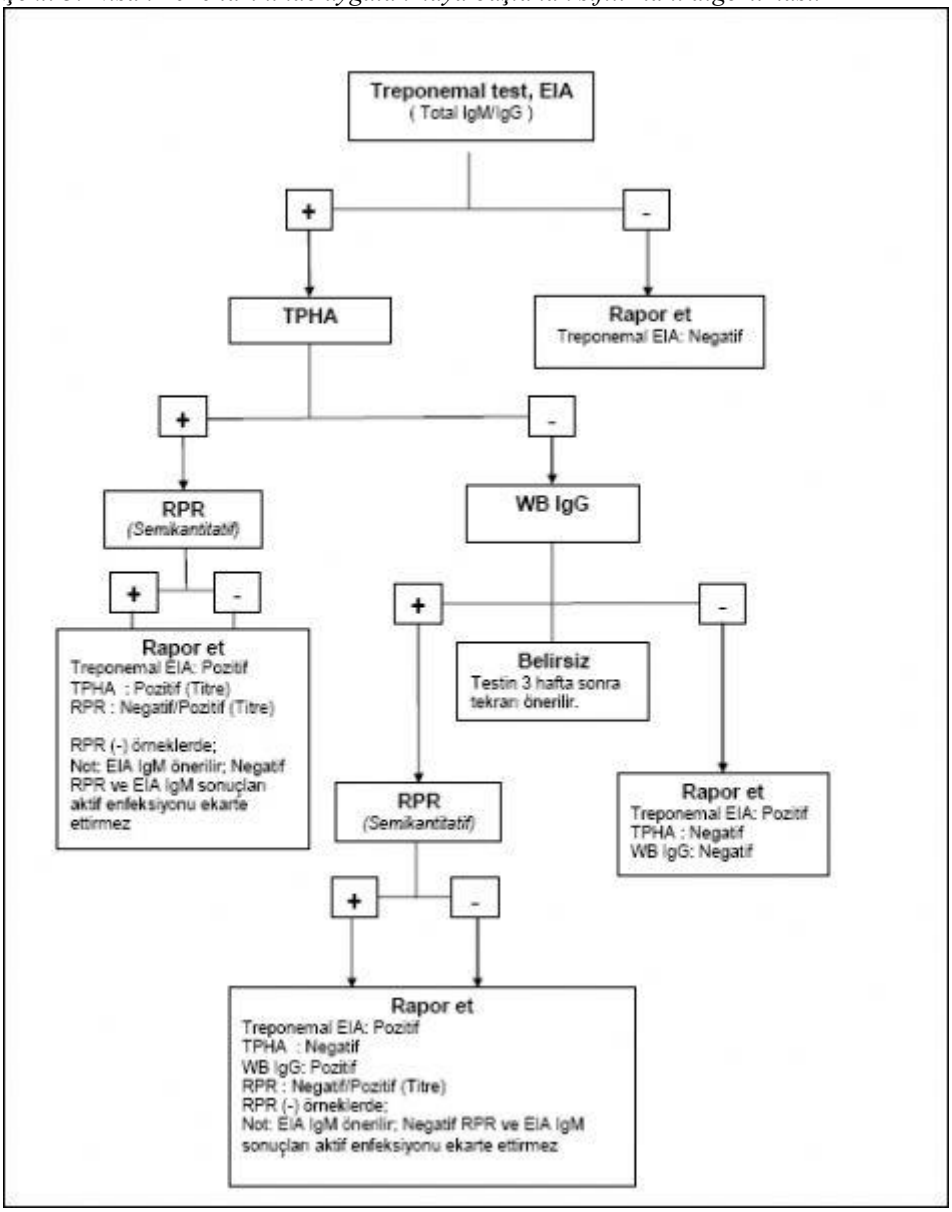
P205 - TARAMADA TREPONEMAL TEST KULLANAN BİR SİFİLİZ TANI ALGORİTMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Özgen Alpay Özbek, Yavuz Doğan
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

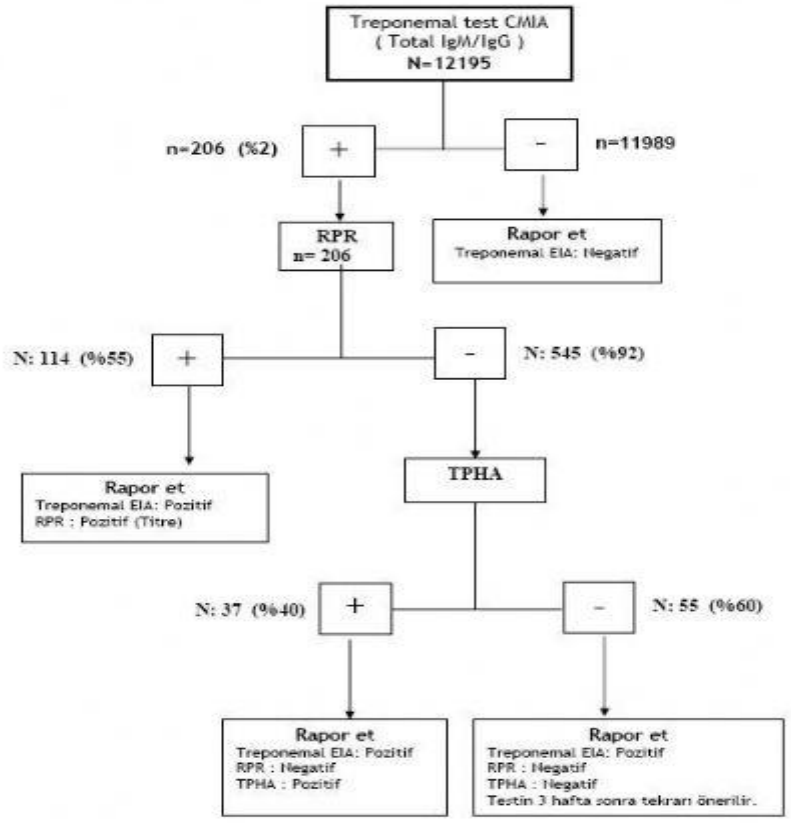
Amaç
Sifilizin tanısında kullanılan geleneksel algoritma, taramanın önce nontreponemal bir testle yapılması, pozitif çıkan sonuçların daha sonra özgül bir treponemal testle doğrulanmasıdır. Günümüzde sifiliz taraması için nontreponemal testlerden daha duyarlı ve otomasyona uygun ticari testler kullanıma girmiştir. Sifiliz serolojisi ile ilgili bazı rehberlerde tarama için treponemal testler ilk seçenek olarak önerilmektedir; ancak öneriyi yapan rehberler arasında tarama sonrası çalışılacak testler için bir fikir birliği bugüne kadar oluşmamıştır. Bu çalışmanın amacı, yaklaşık üç yıl boyunca kullanılan tanısal algoritmanın elde edilen veriler doğrultusunda ve literatür eşliğinde gözden geçirilmesi ve yeni uygulamaya konulan CMIA (kemilüminesan mikropartikül enzim immünoassay) testi pozitif çıkan örnekler için uygulanacak yeni bir tanısal algoritmanın mevcut literatür desteğinde oluşturulmuştur.
Gereç-Yöntem
İlk tarama testi olarak CMIA temeline dayalı bir treponemal testin (Architect Syphilis TP; Abbott Japan Co, Japonya) kullanıldığı tanısal algoritma, laboratuvar verilerinin geriye dönük olarak incelenmesi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada, Ocak 2007-Şubat 2010 tarihleri arasında sifiliz taraması yapılan 7104'ü kadın toplam 10.878 hastaya ait 12.195 örnek incelenmiştir. Algoritmaya göre, CMIA negatif örneklerle ek bir test çalışılmazken, pozitif örneklerde RPR (Rapid Plasma Reagin; Omega Diagnostics, İngiltere) çalışılmış ve her iki test sonucu pozitif bulunan örnekler rapor edilmiştir. Sonuçlar arasında uyumsuzluk saptandığında, pozitif CMIA sonucu TPHA (Treponema pallidum hemagglutination; Omega Diagnostics, İngiltere) testi ile doğrulanmıştır. Çalışmada ayrıca, CMIA pozitif örneklerin kantitatif değerleri (örnek/eşik değer absorbansı; s/co) ile TPHA ve RPR testlerinin sonuçları karşılaştırılmıştır.
Bulgular
Tarama sonucunda hastaların %1.1 (120/10.878)'i, örneklerin ise %2 (206/12.195)'si pozitif olarak saptanmıştır. CMIA testinde s/co değeri < 12 olan örneklerin %19.1'inin, s/co > 12 olan örneklerin ise %100'ünün TPHA ile doğrulandığı gözlenmiştir. RPR testi ile >= 1/32 titrede pozitif bulunan örneklerin tümünde CMIA s/co değerlerinin > 21 olduğu izlenmiştir.
Sonuç
Çalışmamızda, CMIA testinin düşük s/co oranlarında yalancı pozitif sonuç verebildiği, bu nedenle CMIA pozitif sonuçların bir başka treponemal testle doğrulandıktan sonra RPR çalışılması gerektiği kanısına varılmıştır.Sifiliz serolojisinde başvurulacak ilk test olma özelliği nontreponemal testlerden treponemal testlere doğru kaymaktadır. Bu durum, yeni tanı algoritmalarının oluşturulmasını gerekli kılmıştır. Çalışmamızda elde edilen veriler ve son yıllarda yayınlanmış rehberlerde yer alan öneriler ile uyumlu yeni bir algoritma oluşturulmuştur. Ayrıca bu çalışmada, CMIA testinde > 12 s/co ile pozitif saptanan örneklerin tümünün TPHA ile doğrulandığı gözlenmiş ve bu gözlemin daha büyük çalışma gruplarında ve altın standart yöntemlerle karşılaştırılarak yeniden değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Architect Syphilis, seroloji, Sifiliz, tanı algoritması

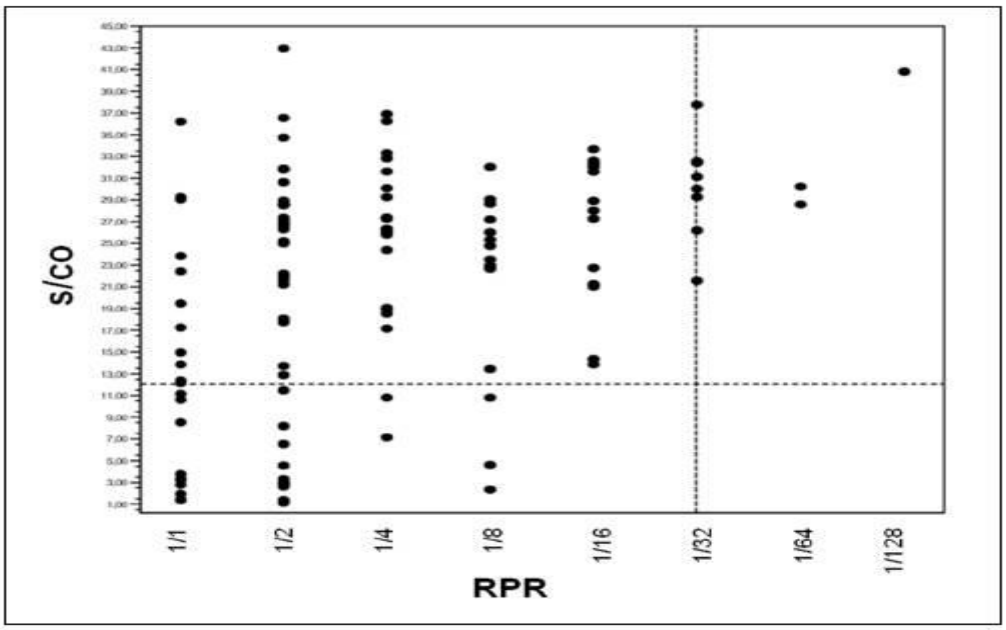
Şekil 3: Nisan 2010 tarihinde uygulanmaya başlanan sifiliz tanı algoritması.



Şekil 1: Sifiliz Tanı Algoritması (Ocak 2007) ve test sonuçlarının algoritma içindeki dağılımları



Şekil 2: CMIA pozitif örneklerin s/co oranlarıyla pozitif RPR titre değerlerinin karşılaştırılması.



P206 - RİZE İLİNDE DOĞURGANLIK ÇAĞINDAKİ KADINLARDA TOKSOPLAZMA, RUBELLA VE SİTOMEGALOVİRÜS SEROPREVALANSI

Ayşegül Çopur Çiçek[1], Zeynep Şentürk Köksal[2], Gülşah Balık[3], Ayşe Ertürk[4]
[1]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD.Rize*
[2]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi. Mikrobiyoloji Laboratuvarı.Rize*
[3]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastalıkları ABD, Rize*
[4]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD.Rize*

Amaç
Çalışmamızda, Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi'ne başvuran risk grubu kadınlarda konjenital enfeksiyonlara neden olabilen Toxoplasma gondii, Rubella ve Sitomegalovirüs'üne karşı oluşan antikorların seroprevalansı araştırıldı.
Gereç-Yöntem
Şubat 2010-Temmuz 2011 tarihleri arasında hastanemize başvuran, risk grubunu oluşturan doğurganlık çağındaki kadınlardan alınan serum örnekleri Toxoplasma gondii, Rubella ve Sitomegalovirüs (CMV)'üne karşı oluşan antikorlar yönünden test edildi. Anti-Toksoplazma IgM ve IgG, Anti-Rubella IgM ve IgG, Anti-CMV IgM ve IgG antikorları kemiluminesans yöntemi ile otoimmünanalizörde (Vitros ECİQ, Johnson&Johnson Company) üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.
Bulgular
Test edilen serum örneklerinde, Toxoplasma gondii için IgM ve IgG seroprevalansı sırasıyla; %1.0 ve %45.5 olarak bulundu. Rubella virüs için IgM ve IgG seropozitiflik oranları sırasıyla; %5.2 ve %97.9, Anti-CMV Ig M ve IgG için ise %0.3 ve %99.3 idi.
Sonuç
Yapılan geniş populasyon taramaları, Toxoplasma gondii, Rubella ve CMV virüs'üne bağlı konjenital enfeksiyonların önlenmesine katkı sağlayabilir. Doğurganlık çağındaki kadınlarda Toxoplasma gondii, Rubella ve Sitomegalovirüs için yüksek seropozitivite bulunduğundan koruyucu tedbirler alınmalıdır. Duyarlı anne adaylarının bu infeksiyonlardan korunma ve kontrol konusunda eğitilmeleri ve takiplerinin doğumsal anomali riskini azaltacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Rubella, Sitomegalovirüs, Toxoplasma gondii, seroprevalans, doğurganlık çağı

Tablo. Doğurganlık çağındaki kadınlarda seropozitiflik sayı ve oranları.

ToksoplazmaIgM (n=286)	ToksoplazmaIgG (n=290)	RubellaIgM (n=304)	RubellaIgG (n=294)	CMV IgM (n=285)	CMV IgG (n=286)
3 (1.0)	132 (45.5)	16 (5.2)	288 (97.9)	1 (0.3)	284(99.3)

P207 - AKUT GASTROENTERİTLİ ÇOCUKLARDA ROTAVİRUS VE ADENOVİRUS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Çiğdem Eda Balkan[1], Demet Çelebi[2], Özgür Çelebi[3], **Ülkü Altoparlak[1]**
[1]*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Erzurum*
[2]*Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Erzurum*
[3]*İl Sağlık Müdürlüğü, Erzurum*

Amaç
Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde son derecede önemli bir sağlık sorunu olan akut gastroenteritler, çocukluk yaş grubunun en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer almaktadır. Rotavirus ve adenoviruslar ise, enfeksiyöz gastroenteritlerin sık görülen etkenleridir. Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastaneleri'ne başvuran akut gastroenterit ön tanılı çocuk hastalarda rotavirus ve adenovirus sıklığının araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Eylül 2010–Eylül 2011 tarihleri arasında, hastanelerimize ishal şikâyeti ile başvuran 340 çocuğun dışkı örnekleri incelendi. Tüm örneklerde, rotavirus ve adenovirus antijenlerinin varlığı immünokromatografik yöntem ile araştırıldı.
Bulgular
Dışkı örneklerinin 117'sinde (%34.4) viral antijenler belirlenirken, bu örneklerin 88'inde (%25.9) rotavirus, 28'inde (%8.3) adenovirus, 1'inde (%0.2) rotavirus ve adenovirus birlikte pozitif (%0.9) tespit edildi. Adenovirus sıklığında mevsimler arasında anlamlı bir farklılığa rastlanmazken, rotavirus pozitif olguların %53.4'ünün kış, %28.4'ünün ise havaların bölgemizde nispeten soğuk olduğu sonbahar aylarında görüldüğü saptandı.
Sonuç
Bölgemizde rotavirus özellikle çocukluk çağı gastroenteritleri arasında önemli bir sıklığa sahiptir. Özellikle sonbahar ve kış aylarında taze dışkı örneklerinde rotavirus antijenlerinin araştırılması ile gastroenteritlere karşı gereksiz anti-paraziter ve bakteriyal ilaç kullanımının önüne geçileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut gastroenterit, rotavirus, adenovirus

P208 - RİZE 82.YIL DEVLET HASTANESİNE BAŞVURAN ÇOCUK HASTALARDA HBSAG, ANTİ-HBS VE ANTİ-HCV SEROPOZİTİFLİK ORANLARI

Ayşegül Çopur Çiçek[1], Zeynep Şentürk Köksal[2], Ayşe Ertürk[3], Ersin Köksal[4], Osman Birol Özgümüş[1]
[1]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD., Rize*
[2]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Rize*
[3]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize.*
[4]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Rize.*

Amaç
Rize 82.Yıl Devlet Hastanesine başvuran çocuk hastalarda hepatit B virusu (HBV) ve hepatit C virusu (HCV) seroprevalansının araştırılması, ilimize ait oranların belirlenmesi ve elde edilen oranların ülkemizin farklı yerlerindeki oranlarla karşılaştırılarak ülkemiz verilerine katkı sağlanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi'ne 05.Şubat.2010 – 15.Temmuz.2011 tarihleri arasındaki dönemde başvuran pediatrik yaş grubu hastaların HBsAg, Anti-HBs ve Anti-HCV seropozitiflik oranları incelenmiştir. Kemilimünesans immünassay yöntemi (Vitros ECİ Q, Ortho Clinical Diagnostics, U.S.A) ile çalışılan sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışmaya alınan hastaların 655'inde HBsAg, 396'sında Anti-HBs, 563'ünde Anti-HCV testi çalışılmıştır.Tüm hastalarda HBsAg, AntiHbs ve AntiHCV seropozitiflik oranları sırasıyla %4.4, %76.8 ve % 0.4 olarak bulunmuştur. HBsAg ve AntiHCV pozitifliği kız ve erkek çocuklarında yakın oranlarda iken, AntiHBs pozitifliği %80.1 oranı ile kız çocuklarında daha yüksek bulunmuştur. Seropozitiflik oranları yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde ise HBsAg ve AntiHBs seropozitifliği en çok 12-16 yaş grubunda görülmüştür. 1998'de ulusal aşılama programına Hepatit B aşısının dahil edilmesinden önce ve sonrasına göre çocuk yaş grupları değerlendirildiğinde ise 29 HBsAg pozitifliğinin 25'i 1998 ve öncesinde doğan çocuklarda saptanmıştır.
Sonuç
Elde edilen verilerle toplumun yeterince bilinçlendirilmesinin ve Sağlık Bakanlığı tarafından 1998'de uygulamaya başlanan rutin Hepatit B aşısının, ülkemizde Hepatit B enfeksiyonundan ve bunun neden olabileceği diğer hastalıklardan ve ölümlerden
korunmada çok yararlı olduğunu ve olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: çocuk, HBV, HCV, seroprevalans

TABLO.Çocuk hastalarda HBsAg, Anti-HBs ve Anti-HCV seropozitiflik oranları.

	HBsAg(n=655)	Anti-HBs(n=396	Anti-HCV(n=563)
KIZ	13 (4.2)	149(80.1)	1 (0.4)
ERKEK	16 (4.7)	155(73.8)	1 (0.3)
TOPLAM	29 (4.4)	304(76.8)	2 (0.4)

P209-KEFİR KULLANIMININ İNSAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ-SİTOKİN ÇALIŞMASI

Ali Kudret Adiloğlu[1], Nurettin Gönülateş[2], Metmet İşler[3], Altuğ Şenol[3]
[1]*Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Şefliği, Ankara*
[2]*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Isparta*
[3]*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, Isparta*

Amaç
Kefir kullanımının birçok yararlı etkileri bilinmektedir. Bu etkilerin önemli bir kısmının, kefirin immün sistem üzerine olan pozitif etkilerinden dolayı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada kefir kullanımının insan serum IFN-γ, TNF-α, IL-1, IL-5, IL-6, IL-8 ve TGF-β düzeyleri üzerindeki in vivo etkilerini araştırmayı planladık.
Gereç-Yöntem
Lactobacillus ssp., Leuconostoc ssp., Lactococcus lactis ssp. lactis, Streptococus thermophilus ve kefir mayası içeren Danisco®, Poland isimli ticari kefir kültürü, steril yağsız süt ile karıştırıldı ve 30 ºC'de 14 saat etüvde bekletilerek kefir elde edildi.
Araştırmamıza Süleyman Demirel Üniversitesinde çalışan 20-40 yaşları arasında olan 18 sağlıklı gönüllü katıldı. Gönüllülere 2 hafta fermente ürünlerden yoksun diyet almaları sonrasında toplam 6 hafta, hafta içi günleri 200 mililitre kefir verildi. Kefir verilmeden hemen önce (0. hafta), kefir başlandıktan sonra 3. ve 6. haftalar ve kefir verilmesi kesildikten 3 hafta sonra (9. hafta) kan örnekleri toplandı.
İstatistiksel analiz: Haftalar arasındaki farklılıklar non-parametrik Friedman testi ile belirlendi ve $p<0.05$ anlamlı kabul edildi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan değerler 2'li olarak Wilcoxon Signed-Rank testi ile karşılaştırıldı ve Benferoni düzeltmesi yapıldıktan sonra $p< 0,0125$ anlamlı olarak kabul edildi.
Bulgular
Serum IL-5 düzeyleri kefir kullanımı ile birlikte 3. haftada yükselmiş ($p=0.01$) ve kefirsiz 3. haftada tekrar düşmüştür ($p=0.003$) (Tablo-1). Serum IL-8 düzeyleri ise tam ters etki ile kefir kullanımı ile birlikte 3. ve 6. haftalarda düşmüş ($p=0.001$) ve kefirsiz 3. haftada tekrar yükselmiştir ($p=0.005$). TNF-α düzeyleri ise kefir kullanımının 6. haftasında sınırda yükselmiştir ($p=0.013$).
Sonuç
IL-8, diğer adı ile nötrofil kemotaktik faktörü esas olarak makrofajlardan ve TLR'si olan tüm hücreler tarafından sentezlenir ve doğal bağışık yanıtın ilk salgılanan sitokinlerindendir. Ana fonksiyonu hedef hücrelerin (nötrofil ve granülosit) enflamasyon bölgesine göçünü sağlamaktır. Kefirdeki saprofit bakteriler, bağırsaktaki TLR'leri işgal ederek serbest durumda olan TLR miktarını mekanik olarak düşürmektedir. Bu da hem patojen olan bakterilerin hücreye tutunmasını engelleyerek hücre içine girişlerini zorlaştırmaktadır hem de IL-8 seviyelerinin düşmesi ile birlikte doğal immün yanıt ve nötrofil yanıtının abartılı tepki vermesine engel olmaktadır.. IL-5 salınımının artması ile IgA sentezinin artmasının yanı sıra eosinofil aktivasyonu da artmıştır. İmmün sistem bir anlamda kontrollü bir şekilde tayakkuza geçmiştir.
TNF-α, Th1 immünitenin ve doğal bağışıklığın ana mediyatörüdür. Bu sitokinin sınırda artması da yine kontrollü bir immün stimülasyonu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: interlökin, kefir, Lactobacillus, Lactococcus, sitokin

Tablo -1 Olguların Özellikleri

Kilo	64.3±7.42
Boy	162.67±4.85
Vücut-kitle endeksi, kg/m2	23.75±2.53
Yaş	35.58±7.38
Sigara %	0
Hemoglobin	13.76±1.6
Kreatinin	0.69±0.12
ALT	19.89±6.76

Tablo-2 Kefir kullanımı ve serum sitokin değerleri

ÇALIŞILAN SİTOKİNLER	0. HAFTA	3. HAFTA	6. HAFTA	KEFİRSİZ 3. HAFTA	p değeri (Friedman testi)	p değeri (Wilcoxon Signed-Rank Testi)
IFN-γ (IU/mL)	0.35±1.36	0.19±0.67	0.26±0.97	0.48±0.83	0.986	-
TNF-α (pg/mL)	0.78±1.88	1.22±2.33	2.5±3.83	0.41±0.81	0.046	0.-6. hf=0.013
IL-1β (pg/mL)	21.24±76.93	2.33±2.47	13.96±49.00	25.9±90.26	0.152	-
IL-5 (pg/mL)	8.86±23.25	33.03±13.07	37.84±21.8	20.97±3.86	0.001	0.-3. hf=0.01 0.-6. hf=0.022 3.-9. hf=0.043 6.-9. hf=0.003
IL-6 (pg/mL)	0.77±3.37	8.38±36.57	0.11 ± 0.2	0.12 ± 0.22	0.392	-
IL-8 (pg/mL)	463.02±533.89	8.37±13.02	15.26±21.19	71.38±201.74	<0.001	0.-3. hf<0.001 0.-6. hf=0.001 3.-9. hf=0.023 0.-9. hf=0.005
TGF-β (pg/mL)	208.05±123.18	220.85±89.97	239.0±132.75	235.93±88.53	0.363	-

IL: İNTERLÖKİN, IFN-Γ: İNTERFERON-Γ, TNF-A: TUMÖR NEKROZ FAKTÖR-A, TGF-B: TRANSFORME EDİCİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-B

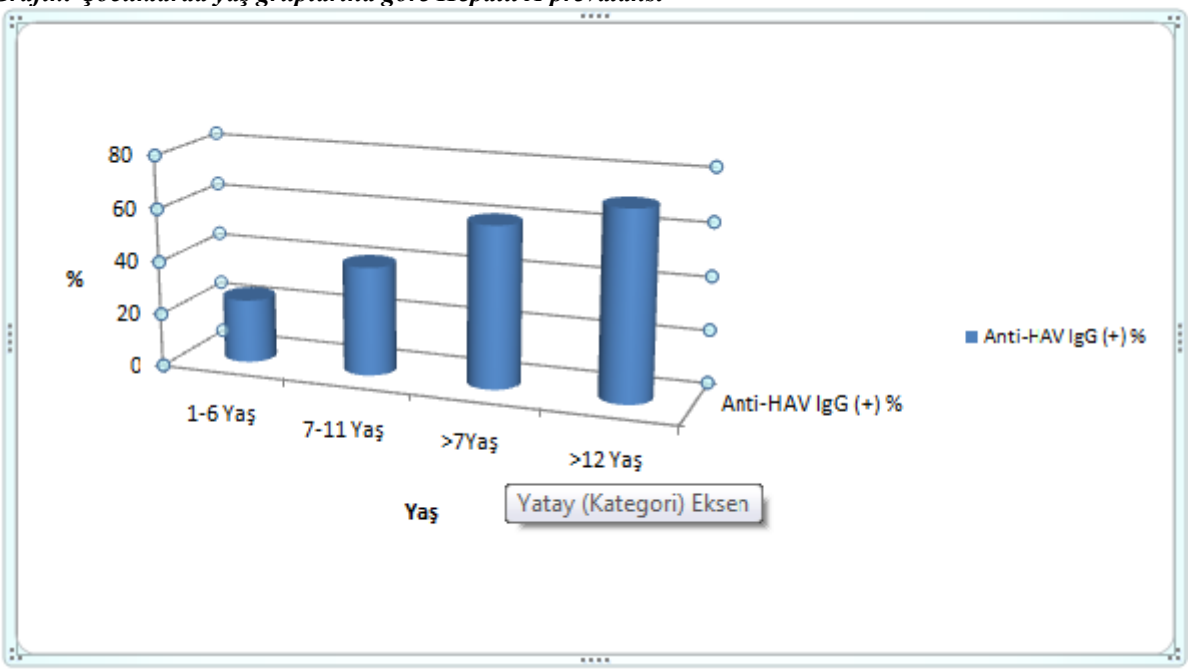
P210 - HEPATİT A AŞILAMASININ MALİYET ANALİZİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Muharrem Ak[1], Mümtaz Aktaş[2], **Sibel Ak[3]**, Cengiz Yakıncı[2]
[1]*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği ABD, Malatya*
[2]*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Malatya*
[3]*Malatya Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Malatya*

Amaç
Bu çalışmada, Malatya Sosyal Hizmetler Çocuk Esirgeme Kurumuna bağlı sevgi evleri, kız ve erkek yetiştirme yurtlarında kalan çocuklarda Hepatit A bağışıklığının tespit edilmesi, bağışıklığı olmayanların aşılamalarının yapılması ve bu arada preimmünite testinin maliyet yararlılığının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Ocak-Mart 2011 tarihleri arasında Malatya Sosyal Hizmetler Çocuk Esirgeme Kurumuna bağlı sevgi evler, kız ve erkek yetiştirme yurtlarında kalan, kesitsel tanımlayıcı yöntem kullanılarak gerçekleştirilen, sarılıkla ilgili yakınması olmayan 100'ü erkek (%55), 82'si kız (%45) toplam 182 çocuğa hepatit A taraması yapıldı.
Bulgular
Toplam 182 çocuktan 100'ünde (%55) anti-HAV IgG testi pozitif olarak tespit edilirken, 82 (%45) çocukta negatif olarak bulundu. Anti-HAV IgG testi pozitifliği erkeklerde %48 olarak saptanırken kızlarda %63 oranında bulundu. Yaşı 1-6 arasındaki çocuklarda preimmünite testinin aşılama maliyetini sadece % 10,9 oranında düşürdüğü oysa 7-11 yaş aralığında ise preimmünite testinin aşılama maliyetini % 24,5 oranında düşürdüğü tespit edildi. Ancak özellikle 7 ve 12 yaşından sonra yapılacak preimmünite testinin aşılama maliyetini sırasıyla %44,1 ve % 53,9 oranında düşürdüğü belirlendi.
Sonuç
Ülkemiz koşullarında 6 yaşından küçük çocuklarda, preimmünite testine gerek duyulmadan doğrudan aşı yapılması ve olası aşı komplikasyonları göz önüne alındığında 12 yaşından daha büyük çocuklarda aşılamanın preimmünite testinin sonucuna göre yapılması maliyeti önemli oranda azaltacaktır.

Anahtar Kelimeler: Aşılama, hepatit A, maliyet analizi, preimmünite testi

Grafik: Çocuklarda yaş gruplarına göre Hepatit A prevalansı



Tablo: Yaş gruplarına göre maliyet analizi

Yaş	Anti-Hav IgG (+) (%)	PİT+İki Doz Aşı Maliyeti (TL)	İki Doz Aşı Maliyeti (TL)	PİT'in Aşılama Maliyetlerini Azaltma Oranı (%)
1-6	24	1395	1566	10,9
7-	41	2079	2754	24,5

11				
>7	60,7	4617	8262	44,1
>12	70,5	2538	5508	53,9

P211- VAN İLİNDEKİ HBSAG SEROPREVALANSI

***Yasemin Bayram*[1]**, *Hayriye Eren*[1], *Bilge Gültepe*[2], *Mustafa Berktaş*[3]
[1]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı,Van*
[2]*Yüzüncü Yıl Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van*
[3]*Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği,;Yüzüncü Yıl Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van*

Amaç
Hepatit B virüsü (HBV), Hepadnaviridae ailesine ait bir DNA virüsü olup başlıca parenteral yoldan bulaşmaktadır. HBV'nin neden olduğu enfeksiyon, ülkemizin de içinde bulunduğu özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygındır ve kronikleşen viral enfeksiyonların başında gelmektedir. Yüksek morbitide ve mortaliteye neden olması açısından da önemli bir sağlık ve ekonomik sorun oluşturmaktadır. HBV infeksiyonunun yayılmasında ve bulaşmasında en büyük etken HBV taşıyıcılarıdır. Çalışmada, hastanemize çeşitli nedenlerle başvuran hastalarda bakılan HBsAg sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
2009-2010 tarihleri arasında Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran hastaların serum örneklerinde Cobas 4000 e411(Roche, Japonya) cihazında çalışılan HBsAg II(Roche, Almanya) kititesti sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. HBsAg pozitifliğinin cinsiyetler arasında istatistik açıdan incelenmesi için Z Testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır.
Bulgular
Çalışma kapsamında toplam 38.136 hastanın HBsAg sonuçları incelendi. Olguların %52'si erkek, %'48'i bayan hastalardan oluşmaktaydı. HBsAg pozitifliğine toplam %9.1 oranında rastlandı. Cinsiyetlere göre HBsAg pozitifliği incelendiğine erkeklerde %11.2 olarak bayanlarda ise %6.8 oranında olduğu görüldü. Cinsiyetler arasında bulunan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. HBsAg pozitifliğinin dağılımı Tablo'da verilmiştir.
Sonuç
Ülkemiz, genel taramalarda ortaya konan %3.9-12.5 arasındaki HBsAg seropozitifliği ile orta derecede endemik bir ülke konumundadır. Çalışmada bulunan %9,1'lik pozitiflik oranı ile bölgemizin HBsAg seropozitifliği açısından üst sınırlarda olduğunu göstermektedir. Bu nedenle hastalıktan korunma yollarının halka daha iyi anlatılması, aşılama çalışmalarının eksiksiz yapılması ve risk gruplarında korunmaya yönelik önlemlere titizlikle uyulması gerekliliği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, seroprevalans, Van

Tablo 1. HBsAg Pozitifliğinin dağılımı

	Pozitif	Negatif	Toplam	%
Erkek	2206	17463	19669	11.2
Kız	1255	17212	18467	6.8
Toplam	3461	34675	38136	9.1

P212- UŞAK İLİ BÖLGESİNDE GEBELERDE TOKSOPLAZMA, RUBELLA VİRUS VE CMV'YE KARŞI OLUŞAN ANTİKORLARIN SIKLIĞININ BİR YILLIK DEĞERLENDİRİLMESİ

Güliz Doğan Toklu
Uşak Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı, Uşak

Amaç
Toksoplazma, Rubella virus ve Sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonları toplumda sıklıkla, her yaş grubunda görülebilen, genellikle asemptomatik seyreden enfeksiyon hastalıkları olmasına rağmen, gebe kadınlarda özellikle ilk trimesterde ortaya çıktığında fetusta konjenital malformasyonlar oluşturduğu için önem kazanmaktadır. Buna rağmen, gebe kadınların Toksoplazma, Rubella virus ve CMV virus enfeksiyonları yönünden taranması halen tartışmalı olan bir konudur. Toksoplazma, Rubella virus ve CMV'ye karşı oluşan IgM tipi antikorlar primer veya rekürren enfeksiyon, IgG tipi antikorlar geçirilmiş enfeksiyon olarak yorumlanır. IgM tipi antikorlar IgG tipi antikorların oluşmasının ardından negatifleşebileceği gibi, uzun süre pozitifte kalabilirler.
Bu çalışmada, Uşak ili bölgesinde rutin muayene için hastaneye başvuran gebe kadınlarda Toksoplazma, Rubella virus ve CMV'nin IgM ve IgG tipi antikorlarının 14-24, 25-34, 35-44 yaş grubuna göre dağılımının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Literatürde, bölgemizde bu çalışmaya ilişkili veri bulunmamaktadır.
Gereç-Yöntem
Uşak Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01 Temmuz 2010- 30 Haziran 2011 tarihleri arasındaki bir yıllık periyotta başvuran 1465 gebe kadın 14-24, 25-34 ve 35-44 olmak üzere üç yaş grubuna ayrılarak çalışmaya alındı. Toksoplazma, Rubella virus ve CMV'ye karşı oluşan IgM ve IgG tipi antikorlara ait laboratuvar sonuçları retrospektif olarak irdelendi.
Hastalardan alınan örnekler Dynex-DSX (DYNEX Technologies, Inc., USA) otomatik ELISA cihazında SERİON ELISA classic kitleriyle mikroelisa yöntemiyle çalışıldı.
Bulgular
Çalışmaya 588'i (%40.1) 14-24 yaş aralığında, 758'i (%51.8) 25-34 yaş aralığında, 119'u (%8.1) 34-44 yaş aralığında olmak üzere toplam 1465 gebe kadın alındı. Çalışmaya alınan gebe kadınların yaş ortalaması 26.4 ± 5.2 (yaş aralığı: 14-43) olarak saptandı. 19 hastada Toksoplazma IgM ve IgG, 14 hastada Rubella virus IgM ve IgG, 14 hastada CMV IgM ve IgG antikorları aynı anda pozitif olarak bulundu. Her üç etken için de IgM pozitif çıkan hastalar çift çalışıldı.Tablo 1'de yaş gruplarına göre Toksoplazma, Rubella virus, CMV IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik oranlarının dağılımı gösterilmiştir.
Sonuç
Tüm yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde, Toksoplazma IgM pozitifliği %3.0, Toksoplazma IgG pozitifliği % 18.3, Rubella virus IgM pozitifliği % 1.0, Rubella virus IgG pozitifliği %92.2, CMV IgM pozitifliği %1.0, CMV IgG pozitifliği % 99.4 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Gebelerde, TORCH

Yaş gruplarına göre Toksoplazma, Rubella virus, CMV IgM ve IgG antikorlarının seropozitiflik oranlarının dağılımı

	14-24 yaş (n=588)	25-34 yaş (n=758)	35-44 yaş(n=119)	Toplam (n=1465)
Toksoplazma IgM				
Negatif n (%)	564 (95.9)	737 (97.2)	114 (95.8)	1415 (96.6)
Aradeğer n (%)	2 (0.3)	4 (0.5)	-	6 (0.4)
Pozitif n (%)	22 (3.8)	17 (2.3)	5 (4.2)	44 (3.0)
Toksoplazma IgG				
Negatif n (%)	485 (82.5)	604 (79.7)	92 (77.3)	1181 (80.6)
Aradeğer n (%)	7 (1.2)	6 (0.8)	3 (2.5)	16 (1.1)
Pozitif n (%)	96 (16.3)	148 (19.5)	24 (20.2)	268 (18.3)

Rubella IgM				
Negatif n (%)	579 (98.5)	749 (98.8)	118 (99.2)	1446 (98.7)
Aradeğer n (%)	3 (0.5)	2 (0.3)	-	5 (0.3)
Pozitif n (%)	6 (1.0)	7 (0.9)	1 (0.8)	14 (1.0)
Rubella IgG				
Negatif n (%)	17 (2.9)	18 (2.4)	5 (4.2)	40 (2.7)
Aradeğer n (%)	16 (2.7)	49 (6.5)	10 (8.4)	75 (5.1)
Pozitif n (%)	555 (94.4)	691 (91.1)	104 (87.4)	1350 (92.2)
CMV IgM				
Negatif n (%)	583 (99.1)	745 (98.3)	119 (100)	1447 (98.8)
Aradeğer n (%)	1 (0.2)	2 (0.3)	-	3 (0.2)
Pozitif n (%)	4 (0.7)	11 (1.4)	-	15 (1.0)
CMV IgG				
Negatif n (%)	1 (0.2)	6 (0.8)	-	7 (0.5)
Aradeğer n (%)	1 (0.2)	1 (0.1)	-	2 (0.1)
Pozitif n (%)	586 (99.6)	751 (99.1)	119 (100)	1456 (99.4)

P213- HASTANE ÇALIŞANLARININ HEPATİT B VE C ENFEKSİYONLARI KONUSUNDAKİ BİLGİ DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Nedim Tunç[1], Hakan Eraydın[2], M.kadir Oduncu[3], Şeyhmus Toy[3], Emin Çetinkaya[3]
[1]*Atatürk Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir*
[2]*Diyarbakır Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları, Diyarbakır*
[3]*Siirt Devlet Hastanesi Merkez Laboratuarı, Siirt*

Amaç
Doktor, hemşire, ebe, sağlık memuru, sağlık teknisyenleri (laboratuar-radyoloji-anestezi) hastalıkların tanı ve tedavisi ile uğraşmaktadırlar. Sağlık personeli (hemşire, ebe, sağlık memuru ve sağlık teknisyenleri) gibi temizlik çalışanları da zaman zaman hasta kanı ve infekte vücut sıvıları ile direkt temas içinde olabilmektedirler. Hepatit B ve C toplum sağlığını yakından ilgilendiren hastalıklardandır. Özellikle de sağlık alanında çalışan kişiler, toplumun diğer kesimlerine oranla daha fazla risk altındadırlar (1). Türkiye de HBV taşıyıcılığı doğu ve güneydoğu anadolu bölgelerinde daha yüksek olmak üzere ortalama %2-7 arasında değişmektedir (2). Bu çalışmada; hastanemiz çalışanlarının kan ve kan ürünleri ile bulaşan hepatit B ve C enfeksiyonları konusundaki bilgi ve bilinçlilik düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem
Bu çalışmaya Siirt Devlet Hastanesi bünyesinde çalışan hemşire, laboratuar teknisyeni, anestezi teknisyeni, radyoloji teknisyeni, tıbbi sekreter, memur ve temizlik personelinden oluşan toplam 194 kişi katılmıştır. Anket soruları, hedef kitlenin hepatit B ve C virüs enfeksiyonları hakkındaki bilgi düzeyleri ile beraber konuya olan ilgilerini ölçecek şekilde hazırlanmıştır.

Bulgular
Anket sonucunda HBV ve HCV etkenlerini tanıma ve sebeb olduğu hastalıkları bilme konularında sağlık personelleri ve kadın cinsiyetinde sırasıyla %(86-85) ve %(82-83) oranları elde edilmiştir. Yine hepatit B ve C'nin bulaş yolları ve korunma yöntemlerini bilmeyle ilgili konularda sağlık personelleri ve kadınlarda sırasıyla %(95-89) ve %(88-83) oranları saptanmıştır. Sağlık personellerinin %81'i ile kadınların %83'ünün hepatit B ve C'ye karşı daha fazla bireysel duyarlılık gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca sağlık personeli'ne kıyasla memur, tıbbi sekreter ve temizlik çalışanlarının, hepatit B ve C virüslerinin sebeb olduğu hastalıklar, bulaş yolları ve korunma yöntemleri konularında yetersiz oldukları saptanmıştır.

Sonuç
Sonuç olarak; memur, tıbbi sekreter ve temizlik çalışanlarının hepatit etkenlerinin yol açtığı hastalıkları bilme, bulaş yolları ve korunma yöntemleri konularında yetersiz oldukları ve eğitim desteği gerektiği ortaya çıkmıştır. Çalışan güvenliği açısından her hastane bünyesindeki çalışanlarının bilgi düzeylerini ölçmeli, değerlendirmeli ve gerekli düzenlemeleri mutlaka yapmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Sağlık çalışanları, Bilgi Düzeyi, Anket

Tablo 1: Hepatit B ve C Etkenlerini Tanıma ve Değerlendirme Anketi

Tablo 1: Hepatit B ve C etkenlerini tanıma ve değerlendirme anketi

MESLEK	**CİNSİYET**
▫Hemşire	▫Kadın
▫Laboratuvar teknisyeni	▫Erkek
▫Memur	
▫Anestezi teknisyeni	**EĞİTİM DÜZEYİ**
▫Radyoloji teknisyeni	▫Yüksek okul mezunu
▫Tıbbi sekreter	▫Lise ve altı okul mezunu
▫Temizlik Personeli	

SORULAR	**Evet**	**Hayır**
Hepatit hastalığı, virüs denen mikroplar tarafından oluşturulmaktadır.	▫	▫
En önemli hepatit etkenleri Hepatit B ve C'dir.	▫	▫
Hepatit, bir karaciğer hastalığıdır.	▫	▫
Hepatit B ve C infeksiyonları, sarılığa neden olurlar.	▫	▫
Hepatit B ve C hastalıkları, karaciğer kanserine yol açabilmektedirler.	▫	▫
Karaciğer sirozunun en önemli nedeni hepatit B ve C hastalığıdır.	▫	▫
Hepatit B ve C infeksiyonları, kan ve kan ürünleri ile bulaşmaktadırlar.	▫	▫
Ortak kullanılan diş fırçası, havlu, traş bıçağı gibi malzemeler bulaş da önemlidir.	▫	▫
Kanlı iğne batması, hepatit bulaşı yönünden tehlikelidir.	▫	▫
Bu hastalıklar cinsel temas yoluyla bulaşabilmektedirler.	▫	▫
Hepatit B'den korunmada aşı, en etkili yöntemdir.	▫	▫
Hepatitli eşle cinsel temasta prezervatif kullanarak korunabiliriz	▫	▫
Ailenizde ya da çevrenizde hepatit hastası var mı?	▫	▫
Şüpheli cinsel ilişki yaşayan arkadaşınızdan, hepatit B ve C testlerini yaptırmasını ister misiniz?	▫	▫

Tablo 2: Anket sonuçlarının gruplara göre dağılımları ve yüzdeleri.

SORULAR	Hemşire (n:sayı) (%)	Laboratuvar Teknisyeni (n:sayı) (%)	Memur (n:sayı) (%)	Tıbbi Sekreteri (n:sayı) (%)	Temizlik Personeli (n:sayı) (%)
Hepatit etkenlerini tanıma	56(%97)	21 (%100)	28(%87)	29(%76)	26 (%90)
Yol açtığı hastalıkları bilme	49(%84)	19 (%90)	28(%87)	27 (%71)	13 (%45)
Bulaş yollarının bilinmesi	55(%95)	20 (%95)	25(%78)	25 (%66)	19 (%65)
Korunma yöntemler ile ilgili sorular	51(%88)	19 (%90)	25(%78)	29 (%76)	18 (%62)
Bireysel duyarlılığı sorgulayan sorular	49(%84)	20 (%95)	29(%91)	38(%100)	26 (%90)

P214 - İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ ŞÜPHELİ OLGULARDA EBV'YE YÖNELİK SEROLOJİK TESTLERİN SONUÇLARI: 6 YILLIK RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRME

Serhat Sirekbasan, Ali Abdelkareem, **Pelin Yüksel**, Deniz Gözde Çelik, Reyhan Çalışkan, Suat Sarıbaş, Mustafa Aslan, Bekir Kocazeybek
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

İnfeksiyöz mononükleoz, EBV'a bağlı olarak ortaya çıkan, primer olarak adolesan çağının ve gençlerin hastalığıdır. Çalışmamızda infeksiyöz mononükleoz tanısında güncel olarak kullanılan monospot deneyi ile ELISA deneyi birlikte kullanılarak LAP ve boğazda şişlik şüphesiyle başvuran gruplardaki akut ve geçirilmiş infeksiyonlar araştırılmıştır. Çalışmaya, 6 yıl süreyle hastanemize başvuran yaş ortalaması 23 olan 1-67 yaşları arasındaki hastalar dahil edildi. Bu dönemde; 82'si kadın, 89'u erkek olmak üzere toplam 171 hastaya ait serum örnekleri incelendi. Hasta serumlarında, EBV, (ELISA ile IgM, IgG) ve Monospot testi çalışıldı. Çalışmaya alınan toplam 171 hastanın 11'inde (%6,5) Heterofil Antikor (Monospot) pozitif bulundu. Tüm bu hastaların EBV IgM sonuçları da pozitif bulundu. Sonuç olarak, İnfeksiyöz mononükleoz şüphesiyle başvuran grupların değerlendirilmesinde kullanılan yöntem olan monospot testinin Hastalarda EBV varlığının ELISA ile araştırılmasıyla birlikte doğru sonuç veren bir test olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnfeksiyöz Mononükleoz, EBV, Monospot

P215 - BRUSELLOZ TANISINDA DİREK AGLÜTÜNASYON (WRİGHT) VE ROSE-BENGAL TEST SONUÇLARI: CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ SEROLOJİ LABORATUVARINDAN 6 YILLIK RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRME

Ali Abdelkareem, Serhat Sirekbasan, **Pelin Yüksel**, Deniz Gözde Çelik, Reyhan Çalışkan, Suat Sarıbaş, Mustafa Aslan, Bekir Kocazeybek
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Kasım 2005 –Eylül 2011 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ELIZA/Seroloji laboratuarına başvuran bruselloz şüpheli 4320 hastadan alınan serum örneğinde bruselloz serolojik göstergeleri (Wright aglütinasyon testi ve Rose-Bengal testi) retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Serumların 114'ünde (% 3) Rose-Bengal testi pozitif bulunmuş, Rose-Bengal pozitif olan Serumların 75 'i (% 65) Wright testi ile 1/160 ve üzerinde bulunmuştur (Serumda Wright testleri sonuçları ise şöyleydi. 1/20 dilüsyonda 4 hasta, 1/40 dilüsyonda 13 hasta, 1/80 dilüsyonda 14 hasta, 1/160 dilüsyonda 51 hasta 1/320 dilüsyonda 24 hasta tesbit edilmiştir). 114 Rose-Bengal testi pozitif olan hastanın 66'sı (%58) kadın, 48'i (%42)erkekti. Hastaların yaşları 5- 90 arasında olup yaş ortalaması 47 olarak saptanmıştır. Mevsimsel dağılım açısından ise pozitiflik en sık güz aylarında olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Direk Aglütünasyon (Wright), Rose-Bengal

P216 - YETİŞKİNLERDE IGA EKSİKLİĞİ PREVALANSI

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*

Amaç
Immünglobulin A (IgA) eksikliği azalmış serum IgA düzeyi olarak tanımlanır. İzole IgA eksikliği en sık görülen primer immün yetmezlik tipidir. Bu çalışmada evlilik öncesi testlerin yapılması için birinci basamak sağlık kuruluşlarına başvuran sağlıklı kişilerde IgA seviyeleri araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Evlilik öncesi testlerin yapılması için birinci basamak sağlık kuruluşlarına başvuran 2654 kişide nefelometrik yöntemle IgA (Siemens Healthcare Diagnostics) düzeyleri araştırılmıştır.
Bulgular
Kit propektüsünde IgA için referans değeri 0.70-4.0 g/l olarak belirtilmiştir. Çalışmaya alınan 2654 kişinin %1.8'inde IgA düzeyleri 0.70 g/l'nin altında tespit edilmiştir.
Sonuç
IgA eksikliği çoğunlukla asemptomatiktir. Genellikle tesadüfi tespit edilirken nadiren bazı belirtilerle de ortaya çıkabilir. Tekrarlayan infeksiyonlarda IgA eksikliği altta yatan nedenler arasında düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: IgA Eksikliği, IgA, prevalans

IgA eksikliğinin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	<=0.70 g/l	<=0.70 g/l (%)	Toplam
Bayan	21	1.57	1332
Erkek	27	2.04	1322
Toplam	48	1.8	2654

P217 - OTOİMMUN HASTALIKLARIN TANISINDA ANTİ NÜKLEER ANTİKOR VE EXTRACTABLE NÜKLEER ANTİJEN PREVALANSI

Gülşah Aşık[1], Özlem Yoldaş[1], İhsan Hakkı Çiftci[2]
[1]*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Afyonkarahisar*
[2]*Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Sakarya*

Amaç
Otoimmün hastalıkların pek çoğunun tanısında ve aktivitesinin izlenmesinde otoantikor tayini önem arz etmektedir. ANA'ya spesifik antijen ilgili hastalığın tanısına özgül olduğundan, oluşan antikorların hangi antijene karşı oluştuğu klinik açıdan önemlidir. Otoantikor pozitiflik oranı bölgeler ve cinsiyetler arasında farklılık gösterebildiğinden otoantikor prevelansının belirlenmesine yönelik çalışmalar önem taşımaktadır. Çalışmamızda bölgemizdeki otoimmün hastalık profillerinin dağılımının ve otoantikor prevalansının belirlenmesi amacıyla son üç yıla ait ANA ve ENA sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Yöntem
Çalışmaya 2008–2011 tarihleri arasında, hastanemizdeki farklı klinik ve polikliniklerden otoimmün hastalık şüphesi ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuarına gönderilen toplam 2825 serum örneği dahil edilmiştir. Örneklerin tümünde İFA yöntemi ile ANA taranmış ve substrat olarak HEp-2 hücre hattı kullanılmıştır. Hasta serumları 1/100 oranında dilüe edilerek çalışılmış ve 1/100 dilüsyonda ANA pozitif çıkan serumlar için 1/200, 1/400 ve gerektiğinde daha ileri dilüsyonda test tekrarlanmıştır. İFA ile pozitiflik saptanması üzerine kliniklerden istemi yapılmış olan hastaların ENA spesifik antijen subgrupları immunblotting yöntemi ile çalışılmıştır. İmmunblot striplerinde saptanan antikorlar bilgisayarda Euroline Scan programı kullanılarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışma kapsamına alınan 2825 hasta serumundan 2305'inde (%81.6) çeşitli titrelerde ANA pozitifliği saptanmıştır. Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde ANA pozitif saptanan hastaların %72.6'sının kadın olduğu gözlenmiştir. ANA paternlerinin dağılımı sıklık sırasına göre nükleer ince granüler (%37), nükleer kaba granüler (%15.2) ve nükleolar patern (%10.8) olarak saptanmıştır. ANA pozitifliği saptanan ve immunblotting ile spesifik ENA subgrupları çalışılan 235 (%10.2) hastada en az bir parametrenin pozitif olduğu görülmüştür. ENA sonuçları değerlendirildiğinde %2.5 dsDNA, %1.2 scl-70 ve %1.2 ile ro-52 baskın paternler olarak gözlenmiştir.
Sonuç
İFA yöntemi ile ANA varlığı tarandıktan sonra, tespit edilen titre doğrultusunda immunblotting ile doğrulama ve ENA tanımlanması yapılmasının otoimmün hastalıkların tanı ve izleminde daha yararlı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Antinükleer antikor, Extractable nükleer antijen, Otoantikor

ENA subgrupları dağılım

ENA subgrupları (%)	Pozitif	Borderline	Negatif
SSA	17.8	5.6	76.7
SSB	11.1	3.3	85.6
dsDNA	16.7	22.2	61.1
Nucleosom	-	3.3	96.7
CENP B	4.4	4.4	91.1
SCL-70	12.2	8.9	78.9
JO1	1.1	6.7	92.2
Histon	5.6	2.2	92.2
nRNP/Sm	3.3	6.7	90.0
Ro-52	17.8	5.6	76.7

İMMÜNBLOTTİNG İLE SAPTANAN ENA TİPLERİ VE ANA TİTRELERİ

ENA subgrupları	ANA titreleri		
	1/100	1/200	1/400 ve üzeri
SSA	14.3	18.2	26.7
SSB	4.8	12.1	26.7
dsDNA	19.0	15.2	13.3
Nucleosom	-	-	-
CENP B	2.4	9.1	-
SCL-70	14.3	12.1	6.7
Jo-1	7.1	3.0	-
Histon	7.1	3.0	6.7
nRNP/Sm	2.4	6.1	-
Ro-52	14.3	18.2	26.7

P218 - BRUSELLOZ TANISINDA SEROLOJİK TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hafize Kılınçkaya[1], Gözde Öngüt[1], Derya Mutlu[1], Filiz Günseren[2], Meral Gültekin[1]
[1]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Antalya*
[2]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Antalya*

Amaç
Brusellozun kesin tanısı bakterinin kan ve kemik iliği örneklerinden izole edilmesi ile konulmaktadır. Kültür yöntemi, etken mikroorganizmanın yavaş üreme özelliği nedeniyle zaman alıcı ve riskli bir işlemdir. Serolojik testler bruselloz tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Tarama testi olarak, sıklıkla Rose Bengal (RB) testi tercih edilmektedir. RB testi ile saptanan pozitif sonuçların diğer serolojik testlerle doğrulanması önerilmektedir. Standart tüp aglütinasyon (STA) testi, hızlı ve ucuz olması sebebiyle doğrulama amacıyla en sık kullanılan serolojik testtir. STA testi ile, özellikle kronik olgularda bulunan blokan antikorların varlığında veya prezon fenomeni gibi durumlarda yalancı negatif sonuçlar, çapraz reaksiyona bağlı olarak da yalancı pozitif sonuçlar alınabilmektedir. Coombs testi, blokan antikorları ortadan kaldırarak STA testinin duyarlılığını artıran ancak uygulanması zahmetli bir yöntemdir. Blokan antikorlarla birlikte total antikorların saptanmasına olanak sağlayan immunocapture aglütinasyon testi (IcAT) ve ELISA yöntemi ile Brucella antikorlarının araştırılması bruselloz tanısında kullanılan diğer serolojik testlerdir. Bu çalışmada laboratuvarımızda bruselloz tanısında kullanılan RB, STA, IcAT ve ELISA IgG ve IgM testlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Eylül 2010- Eylül 2011 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına gönderilen 154 serum örneğine ait RB, STA, IcAT, ELISA IgG ve IgM sonuçları değerlendirilmiştir. Laboratuvarımızda RB (SEROMED, Türkiye) tarama testi ile pozitif bulunan örnekler, anlamlı pozitiflik sınır değeri >=1/160 olan STA (Spinreact, İspanya) testi ile çalışılmaktadır. Ek olarak Brucellacapt IcAT (Vircell,;İspanya) testi kullanılmaktadır. Bu testte serum örnekleri 1/320 ve 1/640 dilüsyonda çalışılmaktadır, anlamlı pozitiflik sınır değeri 1/320 olarak kabul edilmiştir. Brucella IgG, IgM ELISA (Euroimmun, Almanya) testleri kalitatif/semikantitatif olarak rapor edilmektedir. Bu çalışmada test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş, testler arasındaki tutarlılık kappa indeksi hesaplanarak belirlenmiştir. Test sonuçlarında uyumsuzluk saptanan örnekler için hasta dosya bilgileri taranmıştır.
Bulgular
Toplam 154 serum örneğinin 111'i her dört test ile negatif bulunmuştur. On sekiz örnekte tüm testler ile pozitiflik saptanmıştır. Örneklerin 25'inde test sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. Uyumsuzluk saptanan örnekler incelendiğinde, 12 örnekte yalnız ELISA IgG ve/veya IgM pozitif, yedi örnekte RB, STA ve IcAT pozitif; üç örnekte RB ve ELISA IgG ve/veya IgM pozitif, birer örnekte sırasıyla IcAT ve ELISA IgG ve/veya IgM pozitif, RB, STA ve ELISA IgG ve/veya IgM pozitif, yalnız IcAT pozitif bulunmuştur. IcAT ile saptanan pozitif antikor titreleri STA testine göre 1-2 dilüsyon daha yüksektir. Testler arasındaki tutarlılık hesaplamasında kappa değerleri sırası ile RB ve STA için 0.931, RB ve IcAT için 0.869, RB ve ELISA IGg/IgM için 0.606, STA ve IcAT için 0.929, STA ve ELISA IgG/IgM için 0.531 olarak bulunmuştur.
Herhangi bir testle pozitiflik saptanan toplam 43 örneğin 26'sında RB ve STA testleri birlikte, 25'inde ise IcAT ile birlikte pozitif sonuç vermiştir.
Uyumsuz test sonuçları saptanan 25 örneğe ait hasta bilgileri değerlendirildiğinde, 13 örneğin bruselloz ön tanısı ile izlenen hastalara ait olduğu saptanmıştır.
Sonuç
•Değerlendirilen testler arasında en yüksek tutarlılık RB-STA ve STA-IcAT testleri arasında saptanmıştır.
•RB ve STA testleri ucuz ve uygulanımı kolay olmaları nedeniyle birlikte kullanımı tercih edilebilecek testlerdir.
•RB ve STA test sonuçları negatif bulunan, klinik olarak bruselloz düşünülen olgularda IcAT, kolay uygulanabilir bir test olması nedeniyle Coombs testine alternatif olarak tercih edilebilir.
•ELISA IgG/IgM testlerinin tanı değeri ile ilgili olarak anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Brucella ELISA, Brucellacapt, Rose Bengal, standart tüp aglütinasyon testi

P219- BRUSELLOZ TANISINDA PROKALSİTONİNİN YERİ

Neşe Kaklıkkaya, Gülçin Bayramoğlu, Celal Kurtuluş Buruk, İlknur Tosun
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Trabzon

Amaç
Bruselloz farklı klinik belirti ve bulgularla seyredebilen multisistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Kan, kemik iliği, biyopsi örnekleri ve/veya beyin omurilik sıvısı kültürlerinde Brucella türü bakterilerin üretilmesi enfeksiyonun tanısı için altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Ancak kültürün duyarlılığı çeşitli faktörlere, özellikle de hastalığın evresi ve hastanın daha önce antibiyotik kullanımına bağlı olarak değişebilmektedir. Bruselloz tanısında seroloji ve moleküler testler de kullanılabilmekle beraber bu testlerin de çeşitli dezavantajlarından dolayı tanıyı destekleyebilecek farklı laboratuar testleri arayışları da sürmektedir.
Kalsitonin hormonunun öncülü olan prokalsitonin 116 aminoasit içeren, 13 kDa ağırlığında bir peptid olup, sağlıklı bireylerin serumunda genellikle 0.1 ng/mL'nin altındaki değerlerde bulunur. Serum prokalsitonin düzeylerindeki artış, ağır bakteriyel inflamasyon, sepsis ya da fungal enfeksiyonların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı kan ya da kemik iliği kültüründe Brucella türü bakteriler üreyen bruselloz hastalarında prokalsitonin serum düzeylerinin belirlenmesi ve bruselloz tanısında prokalsitonin testinin kullanılabilirliğinin test edilmesidir.
Gereç-Yöntem
2006-2011 yılları arasında laboruvarımıza gönderilen, kan veya kemik iliği kültürlerinde Brucella türü bakteriler üreyen toplam 31 hasta serumu çalışmaya dahil edildi. Hastaların 11'i kadın, 20'si erkek olup, yaş ortalaması 45.67±20.81 idi. Kontrol grubu olarak hastanemize kan dönorü olarak başvuran 31 sağlıklı bireyden elde edilen serum örnekleri kullanıldı. Hastalardan alınan tüm serum örnekleri, kültür ile eş zamanlı olarak alınmış ve brucella serolojisi çalışılması amacıyla laboratuarımıza gönderilmiş olan örneklerdi. Hasta ve kontrol grubu serum örnekleri çalışılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Serumda prokalsitonin değerlerinin belirlenmesi amacıyla PCT-Q (B.R.A.H.M.S., Henningsdorf, Almanya) kitleri kullanıldı. Test üretici firmanın önerdiği şekilde çalışıldı. Sonuçlar semikantitatif olarak değerlendirildi. 0.5 ng/mL'nin üzerindeki değerler pozitif olarak belirlendi.
Bulgular
Çalışmaya alınan 31 hasta serumunun 15'inde (%48.39) prokalsitonin değerleri tespit edilemeyecek düzeyde bulundu. Toplam 15 hastada (%48.39) prokalsitonin düzeyleri 0 – 0.5 ng/mL değerleri arasında idi. Sadece bir hastada (%3.23) prokalsitonin düzeyi 0.5-2 ng/mL düzeyinde tespit edildi. Kontrol grubundan elde edilen 31 serum örneğinin 5'inde (%16.13) serum prokalsitonin düzeyleri 0-0.5 ng/mL idi. Yirmi altı örnekte (%83.87) prokalsitonin varlığı gösterilemedi.
Sonuç
Çalışmamızda aktif brusellozlu hastaların sadece birinde serum prokalsitonin değeri 0.5 ng/mL' nin üzerinde bulunmuştur. Diğer hasta örneklerinde prokalsitonin değerlerinin yüksek bulunmaması prokalsitonin testinin brusellozda tanısal değerinin olmağını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *bruselloz, prokalsitonin, kültür*

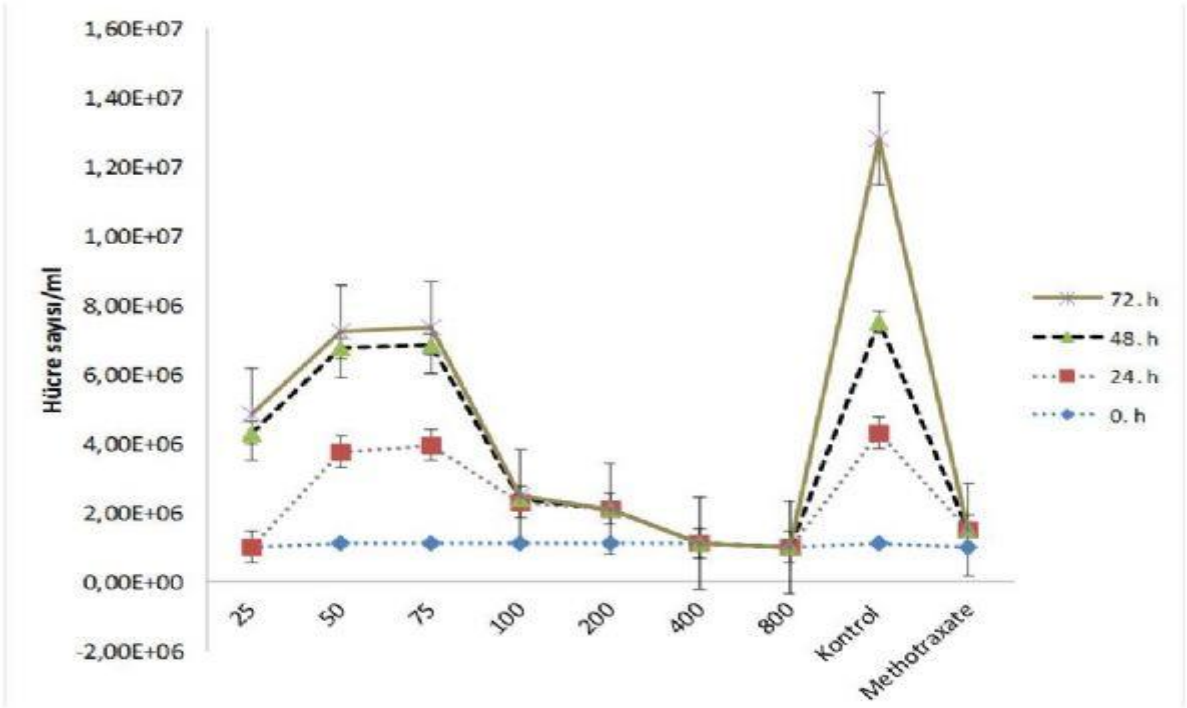
P220 - YENİ BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN İNSAN HEP G2 VE A-498 HÜCRELERİ ÜZERİNDE APOPTOTİK VE ANTİPROLİFERATİF ETKİSİ

Nizami Duran[1], Öztekin Algül[2], Gülay Gülbol Duran[3], Özden Tarı[2]
[1]*Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Hatay*
[2]*Mersin Üniversitesi, Eczacılık fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Mersin*
[3]*Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hatay*

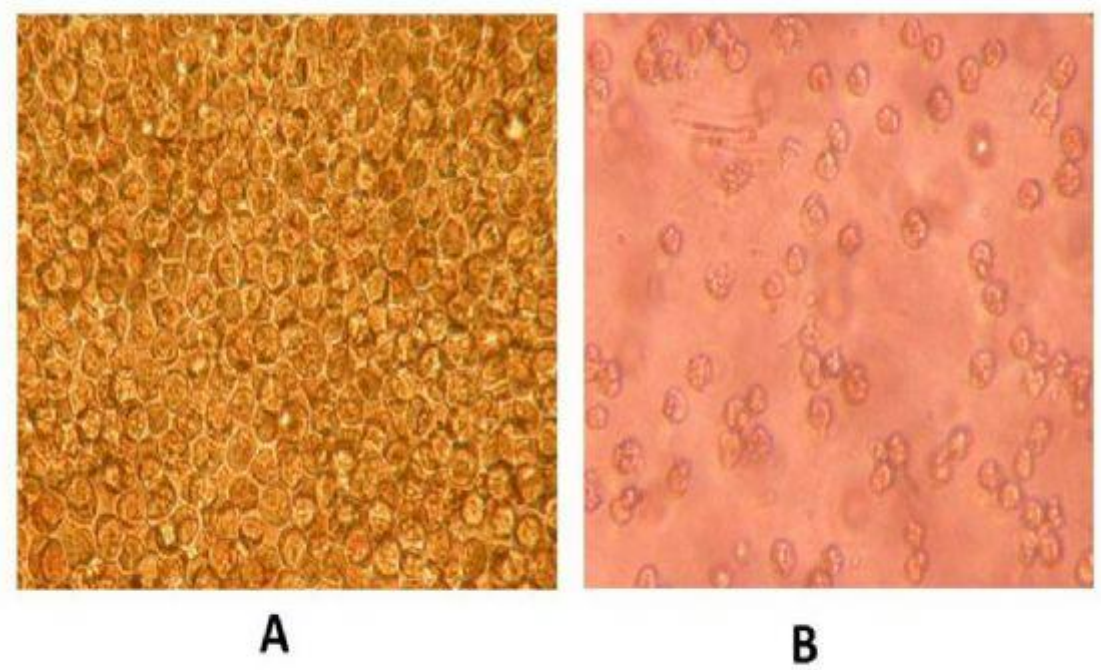
Amaç
Konvansiyonel kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkileri ve tedaviye karşı oluşan direnç sebebiyle kanser hücrelerinin proliferasyonunu durdurucu yeni ilaç araştırma çalışmaları son derece önemlidir. Son yıllarda kanser tedavisi konusunda ümit verici bileşikler arasında anti-proliferatif aktivitelerinden dolayı benzimidazol türevi bileşiklerin önemli bir yeri vardır. Daha önce yapılan çalışmalarda apoptozisi uyaran benzimidazol türevlerin kanser kemoterapisinde ümit verici bileşikler olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada yeni benzimidazol türevi bileşiklerin antineoplastik aktiviteleri HEP G2 (hepatoblastoma) ve A-498 (böbrek kanser hücreleri) üzerinde antiproliferatif etkileri MTT yöntemiyle hücre sayısı ve hücre canlılığı, kaspaz-3 kolorimetrik yöntemiyle apoptozis indüksiyonu ve hTERT gen ekpresyonuyla telomeraz aktivitelerinin ortaya konulması ve karşılaştırılmaları planlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada sentezlenen kimyasal bileşiklerin (OT-7,OT-38, OT-55, OT-56, OT-59, OT-60, OT-69, OT-76) antineoplastik aktivite çalışmaları HEP G2 ve A-498 hücreleri üzerinde antineoplastik etkileri araştırıldı. Sentezlerin antiproliferatif etkinliklerinin varlığını araştırmak için ml'de 1x106 hücre olacak şekilde hücre kültürleri hazırlandı. Hücre adezyonu için 6 saat inkübasyondan sonra kültür besiyerine kimyasal maddelerin farklı konsantrasyonlarını içeren miktarları (800; 400; 200; 100; 75; 50 ve 25 µg/mL) eklendi. Kontrol grubu olarak, içerisinde sadece solvent olarak kullanılan miktarda DMSO ihtiva eden kültürler deney grubuyla aynı anda kültive edildi. Ayrıca, negatif kontrol olarak içerisinde kimyasal madde bulunmayan kültürler ve pozitif kontrol olarak da Metotraksat ihtiva eden hücre kültürleri kullanıldı. Tüm deneyler üç kopya halinde 2 kez tekrarlanarak yapıldı. İnkübasyondan sonra kültür kabı yüzeyine yapışarak çoğalmasına devam eden hücreler %0.25'lik tripsinizasyon solüsyonu ile muamele edilerek santrifüj tüplerine alındı. Hücreler soğutmalı santrifüjde (+4 °C'de) 1500 rpm'de 10 dadika santrifüj edilerek toplanacak ve hücre canlılığı tayini yapıldı. Ayrıca toplanan hücrelerde kaspaz-3 ve hTERT geni ekpresyonu yoluyla telomeraz aktivitesi araştırıldı.
Bulgular
HEP G2 ve A-498 hücreleri hücre morfolojisi ve hücre canlılığı açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında benzimidazol bileşiklerinin doza bağlı olarak antiproliferatif aktivite gösterdiği tespit edildi. İçerisinde 25, 50 ve 75 µg/mL bileşik bulunan kültürlerde canlılık ve CPE (sitopatolojik değişiklikler) bakımından kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Daha yüksek konsantrasyonlarda ise (100, 200, 400 ve 800 µg/mL) canlı hücre sayısında konsantrasyon arttırıldıkça anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Figür 1). Hücrelerde hTERT mRNA ekspresyon düzeyleri real-time PCR cihazı (Roche Diagnostics) ile 24., 48, ve 72. saatlerde analiz edildi. hTERT seviyesinde 100 µg/mL ve üzeri konsantrasyonlarda anlamlı bir azalmanın meydana geldiği tespit edildi ($p<0.001$). MTX içeren kültürlerde ise 24. saatten itiberen hücre üremesinin durduğu canlı hücre sayısında anlamlı derecede azalmanın olduğu tespit edildi ($p<0.001$).
Sonuç
Bu çalışmada yeni benzimidazol türevi bileşiklerin karaciğer ve böbrek karsinom hücreleri üzerinde antineoplastik etki oldukları MTT yöntemiyle ve hTERT geni ekspresyonu yoluyla gösterilmiştir. Bu bileşiklerle yapılacak in vivo çalışmaları kapsayan ileri çalışmalar, bu tür kanserlerin tedavisinde faydalı yeni ilaç üretiminde umut verici olabilir.

Anahtar Kelimeler: HEP G2, A-498, antineoplastik etki, benzimidazol

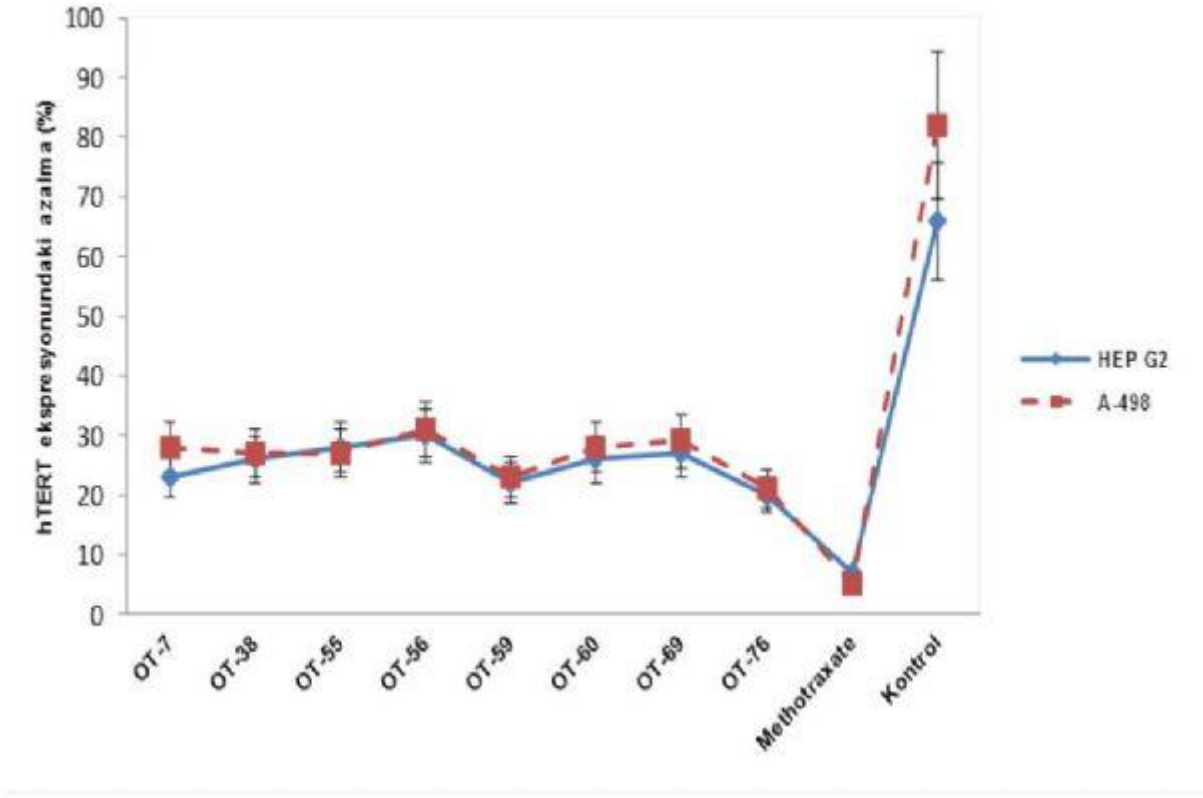
Benzimidazol türevi bileşiklerin (sentez OT-76) HEP G2 hücreleri üzerindeki antineoplastik etkisinin methotraxate ile kıyaslanması.



Figür 2. Benzimidazol türevi bileşiklerin hücre kültürleri üzerinde meydana getirdiği sitopatolojik değişiklikler. A. Kontrol grubu (benzimidazol içermeyen).B. 100 mikrogram/ml düzeyinde OT-76 içeren hücre kültürü.



Figür 3. Benzimidazol türevi bileşiklerin HEP G2 ve A-498 hücre kültürlerinde hTERT geni ekspresyonu üzerindeki etkisinin kontrol grubu hücreleriyle kıyaslanması.



Tablo 1. hTERT ve GAPDH kantifikasyonu için primer ve problar

Primer	Sequence (Sekans)	Amlikon büyüklüğü (bp)
hTERT		
Upper primer	5'-TATGTC CGGAGACC CGTT-3	
Lower primer	5'-GTGCTGTCTGATTCCAATGC-3'	93
Probe	5'-(FAM) CAACTTGCTCCAGACAC CTTCCGG (TAMRA)-3'	
GAPDH		
Upper primer	5'-ATGGGT TGAACCATGA AA-3'	
Lower primer	5'-GTGCTAAGCAGTTGGTG TG-3'	79
Probe	5'-(FAM) CCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCC (TAMRA)-3'	

P221- MİKOBAKTERİ LABORATUVARINA GELEN SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ÖRNEKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İdris Kandemir, **Mustafa Altay Atalay,** Süleyman Durmaz, Selcan Çolakoğlu, Safiye Delice, Hüseyin Kılıç, Ayşe Nedret Koç
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Giriş ve Amaç
Tüberküloz tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2007 yılı itibariyle dünyada 13.7 milyon tüberküloz vakası olup, bunların 0.5 milyonu çoklu ilaca dirençli(ÇİD) tüberküloz olgularıdır. Tüberküloz izoniazid(INH), rifampisin(RIF), etombutol(ETM) ve streptomisin(SM) gibi major ilaçlarla yaklaşık 50 yıldan beri tedavi edilmesine rağmen, günümüzde antitüberküloz ilaç direnci önemli bir sorun oluşturmaktadır.
Bu çalışmada Santral Sinir Sistemi (SSS) enfeksiyon şüphesiyle mikobakteri laboratuvarına gelen klinik örneklerde mikobakteri varlığının ve üreme görülen örneklerde antitüberkülotik ilaçlara direnç durumlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç Ve Yöntem
Ocak 2006-Haziran 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteri Laboratuvarına gönderilen 641 SSS örneği çalışmaya alındı. Gelen klinik örnekler Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi ile boyanıp aside dirençli basil (ARB) varlığı yönünden incelenmiştir. Klinik örneklerin kültürlerinde katı Löwenstein-Jensen (LJ) ve radyometrik sıvı (BACTEC 7H12B) kültür sistemleri kullanılmıştır. Klinik örnekler BACTEC 12B (Becton Dickinson, USA) sıvı besiyerinde 45 gün 37ºC, LJ katı besiyerinde 60 gün 37ºC ve 25 ºC de inkübe edilmiştir. BACTEC 12B sıvı besiyerleri inkübasyon süresinin ilk iki haftasında haftada iki kez, sonraki dört haftada ise haftada bir kez sistemde okutulmuştur. LJ besiyerleri haftada bir kez kontrol edilmiştir. Kültürlerde üreme olduğunda, aside dirençli bakteri varlığı EZN boyama yöntemi ile kontrol edilmiş ve subkültürleri yapılmıştır. Mikobakterilerin tür tanısı BACTEC NAP testi ile çalışıldı. İzoniazid (INH), rifampisin (RIF), streptomisin (SM) ve etambutol (ETM) duyarlılıkları BACTEC 460TB sistemi ile çalışılmıştır.
Bulgular
Ocak 2006-Haziran 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteri Laboratuvarına gönderilen 614 SSS örneğinin 451'i(%73.4) beyin omurilik sıvısı (BOS), 43'ü(%7) intracranial apse (ICA), 120'si(%19.5) doku örneği olarak tespit edildi. Çalışılan 614 klinik örnekten 34'unda (% 5.5) LJ katı besiyeri ya da BACTEC sıvı besiyerinden en az birinde mikobakteri üremiştir. Duyarlılık çalışılan 16 M.tuberculosis complex suşunun 8'i BOS, 7'si doku örneği, 1'i abse örneğiydi. Suşların 3 (%18.7)'ü antitüberkülotik ilaca karşı dirençli olarak bulundu. Dirençli suşlar biri BOS ikisi doku örneğinden izole edilmişti. İlaç direnç oranları SM için %12.5(2), birden fazla ilaca direnç oranı SM+INH % 6.2 (1) idi. RIF ve ETM için ilaç direnci gösterilemedi. İkiden fazla ilaca direnç gösterilemedi
Sonuç
Risk faktörü olan hastalarda meydana gelebilecek SSS enfeksiyon hastalıkları arasında tüberküloz öncelikle düşünülmesi gereken hastalıklardandır. Enfekte kişilerin tedavilerinin geciktirilmemesi için alınan örneklerin mikobakteri laboratuvarına da gönderilip ARB açısından hızla değerlendirilmesi, izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testlerinin en kısa süre içinde yapılarak sonucun bildirilmesi önemlidir

Anahtar Kelimeler: Santral Sinir Sistemi enfeksiyonu, Tüberküloz, ilaç direnci

Tablo 1. Gelen örneklerin dağılımı

ÖRNEK	n	%
BOS	451	73.4
IKA	43	7
Doku örneği	120	19.5

BOS:Beyin Omurilik Sıvısı İKA:İntrakranial Apse

Tablo 2. Duyarlılık çalışılan örnekler

ÖRNEK	n
BOS	8
IKA	1
Doku örneği	7

TABLO 3. M.TUBERCULOSİS COMPLEX SUŞUNUN ANTİTÜBERKÜLOTİK DUYARLILIKLARI

ilaçlar	N	%
INH	-	-
SM	2	18.7
RIF	-	-
ETM	-	-
INH+SM	1	6.2

P222- TÜBERKÜLOZ DIŞI MİKOBAKTERİLERİN TÜR DÜZEYİNDE TANIMLANMASI

Özgür Appak, Aydan Özkütük, Nuran Esen
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Amaç
Tüberküloz dışı mikobakterilerin(TDM) günümüzde 125'den fazla türü tanımlanmıştır. Tüberküloz dışı mikobakteriler çevrede her yerde, sıklıkla toprakta, hem doğal hem de işlenmiş su kaynaklarında bulunmaktadır. Genellikle immün süpresif tedavi alan ya da immün yetmezliği olan insanlarda hastalık oluşturmasına rağmen bağışıklık sistemi normal kişilerde de TDM'lerin neden olduğu enfeksiyonların sıklığı giderek artmaktadır. Tüberküloz dışı mikobakteri türleri arasında klinik seyir ve tedaviler farklılık göstermektedir. Tüberküloz dışı mikobakteri türleri ile meydana gelen enfeksiyonların klinik ve ekonomik açıdan duyarlı olduğu bilinen ilaçlar ile etkin tedavilerine olanak sağlaması amacıyla TDM'lerin tür düzeyinde tanımlanabilmesini sağlayan ucuz, kolay ve hızlı sonuç veren yöntemin uygulanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında, 2004-2010 yılları arasında solunum yolu örneklerinden soyutlanan 156 adet Tüberküloz dışı mikobakteri izolatı çalışmaya alındı. Tüberküloz dışı mikobakterilerin hsp65 gen bölgesini hedef alan Polimeraz zincir tepkimesi-restriksiyon enzim analizi yöntemi (PZT-REA) kullanıldı.
Bulgular
Çalışmamızda Tüberküloz dışı mikobakterilerin tür dağılımı; Mycobacterium abscessus tip 1 (69/156), Mycobacterium xenopi (26/156), Mycobacterium fortuitum (14/156), Mycobacterium porcinum tip 1, Mycobacterium septicum tip 1, Mycobacterium peregrinum tip 2 (14/156), Mycobacterium simiae tip 5, Mycobacterium lentiflavum tip 1, Mycobacterium florentinum tip 1 (5/156), Mycobacterium intracellulare tip 1, Mycobacterium chimaera tip 1 (5/156), Mycobacterium genavense tip 2, M. simiae tip 1 (4/156), Mycobacterium chelonae (2/156), Mycobacterium novocastrense (1/156), Mycobacterium gordonae tip 6 (1/156), Mycobacterium colombiense tip 1, Mycobacterium avium s. avium tip 2 (1/156), Mycobacterium massiliense tip 1, Mycobacterium bolletii tip 1, M. abscessus tip 2 (2/156), M. avium s. avium tip1, M. avium s. paratuberculosis tip 1, M. avium s. silvaticum tip 1 (2/156) olarak sonuçlandı. On TDM izolatı hsp65 PRA yöntemi ile tanımlanamadı
Sonuç
Sonuç olarak, doğada çok yaygın olarak bulunan tüberküloz dışı mikobakteriler günümüzde artan sıklıkta ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Antimikrobiyal duyarlılıklarındaki farklılıklar nedeniyle Tüberküloz dışı mikobakterilerin etkin ve doğru şekilde tedavi edilmesi ayrıca epidemiyolojik verilerin elde edilebilmesi için TDM'lerin tür düzeyinde tanımlanması önemlidir. Bu amaçla kullanılan hsp65 PRA yöntemi, kolay uygulanabilen, hızlı, güvenilir ve ucuz bir yöntemdir.

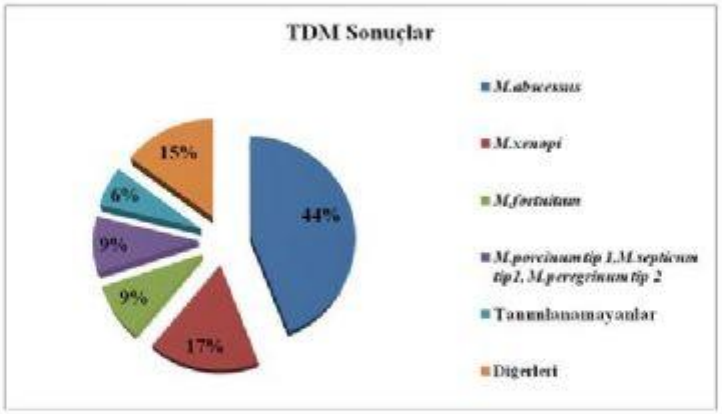
Anahtar Kelimeler: hsp65 PZT-REA, moleküler tiplendirme, tüberküloz dışı mikobakteri

Tüberküloz Dışı Mikobakteri türlerinin örneklere göre dağılımı

Tüberküloz Dışı Mikobakteriler	BL-BAL	Balgam	T.S	Toplam
Mycobacterium abscessus tip 1	42	26	1	69
Mycobacterium xenopi tip 1	11	15	-	26
Mycobacterium porcinum tip 1 Mycobacterium septicum tip 1 Mycobacterium peregrinum tip 2	13	1	-	14
Mycobacterium fortuitum tip 1 Mycobacterium fortuitum s. acetamidolyticum tip 1	6	7	1	14
Mycobacterium simiae tip 5 Mycobacterium lentiflavum tip 1 Mycobacterium florentinum tip 1	4	1	-	5
Mycobacterium intracellulare tip 1 Mycobacterium chimaera tip 1	1	4	-	5
Mycobacterium genavense tip 2 Mycobacterium simiae tip 1	3	1	-	4
Mycobacterium chelonae tip 1	2	-	-	2

Mycobacterium novocastrense tip1	1	-	-	1
Mycobacterium avium s. avium tip1 Mycobacterium avium s. paratuberculosis tip1 Mycobacterium avium s. silvaticum tip 1	2	-	-	2
Mycobacterium massiliense tip 1 Mycobacterium bolletii tip 1 Mycobacterium abscessus tip2	-	2	-	2
Mycobacterium gordonae tip 6	-	1	-	1
Mycobacterium colombiense tip 1 Mycobacterium avium s. avium tip2	-	1	-	1
Tanımlanamayan	3	7	-	10
Toplam	88	66	2	156

TDM sonuçlarının dağılım grafiği



P223 - ASİDE DİRENÇLİ BASİL ARAŞTIRILMASINDA FLOROKROM BOYAMA DUYARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ, ÖN ÇALIŞMA SONUÇLARI

Nurhan Albayrak[1], Hülya Şimşek[1], **Emek Yurdakul Şen[1]**, Figen Sezen[1], Ahmet Arslantürk[1], İsmail Ceyhan[2], Mustafa Ertek[2]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara*
[2]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*

Amaç
Tüberkülozun erken tanısında önemli yeri olan aside dirençli basilin gösterilmesinde sıkça kullanılan Erlich Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi ile ticari modifiye Auramine / Rhodamine boyama yönteminin duyarlılıklarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarına tüberküloz araştırılması için gönderilen 170 akciğer ve akciğer dışı örnek homojenize ve dekontamine edildikten sonra EZN ve ticari modifiye Auramine / Rhodamine yöntemleri ile boyandı. Her örnek bir Löwenstein Jensen besiyerine, bir de MGIT otomatize kültür sistemine ekildi. Değerlendirmeler, tüberküloz tanısında altın standart olan kültür pozitifliği ile karşılaştırılarak yapıldı.
Bulgular
Laboratuvarımıza gönderilen akciğer ve akciğer dışı toplam 170 örneğin 20 (%11,8)'inde kültür sistemlerinden en az birinde pozitiflik tespit edilmiştir. Kültür pozitifliği tespit edilen 20 örneğin 16'sı EZN boyama yöntemiyle, 18'i modifiye Auramine / Rhodamine yöntemi ile pozitif olarak saptanmıştır. Ayrıca, kültür pozitifliği tespit edilmeyen takip hastalarına ait 10 örnek EZN boyama yöntemi ile 9 örnek de modifiye Auramine / Rhodamine yöntemi ile pozitif olarak saptanmıştır.
Sonuç
Çalışmamız henüz başlangıç aşamasında olmak ile birlikte, modifiye Auramine / Rhodamine yönteminin tüberkülozun hızlı tanısına katkı sağlayacağı görülmektedir. Ancak duyarlılık çalışmalarının akciğer ve akciğer dışı örneklerdeki başarısının ayrı ayrı ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: ARB, EZN, Florokrom boyama

P224 - MİKOBAKTERİ LABORATUVAR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ (2006-2010)

Nural Cevahir, Melek Demir, Ergun Mete, **Orçun Zorbozan**, Fatma Ozansoy, Çağrı Ergin, İlknur Kaleli
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli

Amaç
Tüberküloz insanlık tarihinin en eski ve mortalitesi oldukça yüksek hastalıklarından biri olup günümüzde de önemini korumaktadır. Tüberkülozdan korunmada en etkin yöntem, hastaların erken tanı ve tedavisidir. Tüberküloz etkeni mikobakterileri saptamada altın standart kültürdür. Bu çalışmada 2006-2010 yılları arasında mikobakteri araştırılması istemiyle laboratuvarımıza gönderilen örneklerin sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına mikobakteri araştırılması istemiyle Ocak 2006-Aralık 2010 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden gönderilen boyama ve kültür sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Gelen klinik örnekler Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi ile boyanıp, aside dirençli basil yönünden incelendi. Klinik örneklerin kültürlerinde Löwenstein-Jensen besiyeri ve BacT/Alert sistemi veya MGIT 960 sistemi kullanıldı.
Bulgular
Laboratuvara gönderilen toplam 4600 örneğin sonuçları değerlendirildi. Örneklerin 34'ü EZN boyama ile pozitif bulunurken, 141 örnekte ise kültür ile pozitiflik bulundu. Örneklerin 32'sinde ise hem boyama hem kültür pozitifliği birlikteydi.
Sonuç
Tüberküloz tanısında EZN boyama ve kültürün birlikte yapılması etkeni tesbit etmede önemini korumaktadır.

Anahtar Kelimeler: Erlich-Ziehl-Neelsen boyama, Mikobakteri, Tüberküloz kültürü

P225- ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ TÜBERKÜLOZUN TESPİTİNDE KULLANILAN HIZLI İLAÇ DİRENCİ TESTLERİNİN DUYARLILIĞININ KONVANSİYONEL YÖNTEMLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Hülya Şimşek[1], Nurhan Albayrak[1], **Kenan Murat[1]**, Ahmet Arslantürk[1], Figen Sezen[1], İsmail Ceyhan[2], Mustafa Ertek[2]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara*
[2]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*

Amaç
Bu çalışmamızda Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarına 2011 yılı itibarı ile hızlı direnç testi ve fenotipik ilaç duyarlılık testi çalışılmak üzere gönderilen örneklerin sonuçlarının retrospektif olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza hızlı ilaç direnci testi çalışılmak üzere gönderilen ARB (+) örnekler homojenizasyon, dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemlerin tabi tutulduktan sonra Rifampisin (RIF) ve İzoniyazid (INH) açısından MDR-TB Line-Prob Assay (LPA) yöntemi ile genotipik direnç araştırılması ve Löwenstein-Jensen besiyerinde proporsiyon yöntemi ile fenotipik ilaç dirençleri tespit edilmiştir. MDR-TB LPA testi ile RIF için rpoB gen bölgesindeki mutasyon, INH için katG ve inhA gen bölgesindeki mutasyonlar saptanmıştır.
Bulgular
Laboratuvarımıza 2011 yılı itibarı ile toplam 200 örnek moleküler yöntemler ile hızlı RIF ve INH direnci araştırılması için gönderilmiş, toplam 24 örnekte RIF ve INH direnci birlikte, yani Çoklu İlaç Dirençli-TB (ÇİD-TB) tespit edilmiştir. Genotipik olarak üç örnekte tek başına RIF direnci, 13 örnekte de tek başına INH direnci saptanmıştır. Genotipik olarak ÇİD-TB olarak tespit edilen 24 örneğin 23'ü fenotipik olarak da RIF ve INH'a dirençli bulunmuş, bir örnek sadece RIF dirençli olarak tespit edilmiştir. İzole rpoB gen bölgesinde mutasyon olan üç örneğin üçü de fenotipik olarak dirençli olarak belirlenmiştir. Ancak izole INH gen bölgelerinden birinde mutasyon olan 13 örneğin sadece ikisinde fenotipik direnç tespit edilmiştir.
Sonuç
Sonuç olarak, ÇİD-TB'nin tespitinde hızlı moleküler direnç testlerinin kullanılması erken tanı açısından önemini korumaktadır. Ancak genotipik olarak izole INH direnci tespit edilen örneklerin fenotipik yöntemler ile doğrulanması daha akılcı bir yaklaşım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Hızlı ilaç direnci, Çoklu İlaç Dirençli-TB, Line Prob Assay

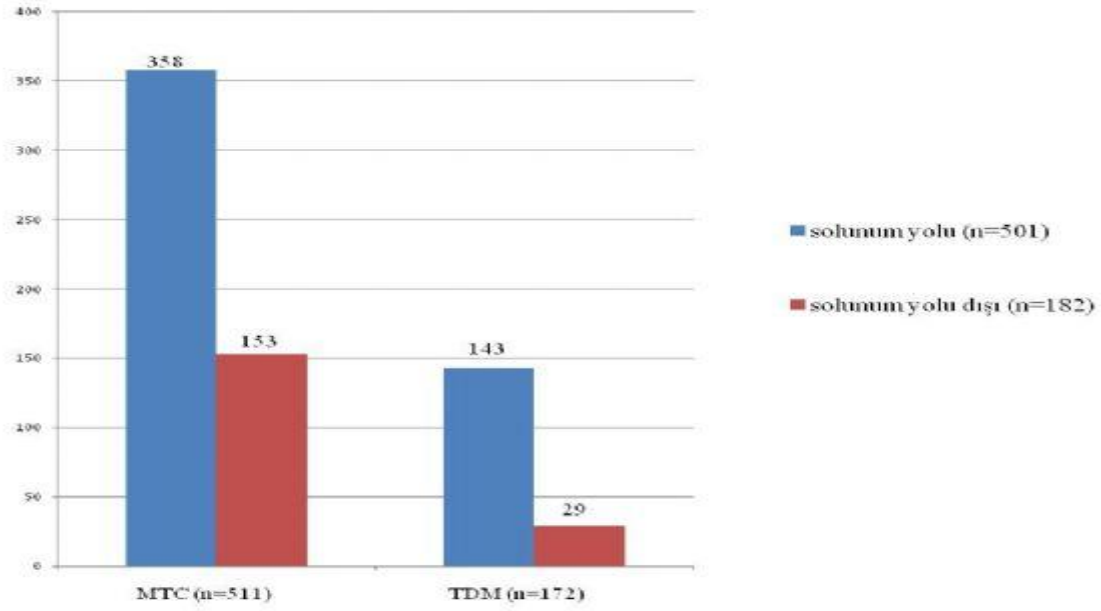
P226 - DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ MİKOBAKTERİYOLOJİ LABORATUVARI ON YILLIK VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Selçuk Türkel, Aydan Özkütük, Nuran Esen
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Amaç
Tüberküloz dünyada ve ülkemizde çok önemli bir sağlık sorunudur. Hastalığın kontrol altına alınmasında prevalansın bilinmesi, erken tanı ve ilaç duyarlılıklarının takip edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı on yıllık süreçte tüberküloz ön tanısı ile laboratuvarımıza gönderilen örneklerin analiz edilerek direkt bakı ve kültür pozitiflik oranlarının belirlenmesi, tür tanısı ve ilaç duyarlılık profillerinin değerlendirilmesi sonucunda hastanemize ait epidemiyolojik verilerin elde edilmesidir.
Gereç-Yöntem
01.01.2000 - 01.01.2010 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısı ile laboratuvarımıza gönderilen 10453 klinik örneğin sonuçları bu çalışmada geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Örneklerin direkt bakılarının değerlendirilmesinde Kinyoun boyama yöntemi kullanılmış olup kültür için Lowenstein Jensen besiyeri ve BACTEC 460 TB kültür yöntemleri birlikte kullanılmıştır.Mycobacterium tuberculosis complex ve tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) ayırımında koloni morfolojisi ve üreme hızı değerlendirilmiş ve BACTEC 460 TB NAP testi uygulanmıştır. Mycobacterium tuberculosis complex olarak sonuçlanan kültürlere BACTEC 460 TB ile duyarlılık testi çalışılmıştır.
Bulgular
Gönderilen 10453 klinik örneğin 6217'si (%59.5) solunum yoluna ait ve 4236'sı (%40.5) solunum yolu dışı örneklerden oluşmaktadır. Örneklerin 257'si (%2.5) ARB pozitif olarak değerlendirilmiş ve tüm örneklerin 683'ünde (%6.5) kültürde üreme olmuştur. Kültür pozitif örneklerde ARB pozitiflik oranı %37.6 olarak değerlendirilmiştir. Kültür pozitif 683 örneğin 511'i (%74.8) M. tuberculosis complex , 172'si (%25.2) TDM olarak identifiye edilmiştir. Kültür pozitif örneklerin 501'i (%73.3) solunum yoluna ait örnekler olup bunların 358'i M. tuberculosis complex, 142 si TDM olarak sonuçlanmıştır. Solunum yolu dışına ait 182 (%26.7) örneğin de 153'ü M. tuberculosis complex,29 u da TDM olarak tanımlanmıştır. Kültür pozitif solunum yolu örneklerindeki ARB pozitif direkt bakı oranı %45.9 iken kültür pozitif solunum yolu dışı örneklerdeki ARB pozitif direkt bakı oranı % 14.8'dir. Toplam 287 farklı hastaya ait 511 M. tuberculosis complex üremesinin 452'sine duyarlılık testi çalışılmış ve 399'u (%88.3) birinci seçenek anti tüberküloz ilaçlara (rifampisin-izoniazid-streptomisin-etambutol) duyarlı olarak bulunmuştur. Tek başına ilaç direnci izoniazid için %4.9 ve streptomisin için %2.9 olarak belirlenmiştir. Diğer ilaçlarda tek ilaca direnç saptanmamıştır. Çok ilaca dirençli izolat oranımız %2.9 olarak belirlenmiş, üçlü ilaç direnç oranı ise %0.9 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Tüberküloz kontrolünde epidemiyolojik izlem çok önemlidir. Laboratuvarların kendi epidemiyolojik verilerini düzenli takip etmesi ve ülkemiz mikobakteriyoloji laboratuarlarında kullanılan yöntemlerin ve elde edilen verilerin paylaşılması sonuç olarak daha sağlıklı ve geniş epidemiyolojik veri havuzunun oluşmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antitüberküloz ilaç duyarlılık testi, Mycobacterium tuberculosis complex, Tüberküloz dışı mikobakteri

Tablo 1.



Kültürde üreme olan 683 örneğin tipi ve üreme sayıları

Tablo 2.

	İlaç	n	%
Tek ilaç direnci	izoniazid	22	4.9
	rifampisin	0	0
	etambutol	0	0
	streptomisin	13	2.9
Birden çok ilaç direnci	izoniazid- streptomisin	3	0.7
	izoniazid- rifampisin	11	2.5
	izoniazid- rifampisin-streptomisin	2	0.4
	izoniazid- streptomisin-etambutol	2	0.4
TOPLAM		**53**	**11.8**

Tekli veya birden çok anti tüberküloz ilaca dirençli izolat sayıları ve direnç oranları

P227 - TULAREMİ LENFADENİTİ ŞÜPHESİ İLE ALINAN LENF ASPİRATI ÖRNEKLERİNDE M. TUBERCULOSİS KOMPLEKS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Nurhan Albayrak[1], Bekir Çelebi[2], **Semra Kavas[1]**, Hülya Şimşek[1], Selçuk Kılıç[2], Figen Sezen[1], Ahmet Arslantürk[1], İsmail Ceyhan[3], Mustafa Ertek[3]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara*
[2]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Parazitoloji ve Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı, Ankara*
[3]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara*

Amaç
Türkiye'de tüberküloz lenfadenit ve orofaringeal tularemi bildirimleri son yıllarda belirgin olarak artmıştır. Tüberküloz lenfadenit klinik ve histopatolojik olarak tularemi ile karışabilmektedir. Çalışmamızda 2009-2011 yıları arasında Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı'na tularemi lenfadeniti şüphesi ile gönderilen servikal lenf aspiratı örneklerinde Mycobacterium tuberculosis kompleksin varlığı araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Zoonotik Hastalıklar Laboratuvarı'na tularemi lenfadeniti şüphesi ile gönderilen, ancak Ulusal Tularemi Referans Laboratuvarı'na tularemi lenfadeniti şüphesi ile gönderilen, kültür, PCR ve serolojik tanı yöntemleriyle negatif bulunan 105 lenf aspiratı örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Lenf aspiratı örnekleri Ulusal Tüberküloz Laboratuvarı'nda homojenizasyon – konsantrasyon - dekontaminasyon işlemlerini takiben bir Löwenstein Jensen bir de sıvı bazlı MGIT besiyerine ekilmiş ve M. tuberculosis kompleks DNA varlığı Real Time PCR (RT-PCR) kiti (Qiagen, Germany) ile araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak; F. tularensis PCR negatif, mikroaglütinasyon testi ile F. tularensis antikorları pozitif olarak bulunan 65 hastanın lenf aspiratı kullanılmıştır.
Bulgular
Farklı coğrafik bölgelerden tularemi araştırılması amacı ile yollanan 105 örneğinyedisi RT-PCR testiyle, üç örnekise kültür yöntemleri ile pozitif olarak tespit edilmiştir. 105 örneğin dokuzu (%8.6) RT-PCR ya da kültür yöntemlerinden herhangi biri ile pozitif olarak saptanmıştır. Bir örnek hem kültür, hem de RT-PCR pozitif olarak bulunmuştur. M. tuberculosis kompleks saptanan dokuz örneğin üçünün tulareminin en sık görüldüğü Yozgat ilindengelen örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Tularemi serolojisi açısından pozitif bulunan kontrol grubu örneklerinde M. tuberculosis kompleks tespit edilmemiştir.
Sonuç
Bu ön çalışmadan elde edilen veriler, tularemi lenfadenitinden şüphelenilen olgularda tüberküloz lenfadenitinin de akılda tutulması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma ile tularemi servikal lenfadenitli olguların bir kısmının aslında tuberküloz lenfadeniti olduğu ve bu olgularda eş zamanlı olarak M. tuberculosis kompleks araştırılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, Tularemi, Lenfadenit

P228 - MERSİN İLİNDE ÇİĞ SÜTLERDEN MYCOBACTERİUM BOVİS VE TÜBERKÜLOZ DIŞI MİKOBAKTERİLERİN İZOLASYONU VE TANIMLANMASI

Fatma Esin Aydın[1], **Mahmut Ülger[1]**, Gürol Emekdaş[1], Gönül Aslan[1], Selami Günal[2]
[1]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Mersin*
[2]*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Malatya*

Amaç
İnsanlardaki zoonotik tüberküloz (TB)'un en önemli etkeni Mycobacterium bovis ve tüberküloz dışı mikobakteri (Nontuberculous mycobacteria-NTM)'leridir. Gelişmiş ülkelerde, hayvan TB'u kontrol programları ile birlikte süt pastörizasyonu, sığırlarda ve insanlarda M. bovis'in neden olduğu hastalık insidansını azaltmıştır. Enfekte hayvanlardan mikobakterilerin insanlara geçişi, enfekte süt ve pastörize edilmemiş çiğ süt ürünlerinin tüketilmesi ile olmaktadır. Pastörize edilmemiş sütlerden üretilen ürünlerin, M. bovis ve NTM gibi mikobakterilerin de içinde olduğu bazı bulaşıcı hastalıkları taşıdığı belirtilmektedir. Çalışmamızda, çiğ sığır süt örneklerinde M. bovis ve NTM türlerinin izolasyonu ve tanımlanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada, Nisan-Haziran 2008 döneminde Mersin ilindeki beş köyden toplam 145 çiğ sığır süt örneği toplandı. Bu çiğ sığır süt örnekleri santrifüj edilerek kaymak ve pellet tabakalarına ayrıldı ve her bir tabaka ayrı ayrı çalışıldı. Bu örneklerde Erlich Ziehl Neelsen (EZN) boyama yöntemi, Löwenstein Jensen (LJ) besiyerinde kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile mikobakteri varlığı arandı.
Bulgular
Toplanan 145 çiğ süt örneğinden hazırlanan yaymaların EZN boyama sonucunda sadece bir (%0.7) çiğ süt örneğinde aside dirençli basil (ARB) görüldü (duyarlılık %9.1, özgüllük %100), 11 örneğin (%7.6) LJ besiyerinde kültürü pozitif olarak belirlendi ve altı örnekte (%4.1) "in-house" PCR ile mikobakteri DNA'sı tesbit edildi (duyarlılık %54.5, özgüllük %100). Kültür pozitif bir örneğin hem kaymak hem de pellet tabakasında mikobakteri izole edildi. Pellet örneklerinden izolasyon oranı (%75) kaymak örneklerine (%25) göre daha fazlaydı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Ayrıca pellet örnekleri için selektif (gliserolsüz, %0.4 sodyum piruvatlı) LJ besiyeri/ticari LJ besiyeri kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Kültür işlemlerinde selektif LJ besiyeri kullanımı ile ticari LJ besiyeri kullanımının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo). Tanımlama işlemi geleneksel biyokimyasal testler, PCR-Restricition Fragment Lenght Polymorphisms (PCR-RFLP) ve Spoligotiplendirme (Spacer oligonucleotide typing) yöntemleriyle yapıldı. Kültürde izole edilen toplam 12 izolattan biri Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTC) ve 11'i de NTM olarak tanımlandı. PCR-RFLP sonuçlarına göre 11 NTM izolatının altı (%54.5)'sı M. genavense, iki (%18.2)'si M. simiae, iki (%18.2)'si M. szulgai ve bir (%9.1)'i de M. fortuitum olarak belirlendi. MTC izolatı spoligotiplendirme yöntemi ile M. bovis olarak tanımlandı.
Sonuç
Bölgemizde çiğ sığır süt örneklerinde %6.9 oranında NTM, %0.7 oranında ise M. bovis izole edilerek insanların bu mikroorganizmalara direkt temas yoluyla veya pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketilmesiyle maruz kalabilecekleri gösterilmiştir. Bu sebeple, bütün çiğ süt ürünleri tüketilmeden önce pastörize edilmeli, zoonotik TB'un ortadan kaldırılması için kontrol programları uygulanmalı, halk sağlığı eğitimi ile hijyen uygulamalarına gereken önem verilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Çiğ süt, İzolasyon, Mycobacterium bovis, Tanımlama, Tüberküloz dışı mikobakteri

Tablo I. Toplam 145 çiğ sığır sütünün kültür, ARB ve PCR yöntemleri ile pozitif ve negatif olarak tespit edilen kaymak ve pellet örneklerinin sayısı ile duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerleri.

			Kültür (n=11)			Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
			Pozitif (%)	Negatif (%)	Toplam (%)				
ARB (n=1)	Kaymak	Pozitif	1 (0.7)	0 (0)	1 (0.7)	%9.1	%100	%100	%93.1
		Negatif	10 (6.9)	134 (92.4)	144 (99.3)				
		Toplam	11 (7.6)	134 (92.4)	145 (100)				
	Pellet	Pozitif	0 (0)	0 (0)	0 (0)	%0	%100	-	%92.4
		Negatif	11 (7.6)	134 (92.4)	145 (100)				
		Toplam	11 (7.6)	134 (92.4)	145 (100)				
PCR (n=6)	Kaymak	Pozitif	1 (0.7)	0 (0)	1 (0.7)	%9.1	%100	%100	%93.1
		Negatif	10 (6.9)	134 (92.4)	144 (99.3)				
		Toplam	11 (7.6)	134 (92.4)	145 (100)				
	Pellet	Pozitif	5 (3.4)	0 (0)	5 (3.4)	%45.5	%100	%100	%95.7
		Negatif	6 (4.1)	134 (92.4)	140 (96.6)				
		Toplam	11 (7.6)	134 (92.4)	145 (100)				

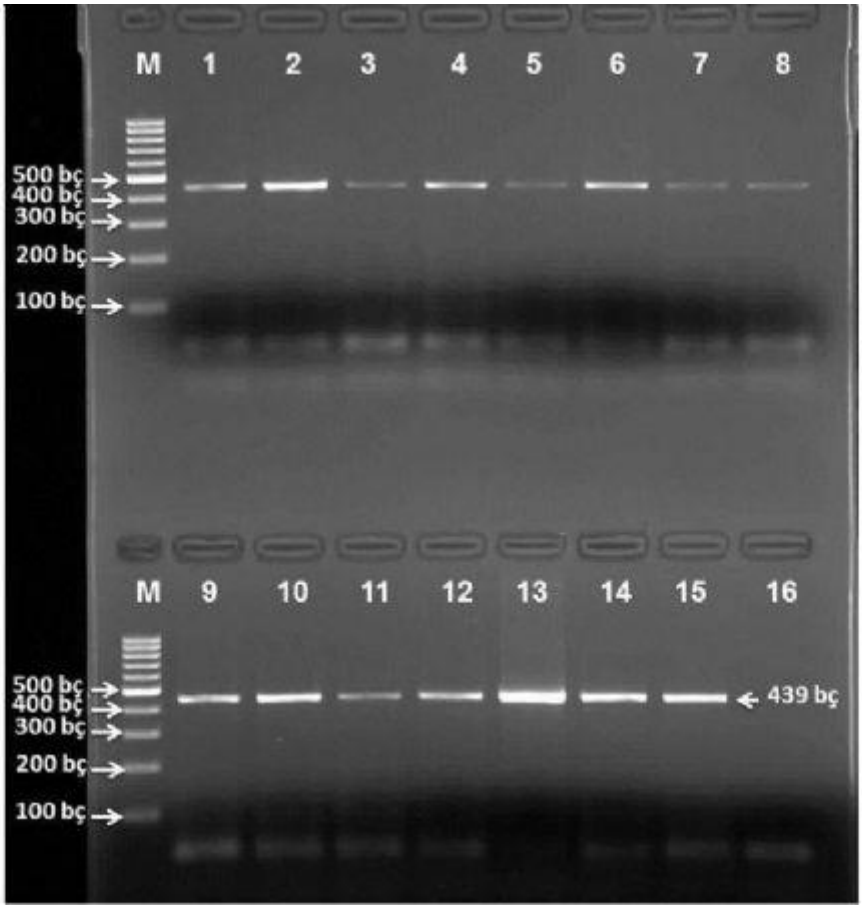
PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer

Tablo II. Kaymak ve pellet örneklerinin LJ ve selektif LJ besiyerinde üreyen izolatlarının sayısı.

		İzolat Sayısı (n=12)		
	LJ Besiyeri (%)	*Selektif LJ Besiyeri (%)	Toplam (%)	p
Kaymak	2 (16.7)	1 (8.3)	3 (25)	0.99
Pellet	1 (8.3)	8 (66.7)	9 (75)	0.01
Toplam	3 (25)	9 (75)	12 (100)	0.04
p	0.99	0.01	0.04	

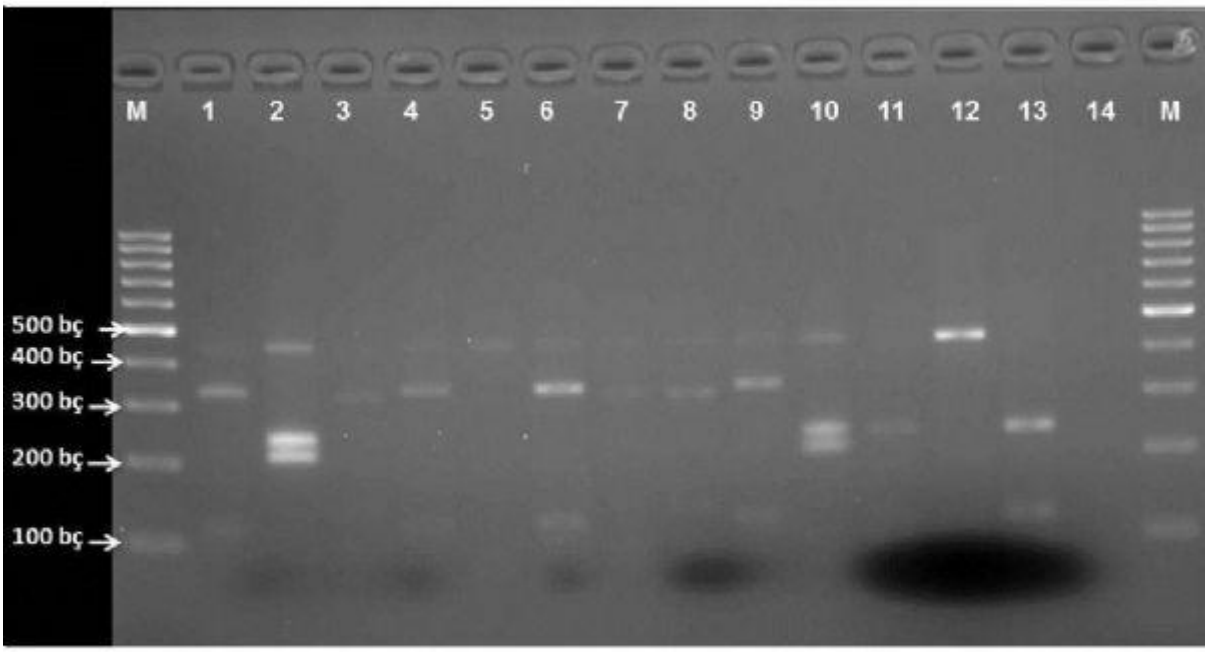
**** Selektif LJ Besiyeri (gliserolsüz, %0.4 sodyum piruvatlı)***

Şekil 1. Çiğ sığır süt örneklerinden izole edilen 12 izolatın 439 bç'lik mikobakteriyal DNA fragmanlarının %1.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.



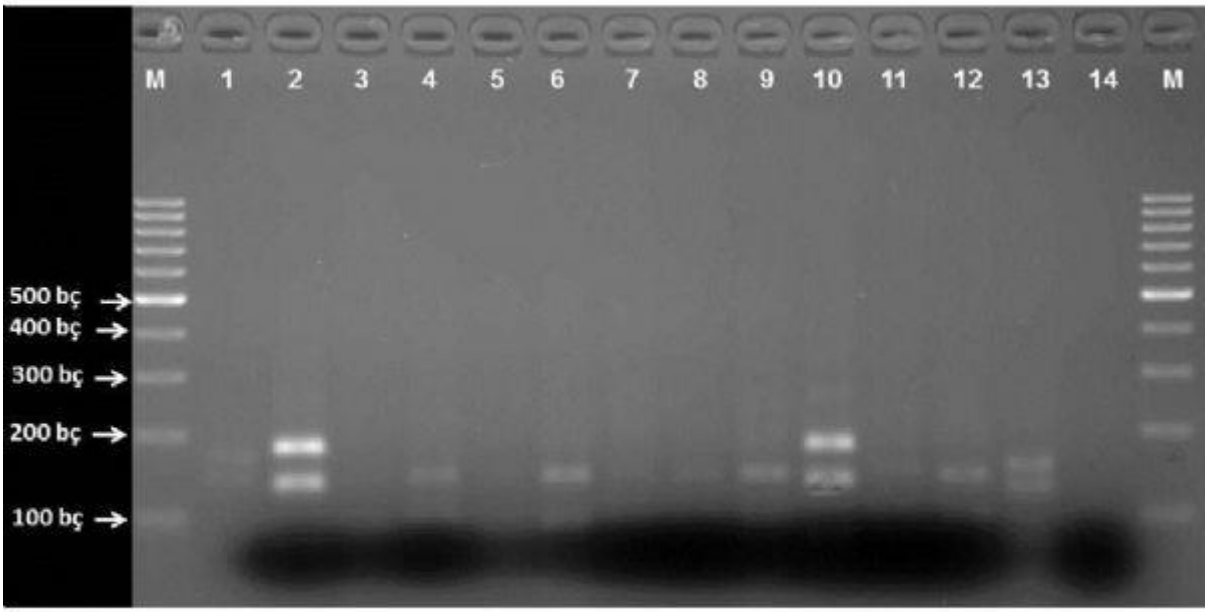
M: 100 bç'lik moleküler ağırlık standardı (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, SM0241, Fermentas), Kolon 1-12: İzole edilen 12 mikobakteriyal izolat, Kolon 13: M. tuberculosis H37Rv, Kolon 14: M. bovis 14002.001, Kolon 15: M. fortuitum ATCC 6841, Kolon 16: Negatif kontrol.

Şekil 2. PCR-RFLP yönteminde 12 mikobakteriyal izolatın BstEII enzimi ile kesimi sonrası oluşan DNA fragmanlarının %1.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

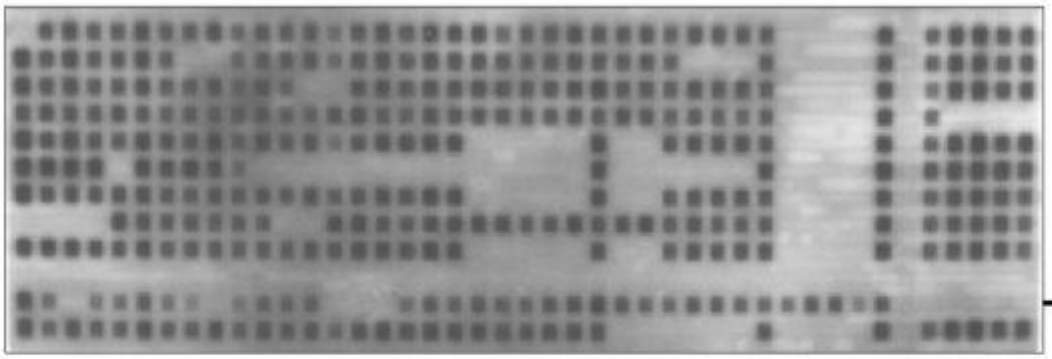


M: 100 bç'lik moleküler ağırlık standardı (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, SM0241, Fermentas), Kolon 1-12: 1-12 numaralı izolatlar, Kolon 13: M. tuberculosis H37Rv, Kolon 14: Negatif kontrol.

Şekil 3. PCR-RFLP yönteminde 12 mikobakteriyal izolatın HaeIII enzimi ile kesimi sonrası oluşan DNA fragmanlarının %1.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.



Şekil 4. M. bovis için karakteristik olan ikili kod (binary code), sekizli kod (octal code) ve DR lokuslarındaki boşluk bölgelerinin spoligotiplendirme X-ray filmi görüntüsü.



Binary code	Octal code	SIT	Clade
■■□■■■■■□■■■■□□□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	676743777777600	694	*M. bovis*

P229 - MERSİN İLİNDEKİ AKCİĞER DIŞI TÜBERKÜLOZ OLGULARININ MİKROBİYOLOJİK VE DEMOGRAFİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Gönül Aslan[1], **Mahmut Ülger[1]**, Feza Otağ[1], Duygu Düşmez Apa[2], Gülden Ersöz[3], Oğuz Köksel[4], Erdal Doruk[5], Necdet Kuyucu[6], Cengiz Özcan[7], Gürol Emekdaş[1]
[1]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin*
[2]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Mersin*
[3]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin*
[4]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Mersin*
[5]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Mersin*
[6]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin*
[7]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin*

Amaç
Mycobacterium tuberculosis, çeşitli doku ve organlara yerleşerek hastalık oluşturmakta, akciğer dışında yerleşen tüberküloz (TB) akciğer dışı tüberküloz (ADTB) olarak adlandırılmaktadır. Tanı yöntemlerinin gelişmesine bağlı olarak ADTB sıklığı yıllar içinde artış göstermektedir. Bu çalışmada Ocak 2005-Aralık 2010 tarihleri arasında bölgemizdeki kültür pozitifliği doğrulanmış ADTB olgularımızın organ ve doku lokalizasyonları açısından dağılım ve demografik özelliklerinin incelenmesi ile tanıda kullanılan yöntemlerin tanısal performanslarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden ADTB şüpheli 2230 hastadan gönderilen toplam 3280 klinik örnek rutin işleme alındı. Tüm örnekler, N-asetil-L-sistein (NALC)-NaOH yöntemiyle homojenize ve dekontamine edilip Ehrlich-Ziehl Neelsen (EZN), klasik kültür yöntemi Löwenstein-Jensen (LJ) ve hızlı otomatize sistemler (BACTEC 460 TB/BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube [MGIT] 960) ile Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTC) yönünden değerlendirildi. Kültüründe (LJ/BACTEC 460 TB/BACTEC MGIT 960) MTC üremesi tespit edilen hastalar çalışma grubuna dahil edilerek retrospektif olarak değerlendirildi.
Bulgular
ADTB şüpheli 2230 hastanın 104 (%4.7)'ünde kültür yöntemleri ile MTC üremesi tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen 104 hastanın 59 (%56.7)'u erkek, 45 (%43.3)'i kadın, yaş ortalaması 43.4 (1-97) idi. On dokuz (%18.3) hastada diabetes mellitus, alkolizm, malignensi gibi altta yatan medikal problemler vardı. Üç (%2.9) hastada önceden TB geçirme öyküsü vardı. Biyopsi yapılan 35 (%33.7) hastanın 24 (%68.6)'ünde kazeifikasyon nekrozu saptandı. ADTB sıklığı tutulum yerlerine göre TB lenfadenit %33.7, genito-üriner sistem TB'u %19.2, TB plörezi %18.3, kemik-eklem TB'u %12.5, TB menenjit %10.6, diğer materyallerde (açlık mide suyu, dışkı) %3.9 ve periton TB'u da %1.9 olarak belirlendi. Çalışmada 28 (%1.3) hastanın klinik örneğinde aside dirençli basil (ARB) pozitifliği belirlendi. ARB pozitifliği belirlenen hastaların 20 (%71.4)'sinin kültürleri pozitifken sekiz (%28.6)'inin kültürlerinde üreme olmadı.
Sonuç
Bölgemizde Ocak 2005-Aralık 2010 tarihleri arasında ADTB görülme sıklığı %4.7 olarak bulundu. Olguların en üretken yaşlarda görülmesi ülkemizin ekonomik kaybının boyutlarını göstermesi açısından önemlidir. ADTB tanısındaki gecikmeler tedavide sorunlara yol açmakta bu ise mortalite ve morbiditenin artmasına neden olmaktadır. ADTB olgularını takip eden her kliniğin mikrobiyoloji laboratuvarı ile iletişim halinde olması güvenilir veriler elde edilmesi açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer dışı tüberküloz, Kültür, Mycobacterium tuberculosis

Tablo 1: ADTB şüphesi ile gönderilen 3280 klinik örneğin kültür ve ARB sonuçları ile duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD).

		Kültür		Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
		Pozitif	Negatif				
ARB	Pozitif	20	8	%19.2	%99.8	%71.4	%97.4
	Negatif	84	3168				

PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer

Tablo 2: Kültür pozitif saptanan 104 hastanın klinik özellikleri.

Klinik veri	n	%

Önceden TB geçirme	3	2.9
TB'lu hasta ile temas (aile içi)	9	8.7
Eşlik eden diğer hastalıklar (malignite/DM)	19	18.3
Sigara öyküsü	14	13.5
Histopatolojik tanı	35	33.7
Klinik bilgisine ulaşılamayan hasta	24	23.1

DM: Diabetes mellitus

Tablo 3: ADTB olgularının tutulum yerlerine göre dağılımı.

Klinik Örnek	n	%
Biyopsi	35	33.7
İdrar	20	19.2
Plevra sıvısı	19	18.3
Kemik-eklem	13	12.5
BOS	11	10.6
Diğer (Açlık Mide Suyu, Dışkı)	4	3.9
Periton	2	1.9

P230 - TÜBERKÜLOZ PLÖREZİLİ 69 HASTANIN MİKROBİYOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Mehmet Yarpuzlu[1], Mahmut Ülger[1], Gönül Aslan[1], Seda Tezcan[1], Oğuz Köksel[2], Mukadder Çalıkoğlu[3], Ahmet Ilvan[3], Gürol Emekdaş[1]
[1]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Mersin*
[2]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi A.BD, Mersin*
[3]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları A.BD, Mersin*

Amaç
Tüberküloz plörezi (TP), tüberküloz (TB) lenfadenitten sonra ikinci sıklıkta karşılaşılan ekstrapulmoner TB formu olup plevral efüzyonun en önemli etkenlerinden biridir. Kesin bir TP tanısı, uyumlu bir klinik ve histopatoloji ile birlikte, enfekte bireyin vücut sıvısı veya dokusundan Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)'in kültürde üretilmesini gerektirmektedir. Bu çalışmada, bölgemizdeki TP şüpheli hastaların mikobakteriyoloji ve histopatoloji sonuçlarının demografik verileri ile değerlendirilerek retrospektif olarak incelenmesi ve bölgemizdeki TP'li hastaların özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Kasım 2003-Ocak 2011 döneminde Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na TP şüpheli 461 hastanın, çeşitli kliniklerden gönderilen toplam 654 klinik örneği incelenmiştir. Klinik materyalinde asido rezistan basil (ARB) pozitifliği saptanan, kültüründe MTC izole edilen ve histopatolojik olarak TP tanısı alan hastalar çalışma grubumuza dahil edilmiştir.
Bulgular
Çalışmamızda TP şüpheli 461 hastanın 69 (%14.9)'una mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler ile TP tanısı konulmuştur. TP tanılı 69 hastanın 35 (%50.7)'inde kültür pozitifliği, altı (%8.6)'sında Ehrlich Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile ARB pozitifliği ve 52 (%75.3)'sinin histopatolojik inceleme sonuçlarının kronik granülomatöz enflamasyon olduğu saptanmıştır. Hastaların 41 (%59.4)'i erkek, 28 (% 40.6)'i kadın ve yaş ortalamaları 43.3 (8-84) olarak bulundu. TP tanısı alan hastaların retrospektif olarak dosyaları tarandığında, bu hastaların hepsinin yaş, cinsiyet, mikrobiyolojik ve histopatolojik verilerine ulaşılabilirken, 54 (%78.3) hastanın klinik ve özgeçmiş bilgilerine ulaşıldı. Bu hastalarda görülen en sık semptomlar sırasıyla nefes darlığı, öksürük ve göğüs ağrısı olarak belirlendi. TP tanısı alan 69 hastanın yedi (%10.1)'sinde önceden geçirilmiş tüberküloz (TB), altı (%8.7)'sında ise aile içinde ya da yakın çevresinde TB öyküsü bulunduğu saptandı (yakın temas). On altı (%23.2) hastada altta yatan hastalık ya da kolaylaştırıcı etmen, 17 (%24.6) hastada sigara kullanım öyküsü belirlendi. En sık altta yatan hastalıklar, Diabetes mellitus ve kronik böbrek yetmezliği olarak bulundu.
Sonuç
TP, ülkemizde genç yaşlarda görülmesine karşın bölgemizde orta ve ileri yaş grubunda görülebilmektedir. TP tanısında plevral örneklerde basilin üretilmesi ve ilaç duyarlılık paterninin belirlenmesi açısından kültür güvenilir ve vazgeçilmez bir yöntemdir. Plevral örneklerin mikrobiyolojik ve histopatolojik yöntemlerle birlikte incelenmesi ile tanısal verimlilik ciddi oranda artmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Histopatoloji, Kültür, Tüberküloz, Tüberküloz plörezi

Tablo: 461 hastadan TP tanısı alan 69 hastanın mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeleri sonucu oluşan grupların dağılımı

	Kültür Pozitif		Kültür Negatif	
	ARB Pozitif	ARB Negatif	ARB Pozitif	ARB Negatif
Histopatoloji Pozitif	3	15	2	32
Histopatoloji Negatif	1	16	0	392

P231- 6-SÜBSTİTÜE-3(2H)-PRİDAZİNON-2-İL ASETO/PROPİYONATO HİDRAZİT IV TÜREVLERİNİN İN VİTRO ANTİTÜBERKÜLOZ AKTİVİTELERİNİN AGAR PROPORSİYON VE ALAMAR BLUE YÖNTEMLERİYLE BELİRLENMESİ

Mahmut Ülger[1], Hatice Elmas[2], Semra Utku[3], Seda Tezcan[1], Gönül Aslan[1], Gürol Emekdaş[1]
[1]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin*
[2]*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Afyonkarahisar*
[3]*Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Mersin*

Amaç
Tüberküloz hastalığının kontrolü, uzun tedavi süreci, ilaça dirençli suşların ortaya çıkması ve HIV/AIDS ile ko-enfeksiyon gibi sebeplerden dolayı oldukça zordur. Bu sebeple hastalığın kontrolünde, etken Mycobacterium tuberculosis'in dirençli formalarını yok etmeye çalışan ve tedavi süresini kısaltmayı hedefleyen yeni ilaç adaylarına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmada, sentezlenen dört yeni 6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il aseto/propiyonato hidrazit IV türevinin M. tuberculosis H37Rv standart suşuna karşı in vitro etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Sentezlenen dört yeni 6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il aseto/propiyonato hidrazit IV türevinin M. tuberculosis H37Rv standart suşuna karşı in vitro etkinliği, agar proporsiyon ve alamar blue yöntemleri ile araştırıldı.
Bulgular
Sentezlenen dört yeni 6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il aseto/propiyonato hidrazit IV türevinin agar proporsiyon yönteminde 2.5-40 µg/ml konsantrasyonlarında ve alamar blue yönteminde de 0.39-100 µg/ml konsantrasyonlarında M. tuberculosis H37Rv standart suşuna karşı etkin olmadığı belirlendi.
Sonuç
Son zamanlarda, geniş bir alanda kullanılabilme özelliğinden dolayı hidrazid türevleri ile ilgili farklı çalışmalar giderek artmaktadır. Sentezlenen dört yeni 6-sübstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il aseto/propiyonato hidrazit IV türevinin antitüberküloz aktivitesinin değerlendirildiği bu çalışmada, bu türevlerin M. tuberculosis H37Rv standart suşuna karşı etkin olmadığı saptanmıştır. Bu doğrultuda sentezlenecek farklı bileşikler ile daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Agar proporsiyon, Alamar blue, Antitüberküloz aktivite, Hidrazit türevleri, M. tuberculosis

Tablo 1: Antimikobakteriyal aktivitesi araştırılan bileşik I-IV'ün agar proporsiyon sonuçları.

			10-2 Dilüsyon					10-4 Dilüsyon		
			Konsantrasyonu (µg/ml)					Konsantrasyonu (µg/ml)		
	2.5	5	10	20	40	2.5	5	10	20	40
Bileşik I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bileşik II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bileşik III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bileşik IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Üreme var (Bileşik I-IV etkisiz)

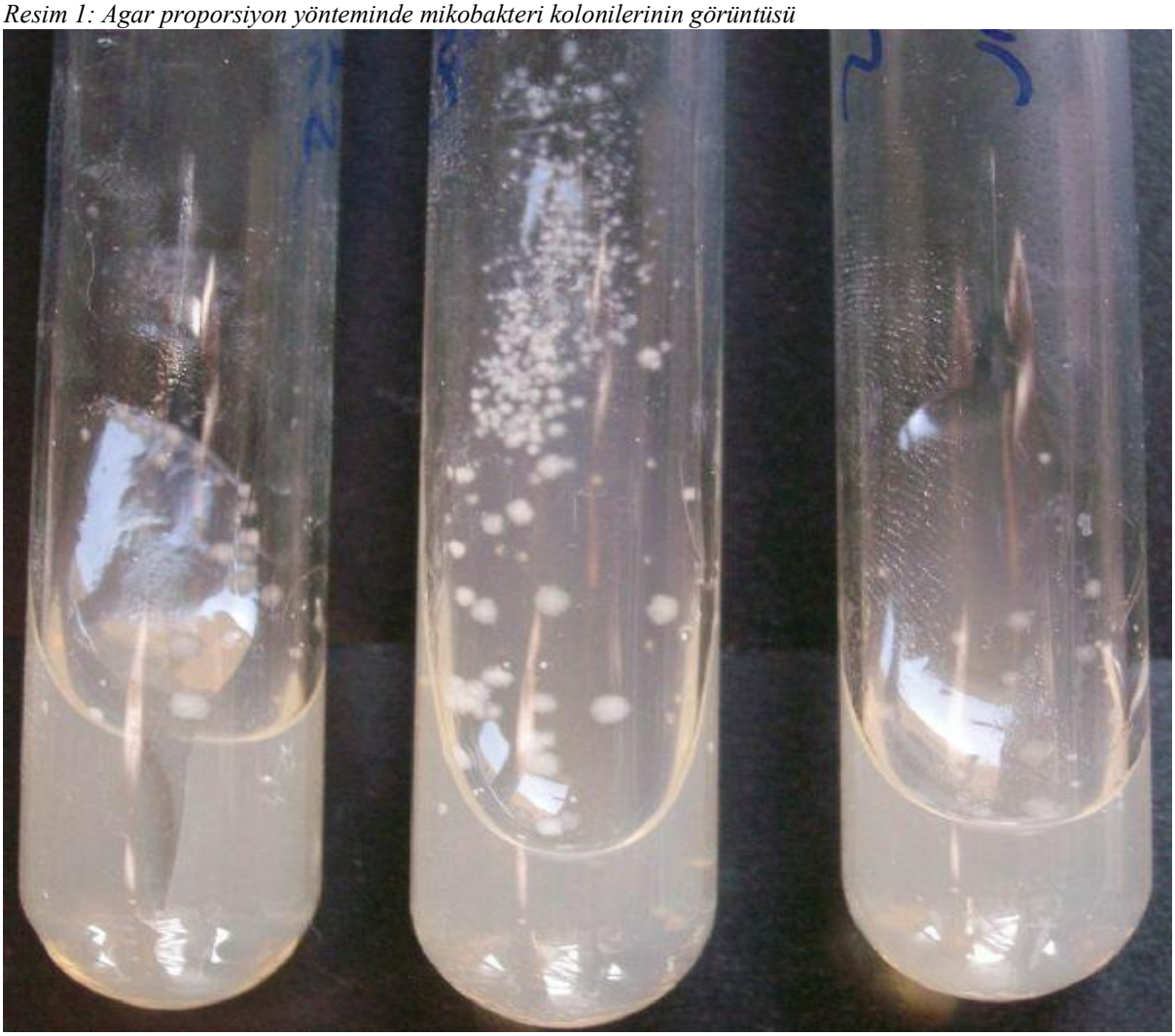
Tablo 2: Antimikobakteriyal aktivitesi araştırılan bileşik I-IV'ün mikroplak alamar blue sonuçları.

					10-2 Dilüsyon									10-4 Dilüsyon				
					Konsantrasyonu (µg/ml)									Konsantrasyonu (µg/ml)				
	0.39	0.78	1.56	3.12	6.75	12.5	25	50	100	0.39	0.78	1.56	3.12	6.75	12.5	25	50	100
Bileşik I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bileşik II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bileşik III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bileşik IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Üreme var (Bileşik I-IV etkisiz)

Resim 1: Agar proporsiyon yönteminde mikobakteri kolonilerinin görüntüsü



Resim 2: Antimikobakteriyal aktivitesi araştırılan bileşik I-IV'ün mikroplak alamar blue görüntüsü



P232 - ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ 2009-2011 YILI TÜBERKÜLOZ LABORATUVAR VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nilgün Özbey, Alper Akçalı, Müşerref Tatman Otkun
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Çanakkale

Amaç
Çanakkale ilinde tüberküloz kültür çalışmaları 2009 yılında ilk olarak merkezimizde başlamıştır. Çalışma ile elde edilen verilerin sunulması ve mikobakteri laboratuvar tanısındaki yöntemlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya 1 Ocak 2009 – 30 Haziran 2011 tarihleri arasında merkezimize başvuran hastalardan gönderilen örnekler ve sonuçları dahil edilmiştir. Her örnek Ehrlich- Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi ile boyanmıştır. Örnekler ticari homojenizasyon dekontaminasyon kiti kullanılarak ekime hazırlanmış, sonrasında Löwenstein-Jensen besiyeri ve Bactec Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) 960 otomatize sıvı bazlı kültür sistemi tüplerine ekimi yapılarak takip edilmişlerdir, üreme olanlarda üreticinin önerilerine göre Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) tanımlaması ve istendiğinde streptomisin, izoniazid, rifampisin, etambutol duyarlılıkları çalışılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen örnekler toplam 667 hastadan gönderilmiştir. Hastaların 479 erkek, 188 kadın, en küçük 6 yaş, en büyük 92 yaş olmak üzere yaş ortalaması 57,9 ± 16,08 SS idi. 667 hastadan toplam 1048 örnek çalışmaya alınmıştır. Örneklerin % 60,2'si (n:631) balgam, % 22,9'u (n:240) BAL, % 8,4'ü (n:87) plevra sıvısı, % 1,9'u (n:20) idrar, % 1,5'i (n:16) perikard sıvısı, % 1,4'ü (n:14) akciğer dışı apse aspirat sıvısı, % 1,1'i (n:11) trakeal aspirat, % 0,9'u (n:10) BOS, % 0,9'u (n:10) doku biyopsi örneği, % 0,7'si (n:8) eklem sıvısı, % 0,1'i (n:1) assit idi. 71 örnekte MTBC, yedi örnekte MTBC dışı mikobakteri üremesi saptandı. Üremelerden yedisi (%9) akciğer dışı örneklerdendi. MGIT sisteminde üremenin saptanabildiği süre değerlendirildiğinde, minimum 2, maksimum 37 gün (ortalama 11,8 gün) olduğu belirlendi. EZN boyamasında 49 örnekte asidorezistan basil (ARB) görüldü. Bu örneklerin 42'sinde (%85,7) üreme saptanabildi. Kültür ile üreme saptanan 78 örneğin 36 (%46,2)'sında EZN ile ARB saptanamadı. MTBC üremesi saptanan 25 hastanın izolatında ilaç duyarlılığı çalışıldı. Hastaların anti-tüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları incelendiğinde %24'ünde en az bir ilaca direnç saptanırken en yüksek oranda direnç streptomisinde saptanmıştır. Direnç oranları streptomisin için % 20 (n:5), izoniazid için % 12 (n:3), etambutol için % 4 (n:1) idi. Rifampisine dirençli MTBC saptanmadı. İki ilaca dirençli üç MTBC saptandı, bunlar streptomisin ve izoniazide dirençli idi. Üç ilaca dirençli MTBC saptanmadı.
Sonuç
Bu çalışma ile ilimizdeki ilk tüberküloz kültür ve duyarlılık verileri elde edilmiştir. EZN boyamada ARB görülmemesine rağmen % 46,2 örnekte kültürde üreme saptanması, tanıda sadece EZN boyamanın yetersiz kalacağını düşündürmektedir. Radyoaktif atığı olmayan Bactec MGIT 960 otomatize sıvı bazlı tüberküloz kültür sistemi ile kültür çalışmaları ve ilaç duyarlılıkları kolay ve hızlı bir şekilde çalışılabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: tüberküloz, ilaç duyarlılığı, MGIT

EZN boyama ile kültür sonuçlarının karşılaştırılması

	Kültür		
EZN Boyama	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	42	7	49
Negatif	36	963	999
Toplam	78	970	1048

P233- TÜBERKÜLOZ ÖN TANISIYLA GÖNDERİLEN ÖRNEKLERİN ARB BOYAMA, KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

İhsan Hakkı Çiftci[1], Engin Karakeçe[2], Vildan Demiray[2]
[1]*Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Sakarya.*
[2]*Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya*

Amaç
Tüberküloz tanısında bakteriyolojik tanı altın standarttır. Son yıllarda moleküler yöntemler daha hızlı sonuç vermesi nedeniyle tüberküloz tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada Ocak 2010 – Ağustos 2011 yılları arasında Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında tüberküloz ön tanısıyla gönderilen örneklerin geriye dönük analizi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 1985 örnek (balgam, pleural mayi, sinoviyal sıvı, periton mayi, idrar, biopsi materyeli, BOS, BAL) dahil edilmiştir. Örnekler dekontaminasyon ve homojenizasyon işlemleri sonrası, aside dirençli boyama (ARB), Löwenstein Jensen (LJ) katı besiyeri kültürü ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile incelenmiştir. Çalışmada 1734 ARB, 303 LJ ve 107 PZR sonucu irdelenmiştir.
Bulgular
Yapılan laboratuvar çalışmaları sonrasında ARB, LJ, ve PZR pozitiflikleri 2010 yılı için sırasıyla 27 (%2.6), 4 (%2), 3(%5.7) ve 2011 yılı için sırasıyla 8 (%1.1), 3(%2.8), 5(%9) olarak gerçekleşmiştir. ARB ile hem kültür hem de moleküler yöntemlerle yapılan çalışmalar arasında uyumsuzluk gözlenmiştir. Benzer şekilde kültür pozitiflikleri ile moleküler çalışmaların sonuçları arasında uyumsuzluklar saptanmıştır.
Sonuç
DSÖ tüberkülozun mikrobiyolojik tanısı için klasik katı besiyeri ve hızlı tanı amaçlı sıvı besiyerine ekimi önermektedir. Hastanemizde tüberküloz ön tanılı hastalar için halen uygulanan laboratuvar çalışmaları hem tanımlama hem de antibiyotik duyarlılık belirlemede yetersiz kalmaktadır. Aynı zamanda tanı amaçlı laboratuvar çalışmaları arasında sonuca ulaşma açısından istenilen düzeyde uyum gerçekleşmemektedir. Bu durum göz önüne alınarak hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarının mikobakteriyolojik çalışmalarının optimizasyonu amacıyla yeniden yapılandırması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: ARB boyama, PZR, tüberküloz

Yöntemler göre 2010 ve 2011 sonuçları

	2010	2011
	n(%)	n(%)
ARB	27(%2.6)	8(%1.1)
LJ	4(%2)	3(%2:8)
PZR	3(%5.7)	5(%9)

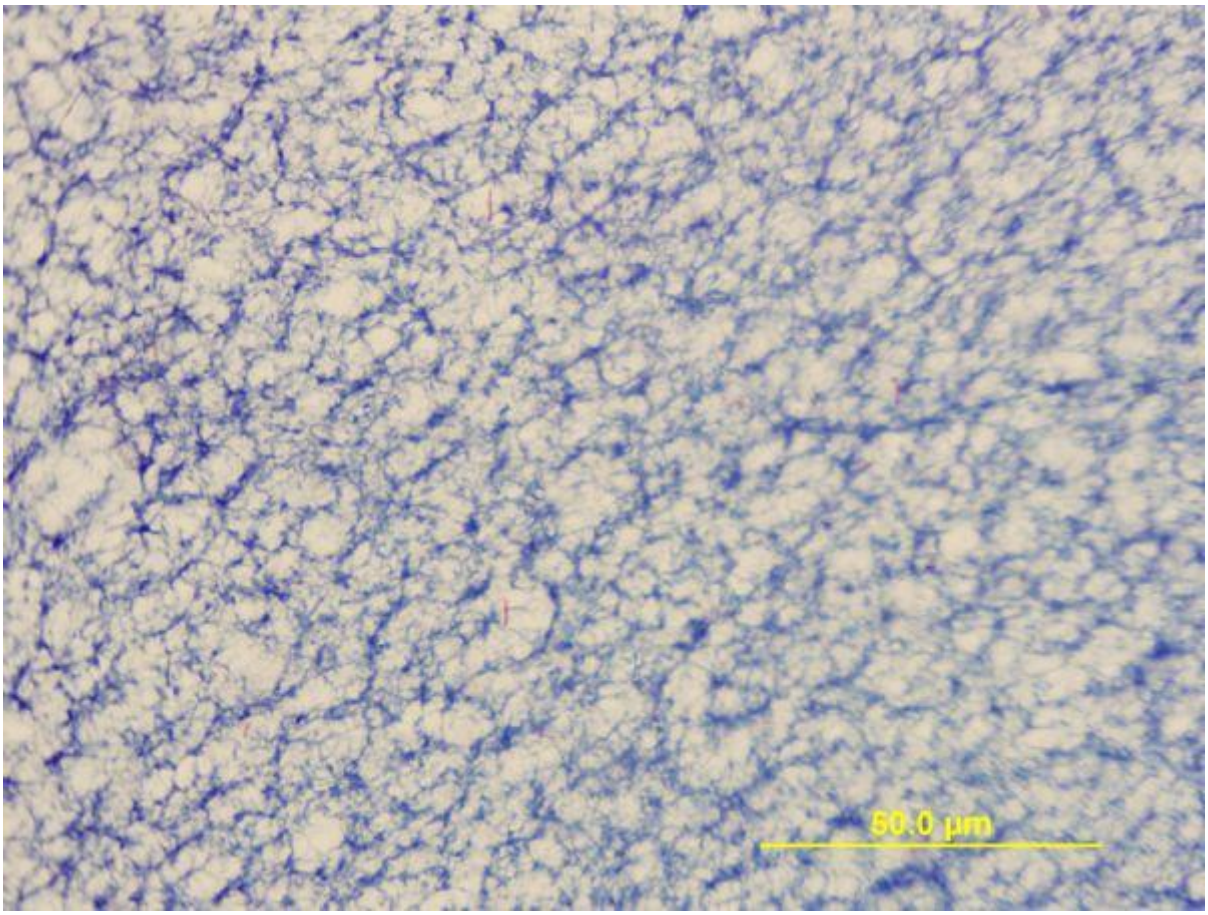
P234- BAĞIŞIKLIĞI TAM OLAN BİR HASTADA MYCOBACTERİUM LENTİFLAVUM'UN ETKEN OLDUĞU PRİMER RETROPERİTONEAL ABSE

Melda Özdamar[1], Salih Türkoğlu[1], Kaya Orhan Köksalan[2], Reha Baran[1], Elif Hakko[1], Yeşim Gürol[3], Tanıl Kocagöz[4]
[1]*Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Kocaeli*
[2]*İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul*
[3]*Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul*
[4]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul*

Vaka
Bağışıklık sistemi normal ve anti-HIV negatif, 60 yaşında erkek hasta sırtının sol tarafında ağrı ile hastanemize başvurdu. Batın ultrasonografisi ve kompüterize tomografi sonucu sol böbreğinde abse oluşumu gözlendi. Ameliyata alınan hastaya sol nefrektomi uygulandı. Ameliyat sırasında abseden alınan örnekte metisiline duyarlı Staphylococcus aures üredi. Hastaya uygun tedavi verildi, ancak hasta 8 ay sonra benzer şikayetler ile tekrar hastanemize başvurdu. Yapılan kompüterize tomografide batın içinde posterolateral yerleşimli bir abse oluşumu saptandı. Konvansiyonel antibiyotik tedavisi ile birlikte perkütan olarak erişilen abseden örnek alındı ve yapılan Ziehl-Nielsen boyamada aside dirençli bakteriler görüldü. Bir süre sonra kültürde (LJ ve TK besiyeri) üreyen bakterinin tüberküloz-dışı (MOTT) bir mikobakteri olduğu saptandı.
Hastaya standart dörtlü antitüberküloz tedavi başlandı ve 40 gün sürdürüldü ancak abse drenajından akıntı devam etti; bu sırada, hsp65 PCR-restriksiyon enzim analizi ile bakterinin kesin idantifikasyonu Mycobacterium lentiflavum olarak belirlendi; bunun üzerine tedavi rifabutin, siprofloksasin, klaritromisin ve etambütol'e değiştirildi ve bu tedavi 18 ay sürdürüldü. Sonrasında 6 ay boyunca takip edildi ve herhangi bir akıntı olmadığı belirlendi.
Sonuç
Bu şekilde tedavi başarısızlıklarında dirençli etkenlerin yanı sıra, beklenmedik mikroorganizmaların da etken olabilecekleri ve "hızlı" saptama ve idantifikasyon yöntemleri kullanılarak klinikte daha etkin olunabileceği akılda tutulmalıdır.

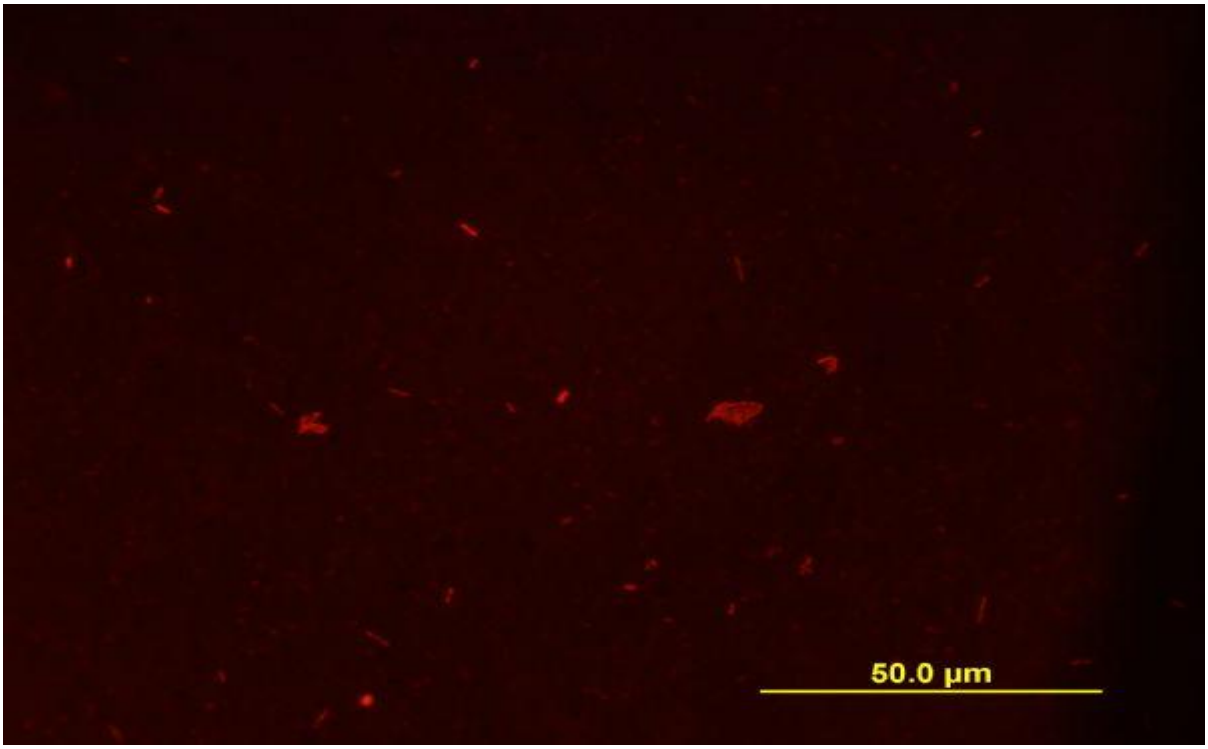
Anahtar Kelimeler: Mycobacterium lentiflavum, apse, MOTT

Resim 1



Resim 1. EZN boyamada aside dirençli basiller

Resim 2



Resim 2 Auramin Rhodamin boyamada UV mikroskopta sarı-turuncu renkte ışıma yapan mikobakteriler

Resim 3



Resim 3. TK ve LJ besiyerinde Mycobacterium lntiflavum kolonileri ve renk değiştiren besiyeri

P235- AŞILANMIŞ SAĞLIK ÇALIŞANLARINDA INTERFERON GAMA İLE LATENT TÜBERKÜLOZ TARAMASI

Cenk Babayiğit[1], **Burçin Özer[2]**, Cahit Özer[3], Tacettin İnandı[4], Nizami Duran[2], Orhan Göçmen[5]
[1]*Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Hatay*
[2]*Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Hatay*
[3]*Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği ABD, Hatay*
[4]*Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı ABD, Hatay*
[5]*Antakya Verem Savaş Dispanseri, Hatay*

Giriş
Dünya nüfusunun üçte birinin latent olarak Mycobacterium tuberculosis ile infekte olduğu düşünülmektedir. Latent M. tuberculosis infeksiyonu (LTBI) olan kişilerde aktif tüberküloz (Tb) semptomları görülmemesine ve bulaştırıcılık olmamasına rağmen, bu kişiler aktif hastalık gelişme ve bulaştırıcı olma yönünden risk altındadırlar. Sağlık çalışanları arasında M. tuberculosis infeksiyonu gelişme riski normal populasyondan 3,2 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Tüberkülin deri testi (TDT), latent tüberküloz infeksiyonunun tanısında yıllardır kullanılmakta fakat M. tuberculosis dışındaki Mycobacterium'lar ile infekte olanlarda veya BCG aşısı sebebiyle "yanlış pozitif" sonuçlar testin doğruluğunu olumsuz etkilemektedir. M. tuberculosis infeksiyonuna cevap olarak salgılanan IFN-γ düzeylerinin saptanması ile de M. tuberculosis infeksiyonunun tanısı konulabilmektedir. Bu yöntem BCG aşılamasından etkilenmemekte, TDT'den daha duyarlı ve özgül olup ve sonucu TDT'den daha çabuk alınmaktadır.
Amaç
Yaygın BCG aşılaması yapılan populasyona sahip ülkemizde LTBI'nin yüksek insidansından dolayı risk altında olan sağlık çalışanlarında, LTBI saptamada TDT ve Quantiferon testlerinin etkinliklerini araştırıp karşılaştırmayı amaçladık.
Yöntem
Mustafa Kemal Üniversitesi Hastanesi, Antakya Devlet Hastanesi ve Antakya Verem Savaş Dispanseri'nde çalışan 100 sağlık çalışanı çalışmaya katıldı. Tüberküloz ve tüberküloz tedavi öyküsü olanlar, TDT testi daha önce yapılmış ve pozitif olanlar, immunsüpresif tedavi öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı. "Quantiferon-TB Gold Tüp Testi" sonucu "belirsiz" çıkan dört sağlık çalışanı da çalışmadan çıkarılarak 96 kişi çalışmaya dahil edildi. Katılımcılardan tam kan alınıp, kit için hazırlanmış bulunan üçer tüpe konularak Quantiferon-TB Gold tüp testi (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) üreticisinin önerilerine uygun olarak ELISA yöntemiyle yapıldı. Sonuçlar Quantiferon-TB Gold IT Analysis Software programı kullanılarak değerlendirildi. Sağlık çalışanlarına 5 U tüberkülin 0.1 ml deri içine enjekte edilerek Montoux tekniği ile TDT uygulandı, Sağlık Bakanlığı ve CDC kriterlerine göre değerlendirildi.
Bulgular
Çalışmaya 34'ü (%35.4) doktor, 33'ü (%34.4) hemşire, 17'si (%17.7) laboratuar çalışanı ve 12'si (%12.5) teknisyen olmak üzere üniversite hastanesinde çalışan 61 (%63.5), devlet hastanesinde çalışan 30 (%31.3), verem savaş dispanserinde çalışan 5 (%5.2) kişi dahil edildi. Yaşları 21 ile 51 arasında değişen 96 kişinin %54.2'si kadındı. Quantiferon test sonucu 77'sinde (%80.2) negatif, 19'unda (%19.8) pozitif bulundu. TDT pozitif olanlarda quantiferon testi pozitifliği daha fazla bulundu (p=0.001). TDT'nin negatif olduğu 4 (%4.2) sağlık çalışanında Quantiferon testi pozitif bulundu. Quantiferon testi negatif olanlarla karşılaştırıldığında Quantiferon testi pozitif olanlarda TDT değerlerinin ortalaması (16.2±2.2 mm) daha yüksek, sağlık kurumunda çalıştığı sürenin ortalaması (144.7±63.4 ay) daha uzun ve yaş ortalamaları (36.7±6.6 yıl) daha yüksek olarak bulundu (p=0.001). Cinsiyet, meslek grupları, BCG skar sayısı, tüberküloz hastalarıyla temasın çok olduğu kurumda çalışma durumlarının quantiferon test sonuçlarını etkilemediği tespit edildi (Tablo 1). Quantiferon testinin duyarlılığı %46.9, seçiciliği %93.7, pozitif prediktif değeri %78.9 ve negatif prediktif değeri %77.9 olarak tespit edildi.
Sonuç
Quantiferon testi tüberkülin deri testi gibi daha önceden yapılmış aşılardan etkilenmediği için latent tüberkülozun saptanmasında tüberkülin deri testine alternatif olarak özellikle rutin BCG aşısı uygulanan toplumlarda uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Latent tüberküloz, tüberkülin deri testi, QuantiFERON-TB testi

Tablo 1. Quantiferon testi ile TDT değerleri, yaş ve çalışma süresi ilişkisi

Quantiferon testi	TDT değeri (mm) (Ortalama ± SD)	Sağlık kurumunda çalıştığı süre (ay) (Ortalama ± SD)	Yaş (Ortalama ± SD)	Tüberküloz hastalarıyla temasın çok olduğu hastane ve bölümde çalışma süresi (ay) (Ortalama ± SD)
Negatif (n=77)	11.5±3.7	75.7±57.8	30.9±5.8	0.3±0.5

Pozitif (n=19)	16.2±2.2	144.7±63.4	36.7±6.6	0.5±0.5
Toplam (n=96)	12.4±3.9	89.4±64.8	32.1±6.3	0.3±0.5
P değeri	0.001	0.001	0.001	0.119

Tablo 2. Quantiferon test sonuçlarının sağlık çalışanlarının cinsiyetleri, meslekleri, TDT değerleri, çalıştığı kurumlar ile karşılaştırılması

Sağlık çalışanları	QuantiferonTesti Negatif n(%)	QuantiferonTesti Pozitif n(%)	TOPLAM n(%)	P değeri
Cinsiyet Kadın Erkek	 41(42.7) 36(37.5)	 11(11.5) 6(6.3)	 52(54.2) 44(45.8)	0.716
Meslek Doktor Hemşire Teknisyen Laborant	 27(28.1) 26(27.1) 8(8.3) 16(16.7)	 7(7.3) 7(7.3) 4(4.2) 1(1.0)	 34(35.4) 33(34.4) 12(12.5) 17(17.7)	0.319
Çalıştığı kurum Üniversite hastanesi Devlet hastanesi Verem Savaş Dispanseri	 55(57.3) 21(21.9) 1(1.0)	 6(6.3) 9(9.4) 4(4.2)	 61(63.5) 30(31.3) 5(5.2)	0.001
TDT Değerleri Negatif Pozitif	 60(62.5) 17(17.7)	 4(4.2) 15(15.6)	 64(66.7) 32(33.3)	0.001
BCG skar sayısı 1 2 3 4	 24(25) 49(51.0) 3(3.1) 1(1.0)	 2(2.1) 14(14.6) 3(3.1) 0(0)	 26(27.1) 63(65.6) 6(6.3) 1(1.0)	0.097
Tüberküloz hastalarıyla temasın çok olduğu kurumda çalışma Negatif Pozitif	 55(57.3) 22(22.9)	 10(10.4) 9(9.4)	 65(67.7) 31(32.3)	0.117

P236 - MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS KOMPLEKSİ İZOLATLARININ PRİMER ANTİTÜBERKULOZ İLAÇLARA DİRENÇ ORANLARI

Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Bu çalışmada, 2010 yılında laboratuvarımızda izole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleksi izolatlarının primer antituberküloz ilaçlara duyarlılıklarının ve direnç paternlerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza 2010 yılında mikobakteri kültürü için gönderilen örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Örnekler NaOH-NALC yöntemi ile homojenize-dekontamine edildikten sonra işleme alınmıştır. Tüberküloz kültürü ve duyarlılık testleri Mycolor TK (Salubris, Türkiye) sistemi ile, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiş, aynı zamanda Löwenstein Jensen besiyerine de ekim yapılmıştır. Yayma preparatları florasan boya (auramin O) ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyası ile incelenmiştir.
Bulgular
Mikobakteri kültürü için gönderilen 1526 örneğin 74'ünde (%5) M. tuberculosis kompleksi izole edilmiştir. Çift örnekler ayıklandıktan sonra antibiyogram yapılan 62 örneğin duyarlılık paternleri değerlendirilmiş, 49 izolat (%79) tüm primer ilaçlara duyarlı bulunmuştur. Tek ilaca direnç oranı %15, çok ilaca direnç (ÇİD) oranı %5 olarak belirlenmiştir. Direnç paternleri tabloda görülmektedir.
Sonuçlar
Tüberkülozda ilaç direnç sürveyansı, tüberküloz kontrol programının önemli bir bileşenidir. Laboratuvarımızın 2007-2008 verileri ile karşılaştırıldığında, iki yıl içinde direnç oranlarında anlamlı bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Tüberkülozda direnç paternlerinin izlenmesi, uygulanacak tedavi protokollerinin belirlenmesinde ve uzun vadede direnç gelişiminin önlenmesinde yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis, tüberküloz, antimikrobiyal direnç*

Mycobacterium tuberculosis izolatlarının direnç paternleri

Direnç Paternleri	Sayı (%)
Tüm ilaçlara duyarlı	49 (%78)
Streptomisin (SM) tekli direnç	1 (%2)
İzoniazid (INH) tekli direnç	5 (%8)
Rifampisin (RIF) tekli direnç	1 (%2)
Etambutol (EMB) tekli direnç	2 (%3)
INH + RIF (ÇİD)*	2 (%3)
INH + SM	1 (%2)
SM + INH + RIF + EMB (ÇİD)*	1 (%2)
Toplam	62

(ÇİD)*: Çok ilaca dirençli

P237 - USP SOLÜSYONU KULLANIMININ ASİDE DİRENÇLİ BOYAMANIN DUYARLILIĞINA ETKİSİ

Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olan tüberkülozun erken tanı ve tedavisi büyük önem taşımaktadır. Tüberküloz tanısında klinik ve radyolojik bulguların yanında, laboratuvar tanısı için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Kültür altın standart olup, hızlı tanıya yönelik çeşitli nükleik asit amplifikasyon testleri de bulunmakla birlikte, yayma preparatlarda aside dirençli basil (ARB) aranması, bir çok merkezde en sık kullanılan yöntemdir. Dekontaminasyon ve homojenizasyonda çoğunlukla kullanılan NaOH-NALC yöntemine alternatif olarak geliştirilen Universal Sample Processing (USP) yönteminin mikroskopi, kültür ve nükleik asit amplifikasyon testlerinin duyarlılığını arttırdığı bildirilmektedir. Bu çalışmada, solunum sistemi örneklerinin işlenmesinde NaOH-NALC yöntemi yerine USP solüsyonu kullanımının ARB boyamanın duyarılığına etki edip etmediği araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımıza tüberküloz kültürü için gönderilen 205 solunum yolu örneği çalışmaya alınmış, her hastadan tek bir örnek çalışılmıştır. Her örnek ikiye bölünerek birine NaOH-NALC yöntemi, diğerine USP yöntemi uygulanmıştır. Önce Auramine O boyası ile boyanarak floresan mikroskobunda incelenen preparatlar, daha sonra Ziehl-Neelsen (EZN) boyası ile boyama yapılarak ışık mikroskobunda değerlendirilmiştir. NaOH-NALC yöntemi ile dekontamine ve homojenize edilen örnekler Mycolor TK (Salubris, Türkiye) sistemi ve Löwenstein Jensen besiyerine ekilmiştir.
Bulgular
Çalışılan 205 örneğin 11'inde (%5.3) Mycobacterium tuberculosis kompleks üremiş, üreme olan örneklerin sekizi (%73) ARB pozitif bulunmuştur. ARB'de yalancı pozitiflik saptanmamıştır. USP solüsyonu ile muamele edilen örneklerle, klasik NaOH-NALC yöntemi uygulanan örnekler arasında fark saptanmamıştır.
Sonuç
USP yönteminin ARB ve kültür duyarlılığını arttırdığını ve inhibitör içermemesi nedeni ile nükleik asit testlerinde de kullanılabileceğini bildiren yayınlar bulunmakla birlikte, çalışmamızda ARB boyamada bu solüsyonun üstün olduğu saptanmamıştır.
Daha geçerli verilere ulaşabilmek için, geniş kapsamlı, ekstrapulmoner örnekleri ve kültürü de içine alan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: USP, Mycobacterium tuberculosis, aside dirençli boyama

P238 - KLİNİK ÖRNEKLERDEN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSİS SAPTANMASINDA KULLANILAN PCR İLE MGIT 960 FLOROMETRİK YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tekin Karslıgil, **Saliha Gökçe Alagöz**, Yasemin Zer, Mustafa Sağlam, Mustafa Çay
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep

Amaç
Tüberküloz tedavi edilebilir ve önlenebilir bir hastalık olmasına rağmen günümüzde hala en çok ölümlere neden olan hastalık olarak yerini korumaya devam etmektedir. Tüberkülozun kesin tanısı kültürde tüberküloz basilinin gösterilmesi ile konmaktadır. Tüberkülozun laboratuvar tanısında yaymanın mikroskobik olarak incelenmesi, katı ve sıvı besiyerleri kullanılarak kültürünün yapılmasının yanı sıra moleküler yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Mikobakteriyel enfeksiyonların tanısı standart yöntemlerle uzun zaman aldığından, günümüzde hızlı ve güvenilir testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) kullanıma girmesi ile zaman sorunu ortadan kalkmış ve çeşitli nedenlerle oluşabilecek kontaminasyon riski azalmıştır.
Çalışmamızda tanı yöntemlerinden PCR ve MGIT 960 florometrik tanı yöntemleri karşılaştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvara gönderilen ve ARB, kültür ve PCR'ı istenen toplam 148 (73 kadın, 75 erkek) örneğin dekontaminasyon ve homojenizasyon işlemi yapıldıktan sonra MGIT 960 (Becton Dickinson, USA) florometrik yöntemle kültürleri yapılmıştır. Aynı örnekler COBAS TaqMan MTB Test (Roche Diagnostics, Germany) yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Kullanılan yöntemlerin sonuçları değerlendirildiğinde 148 hastadan 6'sında her iki yöntemle de (PCR ve MGIT) Mycobacterium tuberculosis varlığı belirlenmiştir. PCR yöntemi ile yapılan tanıda 4 hastada, MGIT 960 florometrik yöntemle yapılan çalışmada ise 5 hastada Mycobacterium tuberculosis varlığı saptanmıştır. 143 hasta her iki yöntemle de negatif sonuç vermiştir. MGIT 960 florometrik yöntemiyle tapılan çalışmada 2 hastanın sonucu pozitif iken PCR ile negatif bulunmuştur. PCR ile pozitif saptanan 1 hasta MGIT ile negatif bulunmuştur.
Sonuç
Tüberküloz tanısında kültür yönteminin altın standart olmasına rağmen tanıda sonuçların geç çıkmasından dolayı PCR erken tanıda önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, MGIT, PCR

PCR ve MGIT 960 yöntemleriyle elde edilen sonuçların değerlendirilmesi

n:40	Pozitif	Negatif
PCR	4	144
MGIT 960	5	143

Pozitif olguların PCR ve MGIT 960 yöntemlerine göre değerlendirilmesi

Pozitif Olgular	PCR	MGIT 960
Hasta 1	(-)	(+)
Hasta 2	(-)	(+)
Hasta 3	(+)	(+)
Hasta 4	(+)	(+)
Hasta 5	(+)	(+)
Hasta 6	(+)	(-)

P239 - BACTEC MGIT 960 VE MYCOLOR TK MİKOBAKTERİ KÜLTÜR SİSTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Laboratuvarımızda mikobakteri kültürü için kullanmaya başladığımız Mycolor TK (Salubris, Türkiye) sistemi ile daha önce kullanmış olduğumuz BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sisteminin üreme oranları, üreme süreleri ve duyarlılık sonuçları bakımından karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mikobakteri kültürü için laboratuvarımıza gönderilen 442 örnek değerlendirmeye alınmıştır. Örnekler N-Asetil-L-Sistein (NALC) + Sodyum Hidroksit (NaOH) yöntemi ile homojenizasyon ve dekontaminasyon sonrası konsantrasyon işlemi uygulandıktan sonra, üretici firmaların önerileri doğrultusunda BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) ve Mycolor TK (Salubris, Türkiye) sistemlerine ve Lowenstein-Jensen (LJ) besiyerine ekilmiştir. Direkt yayma preparatları florasan boya (auramin O) ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyası ile incelenmiştir.
Bulgular
Kültür yapılan 442 örneğin 24'ünde (% 5.4) Mycobacterium tuberculosis kompleks üremiştir. Ortalama üreme süreleri BACTEC MGIT 960 sisteminde 13 gün, Mycolor TK sisteminde 18 gün olarak saptanmış, iki sistemin üreme süreleri arasındaki fark ortalama 7.6 gün (4-12) olarak belirlenmiştir.
Altı örnek, BACTEC MGIT 960 sisteminde ürediği halde Mycolor TK sisteminde üretememiştir. Bunların beş tanesinin ARB (aside dirençli bakteri)'si negatiftir. Bu altı örneğin BACTEC MGIT 960 sistemindeki üreme süreleri ortalama 20 gün olup, bir tanesi LJ besiyerinde de üretememiştir.
Duyarlılık test sonuçlarında iki sistem arasında fark saptanmamıştır.
Sonuç
Mycolor TK sisteminin üreme süresinin BACTEC MGIT 960 sistemine göre bir hafta kadar uzun olduğu, özellikle ARB negatif örneklerde yalancı negatiflik olabildiği, duyarlılık test sonuçlarında ise iki sistem arasında fark olmadığı gözlenmiştir. BACTEC MGIT 960 sisteminin yüksek maliyeti göz önüne alındığında, bu farkların maliyet-etkinlik açısından kabul edilebilir olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, BACTEC MGIT 960, Mycolor TK

P240 - ABSTRACT BACKGROUND AND OBJECTİVES: DRUG RESİSTANT TUBERCULOSİS (TB) İS A MAN-MADE PROBLEM. MULTİ DRUG RESİSTANT TUBERCULOSİS (MDR-TB) İS DİFFİCULT TO TREAT. INADEQUATE AND İNCOMPLETE TREATMENT AND POOR TREATMENT ADHERENCE HAS LED TO A NEWER FORM OF

Mehdi Roshdi Maleki, Seyyed Reza Moaddab, Abdolnaser Rafi

The survey of multi drug- resistant tuberculosis (MDR-TB) and extensively drug- resistant tuberculosis (XDR-TB) in east Azerbaijan province

Background and Objectives

Drug resistant tuberculosis (TB) is a man-made problem. Multi drug resistant tuberculosis (MDR-TB) is difficult to treat. Inadequate and incomplete treatment and poor treatment adherence has led to a newer form of drug resistance known as extensively drug resistant tuberculosis (XDR-TB). XDR-TB is defined as TB that has developed resistance to at least rifampicin and isoniazid (resistance to these first line anti-TB drugs defines Multi-drug-resistant tuberculosis, or MDR-TB), as well as to any member of the quinolone family and at least one of the following second-line anti-TB injectable drugs: kanamycin, capreomycin, or amikacin. Extensively drug resistant tuberculosis (XDR-TB) is rapidly spreading. Occurrence measure of MDR-TB in adjacent country of Iran such as Azerbaijan have been reported in very high level. These referring patients to Tabriz research center for TB and pulmonary diseases from adjacent countries have increased the anxiety of contagion risk of drug-resistant TB.

Materials-Methods

At first instance, 300 Mycobacterium tuberculosis strains were identified by conventional methods. Then drug susceptibility testing of these strains were investigated by proportional method on Lowenstein – Jensen medium. The tested drugs were isoniazid, rifampin, ethambutol, streptomycin from the first line drugs and amikacin, kanamycin, ofloxacin, ciprofloxacin from the second line anti-tuberculosis medications. H37RV Mycobacterium tuberculosis (susceptible to all drugs) was used as a control.

Drug susceptibility testing of four second line drugs (amikacin, kanamycin, ofloxacin and ciprofloxacin) was performed on isolated 8 MDR-TB strains.

Results

Out of 300 strains, 9 strains (8 %) were resistant to main fist line drugs (MDR). Among the first line medications, the highest resistance belonged to streptomycin and from second line drugs, kanamycin showed the highest level of resistance to Mycobacterium tuberculosis. Of 8 MDR-TB strains, 3 XDR – TB isolates (37.5%) were identified.

Conclusion

Since the XDR-TB was only seen from Nakhchivan patients in samples, referring these patients to Tabriz Research Center of TB and pulmonary diseases for diagnosis and treatment is problematic, and special measures should be taken.

Keywords: Tuberculosis, MDR-TB, XDR-TB, East Azerbaijan

Anahtar Kelimeler: Tuberculosis, MDR-TB, XDR-TB, East Azerbaijan

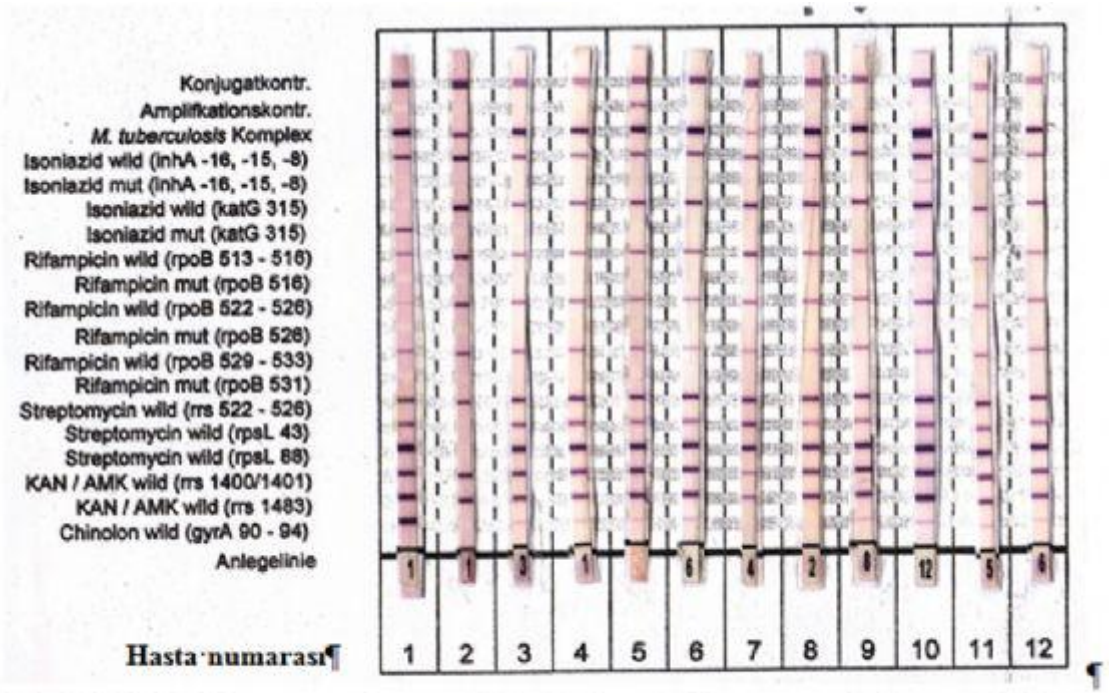
P241 - MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS KÖKENLERİNDE İLAÇ DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Metin Görenekli[1], **Mete Eyigör[1]**, Murat Telli[1], Hayrettin Amasya[2], Neriman Aydın[1]
[1]*Adnan Menderes Universitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Aydın*
[2]*Aydın Verem Savaş Dispanseri, Aydın*

Amaç
Tüberküloz, halen dünyada en yaygın ve ölümcül bulaşıcı hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir. Tüberküloz kontrolünde en önemli konu, balgamında tüberküloz basili bulunan hastaları erken saptamak ve başkalarına bulaştırmadan etkili ilaçlarla en kısa sürede tedavi etmektir. Bu çalışmada, hastanemize ve Aydın ili Verem Savaş Dispanseri'ne başvuran tüberküloz olgularında tüberküloz hastalığı nedeni olan Mycobacterium tuberculosis'in saptanması, demografik veriler, antitüberküloz ilaçlara direnç oranlarının ve dirence yol açan mutasyonların saptanması, bölgemizdeki tüberküloz hastalara yaklaşımda yol gösterecek verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışma 1 Ocak 2009-1 Haziran 2010 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteri Laboratuvarında yapılmıştır. Tüberküloz hastası 63 kişiden M. tuberculosis kökeni izole edilmiştir. Çalışma kapsamına alınan bu kökenlerin identifikasyonunda NAP, PZR IS6110, PZR-RFLP; antitüberküloz ilaç direncinin saptanmasında BACTEC 460 TB (Becton Dickinson, ABD) sistemi ve direnç genlerinin saptanmasında Tüberküloz Direnç Kiti (Autoimmun Diagnostika GmbH, Almanya) kullanılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen toplam 63 (% 26,8) hastanın 48'i (% 76,2) erkek, 15'i (% 23,8) kadındı ve hastaların yaşları 13 ile 85 (ortalama 46,4±18,5) arasındaydı. Hastaların ARB sonuçları değerlendirildiğinde; 45 hastada (% 71,4) ARB pozitif, 18 (% 28,6) hastada ARB negatif bulunmuştur. BACTEC 460 TB ile 63 M. tuberculosis kökeninin 61'inde (% 96,8) antitüberküloz ilaçlar (izoniazid, rifampisin, etambutol, streptomisin) hassas bulunmuş ve ikisinde (% 3,2) antitüberküloz ilaçlardan birine karşı direnç saptanmıştır (bir (% 1,6) hastada izoniazid direnci, bir hastada (% 1,6) streptomisin direnci). BACTEC 460 TB ile çok ilaca dirençli tüberküloz saptanmamıştır. Tüberküloz Direnç Kiti ile test edilen antitüberküloz ilaçlara karşı direnç mutasyonları araştırıldığında, 47 (% 74,6) hastada herhangi bir mutasyon saptanmamıştır. Kalan 16 (% 25,4) hastada toplam 25 mutasyon saptanmıştır. Dört kökende sadece izoniazid mutasyonu, iki kökende sadece rifampisin mutasyonu, iki kökende sadece kinolon mutasyonu, iki kökende izoniazid ve rifampisin mutasyonu, iki kökende izoniazid ve kinolon mutasyonu, iki kökende rifampisin kinolon mutasyonu, bir kökende streptomisin ve kinolon mutasyonu, bir kökende ise izoniazid, rifampisin ve streptomisin mutasyonu saptanmıştır. İzoniazid mutasyonu saptanan dokuz kökenin beşinde katG 315 mutasyonu, dördünde inhA16,15,8 mutasyonu; rifampisin mutasyonu saptanan yedi kökenin ikisinde rpoB 516 mutasyonu, ikisinde rpoB 526 mutasyonu, birinde rpoB 513-516 mutasyonu, birinde rpoB 522-526 mutasyonu, birinde rpoB 529-533 mutasyonu; streptomisin mutasyonu saptanan iki kökenin ikisinde rpsL 43 mutasyonu, birinde rpsL 88 mutasyonu; kinolon mutasyonu saptanan yedi kökenin yedisinde gyrA 90-94 mutasyonu saptanmıştır
Sonuç
Mycobacterium tuberculosis'in antitüberküloz ilaçlara karşı artan ilaç direnci, tedavinin etkili bir şekilde yapılabilmesini engellemekte ve duyarlılık testlerinin yapılmasını gerekli hale getirmektedir. Tüberkülozun tedavisinde çok ilaca dirençli tüberküloz önemli bir problemdir. Çok ilaca dirençli tüberküloz olgularının artışı, tüberküloz ile mücadeleyi güçleştirmektedir. Bu nedenle çok ilaca dirençli tüberkülozun erken saptanmasında ve yayılmasının önlenmesinde duyarlılık testlerinin klasik kültür yöntemleri yerine daha kısa sürede sonuç veren hızlı yöntemler ile yapılması gerekmektedir. Genotipik yöntemler epidemiyolojik çalışmalarda yararlı olabilir. Ancak mutasyon her zaman fenotipik dirence yansımadığı için mutlaka fenotipik ve genotipik yöntemler birlikte kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, Tüberküloz, Çok ilaca dirençli tüberküloz, BACTEC 460 TB, Tüberküloz Direnç Kiti

Figür 1. Tüberküloz Direnç Kiti stripleri ile Mycobacterium tuberculosis kökenlerinde direnç mutasyonlarının saptanması



1: izoniazid (*katG* 315) mutasyonu, 2: streptomisin (*rpsL* 43 ve *rpsL* 88) mutasyonu, kinolon (*gyrA* 90-94) mutasyonu, 7,8: kinolon (*gyrA* 90-94) mutasyonu, 10: izoniazid (*inhA* 16,15,8) mutasyonu, 3,4,5,6,9,12: mutasyon yok

Tablo 1. Tüberküloz Direnç Kiti ile tüberküloz hastalarında saptanan antitüberküloz ilaçlara karşı direnç mutasyon oranları

	Sayı (%)
Vakaların sayısı	63 (% 100,0)
Mutasyon yok	47 (% 74,6)
En az bir ilaca direnç mutasyonu	16 (% 25,4)
Toplam mutasyon oranları	
INH	9 (% 14,3)
RIF	7 (% 11,1)
SM	2 (% 3,2)
Kinolon	7 (% 11,1)
Tek ilaca karşı direnç mutasyonu	
INH	4 (% 6,3)
RIF	2 (% 3,2)
Kinolon	2 (% 3,2)
İki ilaca karşı direnç mutasyonu	
INH+RIF	2 (% 3,2)
INH+Kinolon	2 (% 3,2)
RIF +Kinolon	2 (% 3,2)
SM+Kinolon	1 (% 1,6)
Üç ilaca karşı direnç mutasyonu	
INH+RIF+SM	1 (% 1,6)

INH: İzoniazid, RIF: Rifampisin, SM: Streptomisin

P242- ÇOK İLACA DİRENÇLİ MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS KOMPLEKS KÖKENLERİNDE BİRİNCİL VE İKİNCİL SEÇENEK ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARIN MİNİMAL İNHİBİSYON KONSANTRASYONLARININ SENSİTİTRE MYCOTB KİTİ İLE ARAŞTIRILMASI

Can Biçmen, Ayriz T. Gündüz, Meral Coşkun, Güneş Şenol, Osman Kaftan
Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

Amaç
Bu çalışmada, çok ilaca dirençli (ÇİD) Mycobacterium tuberculosis kompleks kökenlerinde birincil ve ikincil seçenek ilaçların minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerlerinin Sensititre MycoTB (Trek Diagnostics, A.B.D.) kiti ile araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Toplam 25 ÇİD köken incelendi. Tüm kökenlerin birincil seçenek antitüberküloz ilaç duyarlılığı BACTEC 960 (MGIT) sistemi kullanılarak saptandı. Ayrıca, 12 ilaç [streptomisin (SM), izoniyazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETB), amikasin (AK), etiyonamid (ETİ), rifabutin (RFB), sikloserin (SKL), para-aminosalisilik asit (PAS), moksifloksasin (MXF), ofloksasin (OFX) ve kanamisin (KM)] için MİK değerleri üretici firma önerileri doğrultusunda saptanarak değerlendirildi. Kritik konsantrasyonlar, OFX, MXF, SM ve PAS için 2, KM, AK, ETİ ve ETB için 5, RIF, RFB, SKL ve INH için sırasıyla, 1, 0.5, 25 ve 0.2 mg/L olarak kabul edildi. Standart M. tuberculosis H37Ra suşu ve duyarlı dört klinik köken kontrol olarak çalışmaya alındı.
Bulgular
ÇİD kökenler arasında, MycoTB mikrodilüsyon yöntemi sonuçlarına göre MİK değerleri, INH, RIF, ETB, RFB, ETİ, SM, PAS, OFX, KM, MXF ve AK için sırasıyla, 23 (%92), 19 (%76), 13 (%52), 12 (%48), 12 (%48), 9 (%36), 3 (%12), 2 (%8), 2 (%8), 1 (%4) ve 1 (%4) örnekte kritik konsantrasyon ve üzerinde değerlendirildi. SKL için kritik konsantrasyon ve üzerinde değer saptanmadı. BACTEC 960 duyarlılık sonuçları ile uyum oranları INH için %92, ETB için %80, RIF için %76 ve SM için %68 olarak belirlendi.
Sonuç
Birincil seçenek (majör) ilaçlar değerlendirildiğinde, INH sonuçlarının diğer ilaçlara göre BACTEC 960 sonuçları ile daha uyumlu olduğu görüldü. İkincil seçenek (minör) ilaçlarda, ETİ ve RFB direnç oranlarının diğer ilaçlara göre daha yüksek olduğu belirlendi. ÇİD kökenler arasında, bir köken yaygın ilaç dirençli (YİD) (INH ve RIF direncine ek olarak florokinolon ve en az bir enjektabl ilaç direnci birlikteliği) olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, MycoTB, ÇİD, MİK, ilaç duyarlılık testi

Sensititre MycoTB ve agar proporsiyon yöntemi ilaç konsantrasyonlarının karşılaştırması

İlaçlar	Sensititre Aralığı (mg/L)	APY kritik konsantrasyon(mg/L)
İzoniyazid	0.03-4	0.2, 1.0
Rifampin[1]	0.12-16	1.0
Etambutol	0.5-32	5.0, 10.0
Etiyonamid	0.3-40	5.0
Kanamisin[2]	0.6-40	5.0
Ofloksasin[3]	0.25-32	2.0
p-Aminosalisilik asit (PAS)	0.5-64	2.0
Rifabutin	0.12-16	0.5
Streptomisin	0.25-32	2.0, 10.0
Sikloserin	2.0-256	25, Not 4 bakınız
Amikasin	0.12-16	Not 2 bakınız
Moksifloksasin	0.06-8.0	Not 3 bakınız

1-Rifampin, rifapenten grubu ilaçlar için sınıf temsilcisidir. 2- Kanamisin, amikasin için sınıf temsilcisidir. 3- Ofloksasin, florokinolonlar için sınıf temsilcisidir. 4- Sikloserin için test değişkenliği nedeniyle agar proporsiyon değeri belirlenmemiştir. FDA tarafından 25 mg/L önerilmektedir.

ÇİD kökenlerde MycoTB plağı ile saptanan antimikobakteriyel ilaçların MIK50ve MIK90 değerleri

İlaçlar	MİK aralıkları (mg/L)	MİK50 (mg/L)	MİK90 (mg/L)
INH	0.03-4	2	4
RIF	0.12-16	16	16
RFB	0.12-16	0.25	2
ETB	0.5-16	8	16
SM	0.25-32	1	32
AK	0.12-16	0.25	0.5
KM	0.6-40	1.2	2.5
OFX	0.06-32	0.5	0.5
MXF	0.06-2	0.06	0.25
ETİ	0.3-40	2.5	40
PAS	0.05-16	0.5	1
SKL	2-16	8	16

BACTEC 960 sistemi ve Sensititre MycoTB sonuçlarının karşılaştırılması

İlaçlar	BACTEC Dirençli	BACTEC Duyarlı	Sensititre MycoTB* Dirençli	SensititreMycoTB Duyarlı	Uyum (%)
SM	16	9	9	16	68
İNH	25	-	23	2	92
RIF	25	-	19	6	76
ETB	13	12	14	11	80

**Duyarlı < kritik konsantrasyon <= direnç*

ÇİD kökenlerde ikincil seçenek ilaçlarda saptanan direnç paternleri

Direnç paterni	Köken sayısı
ÇİD + RFB, ETİ	10
ÇİD + ETİ	3
ÇİD + RFB	2
ÇİD + OFX, MXF, ETİ, KM	1
ÇİD + OFX, PAS	1
ÇİD + PAS	1
ÇİD + AK, RFB, KM	1
ÇİD + RFB, PAS	1

RFB: rifabutine dirençli, ETİ: etiyonamide dirençli, OFX: ofloksasine dirençli, MXF: moksifloksasine dirençli, KM: kanamisine dirençli, PAS: p-aminosalisilik asite dirençli, AK: amikasine dirençli

P243- MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS'İN ALT SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNDEN BASİT BESİYERLERİ İLE İZOLASYONU VE MALİYET/ETKİNLİK ANALİZİ

Özgür Yanılmaz[1], Mualla Partal[2], **Güner Söyletir[1]**
[1]*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*T.C.Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul*

Amaç
Tüberkülozun laboratuvar tanısında altın standart etkenin izolasyonudur. Mikobakteri izolasyonu için en sık kullanılan besiyerleri, Löwenstein-Jensen(L-J) ve otomatize sıvı (BACTEC 12B, MGIT vb.) besiyerleridir. Ancak bu besiyerleri maliyet ve üretme zamanı açısından sorun olmaya devam etmektedir. Çalışmamızda bu besiyerlerine alternatif olarak basit ve ucuz besiyeri olan %5 koyun kanlı agarın (KKA) etkinliği araştırılmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızın birinci aşamasında Marmara Üniversitesi Hastanesi ve T.C. Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi(SGH) Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına mikobakteri kültürü için gelen alt solunum yolu örnekleri (balgam ve bronkoalveolar lavaj) 12B, L-J ve KKA besiyerlerine ekilmiştir. İkinci aşamada ise mikroskopide aside dirençli basil saptanan alt solunum yolu örnekleri, 12B ve L-J besiyerinin yanı sıra, önce Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde 48 saat inkübe edilerek zenginleştirilen örnekler KKA besiyerine ekilmiştir(M-7H9+KKA).
Bulgular
Çalışmanın ilk aşamasında 540 örneğin 37'sinde(%6.9) üreme saptanmış, bunların 35'i 12B, 31'i L-J, sadece 5'i KKA ile izole edilmiştir. İkinci aşamadaki 108 örneğe ait üreme sonuçları tabloda verilmiştir.
Sonuç
Sonuç olarak; mikobakteri izolasyonunda 12B en etkin ve hızlı sonuç veren ama maliyeti en yüksek seçenektir. Düşük maliyetli L-J ise geç izolasyon dezavantajına sahiptir. Koyun kanlı agar, bakterinin ilk izolasyonunda en düşük etkinliği sergilemekle birlikte, M-7H9 ile zenginleştirme bu basit ve ucuz besiyerini 12B ve L-J ile kıyaslanabilir düzeye çekmiştir. M-7H9+KKA yöntemi maliyet ve etkinlik açısından L-J ile benzerlik gösterirken süre açısından L-J'ye üstünlük sağlamıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre maliyeti nedeniyle otomatize sistemlere sahip olamayan laboratuvarlar için M-7H9+KKA yöntemi uygun bir alternatif olabilir.

Anahtar Kelimeler: BACTEC, izolasyon, Koyun Kanlı Agar, Löwenstein-Jensen, Mycobacterium

Tablo 1: Birinci aşamada çalışılan örneklerin (n=540) direkt inceleme ve kültür sonuçları

	EZN pozitif n (%)	Üreme pozitif n (%)	Toplam
Balgam	28 (10.1)	30 (10.8)	278
BAL	6 (2.3)	7 (2.7)	262
Toplam	34 (6.3)	37 (6.9)	540

Tablo: Çalışmanın ikinci aşamasında EZN pozitif örneklerden (n=108) Mycobacterium tuberculosis izole edilen kültürlerde besiyeri verimliliği ve test maliyeti

	12B	L-J	M-7H9+KKA
Üreme sayısı	75 (%94)	73 (%91)	72 (%90)
Üreme günü	14.91±3.93	26.52±8.28	19.14±3,5
Maliyet (TL)	17,5	1,5	1,5

Tablo 2: Birinci aşamada çalışılan örneklerdeki üremelerin besiyerlerine göre dağılımı

	12B n (%)	LJ n (%)	KKA n (%)	Toplam Üreme n (%)
EZN pozitif (n=34)	26 (76.5)	26 (76.5)	5 (14.7)	28 (82.4)
EZN negatif (n=506)	9 (1.8)	5(1)	0 (0)	9 (1.8)
Toplam (n=540)	35 (6.5)	31 (5.7)	5 (0.9)	37 (6.9)

Tablo 3: Çalışmanın ikinci aşamasında EZN pozitif örneklerin besiyerlerinde izolasyon oranları

	12B n (%)	LJ n (%)	M-7H9 n (%)	Toplam üreme n (%)
Balgam (n=98)	69 (70.4)	67 (68.4)	66 (67.3)	73 (74.5)
BAL (n=10)	6 (60)	6 (60)	6 (60)	7 (70)
Toplam (n=108)	75 (69.4)	73 (67.6)	72 (66.7)	80 (%74.8)

Örnekten direkt ekilen KKA'da sadece bir örnekte üreme olduğu için tabloda yer verilmemiştir.

Tablo 4: Çalışmanın ikinci aşamasında EZN pozitif örneklerden (n=108) Mycobacterium tuberculosis izole edilen kültürlerde besiyeri verimliliği ve test maliyeti

	12B	LJ	M-7H9+KKA
Pozitif kültür(n=80)	75(%93.8)	73(%91.3)	72(%90)
Üreme günü	14.91±3.93	26.52±8.28	19.14±3.5
Maliyet (TL)	17.5	1.5	1.5

1TL=0,4€ olarak hesaplanmıştır.

P244- TÜBERKÜLOZ TANISI İÇİN SANTRİFÜJ GEREKTİRMEYEN YENİ BİR DEKONTAMİNASYON VE YOĞUNLAŞTIRMA YÖNTEMİ

Tanıl Kocagöz[1], Işın Akyar[1], Sedat Altın[2], İlhan Taş[2], Perihan Karaduman[3], Pınar Başören[4], Elif Yeşilyurt[3], Sinem Öktem Okullu[1], Nihan Aytekin[1], Tufan Silier[4]
[1]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*T.C. Sağlık Bakanlığı, Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi,İstanbul*
[3]*Tanısal İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu (TİBO)*
[4]*Salubris A.Ş.*

Amaç
Tüberküloz tanısı için laboratuvara gönderilen başta balgam olmak üzere klinik örnekler, mikobakterilere kıyasla çok hızlı üreyen organizmalarla kontamine olduğu, ayrıca mikobakteriler örnekte genelde az sayıda bulunduğu için, mikroskobik inceleme ve kültüre ekim öncesinde dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi uygulanır. Başta Kubica (sodyum hidroksit - NALC) olmak üzere günümüzde bu amaçla yaygın olarak kullanılan yöntemlerin hepsi santrifüjle çöktürme gerektirmektedir. Santrifüjlerde üretilen ısı zaman zaman mikobakterileri öldürebildiğinden, aerosol oluşumunu da azalttığı düşünülen soğutmalı santrifüj kullanılması tavsiye edilmektedir. Santrifüj işlemi toplam örnek işleme süresinin yarısını oluşturmakta ve ancak olanakları iyi olan laboratuvarlarda yapılabilmektedir. Bu çalışmanın amacı dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemini santrifüj gerektirmeden yapabilen bir yöntem ve bu yöntemin kolay uygulanmasını sağlayan bir kit geliştirmektir.
Gereç-Yöntem
Santrifüj gerektirmeyen dekontaminasyon ve yoğunlaştırma yönteminin geliştirilmesi ve kitin oluşturulması, sıvı emici boncukların kullanılması temeline dayandırıldı. Bu amaçla yüksek oranda sıvı emme yeteneğine sahip, gözenekleri mikroorganizmaları içerisine geçirmeyecek ölçüde küçük, çeşitli kristal ve emici boncuklar, çeşitli dekontaminasyon ve nötralizasyon sıvıları denendi. En iyi sonuç alınan emici boncuklar ve çözeltiler seçilerek "Decomics"* adı verilen bir kit oluşturuldu (Şekil). Laboratuvara gelen ve 2ml'nin üzerinde olan balgam örnekleri iki eşit kısma bölünerek birincisi Decomics, diğeri Kubica yönteminin kolayca uygulanmasını sağlayan Mycoprosafe (Salubris) ile işlendi. Decomics uygulaması için örnekler örnek kabına konup üzerine pH indikatörü içeren kırmızı renkli dekontaminasyon sıvısı eklendi ve çalkalanarak homojenize edildi. Oda sıcaklığında 10 dakikalık inkübasyon sonrasında emici boncuklar karışıma eklendi ve 5 dakika boncukların sıvıyı emmesi için beklendi. Üzerine nötralizasyon sıvısı eklenen örneklerin renginin önce sarıya döndüğü gözlendi ve nötralizasyon işleminin tamamlandığı ve pH'ın 7 civarına geldiğini gösteren turuncu-pembe renk oluşana dek yaklaşık 3 dakika beklendi. Bu sırada boncukların nötralizasyon sıvısının da bir kısmını emmesi ile örnekler yoğunlaştırılmış oldu. İşlenmiş örnekler Kinyoun ile boyanarak mikroskopla incelendi, Löwenstein Jensen (LJ) ve TK hızlı Mikobakteri Kültür Besiyerine ekildi. Aynı işlemler Kubica yöntemiyle işlenen örneklere de yapıldı ve sonuçlar karşılaştırıldı.
Bulgular
İşlenen toplam 46 örneğin mikroskopla incelemesinde 21'inde aside dirençli boyanan basil (ARB) saptanırken, Mycoprosafe ile işlenen örneklerin 21'inde hem TK hem de LJ'de, Decomics ile işlenen örneklerin ise 22'sinde hem TK hem de LJ'de mikobakteri üremesi oldu. Mikroskopta ARB pozitif olan iki örnekten hiçbirinden kültür besiyerinde üreme olmazken, ARB negatif olan üç örneğin kültüründe üreme görüldü. Her iki örnek işleme yöntemi ile kültürde mikobakteri üreyen örneklerin üreme süreleri Mycoprosafe ile TK'da ortalama 14,70, LJ'de 28,42 gün iken Decomics ile bu sürenin TK'da 12,38, LJ'de ise 25,45 gün olduğu hesaplandı.
Sonuç
Yeni geliştirilen emici boncuklarlar ile dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi mikobakteri saptamada santrifüjle gerçekleştirilen Kubica yöntemi kadar etkin bulunmuştur. Ortalama üreme sürelerinin Decomics ile işlenen örneklerde daha kısa olması, yoğunlaştırılan mikobakteri sayısının yüksekliğine ve belki pH'ın daha uygun ayarlanmasına bağlı olabilir. Bu sonuçların güvenilirliğinin arttırılabilmesi için çalışmanın daha fazla örnekte ve farklı laboratuvar koşulları olan merkezlerde tekrarlanması uygun olacaktır. Decomics santrifüj gerektirmemesi nedeniyle, koşulları eski yöntemlerle uygulama yapmaya yeterli olmayan merkezlerde de yaygın olarak kullanılabilir. Tüm işlemin 45 dakikadan 25 dakikaya inmesi ve çok kolaylaşması nedeni ile Decomics'in tüberküloz tanı laboratuvarlarında önemli zaman ve emek artırımı sağlaması beklenmektedir.
*Decomics, ulusal ve uluslararası patent başvurusu yapılımış bir üründür.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, mikobakteri, dekontaminasyon yoğunlaştırma

DECOMİCS



SANTRİFÜJ GEREKTİRMEYEN DEKONTAMİNASYON YOĞUNLAŞTIRMA KİTİ

DECOMİCS İLE ÖRNEK İŞLEME



DEKONTAMİNASYON YOĞUNLAŞTIRMA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

n=46	Mycoprosafe (NaOH-NALC)		Decomics	
Besiyeri	LJ	TK SLC	LJ	TK SLC
Mikobakteri Üreme	21	21	22	22
Üreme süresi (gün)	28,4	14,7	25,4	12,4
Mikroskop* ARB (+)	21		21	

*ARB (+) 2 örnekten kültürde üreme olmazken, ARB (-) 3 örnekten kültürde mikobakteri üremesi gözlendi.

P245- TÜBERKÜLOZ SPONDİLODİSKİT TANISINDA PCR

Tekin Karslıgil[1], Mustafa Sağlam[1], Mehmet Secer[2], Gülhan Korkmaz[2], Yusuf Doğan[1]
[1]*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Gaziantep*
[2]*Gaziantep Şehitkamil Devlet Hastanesi, Gaziantep*

Amaç
Tüberküloz spondilodiskit ve osteoartiküler tüberküloz'da etken izolasyonu zordur. Bu çalışmada yürümede güçlük yakınmalarıyla başvuran 39 yaşında erkek hastanın radyolojik olarak spondilodiskit tespit edilmesi sonrası açık biyopsi ile alınan materyalde PCR ve kültür yöntemleri ile Mycobacterium tuberculosis tanısı konulması ve antitüberküloz tedavi sonrası hastanın bulgularının kaybolması irdelenmiştir.
Vaka
Otuzdokuz yaşında erkek hasta, bel ağrısı, yürümede güçlük yakınmalarıyla başvurdu. Hastaneye başvurmadan 1 ay önce bel ağrısının, 20 gün önce de yürümede güçlük başladığı öğrenildi. Fiziki incelemede alt ekstemite 4/5 paraparezi mevcut ve duyu defisiti tarif ediyordu. DTR'leri canlı, patolojik refleks alınmadı. Laboratuvar incelemesinde, beyaz küre 12,1 K/µL, kırmızı küre 5,61 M/µL, trombosit sayısı 297 K/µL idi. Kan biyokimyası 108 U/L, LDH 127 U/L, HDL kolesterol 34 mg/dL ve demir 34 µg/dl dışında normaldi. ELISA testlerinden HBsAg, Anti HBs, Anti HCV ve Anti HIV negatifti. C-Reaktif Protein değeri 4.2 mg/dl idi. Salmonella ve Brucella aglütinasyon testleri negatifti. Lomber MR incelemesinde; T11-12, T12-L1 düzeylerinde paravertebral abse formasyonları görüldü (diskovertebral enfeksiyon). Hastaya posterior dorsal girişim ile vertebra abse drenajı yapılarak alınan materyal, bakteri kültürü, tüberküloz kültürü ve Tbc PCR için gönderildi. Bakteri kültüründe üreme olmazken Tbc PCR pozitif saptandı. Daha sonra MGIT yöntemiyle M.tuberculosis complex pozitif bulundu. Uygun tedavi ile hastanın bulguları kayboldu.
Sonuç
Tüberküloz, ülkemizde önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda ve HIV infeksiyonu gibi immünosüpresyonu olan kişilerde daha sık görülmektedir. Nonpulmoner osteoartiküler tüberküloz olguları tüm vakaların yaklaşık %10 kadarı olup, en sık hedef omurgadır. Vertebral tüberkuloz(VTbc) en sık alt torakal ve üst lomber bölgeyi tutmaktadır. VTbc'da erken ve kesin tanı, etkin ve uygun tedavi açısından önemlidir. Çünkü tanı ve tedavideki gecikme, kifoz ve/veya nörolojik hasar(parapleji) gelişmesine yol açabilir. VTbc tanısında kültür altın standart olmasına rağmen, kültürde M. tuberculosıs'in izole edilmesi uzun süre aldığından, PCR erken tanı ve uygun tedavi düzenlenmesinde önemli bir yöntem olarak görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Spondilodiskit, Mycobacterium tuberculosis, PCR

P246- Tüberküloza Bağlı Gelişen Epidimiorşit Olgusu

Recep Tekin[1], **Alicem Tekin[2]**, Eyüp Arslan[1], Özcan Deveci[1], Muhammed Bekçibaşı[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABDı, Diyarbakır*

Amaç
Tüberküloz, primer olarak akciğeri tutmakla birlikte her doku ve organı etkileyebilen bir hastalıktır. Erişkin populasyonunda, ekstrapulmoner vakaların %20 - %73'ünde genitoüriner tüberküloz bildirilmiştir. Çocuklarda tüberküloz epididimiiorşit daha nadirdir. Bu olgu vesilesiyle tüberkülozepididimiorşit olgusunun tanı ve tedavisi irdelenmiştir.
Vaka
Onbeş yaşında erkek hasta, 2 aydır varolan sol inguinal bölgede ve testislerde şişlik ve ağrı yakınmaları ile hastanemize başvurdu. Daha önce inguinal herni düşünülüp takip edilen hastanın son on gündürde başlayan ateş şikayeti mevcutmuş. Fizik muayenede sol vas deferns bölgesinde tespih tanesi şeklinde ele gelen kitle görülmesi ve şişlik mevcut diüer sistem muayeneleri normal idi. Hastaya yapılan skrotal USG'de sol epididimde kronik granulamatöz hastalık ile uyumlu bulgular saptandı. Hastanın lökosit sayısı 10300/mm3, sedimentasyon hızı 9 mm/saat, CRP düzeyi 3 mg/L bulundu. Yapılan idrar kültüründe ARB saptanması üzerine hastada tüberküloz epididimiorşit düşünülüp dörtlü anttitüberküloz tedavi olarak izoniazid, rifampisin, pirazinamid, etambutol oral olarak başlandı. İkinci ayın sonunda kontrole gelen hastanın şikayetleri gerilemiş ve şişliği azalmış olup, pirazinamid ve etambutol kesilerek izoniazid ve rifampisin ile tedaviye devam edildi
Sonuç
Tüberküloz infeksiyonunun sık görüldüğü toplumlarda, genitoüriner hastalıklarının ayırıcı tanısında tüberkülozda etken olarak akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: tüberküloz, epididimiorşit, pediatrik

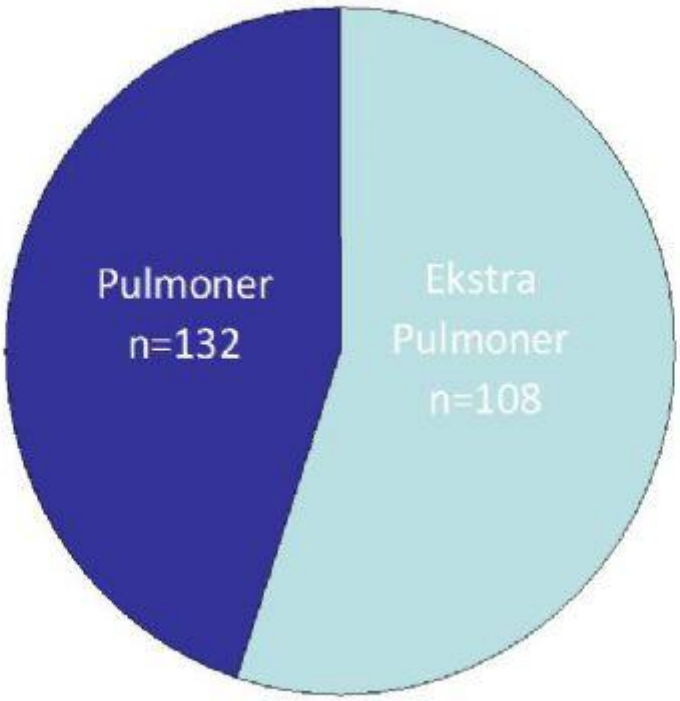
P247 - MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS KOMPLEKS SUŞLARININ MAJOR ANTİMİKOBAKTERİYELLERE KARŞI DUYARLILIĞI

Banu Bayraktar, Arzu İrvem, Emin Bulut
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, iSTANBUL

Amaç
Araştırmamız Şişli Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuarına 2007-2011 yılları arasında gönderilen pulmoner ve ekstrapulmoner örneklerde Mycobacterium tuberculosis kompleks üreme oranını ve bu suşların major antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
2007- 2011 yılları arasında laboratuarımıza tüberküloz kültürü istemiyle gönderilmiş olan örneklere ait sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Tekrar üremeler değerlendirmeye alınmamıştır. Kliniklerden gönderilen pulmoner ve ekstra pulmoner örnekler uygun dekontaminasyon ve homojenizasyon işlemlerinden sonra, Lowenstein-Jensen (LJ) ve Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) besiyerlerine ekilmiştir. Aside dirençli basil üreyen kültürlerde identifikasyon konvansiyonel yöntemler (kord oluşturma, nitrat redüksiyonu, PNBA testi) ve hsp65 PCR-RFLP kullanılarak yapılmıştır. Majör antimikobakteriyel ilaçlara (izoniazid, rifampin, streptomisin ve etambutol) karşı direnç manuel MGIT yöntemi ile saptanmıştır. Dirençli suşlar (n:24) ikinci bir yöntem ile (BACTEC 460) test edilmiştir.
Bulgular
Çalışma süresince laboratuarımıza başvuran 2667 hastadan 247'sinde (%9) Mycobacterium cinsinden bakteri üretilmiştir. 247 suşun 240'ı (%97,1) M.tuberculosis kompleks (MTBC), 7'si (%2.9) non tüberküloz mikobakteri olarak identifiye edilmiştir. MTBC suşlarının 108'i (%45) ekstrapulmoner, 132'si (%65) pulmoner örneklerden izole edilmiştir. Suşların 149'u (%62) erkek, 91'i (%38) bayan hastalara ait örneklerden üretilmiştir. Erkek hasta sayısı ve pulmoner örneklerde üreme oranı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Saptanan direnç paternleri ve saptandıkları suş sayıları ile yüzdeleri Tablo'da gösterilmiştir. Çok ilaca dirençli (ÇİD) suşların oranı %2,9 (n:7) olarak saptanmıştır. Manuel MGIT yöntemiyle streptomisine dirençli olan dokuz ve izoniazide dirençli olan bir örnek, BACTEC 460 ile test edildiğinde duyarlı bulunmuştur.
Sonuç
Bu çalışmadaki veriler, diğer çalışmalarla kıyaslandığında direnç oranları düşük saptanmıştır. Yıllar arasında dirençte bir artış görülmemiştir. Ektrapulmoner örneklerdeki direnç oranı pulmoner örneklere göre daha düşük bulunmuştur. Direnç oranlarındaki düşüklük üreyen her MTBC suşuna duyarlılık testi yapılması ve hastanemizin hizmet verdiği hasta popülasyonunun özelliklerine bağlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Antimikobakteriyel duyarlılığı, MGIT, Mycobacterium tuberculosis kompleks

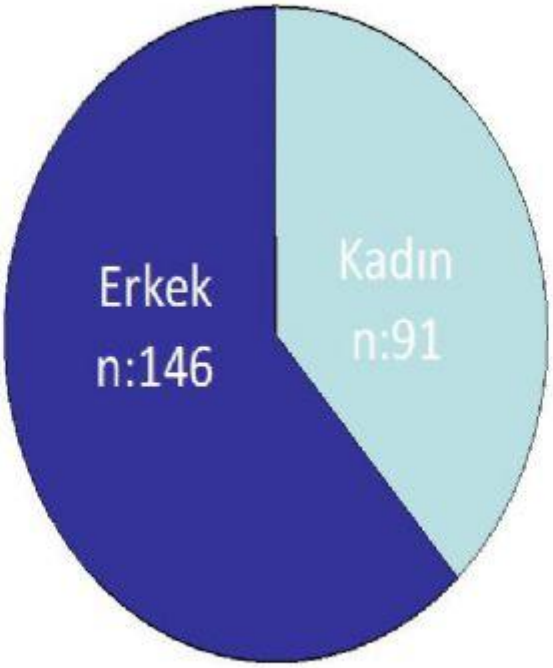
Şekil 1. Örneklerin dağılımı



Tablo1. Kritik İlaç konsantrasyonları

	MGIT	BACTEC 460
STR	0.8µg/ml	2.0µg/ml
İNH	0.1µg/ml	0.1µg/ml
RİF	1.0µg/ml	2.0µg/ml
EMB	3.5µg/ml	2.5µg/ml

Şekil 2. Cinsiyet dağılımı



Tablo 2. Duyarlılık test sonuçları

	Suş sayısı (%)
Hepsine duyarlı	216 (90)
Tek ilaca dirençli	12 (5)
İki ilaca dirençli	4 (1.66)
Üç ilaca dirençli	4 (1.66)
Dört ilaca dirençli	4 (1.66)

Tablo 3. Dirençli suşların dağılımı

Direnç paterni	INH	RIF	STR	RIF-STR	INH-RIF-STR	INH-RIF-EMB	INH-STR-EMB	INH- RIF-STR-EMB
n (%)	10 (4.2)	1 (0.4)	1 (0.4)	4 (1.7)	1 (0.4)	2 (0.8)	1 (0.4)	4 (1.7)

**** INH: izoniazid; RIF: rifampisin; STR: stretomisin; EMB: etambutol.***

P248 - GALAKTOMANNAN, 1,3-B-D-GLUCAN VE PCR TESTLERİNDE BRONKOALVEOLER LAVAJ ÖRNEĞİNİN ÖNEMİ: OLGU SUNUMU

Hafize Sav[1], Mustafa Altay Atalay[1], Ekrem Ünal[2], Ayşe Nedret Koç[1]
[1]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Kayseri*

Amaç
Fırsatçı mantar enfeksiyonları özellikle immün yetmezlikli hastalarda önemli bir tehdit olmaya devam etmektedir. Erken ve doğru tanı, antifungal tedavinin zamanında başlanması ve toksik antifungal ajanların gereksiz kullanımını azaltmak için son derece önemlidir. Son yıllarda İnvaziv Mantar Enfeksiyon (IME)'larının daha hızlı ve daha duyarlı saptanabileceği antijenlerin, özgül antikorların, fungal metabolitlerin ve DNA'nın tespitine yönelik çabalar artmıştır. Bu çalışmada, bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvı kültüründen Aspergillus fumigatus'un izole edildiği, eşzamanlı olarak BAL örneğinden yapılan 1,3-β-D-Glucan (BG), galaktomannan (GM) ve PCR testlerinin pozitif, serum örneğinden yapılan BG, GM ve PCR testlerinin ise negatif olduğu immunsupresyonu olan bir pediatrik hasta sunulmuştur.
Olgu
Kistik fibrozis ve diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı olan, 7 yaşındaki erkek hasta Nisan 2009 tarihinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Polikliniğine ateş, kusma ve öksürük şikayetleriyle başvurdu. Laboratuvar incelemelerinde, lökosit sayısı: 19.540 mm3, C-reaktif protein: 47.3 mg/l bulundu. Toraks Bilgisayarlı Tomografisinde sağ akciğer alt lobda yaygın parankimal infiltrasyon ve alveolar opasiteler, her iki akciğerde de değişik segmentlerde yamalı alveolar fokal infiltrasyonlar izlendi. Bronkoskopiyi takiben Mikoloji Laboratuvarına gönderilen BAL örneğinin direkt incelenmesinde 45 derece açı ile dallanma gösteren septalı hifler görüldü. Kültürde ise A. fumigatus üredi. Amfoterisin B, kaspofungin ve vorikonazol için MİK değerleri sırasıyla 0,50 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,35 µg/ml olarak bulundu. BAL PCR, GM ve BG sonuçları pozitif (1,08 ng/ml ve >523 pg/ml) iken eşzamanlı serum PCR, GM ve BG sonuçları ise negatifti (0,13 ng/ml ve <7 pg/ml). Hastaya vorikonazol başlandı ve 45 gün devam edildi, genel durumu düzelen hasta önerilerle taburcu edildi.
Sonuç
İmmunsuprese hastalarda IME'larının erken tanı ve tedavisinin prognozu ciddi düzeyde etkilemesi nedeniyle serum örneklerinden çalışılan GM, BG ve PCR testleri yanında BAL örneklerinden de GM, BG ve PCR çalışılmasının faydalı olacağı ve bunun ileri ve daha fazla olgu ile yapılan çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bronkoalveolar Lavaj, 1, 3-β-D Glukan, Galaktomannan, PCR

Resim 1



BAL örneğinin direkt incelemesinde 45 derece açı ile dallanma gösteren septalı hif

P249 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA TÜRLERİ ve AMFOTERİSİN B - FLUKONAZOLE İN VİTRO DUYARLILIKLARI

Mustafa Altay Atalay, Hafize Sav, Gonca Demir, Ayşe Nedret Koç
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Son yıllarda immunsupresif tedavi alan hasta sayısının artmasına bağlı olarak, ciddi fungal enfeksiyonların, özellikle invazif Candida enfeksiyonlarının insidansında da artış gözlenmektedir. Kandidemi, yüksek mortalite ile seyreden ciddi bir klinik tablodur. Kandidemilerde en sık etken Candida albicans olmakla birlikte albikans-dışı türlerin görülme sıklığı da giderek artmaktadır. Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Ünitesinde kan kültüründen izole edilen Candida türlerinin tiplendirilmesi ve amfoterisin B ve flukonazol duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.
Yöntem
Temmuz 2009-2011 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli birimlerinden Merkez Laboratuvarına gönderilen kan kültürleri BacT/Alert 3D otomasyon sistemi (Biomerieux, Fransa)'nde inkübe edildi ve şişelerden üreme sinyali verenlerden preparat hazırlandı, Gram boyama ile maya hücresi tespit edilenler Sabouraud dekstroz agar (Oxoid,İngiltere)'a pasajlandı. İzolatların tanımlanmasında, germ tüp testi, mısır unu-Tween 80 agar besiyerindeki morfolojik görünümleri ve gerektiğinde API 20C AUX (Biomerieux, Fransa) sistemi kullanıldı. İzole edilen Candida suşlarının Amfoterisin B ve Flukonazol'e karşı duyarlılıkları ise E test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile araştırıldı. Bu yöntemde %2 glukoz ve %1.5 agar içeren RPMI 1640 (Sigma, USA) besiyeri kullanıldı ve sonuçlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi.
Bulgular
Toplam 97 suşun 66'sı (% 68) C.albicans, 14'ü (% 14.5) C. parapsilosis, 9'u C. glabrata (% 9.3), 4'ü (% 4.1) C.krusei, 3'ü (%3.1) C. tropicalis ve biride (%1) C. pelliculosa olarak tanımlandı.C.albicans, C.parapsilosis. C.glabrata ve C. tropicalis için amfoterisin B -flukonazol MİK aralıkları sırasıyla <0.002-0.38 µg/ml-0.064-12 µg/ml, 0.016-1 µg/ml- 0.125-2 µg/ml, 0.064- 0.5 µg/ml-3-48 µg/ml ve 0,012-0,25 µg/ml-0.5-2 µg/ml bulundu. C.krusei için Amfoterisin B MİK aralığı 0,125-1 µg/ml saptanırken flukonazole doğal dirençli olduğundan MİK değeri belirtilmedi. C.pelliculosa olarak tanımlanan bir suşun ise MİK değerleri amfoterisin B ve flukonazol için sırasıyla 0,25 µg/ml ve 4 µg/ml olarak bulundu.
Sonuç
Hastanemizde kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinden C.aibicans ilk sırayı almakla beraber diğer Candida türlerinin de sıklığı artmıştır. İzole edilen Candida türlerinin EUCAST ve CLSI'e göre dirençli ve doza bağlı duyarlılıkların belirlenmesi antifungal duyarlılıkların sıklıkla gözden geçirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.
.

Anahtar Kelimeler: Kan kültürü, Candida, Amfoterisin B, Flukonazol

Tablo 1

Tablo 1. İzole edilen *Candida* türleri ve Amfoterisin B ve Flukonazol MİK aralıkları

Antifungaller / Candida türleri (n)	Amfoterisin B (µg/ml)			Flukonazol (µg/ml)		
	MİK 50	MİK 90	MİK aralığı	MİK 50	MİK 90	MİK aralığı
C. albicans (66)	0.064	0.125	<0.002-0.38	0.32	1	0.064-12
C. parapsilosis (14)	0.125	0,5	0.016-1	0.5	1	0.125-2
C.glabrata (9)	0.125	0.25	0.064-0.5	16	24	3-48
C.krusei (4)			0,125-1			B
C.tropicalis (3)			0,012-0,25			0.5-2
C. pelliculosa (1)			0,25			4

B: *C.krusei* flukonazole doğal dirençli olduğundan MİK değeri belirtilmemiştir

İzole edilen Candida türleri ve Amfoterisin B ve Flukonazol MİK aralıkları

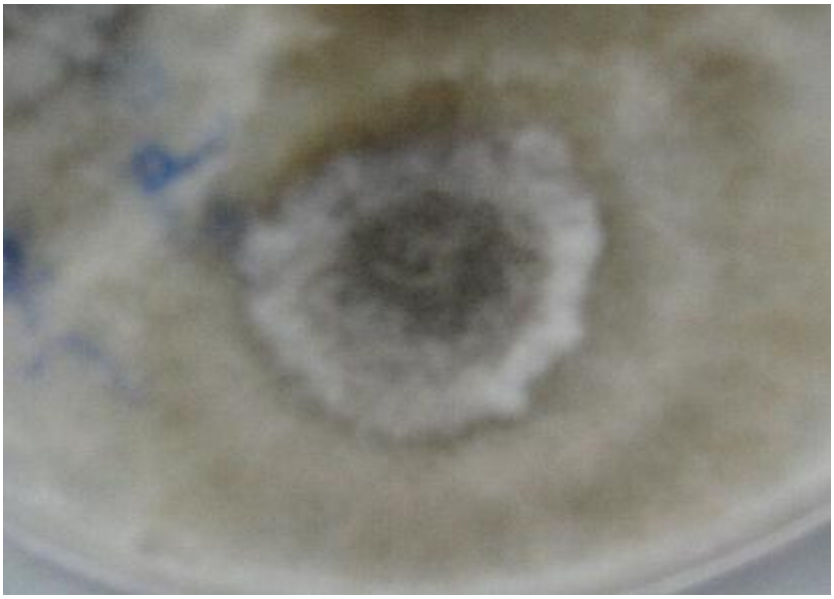
P250 - BİR AKUT MYELOİD LÖSEMİ HASTASINDA SCEDOSPORİUM APİOSPERMUM (TELEOMORF: PSEUDALLESCHERİA BOYDİİ) İZOLASYONU

Çağrı Ergin[1], Murat Kutlu[2], Sevtap Arıkan Akdağlı[3], Zeynep Sarıbaş[3], **Fatma Aydeniz Ozansoy[1]**, İsmail Sarı[4], Neşe Dursunoğlu[5]
[1]*Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli*
[2]*Pamukkale Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Denizli*
[3]*Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[4]*Pamukkale Üniversitesi İç Hastalıkları ABD, Hematoloji BD, Denizli*
[5]*Pamukkale Üniversitesi Göğüs Hastalıkları ABD, Denizli*

Amaç
Scedosporium türleri toprak, çürüyen bitki, lağım pisliği, kirli su ve çiftlik hayvanlarının gübrelerinden izole edilebilirler. İnsanlarda immün duruma bağlı olarak cilt (miçetom, madura ayağı), solunum sistemi ve santral sinir sistemi infeksiyonlarına neden olabilir. Paranazal sinus infeksiyonları, otitis media, mastoidit, osteomyelit, artrit, endoftalmit, kerato-üveit, endokardit tabloları da bildirilmiştir. Bu raporda S.apiospermum'un neden olduğu bir mikoz olgusu sunulmaktadır.
Vaka
Akut myeloid lösemi tanısıyla takip edilen 62 yaşındaki erkek hasta; invazif aspergilloz öntanısı nedeni ile takibe alındı. Yapılan yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografisinde sol akciğer alt lob apikal segmentte düzensiz konturlü 16 mm çaplı çevresinde hafif halo bulunan nodül görüldü. Bu sonucun invazif pulmoner aspergilloz düşündürmesi üzerine hastaya amfoterisin B deoksikolat başlandı. Allerjik reaksiyon gelişmesi üzerine kaspofungin tedavisine geçildi. Galaktomannan testi negatif olan hastada ateş, ral ve akciğer parankiminde nodüler bulunması nedeni ile yapılan fiberoptik bronkoskopide tüm bronşiyal sistem açık ve normal idi, endobronşiyal lezyon ve mukozal infiltrasyon görülmeyen hastaya sol alt lob apikal segmentten fırçalama, bronşiyal ve bronkoalveoler lavaj uygulandı. Örnek Sabouraud dekstroz agar ve patatesli dekstroz agar besiyerlerine ekilerek 28°C'da inkübe edildi. Kültürün 4. gününde üreyen koloniler laktofenol pamuk mavisi yardımı ile mikroskopta incelendi. Morfolojik özellikleri ileScedosporium sp. ön tanısı konulan kökenin, eşeyli formların oluşmasını takip için oda sıcaklığındaki kültürüne devam edildi. Kültürlerin 14. gününde yapılan mikroskopik incelemesinde tanı koydurucu askus, askospor ve klaystotesyum yapıları görüldü. Köken morfolojik özellikleri ile Pseudallescheria boydii olarak tanımlandı. CLSI M38-A2 mikrodilüsyon yöntemine göre yapılan antifungal duyarlılık testinde minimum inhibitör konsantrasyon değerleri vorikonazol için 0.5 µg/ml, kaspofungin için 0.06 µg/ml, amfoterisin B için 8 µg/ml ve posakonazol için 4 µg/ml olarak belirlendi.
Bronkoalveolar lavaj örneğinde Scedosporium apiospermum üremesi nedeniyle antifungal tedavi vorikonazol olarak düzenlendi. Vorikonazol tedavisinin altıncı gününde hastanın ateşi normale döndü. Bronkoskopi sırasında alınan biyopside benign sitolojik bulgular saptandığı rapor edildi. Nötropenisi de düzelen hasta tedavinin 12'inci gününde oral vorikonazol önerisi ile taburcu edildi.
Sonuç
Nadir görülen mikolojik patojenlerin tanımlanması ve bu patojenlerin antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi, bu mantarların immünsüprese konakta oluşturdukları enfeksiyonların tedavisinde önemlidir.

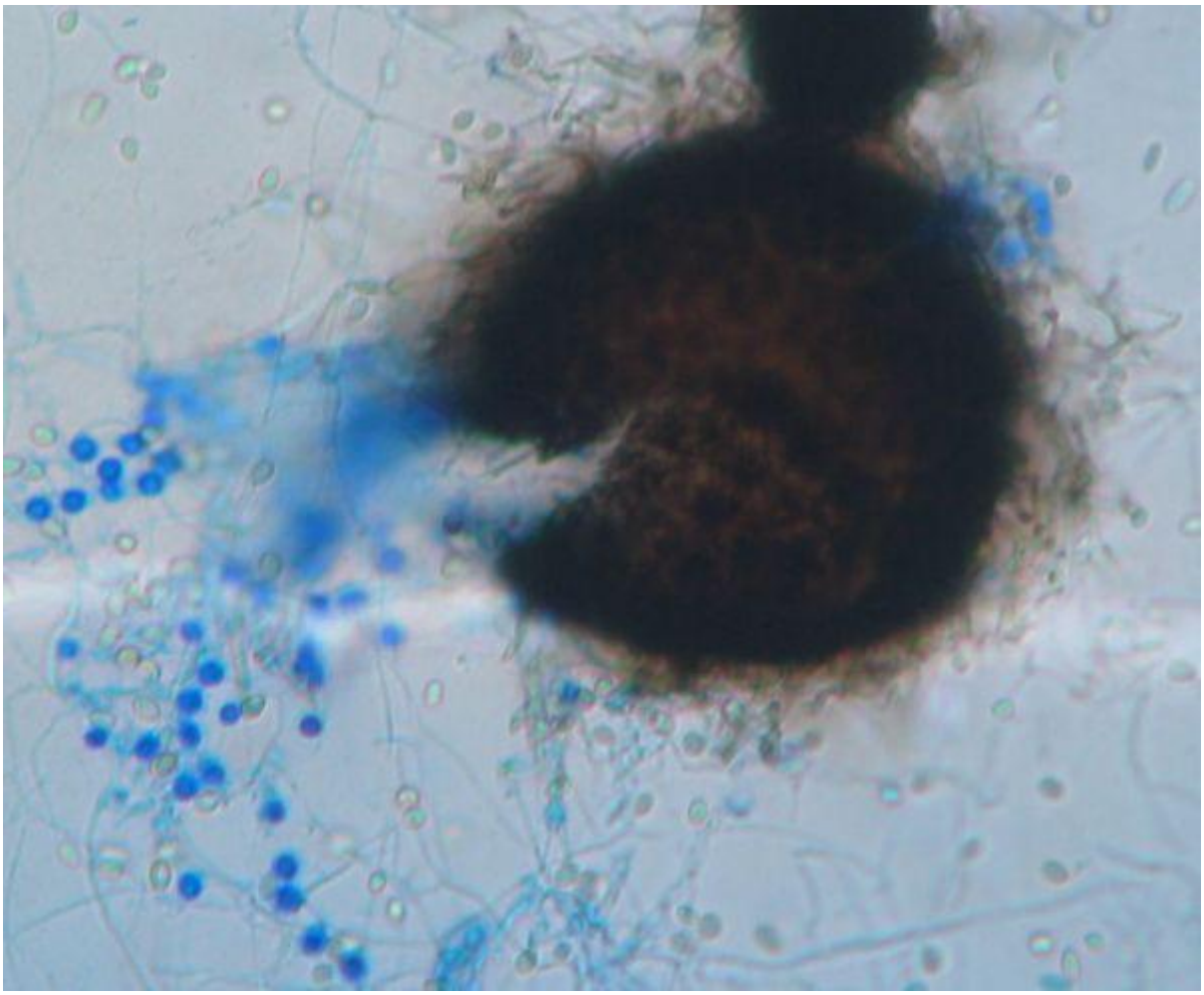
Anahtar Kelimeler: Scedosporium apiospermum, Pseudallescheria boydii, akut myeloid lösemi

Resim 1



Patatesli dekstroz agar besiyerinde 30 C'da üreyen koloninin makroksopik görüntüsü (4.gün)

Resim 2



Laktofenol pamuk mavisi ile direkt mikroksopik inceleme (14.gün)

P251 - YOĞUN BAKIM HASTALARINA AİT ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA İZOLATLARINDA ANTİFUNGAL DİRENÇ ARAŞTIRILMASI

Erdal Özbek[1], Fikret Tekay[2], Habibe Çolak Pirinççioğlu[3]
[1]*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Diyarbakır*
[2]*Diyarbakır Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboraruvarı, Diyarbakır*
[3]*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları, Diyarbakır*

Amaç
Mantar infeksiyonunun sıklığının ve buna bağlı mortalite ve morbidite oranlarının yükselmesi, ampirik antifungal kullanımının yaygınlaşmasına bu da dirençli mantar izolatlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum, uygun ve etkin antifungal tedavinin seçiminde in vitro antifungal duyarlılık testlerine duyulan gereksinimi arttırmaktadır. Buna karşın laboratuvarlarda rutin olarak duyarlılık testleri yapılmamaktadır.
Bu çalışmada, Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniği'nden gelen hasta örneklerinden soyutlanan maya mantarlarının tür tayinleri ve antifungal duyarlılık testlerinin yapılması ve hastanemizde bu tetkiklerin rutin olarak yapılmasının sağlanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Aralık 2009 ile Eylül/2010 tarihleri arasında hastanemiz Anestezi Yoğun Bakım ve Reanimasyon Kliniğinde yatan hastalardan alınarak laboratuvarımıza gönderilen; Kan, İdrar, Peritoneal mai, Balgam örneklerinden izole edilen maya mantarları incelemeye alındı. Aynı hastaya ait tekrar kültürlerde saptanan izolatlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan örneklerden soyutlanan maya mantarlarına germ tüp testi uygulanmış, Mısır Unu Tween 80 Agardaki mikroskobik görünümü incelenmiştir. Ayrıca identifikasyon ve antibiyogram testleri için VITEC 2 Compact® (Biomerieux, France) sistemi ve kitleri kullanılarak, amfoterisin B, flusitozin, flukonazol ve vorikonazol duyarlılık durumları araştırılmıştır.
Bulgular
25'i kan, 24'ü idrar, 3'ü Balgam, 3'ü peritoneal mai olmak üzere toplam 55 klinik örnekte, 31 (%56,36) C. albicans, 17 (%30,90) C. parapislosis, 3 (%5,45) C. tropicalis, 2 (%3,63) C.dubliniensis, 1 (%1,81) C. glabrata, 1 (%1,81) C. guillermondi izolatı identifiye edildi.
İzolatların hiçbirinde Antifungal duyarlılık testleri ile amfoterisin B ve flusitozine direnç saptanmazken, bir C. albicans izolatında (%1,81) Flukonazole, bir C. albicans izolatı ile bir C. guillermondi izolatında (%3,63) ise vorikonazole direnç saptanmıştır. Ayrıca üç C. albicans izolatında (%5,45) amfoterisin B' ye, bir C. albicans izolatı (%1,81) vorikonazol' e, iki C. albicans izolatı ile bir C. guillermondi izolatı (%5,45) flukonazol'e orta duyarlı olarak saptanmıştır.
Sonuç
Bu çalışmada daha önce yapılan pek çok çalışmaya benzer şekilde en sık olarak C.albicans izole edilmiştir. Çalışmamızda çok yüksek oranlarda olmasa da bazı suşlarda flukonazol ve vorikonazole dirençli bulunurken bazı suşlar amfoterisin B, flukonazol ve vorikonazol' e orta duyarlı bulunmuştur. Diğer bazı çalışmalarda da flukonazol ve itrakonazol gibi ampirik tedavide sık kullanılan antifungallere karşı dirençte artış olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle özellikle yoğun bakım hizmeti veren sağlık kuruluşlarında antifungal duyarlılık testlerinin yapılamsının giderek daha önem kazandığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Candida, Antifungal Duyarlılık, Yoğun Bakım

Candida İzolatlarının Dağılımı

Örnek	C. albicans	C. parapislosis	C. tropicalis	C.dubliniensis	C. glabrata	C. guillermondi
Kan	9	13	1	1	1	0
İdrar	16	4	2	1	0	1
Balgam	3	0	0	0	0	0
Peritoneal Mai	3	0	0	0	0	0
Toplam	31	17	3	2	1	1

Antifungallere Direnç Dağılımı

	Fluconazole		Voriconazole		Amfoterisin B		Flusitozin	
İzolat	Dirençli	Orta	Dirençli	Orta	Dirençli	Orta	Dirençli	Orta

		duyarlı		duyarlı		duyarlı		duyarlı
C. albicans (n:31)	1 (%3,2)	2 (%6,5)	0 (%0)	1 (%3,2)	0 (%0)	3 (%9,7)	0 (%0)	0 (%0)
C.albicans dışı (n:24)	0 (%0)	1 (%4,2)	1 (%4,2)	1 (%4,2)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Toplam (55)	1 (%1,8)	3 (%5,4)	1 (%1,8)	2 (%3,6)	0 (%0)	3 (%5,4)	0 (%0)	0 (%0)

P252- HIV POZİTİF HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ORAL CANDİDA ALBİCANS SUŞLARININ METİLMETAKRİLAT YÜZEYLERE TUTUNMA VE BİYOFİLM OLUŞTURMA ÖZELLİKLERİ

Emel Uzunoğlu[1], İştar Dolapçı[1], A. Zeynep Yıldırım Biçer[2], Arife Doğan[2]
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi ABD, Ankara*

Amaç
Diş hekimliğinde protez materyali olarak kullanılan metilmetakrilat yüzeyler sıklıkla oral endojen flora bakterileri ve Candida spp. ile kolonize olabilmektedir. Bu yüzeylerde gelişen Candida spp.'ye bağlı biyofilm formasyonu kullanılan malzemenin ömrünü kısaltarak, hastaların yaşam standardını olumsuz etkilemekte ve ekonomik olarak yük getirmektedir. Ağız içerisindeki bu mikrobiyal rezervuar protez ilişkili stomatit ve özellikle yaşlı ve immünsuprese hastalarda aspirasyon pnömonisi gibi yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Human Immunodeficiency Virus (HIV) pozitif bireylerde oral kandidiazis ve Candida taşıyıcılığı prevalansının arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada HIV pozitif hastalardan izole edilen oral Candida albicans suşlarının metilmetakrilat yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşturma özelliklerinin saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde 2002-2004 yılları arasında takip edilmekte olan HIV pozitif hastaların oral çalkantı sularından izole edilen 14 adet Candida albicans suşu dahil edilmiştir. Tüm deneylerde kontrol olarak C.albicans ATCC 90028 ve C.albicans ATCC 90128 suşları kullanılmıştır.
Adezyon deneyleri: Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Difco)'da 37oC'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında izolatların Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Difco) içerisinde 1 x 106 hücre /ml olacak şekilde süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar 1 x 1 cm'lik metilmetakrilat yüzeyler ile 37oC'de 2 saat karşılaştırılmıştır. Bu süre sonunda yüzeyler üzerine tutunan mikroorganizma sayısı yayma plak yöntemi ile saptanmıştır. Bu amaçla PBS ile nazikçe yıkanan yüzeyler FTS içerisinde maksimum hızda 30 sn. süre ile vortekslenmiş, bu FTS süspansiyonlarından hazırlanan 10 katlık seri dilüsyonlar 50 mikrolitrelik porsiyonlar halinde SDA üzerine ekilmiştir. Plakların 37oC'de 24 saatlik inkübasyonları sonrasında oluşan mantar kolonileri sayılmıştır.
Biyofilm deneyleri: SDA'da 37oC'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında izolatların PBS içerisinde 1 x 107 hücre /ml olacak şekilde hazırlanan süspansiyonlarından 100'er mikrolitre 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroplakların içerisine konulmuştur. Plakların 37oC'de 75 rpm çalkalamalı inkübatörde 1,5 saatlik adezyon süresinden sonra PBS ile iki kez yıkanan kuyucuklara biyofilm oluşumunu indüklemek üzere 100'er mikrolitre SDB konularak 48 saat boyunca 37oC'de 75 rpm'de çalkalamalı olarak inkübe edilmiştir. SDB inkübasyonun 24. saatinde tazesiyle değiştirilmiştir. 48 saat sonunda PBS ile iki kere yıkanan plaklar, kurumaya bırakılmış, daha sonra içlerine %0.4'lük kristal viyole süspansiyonu konularak 45 dakika süre ile boyanmıştır. Yıkama işlemini takiben %95'lik etanol ile 45 dakika renksizleştirme işlemi yapılmış, bu etanol solüsyonunun 100 mikrolitresi yeni kuyucuklara transfer edilerek, 600 nm dalga boyunda okunmuş ve içerdikleri kristal viyole miktarı saptanmıştır.
İstatistik değerlendirme: Adezyon deneyleri Mann-Whitney testi ile, biyofilm deneyleri Kruskal- Wallis testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Bağımsız gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, HIV pozitif bireylere ait örneklerler ile kontrol grubu arasında, hem adezyon hem de biyofilm deneyi açısından anlamlı fark bulunamamıştır.
Sonuç
HIV infekte bireylerin ağızlarında asemptomatik C.albicans taşıyıcılığı sağlıklı kontrollere kıyasla artmış olarak saptanmaktadır. Bu bulgunun olası nedenlerinden birinin bu kişilerin ağızlarında kolonize olan izolatların artmış biyofilm oluşturma özellikleri olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda incelen suşların standart suşlarla aynı oranda adezyon ve biyofilm oluşturdukları saptanmıştır. Bununla birlikte izolatların in vivo biyofilm oluşturma yeteneklerinin bir çok faktöre bağlı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışma grubunun genişletilmesi ve sağlıklı kontrollerden izole edilen suşlarla karşılaştırmaların yapılmasının konuya daha geniş katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: Candida albicans, HIV, protez materyali, adezyon, biyofilm

P253- KLİNİK ÖRNEKLERDE ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE PNEUMOCYSTİS JİROVECİİ ARAŞTIRILMASI

Fatma Filiz Tekinşen, **Ayşe Nedret Koç**
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Pneumocystis jirovecii prematüre, yeni doğan, kötü beslenen çocuklarda, immun sistemi baskılanmış kemoterapi alanlarda, transplant hastalarında ve AIDS hastalarında pnömoni etkenidir. Bu hastaların mortalitesi yüksek olması nedeniyle kesin ve doğru tanı önemlidir. Bu çalışmada Pneumocystis jirovecii şüpheli pnömonili hastadan alınan klinik örneklerde (bronkoalveolar lavaj, endotrakeal aspirat, nazotrakeal aspirat, plevra, doku, serum) Pneumocystis jirovecii varlığı Giemza boyama, DFA (direkt floresan antikor), (1→3) β-D-Glukan (BDG), LDH(Laktatdehidrojenaz) ve real-time PZR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemleri ile araştırılarak bu yöntemlerin karşılaştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Aralık 2008-Temmuz 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi poliklinik ve kliniklerindeki Pneumocystis jirovecii pnömonisi şüpheli 100 hastanın klinik örnekleri çalışmaya alındı. Bunların 86'sı bronkoalveolar lavaj (BAL), 8'i endotrakeal aspirat (ETA), biri nazotrakeal aspirat (NTA), 3'ü plevra, 2 doku örneğine Giemza boyama, DFA, RTPZR ve serum örneklerine BDG, LDH ve RTPZR testleri uygulandı.
Bulgular
BAL, ETA, NTA, plevra ve doku örnekleriyle yapılan Giemza boyama, DFA ve RTPZR testleri 2 BAL örneğinde pozitifken, 6 BAL örneğinde sadece RTPZR pozitif bulundu. Serum örnekleriyle yapılan RTPZR testinde pozitiflik belirlenemedi. BDG testi yapılan serum örneklerinde 29'u >80pg/ml, 5'i 61-79pg/ml arasında, 66'sı <60pg/ml sonuçları elde edildi. RTPZR ile P.jirovecii pozitif hastaların BDG sonuçları da pozitifti. Bu hastaların Giemza boyama ve DFA testinde duyarlılık ve özgüllüğü %100 olarak belirlenirken RTPZR'de duyarlılık %100 ve özgüllük %93, BDG'de duyarlılık %100 ve özgüllük %67 olarak belirlendi. DFA ve RTPZR gold standart alınarak BDG testi için yapılan ROC analizinde; BDG testinin cut-off'u sırasıyla 494pg/ml ve 62pg/ml olarak belirlendi. Ayrıca değerlendirilen LDH testinde yapılan ROC analizinde DFA ve BALPZR gold standart alındığında sırasıyla duyarlılık %100 ve %87,5, özgüllük %69,4 ve %72,8 olarak belirlenirken cut-off iki durumda da >491IU/L'di.
Sonuç
PCP ön tanılı hastaların laboratuar tanısı kültür yapılamadığı için, Giemza boyama, DFA, PZR, BDG testleri ile yapılabilmektedir. Bu hastalardan alınan örnekler Giemza boyama ve DFA ile çalışıldığında özgüllük yüksekken, BALPZR ve BDG testleri de eklendiğinde duyarlılıkta yükselmektedir. Bundan dolayı PCP ön tanılı hastaların laboratuar tanısında Giemza boyama ve/veya DFA, BALPZR, BDG ve LDH testlerinin birlikte çalışılması gerektiği bulunmuştur. Serum PZR testi ile daha fazla hasta gruplarında çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Pneumocystis, P.jirovecii, PCP, Bronkoalveolar Lavaj, PZR

BDG, DFA, BALPZR sonuçlarının istatistiki olarak karşılaştırılması

		DFA		P
		Pozitif	**Negatif**	
BAL PZR	**Pozitif**	2	6	0,031
	Negatif	-	92	
		DFA		**P**
		Pozitif	**Negatif**	
BDG	**Pozitif**	2	32	0,0001
	Negatif	-	66	
		BAL PZR		**P**
		Pozitif	**Negatif**	
BDG	**Pozitif**	8	26	0,0001
	Negatif	-	66	

Hastaların alt hastalıkları ve demografik özellikleri

	P.jirovecii pozitif (DFA,Giemsa, PZR)	*P.jirovecii* negatif (DFA,Giemsa, PZR)
CİNSİYET (%) Bay Bayan	 87,5 12,5	 64 36
SERUM LDH* DÜZEYLERİ Pozitif Negatif	 8 -	 63 28
Alt Hastalıklar		
Akciğer Kanseri	-	2
AML**	1	21
CMV***	1	7
IPA ****	-	17
ALL*****	1	11
HIV******	2	2
Lenfoma	-	4
Lösemi	1	1
KLL *******	-	2
Non-Hodking Lenfoma	-	2
Neoplazmlar	1	16
OrganBöbreknakli/yetmezliği	2	16
İmmunyetmezlik	-	15
Diğerleri********	2	16

Örneklere göre Giemsa, DFA ve PZR sonuçları

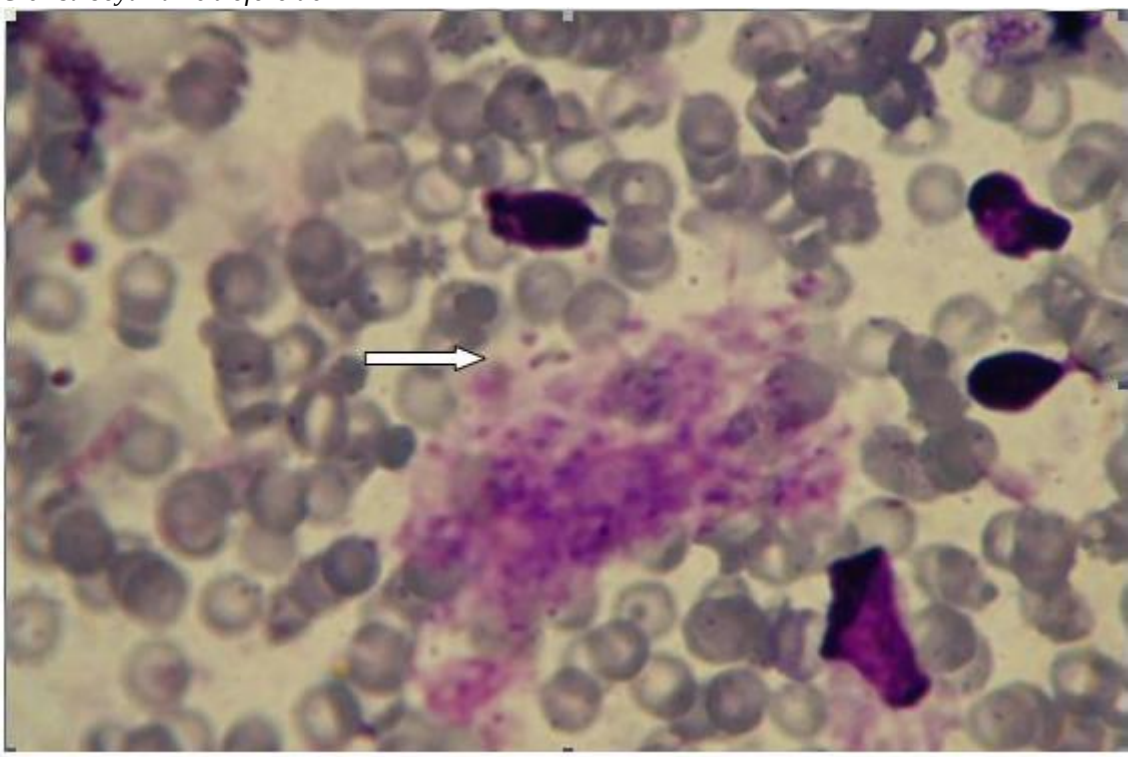
	Pozitifler			Negatifler
Örnek Tipi	Giemsa	DFA	PZR	
BAL*	2	2	8	78
NTA**	-	-	-	1
ETA***	-	-	-	8
Doku	-	-	-	2
Plevra	-	-	-	3
TOPLAM	2	2	8	92

*BronkoalveolarLavaj** Nazotrakeal Aspirat*** Endotrakeal Aspirat

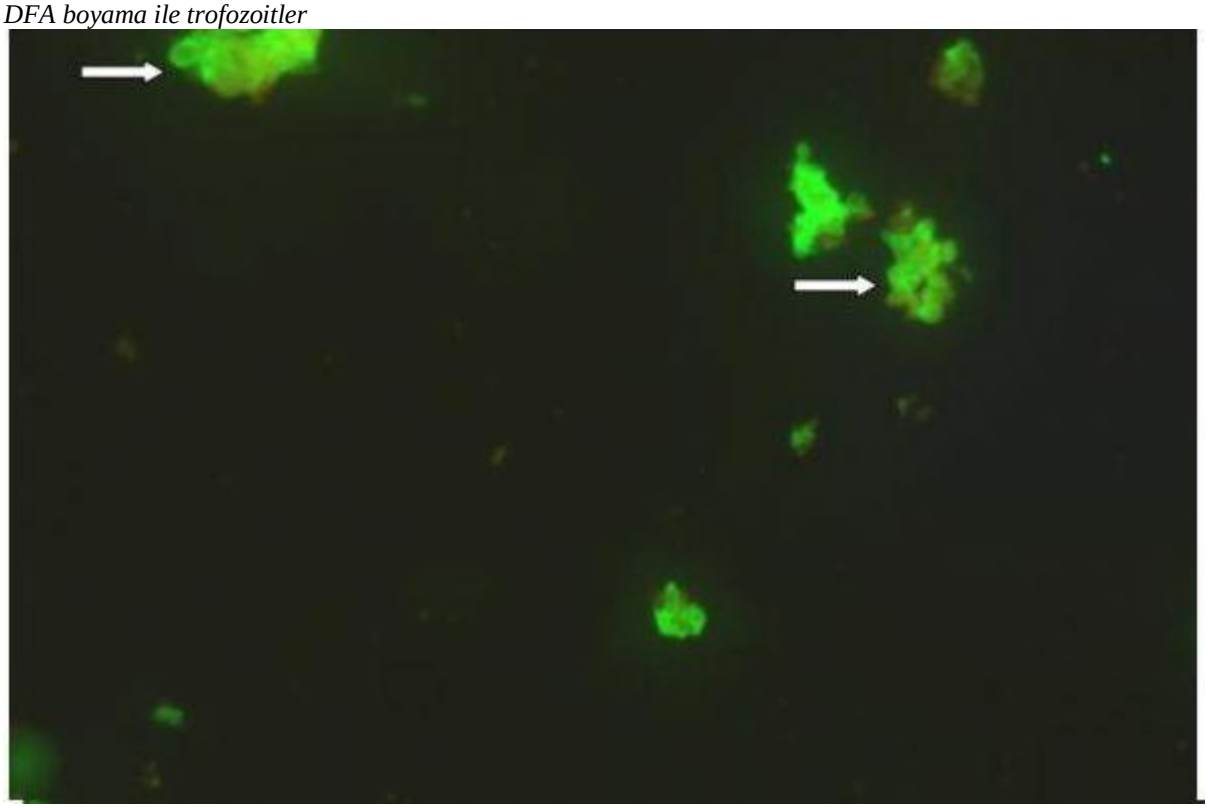
P.jirovecii pozitif hastaların Giemsa, DFA, PZR, LDH, BDG test sonuçları ve Alt Hastalıkları

Hasta No	Giemsa (BAL)	DFA (BAL)	PZR (BAL)	PZR (Serum)	Beta glukan (Serum)	LDH* (Serum)	Alt hastalıklar
1	-	-	35,09x10^3	-	120	263-718	AML** CMV***
2	-	-	34,36x10^3	-	386	175-1163	Akciğer Kanseri
3	-	-	32,59x10^3	-	316	361-701	Kronik Böbrek Yetmezliği Wegener Granüloma tözü
4	-	-	31,21x10^3	-	>523	221-359	HIV****
5	-	-	27,97x10^3	-	93	249-628	Hodgkin Lenfoma
6	-	-	24,58x10^3	-	>523	1465	HIV
7	+	+	26,92x10^3	-	>523	209-535	Böbrek nakli
8	+	+	20,35x10^3	-	>523	261-621	ALL*****

Giemsa boyama ile trofozoitler



DFA boyama ile trofozoitler



P254- ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNDE YATAN HASTALARIN KAN-KATETER KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ALBİCANS-DIŞI CANDİDALARIN DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Gülşen Hazırolan, Irmak Baran, İpek Mumcuoğlu, Şenol Kursun, Neriman (balaban) Aksu
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Mikrobiyoloji Kiniğ, Ankara

Amaç
Son yıllarda immun sistemi baskılanmış hasta popülasyonunda artışa paralel olarak Candida enfeksiyonlarında da bir artış gözlenmektedir. Candida türleri nozokomiyal kan dolaşımı infeksiyonlarına neden olan patojenler arasında dördüncü sırada yer almaktadır (1). C. albicans en fazla olmak üzere, C. glabrata, C. parapsilosis, C. tropicalis ve C. krusei florada bulunan türlerdir. Kandidemi, floraya ait mikroorganizmalar ile endojen yoldan gelişen bir klinik tablodur (2). Kandidemiler tanı ve tedavisi zor olan, mantar dışındaki patojenlerle ortaya çıkmış bakteriyemi olgularına göre daha yüksek mortaliteye sahip ciddi klinik tablolardır. C. albicans nozokomiyal infeksiyonlara en sık neden olan Candida türüdür. Son 15 yıl içersinde albicans-dışı Candida türlerinin kandidemi epizodlarında prevalans %50'nin üzerine çıkmıştır (3). Türlere göre antifungal duyarlılık paternleri farklılık gösterebildiğinden dolayı çalışmamızda kan ve kateter kültürlerinden izole edilen albicans-dışı Candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlıklarının belirlenmesi amaçlandı.
Yöntemler
Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında BacT Alert 3D FA Aerobic kan kültür şişeleriyle gönderilen kan örnekleri BacT Alert 3D (Biomerioux, France) kan kültür cihazında inkübe edildi. Yedi günlük inkübasyon süresinde üreme sinyali veren kan kültür şişelerinden alınan örnekler kanlı agar (Oxoid, England) ve EMB (Eosin methylene Blue) agara (Oxoid, England) pasajlandı ve yine şişelerden alınan örneklere direkt gram boyama yapıldı. 24-48 saatlik inkübasyonun ardından plaklardan yapılan gram boyama sonucu maya morfolojisi gösteren kolonilere germ tüp testi yapıldı. Germ tüp pozitif olanlar C.albicans olarak tanımlandı. Germ tüp negatif olan maya izolatlarının tür düzeyinde tanımlanmasında ve antifungal duyarlılıklarının belirlenmesinde VITEK 2 Compact (Biomerioux, France) otomatize sistemi kullanıldı.
.Bulgular
Çalışma sonucu izole edilen toplam 104 albicans-dışı Candida suşunun 43'ü (%41.3) C. parapsilosis, 40'ı (38.4) C. glabrata, 12'si (%11.5) C. tropicalis, 3'ü (%2.8) C. krusei, 3'ü (%2.8) C.kefyr, 2'si C. famata (%1,92), 1'i (%0.9) C. lusitaniae türleri olarak belirlendi. 104 albicans-dışı Candida suşunun Amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve flusitozin MİK değer aralıkları ve duyarlılık sonuçları Tablo-1' de verildi. Tüm şuşlarda flukonazol duyarlılığı %84.6 olarak saptandı, 2 C. parapsilosis suşu ve 5 C.glabrata suşu flukonazole doza bağlı duyarlı, 1 C. glabrata ve 3 C.krusei suşu flukonazole dirençli olarak tespit edildi. Sadece 1 C.tropicalis suşunda flusitozine direnç saptandı.
Sonuç
Çalışmamızda, kan kültürlerinde albicans-dışı Candida suşları arasında en sık izole edilen tür C. parapsilosis'dir. İkinci sıklıkta izole edilen tür C. glabrata'dır. Albicans-dışı Candida suşlarının amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve flusitozine karşı yüksek oranda duyarlı oldukları belirlendi. Flusitozin, toksitesinin fazla olması nedeniyle kullanımı kısıtlı bir antifungaldir. C.albicans suşlarında flusitozin direnci %10-15 oranında gözlenirken albicans-dışı Candida suşlarında bu oran daha yüksektir (4). Çalışmamızda sadece C.tropicalis suşlarında %8.3 oranda flusitozine direnç tespit edildi. Candida'lar önemli enfeksiyon etkenleri arasında yer aldığından ve bazı türlerin sahip oldukları direnç özelliklerinden dolayı bu izolatların tür düzeyinde tanımlanmaları ve antifungal duyarlılık testleri yapılmalıdır

Anahtar Kelimeler: Albicans-dışı Candida, antifungal duyarlılık, kan-kateter kültürü

Albicans-dışı Candida suşlarının antifungal duyarlıkları

	AMFOTERİSİN B				FLUKONAZOL				VORİKONAZOL				FLUSİTOZİN			
	MİK ARALIĞI	H	DBD	D	MİK ARALIĞI	H	DBD	D	MİK ARALIĞI	H	DBD	D	MİK ARALIĞI	H	DBD	D
C. parapsilosis (43)	<=0.25-0.5	43	-	-	<=1-64	41	2	-	<=0.12	43	-	-	<=1	43	-	-
C. glabrata (40)	<=0.25-0.5	40	-	-	2->=64	32		8	<=0.12-1	39	1	-	<=1	40	-	-

C. tropicalis (12)	<=0.25-0.5	12	-	-	<=1	12	-	-	<=0.12	12	-	-	<=1-32	11	-	1
C.krusei (3)	0.5-1	3	-	-	8-16	-	-	3	<=0.12	3	-	-	4-8	2	1	-
C. lusitaniae (1)	0.5	1	-	-	<=1	1	-	-	<=0.12	1	-	-	<=1	1	-	-

H:Hassas, DBD:Doza bağlı duyarlı, D:Dirençli (C. kefyr ve C. famata suşlarının amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol ve flusitozin duyarlılıkları VITEK 2 Compact otomatize sistemi ile test edilememektedir.)

P255- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA GLABRATA SUŞLARINDA SALGISAL ASİT PROTEİNAZ, FOSFOLİPAZ, ESTERAZ AKTİVİTELERİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN ARAŞTIRILMASI

Berna Gültekin, Yasin Tiryaki, Neriman Aydın
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Aydın

Amaç
Yapılan çalışmalarda kandidozlardan izole edilen türler arasında Candida glabrata'nın görülme sıklığının giderek arttığı bildirilmektedir. Bu türün önemli özellikleri arasında flukonazole doza bağlı duyarlı ya da dirençli olabilmesi ve yüksek mortalite ile seyreden invazif infeksiyonlara yol açabilmesi bulunmaktadır. Candida türlerinin virülans faktörleri en fazla C. albicans suşlarında araştırılmıştır. Literatürde albicans-dışı türlerde özellikle C. glabrata suşlarında virülans faktörlerinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen C. glabrata suşlarında virülansla ilişkili olabilecek salgısal asit proteinaz (SAP), fosfolipaz, esteraz aktivitelerinin ve biyofilm oluşumunun araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Laboratuvarımızda son beş yılda çeşitli klinik örneklerden izole edilerek yağsız süt içinde saklanmış olan C. glabrata suşları saklama kültürlerinden tekrar canlandırılmıştır. Suşların identifikasyonu morfolojik testlerin yanında GLA-f (5'-CGGTTGGTGGGTGTTCTGC-3') ve UNI-5.8S (5'-ACCAGAGGGCGCAATGTG-3') primerleri kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonunda C. glabrata'ya özgü 397 baz çifti büyüklüğünde bant görülmesi ile doğrulanmıştır. Suşların SAP aktivitesi, sığır serum albumini içeren agarda; esteraz aktivitesi, Tween-80'li agarda; fosfolipaz aktivitesi, yumurta sarılı agarda; biyofilm oluşturma özelliği, mikroplak yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya alınan toplam 83 C. glabrata suşunun 65'i vajinal örnekten, 10'u idrardan, ikisi püyden ve ikisi ağız sürüntüsünden izole edilmiştir. Candida glabrata suşlarının ikisinde (% 2.4) biyofilm oluşumu (kandan ve vajinal örnekten izole edilen suşlar) saptanmıştır. Suşların hiçbirinde SAP, esteraz, fosfolipaz aktivitesine rastlanmamıştır.
Sonuç
Çalışmamızda alınan sonuçlar, C. glabrata suşlarının virülansında araştırdığımız faktörlerin önemi olmadığını akla getirmekle birlikte, bu konunun aydınlatılması için yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Candida glabrata, salgısal asit proteinaz, fosfolipaz, esteraz, biyofilm

P256- ÜÇ YILLIK DÖNEMDE EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NDE KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN MANTARLARIN TÜR DÜZEYİNDE DAĞILIMI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

Biray Oflazoğlu, Dilek Yeşim Metin
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

AmaçBu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikoloji Laboratuvarı'na 2008-2010 yılları arasında gönderilen venöz kan örneklerinde üreyen mantarların etken bazında dağılımı ve amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve anidilofungine duyarlılıklarının standart mikrodilüsyon yöntemiyle saptanması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem

Çeşitli kliniklerden üç yıl boyunca gelen kan örneklerinden üreyen mantarlar çalışmaya alındı. Aynı hastadan gelen örnekler arasında geçen süre bir aydan fazla ise, farklı etken olarak alındı. Çalışmaya alınan kökenler, konvansiyonel mikolojik yöntemler ve ID 32 C kiti (BioMerieux, Fransa) kullanılarak tanımlandı ve çalışılıncaya kadar–200C'de stoklandı. Stoklanan kökenler çalışılacağı zaman, 48 saat arayla iki kez Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerinde 350C'de enkübe edilerek canlandırıldı. Kökenlerin duyarlılıkları CLSI M27A3 standart mikrodilüsyon yöntemi ile saptandı. Standart köken olarakCandida parapsilosis ATCC 22019, Candida krusei ATCC 6258 kullanıldı.

Bulgular

2008-2010 yılları arasında Tıbbi Mikrobiyoloji AD'na gelen 61169 venöz kan örneğinden 9813 üreme olmuştur. Bunların 706'sında mantar üremesi olmuştur. Ardışık üremesi olan kökenler çıkarıldıktan sonra toplam 307 hastadan 335 mantar kökeni elde edilmiştir. Bunların 324'ünü Candida türleri (%96,72), 11 (Aspergillus flavus: 2, Trichosporon asahii: 2, Blastoschizomyces capitatus: 2,Penicillium spp.: 2, Rhodotorula spp.: 1, Geotrichum candidum: 1, Saccharomyces cerevisiae: 1)'ini de diğer mantar türleri oluşturmuştur.

Çalışmaya alınan 324 Candida kökeninin 151 tanesi C. albicans, 173 tanesi albicans dışı Candida türleri olarak saptanmıştır. Candida albicans en sık görülen Candida türü olarak bulunmuştur. Candida albicans' ı sırasıyla, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. glabrata, C. krusei, C. guilliermondii ve diğer türlerin izlediği saptanmıştır.

Kan kültüründen soyutlanan 335 kökenin canlandırılabilen 236'sına antifungal duyarlılık testleri yapılmıştır. Candida türlerinin Amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve anidulofungin için elde edilen MİK90 değerleri sırasıyla, 0,25 µg/ml, 2 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,06 µg/ml, 1 µg/ml ve 1 µg/ml olarak bulunmuştur.

Sonuç

EÜTF hastaneside kan kültürlerinden soyutlanan mantarlar içinde ilk dört etken sırasıyla C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis ve C. glabrata olarak bulunmuştur. Candida albicans kökenlerinin tüm antifungallere duyarlılığı albicans dışı Candida'lara göre daha yüksek bulunmuştur. Antifungal ilaçlar arasında tüm kökenler için MİK90 değerlerleri gözönüne alındığında duyarlılığı en yüksek antifungal vorikonazol bulunmuştur. Duyarlılık sınırında olmakla birlikte en yüksek MİK90 değerleri kaspofungin ve anidulofungin için saptanmıştır. Bunun da çalışmadaki, ekinokandinlere duyarlılığı daha düşük olabilenC. parapsilosis kökenlerinin sayıca fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: antifungal duyarlılık, Candida türleri, kan kültürü

Kan kültüründe üreyen mantarların cins ve tür dağılımı ve sıklığı

2008-2010	KÖKEN	n	%
1	C. albicans	151	45.1
2	C. parapsilosis	100	29.8
3	C. tropicalis	26	7.7
4	C. glabrata	24	7.2
5	C. krusei	7	2.1
6	C. guilliermondii	5	1.5
7	C. sake	2	0.6
8	C. norvegensis	2	0.6
9	C. lusitaniae	2	0.6

10	C. keyfr	2	0.6
11	Blastoschizomyces capitatus	2	0.6
12	Trichosporon asahii	2	0.6
13	Penicillium spp.	2	0.6
14	A. flavus	2	0.6
15	Diğer Candida türleri*	3	0.9
16	Diğer türler**	3	0.9
TOPLAM		335	100

**** DİĞER CANDİDA TÜRLERİ: C. FAMATA (1), C. DUBLİNİENSİS (1), C. GLOBOSA (1) **DİĞER TÜRLER: RHODOTORULA SPP.(1), GEOTRİCHUM CANDİDUM (1), SACCHAROMYCES CEREVİSİAE (1)***

TABLO 2. CANDİDA TÜRLERİNE KARŞI AMFOTERİSİN B, FLUKONAZOL, İTRAKONAZOL, VORİKONAZOL, KASPOFUNGİN VE ANİDULOFUNGİNİN MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE 24 VE 48 SAATTE ELDE EDİLEN MİNUMUM İNHİBİSYON KONSANTRASYO DEĞERLERİ

Tablo 2. *Candida* türlerine karşı amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve anidulofunginin mikrodilüsyon yöntemi ile 24 ve 48 saatte elde edilen minumum inhibisyon konsantrasyo değerleri

Türler	Antifungal	MİK Aralığı		$MİK_{50}$		$MİK_{90}$	
		24 saa	48	24	48	24	48
*CA (96)	AMB	0.06-0.5	0.06-1	0.125	0.25	0.25	0.5
	FLU	<0.125 – 2	<0.125- 4	0.25	0.25	0.5	1
	ITRA	0.03-0.5	0.03-1	0.03	0.06	0.25	0.25
	VORI	<0.03-0.25	<0.03- 0.5	<0.03	0.03	0.06	0.125
	KF	0.03 – 1	0.06 – 1	0.25	0.25	0.25	0.25
	AF	<0.03 -1	<0.03 -1	<0.03	<0.03	<0.03	0.03
*CPA (88)	AMB	0.03 - 0.25	0.125 – 1	0.125	0.5	0.25	0.5
	FLU	<0.125 – 2	0.25 -2	0.5	0.5	1	1
	ITRA	0.03 – 0.25	0.03 - 0.5	0.06	0.06	0.125	0.25
	VORI	<0.03 -0.06	<0.03-0.125	<0.03	0.03	0.03	0.06
	KF	0.06 – 2	0.06 – 2	0.5	1	1	2
	AF	<0.03 – 1	<0.03 – 2	0.5	1	1	1
*CT (18)	AMB	0.06 - 0.5	0.25 – 1	0.25	0.5	0.5	1
	FLU	0.125 – 2	0.25 – 4	0.25	0.5	0.5	1
	ITRA	0.03 -0.25	0.06 – 0.5	0.125	0.25	0.25	0.5
	VORI	<0.03-0.125	0.03 – 0.25	0.03	0.06	0.06	0.125
	KF	0.03 – 1	0.125 – 1	0.25	0.25	0.25	0.5
	AF	<0.03 – 0.5	<0.03 – 1	<0.03	<0.03	0.03	0.06
*CGL (18)	AMB	0.06 – 1	0.25 – 1	0.25	0.5	1	1
	FLU	0.125 – 8	0.25 -16	2	4	4	8
	ITRA	0.03 – 1	0.03 – 1	0.25	0.5	0.5	1
	VORI	<0.03 – 0.5	<0.03 – 1	0.06	0.125	0.125	0.5
	KF	0.25 -1	0.25 – 1	0.5	0.5	0.5	0.5
	AF	<0.03 – 1	<0.03 – 1	<0.03	<0.03	0.06	0.06
**Diğer (16)	AMB	0,06-1	0,125-2	0,125	0,25	1	1
	FLU	<0,125-16	0,125-32	1	1	16	32
	ITRA	0,03-0,5	0,03-1	0,125	0,25	0,25	0,5
	VORI	<0,03-0,25	<0,03-0,5	0,03	0,03	0,125	0,25
	KF	0,125-1	0,125-1	0,5	1	1	1
	AF	<0,03-1	<0,03-2	0,06	0,06	1	1
Tüm Türler (236)	AMB	0.03 – 1	0.06 – 2	0.125	0.5	0.25	0.5
	FLU	<0.125 – 16	<0.125 – 32	0.25	0.5	2	2
	ITRA	0.03 – 1	0.03 – 1	0.06	0.06	0.25	0.5
	VORI	<0.03 – 0.5	<0.03 – 1	<0.03	0.03	0.06	0.125
	KF	0.03 – 2	0.06 – 2	0.25	0.25	1	1
	AF	<0.03 – 1	<0.03 – 2	0.03	0.03	1	1

* CA: *Candida albicans*, CPA: *Candida parapsilosis*, CT: *Candida tropicalis*, CGL: *Candida glabrata*
**Diğer: *Candida krusei* (4), *Candida guilliermondii* (3), *Candida lusitaniae* (2), *Candida sake* (2), *Candida famata* (1), *Candida globosa* (1), *Candida dubliniensis* (1)

TABLO 3. CANDİDA TÜRLERİNİN AMFOTERİSİN B, FLUKONAZOL, İTRAKONAZOL, VORİKONAZOL, KASPOFUNGİN VE ANİDULOFUNGİN İÇİN MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİYLE 24 VE 48 SAATTE ELDE EDİLEN İN VİTRO DUYARLILIK SONUÇLARI

Tablo 3. *Candida* türlerinin amfoterisin B, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, kaspofungin ve anidulofungin için mikrodilüsyon yöntemiyle 24 ve 48 saatte elde edilen *in vitro* duyarlılık sonuçları

Türler	Antifungal	24			48		
		S (%)	SDD (%)	R	S	SDD	R
*CA (96)	AMB	96 (100)	-	-	96 (100)	-	-
	FLU	96 (100)	-	-	96 (100)	-	-
	ITRA	83(86.5)	13 (13.5)	-	73(76.1)	20(20.8)	3(3.1)
	VORI	96 (100)	-	-	96 (100)	-	-
	KF	96 (100)	-	-	96 (100)	-	-
	AF	96 (100)	-	-	96 (100)	-	-
*CPA (88)	AMB	88(100)	-	-	88(100)	-	-
	FLU	88(100)	-	-	88(100)	-	-
	ITRA	84(95.5)	4 (4.5)	-	78(88.6)	10(11.4)	-
	VORI	88 (100)	-	-	88(100)	-	-
	KF	88 (100)	-	-	88(100)	-	-
	AF	88 (100)	-	-	88(100)	-	-
*CT (18)	AMB	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	FLU	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	ITRA	15(83.3)	3 (16.7)	-	8(44.4)	10(55.6)	-
	VORI	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	KF	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	AF	18(100)	-	-	18(100)	-	-
*CGL (18)	AMB	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	FLU	18(100)	-	-	17(94.44)	1 (%5.56)	-
	ITRA	5 (27.8)	11 (61.1)	2 (11.1)	3(16.7)	10 (55.5)	5 (27.8)
	VORI	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	KF	18(100)	-	-	18(100)	-	-
	AF	18(100)	-	-	18(100)	-	-
**Diğer (16)	AMB	16(100)	-	-	15(93.75)	-	1(6.25)
	FLU	13(81.3)	3 (18.7)	-	12(75)	4(25)	-
	ITRA	11(68.7)	5 (31.5)	-	7(43.7)	88(50)	1(6.3)
	VORI	16(100)	-	-	16(100)	-	-
	KF	16(100)	-	-	16(100)	-	-
	AF	16(100)	-	-	16(100)	-	-
Tüm Türler (236)	AMB	236(100)	-	-	235(99.6)	-	1(0,4)
	FLU	233(98.7)	3 (1.3)	-	231(97.9)	5(2.1)	-
	ITRA	197(83.5)	37 (15.7)	2 (0.8)	169 (71.6)	58 (24.6)	9(3.8)
	VORI	236(100)	-	-	236(100)	-	-
	KF	236(100)	-	-	236(100)	-	-
	AF	236(100)	-	-	236(100)	-	-

* CA: *Candida albicans*, CPA: *Candida parapsilosis*, CT: *Candida tropicalis*, CGL: *Candida glabrata*

**Diğer: *Candida krusei* (4), *Candida guilliermondii* (3), *Candida kefyr* (2), *Candida lusitaniae* (2), *Candida rabii* (2), *Candida famata* (1), *Candida glabosa* (1), *Candida dubliniensis* (1)

P257- ANKARA VE ÇEVRESİNDE TİNEA UNGUİUM ETKENLERİ: 2001-2011

Nilgün Karabıçak, Figen Sezen, Berrin Esen, Mustafa Ertek
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara

Amaç
Dermatofitozlar tüm dünyada yaygın olup, en sık görülen klinik formlarından biri tinea unguiumdur. Dermatofitlerin tür dağılımı coğrafi bölgelere ve yıllara göre farklılık gösterebilmektedir. Bu retrospektif çalışmanın amacı Ankara ve çevresinde 2001-2011 yılları arasında tinea unguium etkenlerinin epidemiyolojik profilini belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Mikoloji Laboratuvarı'na Ocak 2001 Temmuz 2011 döneminde çeşitli merkezlerden onikomikoz ön tanısıyla gönderilen 1495 örneğin direkt mikroskobi ve kültür sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Klinik kuşkulu hasta örneklerinin mikolojik tanısı için mikroskobi ve/veya kültür olumluluğu göz önüne alınmıştır. Örnekler %15 KOH ile muamele edilerek direk mikroskobik incelemeleri yapılmiş; sikloheksimid ve kloramfenikol eklenmiş Sabouraud Dekstroz Agara (SDA) (Difco) ekimleri yapılarak 25^{o}C de 2-4 hafta inkübe edilmiştir. Üreyen mantarlar, koloni morfolojisi ve Patates Dekstroz Agarda(PDA)(LabM) pigment oluşumları, laktofenol pamuk mavisi preparatının mikroskobik incelenmesi ve Trichophyton agar 1-7 (Difco)'de üremeleri ile tanımlanmıştır. Trichophyton rubrum'un T.mentagrophytes var. interdigitale'den ayrımı için üreaz testi ve kıl delme deneyi kullanılmıştır.
Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for windows 15.0 programı kullanılmıştır.
Bulgular
Onikomikoz ön tanısıyla incelenen 1495 örneğin 215'inin tırnak kültürlerinde dermatofitler üremiştir. Hastaların 117 (%54.4)'si erkek, 98 (%45.6)'i kadındır. Mikolojik incelemeyle tanısı konulan 604 olgunun; 30 (%5.0)'u sadece kültür ile pozitif, 185(%30.6)'i hem mikroskobi hemde kültür pozitif olarak bulunmuş ve 389(%64.4)'u mikroskobide pozitif iken kültürde üreme saptanmamıştır. En yüksek enfeksiyon prevalansı 40-49 (%26.5) ve 50-59 (%26.5) yaş gruplarında bulunmuştur. El ve ayak tırnak tutulumu, sırasıyla kadınlarda %40.5 ve %46.6; erkeklerde %59.5 ve %53.4 olarak tespit edilmiştir. El ve ayak tırnağı tutulumunda ki-kare testinde cinsiyete göre fark saptanmamıştır ($p>0.05$). En sık saptanan etken T.rubrum (%75.8) olup,
bunu T.mentagrophytes var. interdigitale (%23.3) veEpidermophyton floccosum (%0.9) izlemiştir.
Sonuç
Ankara ve çevresinde tinea unguium en sık 40-59 yaş grubunda görüldüğü, el ve ayak tırnak tutulumunda cinsiyet açısından fark bulunmadığı ve 10 yıllık dönemde en yaygın etkenin T.rubrum olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: dermatofit, epidemiyoloji, tinea

TABLO 1. KÜLTÜR POZİTİF TİNEA UNGUİM OLGULARININ CİNSİYET VE YAŞ GRUBU DAĞILIMI, 2001-2011,ANKARA (N= 215)

		Sayı	Yüzde
Cinsiyet	Kadın	98	45,6
	Erkek	117	54,4
Yaş Grubu	0-9	1	0,5
	10-19	6	2,8
	20-29	16	7,4
	30-39	32	14,9
	40-49	57	26,5
	50-59	57	26,5
	60-69	29	13,5
	70-79	17	7,9
TOPLAM		**215**	**100**

TABLO 2. KÜLTÜR POZİTİF TİNEA UNGUİM ETKENLERİNİN EL AYAK TIRNAK TUTULUMU VE CİNSİYETE GÖRE DAĞILIMI, 2001-2011, ANKARA (N=215)

Dermatofit Türü	*Tinea unguium*				*Toplam (100)*
	El tırnak		Ayak tırnak		
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	
T. rubrum	11	17	63	72	*163 (75,8)*
T. mentagrophytes	3	5	20	22	*50 (23,3)*
E. floccosum	1	-	-	1	*2 (0,9)*
Toplam	15 (40,5)	22 (59,5)	83 (46,6)	95 (53,4)	*215 (100)*

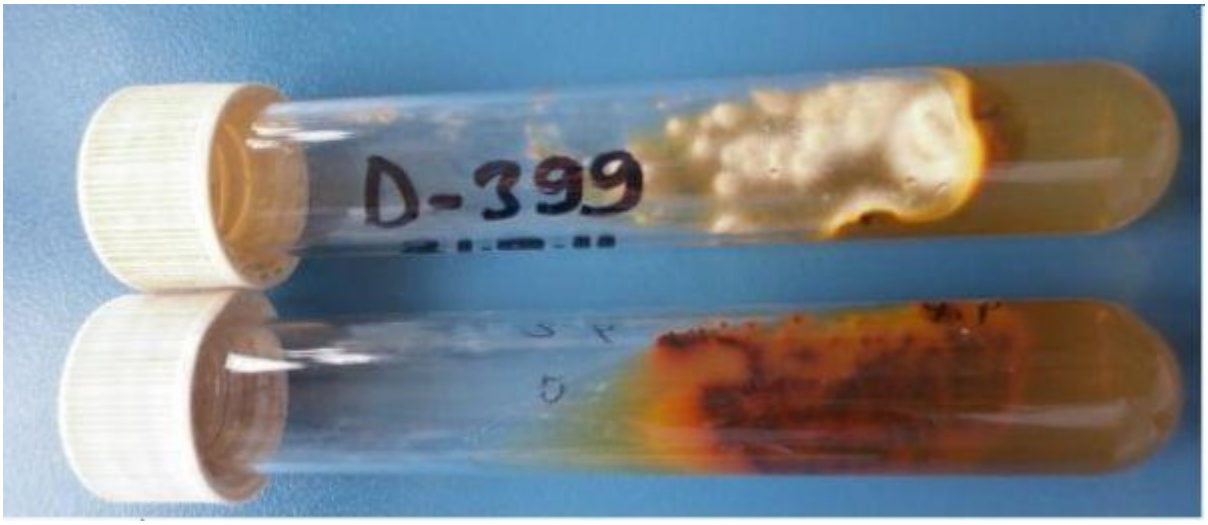
TABLO 3. TİNEA UNGUİUM ŞÜPHELİ OLGULARIN MİKOLOJİK İNCELEME (MİKROSKOBİ VE/VEYA KÜLTÜR) SONUÇLARI 2001-2011,ANKARA (N= 1495)

	KULTUR		
MIKROSKOBI	Pozitif	Negatif	TOPLAM
Pozitif	185	389	574
Negatif	30	891	921
TOPLAM	215	1280	1495

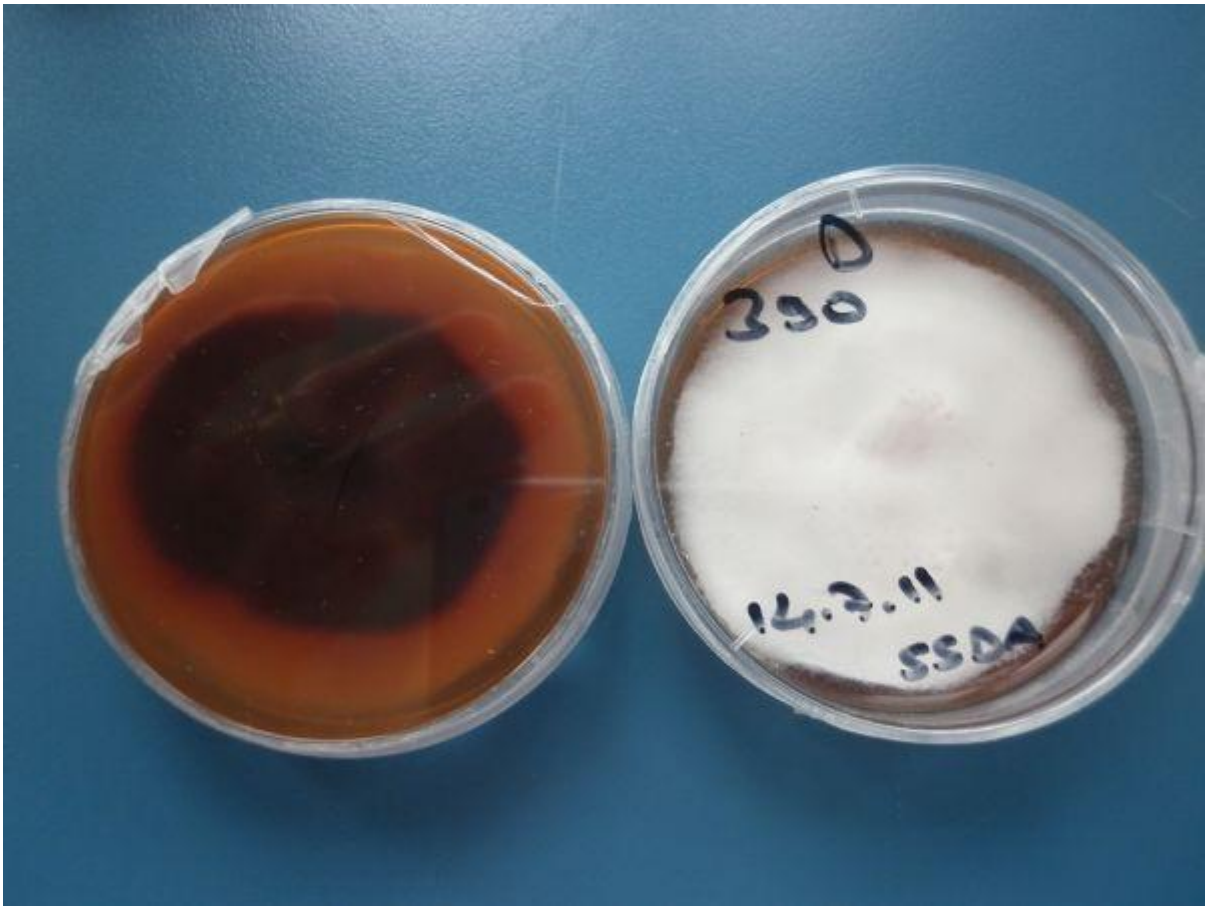
T.MENTAGROPHYTES'İN SSDA'DAKİ ÜREMESİ



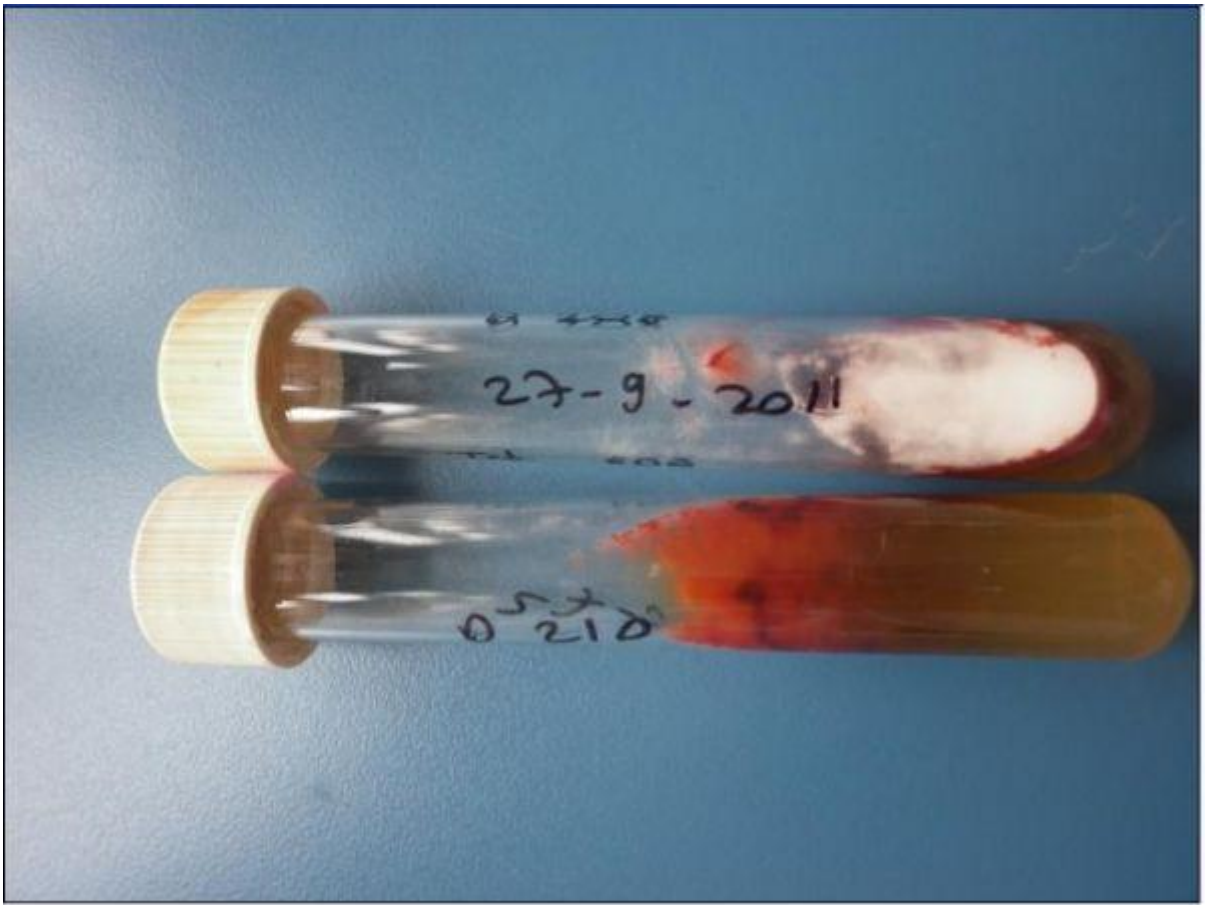
T.MENTAGROPHYTES'İN PDA'DAKİ ÜREMESİ



T.RUBRUM'UN SSDA'DAKİ ÜREMESİ



T.RUBRUM'UN PDA'DAKİ ÜREMESİ


27-9-2011

P258- ANKARA VE ÇEVRESİNDE TİNEA PEDİS ETKENLERİ: 2001-2011

Nilgün Karabıçak, Figen Sezen, Berrin Esen, Mustafa Ertek
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara

Amaç
Dermatofitozlar tüm dünyada yaygındır ve etken olan dermatofitlerin tür dağılımı coğrafi bölgelere ve yıllara göre farklılık gösterebilmektedir. Bu retrospektif çalışmanın amacı Ankara ve çevresinde 2001-2011 yılları arasında tinea pedis olgularına ait etkenleri ve bu etkenlerin yaş ve cinsiyete göre dağılımını belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Mikoloji Laboratuvarı'na Ocak 2001 Temmuz 2011 döneminde çeşitli merkezlerden tinea pedis ön tanısıyla gönderilen 678 örneğin direkt mikroskobi ve kültür sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Klinik kuşkulu hasta örneklerinin mikolojik tanısı için mikroskobi ve/veya kültür olumluluğu göz önüne alınmıştır. Örnekler %15 KOH ile muamele edilerek direk mikroskobik incelemeleri yapılmış; sikloheksimid ve kloramfenikol ilave edilmiş Sabouraud Dekstroz Agara (SDA) (Difco) ekimleri yapılarak 25^{o}C de 2-4 hafta inkübe edilmiştir. Üreyen mantarlar, koloni morfolojisi ve Patates Dekstroz Agarda(PDA)(LabM) pigment oluşumları, laktofenol pamuk mavisi preparatının mikroskobik incelenmesi ve Trichophyton agar 1-7 (Difco) da üremeleri ile tanımlanmıştır.Trichophyton rubrum'un T.mentagrophytes var. interdigitale'den ayrımı için üreaz testi ve kıl delme deneyi kullanılmıştır.
Bulgular
Tinea pedis ön tanısıyla incelenen 678 örneğin 174'ünün ayak deri kültüründe dermatofitler üremiştir. Hastaların 102 (%58.6)'si erkek, 72 (%41.4)'si kadındır. Mikolojik incelemeyle tanısı konulan 370 olgunun; 16(%4.3)'sı sadece kültür ile pozitif, 158(%42.8)'i hem mikroskobi hemde kültür pozitif olarak bulunmuş ve 196(%52.9)'sı ise mikroskobide pozitif iken kültürde üreme saptanmamıştır. En yüksek enfeksiyon prevalansı 50-59 (%25.9) yaş grubunda olmakla birlikte olguların %70'i 30-59 yaş grubunda yer almaktadır. En sık saptanan etken T.rubrum (%67.3)olup, bunu T.mentagrophytes var.interdigitale (%31.6) ve Epidermophyton floccosum (%1.1) izlemektedir.
Sonuç
Ankara ve çevresinde tinea pedisin erişkin yaş grubunda ve erkeklerde daha sık görüldüğü ve 10 yıllık dönemde en yaygın etkenin T.rubrum olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: dermatofit, epidemiyoloji, tinea

Tablo 1. Kültür pozitif Tinea pedis olgularının cinsiyet ve yaş grubu dağılımı, 2001-2011 Ankara (n=174)

		Sayı	Yüzde
Cinsiyet	Kadın	72	41,4
	Erkek	102	58,6
Yaş Grubu	0-9	1	0,6
	10-19	6	3,4
	20-29	21	12,1
	30-39	40	23,0
	40-49	38	21,8
	50-59	45	25,9
	60-69	14	8,0
	70-79	9	5,2

Tablo 2. Kültür pozitif Tinea pedis etkenleri ve cinsiyete göre dağılımı, 2001-2011, Ankara (n=174)

Dermatofit Türü	Cinsiyet	Sayı	Yüzde	TOPLAM Sayı (%)
T.rubrum	Kadın	41	35,0	117 (67,3)
	Erkek	76	65,0	
T.mentagrophytes	Kadın	29	52,7	55 (31,6)
	Erkek	26	47,3	
E. floccosum	Kadın	2	100	2 (1,1)
	Erkek	0		

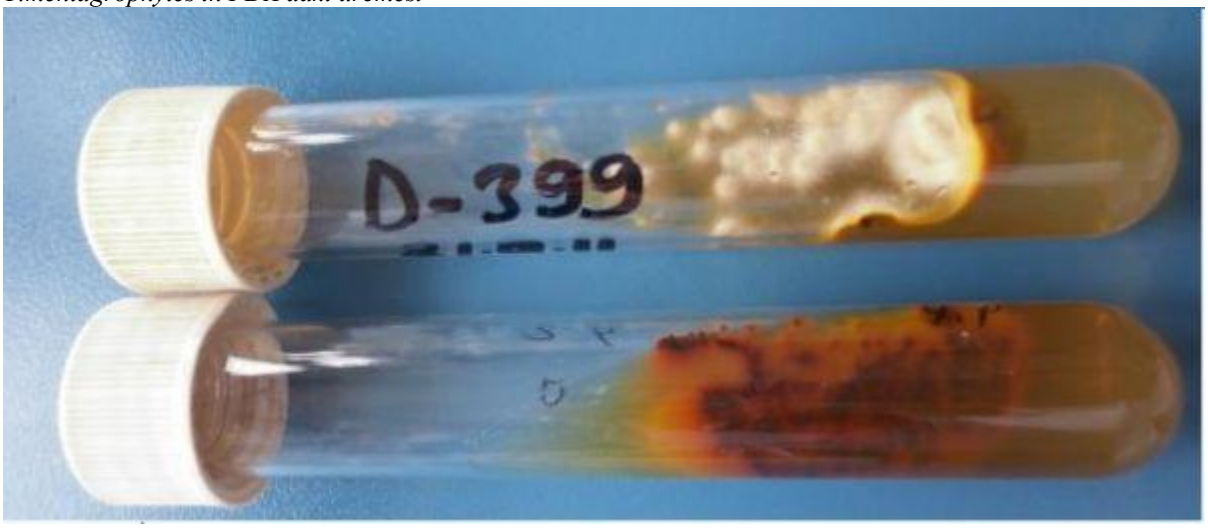
Tablo 3. Tinea pedis şüpheli olguların mikolojik inceleme(mikroskobi ve/veya kültür) sonuçları 2001-2011,Ankara (n= 678)

	KULTUR		
MIKROSKOBI	Pozitif	Negatif	TOPLAM
Pozitif	158	196	354
Negatif	16	308	324
TOPLAM	174	504	678

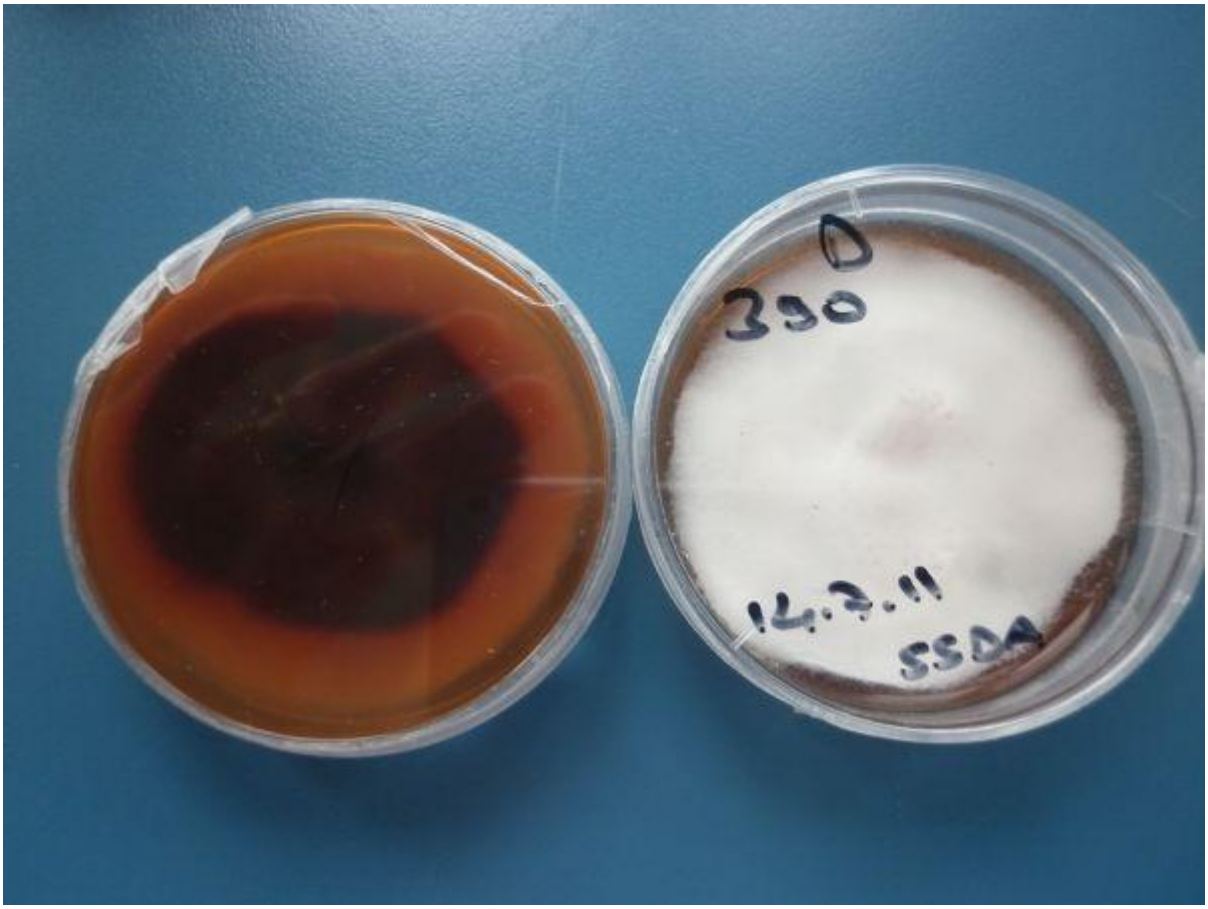
T.mentagrophytes'in SSDA'daki üremesi



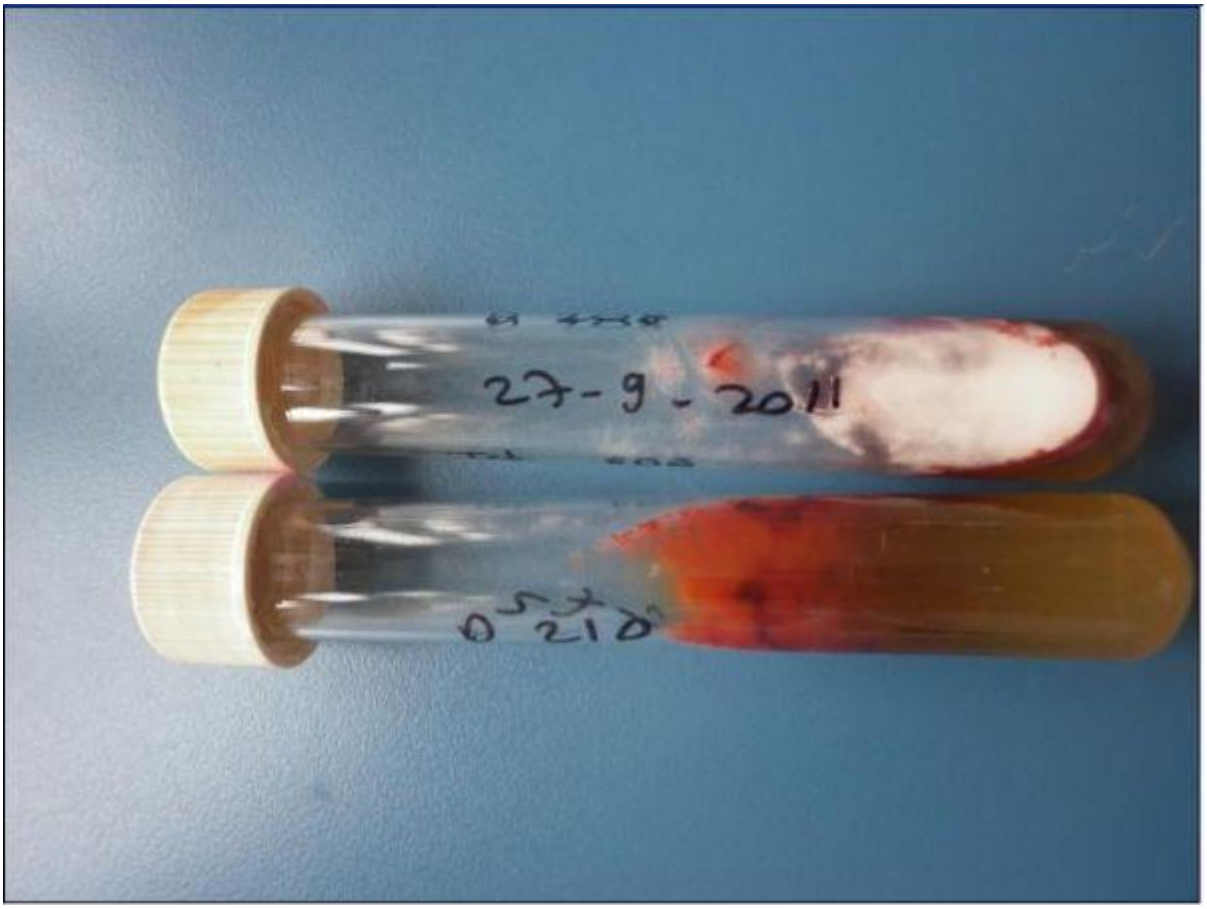
T.mentagrophytes'in PDA'daki üremesi



T.rubrum'un SSDA'daki üremesi



T.rubrum'un PDA'daki üremesi



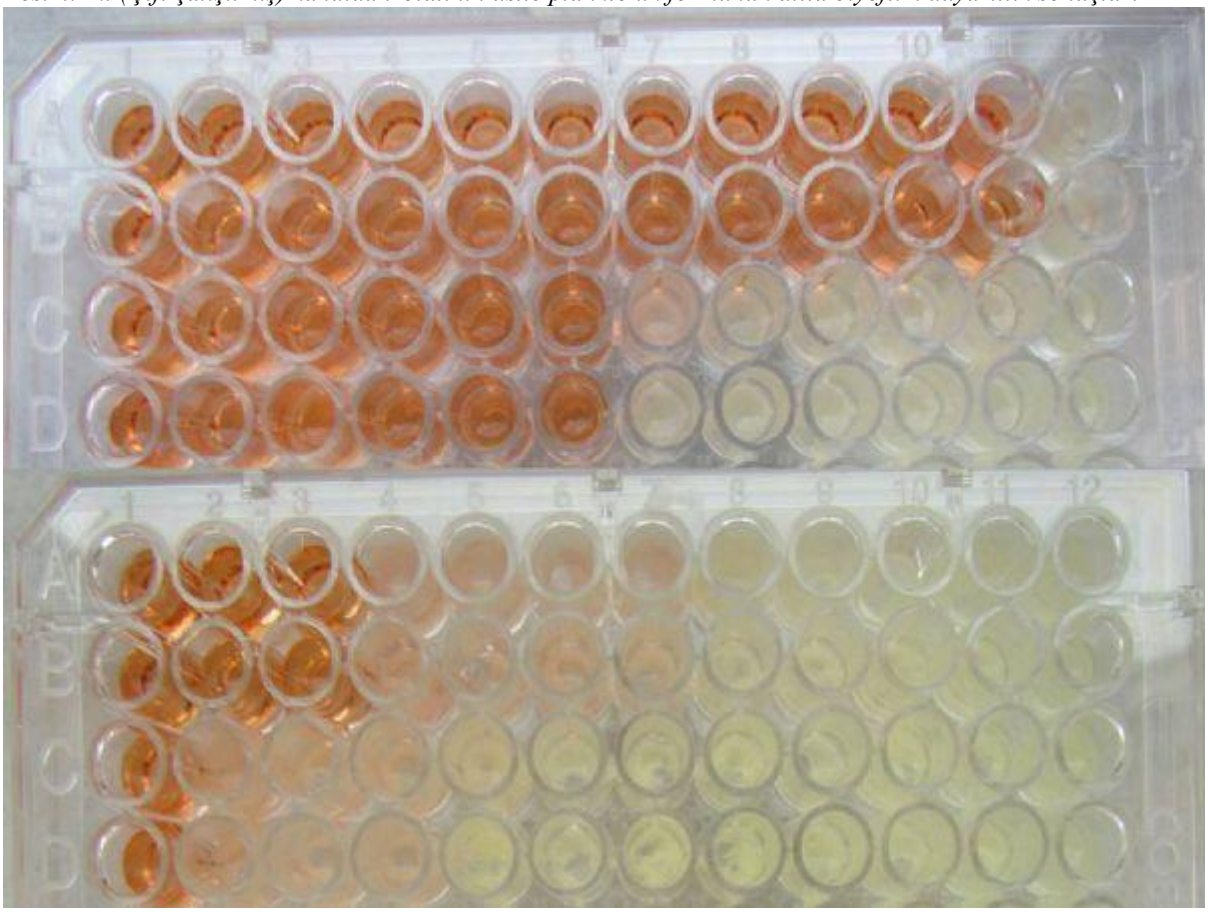
P259- CANDİDA TÜRLERİNİN PLANKTONİK VE BİYOFİLM FORMLARININ ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARININ BİOTİMER YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Müge Demirbilek, Hanni Turan, **Şükran Çopur**, Ebru Bostanoğlu, Sedef Jülide Göçmen
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD ,Ankara

Amaç:
Gereç-Yöntem:
Bulgular:
Sonuç:
Planktonik formdaki kandidalar için antifungal duyarlılık testleri standardize edilmesine karşılık biyofilm duyarlılığını araştıran yöntemler araştırılmaktadır. Bu çalışmada amacımız kandida suşlarında biyofilm çalışmalarında BioTimer yöntemini denemek ayrıca planktonik ve biyofilm formlarının antifungal duyarlılıklarını iki yöntemle karşılaştırmaktır.
Çalışmaya hemokültürde üremiş biyofilm oluşturan 6 kandida izolatı ve C.albicans, C. parapsilosis, C. krusei standart suşları dahil edilmiştir. Suşların biyofilm oluşturmaları hem 96 kuyucuklu mikroplaklarda hem de 0.5 çaplı cam boncuklarda araştırılmıştır. Biyofilm ölçümleri kristal viyole ile boyanarak spektrofotometrik olarak aynı zamanda BioTimer-Fenol Kırmızısı (BT-PR) besiyeri ile kolorimetrik olarak değerlendirilmiştir.
Suşların planktonik formlarının antifungal duyarlılıkları CLSI kriterleri esas alınarak RPMI 1640 besiyerinde ve eş zamanlı olarak BT-PR besiyerinde yapılmış, flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, amfoterisin-B, kaspofungin duyarlılıkları araştırılmıştır. RPMI besiyerinde kaspofungin ve amfoterisin B için üremenin inhibe olduğu en düşük konsantrasyon, azoller içinse üremenin belirgin olarak azaldığı en düşük konsantrasyon minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir. BT-PR besiyerinde ise renk değişim skalasına göre %80 inhibisyon azoller için, %100 inhibisyon ise amfoterisin-B ve kaspofungin için MİK değeri olarak belirlenmiştir. Biyofilm duyarlılığı için biyofilm oluşturulmuş cam boncuklar kullanılmıştır. Antifungal ajanların seri dilüsyonları RPMI ve BT-PR besiyerinde hazırlanmış ve her dilüsyona bir cam boncuk ilave edilmiştir. Sonuçlar 24 saat sonra incelenmiş ve minimal biyofilm inhibitör konsantrasyonları (MBİK) planktonik formda olduğu gibi araştırılmıştır. Biyofilm oluşumu açısında yöntemler arasında fark görülmemiştir. Planktonik hücrelerin antifungal duyarlılıklarına bakıldığında MİK aralığı flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, amfoterisin B ve kaspofungin için sırasıyla <0.06-64, <0.03-16, <0.03-0.25, <0.03-1, <0.03-2 µg/ml olarak bulunmuş RPMI ve BT-PR besiyerleri arasında bir dilüsyondan fazla fark görülmemiştir. Biyofilmlerin MBİK değerleri ise aynı antifungal sırasıyla bakıldığında 0.06->128, 0.125->32, <0.03->32, 0.03-4, <0.03-32µg/ml aralığında olduğu görülmüştür. Biyofilm duyarlılık çalışmalarında kullanılan 2 besiyeri de aynı sonuçları vermiş BT_PR besiyerinde değerlendirme kolaylığı görülmüştür.
Kandidalarla gelişen özellikle kan yolu enfeksiyonlarında klinik başarı elde edilmesinde biyofilm duyarlılığının belirlenmesi önemlidir. BioTimer yöntemi gerek kandidalarda biyofilm belirlenmesinde gerekse biyofilmlerin antifungal duyarlılıklarının belirlenmesinde etkili ve güvenilir bir yöntem olarak görülmekte daha çok suşla karşılaştırmalı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biofilm, Biotimer, Candida, Planktonik

Resim: İki (Çift çalışılmış) kandida izolatının üstte planktonik formunun altta biyofilm duyarlılık sonuçları



Tablo: Çalışılan izolatların antifungal duyarlılık sonuçlarının planktonik (MİK-MFK) ve biyofilm(MBİK-MBEK) formlarına göre dağılımı

Antifungal ajan	(mg/l)	1 Nolu	2 Nolu	3 Nolu	4 Nolu	5 Nolu	6 Nolu	C. albicans	C. parapsilosis	C. krusei
Flukonazol	MİK	1	32	1	0.5	2	1	0.5	1	64
	MFK	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
	MBİK	4	>128	16	>128	32	8	>128	8	8
	MBEK	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
İtrakonazol	MİK	0.06	16	0.25	0.06	0.06	0.06	0.125	0.06	0.5
	MFK	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
	MBİK	1	>32	1	>32	0.125	0.25	>32	16	>32
	MBEK	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Vorikonazol	MİK	<0.03	0.06	0.06	<0.03	<0.03	0.03	0.125	0.03	0.25
	MFK	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
	MBİK	0.06	2	2	>32	<0.03	0.06	16	16	0.25
	MBEK	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32
Amfoterisin B	MİK	0.06	0.25	0.5	1	<0.03	0.25	0.5	0.5	1
	MFK	0.125	0.5	0.5	2	0.06	0.5	1	2	4
	MBİK	0.06	0.5	>32	4	0.03	0.5	1	2	>32
	MBEK	16	>32	>32	>32	8	16	>32	>32	>32
Kaspofungin	MİK	<0.03	<0.03	0.125	2	<0.03	0.03	0.06	0.5	0.5
	MFK	1	0.5	2	32	2	0.5	4	4	2
	MBİK	<0.03	0.03	8	32	0.03	0.06	0.25	0.5	0.5
	MBEK	16	32	>32	>32	4	8	16	8	16

P260 - CANDİDA ALBİCANS DIŞI MAYALARIN TANIMLANMASINDA VITEK 2 COMPACT OTOMATİZE SİSTEMİ İLE API 20C AUX SİSTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Melek İnci[1], Mustafa Altay Atalay[2], Ayşe Nedret Koç[2], Burçin Özer[1], Süleyman Durmaz[2], Çetin Kılınç[1]
[1]*Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Hatay*
[2]*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kayseri*

Amaç
Bu çalışmada C. albicans dışı mayaların tanımlanmasında iki farklı sistemin karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 41 C. albicans dışı maya makroskobik ve mikroskobik morfolojileri, tüp germ testi, üre hidrolizi, API 20C AUX (Biomérieux, Fransa) ve VITEK 2 Compact (Biomérieux, Fransa) sistemleri ile tanımlanmıştır.
Bulgular
Morfolojik değerlendirme ve API 20C AUX sistemi ile yapılan karbonhidrat assimilasyon testi sonuçlarına göre mayaların 19'u (%46.34) C. glabrata, 12'si (%29.27) C. tropicalis, 8'i (%19.51) C. parapsilosis, 1'i (%2.44) C. kefyr, 1'i (%2.44) C. famata olarak, VITEK otomatize sistemi ile ise 14'ü (%34.15) C. glabrata, 14'ü (%34.15) C. tropicalis, 8'i (%19.51) C. parapsilosis, 2'si (%4.87) C. kefyr, 1'i (%2.44) C.famata, 1'i (%2.44) C. krusei, 1'i (%2.44) C. lipolitica olarak tanımlanmıştır. Suşların 34'ünde bire bir benzerlik görülürken, 7'sinde farklı sonuçlar bulunmuştur. API 20C AUX sistemi ile C. glabrata olarak tanımlanan 5 suş VITEK otomatize sistemi ile C. krusei, C. lipolitica C. tropicalis (2 suş) ve C. kefyr olarak, C. tropicalis olarak tanımlanan bir başka suş C. parapsilosis, C. parapsilosis olarak tanımlanan bir diğer suş ise C. tropicalis olarak tanımlanmıştır. İki yöntem arasındaki uyum %82.9 olarak değerlendirilmiştir.
Sonuç
VITEK2 Compact ve API 20C AUX sistemleri ile C. glabrata başta olmak üzere diğer bazı mayalarda uyumsuz sonuçlar saptandığından dolayı, C. albicans dışı mayaların tanımlanmasında bu iki sistemin uyumunu değerlendirebilmek için daha fazla örneğin dahil edildiği kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: C. albicans dışı mayalar, tanımlama, API 20C AUX, VITEK 2 Compact

tablo 1

Türler	Aynı tür/toplam
C. glabrata (n)	14/19
C. tropicalis (n)	11/12
C. parapsilosis(n)	7/8
C. kefyr (n)	1/1
C. famata (n)	1/1
Toplam (n)	34/41

VITEK 2 YST kart ile aynı tür olarak tanımlanan izolatlar

tablo 2

API 20C AUX	VITEK 2 YST kart
C. glabrata	C. krusei
C. glabrata	C. lipolitica
C. glabrata	C. tropicalis
C. glabrata	C. tropicalis
C. glabrata	C. kefyr
C. tropicalis	C. parapsilosis
C. parapsilosis	C. tropicalis

VITEK 2 YST kart ile farklı tür olarak tanımlanan izolatlar

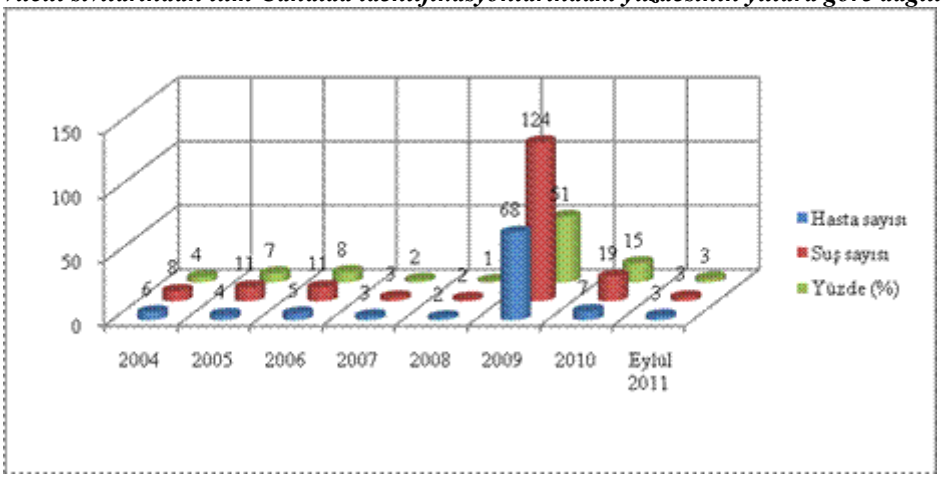
P261- STERİL VÜCUT SIVILARINDA CANDİDA GUİLLİERMONDİİ İDENTİFİKASYONUNUN VE ANTİFUNGAL DUYARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Nejla Cebeci Güler, İlknur Tosun, Gülçin Bayramoğlu, Kurtuluş Buruk, Neşe Kaklıkkaya, Faruk Aydın
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

Amaç
Mikrobiyoloji hasta hizmetleri laboratuvarına gelen steril vücut sıvılarında (idrar hariç) Candida guilliermondii identifiye edilen hasta sayısı ve suş sayısının yıllara göre dağılımının, hastaların kliniklere göre dağılımının ve suşların antifungal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
İzole edilen suşlar api® 20 C AUX sistemi ile identifiye edildi. Vorikonazol, Flukonazol, Itrakonazol ve Flusitozin için antifungal duyarlılık testleri Sensititre® YeastOne ile gerçekleştirildi. Antifungal duyarlılık testlerinin MIC (Minimum Inhibitory Concentration) değerleri CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) M27 A3 standartlarına göre yorumlandı.
Bulgular
2004-2011(ilk 6 ay) yıllarını kapsayan dönemde 95 hastanın steril vücut sıvılarında (idrar hariç) üreyen 178 izolat C.guilliermondii olarak identifiye edildi. Steril vücut sıvılarından C.guilliermondii identifiye edilen hasta ve suş sayısının yıllara göre dağılımı grafik-1'de gösterildi.
162 suş kan (12'si katater kanı), 12 suş katater-kanül, 3 suş BOS, 1 suş kemik iliği izolatıydı. Ayrıca 8 C.guilliermondii suşu da 6 hastaya ait TPN (Total Parenteral Nutrition) solüsyonlarından izole edildi.
Klinik örneklerinden C.guilliermondii identifiye edilen hastaların kliniklere göre dağılımı şu şekilde idi: Toplam 95 hastanın 48'i (%50) pediatri servislerinde, 30'u (%31) yoğun bakım sevislerinde, 20'si (%21) hematoloji-onkoloji servislerinde, 6'sı (%6) cerrahi servislerinde ve 22'si (%23) ise diğer servislerde yatmaktaydı. Hem pediatri servisleri hem yoğun bakım servisleri içinde en fazla C.guilliermondi identifiye edilen servis 15 (%16) hasta ile yenidoğan yoğun bakım servisi idi. Diğer servisler içinde değerlendirilen dahiliye servislerinde ise 10 (%11) hastadan C.guilliermondii identifiye edildi.
Farklı hastaların kan örneklerinden izole edilen ve C.guilliermondii olarak identifiye edilen 50 suşun antifungal duyarlılık testi sonuçları, MIC aralıkları, MIC50 ve MIC90 değerleri tablo-1'de gösterildi.
Sonuç
Son yedi buçuk yıllık süreç değerlendirildiğinde steril vücut sıvılarında (idrar hariç) C.guilliermondii identifiye edilen hastaların %68,4'ü, suşların %69,7'si 2009 yılında belirlendi. Yenidoğan yoğun bakım servisindeki 6 hastanın kan kültüründe ve TPN solüsyonunda da 2009 yılı içinde C.guilliermondii üredi. 2009 yılında C.guilliermondii identifikasyonundaki belirgin artış, olası bir salgını düşündürmektedir. Suşlar arasındaki olası yakınlığı değerlendirmek için pulsed field jel elektroforezi yapılması ve suşlar klonal olarak ilişkili tesbit edilirse hastaların klinik bulguları değerlendirilerek gerçek bir salgın ile kontaminasyon kaynaklı yalancı bir salgının ayrımına çalışılması planlandı. Hastalar pediatri servislerinde, yoğun bakım servislerinde ve hematoloji-onkoloji servislerinde yoğunlaşmıştı. Flukonazol duyarlı suşların %74,5'inde MIC 4 µg/ml, %17,0'sinde MIC 8 µg/ml idi. Flukonazol duyarlı suşların %91,5'inde MIC, doza bağımlı duyarlı MIC değerinden sadece 1-2 MIC düşüktü.

Anahtar Kelimeler: Antifungal duyarlılık, Candida guilliermondii, identifikasyon

Grafik 1: Kan ve steril vücut sıvılarından C.guilliermondii identifiye edilen hasta ve suş sayısının, kan ve steril vücut sıvılarından tüm Candida identifikasyonlarındaki yüzdesinin yıllara göre dağılımı



Tablo 1: C.guilliermondii suşlarının Sensititre YeastOne ile gerçekleştirilen antifungal duyarlılık testi sonuçları, MİK aralıkları, MİK50 ve MİK90 değerleri

Antifungal duyarlılık - MİK (Toplam: 50 suş)	S	S-DD, I*	R	MİK aralığı (µg/ml)	MİK50	MİK90
Vorikonazol	49	0	1	<=0.008 - > 8	0.064	0.12
Flusitozin*	48	1	1	<= 0.03 - > 64	<= 0.03	0.06
Flukonazol	47	2	1	1 - > 256	4	8
Itrakonazol	0	48	2	0.25 - > 16	0.5	0.5

P262- TRİCHOSPORON ASAHİİ'YE BAĞLI BİR İNVAZİV TRİKOSPORİNOZ OLGUSU

Mehmet Burak Selek[1], Alev Akyol Erikçi[2], Bayhan Bektöre[1], Özgür Sirkeci[2], Mustafa Özyurt[1]
[1]*GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul*
[2]*GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Hematoloji Servisi, İstanbul*

Amaç
Trichosporon asahii, endojen florada yer almakla birlikte özellikle hematolojik maligniteli hastalarda kutanöz enfeksiyonların yanı sıra nadiren invaziv enfeksiyonlardan sorumlu olan ve yüksek mortalite ile seyreden fırsatçı bir mikoz etkenidir. Bağışıklık sistemi baskılanmış özellikle hematoloji kliniğine ait hasta örneklerinden bu etkenin izole edilmesi durumunda ivedi olarak klinisyen bilgilendirilmeli ve uygun kombine tedaviye geçilmelidir. Bu olguda olduğu gibi klinik-laboratuvar koordinasyonunun hızlı ve etkin biçimde sağlanmasının hayat kurtarıcı olacağı vurgulanmak istenmiştir.
Yöntem
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji servisine Hematoloji servisinden Akut myeloid lösemi (AMLM1)'li 21 yaşında bir erkek hastadan yüksek ateş nedeniyle aynı gün içerisinde 6 saat ara ile alınan iki farklı kan kültürü örneği mikrobiyolojik inceleme amaçlı BACTEC 9120 cihazında işleme alınmıştır. Her iki örneğin inkübasyonlarını takiben 17-27 saat sonra kan kültür şişelerindeki üremeler; kanlı agar, çikolatamsı agar, eozin metilen mavisi agar ile Saboraud-Dekstroz agar'da subkültürleri yapılarak değerlendirmeye alınmıştır. Her iki örneğin mikroskopilerinde maya formunda gözlenen yapılar kültür ile konfirme edilmiş ve VITEK2 YST identifikasyon kiti ile VITEK2 Compact cihazında etken tanımlanması gerçekleştirilmiştir.
Bulgular
Yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonrasında kan kültürlerinin her ikisinden de izole edilen maya formundaki patojenlerin Trichosporon asahii olduğu tanımlanmıştır. İdentifikasyonu takiben hastanın kliniği ile koordine edilmiş ve etkenle ilgili bilgilendirme yapılarak tedavi yönünden gerekli önlemin alınması istenmiştir. Nötropenik durumdaki (nötrofil sayısı 23/mm^3) hastadan izole edilen mayanın, katater ilişkili kolonizasyona veya invaziv trikosporonoz'a bağlı bir etken olup olmadığını anlamak için periferik venden ve santral kataterinden eş zamanlı kültür işlemleri yapılmış ve katater kolonizasyonu saptanmamıştır. Tedavi ile birlikte bir hafta içerisinde nötrofil sayısı 400/mm^3 'e yükselmiştir.
Sonuç
Hastanın santral katater kültüründe Trichosporon asahii izole edilmemiş olması nedeniyle enfeksiyon invaziv trikosporonoz'a bağlı fungemi lehine değerlendirilmiştir. Ampirik oral vorikonazol uygulanmakta olan hastaya ilk bilgilendirme sonrası mevcut tedavisine amfoterisin-B eklenmesiyle ve vorikonazol tedavisinin paranteral forma geçilmesiyle ateş yanıtı alınmış ve klinik iyileşme sağlanmıştır. Tedavi başarısı tanıyı destekler niteliktedir. Çevrede ve endojen florada bulunabilen trikosporon türlerinin mortalite oranı %83'lere vardığından klinik örneklerden izole edildiğinde risk grubu hastalar için invaziv etken olabileceği göz ardı edilmemeli ve vakit geçirmeden klinik laboratuar işbirliği sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Akut myeloid lösemi, invaziv trikosporinoz, Trichosporon asahii

TRİCHOSPORON ASAHİİ



LAKTOFENOL PAMUK MAVİSİ X20

TRİCHOSPORON ASAHİİ-2



LAKTOFENOL PAMUK MAVİSİ X40

P263- HEMATOLOJİK MALİNİTELİ HASTALARDA ONİKOMİKOZ ETKENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sema Keçeli Özcan[1], Dilek Bayramgürler[2], Gülkan Karadağ[1], **Zeynep Ocak[1]**, Tuba Çetiner[2]
[1]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli*
[2]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji ABD, Kocaeli*

Amaç
Hematolojik maliniteli hastalarda; kemoterapi almaları veya nötropeni nedeniyle immunsupresif olmalarından dolayı mantar enfeksiyonları sık görülmektedir. Bu hastaların özellikle deri ve tırnaklarında görülen yüzeyel mantar enfeksiyonlarının etkenleri arasında dermatofitler dışında nadir rastlanan fırsatçı mantarların (Trichosporon, Fusarium, Alternaria gibi …) sayısında artış saptanmıştır. Bu nedenle, bu çalışmada hastanemiz Hematoloji servisinde takip edilen maliniteli ve onikomikoz klinik tanısı alan hastaların onikomikoz etkenlerinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi hematoloji servisinde takip edilen hematolojik maliniteli ve onikomikoz klinik tanısı almış olup, antifungal tedavi almayan 49 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan alınan deri ve tırnak kazıntı örnekleri SDA (Sabouroud Dextroz Agar)' a ekim yapıldı ve 26 º C'de 3 hafta süre ile inkübe edildi. Örneklerden % 20 KOH ile direkt preperat hazırlandı. Direkt mikroskobik incelemede mantar elemanları arandı. Üreme olan besiyerlerindeki kolonilerden laktofenol pamuk mavisi (LPM) ile preparat hazırlanarak incelendi. Mantarların identifikasyonu SDA'daki makroskobik görünüm ve LPM ile mikroskobik inceleme sonucunda görülen hif ve spor yapılarına göre gerçekleştirildi. Saprofit mantar üremesi saptandığında (Aspergillus, Penicillium gibi) hasta örnekleri tekrar istenerek yeniden kültür ve mikroskobik incelemeleri yapıldı, sonuçlar tekrar kültürlerde aynı olduğunda kayıd edildi.
Bulgular
Çalışmaya dahil edilen 48 hastanın 10' u kronik lenfositer lösemi (KLL), 8' i multipl miyelom (MM), 7 'sı akut miyelositer lösemi (AML), 3' ü akut lenfositer lösemi (ALL), 5' i kronik miyelositer lösemi (KML), 4'ü Hodgkin lenfoma, 4 'ü non-Hodgkin lenfoma (NHL), 2' si polistemia vera, 2' si miyelo displastik sendrom (MDS) ve 3' ü de diğer hematolojik malinite tanısı almış idi. KOH ile pozitif saptanan 33 örneğin sadece 10' unda kültürde üreme tespit edildi. Yine KOH pozitif olan 23 örneğin kültüründe üreme saptanmadı. Dört örnekte ise kültürde üreme saptanırken, KOH inceleme negatif bulundu. Kültürde toplam 16 üreme ve 11 farklı tür saptandı. Üreyen etkenler 5 Aspergillus spp ve 2 Rhizopus spp olmak üzere, diğer türler: Penicillium sp., Alternaria sp., Candida sp., Trichophyton mentagrophytes, T. tonsurans, Saccharomyces cerevisiae, Trichosporon sp, Scopulariopsis sp, Cladosporium sp birer adet saptandı.
Sonuç
Hematolojik maliniteli ve onikomikoz şüphesi bulunan hastalarda, fırsatçı mantar enfeksiyonu olasılığının fazla olması nedeni ile, bu hastalardan mikolojik inceleme için alınan örneklerin KOH ile incelenmesinin yanı sıra kültür sonuçlarının da değerlendirilmesi uygundur.

Anahtar Kelimeler: Onikomikoz, hematolojik malinite, fungus

Kültür sonuçlarının KOH ile mikroskobik inceleme sonuçları ile karşılaştırılması.

	KOH pozitif	KOH negatif	Toplam
Kültür pozitif	10	5	15
Kültür negatif	23	10	33
Toplam	33	15	48

Onikomikozu olan hastalardan üreyen fungal etkenler.

Etkenlerin dağılımı	N (%)
Aspergillus spp.	5 (31.2)
Rhizopus spp.	2 (12.5)
Trichophyton mentagrophytes	1 (6.3)
Trichophyton tonsurans	1 (6.3)
Diğer	7 (43.7)
Toplam	16 (100)

P264- TRİCHOSPORON ASAHİİ'YE BAĞLI İKİ NOZOKOMİYAL ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONU OLGUSU

Nilgün Altın[1], Salih Cesur[1], Göknur Yapar Toros[1], **Kamer Koldaş[2]**, Ayşe Tekin[1], İrfan Şencan[3]
[1]*Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Ankara*
[2]*Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[3]*Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*

Amaç
Trichosporon asahii doğada bulunmakta, insanlarda nadiren enfeksiyona neden olmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan immün sistemi baskılanmış, kronik hastalığı ve kateteri olan hastalarda sporadik olgular bildirilmiştir.
Hastanemiz yoğun bakım ünitesinde Trichosporon asahii' ye bağlı nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonu gelişen iki olgu sunularak literatür tartışıldı.
Vaka
Olgu-1
Seksen beş yaşında erkek hasta, son dönem böbrek yetmezliği ve pnömoni tanılarıyla yoğun bakım ünitesine yatırıldı. Yatışının 7. günü idrar sondasından alınan idrar kültüründe Trichosporon asahii üredi. Tam idrar tetkikinde 53 lökosit, lökosit esteraz pozitif idi. Antifungal duyarlılık testi (VİTEK-2, Biomerio, Fransa) sonucu flukonazol duyarlı, amfoterisin B orta duyarlı, flusitozin duyarlı idi. Sonda değişimi sonrası tekrar aynı etkenin üremesi üzerine antifungal duyarlılık testi sonucuna göre hastaya flukonazol 2x100mg i.v başlandı. Tedavisi 14 güne tamamlanan hasta şifa ile taburcu edildi.
Olgu-2
Yirmi bir yaşında erkek hasta dış merkezden boğulma sonrası gelişen hipoksik ensefalopati ve P.aeruginosa'ya bağlı ventilatörle ilişkili pnömoni tanılarıyla yatırıldı. Ventilatörle ilişkili pnömoniye yönelik antibiyogram sonucuna göre başlanan siprofloksasin ve amikasin tedavisi devam edildi. Yatışının 10. günü ateşinin olması üzerine idrar sondasından alınan idrar kültüründe Trichosporon asahii' üredi. Tam idrar tetkikinde 23 lökosit mevcuttu, lökosit esteraz pozitif idi. Sonda değişimi sonrası tekrar aynı etkenin üremesi ve pyürisinin devam etmesi üzerine hastaya antifungal duyarlılık sonucuna göre flukonazol tedavisi 2x100 mg başlandı. Tedavinin 72. saatinde pyüri saptanmadı, idrar kültüründe üreme olmadı. Tedavinin 14 güne tamamlanması planlandı.
Sonuç
Sunduğumuz iki olguda olduğu gibi yoğun bakım ünitesinde yatan, altta yatan kronik hastalığı olan ve üriner kateter uygulanan hastalarda Trichosporon asahii gibi nadir fungal etkenlerin de enfeksiyona neden olabileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Yoğun bakım ünitesi, Trichosporon asahii, üriner sistem enfeksiyonu

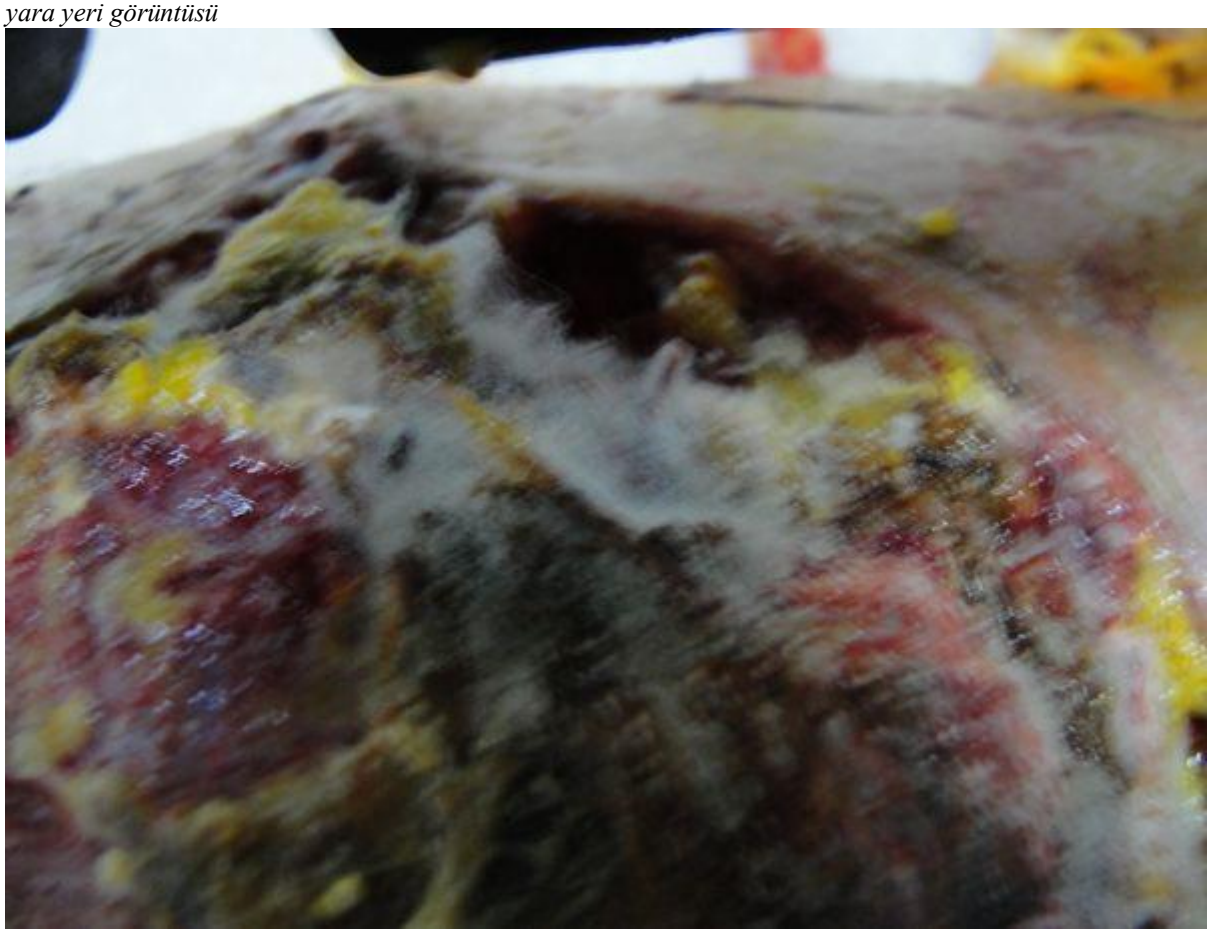
P265- MUCOR TÜRÜNE BAĞLI GELİŞEN YARA ENFEKSİYONU OLGUSU

Kamer Koldaş[1], Gülkan Solgun[1], Alper Deveci[2], Salih Cesur[3], Gülşen Çetin[4], Neriman Aksu[4]
[1]*S.B. Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara*
[2]*S.B. Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi Kliniği, Ankara*
[3]*S.B. Etlik İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Ankara*
[4]*S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*

Amaç
Zigomyçetesler'in immün sistemi bozuk hastaların yanı sıra, immün sistemi sağlam hastalarda da enfeksiyon etkeni olarak görülebileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.
Vaka
Yirmi bir yaşında, araç içi trafik kazası sonucu hastanemize baş vuran bayan hastada sol tibia ve fibula üst uç açık kırığına eşlik eden yaygın doku hasarı ve tibia üst 1/3 kısımda yaklaşık 15 cm doku harabiyeti mevcuttu. Yara bölgesinin orta hattında ve kenarında kas ve yağ dokuları arasında yer yer nekrozlu sahalar bulunmakta idi. Hastanın ateşi 37.2 ˚C- 38.3 ˚C arasında değişen değerlerdeydi. Hastanın ameliyat esnasında doku üzerinde fark edilen küf ve nekrozlu bölgeleri üzerinden gönderilen yara yeri sürüntüsünden kanlı agar, EMB agar ve saboroud dextroz agar üzerine ekimler yapılarak; kanlı agar, EMB agar 37 ˚C'de ve saboroud dextroz agar 26˚C'de etüvde inkübasyona alındı. 24 saatlik inkübasyon sonrası kanlı agar ve saboroud dextroz agar yüzeyini kaplayan, kabarık tüyümsü agardan yaklaşık bir cm yükseklikte, beyaz, grimsi-beyaz renkte koloniler tespit edildi. Lam-lamel arası mikroskopik bakısında; septasız geniş kurdele görünümünde hifler, çevrede tek tek ya da kümeler halinde sporlar görüldü. Mikroskopide septasız hifler görüldüğü için üreyen küfe lam kültürü yapıldı. Lam kültürü 26˚C ve 37˚C'de 24 saat inkübe edildi. 24 saat inkübasyonun ardından yapılan mikroskopik incelemede; septasız hifler, nadiren dallanma gösteren sporangioforlar, yuvarlak sporlar görülürken, rhizoid yapısı görülmedi. Lam kültüründe gözlenen mikroskobik yapılardan dolayı küf Mucor spp. olarak isimlendirildi. Hastada bakteriyel enfeksiyon düşünüldüğü için 3X1 gr sefazol ve 2X1gr biteral kullanmaktayken kültürde Mucor spp. üremesi üzerine 5mg/kg lipozomal Amfoterisin B başlandı. Tedavi sonrası gönderilen yara sürüntülerinde 3. günden sonra bakteriyel üremeler olmasına rağmen küf üremesine rastlanmadı.
Sonuç
Zigomycetes türü küf mantarları doğada yaygın olarak bulunmakla birlikte sıklıkla laboratuvar kontaminantı olarak karşımıza çıkmaktadırlar. İmmün sistemi bozuk hastalarda, mukokutanöz enfeksiyonlar, rhinoserebellar enfeksiyonlar, septik artrit, peritonit, renal enfeksiyonlar, pulmoner enfeksiyonlar gibi çeşitli oportunistik şekillerde klinik tablolara yol açarlar. Zigomycetesler, immün sistemi bozuk hastaların yanı sıra bizim olgumuzda da olduğu gibi immün sistemi sağlam hastalarda da nadiren enfeksiyon etkeni olarak tespit edilebilmekte ve görülme sıklıkları artmaktadır. İmmün sistemi bozuk ve immün sistemi sağlam hastalarda küf mantarlarının isimlendirilmesi ve tedavide kullanılacak antifungal ilaç seçimi önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mucor spp., Yara enfeksiyonu, Zigomyçetes

yara yeri görüntüsü



P266 - İMMÜNOLOJİK BELİRTEÇ SEVİYELERİ ANORMAL OLARAK SAPTANAN BİR BİREYDE GÖZLENEN CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS MENENJİTİ

Şinasi Taner Yıldıran[1], Ramazan Gümral[1], Berksan Şimşek[1], Emre Güven[2], Bülent Beşirbellioğlu[2], Mehmet Ali Saraçlı[1]
[1]*Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Kriptokokkoz, basidiyomiçet sınıfından kapsüllü bir fungal patojen olan Cryptococcus neoformans tarafından oluşturulan sistemik bir mikoz olup, insanlarda solunum yollarının kolonizasyonundan herhangi bir organın tutulumuna kadar değişen geniş bir klinik seyir çeşitliliği gösterebilir. Bağışıklık sistemi ister sağlam, ister bozulmuş olsun, santral sinir sistemi tutulumuyla en sık seyreden fungal enfeksiyon kriptokokkozdur. Kriptokokkoz sıklıkla bağışıklık sistemi bozuk HIV (+) vakalarda bildirilmiştir. Burada HIV (-) fakat anormal immünolojik belirteçleri olan C. neoformans menenjitli bir hasta sunulmuştur.
Vaka
Yirmisekiz yaşındaki erkek hastanın intermittan ateş, başağrısı ve yaklaşık iki senedir IX. kraniyal sinirin tek taraflı tutulumuyla seyreden meningial belirtileri mevcuttu. Çeşitli sağlık kuruluşlarına başvuran ancak kriptokok menenjiti yönünden değerlendirilmemiş olan hastanın tanısı hastanemizde yapılan BOS kültüründe kriptokok izole edilmesi sonucunda konuldu. Kriptokok izolatının tür düzeyinde identifikasyonu geleneksel yöntemlerle yapıldı ve C. neoformans olarak belirlendi. Cryptococcus gattii olma olasılığı yönünden de değerlendirilen izolat Canavanine-Glycine-Bromothymol (CGB) mavisi besiyeri ile incelendi ve sonuç olumsuz bulundu. Hastanın immünolojik profili incelendiğinde bazı lenfosit alttipleri (CD 19: %1.4, $CD3^-$ $CD16^+$ 56^+: %4.9 ve $CD3^-$ HLA DR^+: %0.7) düşük, fagosit fonksiyon testleri (fagotest: granülositlerde %76.2, oksidatif hücre içi öldürme fonksiyonu: granülositlerde %80.81) anormal olarak saptandı. Hastanın diğer immünolojik parametreleri normaldi. Hasta başlangıç olarak 34 gün boyunca lipozomal amfoterisin B ile tedavi edildi. Asemptomatik hale gelen ve durumu düzelen hastaya taburcu edildikten sonra idame tedavisi olarak oral flukonazol (400mg/gün) başlandı.
Sonuç
Her ne kadar kriptokok enfeksiyonu immün baskılanmış/yetmezlikli hastalarda fırsatçı özellikler sergilese de, bazen sağlıklı görünen bireylerde de, özellikle santral sinir sistemi tutulumunun olduğu vakalarda oldukça ciddi sonuçlarla karşımıza çıkabilmektedir. Bu tür olgularla karşılaşıldığında ayırıcı tanıda kriptokokkoz da düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: Kriptokokkoz, Cryptococcus neoformans, menenjit

Olgu

1. 28 yaşında erkek hasta

2.
- Başağrısı (2 yıldır süren), ateş
- Sol hypoglossal sinir paralizi (son 45 gün)

3. Tanı:
- Çini mürekkebi preparasyonu: Kapsüllü maya
- Kültür:
  - Antibiyotikli Sabouraud dekstroz agar
  - Staib agar (Bird seed agar)
  - Canavanine-Glycine-Bromthimol Blue (CGB) agar: *C. gattii*-*C. neoformans* ayrımı

4. Anormal immünoserolojik sonuçlar,

Fagosit fonksiyon testleri	Sonuç (%)	Beklenen Değer (%)
Granülosit fagositozu	76,20	(95-99)
Granülosit oksidatif patlama	80,81	(97-100)

Lenfosit alt-tiplendirme	Sonuç (%)	Beklenen Değer (%)
CD19	1,40	(7-23)
$CD3^- CD16^+ 56^+$	4,90	(6-29)
$CD3^-$ HLA DR^+	0,70	(3.6-25.9)

Anti HIV antikor: negatif

5. Tedavi:

Lipozomal amfoterisin B (4mg/kg/gün): 34 gün

Flukonazol (400mg/gün): 70 gün

P267- KEFİR KULLANIMININ İNSAN SERUM LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE POZİTİF ETKİLERİ

Ali Kudret Adiloğlu[1], Nurettin Gönülateş[2], Mehmet İşler[3], Altuğ Şenol[3]
[1]*Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Şefliği, Cebeci, Ankara*
[2]*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD Isparta*
[3]*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, Isparta*

Amaç
Bu çalışmada kefir kullanımının serum lipid profili üzerindeki in vivo etkilerini araştırmayı planladık.
Gereç ve Yöntem
Lactobasillus ssp., Leuconostoc ssp, Lactococcus lactis ssp. lactis, Streptococus thermophilus ve kefir mayası içeren Danisco®, Poland isimli ticari kefir kültürü, steril süt ile karıştırıldı ve 30 ºC'de 14 saat etüvde bekletilerek kefir elde edildi. Araştırmamıza Süleyman Demirel Üniversitesinde çalışan 20-40 yaşları arasında olan 18 sağlıklı gönüllü katılmıştır. Gönüllülere 2 hafta fermente ürünlerden yoksun diyet ile beslenme sonrasında, toplam 6 hafta, hafta içi günleri 200 mililitre kefir verilmiştir. Kefir verilmeden hemen önce (0. hafta), kefir başlandıktan sonra 3. ve 6. haftalar ve kefir verilmesi kesildikten 3 hafta sonra açlık kan örnekleri toplanmıştır ve serum trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol (HDL) ve LDL-kolesterol (LDL) düzeyleri ölçülmüştür.
İstatistiksel analiz:Haftalar arasındaki farklılıklar non parametrik Friedman testi ile belirlenmiş ve $p< 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı değerler 2'li olarak karşılaştırılmış ve Wilcoxon Signed-Rank testi kullanılmış ve Benferoni düzeltmesi yapıldıktan sonra $p< 0,0125$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.
Bulgular
HDL düzeylerinin ikili karşılaştırmalarında; 6. hafta değerleri kefir verilmeden önceki değerlere göre artmış ($p= 0.003$) ve kefirsiz 3. haftada tekrar azalmıştır ($p=0.012$). Trigliserit, total kolesterol ve LDL düzeyleri ise kefir tüketimi sonrası düşme trendine girmiştir (sırası ile $p=0.092$, $p= 0.082$ ve $p=0.418$,) (Tablo-1) ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo-1)
Sonuçlar
Kefir kullanımı çalışılan tüm lipid profilini 6 hafta gibi kısa bir dönemde pozitif yönde etkilemiştir. Özellikle HDL düzeylerinin 6 hafta içerisinde 5 mg/dL yükselmesi aterosklerozdan kroyucu etkisi yönünden çok önemlidir. Ateroskleroza neden olan diğer parametreler ise istikrarlı bir şekilde düşme eğilimine girmiştir. Ancak kefir kullanımı kesildikten 3 hafta sonra değerler tekrar atherojenik profile doğru kaymıştır. Sonuç olarak, normolipidemik bireylerde sürekli kefir kullanımı, kan lipid düzeylerini ateroskleroz uluşumunu engelleyici profilde tutabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: ateroskleroz, bakteri, HDL-kolesterol, kefir, lipid

Tablo -1 Olguların Özellikleri

Kilo	64.3±7.42
Boy	162.67±4.85
Vücut-kitle endeksi, kg/m2	23.75±2.53
Yaş	35.58±7.38
Sigara	0
Hemoglobin	13.76±1.6
Kreatinin	0.69±0.12
ALT	19.89±6.76

Tablo-2 Kefir kullanımı sonrası serum lipid düzeyleri

LİPİD PROFİLİ (mg/dL)	0. HAFTA	3. HAFTA	6. HAFTA	KEFİRSİZ 3. HAFTA	p değeri (Friedman testi)	p değeri (Wilcoxon Signed-Rank Testi)
Trigliserit	169.11±138.23	118.89±58.2	137.29±84.62	125.07±54.49	0.092	-
Total Kolesterol	183.31±28.3	174.89±31.1	169.35±23.88	169.5±26.76	0.082	-
LDL-kolesterol	103.68±26.74	104.95±26.86	87.56±26.12	100.0±21.66	0.418	-
HDL-kolesterol	47.05±10.69	46.0±10.4	52.41±11.51	44.57±8.75	0.008	0.-6. hf=0.003 6.-9. hf=0.012

P268 - KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA GLABRATA SUŞLARININ FLUKONAZOL VE VORİKONAZOLE İN VİTRO DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE MİKRODİLÜSYON VE DİSK DİFÜZYON YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Gülşen Hazırolan[1], Zeynep Sarıbaş[2], Sevtap Arıkan Akdağlı[2]
[1]*Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara*
[2]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Ankara*

Amaç
Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen C. glabrata suşlarının flukonazol ve vorikonazole in vitro duyarlılıklarının mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleriyle saptanması ve bu yöntemler arasındaki uyumun belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden (abse, biyopsi materyali, BOS, idrar, kan, kateter, püy, solunum yolu örnekleri, vajinal sürüntü) izole edilen 70 C. glabrata suşu alındı. Tür düzeyinde tanımlanma, ID32C (BioMerieux, Fransa) kiti ile saptanan asimilasyon profili ve mısır unlu Tween 80 besiyerindeki morfolojik görünüm değerlendirilerek yapıldı. Flukonazol ve vorikonazol duyarlılık testleri, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen mikrodilüsyon (M27-A3) ve disk difüzyon (M44-A2) yöntemler ile gerçekleştirildi. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin tespiti ve inhibisyon zon çaplarının ölçümü, 24 ve 48 saat inkübasyon süreleri sonunda yapıldı.
Bulgular
C. glabrata suşlarında her iki yöntem ile flukonazol ve vorikonazol için 48 saat inkübasyon süresi sonunda elde edilen karşılaştırmalı duyarlılık kategorileri tabloda görülmektedir. Mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak incelendiğinde, yöntemler arasında flukonazol için %64.3 vorikonazol için ise %81.4 oranında uyum saptandı. Flukonazol disk difüzyon test sonuçları mikrodilüsyon sonuçları ile, mikrodilüsyon ile elde edilen duyarlılık kategorileri esas alınarak karşılaştırıldığında, 3 (%4.3) suş için büyük, 22 (%31.4) suş için ise küçük hata tespit edildi. Vorikonazol sonuçları için karşılaştırma yapıldığında, 10 (%14.3) suşta büyük, 3 (%4.3) suşta ise küçük hata olduğu belirlendi. Önemli olarak, ne flukonazol ne de vorikonazol duyarlılık sonuçlarında hiçbir suşta çok büyük hata saptanmadı. Benzer şekilde, 24 saat inkübasyon süreci sonunda elde edilen sonuçlarda da çok büyük hata saptanmadı.
Sonuç
(1) Vorikonazol, flukonazole kıyasla daha çok sayıda C. glabrata suşuna yeterli düzeyde in vitro aktivite göstermiştir. (2) Her iki ilaç için de mikrodilüsyon ve disk difüzyon sonuçlarının uyumsuz olduğu suşlar saptanmıştır. Bu uyumsuzluk, vorikonazol için flukonazole göre daha düşük orandadır. (3) Disk difüzyon, her iki ilaç için de, uyumsuzluk gözlenen suşların çoğunda, mikrodilüsyona göre daha az duyarlı kategoride sonuç verme eğilimindedir. (4) Gözlenen uyumsuzluklar içinde çok büyük hata olmaması, rutin uygulama açısından, nisbeten güvenli bir bulgu olsa da, disk difüzyon testinin, C. glabrata gibi duyarlılık kategorisi açısından sınır değerlere sahip suşları içerebilen türlerde yanıltıcı sonuçlar verebildiği görülmektedir. (5) Uyumsuz sonuç veren suşlarda, sonuçların klinik geçerliliğinin saptanabilmesi için ileri in vitro ve in vivo çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: C. glabrata, Flukonazol, Vorikonazol

Tablo-1: Eski CLSI değerleri kullanılarak mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile flukonazol ve vorikonazol için elde edilen karşılaştırmalı duyarlılık kategorileri (24 saat).

FLUKONAZOL					VORİKONAZOL				
		DİSK DİFÜZYON					DİSK DİFÜZYON		
MİKRODİLÜSYON		H	DBD	D	MİKRODİLÜSYON		H	DBD	D
	H	56	4	6		H	65	0	5
	DBD	1	0	3		DBD	0	0	0
	D	0	0	0		D	0	0	0

H: Hassas DBD: Doza bağlı duyarlı D: Dirençli

Tablo-2: Eski CLSI değerleri kullanılarak mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile flukonazol ve vorikonazol için elde edilen karşılaştırmalı duyarlılık kategorileri (48 saat).

FLUKONAZOL					VORİKONAZOL				

		DİSK DİFÜZYON					DİSK DİFÜZYON		
MİKRODİLÜSYON		H	DBD	D	MİKRODİLÜSYON		H	DBD	D
	H	42	11	3		H	57	2	10
	DBD	6	0	5		DBD	0	0	1
	D	0	0	3		D	0	0	0

H: Hassas DBD: Doza bağlı duyarlı D: Dirençli

Tablo-3: Yeni CLSI değerleri kullanılarak mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri ile flukonazol için elde edilen sonuçların yeni önerilen duyarlılık kategorilerine göre karşılaştırılması (4).

FLUKONAZOL (24 saat)		
	DİSK DİFÜZYON	
MİKRODİLÜSYON	DBD	D
DBD	61	9
D	0	0

DBD: Doza bağlı duyarlı D: Dirençli

P269- KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN CANDİDA ALBİCANS SUŞLARININ GENOTİP DAĞILIMLARI VE ANTİFUNGAL DUYARLILIKLARI

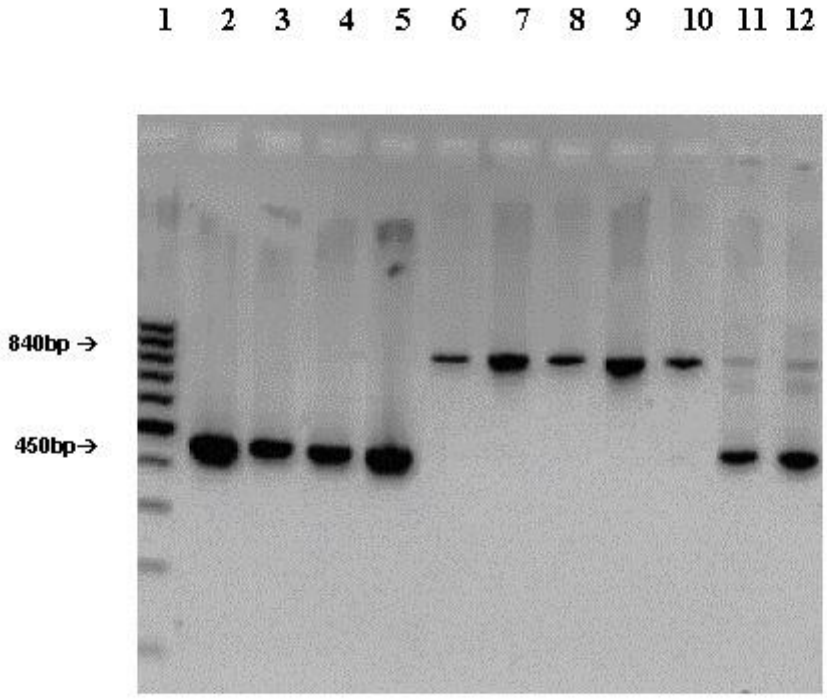
Mine Doluca, Sinem Gülat, Müjgan Özhun
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Amaç
Son yıllarda immün yetmezlikli hastaların sayısındaki artış, geniş spektrumlu antibiyotiklerin ve antineoplastik ilaçların yaygın kullanımları nedeniyle fungal infeksiyonların insidansı artmıştır. Candida albicansfungal infeksiyonlardan en sık soyutlanan Candida türü olup, ciddi yüzeyel ve sistemik infeksiyonlara neden olmaktadır. Çalışmamızın amacı çeşitli klinik örneklerden soyutlanan ve farklı antifungal duyarlılık paternlerine sahip C. albicans izolatlarının genotiplerinin belirlenmesi ve genotip dağılımları ile antifungal duyarlılıkları arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.
Yöntem
Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 42 C. albicans suşu ile C. albicans ATCC 90028 alındı. İzolatlar koloni morfolojisi, çimlenme borusu testi, mısır unu tween 80 agar, CHROMagar Candida besiyerlerindeki görünümleri ve API 20C AUX identifikasyon sistemi ile tanımlanarak stoklandı.
Suşların amfoterisin B, flukonazol, vorikonazol, ketokonazol ve 5-flusitozin duyarlılıkları CLSI M27-A3 mikrodilüsyon yöntemine göre belirlendi. Amfoterisin B için gözle üremenin %100 inhibe olduğu, azoller ve 5-flusitozin için ise gözle belirgin azalmanın spektrofotometrik olarak da % 50 inhibisyon noktası minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak kabul edildi. Flukonazol için >4 µg/ml, vorikonazol için >2 µg/ml MİK değerine sahip olan suşlar dirençli (Di) kabul edildi. Ketokonazol için >=1 µg/ml Di, 0.25-0.5 µg/ml doza bağımlı duyarlı (DBD), <=0.125 µg/ml duyarlı (Du); 5-flusitozin için >=32 µg/ml Di, 8-16 µg/ml orta duyarlı, <=4 µg/ml Du; ve amfoterisin B için >1 µg/ml MİK değerleri Di kabul edildi. Flukonazole karşı >64 µg/ml MİK değerine sahip olan dört suş 0.5 µg/ml siklosporin A içeren ve içermeyen "yeast extract peptone dextrose" agarda E test yöntemi ile kısmi inhibisyon etkisini değerlendirmek açısından çalışıldı.
Suşların ayrıca 25S rDNA grup 1 intron bölgesini hedefleyen polimeraz zincir tepkimesi (PZT) yöntemi ile genotip dağılımları incelendi. DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'lar CA-INT L ve CA-INT R öncülleri kullanılarak PZT analizine alındı. PZT ürünlerine %2'luk agaroz jelde, 100V'da 60 dakika elektroforez uygulandı ve UV aydınlatıcıda incelenerek "Syngene GeneSnap" cihazında görüntülendi. 450 baz çifti PZT ürünü oluşturan C. albicans izolatları genotip A, 840 baz çiftlik ürün oluşturanlar genotip B, her iki bandı birlikte bulunduranlar ise genotip C olarak belirlendi. Genotipler ile flukonazol ve vorikonazol duyarlılık kategorileri arasındaki ilişki "Fisher exact test" ile değerlendirildi.
Bulgular
Çalışmaya alınan suşların tümü amfoterisin B'ye Du; yedisi (%16.7) 5-flusitozine Di ve beşi (%11.9) flukonazole Di bulundu. Mikrodilüsyon yöntemi ile flukonazole dirençli gibi görünen diğer dört suşun ise E-test yöntemi ile duyarlı ancak kısmi inhibisyon etkisi gösterdiği belirlendi. Beş (%11.9) izolatın vorikonazole Di olduğu ancak bu izolatların dördünün flukonazole kısmi inhibisyon etkisi gösteren suşlar olduğu izlendi. On (%23.8) suş ketokonazole Di, iki (%4.8) suş ise DBD bulundu. Çalışılan suşların 17'si (% 40.5) genotip A, 20'si (% 47.6) genotip B ve beşi (% 11.9) genotip C olarak saptandı. Ketokonazol, 5-flusitozin ve amfoterisin B duyarlılıkları ile genotipler arasında bir ilişki belirlenmedi. Flukonazole Di bulunan beş izolatın dördünün B genotipinde olduğu görüldü ancak duyarlılıklar ile genotipler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Vorikonazole Di suşlar arasında ise B genotipine rastlanmazken, vorikonazol duyarlılıkları ile B ve C ve de A ve C genotipleri arasında anlamlı bir fark saptandı.
Sonuç
C. albicans suşlarının çoğunluğunun genotip A ve B olduğu, genotipler ile sadece vorikonazol duyarlılıkları arasında bir ilişki olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal duyarlılık, Candida albicans, genotiplendirme

---

Şekil 1. C. albicans izolatlarının genotip profilleri: 1. 100 baz çiftlik DNA Ladder, 2 - 5. genotip A (450 baz çifti), 6 - 10. genotip B (840 baz çifti), 11 ve 12 genotip C (450 and 840 baz çifti)



Tablo 1. C. albicans izolatların antifungal duyarlılık sonuçları

Duyarlılık kategorisi	Antifungal ilaçlar				
	Amfoterisin B	Flukonazol	Vorikonazol	Ketokonazol	5-Flusitozin
Dirençli	0	5	5	10	7
Doza bağımlı duyarlı	0	0	1	2	7
Duyarlı	42	37	36	30	28

Tablo 2. Antifungal dirençli/doza bağımlı duyarlı C. albicans izolatlarının genotiplere göre dağılımları

Antifungal ilaçlar	Genotipler		
	A (n:17)	B (n:20)	C (n:5)
Amfoterisin B	0/0	0/0	0/0
Flukonazol	1/0	4/0	0/0
Vorikonazol	2/1	0/0	3/0
Ketokonazol	3/1	5/0	2/1
5-Flusitozin	2/2	3/5	2/0

P270 - İMMUNSUPRESE BİR HASTADA ACREMONİUM SP. KAYNAKLI ENDOFTALMİT OLGUSU

Sema Keçeli Özcan[1], Devrim Dündar[1], Levent Karabaş[2], Yeşim Uygun Kızmaz[3], Aynur Aynıoğlu[3], Abdullah Hacıhanefioğlu[4], Birsen Mutlu[3]
[1]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli*
[2]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları ABD, Kocaeli*
[3]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Kocaeli*
[4]*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD , Hematoloji BD, Kocaeli*

Amaç
Nadir görülen fungal etkenlerden Acremonium türleri immunsuprese hastalarda invazif veya lokal enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Burada Acremonium sp.'nin neden olduğu endoftalmit gelişen akut myeloblastik lösemili bir olgu sunulmuştur.
Vaka
35 yaşında erkek hasta, halsizlik,çabuk yorulma ve vücudunda morarma şikayetleri ile hematoloji kliniğine başvurdu. Yapılan kemik iliği aspirasyon ve biyopsi sonrası AML M1-M2 tanısı konuldu ve kemoterapisi başlandı. Nötropenik ateş gelişen hastaya piperasilin/tazobaktam ve profilaktik olarak posakonazol oral süspansiyon başlandı. Tedavinin 5. gününe rağmen ateş yüksekliğinin devam etmesi üzerine imipenem tedavisi başlandı. Hasta mevcut tedaviyi 14 gün aldıktan sonra nötropeniden çıkması ve ateş yüksekliğinin olmaması nedeni ile imipenem ve posakonazol tedavisi kesildi. Takiplerinde hastanın sağ gözünde kızarıklık ve ödem gelişmesi üzerine göz hastalıkları tarafından değerlendirildi. Endojen endoftalmit ön tanısı ile intravitreal vankomisin ve seftazidim enjeksiyonu yapıldı. Vitreus biyopsi materyalinin gram incelemesinde lökosit görüldü, bakteri görülmedi. Bakteriyel ve mantar kültüründe üreme olmadı. Hastaya lipozomal amfoterisin B, imipenem ve vankomisin tedavisi başlandı. Bu tedavinin 16. gününde, hastada görme azalmasından dolayı göz hastalıkları tarafından pars plana vitrektomi ve intravitreal seftazidim+vankomisin ve tekrar intravitreal amfoterisin B enjeksiyonu yapıldı. Bu sırada alınan materyalin bakteriyel kültüründe ve mantar kültüründe Acremonium üremesi oldu. İmipenem ve vankomisin tedavisi 30. günde kesilerek, lipozomal amfoterisin B ve tedavisine vorikonazol tedavisi ilave edildi. Hastanın görme şikayetlerinde gerileme olmaması üzerine intravitreal lipozomal amfoterisin B enjeksiyonu, 5 gün sonra tekrar intravitreal lipozomal amfoterisin B ve vorikonazol enjeksiyonu, 3 gün sonra ise lens aspirasyonu, pars plana vitrektomi ve membran temizliği yapıldı. Mevcut vorikonazol ve lipozomal amfoterisin B tedavisinin 31.gününde, sağ gözde total görme kaybı gelişmesi nedeni ile sağ evisserasyon uygulandı. Tedavisinin 40. gününde ateşinin ve nötropenisinin olmaması üzerine kemik iliği transplantasyonu yapılması amacı ile hasta taburcu edildi.
Sonuç
İmmunsuprese hastaların ve invazif fungal enfeksiyonların insidansının artması nedeni ile, yeni gündeme gelen fırsatçı mantarlar olarak Acremonium gibi nadir görülen saprofit mantar kaynaklı enfeksiyonlar akla getirilmelidir. Olgumuzun izleminden anlaşıldığı gibi, bu tür enfeksiyonlarda ampirik tedavinin yanı sıra etkenin izolasyonu da önem taşımaktadır. Acremonium enfeksiyonlarının tedavisi halen tartışmalıdır. Bununla birlikte, olgumuzda intravitreal kombine antifungal tedavi ile başarı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Acremonium, endoftalmit, immunsuprese

FİGÜR 1



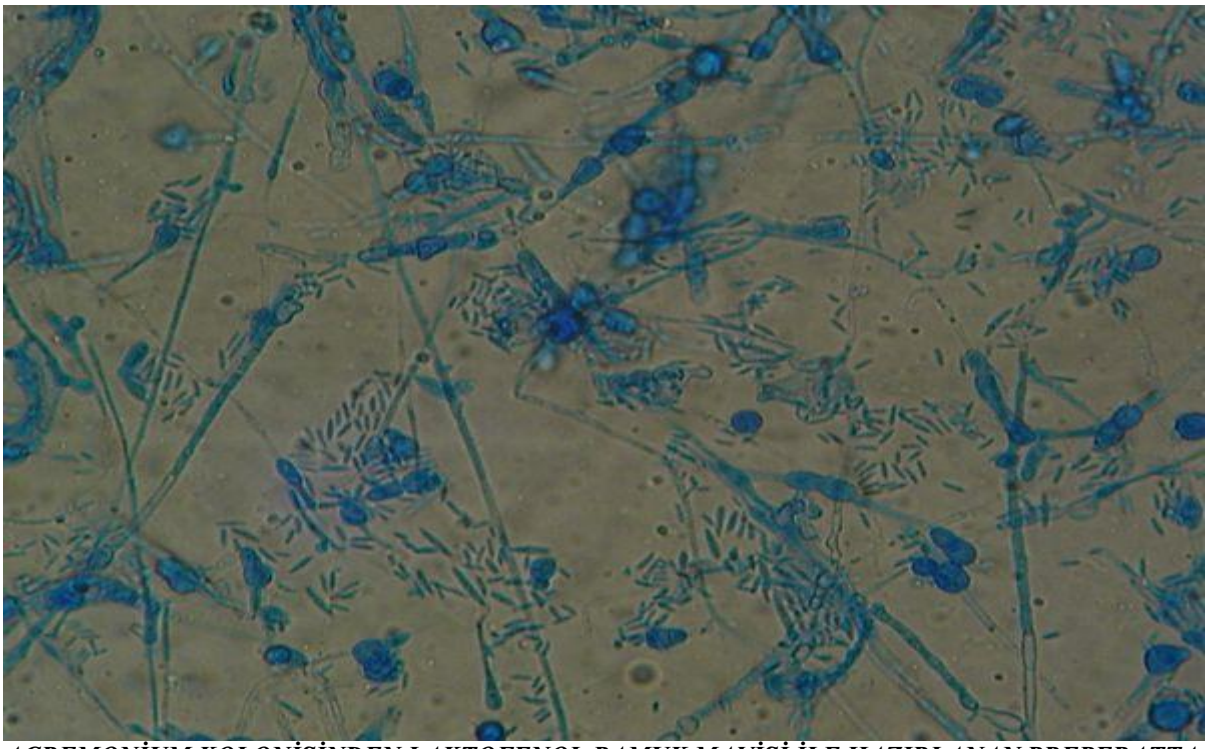
ACREMONİUM KAYNAKLI ENDOFTALMİTİ OLAN HASTANIN GÖRÜNTÜSÜ

FİGÜR 2



VİTRÖZ SIVININ SABOURAOUD DEKSTROZ AGAR'DAKİ KÜLTÜRÜNDE ÜREYEN ACREMONİUM KOLONİSİ.

FİGÜR 3



ACREMONİUM KOLONİSİNDEN LAKTOFENOL PAMUK MAVİSİ İLE HAZIRLANAN PREPERATTA SEPTALI HİFLER, ELİPSOİD KONİDİA KÜMELERİ VE FİYALİD YAPILARI GÖZLENDİ (40X).

P271- KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN FUSARİUM OLGULARI

Feza Otağ, Şahin Direkel, Gönül Aslan, Gürol Emekdaş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

Amaç
Fusaryoz, invaziv küf infeksiyonları sıralamasında aspergillozdan sonra en yaygın olandır. Vücuda konidiaların solunması, travmatize doku yoluyla giren Fusarium'lar, özellikle immün yetmezliği olanlarda lokal ve sistemik pek çok infeksiyon tablosuna sebep olurlar. Sistemik fusariyoz olgularının büyük bir çoğunluğunun hematolojik maligniteli hastaların nötropenik periyodunda geliştiği ve mortalitenin %70'den fazla olduğu bildirilmiştir. Hastane havalandırma ve su sistemlerinde kontaminant olarak bulunduğu kanıtlanan Fusarium'ların kimi nozokomiyal bulaşlara yol açtığı bilinmektedir. Sürekli periton diyaliz uygulayan hastalarda ve kontak lens kullanımına bağlı birçok Fusarium vaka ve salgınları bildirilmiştir. Bu çalışmada 3 yıllık dönemde klinik örneklerden izole edilen Fusarium olgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Laboratuvarı'na 2007-2009 yıllarında hastanemizin çeşitli servisleri ve yoğun bakım ünitelerinde yatarak tedavi gören hastalardan gönderilen klinik örnekler Fusarium türleri yönünden incelenmiştir. Üreyen koloniler klasik yöntemlerle cins düzeyinde, DNA dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. E-test yöntemiyle vorikonazol, flukonazol, kaspofungin, posakonazol ve amfoterisin-B antifungal duyarlılıkları değerlendirilmiştir.
Bulgular
Üç yıllık dönem içerisinde diyabet, kronik böbrek yetmezliği ve malinite gibi risk faktörleri taşıyan ve yaşları 12-67 arasında değişen 5 hastadan rastlantısal olarak Fusarium cinsi küf mantarı izole edilmiştir. Periton diyaliz sıvısı, konjuktiva, travmatize doku ve kan örneklerinden üreyen koloniler klasik yöntemlerle Fusarium olarak cins düzeyinde tanımlanabilirken beş suştan birinin DNA dizi analizi ile Cylindrocarpon lichenicola olduğu saptanmıştır.
Sonuç
İmmün sistem yetmezlikli, diyabetik ve diyaliz hastalarının izlemeleri sırasında filamentöz mantarlar yönünden de değerlendirilmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Fusarium, Cylindrocarpon lichenicola, filamentöz mantar

---

Fusarium izole edilen olgulara ait veriler

Olgu	Yaş/ Cins	Tarih	Servis	Klinik örnek	DNA dizi analiz sonucu	Altta yatan hastalık	Antifungal Tedavi
1	12/E	23.10.07	Pediatrik Nefroloji	Periton diyaliz sıvısı	*F. oxysporum*	KBY + İnfantil nefropatik sistinozis	Amfoterisin B + Flukonazol
2	52/K	19.11.07	Göz Polikliniği	Konjuktiva sürüntüsü	*F. solani*	DM + Diyabetik Retinopati	Amfoterisin B
3	67/E	13.06.08	Kalp Damar Cerrahi	Yara	*Cylindrocarpon lichenicola*	Aterosklerotik kalp hast.	Terbinafin
4	54/K	12.06.08	Plastik Cerrahi	Yara	*F.brachygibbosum*	DM + KBY	uygulanmamış
5	60/E	15.01.09	Onkoloji	Periferik Kan	*F.equiseti*	Rektum CA	Uygulanmamış

Fusarium kolonisi; üstten görünüşü



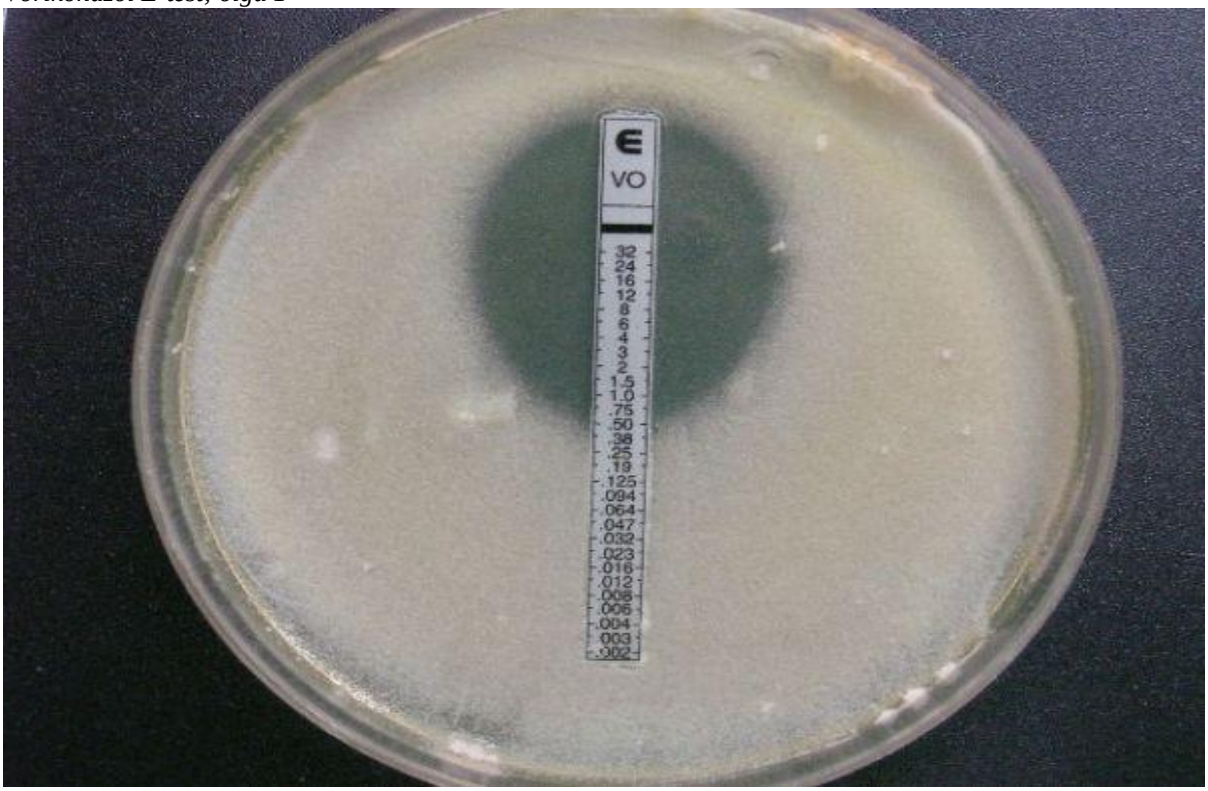
İzole edilen suşların E-test antifungal sonuçları

Olgu	İzolat	E-test (µg/ml) 24/48 saat				
		Vorikonazol	Flukonazol	Amfoterisin B	Caspofungin	Posakonazol
1	*F. oxysporum*	0,50/0,50	>256/>256	>32/>32	>32/>32	1/1,5
2	*F. solani*	>32/>32	>256/>256	>32/>32	>32/>32	1/1,5
3	*Cylindrocarpon lichenicola*	>32/>32	>256/>256	0,50/0,50	>32/>32	>32/>32
4	*F.brachygibbosum*	>32/>32	>256/>256	>32/>32	>32/>32	1/1,5
5	*F. equiseti*	>32/>32	>256/>256	>32/>32	>32/>32	>32/>32

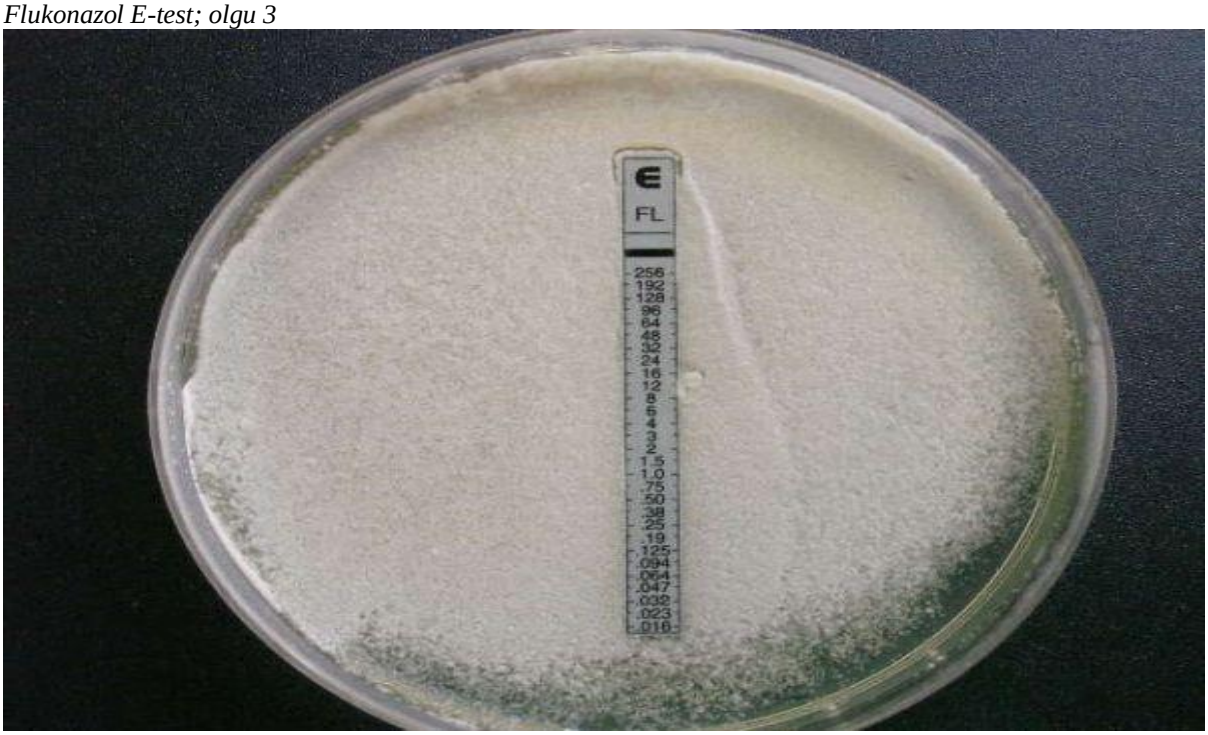
Fusarium kolonisi; tersten görünüşü



Vorikonazol E-test; olgu 1



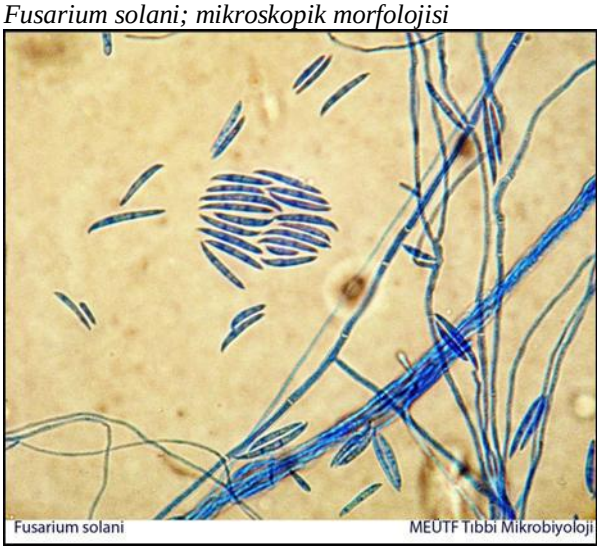
Flukonazol E-test; olgu 3



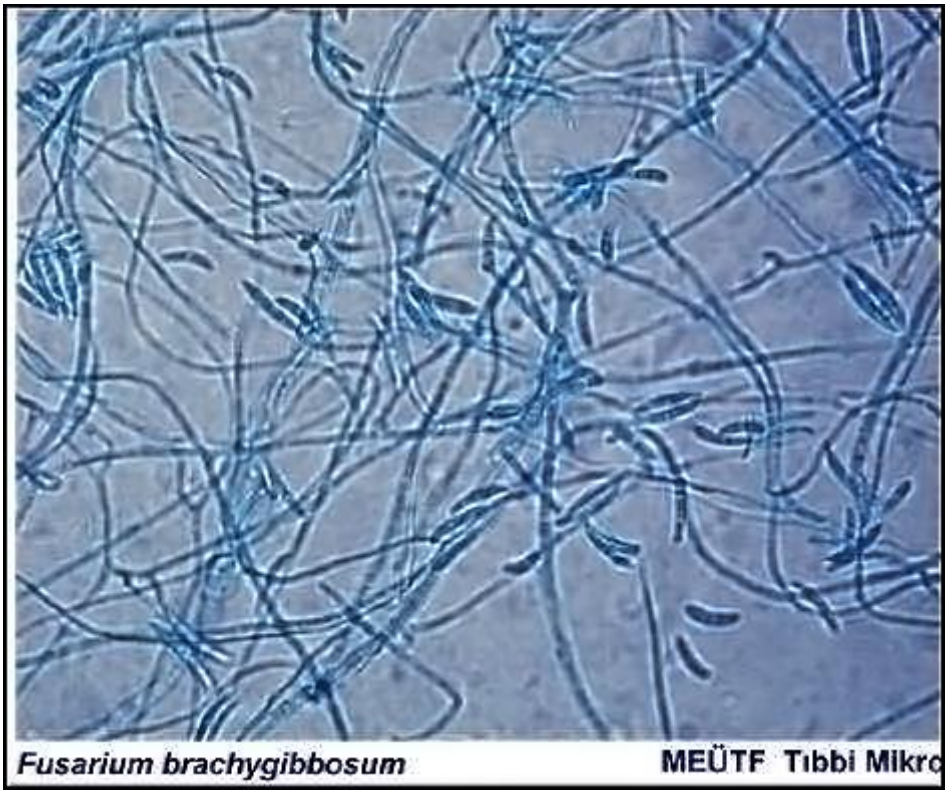
Fusarium oxysporum; mikroskopik morfolojisi



Fusarium solani; mikroskopik morfolojisi



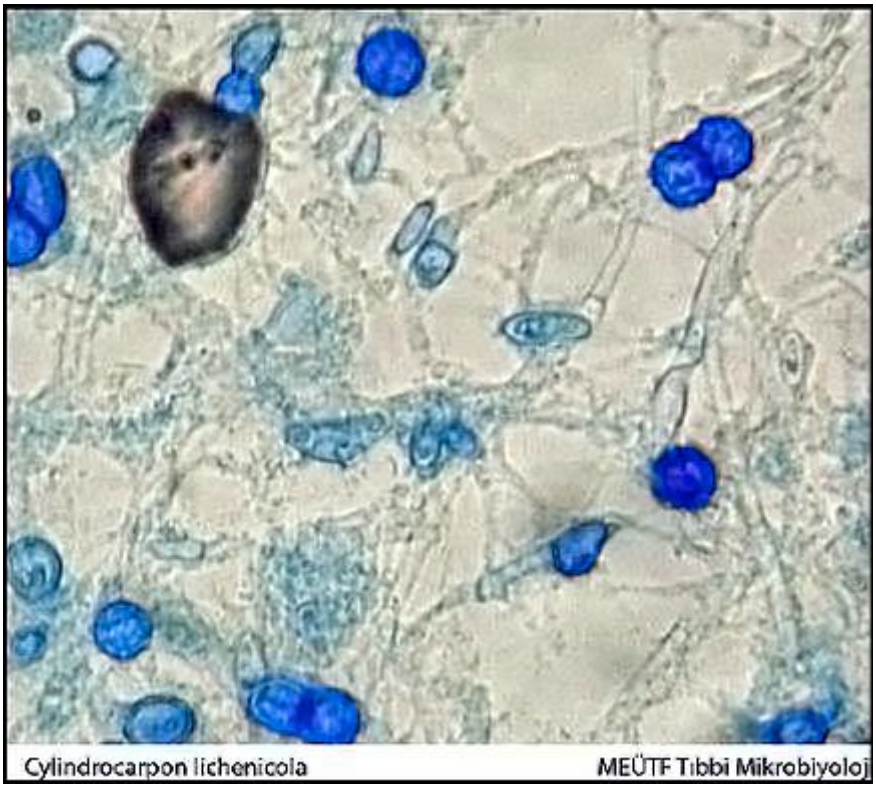
Fusarium brachygibbosum; mikroskopik morfolojisi



Fusarium equiseti; mikroskopik morfolojisi



Cylindrocarbon lichenicola


Cylindrocarpon lichenicola
MEÜTF Tıbbi Mikrobiyoloj

P272- KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA TÜRLERİNİN TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİFUNGAL DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Tuba Öztürk, **Ayşe Gül Özseven**, Emel Sesli Çetin, Selçuk Kaya
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Isparta

Amaç
Modern tıptaki gelişmelerle birlikte girişimsel işlemlerin, immun sistemi baskılayıcı tedavi yöntemlerinin uygulanma sıklığının artması, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı gibi çeşitli faktörlere de bağlı olarak hastanede yatan hastalarda kandidemi görülme sıklığının arttığı bildirilmektedir. Kandidemi, tanısı ve tedavisi zor, diğer patojenlerle ortaya çıkmış septisemi olgularına göre daha yüksek mortaliteye sahip ciddi bir klinik tablodur. Özellikle bazı candida türlerinin antifungallere dirençli olması nedeniyle üreyen candida türünün bilinmesi, tedavide kullanılacak antifungalin seçilmesinde önem taşımaktadır. Bu çalışmada, 01.08.2010-01.08.2011 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde yatan hastalardan Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinden izole edilen candida türlerinin tiplendirilerek antifungal duyarlılıklarının araştırılması hedeflenmiştir.
Gereç-Yöntem
Toplam 36 farklı hastanın kan kültürü otomasyon sisteminde (BACTEC 9120, BD) üreyen ve Gram boyamasında maya hücresi gözlenen numuneleri, Sabouraud dextrose agar besiyerine ekilerek 37 ve 25 oC'lerde 24 saat inkübe edilmiştir. Maya izolatları germ tüp testi, mısır unu-Twen 80 agar ve CHROMagar besiyerlerindeki üreme görünümleri incelenerek ve Candifast (ELITech Microbiology Reagents, France) identifikasyon kiti ile biyokimyasal özellikleri değerlendirilerek tür düzeyinde tiplendirilmiştir. İzolatların antifungal duyarlılıkları, vorikanazol, amfoterisin B, flukonazol, flusitosin ve itrakonazol için ATB FUNGUS 3 (bioMerieux, USA) duyarlılık test kiti kullanılarak belirlenmiştir. Belirlenen MİK değerleri CLSI'nin tavsiye ettiği sonlanım noktaları dikkate alınarak duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak yorumlanmıştır. Bulgular değerlendirilirken orta duyarlı olarak tespit edilen izolatlar dirençli olarak yorumlanmıştır.
Bulgular
36 izolatın 19 tanesi C.albicans (%53), 11 tanesi C.parapsilosis (%30), 2 tanesi C.glabrata (%5.5), 2 tanesi C.tropicalis (%5.5), 1 tanesi C.crusei (%3) ve 1 tanesi de C.kefyr (%3) olarak tiplendirilmiştir. İzolatların tamamı (%100) amfoterisin B'ye duyarlı olarak test edilmiş, flusitosin için C.glabrata olarak tiplendirilen 2 izolattan sadece bir tanesinde (%3) direnç gözlenmiştir. Vorikonazole, C.albicans'ların 3 tanesinin (%8) dirençli olduğu, diğer tüm türlerin ise duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Flukonazol için, C.crusei olarak tiplendirilen bir izolatta intrensek direnç söz konusu olduğundan MİK değerine bakılmaksızın dirençli olarak yorumlanmış, C.albicans izolatlarının ise 6'sında (%20) flukonazole direnç gözlenmiştir. Itrakonazol için ise C.kefyr ve C.parapsilosis izolatlarının hiçbirinde direnç gözlenmemiş, C.glabrata ve C.crusei izolatlarının tamamında direnç gözlenirken, 2 C.tropicalis izolatının birinde (%50) ve C.albicans'ların 11 tanesinde (%58) direnç tespit edilmiştir (Tablo 1).
Sonuç
Günümüzde kandidemilerde, C.albicans hala en sık izole edilen tür olmasına rağmen, son 10 yılda sıklığı azalmış, C.parapsilosis'in ve C.glabrata'nın sıklığı ise belirgin olarak artmıştır. Bizim çalışmamızda da en sık gözlenen etken C.albicans olmasına rağmen (%53), özellikle C.parapsilosis için tespit ettiğimiz sıklık (%30), bazı merkezlerden bildirilen yüksek oranlarla uyumludur (%30-50). Türkiye'deki bazı merkezlerden ve dünyanın çeşitli yerlerinden değişik oranlarda (%2-20) amfoterisin B direnci bildirilmesine rağmen, yapılan pek çok çalışmada bizim bulgularımızla uyumlu olarak candida türlerinde amfoterisin B direnci bildirilmemiştir. Çalışmamızda vorikanozol direnci düşük düzeyde (%8) ve sadece C.albicans olarak tiplendirilen izolatlarda gözlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda itrakonazol için yüksek oranda olmak üzere, amfoterisin B dışındaki test ettiğimiz tüm antifungallerde değişik oranlarda direnç saptanması, özellikle invaziv kandida infeksiyonlarında tür düzeyinde tanımlama yapılarak ve antifungal duyarlılıklarının test edilerek tedavinin yönlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: antifungal duyarlılık, candida türleri, kandidemi

Tablo 1: Candida türlerinin antifungal duyarlılık oranları

	VOR n(%)	AMP-B n(%)	FLK n(%)	FLS n(%)	ITR n(%)
C. albicans (n=19)	16(84)	19(100)	13(68)	19(100)	8(42)
C. parapsilosis (n=11)	11(100)	11(100)	11(100)	11(100)	11(100)
C. glabrata (n=2)	2(100)	2(100)	2(100)	1(50)	0
C. tropicalis (n=2)	2(100)	2(100)	2(100)	2(100)	1(50)

C. krusei (n=1)	1(100)	1(100)	0	1(100)	0
C. kefyr (n=1)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)
TOPLAM (n=36)	33(92)	36(100)	29(80)	35(97)	21(58)

VOR:Vorikonazol, AMP-B:Amfoterisin B, FLK:Flukonazol, FLS:Flusitosin, ITR:Itrakonazol,

P273- DEVELOPMENT OF A SİMPLE SİNGLE STEP MULTİPLEX NESTED PCR APPROACH FOR ENRİCHMENT OF PCR PRODUCT İN DETECTİON OF BRUCELLA İN MİLK AND BLOOD

Masoumeh Haghighi[1], Ali Mohammad Ahadi[2], Mahboubeh Madani[1], Mohammad Reza Mahzounieh[3]
[1]*Department of Microbiology, Islamic Azad university falavarjan branch*
[2]*Department of Genetics, Faculty of Science, Shahrekord University*
[3]*Department of Pathobiology, Faculty of veterinary, Shahrekord University*

Amaç
Bacteria of the genus Brucella are responsible for zoonotic infections in a wide range of mammals. A single-step PCR assay with genus-specific primers was optimized for the amplification of a 146-bp region of omp31gene of Brucella abortus and Brucella melitensis
Gereç-Yöntem
We examined peripheral blood from 30 patients affected by brucellosis, and a group of 15 control subjects and 100 milk random samples. Also we analyzed our reaction sensitivity by optimization of protocol in 0.1 ngr bacterial DNA per ml of sample in a gradient manner. DNA extraction from all of samples was performed by using a SDS/NET/Proteinase-k lyses procedure followed by phenol-chloroform standard purification method.
Bulgular
Type of brucella was identified in 29 cases (96/6%) of patients that were confirmed by serological means. In this study we used very small sample (500 µl) as initial substrate.
Sonuç
In addition, in this study we designed a single step multiplex Nested PCR in which two round PCR in one reaction produce two 146 and 137 bp product that locate in a same bound in agarose gel electrophoresis. This accumulation helps to confidence in detection. In conclusion, we developed a simple method with high sensitivity, and it may therefore be considered a useful tool for diagnosis of human brucellosis.

Anahtar Kelimeler: Brucella, omp31, Multiplex Nested PCR

P274- ANTİVİRAL İLAÇ TEDAVİSİ ALAN KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA ENTEKAVİR VE TENOFOVİR DİRENÇ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Sibel Aydoğan[1], Koray Ergünay[2], Yasemin Balaban[3], Alpaslan Alp[2], Halis Şimşek[3], Gonca Tatar[3], Gülşen Hasçelik[2], Dürdal Us[2]
[1]*Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*
[2]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[3]*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, Gastroenteroloji Ünitesi, Ankara*

Giriş
Kronik hepatit B (KHB) enfeksiyonlu hastalarda virus replikasyonunun sürekli olarak baskılanabilmesi için uzun süreli tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Uzun süreli tedavinin en büyük dezavantajı ise ilaca dirençli mutantların ortaya çıkması ve seçilebilmesidir. Bu şekilde hastalarda tedavinin etkinliği olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Bu nedenle ilaca dirençli mutantların erken dönemde tespiti tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Entekavir ve tenofovir kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların tedavisinde kullanılan nükleoz(t)id analoglarındandır.
Amaç
Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Ünitesi' nde KHB tanısı ile takip edilen ve 1 yıl ve/veya daha uzun süre lamivudin tedavisi alan 25 hastada, entekavir ve tenofovir direncine neden olan mutasyonların varlığının araştırılması amaçlanmıştır.
Yöntem
Hasta serum örneklerinden HBV DNA eldesi yapıldıktan sonra DNA dizi analizi ile HBV polimeraz geninin 470 ile 720. nükleotidleri arasında yer alan 250 baz uzunluğundaki kısmı Bioedit yazılımı ile hizalanıp referans dizi ile karşılaştırıldı ve dirençle ilişkili mutasyonların varlığı araştırıldı. Aynı DNA örneklerinde, entekavir ve tenofovire direnç oluşturan mutasyonları saptamak için ticari bir ters hibridizasyona dayalı ' line-probe' testi (Inno Lipa HBV DRv3, Innogenetics, Belçika) üretici firma önerilerine göre uygulandı.
Bulgular
'Line-probe' testi ile bir hasta örneğinde entekavir direnci ile ilişkili mutasyon (G202) saptanmış ve sonuç DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır. Bir hasta örneğinde ise, ILFM184 mutasyonuna işaret eden zayıf bant izlenmiş, ancak bu değişiklik DNA dizi analizinde saptanmamıştır.
Sonuç
Uzun süreli lamivudin tedavisi alan ve primer lamivudin direnci geliştiren kronik hepatit B hastalarında entekavire karşıda direnç gelişebileceği göz ardı edilmemeli ve tedavi değişikliği düşünüldüğünde araştırılmalıdır. Çalışmamızda literatürde olduğu gibi tenofovir direnciyle ilgili bir mutasyon saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: HBV, DNA dizi analizi, Line probe, Entekavir, Tenofovir

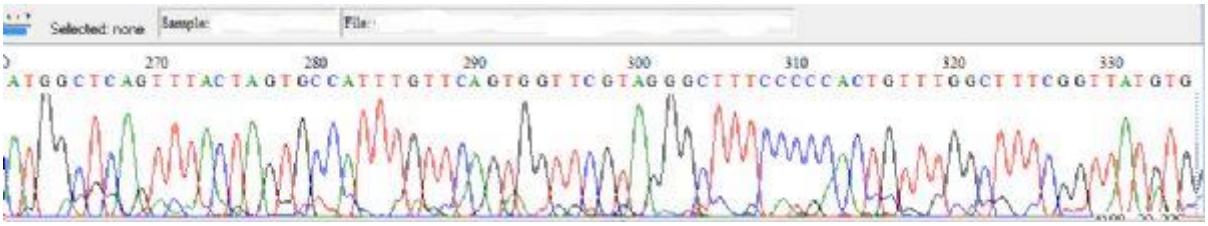
Tablo 1. "Nested PCR" için kullanılan primer dizileri

1.TUR	5' - CAC CTG CAG CCT CAT TTT GTG GGT CAC CAT A - 3' 5' - CAT AAG CTT CAC AAT TCG TTG ACA TAC TTT CCA AT - 3'
2.TUR	5' - TCG CTG GAT GTG TCT GCG GCG TTT TAT - 3' 5' - ACC CCA TCT TTT TGT TTT GTT AGG - 3'

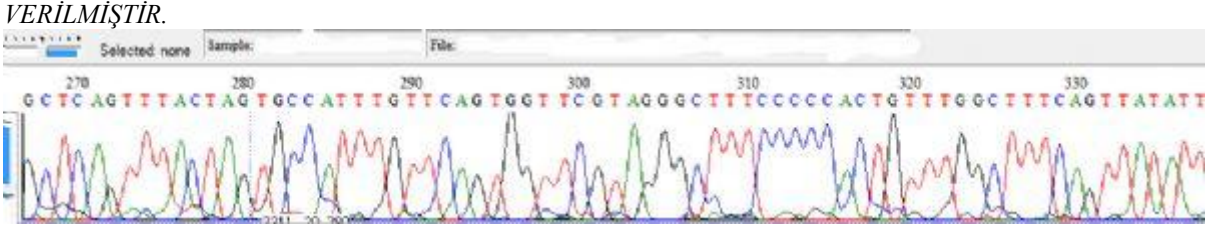
Tablo 2. Çalışmada saptanan mutasyonlar

Hasta No	DNA Dizi Analizi ile	Inno Lipa HBV DRv3 ile
1	L180M, S202G, M204V	G202
2	M204I	ILFM184

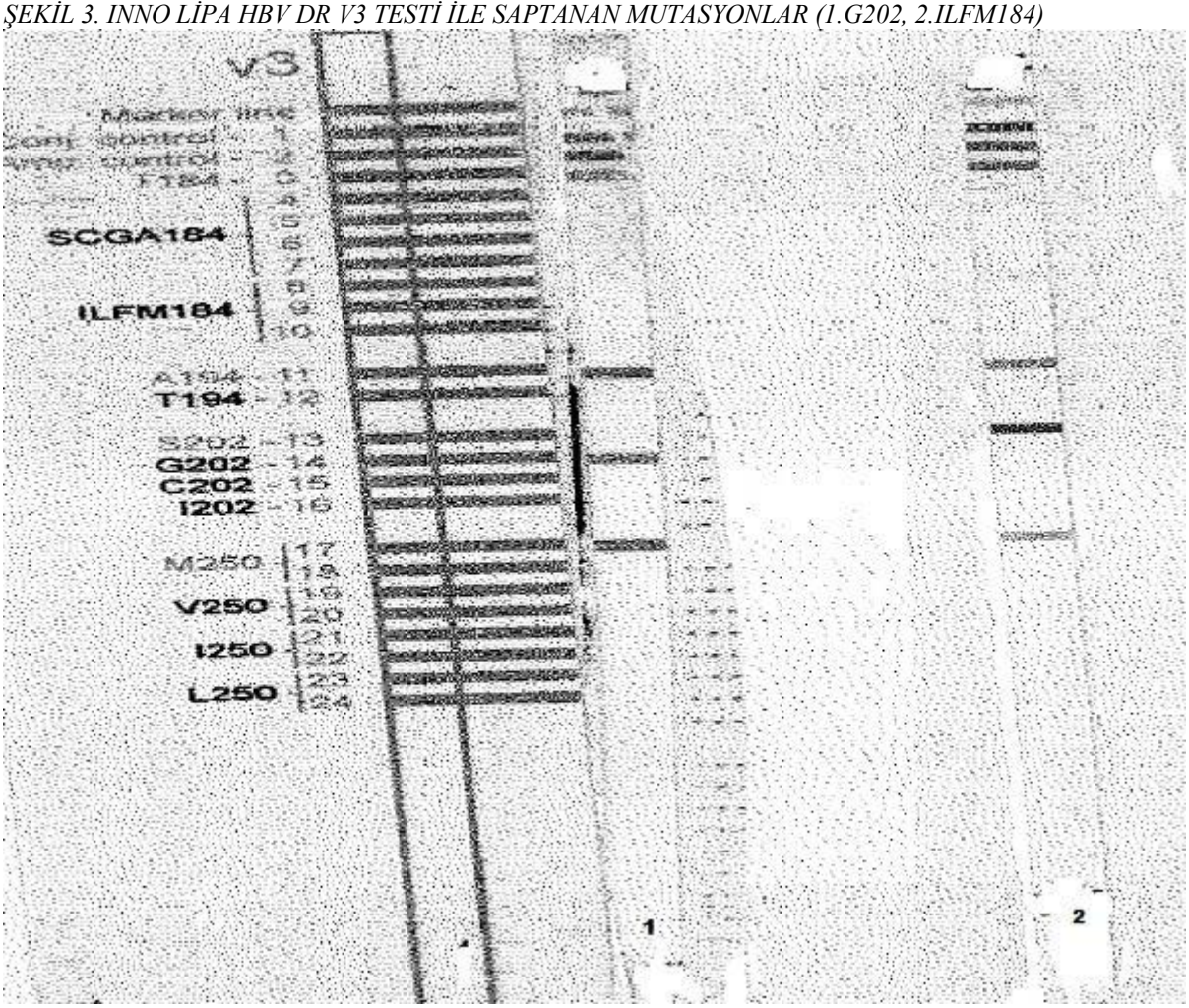
ŞEKİL 1. 1 NUMARALI HASTA ÖRNEĞİNE AİT KROMATOGRAM GÖRÜNTÜSÜ (SAPTANAN MUTASYONLAR:180 CTG/ATG (L/M), 202 AGT/GGT (S/G), 204 ATG/ATT (M/I))



ŞEKİL 2. 2 NUMARALI HASTA ÖRNEĞİNE AİT KROMATOGRAM GÖRÜNTÜSÜA (SAPTANAN MUTASYON: 204 ATG/ATT (M/I)) A: HER İKİ KROMATOGRAMDA 180-204. NÜKLEOTİDLER ARASI GÖRÜNTÜ VERİLMİŞTİR.



ŞEKİL 3. INNO LİPA HBV DR V3 TESTİ İLE SAPTANAN MUTASYONLAR (1.G202, 2.ILFM184)



P275 - KAYSERİ'DE HEPATİT C VİRUSU GENOTİP DAĞILIMININ BELİRLENMESİ

Tuba Kayman[1], Çiğdem Karakükçü[2]
[1]*Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kayseri*
[2]*Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya, Kayseri*

Amaç
Hepatit C Virusu(HCV) infeksiyonu akut olarak görülmekle birlikte yüksek oranda kronikleşmektedir. Kronikleşmenin sonrasında, karaciğer sirozu, hepatocelluler karsinoma ve mortalite sebebiyle son derece önem arz etmektedir.
Enfeksiyonun seyrini konağa ait genetik faktörler, yaş ve virusun genetik değişkenliği etkilemektedir. Dünyada 6 majör HCV genotipi ve bunların 80'den fazla subtipi belirlenmiştir. HCV enfeksiyonlu hastanın genotipinin bilinmesi, tedavinin süresini ve şeklini yönlendirdiğinden ve tedaviye yanıtın en iyi belirleyicisi olduğundan önem taşımaktadır.
Bu çalışmada, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran HCV infeksiyonlu hastaların genotip tayininin yapılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ağustos 2010- Temmuz 2011 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına HCV genotipleme isteğiyle gönderilen 278 hastanın serum örneği HCV genotipleri açısından gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time PCR) yöntemiyle araştırılmıştır. Anti-HCV pozitif olan örneklerin, viral yük tayini Real Time PCR (COBAS Ampli-Prep/COBAS Taqman, Roche Molecular Systems, ABD) yöntemiyle tespit edilmiştir. HCV RNA pozitif saptanan örnekler Abbott m2000 sp cihazında ekstrakte edildikten sonra amplifikasyonu ve genotiplendirmesi ise Abbott m2000 rt (Abbott Molecular Diagnostics Almanya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.
Bulgular
Çalışmada yer alan 278 hastanın 177'sinin kadın, 101'inin erkek ve yaşlarının 13-83 arasında değiştiği, yaş ortalamalarının kadınlarda 56.8, erkeklerde 54 olduğu görülmüştür. Hastalara ait viral yük değerleri $5.33x10^1$ ile $2.17x10^7$ arasında olup ortalama viral yük değeri $1.63x10^6$ dır.
Toplam 278 örneğin 171'i (%61.3) genotip 1, 93'ü (%33.5) genotip 4, 7'si (%2.5) genotip 2, 3'ü (%1) genotip 3 bulunmuştur. Dört olguda (%1.4) miks tip enfeksiyon varlığını gösteren veri elde edilmiştir. Bu olgulardaki dağılım 1+3, 1a+2, 1b+4 ve 1b+3 idi. Genotip 1 saptanan 171 olgunun 163'ünde 1b, dördünde 1a saptanırken, 4 olguda subtip belirlenememiştir. Kadınlarda en sık genotip 1b (n:109, % 61.6) ve Tip 4 (n:54, %30.5) görülürken, erkeklerde en sık genotip 1b (n:54, % 53.5) ve Tip 4 (n:34, %33.7) bulunmuştur.
Yaş gruplarına göre HCV genotip dağılımı tablo'da verilmiştir.En sık görülen genotip 1b ve genotip 4 grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).
Sonuç
Ülkemizde yapılan çalışmalarda HCV'li olgularda en sık olarak saptanan genotip, HCV genotip 1b'dir. Bu çalışmada en çok genotip 1b görülmekle birlikte %33.5 oranında görülen genotip 4 dikkat çekicidir. Kayseri bölgesindeki HCV enfeksiyonunun molekuler epidemiyolojisinin saptanabilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virusu, Genotip, Kayseri, Genotip 4

Tablo. HCV genotiplerinin yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş grupları	Tip 1	Tip 1a	Tip 1b	Tip 2	Tip 3	Tip 4	Miks tip	Toplam
<30	-	-	2	3	-	4	-	9
30-40	-	-	8	2	2	7	-	19
41-50	1	1	33	1	-	17	-	53
51-60	-	2	54	-	-	31	-	87
61-70	3	1	53	1	1	29	4	92
>70	-	-	13	-	-	5	-	18
Toplam	4	4	163	7	3	93	4	278

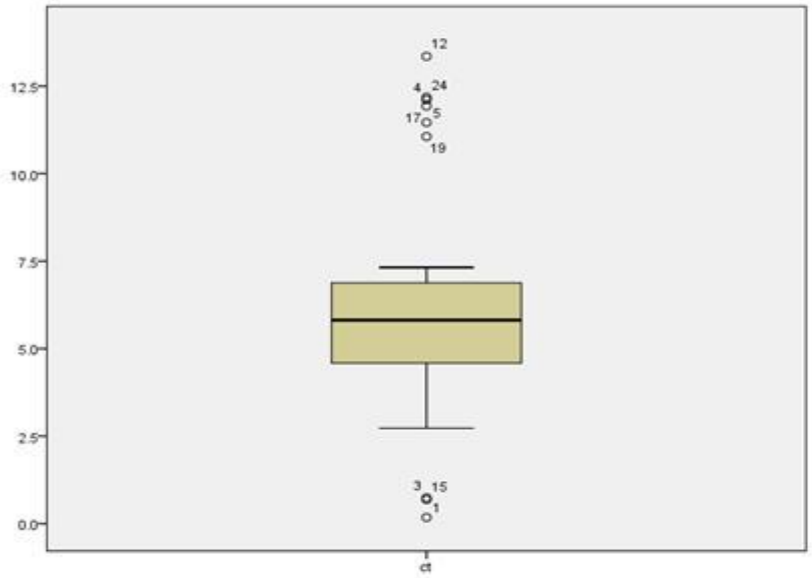
P276 - HIV İLE ENFEKTE OLMUŞ HASTALARDA M41L DİRENÇ MUTASYONUNUN 'GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU' İLE SAPTANMASI

Zuhal Tekkanat Tazegün[1], Iskender Karaltı[1], İbrahim Çağatay Acuner[1], Mert Ahmet Kuşkucu[2], Gülderen Yanikkaya Demirel[1], Elif Çiğdem Altunok[3], Kenan Midilli[2], Mahir Tulunay[1], Yeşim Gürol[1], Gülden Çelik[1]
[1]*Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul.*
[2]*İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[3]*Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bioistatistik BD ,İstanbul*

Amaç
Günümüzde, rutin veya epidemiyolojik amaçlı HIV antiviral direnç testleri, konvansiyonel dizi analizi yöntemi ile yapılmaktadır. Oysa, son yıllarda tedavi başarısını olumsuz etkileyebilen ve total viral popülasyon içinde azınlıkta olan ilaç dirençli mutant varyantları daha duyarlı olarak saptayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu çalışmada, HIV-1 B genotipinde azınlıktaki mutantların saptanması için, Nokta-Mutasyon Spesifik Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (NMS-GZ-PZR) yöntemi, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı koşullarında uygulandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmada, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda daha önce konvansiyonel dizi analizi ile (ABI Prism 310, Foster City, A.B.D.) incelenmiş, enfekte olduğu tarih bilinmeyen, HIV–1 genotip B pozitif olguların kan örnekleri (n=60) kullanıldı. Center for Diseases Control'den (A.B.D.) Heneine ve arkadaşları tarafından HIV-1 genotip B'de oluşabilen dokuz ana ilaç mutasyonunu saptamak üzere geliştirilerek valide edilmiş olduğu ve konvansiyonel dizi analizine göre duyarlığının daha yüksek ve yorumunun daha kolay olduğu bildirilen NMS-GZ-PZR yöntemi, laboratuvarımız koşullarında LightCycler 2.0 (Roche Applied Science, Almanya) aygıt sisteminde, M41L direnç mutasyonunu saptamak üzere önerilen primerler setleri (n=5) ve TaqMan probu kullanılarak uygulandı. RNA kalitesinin bozuk olduğuna karar verilen örnekler (n=3) çalışma dışı bırakıldı. Vahşi tip ve mutant varyantların ayırt edilmesinde, pozitiflik ölçütünü belirlemek amacıyla, total viral kopya reaksiyonu ile mutant varyant reaksiyonunun Ct değerleri ("threshold cycle") arasındaki fark (ΔCt), merkezi eğilim dağılımı ile incelenerek, ΔCt eşik değeri saptandı. İki yöntemden birisinin referans yöntem statüsü olmadığı için, iki yöntem arasındaki karşılaştırmalı uyuşmanın güvenirliği, kapa istatistiği ile ölçüldü.
Bulgular
Olgu örnekleri (n=57) arasından, NMS-GZ-PZR sonuçlarına göre, total viral kopya amplifikasyonunun Ct değeri 10'dan küçük olan (yüksek kopya sayısı nedeni dilüsyon ile tekrar gerekliliği) ve 26'dan büyük olan (düşük kopya sayısı nedeni ile belirsiz sonuç) örnekler (n=25), öneriye uygun olarak, pozitiflik ölçütü amacıyla kullanılacak ΔCt eşik değerini belirlemek için yapılan çalışmanın dışında bırakıldı. Eşik değer hesaplamasında kullanılan örneklerin (n=32), merkezi eğilim dağılımına göre ΔCt ortanca değeri (5.81) eşik değer olarak belirlendi. Buna göre, ΔCt değeri, eşik değerin üzerinde olan olgu örnekleri, M41L mutasyonu açısından negatif kabul edildi. Bu eşik değer ölçütü ile değerlendirilen NMS-GZ-PZR sonuçlarına göre, 32 örneğin 16'sında M41L direnç mutasyonu pozitifliği saptandı. Bu örneklerin 6'sında, konvansiyonel dizi analizi sonuçlarına göre de, M41L direnç mutasyonu pozitifti. Çalışmaya alınan tüm olgu örnekleri (n=57) arasında, konvansiyonel dizi analizi ile pozitif olduğu bildirilen 13 örnekten 7'sinin sonuçları, NMS-GZ-PZR sonuçlarına göre total viral kopya Ct'si 26'nın üzerinde olduğu için, öneriye uygun olarak, belirsiz kabul edildi. Bu örneklerde, testin, ön amplifikasyon aşamasından sonra tekrar edilmesi önerilmektedir. Kapa istatistiğine göre, iki yöntem arasında, orta düzeyde uyuşma ($k=0.375$; $P < 0.007$) saptandı.
Sonuç
Bilgimize göre, bu çalışma, Türkiye'de, HIV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan antiviral ilaçlara karşı azınlık direnç mutasyonlarını, konvansiyonel dizi analizine kıyasla daha duyarlı ve uygulaması daha kolay bir yöntemle bildiren ilk çalışmadır. NMS-GZ-PZR yöntemi, bilinen tüm direnç mutasyonları arasında yalnızca bir grubunu test etmek için geliştirilmiştir. NMS-GZ-PZR yöntemi, daha duyarlı olduğundan, iki yöntem arasında uyuşmanın orta düzeyde olması doğaldır. NMS-GZ-PZR yöntemi, ultra derin dizi analizi düzeyindeki duyarlılıkta, azınlık direnç mutantlarının önemli bir grubunu saptayabilmekte ve böylece HIV enfeksiyonu olgularında gelişen antiviral dirence ilişkin epidemiyojik dinamiklerin daha iyi anlaşılmasına ve tedavi başarısının artmasına katkıda bulunmaktadır.

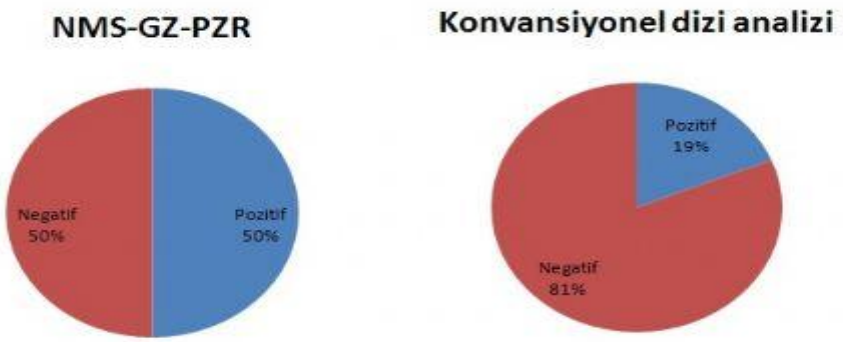
Anahtar Kelimeler: HIV antiviral direnç testi, Konvansiyonel dizi analizi, Nokta-Mutasyon Spesifik Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (NMS-GZ-PZR) yöntemi

Şekil 1. ΔCt dağılımları

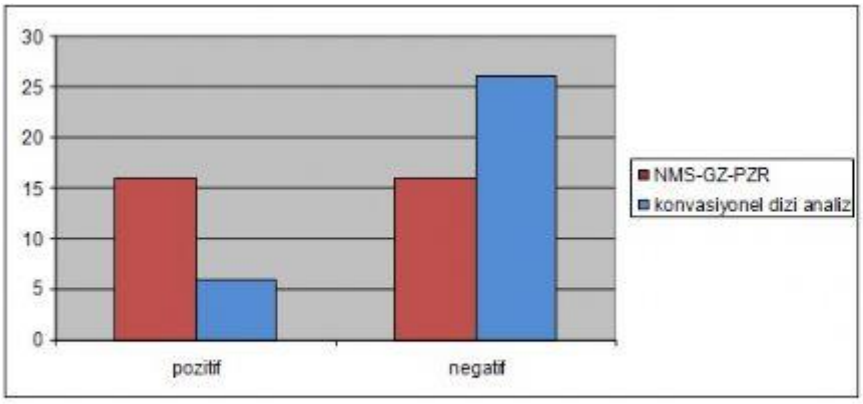


ΔCt değerleri, en düşük 0.18 ile en yüksek 13.5 arasında dağılmıştır. Üç örneğin ΔCt değeri çok düşük bulundu ve genel dağılımın gözlendiği grubun dışında kaldı. Altı örneğin ΔCt değeri yüksek bulundu ve genel dağılımın dışında kaldı. Genel dağılım grubunda yer alan 23 örneğin ΔCt değerleri, 2.5 ile 7.5 arasında dağılım gösterdi. Merkezi eğilim dağılımına göre, ΔCt ortanca değeri (5.81) eşik değer olarak belirlendi.

Şekil 2. NMS-GZ-PZR PZR ve konvansiyonel dizi analizine göre pozitif ve negatif sonuçların yüzde oranları.



Şekil 3. NMS-GZ-PZR PZR ve konvansiyonel dizi analizine göre pozitif ve negatif sonuçlar


30
25
20
15
10
5
0
pozitif
negatif
NMS-GZ-PZR
konvasiyonel dizi analiz

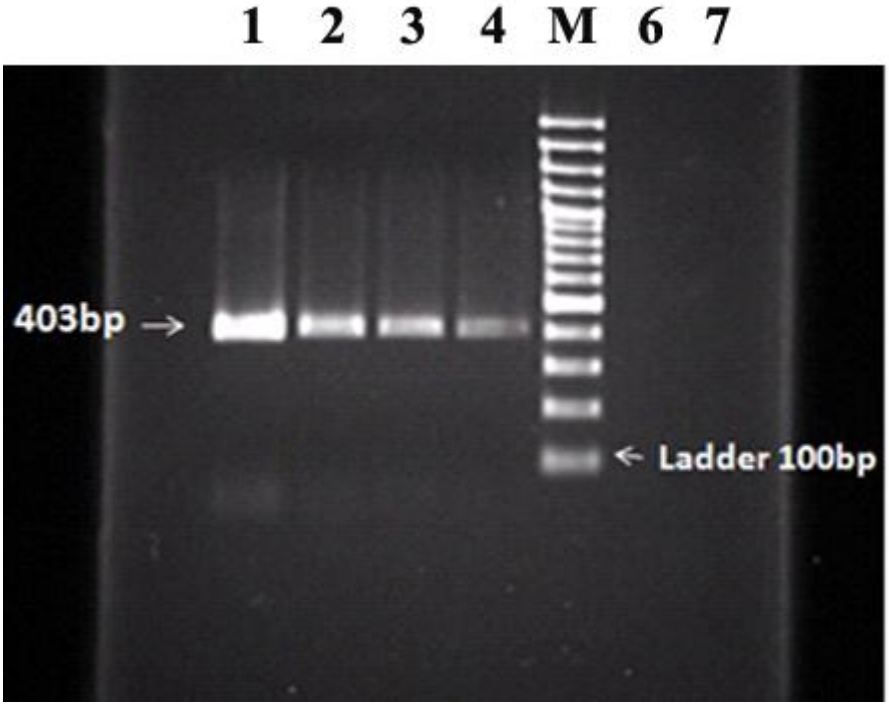
P277 - RAPİD MOLECULAR DETECTİON OF SALMONELLA SPP. BASED ON AMPLİFİCATİON OF İNVA GENE

Reza Ranjbar, Mojtaba Mortazavi, Ali Mehrabi Tavana
Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background and Objectives
Salmonella spp are the most important cause of food poisoning and diarrhea. Routine diagnostic methods for identification of Salmonella such as culture are time consuming. The aim of this study was to evaluate a Uniplex PCR for rapid molecular detection of Salmonella spp.
Material-Methods
In this study, a pair of primers was designed and used to replicate a chromosomal sequence (invA gene) of Salmonella spp. We evaluated the method on Salmonella spp isolated from clinical cases that had been confirmed serologically and biochemically. Boiling method was used for DNA extraction. PCR was performed by different thermal gradient. Amplified product was electrophoresed, stained by ethidium bromide and visualized by gel documentation. For evaluation of specificity of the method, some related bacterial strains were used.
Results
The result of PCR showed expected amplified DNA band in Salmonella spp. Any non-specific reaction with other bacterial strains such as Escherichia and gram positive cocci was not seen and designed method was able to detect all tested Salmonella spp.
Conclusion
The results showed that invA gene is an appropriate target for rapid detection of Salmonell spp. Designed method with new primers is sensitive, easy, rapid, reliable and is recommended for detection of Salmonella spp.

Anahtar Kelimeler: Salmonellosis, PCR, Salmonella spp, Rapid detection

Figure 1



Amplified DNA bands of Salmonella spp including S. typhi (lane 1), S.enteritidis (lane 2), S. infantis (lane 3), S. typhimurium (lane 4). M is ladder (100 bp).

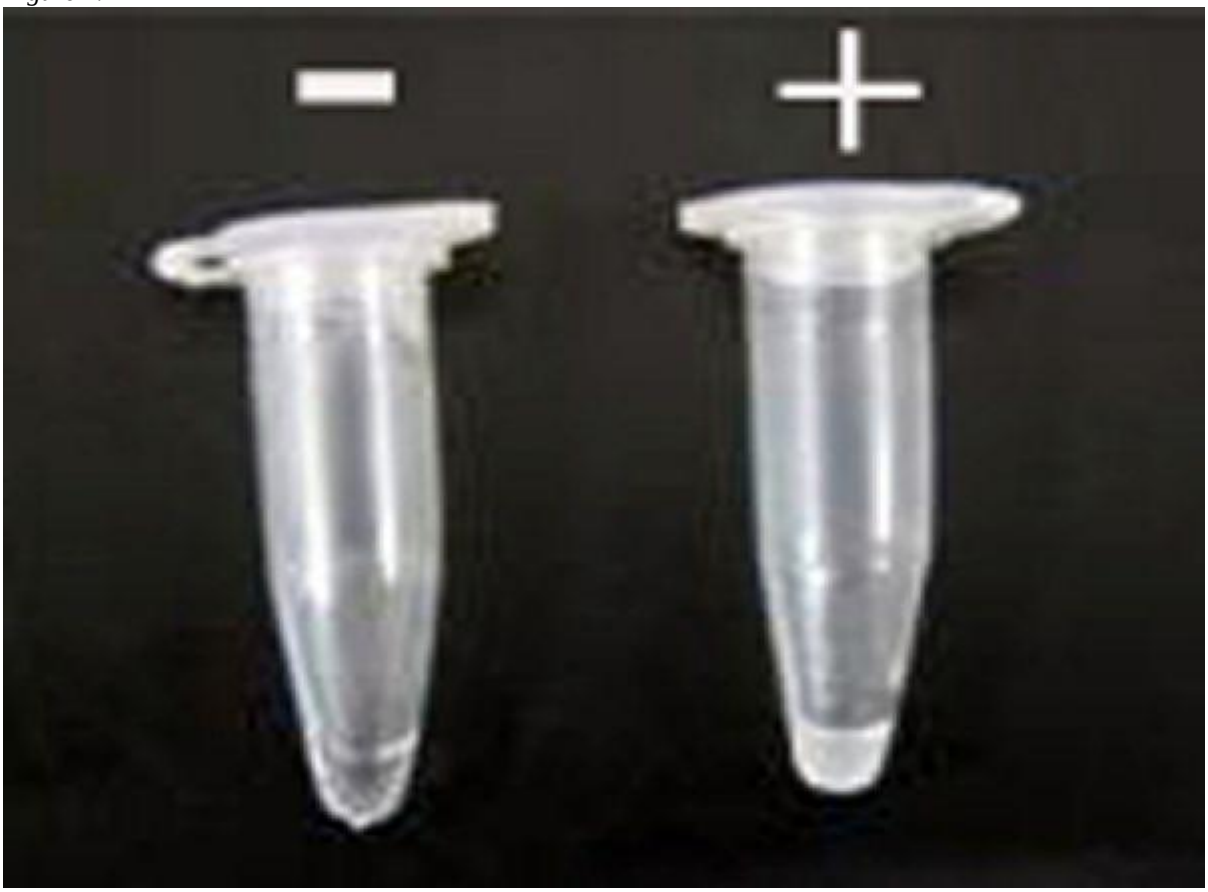
P275 - RAPİD DETECTİON OF SHİGELLA SPP. BY LOOP-MEDİATED ISOTHERMAL AMPLİFİCATİON ASSAY

Reza Ranjbar[1], Maryam Erfanmanesh[2]
[1]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran*

Introduction
Shigella is one of the most important pathogens in food and water samples, causing diarrhea especially in infants and children in developed and developing countries. Effective dosage of bacteria to cause the disease is very low so rapid detection of Shigella species is of great concern which can readily be performed by using molecular methods. The aim of this study was to evaluate a new designed Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) technique for rapid detection of Shigella.
Methods
Four sets of primers identifying specifically the target DNA for ipaH gene of Shigella spp. were designed. LAMP reaction using Bst DNA polymerase enzyme was performed under isothermal condition to detect several isolates including standard type and clinically isolated strains belonging to all Shigella species. To evaluate the specificity of this assay, some other related bacterial strains were also tested. The turbidity of DNA amplification products was assayed by visual detection. Amplified products were also electrophoresed, stained by ethidium bromide and visualized under UV light.
Results
An expected white turbidity was observed in positive samples after completing the reaction in less than 1 hour. Positive reaction product in LAMP showed ladder-like pattern on agarose gel. LAMP reaction was able to detect very small amounts of bacteria (10 CFU) per reaction in less than 2 hrs. Only the target Shigella spp. DNA was amplified and no cross-reaction was observed with DNA samples from other bacterial strains.
Conclusions
The results demonstrated that the LAMP had good capability for detection of Shigella. This assay can be considered as a simple, specific and rapid molecular method and has potential to be replaced by other diagnostic methods in primary microbiology laboratories without any need for expensive equipments or specialized techniques.

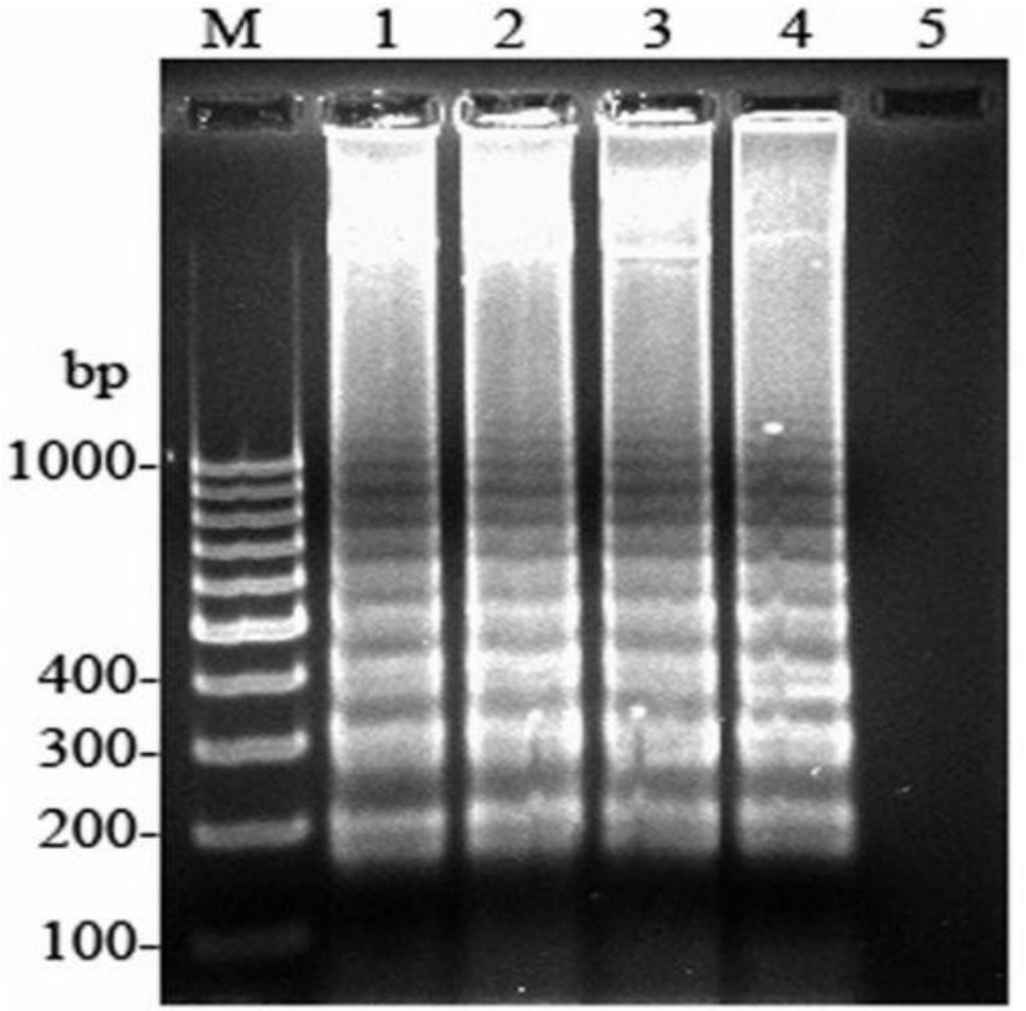
Anahtar Kelimeler: Shigella spp., ipaH gene, Loop-mediated Isothermal Amplification

Figure 1.



White turbidity, negative (left) and positive (right) LAMP reaction

figure 2



A ladder-like pattern of LAMP on electrophoresis gel seen in positive reactions. M: Molecular Weight, 1:S. dysenteriae, 2: S. flexneri, 3:S. boydii, 4: S. sonnei, 5:Negative control.

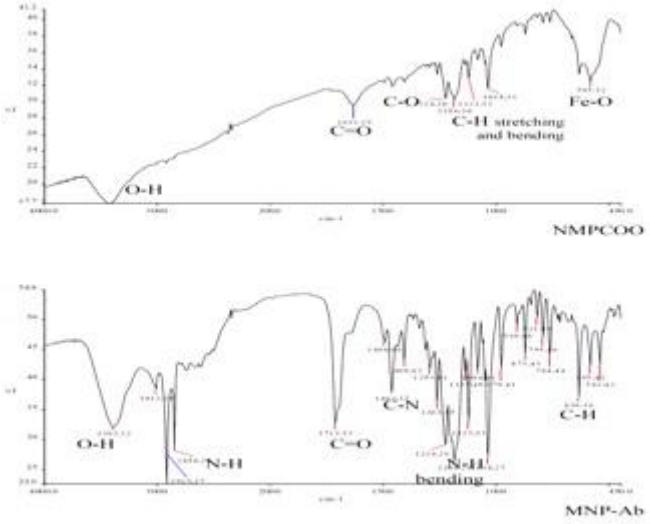
P279 - SEPARATİON OF VİBRİO CHOLERAE O-1 USİNG FUNCTİONALİZED MAGNETİC NANOPARTİCLES

Reza Ranjbar[1], Jamal Rashidiany[2], Mahdi Kamali[2], Hamid Reza Javadi[2]
[1]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Nanobiotecnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Background and Objective
Cholera is a disabling infectious disease that is caused by Vibrio cholera O-1& O-139. The current procedures for the detection and enumeration of V. cholerae bacteria can often be costly in labor, materials, and time. The aim of this study was to evaluate the separation of V. cholerae O-1 using Immunomagnetic separation.
Methods
In this study, the polyclonal antibody against bacterial surface antigen (ompW) was immobilized on magnetic iron oxide nanoparticles and this approach was used to isolate bacteria from environment. Immobilizing process was applied using the 11-MUA in the presence of EDC and NHS. To confirm the immobilizing process, two methods (FTIR spectroscopy and Brad Ford proteinassy) were used. Bacterial strains from two medical centers of Tehran clinical samples were collected and identified using biochemical methods.
Results
Functionalized iron oxide nanoparticles with antibody against ompW was successfully accomplished. Nanoparticles were added to the environments containing bacteria and applying magnetic fields, the bacteria were isolated from the buffer. This method was able to isolate V. cholerae O-1 bacteria up to 2cfu from buffer samples. Culturing the bacteria attached to nanoparticles in specific media confirmed this isolation method.
Conclusions
The results showed that, in comparison to other separating methods, this technique is more powerful.

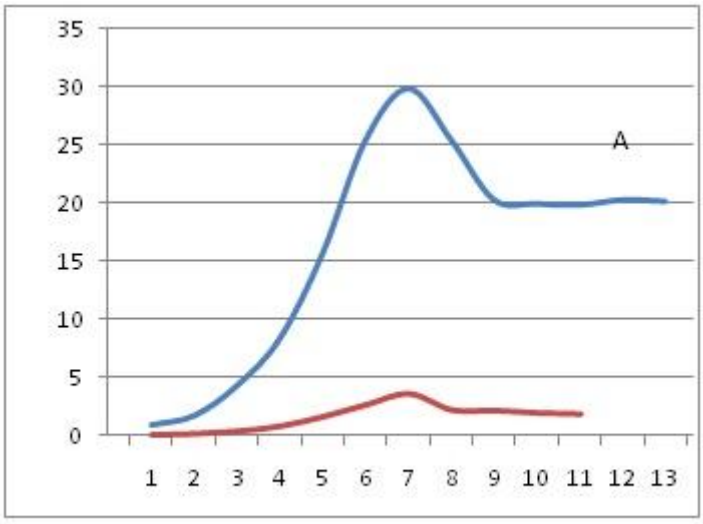
Anahtar Kelimeler: Vibrio cholerae, Surface proteins (omp), Polyclonal antibody, Cholera, Immunomagnetic separation

figure 1



Functionalization of iron oxide nanoparticles

figure 2



Protein assay by Bradford method showing attached IgG to nano-particles

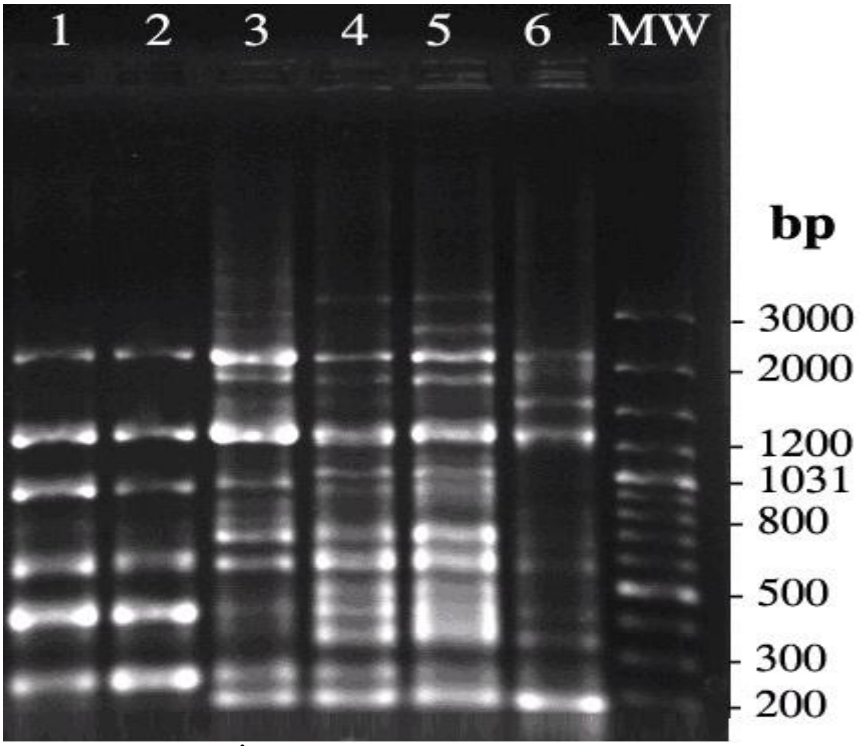
P280 - THE STUDY OF GENETİC RELATİONSHİP AMONG THİRD GENERATİON CEPHALOSPORİNS-RESİSTANT SALMONELLA SPP. İSOLATED İN TEHRAN, IRAN

Reza Ranjbar[1], Soheila Yousefi[2], Morteza Izadi[3], Nematollah Jonaidi[3]
[1]*Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Department of Biochemistry, Payam Noor University, Tehran, Iran*
[3]*Health Research Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Background
Salmonella is an important food-borne pathogen responsible for disease in humans and animals. The aim of this study was to investigate the genetic relationship among third generation cephalosporins-resistant Salmonella enterica strains by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC)-PCR.
Methods
The study included all Salmonella isolates obtained from clinical cases in a pediatric hospital in Tehran, Iran during 2006 to 2009. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute. The genetic relationship between third generation cephalosporins-resistant Salmonella enterica strains was determined using ERIC-PCR.
Results
Of 136 Salmonella enterica isolates recovered from pediatric patients, six isolates including four Salmonella enterica serotype Infantis and two Salmonella enterica serotype Enteritidis showed an extended-spectrum cephalosporins resistant phenotype. ERIC-PCR differentiated Salmonella enterica serotypes Infantis and Enteritidis into 2 distinct clusters arbitrarily named as E1 and E2. Profile E1 was found in two Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates, and profile E2 was found in four Salmonella enterica serotype Infantis isolates.
Conclusion
Extended-spectrum cephalosporins resistant Salmonella could be attributed to a few predominant serotypes including Enteritidis and Infantis in this study. Genetic analysis using ERIC-PCR showed that closely related clones are responsible for the occurrence of extended-spectrum cephalosporins resistant Salmonella infection in Tehran.

Anahtar Kelimeler: Antimicrobial resistance, Salmonella spp, third generation cephalosporins, ERIC-PCR

FİGUR1



ELECTROPHORESİS OF ERIC-PCR PRODUCTS ON 1% AGAROSE GEL STAİNED WİTH ETHİDİUM BROMİDE. LANES 1 AND 2 ARE AMPLİFİCATİON PRODUCTS FROM DNA OF SALMONELLA ENTERİCA SEROTYPE ENTERİTİDİS, LANE 3, 4, 5, AND 6 ARE AMPLİFİCATİON PRODUCTS FROM DNA OF SALMONELLA ENTERİCA SEROTYPE INFANTİS. LANE MW İS 100 BP MOLECULAR SİZE MARKER.

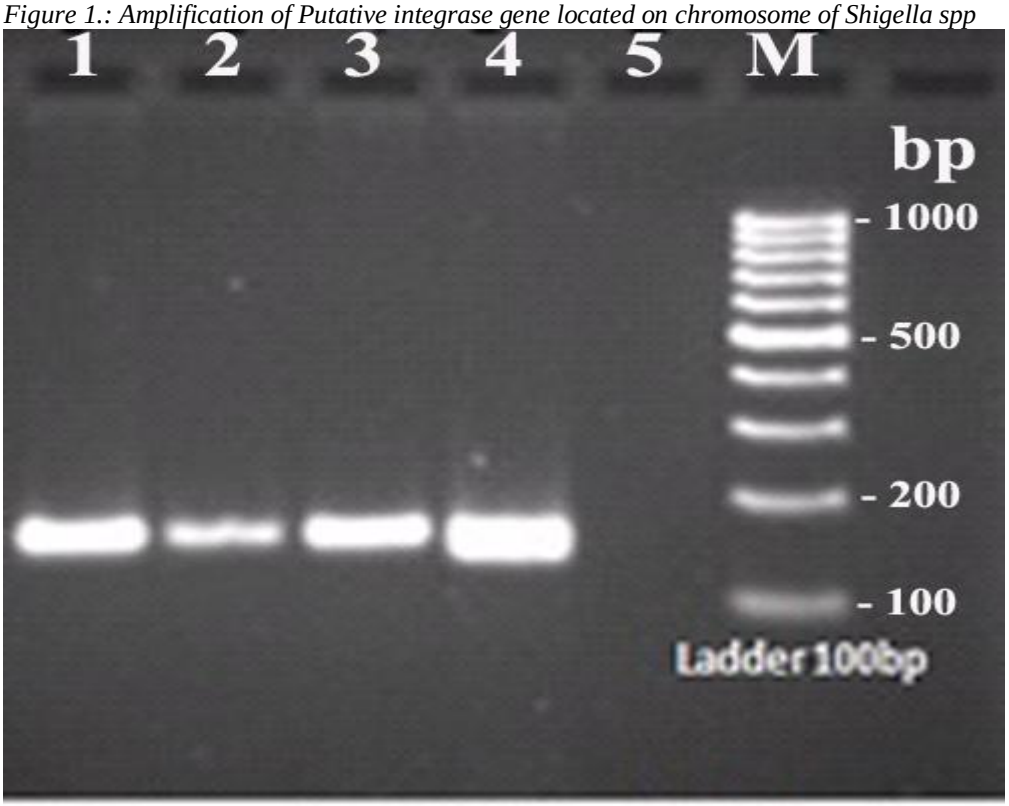
P281- MOLECULAR DETECTİON OF SHİGELLA BY PCR

Reza Ranjbar, Davood Afshar, Ali Mehrabi Tavana, Ali Najafi, Nematollah Jonaidi, Morteza Izadi
Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background and Objectives
Shigella spp are the most important intestinal pathogens in human. This species cause bloody diarrhea as called dysentery. The infectious dose of bacteria to cause the disease is very low, hence, rapid detection of bacterium especially in children, is of great concern. The aim of study was molecular detection of Shigella spp by PCR.
Material-Methods
In this study, a pair of primers was designed to replicate a chromosomal sequence (Putative integrase). For evaluation of method, we studied 30 Shigella spp that had been isolated from stool samples of clinical cases, confirmed serologically, and biochemically. Boiling method was used for DNA extraction. PCR was performed by different thermal gradient. Amplified product was electrophoresed, stained by ethidium bromide and visualized by gel documentation. For evaluation of specificity of method, some related bacterial strains were used.
Results
The result of PCR showed expected amplified DNA band in all four Shigella species. In the evaluation of optimum thermal gradient for polymerase chain reaction, best temperature was 62°C. Any non-specific reaction with other bacterial strains such as Escherichia and Salmonella was not seen and designed method was able to detect all 30 Shigella species.
Conclusion
The results showed that genes located on chromosomal conservative regions are appropriate targets for rapid detection of Shigella spp. Designed method with new primers is sensitive, easy, rapid, reliable and is recommended for detection of Shigella spp.

Anahtar Kelimeler: *Shigellosis, PCR, Shigella spp, rapid detection*

Figure 1.: Amplification of Putative integrase gene located on chromosome of Shigella spp



Lanes 1-4 are respectively Shigella dysenteriae, S. flexneri, S. boydii and S. Sonnei; lane 5 is Salmonella typhi, Lane M is ladder

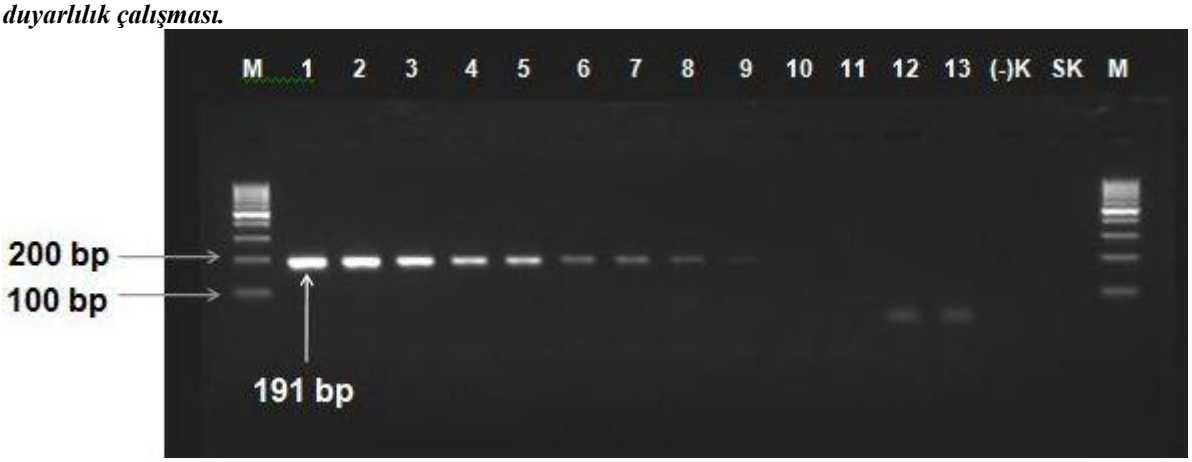
P282- BOĞMACA TANISINDA İN-HOUSE POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ VE OPTİMİZASYONU

Dilek Güldemir[1], Efsun Akbaş[1], Selin Nar Ötgün[1], **Alicem Tekin[2]**, Berrin Esen[1]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır*

Amaç
Boğmaca, her yaştan duyarlı bireyi, özellikle de çocukları etkileyen, akut, bulaşıcı bir solunum sistemi enfeksiyonu olup ağır bir klinik tablo ile karakterizedir. Tanıda kullanılan geleneksel kültür yönteminin özgüllüğü yüksek olmasına rağmen, duyarlılığı düşüktür. Bu nedenle boğmaca tanısında duyarlı, özgül ve hızlı bir tanı yöntemine ihtiyaç vardır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), boğmaca tanısında son yıllarda kullanılmaya başlanan yeni bir yaklaşımdır ve geleneksel kültür yöntemine göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. ptxA-Pr, IS481 ve IS1001, adenilat siklaz genleri ve yapısal genlerden porin ile flagellin genleri PZR için seçilen hedef gen bölgeleridir. Bu araştırmada, ptxA-Pr ve IS481 gen bölgelerine özgül primerlerin kullanıldığı bir in-house PZR tanı yönteminin geliştirilmesi ve optimizasyonu amaçlandı.
Gereç-Yöntem
ptxA-Pr genine özgül PTp1/PTp2 primerleri ve IS481 genine özgül PIp1/PIp2 primerleri ve çeşitli standart bakteri suşlarının DNA'ları kullanılarak bir in-house PZR yöntemi geliştirildi. Kırk beş sağlıklı bireyden alınan boğaz sürüntüsü örnekleri ve azalan konsantrasyonlarda B.pertussis standart bakteri suşu karıştırılmak suretiyle oluşturulan "temsili nitelikteki klinik örnekler" ile PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü test ve optimize edildi.
Bulgular
PTp1/PTp2 primerlerinin kullanıldığı in-house PZR yönteminin özgüllüğünün yüksek (herhangi bir çapraz reaksiyon görülmedi), duyarlılığının ise düşük (34.4 bakteri konsantrasyonu/reaksiyon karışımı ([bak]/reak.) olduğu görüldü. PIp1/PIp2 primerlerinin kullanıldığı in-house PZR yönteminin ise B.pertussis ve genetik olarak yakın akraba olan B.bronchiseptica arasında çapraz reaksiyon vermesi nedeniyle özgüllüğünün düşük olmasına rağmen yüksek duyarlılık (1.12 [bak]/reak.) gösterdiği tespit edildi. "Temsili nitelikteki klinik örnekler" ile yaptığımız in-house PZR çalışmalarından da benzer sonuçlar elde edildi.
Sonuç
Elde ettiğimiz sonuçlara göre, IS481 genini hedef alan PZR yönteminin duyarlılığı yüksek iken, ptxA-Pr genini hedef alan PZR yönteminin ise özgüllüğü daha yüksektir. Bu nedenle boğmacanın moleküler tanısı için; IS481 genini hedef alan PZR yönteminin ön tanı amaçlı kullanılması, ptxA-Pr gen bölgesini hedef alan PZR yönteminin ise doğrulama amaçlı kullanılması daha uygun ve yararlı olacaktır kanaatindeyiz.

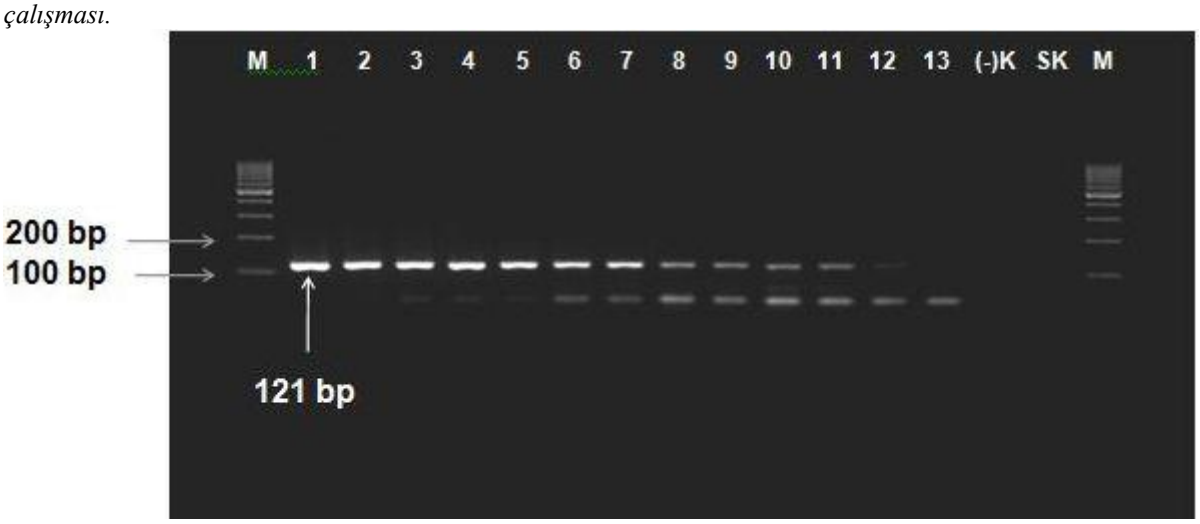
Anahtar Kelimeler: Bordetella pertussis, boğmaca, moleküler tanı, in-house, PZR

Şekil 1. PTp1/PTp2 primerleri ile B.pertussis Tohama phase I suşu kullanılan in-house PZR yönteminin duyarlılık çalışması.



M: DNA Ladder (100 bp), 1-13: B.pertussis Tohama phase I'nın sırasıyla 1-10-6 dilüsyonları, (-)K: reaksiyon karışım kontrol, SK: su kontrol, M: DNA Ladder (100 bp).

Şekil 2. PIp1/PIp2 primerleri ile B.pertussis Tohama phase I suşu kullanılan in-house PZR yönteminin duyarlılık çalışması.



M: DNA Ladder (100 bp), 1-13: B.pertussis Tohama phase I'nın sırasıyla 1-10-6 dilüsyonları, (-)K: reaksiyon karışım kontrol, SK: su kontrol, M: DNA Ladder (100 bp).

Tablo 1. Temsili nitelikteki klinik örneklerde PTp1/PTp2 ve PIp1/PIp2 primerleri kullanılarak uygulanan in-house PZR yöntemi ve kültür ile saptanabilen B.pertussis Tohama phase I'nın konsantrasyonları ve duyarlılık sonuçları.

Örnek no	Dilüsyon oranı	*Bp* Tohama phase I [bak]/ml	Ekstraksiyon öncesinde ve BGA'ya ekilen *Bp* Tohama phase I [bak]/ml	PZR DEĞERLENDİRMESİ: Ekstraksiyon sonrasında (kalıp DNA olarak kullanılan) *Bp* Tohama phase I [bak]/ml	PTp1/PTp2 ile pozitif saptama oranları: +++[a]	++[b]	+[c]	TOPLAM	Plp1/Plp2 ile pozitif saptama oranları: +++[a]	++[b]	+[c]	TOPLAM	KÜLTÜR DEĞERLENDİRMESİ: BG agar besiyerinde *B.pertussis* saptama oranı ve yüzdesi
1-5	10^{-3}	$5.5x10^{6}$	$6.1x10^{5}$	$9.3x10^{5}$	5/5 (%100)	0	0	5/5 (%100)	5/5 (%100)	0	0	5/5 (%100)	2/5 (%40)
6-10	$0.33x10^{-3}$	$1.8x10^{6}$	$2x10^{5}$	$3.1x10^{5}$	2/5 (%40)	1/5 (%20)	2/5 (%40)	5/5 (%100)	3/5 (%60)	2/5 (%40)	0	5/5 (%100)	3/5 (%60)
11-15	10^{-4}	$5.5x10^{5}$	$6.1x10^{4}$	$9.3x10^{4}$	0	0	0	0	2/5 (%40)	2/5 (%40)	1/5 (%20)	5/5 (%100)	1/5 (%20)
16-20	$0.33x10^{-4}$	$1.8x10^{5}$	$2x10^{4}$	$3.1x10^{4}$	0	0	0	0	5/5 (%100)	0	0	5/5 (%100)	3/5(%60)
21-25	10^{-5}	$5.5x10^{4}$	$6.1x10^{3}$	$9.3x10^{3}$	0	0	0	0	0	2/5 (%40)	3/5 (%60)	5/5 (%100)	0
26-30	$0.33x10^{-5}$	$1.8x10^{4}$	$2x10^{3}$	$3.1x10^{3}$	0	0	0	0	0	0	2/5 (%40)	2/5 (%40)	1/5(%20)
31-35	10^{-6}	$5.5x10^{3}$	$6.1x10^{2}$	$9.3x10^{2}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36-40	$0.33x10^{-6}$	$1.8x10^{3}$	$2x10^{2}$	$3.1x10^{2}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41-45	10^{-7}	$5.5x10^{2}$	61	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a: Pozitif bant (Şekil 1'de görülen 1-5 arası bantlarda olduğu gibi) saptama oranı ve yüzdesi. b: Zayıf bant pozitifliği (Şekil 1'de görülen 6-8 arası bantlarda olduğu gibi) saptama oranı ve yüzdesi. c: Çok zayıf bant pozitifliği (Şekil 1'de görülen 9. bantda olduğu gibi) saptama oranı ve yüzdesi.

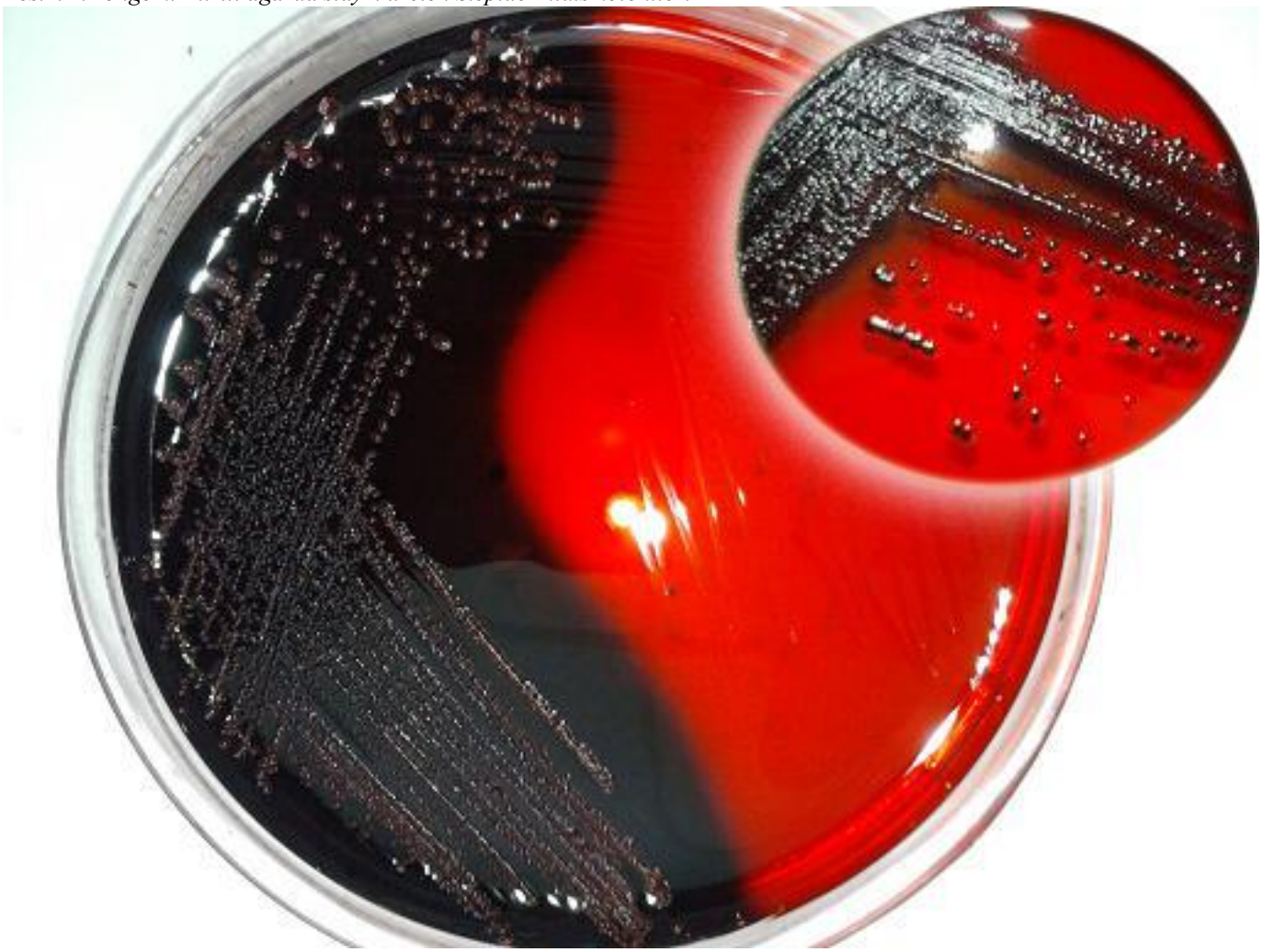
P283- HİDROJEL VE SİLİKON HİDROJEL KONTAKT LENS KULLANIMI İLE KONJONKTİVA FLORASINDA VE LENSLERDE ÜRETİLEN STAPHYLOCOCCUS EPİDERMİDİS KÖKENLERİNDE, BİYOFİLM OLUŞUMUNDAN SORUMLU İCA A VE İCA D GENLERİNİN PZR İLE BELİRLENMESİ

Zeynep Güngördü[1], Güzin İskeleli[2], Müzeyyen Mamal Torun[1], Mert Kuşkucu[1], Sevgi Ergin[1], Kenan Midilli[1], Arif Kaygusuz[1], Penbe Çağatay[3], **Hrisi Bahar[1]**
[1]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ,İstanbul*
[2]*İstanbul Üniversitesi,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Oftalmoloji ABD ,İstanbul*
[3]*İstanbul Üniversitesi,İstanbul Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilimleri ABD ,İstanbul*

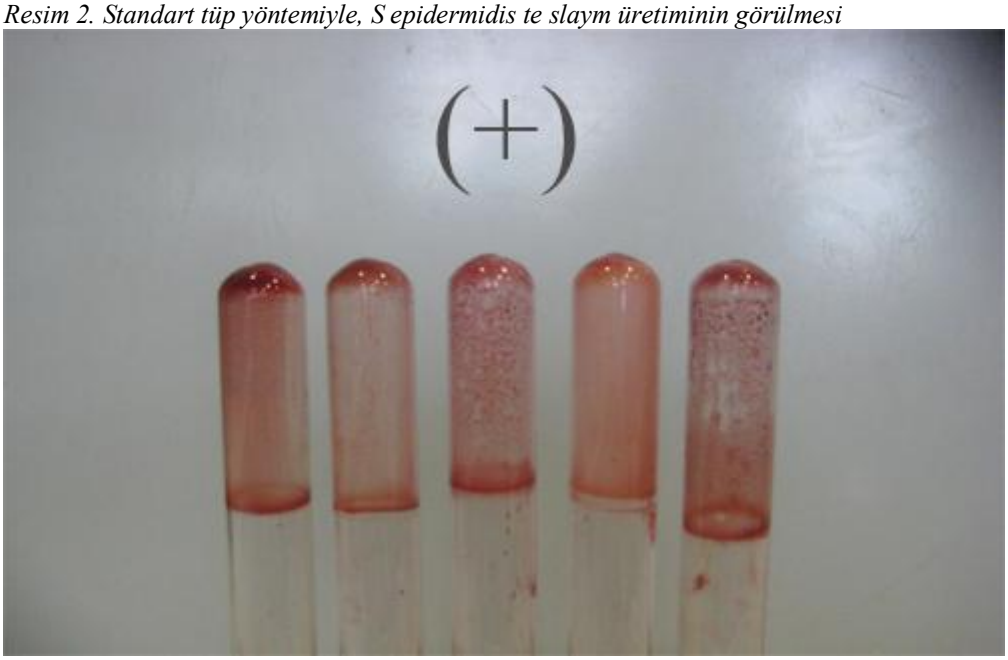
Amaç
Slime üretimiyle bakteriler kontakt lense yapışarak biyofilm oluşumuna neden olup enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadırlar. Bu çalışmada lens kullanımı sonucu konjonktiva florasında ve lenslerde slime üreten S.epidermidis'lerin ica A ve ica D genleri varlığına göre belirlenmesi ve lens kullanımına bağlı olarak üreme yoğunluklarındaki artışın yarı kantitatif olarak saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Temmuz 2010-Şubat 2011- tarihleri tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Kontakt Lens Birimi'ne lens almak üzere başvuran 100 hastadan, hidrojel ve silikon hidrojel kontakt lens kullanmadan önce ve lens kullandıktan sonra alınan konjonktiva sürüntüleri ve atılmak üzere çıkarılmış kontakt lensleri slime üreten S.epidermidis lerin belirlenmesi için mikrobiyolojik kültüre alındı.Üretilen 154 S.epidermidis kökeninin kongo kırmızılı agarda siyah, pürüzlü, kuru koloni oluşturma,standar tüp yöntemiyle tüpte kırmızı halka oluşturma özellikleri araştırıldı. Ayrıca ica A ve ica D genlerini taşıma özellikleri PZR(Polimerize Zincir Reaksiyonu) ile (High Pure PCR Template Preparation Kit,Roche Diagnostics GmbH, Manheim, Germany) belirlendi.
Bulgular
Konjonktiva florasında üretilen 154 S.epidermidis kökeninin 84'ünde (%54,5) kongo kırmızılı agar ile slime üretimi pozitif bulunurken, standart tüp yöntemi ile kökenlerin 68'i (%44,1) ve PZR ile ica A ve ica D genlerinin varlığına göre 90'ı (%58,5) pozitif bulunmuştur. Hidrojel ve silikon hidrojel kontakt lens kullanım sonrası,konjonktiva florasında tespit edilen icaA(+) icaD(+) S.epidermidis kökeni sayısının ve bu kökenlerin 4 + yoğunluktaki üreme oranlarının, lens kullanım öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).Ayrıca, hidrojel kontakt lenslerde üreyen 20S.epidermidis kökeninin %70'inin, silikon hidrojel kontakt lenslerde ise 18 kökenin %88,9'unun icaA ve icaD genlerini taşıdığı görülmüştür.
Sonuç
Potansiyel patojenik slime üreten S.epidermidis kökenlerinin, bir çok enfeksiyonda olduğu gibi, kontakt lens kullanımına bağlı olarak da, konjonktivada artabileceği ve oküler enfeksiyonlara neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.Biyofilm mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesine ve bu oluşumun önlenmesine yönelik protokollerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, hidrojel ve silikon hidrojel kontakt lens, icaA ve icaD, Konjonktiva Florası, S.epidermidis

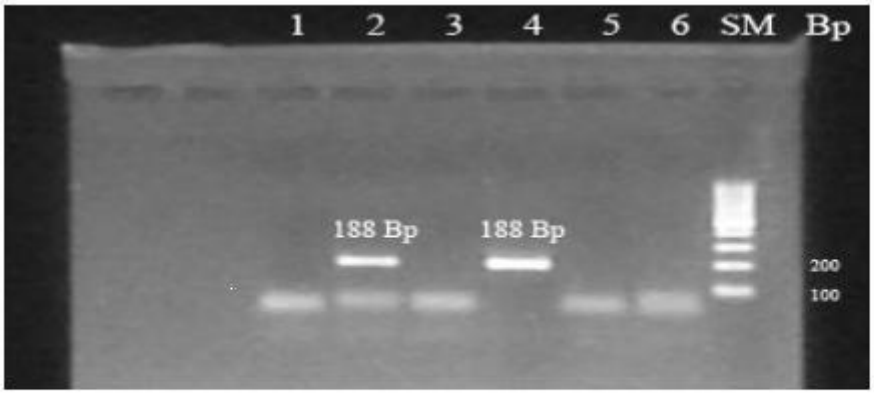
Resim 1.Kongo kırmızılı agarda slaym üreten S.epidermidis kolonileri



Resim 2. Standart tüp yöntemiyle, S epidermidis te slaym üretiminin görülmesi

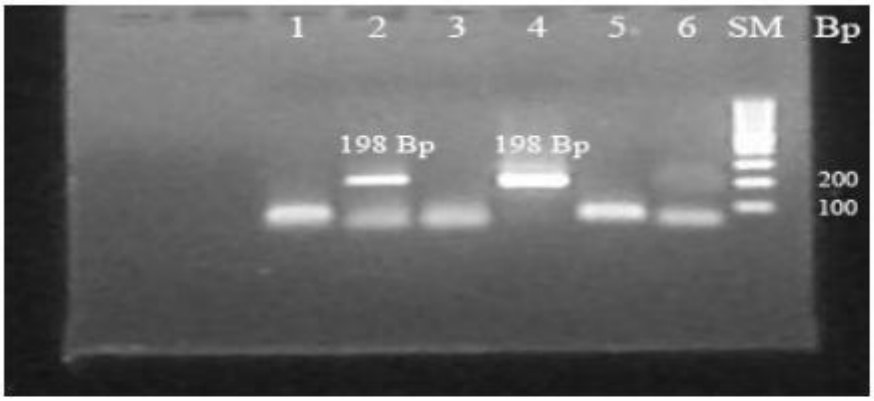


Resim 3.S.epidermidis te PCR ile belirlenen ica A genleri



(SM: Size marker, 2-4 pozitif örnekler, 1-3-5 negatif örnekler, DNA ladder: 100 kb)
icaA geni için PZR sonrası; 188-bp'de bantlar izlendi.

Resim 4.S.epidermidis'te PCR ile saptanan ica D genleri



(SM: Size marker, 2-4 pozitif örnekler, 1-3-5 negatif örnekler, DNA ladder: 100 kb)
icaD geni için PZR sonrası; 198-bp'de bantlar izlendi.

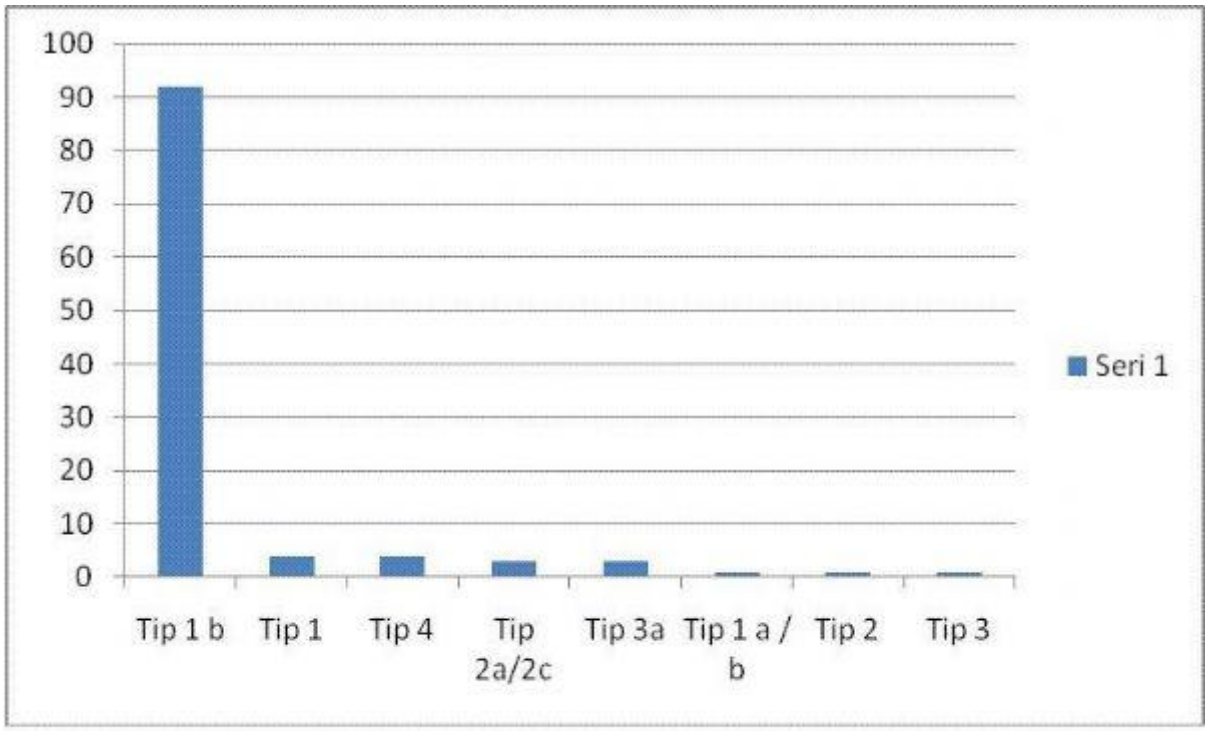
P284 - KONYA BÖLGESİNDE KRONİK HEPATİT C ETKENİ VİRÜSLERDE GENOTİP DAĞILIMI

Mehmet Özdemir, Bahadır Feyzioğlu, Mahmut Baykan, Bülent Baysal
Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD ,Konya

Amaç
Hepatit C infeksiyonu akut ve kronik hepatit tablolarıyla karşımıza çıkan, siroz ve hepatoselüler karsinom tablosuna kadar ilerleyebilen ciddi bir sağlık problemi olup kronikleşme oranı %85'dir. HCV heterojen bir virüs olup şu ana kadar 6 genotipi 50'nin üzerinde alt tipi belirlenmiştir. Bu çeşitlilik hem prognoz hem de tedavi seçenekleri açısından önemlidir. Bu çalışmada Konya bölgesindeki kronik HCV infeksiyonu etkeni virusleriinin genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında Meram Tıp Fakültesi hastanesinde Kronik Hepatit C tanısı alan 109 hastadan elde edilen serum örneklerinde, HCV-TS kitleri kullanılarak ters hibridizasyon yöntemiyle geneotiplendirme yapılmıştır.
Bulgular
109 serum örneğinin 92 (%84,4)'sinde Tip 1 b, 4 (%3,6)'ünde Tip 1 (subtip ayrımı yapılamayan), 4(%3,6)'ünde Tip 4, 3 (%2,75)'ünde Tip 2a/2c, 3 (%2,75)'ünde Tip 3a ve 1'(%0,9) er örnekte Tip 1 a/b, Tip 2 ve Tip 3 belirlenmiştir.
Sonuç
Tip1b genotipi ülkemizde olduğu gibi bölgemizde de en sık görülen genotiptir. Bunun yanında bölgemizde Tip 1b dışı genotipler de önemli oranda (%16,6) bulunmuştur. Tedavi ve prognoz açısından her bir bölgede Kronik Hepatit C infeksiyonu virüslerin genotip tayini yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: genotip, hepatit C, infeksiyon

Tablo-1



P285 - KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA ANTİVİRAL DİRENCE YOL AÇAN MUTASYONLARIN BELİRLENMESİ

Mehmet Özdemir, **Bahadır Feyzioğlu**, Mahmut Baykan, Bülent Baysal
Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Konya

Amaç
Hepatit B infeksiyonunun tedavisi için nükleotid/nükleozid analoglarının kullanılmaya başlanması, mutasyon ve ilaç direnci gibi önemli sorunları ortaya çıkarmıştır. İlaç direncine yol açan mutasyonların erken tespiti, alternatif tedavi seçeneklerine imkan tanımak ve daha etkin tedaviyi sağlamak için gereklidir. Bu çalışmada, antiviral terapi almış/alan kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda antiviral dirence yol açan mutasyonların belirlenmesi amaçlamıştır.
Gereç-Yöntem
Meram Tıp Fakültesi hastanesinde Kronik Hepatit B tedavisi alan/almış 68 hastaya ait serum örneklerinde, ters hibridizasyon prensipli INNO-LİPA HBV DR v2 yöntemiyle çalışıldı. İlk önce yapılan hedef bölge amplifikasyonunun ardından elde edilen amplikon, spesifik kodonlara denk gelen spesifik oligonükleotid kaplı membran striplerde hibridize edildi. Oluşan bantlar klavuz strip yardımıyla değerlendirildi.
Bulgular
68 hastanın 7 (%10,3)'sinde mutasyon saptandı. 6 hastada 204. kodonda YMDD (tirozin, metiyonin, aspartik asit, aspartik asit) motif değişikliği belirlenirken bunların 4'ü M204I (YIDD), 2'si ise M204V (YVDD) şeklinde idi. Bu hastalarda YMDD motif değişikliğine 3 örnekte L180M mutasyonu birer örnekte ise L80V, L80I, V173L mutasyonları eşlik etti. 1 numunede tek başına N236T mutasyonu belirlendi.
Sonuç
Değerlendirilen örneklerde; M204V (YVDD), M204I (YIDD), L180M ve L173 gibi başlıca bilinen Lamivudin ilaç direnci mutasyonları tespit edilmiştir. Tüm YVDD motiflerine L180M mutasyonu eşlik ederken sadece 1 YIDD motifinde L180M mutasyonu belirlenmiştir. Tespit edilen 1 L80V mutantı Lamivudin direnciyle ilişkilidir ve YIDD motifiyle beraberdir. Adefovir'in zayıf antiviral etkinliğine yol açtığı bilinen L80I mutantı 1 örnekte YIDD motifiyle beraber tespit edilmiştir. N236T mutasyonu Adefovir direnciyle ilişkilidir ve 1 örnekte tek başına belirlenmiştir. Antiviral tedavi yapılırken mutasyonların arttığı ve değişik antiviral direnç mutasyonlarının ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: antiviral direnç, hepatit B, mutasyon

Tablo1. Kronik Hepatit B hastalarında belirlenen mutasyonlar

SIRA	YMDD motif değişikliği	Diğer mutasyonlar
1	YIDD (M204I)	L180M
2	YIDD (M204I)	L80V
3	YIDD (M204I)	L80I
4	YIDD (M204I)	-
5	YVDD (M204V)	L180M
6	YVDD (M204V)	L180M, V173L
7	-	N236T

P286 - HELİCOBACTER PYLORİ CAGA GENİ VE VACA ALELLİK TİPLERİNİN GENOMİK İNCELENMESİ

Ceren Ozkul[1], Meltem Yalinay Cirak[2], Yakut Akyon Yilmaz[3]
[1]*Hacettepe Universitesi, Eczacilik Fakultesi, Farmasotik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Gazi Universitesi, Tip Fakultesi, Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[3]*Hacettepe Universitesi, Tip Fakultesi, Klinik Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Helicobacter pylori (H. pylori)'nin önemli virülans faktörleri cagA (sitotoksinle ilişkili gen) ve vacA (vakuolizasyon sitotoksini) geni tarafından kodlanan proteinlerdir. vacA geni vacA s (s1 ve s2), m (m1 ve m2) ve son yıllarda tanımlanan "intermediate region" [vacA i (i1 ve i2)] alt bölgesi olmak üzere 3 alellik tipi bulundurur. vacA s, m ve i bölgesindeki alellerin mozaik kombinasyonları, sitotoksin aktivitesi ve patojenite ile ilişkilidir ve spesifik coğrafi farklılık göstermektedir. Genlerin birlikteliği bakımından vacA s1m1 genotipindeki suşlar daha fazla hücre hasarına yola açan toksijenik suşlar olarak bilinmektedir.
Bu çalışmanın amacı, H. pylori izolatlarının patojenitesini belirlemede önemli olan bu gen bölgelerinin saptanması ve birbirleriyle ilişkilerinin genomik olarak incelenmesidir.
Yöntem
Dispeptik hastalardan izole edilen 20 H. pylori suşu çalışmaya dahil edildi. DNA'ları setiltrimetil-amonyum bromid (CTAB) yöntemiyle ekstrakte edildi. cagA gen varlığı ve vacA geni alt bölgeleri (s, m ve i) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile değerlendirildi. i1 bölgesinin saptanmasında kontrol olarak toksijenik olan Hp 60190 suşu, i2 için ise kontrol olarak toksijenik olmayan Tx30a suşu kullanıldı.
Bulgular
Toplam 20 H. pylori izolatında cagA, s1, s2, m1, m2, i1 ve i2 pozitifliği oranları sırasıyla %70, %95, %5, %45, %55, %65 ve %15 olarak bulundu. Toplam 1 suşta i1 ve i2 bölgelerinin her ikisi de pozitif bulundu, 5 suşta ise her iki bölgede saptanamadı.
i1 bölgesini bulunduran 13 suştan 10'u cagA pozitif (%76,9), tümü vacA s1 genotipi (%100,0), 8'i ise vacA m1 (%61,5) genotipi olarak saptandı.
Sonuç
Bu çalışmada, H. pylori daha toksijenik suşlarıyla ilişkilendirilmiş olan cagA geni pozitifliği ve vacA s1/m1/i1 genotipi daha fazla oranda bulunmuştur. Ayrıca i1 pozitif olan tüm suşların daha toksijenik suşlarda olduğu bilinen vacA s1 alt tipini bulundurduğu saptanmıştır. Özellikle vacA gen bölgesindeki polimorfizm ve vacA alellik tipleri coğrafi farklılık gösterdiğinden ve bakterinin patojenitesi ile ilişkili olduğundan dolayı bu çalışma virülans geni alt tiplerini ve birbiriyle ilişkilerini belirlemek açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Helicobacter pylori, cagA. vacA s, vacA m, vacA i

Tablo 1. H. pylori ureA, cagA, vacA allelik tiplerinin belirlenmesinde kullanılan primer dizileri

Gen Bölgesi	Primer Adı	Primer Dizisi	PZR ürünü (bç)
ureA	HPU-1 HPU-2	5'-GCCAATGGTAAATTAGTT-3 5'-GCCAATGGTAAATTAGTT-3'	411
m1	VA3-F VA3_R	5'-GGTCAAAATGCGGTCATGG-3' 5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'	290
m2	VA4-F VA4-R	5'-GGAGCCCCAGGAAACATTG-3' 5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3'	352
s1	SS1-F VA1-R	5'-GTCAGCATCACACCGCAAC-3' 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	190
s2	SS2-F VA1-R	5'-GCTAACACGCCAAATGATCC-3' 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	199
i1	VacF1 C1R	5'-GTTGGGATTGGGGGAATGCCG-3' 5'-TTAATTTAACGCTGTTTGAAG-3'	426
i2	VacF1 C2R	5'-GTTGGGATTGGGGGAATGCCG-3' 5'-GATCAACGCTCTGATTTGA-3'	432
cagA	F1 B1	5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG-3' 5'-CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA-3'	348

Tablo2. Helicobacter pylori cagA geni ve vacA allelik tiplerinin dağılımı

	i1	i2	i1 ve i2	i bögesi tespit edilemeyen	Toplam
vacA s1/m1	8	0	1	1	10
vacA s1/m2	4	0	0	2	6
vacA s2/m2	0	2	0	2	4
TOPLAM	12	2	1	5	20
cagA (+)	9	1	1	3	14
cagA (-)	3	1	0	2	6
TOPLAM	12	2	1	5	20

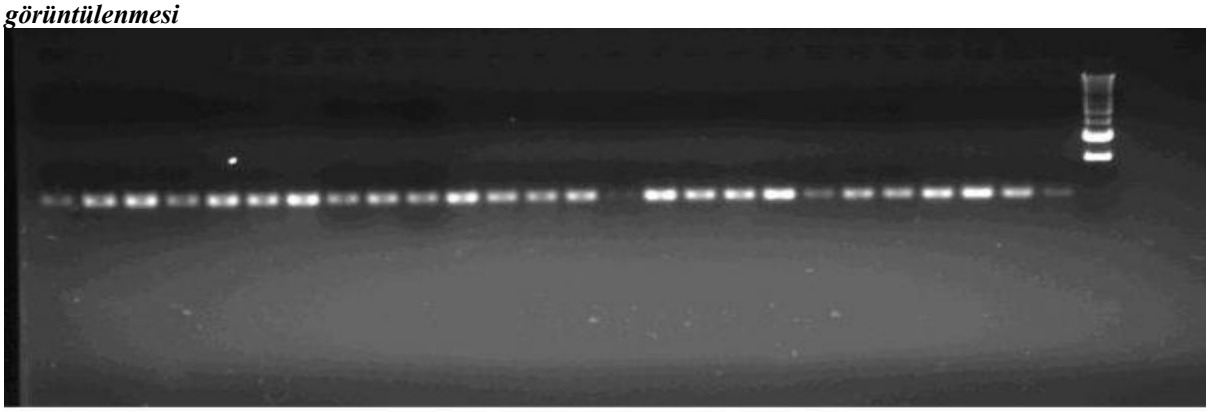
P287 - ÇOK İLACA DIRENÇLİ TÜBERKÜLOZDA RFLP VE SPOLİGOTYPİNG YÖNTEMLERİYLE GENOTİP ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESI

Tekin Karslıgil, Ayşen Bayram, Fahriye Ekşi
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Gaziantep

Amaç
Tüberküloz infeksiyonunun laboratuvar tanısında, mikroskopik boyama yöntemleri ve bakterinin kültürü gibi klasik yöntemlerin yanında, moleküler yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Klinik örneklerde bulunan veya kültürde üretilen mikobakterilerin türlerinin saptanması veya tiplendirilmesi, günümüzde moleküler yöntemlerle daha hızlı ve güvenilir hale gelmiştir. Bu çalışma ile moleküler epidemiyolojik yöntemler kullanılarak bölgemizdeki mikobakteri türlerinin dağılımının ve epidemiyolojik özelliklerinin tespiti amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilmiş ve ARB ve kültürü pozitif bulunan 55 örneğin PCR-RFLP analizi ile tür tayini ve spoligotyping yöntemiyle moleküler tipleri araştırılmıştır. Örneklerden elde edilen Mycobacterium DNA'sının M. tuberculosis complex'e spesifik IS6110 bölgesi ve tüm mikobakterilere spesifik 65-kDa ısı şok proteinini (Hsp65) kodlayan gen çoğaltılmış, Hsp65 bölgesi Hae III ve BstE II (Eco91I) enzimleri ile kesilerek RFLP profilleri elde edilmiştir. Kontrol amacıyla Mycobacterium tuberculosis H37Rv suşu kullanılmıştır. Spoligotyping yönteminde ise üretici firmanın önerileri doğrultusunda (Isogen Biosolutions Spoligotyping kit, Ocimum Biosolutions Company, The Netherlands) ticari kitle çalışılmıştır.
Bulgular
Hastanemiz çeşitli kliniklerinden gönderilen 55 örneğin PCR-RFLP analizinde örneklerin tümü H37 Rv suşu ile aynı kesim profilini göstermiştir. NAP testi ile MOTT olduğu saptanan yedi suşun da RFLP profilleri M. tuberculosis complex ile uyumlu saptanmıştır. Spoligotipleme ile 55 M. tuberculosis izolatında 13 farklı genetik profil elde edilmiştir. Beş izolat tek patern oluştururken kalan 50 izolat (%90.9), her birinde 2-23 izolatın bulunduğu sekiz küme oluşturmuştur. Çoğul ilaç direnciyle ilişkili olduğu belirlenen Beijing genotipine rastlanmamıştır. İzolatlardan birinin (%1.8), SpolDB4 veri bankasındaki suşlarla karşılaştırma sonucunda bilinen hiçbir kümeye uymayan orphan suş olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya alınan suşlar arasında en yaygın olan ailenin 32 izolat (% 64) ile T1 ailesi olduğu bunu 9 izolat (% 18) ile LAM7 TUR ailesinin izlediği görülmüştür.
Sonuç
Tür tayininde PCR-RFLP analizi, spesifik, hızlı ve etkili bir yöntem olup, mikobakterilerin rutin tanımlanmasında uygun bir yöntemdir. Mikobakteriyel izolatların morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine dayalı geleneksel belirleme yöntemlerinden daha doğru olarak tanımlama potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Spoligotyping yöntemi ise mikobakterilerin genotip çeşitliliğinin belirlenmesinde, tiplendirilmesinde ve epidemiyolojik çalışmalarda ideal bir yöntemdir.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, RFLP, Spoligotyping

Örneklerin Mycobacterium tuberculosis complex'e spesifik IS 6110 DNA bölgesi bantlarının agaroz jelde görüntülenmesi

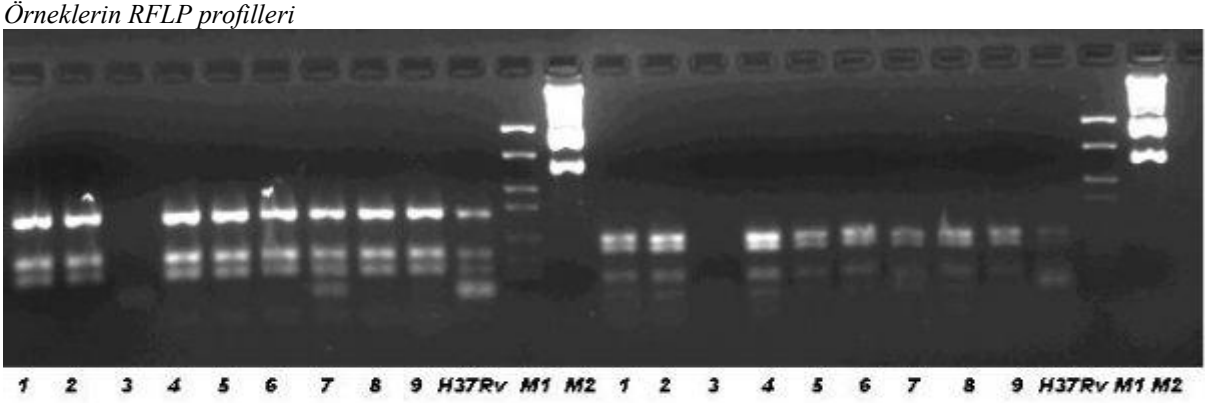


Suşların spoligotyping özellikleri

No	Spoligotyping (Oktal Kodlama)	Suş Sayısı (n:55)	%	Familya	Sıklıkla Bulunan Ülkeler*	Sıklığı**
1	777777777760771	22	40	T1	USA(NY), USA(AL), AUS (HRV, IND, IDN, ITA, KOR, MYS, SYR, GBR), SEN, CIV, CAF, MDG, REU, GNB, ZAF, NAM, EGY, ARG, VEN, BRA, SUR, VNM, PAK, CHN, IND, MYS, ZWE, CMR	Yaygın
2	777777737760771	5	9	T1	NLD, FXX, ITA(SIC), ESP, GUF, MDG, VEN	Seyrek
3	777777777560771	2	3.6	T1	USA, FXX, CMR	Seyrek
4	777777677760771	1	1.8	T1	RUS, NLD, AUS, ARG, BRA, VEN, NAM, ZWE	Seyrek
5	377777777760771	1	1.8	T1	PER, TUR, USA	Seyrek
6	777777777777771	1	1.8	T1	AUT, BEL, FXX, GLP, IDN, JPN, MYS, THA, USA, VNM, ZAF	Seyrek
7	777777404760771	9	16.3	LAM7 TUR	NOR, NZL, POL, ROM, SAU, SWE, TUR, USA	Sıklıkla
8	777777777773771	6	10.9	MANU 1	FXX, GBR, IND, MYS, THA, USA, VNM	Seyrek
9	777777777763771	2	3.6	MANU 2	FXX, GBR, NLD, IRN, SEN, AUS(ERI), USA(NY), GNB	Seyrek
10	777777774020771	2	3.6	H1	RUS, SAU, SEN, SWE, TUR, USA, VEN, ZWE	Sıklıkla
11	777777777773771	2	3.6	H3	FXX, GBR, IND, MYS,THA, USA, VNM	Seyrek
12	777777607760771	1	1.8	LAM9	IDN, IND, TUN, CAF, GNB, ZAF, SEN, VEN, ARG, BRA, USA(NY), ZWE, CMR	Sıklıkla
13	617777774020760	1	1.8	Orphan		

****: Veriler SpolDB4 veri bankasından alınmıştır. Ülke isimleri orijinaline sadık kalınarak İngilizce yazılmıştır. **: Veriler SpolDB3 veri bankasından elde edilmiştir.***

Örneklerin RFLP profilleri



P288- METİSİLİNE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS İZOLATLARINDA MECA DIŞI DİĞER MEKANİZMALARIN ARAŞTIRILMASI

Silva Polat, Burak Aksu, Güner Söyletir
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Amaç
Metisiline dirençli S.aureus (MRSA) kökenleri duyarlı suşlarda bulunmayan ve mecA geninin kodladığı farklı bir PBP (PBP2a) üretimi sayesinde tüm beta laktamlara direnç gösterirler. Ancak son yıllarda saptanan mecA geni negatif metisiline dirençli kökenlerin ya mevcut PBP' lerinin beta laktam antibiyotiklere karşı düşük afinite gösterdikleri ya da aşırı beta laktamaz ürettikleri belirlenmiştir. Bu tür kökenlerin antibiyotik duyarlılık testlerinde, ortaya çıkabilecek yalancı dirençli sonuçlar, beta laktam grubu antibiyotikler yerine glikopeptidlerin aşırı kullanımına ve gereksiz izolasyon tedbirleri nedeniyle tedavi maliyetinde artışa neden olmaktadır.
Bu çalışmada, hastanemizden izole edilen metisiline dirençli S.aureus kökenlerinde metisilin direncine neden olabilecek, mecA geni dışındaki mekanizmaların araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Marmara Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında 2006-2011 yılları arasında izole edilen ve CLSI' nin önerileri doğrultusunda MRSA olarak tanımlanan 138 köken çalışmaya alınmıştır. Bu kökenlerin metisilin direnci, sefoksitin ve oksasilin disk difüzyon testleri ve oksasilin agar dilüsyon yöntemleriyle, mecA geni varlığı ise polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmiştir. Direnç geni negatif saptanan fakat fenotipik sonuçlarda tutarsızlık gösteren kökenlerde aşırı beta laktamaz üretimi varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla kökenlerin tam hücre süspansiyonları metisilin içeren ve içermeyen ortamda nitrosefin ile inkübe edilerek oluşan renk değişikliği spektrofotometre ile kantitatif olarak saptanmıştır.
Bulgular
Kökenlerin %98,6' sının (n:136), oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleriyle metisiline dirençli, PZR ile de mecA pozitif oldukları belirlenmiş; iki kökenin (%1.4) ise mecA negatif, sefoksitine duyarlı, agar dilüsyon ile oksasiline duyarlı fakat disk difüzyon ile oksasiline orta duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu kökenlerin, ATCC 29213 (pozitif kontrol) kökenine kıyasla yaklaşık iki kat daha fazla beta laktamaz ürettiği saptanmıştır (Tablo).
Çalışmamızda fenotipik olarak metisiline dirençli ama aşırı beta laktamaz üretimi olmayan ve mecA geni negatif olan hiçbir köken saptanmamıştır.
Sonuç
Rutinde MRSA olarak bildirilen kökenlerin %98.6' sı, doğru olarak tanımlanmış iken %1.4' ü aşırı beta laktamaz üretimi nedeniyle MRSA fenotipi sergilemiştir. Sefoksitin diski yöntemi ile oldukça geniş duyarlılık zonu vermesine rağmen oksasilin diski ile orta duyarlı bulunan iki kökenin 2006 yılına ait olduğu ve o dönemde bu kökenlerin oksasilin agar tarama yöntemiyle MRSA olarak tanımlandığı belirlenmiştir.
Sonuç olarak bu iki köken için ne sefoksitin ne de oksasilin tarama yöntemleri tek başına direnç mekanizmasını saptayamamıştır. Bu tür izolatların saptanma sıklığı çok düşük (%1.4) olmakla birlikte, gereksiz glikopeptid kullanımını önlemek amacıyla bu kökenlerin varlığı göz ardı edilmemelidir. Rutin laboratuvarlar için önerimiz; sefoksitin ve oksasilin disk testlerinin birlikte yapılması, olası çelişik sonuçlarda, mecAgeni araştırılarak sonucun doğrulanmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Staphylococcus aureus, mecA, metisilin direnci

Tablo 1.Metisilin direnç genine özgü primer dizileri

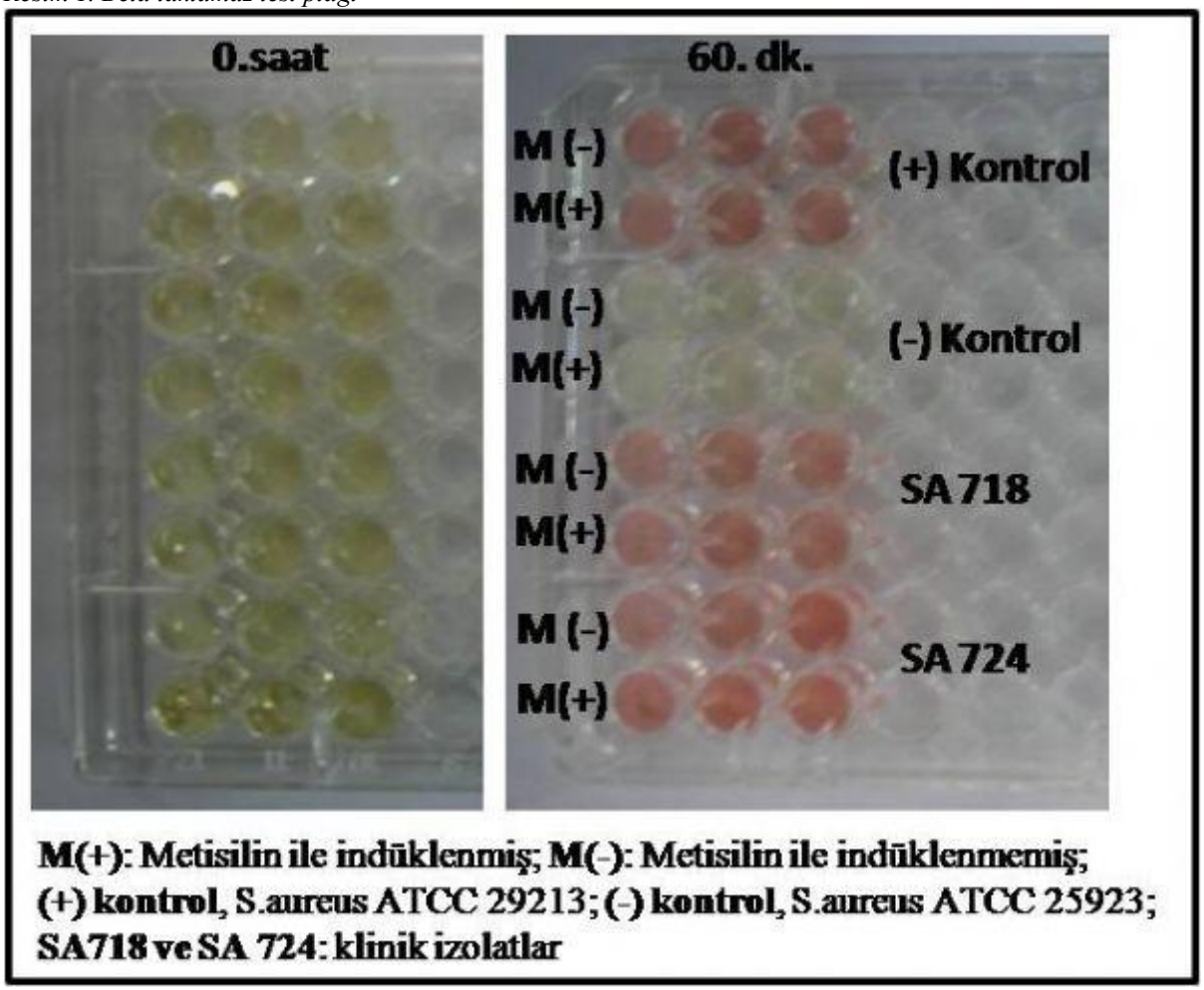
Gen	Primer dizisi
mecA-F	5' GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A-3'
mecA-R	5' CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A-3'

Tablo 2. mecA geni negatif iki MRSA kökenine ait beta laktamaz testi sonuçları

Zaman (dakika)	Köken							
	SA-718*		SA-724**		Pozitif kontrol (ATCC 29213)		Negatif kontrol (ATCC 25923)	
	Met(-)	Met(+)	Met(-)	Met(+)	Met(-)	Met(+)	Met(-)	Met(+)
0	0.040	0.070	0.043	0.083	0.038	0.051	0.031	0.034
5	0.045	0.205	0.052	0.269	0.038	0.084	0.028	0.034
15	0.054	0.331	0.063	0.428	0.049	0.111	0.034	0.035
30	0.070	0.476	0.084	0.505	0.057	0.163	0.036	0.036
60	0.109	**0.496**	0.138	**0.505**	0.076	**0.275**	0.036	**0.038**

Kısaltmalar: Met(-): metisilin ile indüklenmemiş, Met(+): metisilin ile indüklenmiş
*SA-718 kökeni-Sefoksitin disk:25mm, oksasilin disk:12mm, oksasilin mininum inhibitör konsantrasyonu: 1ug/ml
**SA-724 kökeni-Sefoksitin disk :28mm, oksasilin disk :12mm, oksasilin MİK :1ug/ml

Resim 1. Beta laktamaz test plağı



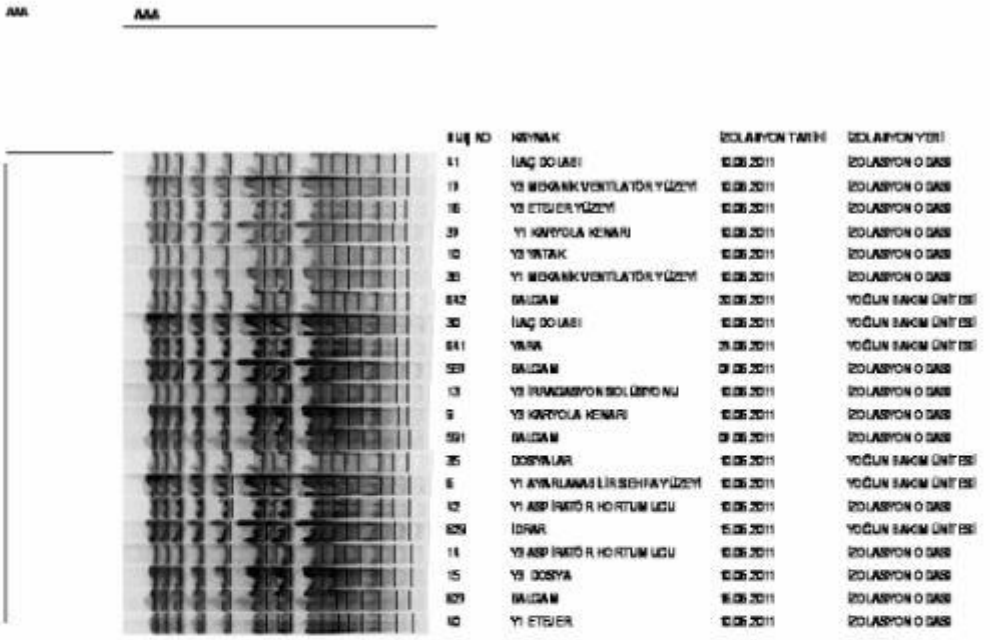
P289- YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE ORTAYA ÇIKAN MAJÖR TEK KLON ACİNETOBACTER BAUMANNİİ'YE BAĞLI SALGININ MOLEKÜLER DOĞRULANMASI

Ayşegül Çopur Çiçek[1], Alper Karagöz[2], Ersin Köksal[3], Ayşe Ertürk[4], Osman Birol Özgümüş[1], Zeynep Şentürk Köksal[5], Rıza Durmaz[2]
[1]*Rize Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD., Rize*
[2]*Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara.*
[3]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Rize.*
[4]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize.*
[5]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Rize.*

Amaç
Acinetobacter türleri son yıllarda ülkemizde özellikle hasta sirkülasyonunun ve antibiyotik kullanımının yüksek olduğu, invaziv tanı ve tedavi prosedürlerinin fazla uygulandığı yoğun bakım ünitelerinde önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.
Bu çalışmada Haziran 2011 döneminde Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi 10 yataklı yoğun bakım ünitesinde yatan 5 hastadan gönderilen 1 idrar, 1 yara ve 4 balgam kültürü olmak üzere 6 klinik örnek ile 43 farklı yerden alınan ve 15'inde A.baumannii üreyen çevre izolatları arasındaki klonal ilişkinin PFGE (Pulse-Field Gel Elektroforesis) ile tespit edilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Gelen örnekler kanlı agar ve EMB agara ekilmiş, bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve BD BBL Crystal (Becton Dickinson, U.S.A) tanımlama kiti ile yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri disk diffüzyon yöntemi ile CLSI önerileri doğrultusunda yapılmıştır. İzole edilen 21 suş arasındaki klonal ilişki Apa I restriksiyon enzimi kullanılarak Pulse-Field Gel Elektroforesis (PFGE) metodu ile saptanmıştır. PFGE sonrası bant profilleri Bionumerics (Applied Maths, Inc., Belgium, 6.01 versiyon) programı ile dendogram analizleri yapılmıştır.
Bulgular
Hasta örneklerinde üreyen 6 A.baumannii suşunun antimikrobiyal duyarlılıkları değerlendirildiğinde kolistin, tigesiklin ve netilmisine duyarlı iken, seftazidim, amikasin, gentamisin, imipenem, meropenem, sefoperazon-sülbaktam, sefepim, levofloksasin, trimetoprim-sülfametaksazol ve tetrasikline dirençli bulunmuştur. PFGE sonuçları değerlendirildiğinde 6 klinik örnek ile 15 ortam kültüründen izole edilen toplam 21 A.baumannii suşunun hepsinin tek bir klondan kaynaklandığı tesbit edilmiştir.
Sonuç
Suşların yakın tarihlerde izolasyonu, antimikrobiyal profilleri ve PFGE sonuçları birlikte değerlendirildiğinde akut bir bulaşın olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Salgın, klonal ilişki, A.baumannii, PFGE

ŞEKİL. A.baumannii suşlarının profillerinin PFGE yöntemi ile dendrogram analizi.



P290 - STAPHYLOCOCCUS EPİDERMİDİS'DE G2576T VE A2309G MUTASYONLARININ BİRLİKTE GÖZLENDİĞİ LİNEZOLİD DİRENCİ: TÜRKİYE'DEN İLK BİLDİRİM

Barış Yalçın, **Mehmet Burak Selek,** Bayhan Bektöre, Tuğrul Hoşbul, Mustafa Özyurt
Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi

Amaç
Ülkemizde ilk kez saptanan ve fenotipik olarak linezolid direnci gözlenen Staphylococcus epidermidis izolatında direncin genetik mekanizmasının araştırılması hedeflenmiştir.
Vaka
Kalp-akciğer canlandırması sonrası bir dış merkezde, anestezi yoğun bakım ünitesine alındıktan sonra izlem sırasında linezolid tedavisi başlanan ve 16 gün sonra GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi'ne nakledilen 61 yaşındaki bayan hastanın kan kültüründen izole edilen linezolid dirençli Staphylococcus epidermidis epidemiyolojik inceleme amaçlı çalışmaya alınmıştır. İzolat, konvansiyonel yöntemler ve otomatik identifikasyon sistemi kullanılarak Staphylococcus epidermidis olarak belirlenmiş ve 16S rRNA sekanslaması ile bu durum teyit edilmiştir. Rutin tanıda disk difüzyon ve E-test tekniği ile linezolid dirençli olduğu görülen izolat, otomatize sistem tarafından da dirençli olarak raporlanmıştır. 23S rRNA sekanslama sonrası izolatın, linezolid direncinden sorumlu olduğu bilinen G2576T mutasyonu yanı sıra A2309G mutasyonuna da sahip olduğu görülmüştür.
Sonuç
Bu bildirim, izole edilen ilk linezolid dirençli stafilokok olgusudur.

Anahtar Kelimeler: Linezolid direnci, Staphylococcus epidermidis, Kan kültürü

İzolata ait antibiyotik duyarlılıkları

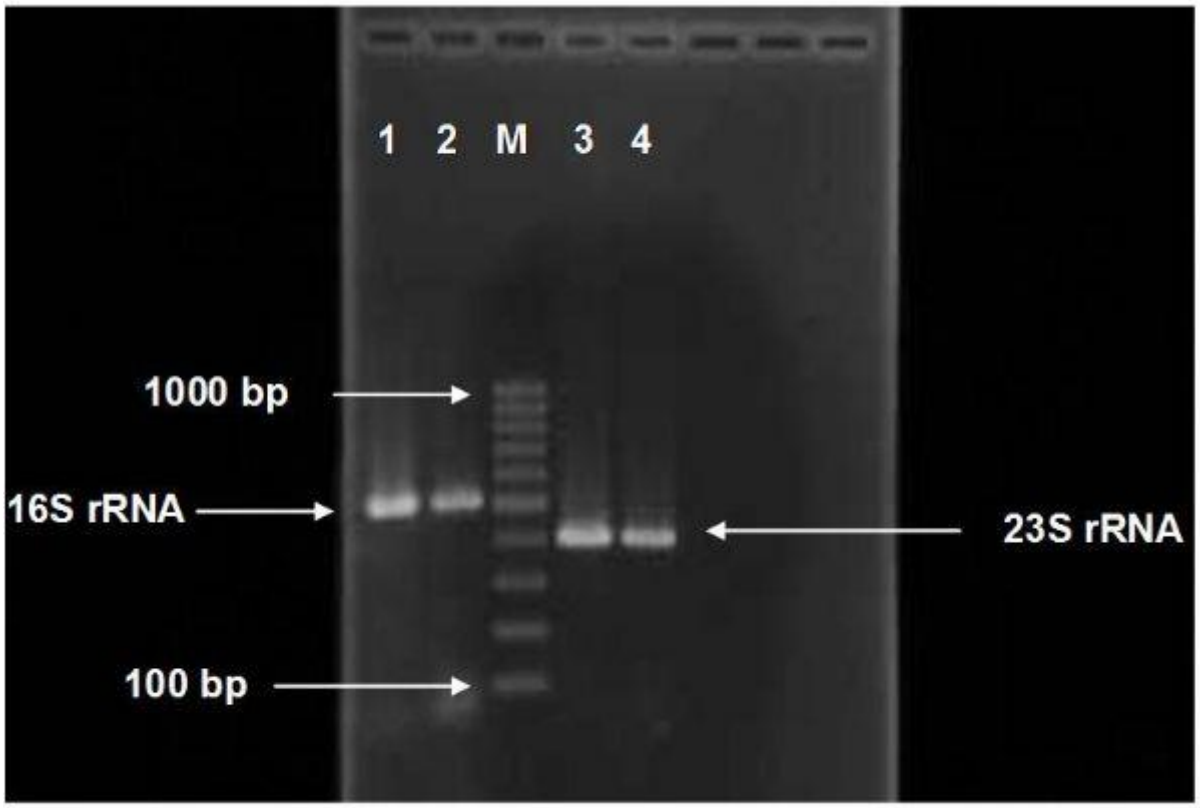
Antibiyotikler	Yöntem*		
	Disk difüzyon	E-test	VITEK 2
Linezolid	R	256 µg/mL	≥8 µg/mL
Vancomycin	-***	3 µg/mL	8 µg/mL
Teicoplanin	I	6 µg/mL	16 µg/mL
Penicillin	R	-	≥0.50µg/mL
Chloramphenicol	R	-	-
Telithromycin	R	-	-
Erythromycin	R	-	≥8 µg/mL
Clindamycin	R	-	≥8 µg/mL
Rifampicin	R	-	≥32 µg/mL
Quinupristin/Dalfopristin	S	-	0.50µg/mL
Oxacillin	R	-	≥4 µg/mL
Ciprofloxacin	R	-	≥8 µg/mL
Gentamicin	R	-	≥8 µg/mL
Daptomycin	-***	0.75 µg/mL	-
Tigecycline	-***	0.50µg/mL**	-

*CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir.
**EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir.
*** CLSI tarafından önerilmemektedir.
S: Duyarlı , I: Orta duyarlı, R: Dirençli

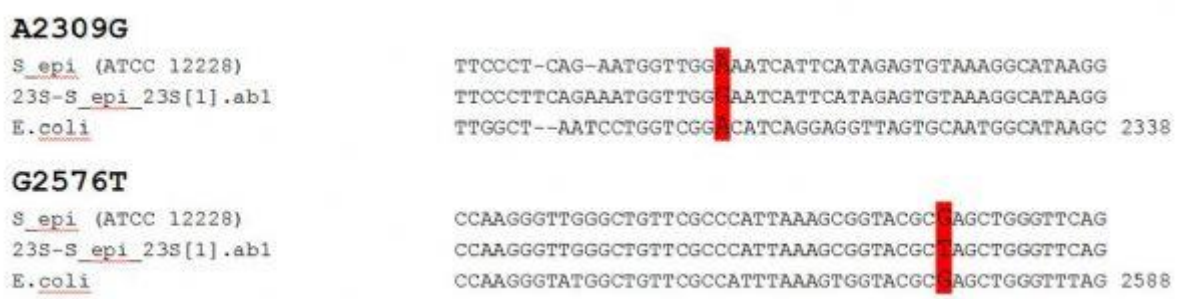
İzola ait linezolid duyarlılığı



16S rRNA ve 23S rRNA jel görüntüleri



23S rrna sekanslaması ile saptanan mutasyonlar



P291- BÖLGEMİZDE HUMAN PAPİLLOMA VİRUS SIKLIĞI VE GENOTİP DAĞILIMI

Sinem Akçalı[1], Aslı Göker[2], Talat Ecemiş[1], Ali Rıza Kandiloğlu[3], Tamer Şanlıdağ[1], Gülnur Şenyağcı[1]
[1]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa*
[2]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Manisa*
[3]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD, Manisa*

Amaç
Bütün malign tümörler arasında servikal kanser, tarama ile en etkin kontrolü sağlanabilen türdür. Günümüzde servikal kanserlerin Human Papilloma Virüsler (HPV) tarafından oluşturuldukları kanıtlanmıştır. Bu nedenle yüksek riskli HPV tiplerinin erken tanısı servikal kanserlerin önlenmesinde önemlidir. Bu çalışmanın amacı Manisa bölgesindeki kadınlarda HPV DNA pozitifliğini ve genotiplerinin dağılımını araştırmaktır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2010-Ağustos 2011 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Viroloji laboratuvarına HPV DNA tetkiki için gönderilen ve laboratuvarımızda PCR temelli bir test olan Linear Array HPV genotyping test (Roche Molecular Diagnostics, Indianapolis, IN) ile çalışılıp sonuçları klinisyene ve hastalara bildirilmiş olan 410 örneğe ait veri kayıt sisteminden geriye doğru taranarak HPV açısından değerlendirildi.
Bulgular
410 örneğin 35' inde (%8.5) HPV pozitif olarak tesbit edildi. Yirmialtı farklı HPV genotipi saptanırken, tip 16 %28.5'lik oranla pozitif örneklerde en çok tesbit edilen tip olarak belirlendi. Bunu %11.4 ile tip 45 ve 53, %8.5 ile tip 6, 56 ve 66 izlemekteydi. Onüç örnekte (%37.1) çoklu HPV pozitifliği görüldü.
Sonuç
Sonuç olarak bölgemiz için genel HPV pozitiflik oranımız %8.5 olup, bunların da toplamda %48.6'sını servikal kanserlerin büyük çoğunluğunda saptanan yüksek riskli tipler olan HPV tip 16, 18, 31 ve 45 oluşturmaktadır. Bu sonuçlar özellikle onkojenik HPV tiplerinin erken tanı alması açısından ülkemizdeki tarama programlarının yaygınlaştırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Human Papilloma Virus, servikal kanser, genotip, HPV DNA

Hastaların başvuru nedenleri ve oranları.

Başvuru nedeni	%
Kontrol	33.4
Adet düzensizliği/kanama	21.9
Akıntı	14.4
Miyom/prolapsus	12.7
İnfertilite	9.8
Önceki anormal PAP smear sonucu	6.1
Kondilom	1.7

Hastaların PAP smear sonuçları ve yüzdeleri.

PAP smear sonucu	%
Benign sitoloji	93.2
ASCUS	1
LSIL	2.2
HSIL	0.2

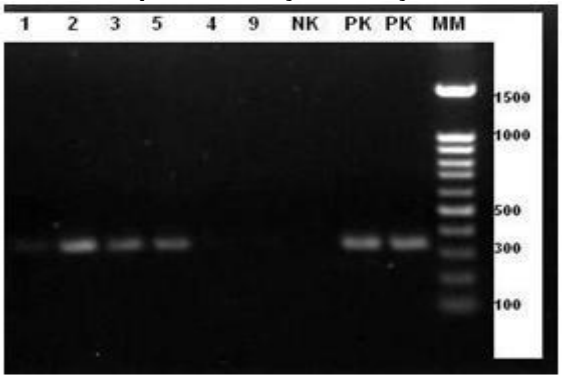
P292- HAEMOPHILUS İNFLUENZAE SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE AMPİSİLİN DİRENCİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ

Nuray Kuvat, Betigül Öngen
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul

Amaç
Bu çalışma klinik örneklerden izole edilen Haemophilus influenzae suşlarının antibiyotik direncinin saptanması ve ampisiline dirençli suşlarda beta-laktamaz enzimlerinin (TEM-1, ROB-1) varlığının araştırılması amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
235 H. influenzae suşunun ampisilin dahil 19 farklı antibiyotiğe karşı direnci disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış, ampisilin, sefuroksim, kloramfenikol ve meropeneme dirençli bulunan suşların MİK'leri ise E-test yöntemi ile belirlenmiştir. İzole edilen tüm suşlarda beta-laktamaz pozitifliğinin saptanması amacıyla nitrosefin deneyi, ampisiline dirençli suşlarda ise beta-laktamaz enzimlerinin belirlenmesi için PCR yöntemi kullanılmıştır.
Bulgular
Çalışmamızda amoksisilin-klavulanik asit, seftriakson, sefotaksim, aztreonam, azitromisin, telitromisin, siprofloksasin ve levofloksasine dirençli suş saptanmamıştır. Trimetoprim-sulfametoksazole 57 (% 24,2), tetrasikline 36 (% 15,2), ampisiline 26 (% 11), sefaklora 10 (% 4,2), klaritromisine 8 (% 3,4), sefuroksime 4 (% 1,7), meropeneme 2 (% 0,8), kloramfenikole 2 (% 0,8) ampisilin-sulbaktama 1(% 0,4), nalidiksik aside 1 (% 0,4), fosfomisine 1 (% 0,4), dirençli suş saptanmıştır. Sefuroksime disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan üç suşun MİK değerleri dirençlilik sınırları içerisinde ve sırası ile 24 µg/ml, 48 µg/ml, >256 µg/ml olarak bulunmuştur. Meropeneme dirençli bulunan iki suşun ise MİK değeri >256 µg/ml (dirençli) olarak belirlenmiştir. Disk difüzyon yöntemi ile kloramfenikole orta duyarlı saptanan her iki suşun da MİK değeri 6 µg/ml (orta duyarlı) olarak saptanmıştır. Orta duyarlı olan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. İzole edilen şuşların 36 (% 15,3)' sında çoğul direnç gözlenmiştir. Bu suşlardan 20 (% 8,5)'sinde iki, dokuzunda (% 3,8) üç, beşinde (% 2,1) dört, birer suşda da (% 0,4) beş ve altı antibiyotiğe karşı direnç saptanmıştır.
Çalışmamızda ampisilin dirençli ve beta-laktamaz pozitif suşların tamamında TEM-1 tipi enzim saptanmış, ROB-1 tipi enzime rastlanmamıştır. Suşların % 2.9'unun BLNAR suşları olduğu belirlenmiş, BLPACR suşu saptanmamıştır (Tablo).
Sonuç
Ampisilin direncinin beta-laktamaza bağlı olup olmadığının, beta-laktamaza bağlı ise hangi enzim tiplerinin dirence yol açtığının belirlenmesi epidemiyolojik olduğu kadar tedaviyi yönlendirmesi açısından da önemlidir. Nitrosefin deneyi ile rutin laboratuvarda ayırımı güç olan TEM-1 ve ROB-1 üreten suşların antibiyotik direnç profillerinin farklı olabileceği bildirilmektedir. Ayrıca CLSI, BLNAR suşlarının çeşitli inhibitörlü beta-laktam antibiyotiklere, 2. kuşak sefalosporinlerin bir kısmına in-vitro duyarlı bulunsalar bile dirençli bildirilmelerini önermektedir. Çalışmamızda saptanan % 11 oranındaki ampisilin direncinin % 73'ünün beta-laktamaza (TEM-1: % 100; ROB-1: % 0), % 27'sinin ise beta-laktamaz dışında bir mekanizmaya bağlı olduğu görülmüştür. Nitrosefin deneyi genel olarak TEM-1 tipi beta-laktamazın saptanmasında yaklaşık %90 oranında başarılı olup ROB-1 için bu oran % 10 civarındadır. Çalışmamızda da beta-laktamaz (TEM-1) aracılığı ile oluşan ampisiline dirençli suşların tamamında nitrosefin deneyi ile pozitif sonuç alınmıştır. Suşlarımızda ROB-1 enzimi saptanmamış olması nedeniyle nitrosefin deneyinin en azından bölgemiz için halen önemini koruduğu söylenebilir. Ayrıca ampirik tedavinin oldukça sık kullanıldığı ülkemizde ampisiline dirençli suşların azımsanmayacak bir kısmının (% 27'si) BLNAR tipinde olması tedavide göz önüne bulundurulmalıdır.

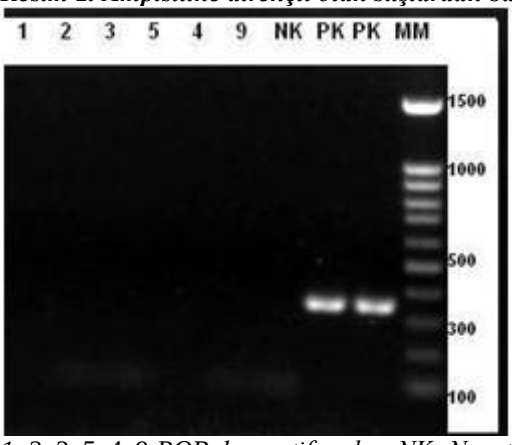
Anahtar Kelimeler: Haemophilus influenzae, ampisiln direnci, E-test, PCR

Resim 1. Ampisiline dirençli olan suşlardan bazılarının TEM-1 primerleri kullanılarak yapılan PCR sonuçları.



1, 2, 3, 5: TEM-1 pozitif, 4.9: TEM-1 negatif suşlar. NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol, MM: Marker.

Resim 2. Ampisiline dirençli olan suşlardan bazılarının ROB-1 primerleri kullanılarak yapılan PCR sonuçları.



1, 2, 3, 5, 4, 9:ROB-1 negatif suşlar. NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol, MM: Marker.

Tablo 1. H. influenzae suşlarında çoğul direnç.

Antibiyotik	Suş sayısı	Antibiyotik	Suş sayısı
AMP/ CEC	2	AMP/SXT/SAM	1
AMP/SXT	5	AMP/SXT/CLR	2
AMP/TET	1	AMP/SXT/TET	5
AMP/CLR	2	AMP/SXT/CEC/TET	2
CEC/TET	1	AMP/SXT/C/TET	1
SXT/CLR	1	AMP/SXT/CEC/FOS	1
SXT/MEM	1	AMP/SXT/TE/CXM	1
SXT/TET	7	AMP/SXT/CLR/NA/TET	1
AMP/CEC/TET	1	AMP/SXT/CEC/MEM/TET/CXM	1

AMP:Ampisilin, SAM:Ampisilin-sulbaktam, CXM:Sefuroksim, CEC:Sefaklor, MEM:Meropenem, CL:Klaritromisin, TET:Tetrasiklin, SXT:Trimetoprim-sulfametoksazol, C:Kloramfenikol, NA:Nalidiksik asit, FOS:Fosfomisin.

Tablo 2. 235 H. influenzae suşunun beta-laktamaz üretimi ve ampisilin/amoksisilin-klavulanik asit duyarlılığına göre gruplandırılması.

Grup	Suş sayısı (%)	Beta-laktamaz enzimi
BLNAS	209 (88.9)	-
BLPAR	19 (8)	+ (% 100 TEM-1, % 0 ROB-1)
BLNAR	7 (2.9)	-
BLPACR	0 (0)	-

BLNAS: Beta-laktamaz negatif ampisilin duyarlı, BLPAR: Beta-laktamaz pozitif ampisilin dirençli, BLNAR: Beta-laktamaz negatif ampisilin dirençli, BLPACR: Beta-laktamaz pozitif amoksisilin-klavulanik asit dirençli

P293- TRİCHOMONAS VAGİNALİS 'İN FARKLI KORUYUCU ORTAMLAR İLE CPLM VE TYM BESİYERLERİNDE KRİYOPREZERVASYON ÇALIŞMALARI

Ahmet Özbilgin[1], Selin Bölük[2], **Olcay Özçolpan[3]**, Didem Düzyol[2], Hülya Özkan[2]
[1]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji ABD, Manisa*
[2]*Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Manisa*
[3]*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Manisa*

Amaç
Kriyoprezervasyon basit olarak dondurarak saklama anlamına gelmekte olup amacı; gerekli olduğunda donmuş hücreleri ısıtarak canlılıklarını, fonksiyonlarını ve antijenik yapılarını bozmadan tekrar elde etmektir. Çalışmamızda Trichomonas vaginalis' in farklı koruyucu ortamlar kullanılarak kriyoprezervasyonu, daha sonrada CPLM ve TYM besiyerlerindeki üremeleri ve canlılıkları değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
TYM ve CPLM besiyerlerinde üretilerek 108/ml. yoğunluğunda T. vaginalis süspansiyonları elde edilmiş dört farklı (% 75 FCS + % 25 DMSO, % 75 FCS + % 25 Gliserol, % 15 DMSO, % 15 gliserol) koruyucu ortam içinde süspanse edilerek 1 saat +4 ^{0}C de, 2 saat -20 ^{0} C de, -86 ^{0} C de 1 gece bekletilen örnekler sıvı nitrojen içinde (-196 ^{0} C) saklanmıştır. Bu örneklerden 3., 6., 9. ve 12. aylarda birer numune alınarak 37 ^{0}C deki sıcak su banyosunda hızla çözdürülmüş ve daha sonra her bir örneğin canlılık kontrolleri yapılarak TYM ve CPLM besiyerlerine ekimleri yapılmıştır.
Bulgular
Sonuç
İzolatların her iki besiyerinde de benzer yoğunlukta ürediği, en iyi canlılık oranı ve üremenin" % 75 FCS + % 25 DMSO " ve " % 75 FCS + % 25 Gliserol " koruyucuları ile yapılan kriyoprezervasyon işleminde alındığı gözlenmiş, bu koruyucular kullanılarak T. vaginalis izolatlarının başarı ile kriyoprezervasyon yapılarak saklanabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Trichomonas vaginalis, kriyoprezervasyon, koruyucu ortamlar

Sıvı azot tankı



T. vaginalis

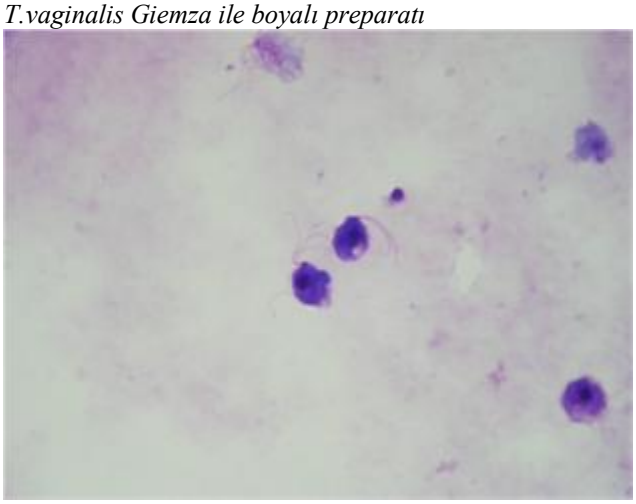
Kriyoprezervasyon Ortamları	3 Ay/ CPLM	3 Ay/ TYM	6 Ay/ CPLM	6 Ay/ TYM	9 Ay/ CPLM	9 Ay/ TYM	12 Ay/ CPLM	12 Ay/ TYM
2 ml (% 75 FCS + % 25 DMSO)+ 0.25 ml T. vaginalis süspansiyonu	5 x 10*4	5 x 10*4	5 x 10*4	5 x 10*4	5 x 10*4	5 x 10*4	4 x 10*4	4 x 10*4
2 ml (% 75 FCS + % 25 Gliserol) +	4 x 10*4	4 x	4 x 10*4	4 x	4 x 10*4	4 x	3 x 10*4	3 x

0.25 ml T. vaginalis süspansiyonu		10*4		10*4		10*4		10*4
0.15 ml DMSO + 0.85 ml T. vaginalis süspansiyonu	3 x 10*4	2 x 10*4	3 x 10*4	2 x 10*4	3 x 10*4	2 x 10*4	2 x 10*4	1 x 10*5
0.15 ml Gliserol + 0.85 ml T. vaginalis süspansiyonu	2 x 10*4	10*4	2 x 10*4	10*4	2 x 10*4	10*4	10*4	10^2

Sıvı azot tankında örnek kutusu

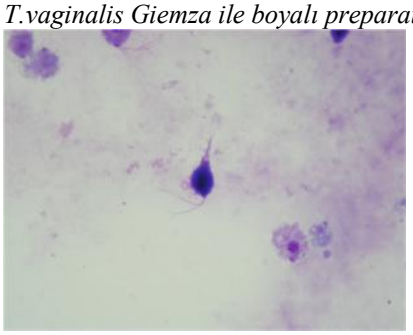


T.vaginalis Giemza ile boyalı preparatı



X 1000 büyütme alanında

T.vaginalis Giemza ile boyalı preparatı

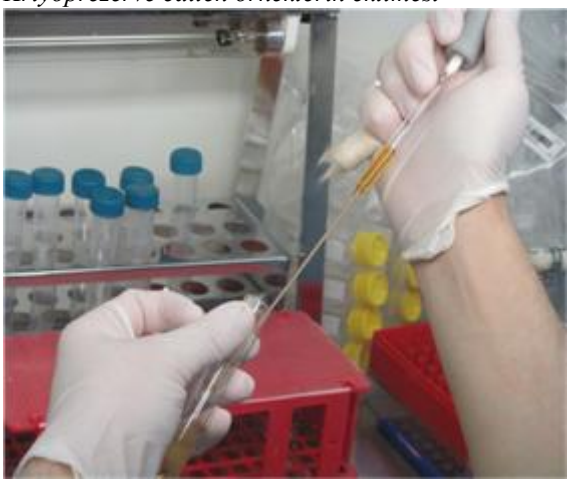


X 1000 büyütme alanında

Örneklerin canlandırılması



Kriyoprezerve edilen örneklerin ekilmesi



P294 - SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE 2008-2010 YILLARI ARASINDA BARSAK PARAZİT OLGULARININ İNCELENMESİ

Selçuk Kaya, **Ayşegül Ergün**, Ayşe Aynali, Tuğba Öztürk, Ayşegül Özseven, Emel Sesli Çetin, Buket Cicioğlu Arıdoğan
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Isparta

Amaç
Ocak 2008 – Aralık 2010 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Parazitoloji kısmına başvuran kişilerde intestinal parazitlerin araştırılması amacıyla, gaitada parazit incelemesi için gönderilmiş olan numune sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi.
Gereç-Yöntem
Toplam 6565 numunenin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilerek, 2008 yılında 2115, 2009 yılında 2190, 2010 yılında 2260 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Alınan dışkı örnekleri önce makroskopik olarak incelendikten sonra, koprolojik olarak; lugol ile doğrudan, formol-etil asetat santrifüj çoklaştırma yöntemi ile yoğunlaştırılarak hazırlanan dışkı preparatları ve selofan bant yöntemi ile alınan örnekler 10x ve 40x'lık objektiflerle mikroskopta incelenmiştir.
Bulgular
İncelenen 6565 dışkı örneğinden 338'inde (%5.1) parazit saptanmıştır. Parazit saptanan 338 gaita örneğinin 9'unda birden fazla parazit saptanmıştır. Parazit saptanan 338 örnekte en sık olarak Enterobius vermicularis (n:170) ve Giardia intestinalis'e (n:109) rastlanmış olup, bunları Entamoeba histolytica (n:19), Blastocystis hominis (n:16), Trichomonas intestinalis (n:14), Entamoeba coli (n:13), Taenia saginata (n:5) ve Trichomonas vaginalis (n:1) izlemiştir. Toplam dışkı örneklerinin 455'inde anlamlı mikroskopik bulgu saptanmıştır. Mikroskopik bulguların oransal dağılımı sırası ile; %37.6 (n=171) bol lökosit+bol eritrosit, %34.7 (n:158) bol lökosit, %18 (n:82) bol lökosit+nadir eritrosit, %5.9 (n:27) bol eritrosit+nadir lökosit ve %3.7 (n:17) bol eritrosit bulunmuştur.
Sonuç
Son yıllarda barsak parazitlerinin görülmesinde bir azalma olsa da, bölgemiz için özellikle Enterobius vermicularis ve Giardia intestinalis başta olmak üzere barsak parazitleri kişilerin yaklaşık yirmide birini ilgilendiren önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Enterobius vermicularis, Giardia intestinalis, İntestinal parazit, Parazitoloji

P295 - PSYCHODA ALBİPENNİS'İN NEDEN OLDUĞU ÜROGENİTAL MYİASİS OLGUSU

Selma Güler[1], **Sevinç Özden[2],** Sümeyra Alkış Koçtürk[2], Osman Turan[2]
[1]*Yenişehir Devlet Hastanesi, Enfeksiyon hastalıkları, Kahramanmaraş*
[2]*Yenişehir Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Kahramanmaraş*

Amaç
Bu olguda, 19 yaşında bir erkek hastada Psychoda (P.) albipennis'in neden olduğu ürogenital myiasis rapor edilmektedir.
Vaka
Hasta hastanemiz Enfeksiyon hastalıkları polikliniğine idrarında küçük, siyah renkli, hareketli kurtçuklar görmesi üzerine başvurmuştur. Hastanın idrarında makroskobik olarak 1 adet siyah renkli, hareketli larva saptandı. Örnek mikroskobik olarak incelendiğinde her sahada 3-4 eritrosit görüldü, bakteri ve lökosit görülmedi. Örnek tanımlama için Sağlık bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Parazitoloji Laboratuvarına gönderildi. Sonuç P. albipennis larvası olarak değerlendirildi. Parazitin atılmasına ve komplikasyonların önlenmesine yönelik olarak gerçekleştirilen antibiyotik ve idrar yolu antiseptiği uygulamaları sonucunda hastanın şikayetleri ortadan kalkmıştır.
Sonuç
Bu olgu ile ürogenital myiasis tablolarında P. albipennis' in etken olarak dikkate alınması gerektiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Psychoda albipennis, ürogenital myiasis, insan

İdrar örneğinde larva



P296 - NİĞDE YETİŞTİRME YURDUNDA 13-18 YAŞ GRUBUNDA GÖRÜLEN BARSAK PARAZİTLERİNİN YAŞA VE CİNSİYETE GÖRE DAĞILIMI

Birol Özkalp[1], Battal Çelik[1], Muahmmet Güzel Kurtoğlu[2], **Recep Keşli[2]**
[1]*Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü,Konya.*
[2]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya.*

Amaç
Bu çalışmada yurt çocuklarında barsak parazitlerinin yol açtığı infeksiyon oranlarının ve bu oranların çocuklarda yaş ve cinsiyete göre dağılımın belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Niğde Yetiştirme Yurdunda yaşları 13-18 arasında değişen 110 çocuktan alınan dışkı örnekleri, serum fizyolojik (nativ - salin) yöntemi kullanılarak incelenmiştir.
Bulgular
İncelenen 110 dışkı örneğinden 41' inde (%37.3) barsak parazitleri belirlenmiş, bunlardan 25' inin (%61) helmint, 16'sının (%39) protozoon olduğu görülmüştür. Tek tür parazit görülenler 39 (%95), birden çok parazit görülen 2 (% 5) olarak tespit edilmiştir. Parazit görülenlerin cinsiyet dağılımı, 75 kızdan 30'unda (%40), 35 erkekte ise 11(%31.5), olmuştur. Cinsiyetler arasındaki fark, önemsiz olarak kabul edilmiştir. Parazit türleri ise sırasıyla; Ascaris lumbricoides (%34.1), Entamoeba histolytica (%29.3), Taenia saginata (%17.1), Giardia intestinalis (%9.8) Enterobius vermicularis (%7.3) Trichuris trichiura (%2.4)olarak belirlenmiştir.
Sonuç
Bu çalışma ile yaşanılan yurt ortamının oto-enfeksiyon ve direkt temasla bulaşmaya elverişli olup parazitlenmenin 13-14 yaş grubunda, 15-18 yaş grubuna oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Barsak parazitleri, Çocuk, Yetiştirme yurdu, Niğde

Tablo 1. Parazitlerin türlerine göre dağılımı

Parazit Türleri	Sayı	%
Ascaris lumbricoides	14	34.1
Entamoeba histolytica	12	29.3
Taenia saginata	7	17.1
Giardia intestinalis	4	9.8
Enterobius vermicularis	3	7.3
Trichuris trichiura	1	2.4
Toplam	41	100

Tablo 2. Parazit tespit edilenlerin cinsiyete göre dağılımı

Cins	Sayı	%
Kız	30	73.2
Erkek	11	26.8
Toplam	41	100

Tablo 3. Yaş gruplarına göre parazitlerin dağılımı

Yaş Grupları	Sayı	%
13	10	24.3
14	13	31.8
15	8	19.5
16	5	12.2
17	3	7.3
18	2	4.9
Toplam	41	100

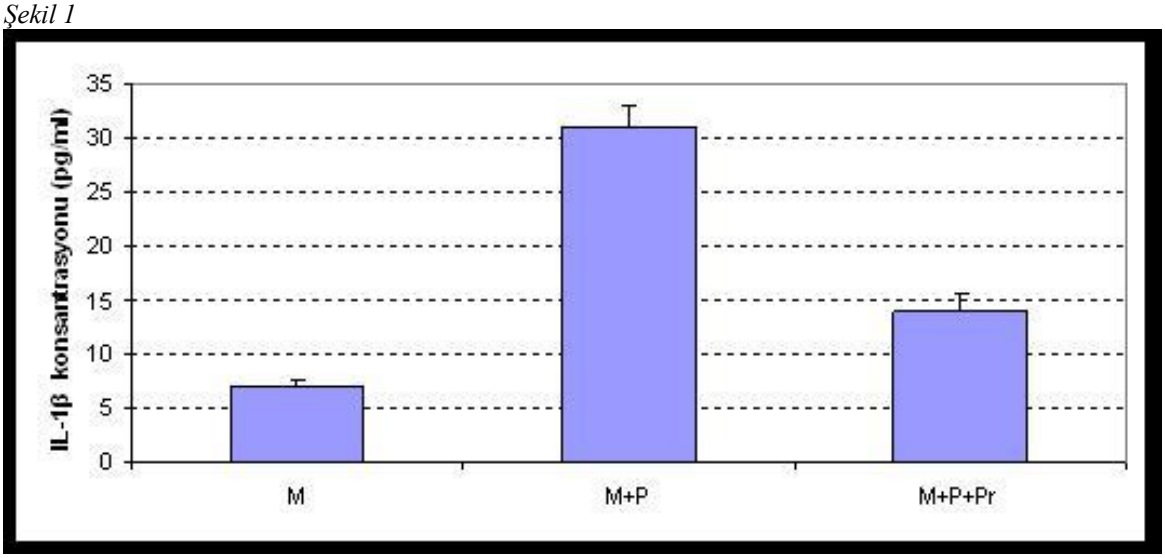
P297 - MAKROFAJ İÇİNDE YERLEŞMİŞ LEİSHMANİA AMASTİGOTLARI ÜZERİNE UYGULANAN PROPOLİSİN SİTOKİN SALINIMINA ETKİLERİ

***Hatice Özbilge**, Esma Gündüz Kaya*
Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD, Kayseri

Amaç
Leishmania, Kinetoplastida takımında ve Trypanosomatidae ailesinde yer alan ve insan monositlerinde yaşayan bir doku parazitidir. Propolis, balarıları tarafından bitkilerden toplanan ve mumla karıştırılarak kovan içerisinde birçok amaca yönelik olarak kullanılan doğal bir üründür. Th2 immun yanıtının leishmaniasisin ilerlemesine sebep olduğu, Th1 yanıtının amastigotların üremesini ve hastalığın ilerlemesini sınırladığı bilinmektedir. Bu çalışmada, makrofaj içine yerlesmiş leishmania amastigotlari üzerine uygulanan propolisin IL-1β, IL-6 ve IL-12 sitokin salınımı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışma makrofaj, makrofaj+leishmania ve makrofaj+leishmania+propolis uygulanan hücreler olmak üzere farklı üç grup üzerinde yapıldı. U-937 insan makrofaj hücreleri RPMI-1640 besiyerinde üretildi, canlılığı ve yoğunluğu kontrol edildi ve 24 lük hücre kültür plağının kuyucuklarına yerleştirildi. Logaritmik faza kadar üretilen leishmania promastigotları makrofaj hücrelerinin üzerine ilave edildi. Promastigotların makrofajlar içine girmesi ve amastigot forma geçmesi beklendi. Daha sonra kuyucuklara son hacimde 64 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde propolis ilave edildi. Uygun ortamda 24 saatlik inkübasyon sonrasında hücre kültür süpernatantları toplandı. ELISA kitleri ve ELISA cihazı kullanılarak üç ayrı grubun süpernatantlarında IL-1β, IL-6 ve IL-12 sitokin seviyeleri ölçüldü.
Bulgular
Propolis uygulanan grupda IL-12 sitokin seviyesi diğer iki gruba göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). IL-1β ve IL-6 sitokin seviyeleri propolis uygulanan grupda makrofaj+leishmania grubuna göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$).
Sonuç
Propolis uygulanan grupda IL-1β ve IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin baskılanmasının ve Th1 yanıtının bir göstergesi olan IL-12 sitokin seviyesinin artmasının immun yanıta destek olduğu sonucuna ulaşıldı.

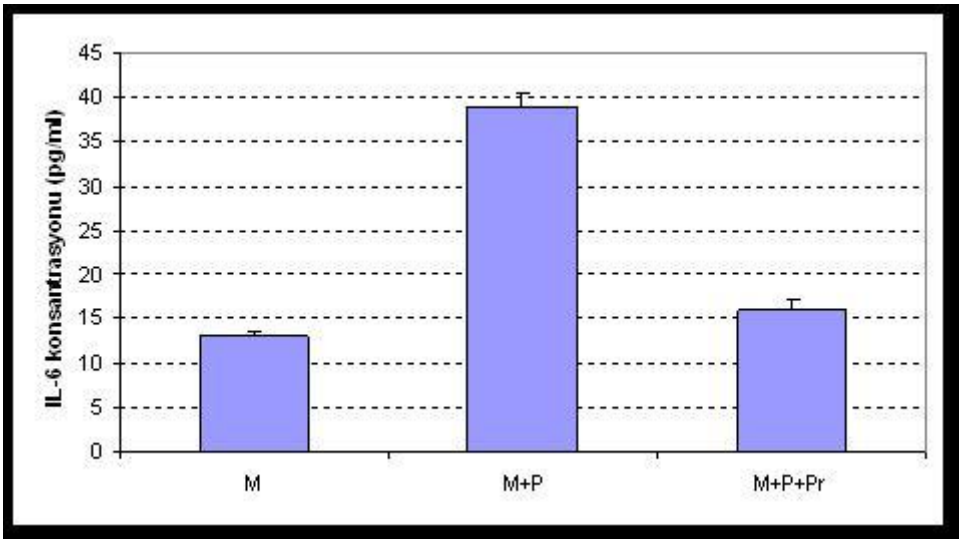
Anahtar Kelimeler: Leishmania, makrofaj, propolis, sitokin

Şekil 1



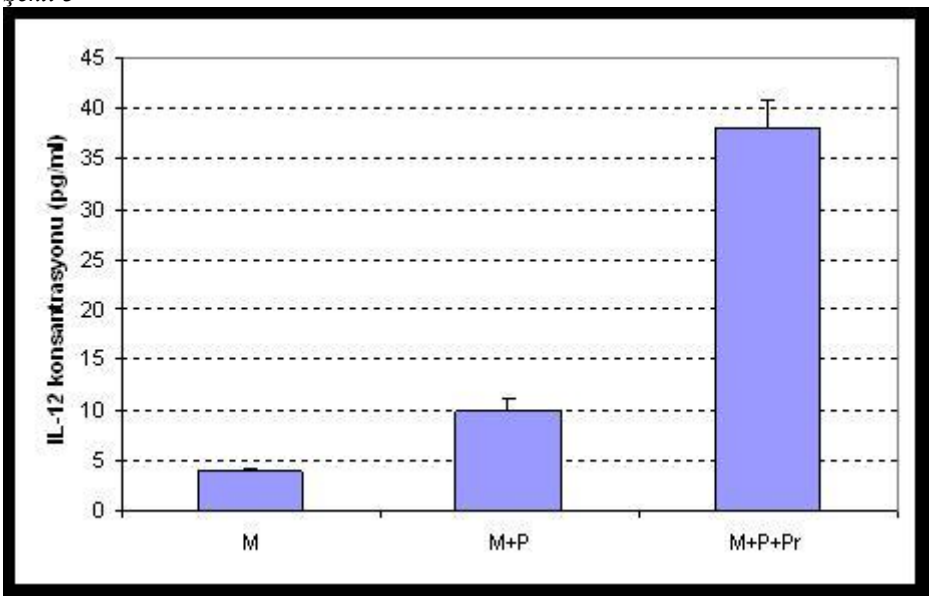
Şekil 1. Leishmania paraziti ve propolisin U937 hücrelerinde IL-1beta üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+P, makrofaj hücreleri ve parazit içeren kuyucuk; M+P+Pr, makrofaj hücreleri + parazit + propolis içeren kuyucuk)

Şekil 2



Şekil 2. Leishmania paraziti ve propolisin U937 hücrelerinde IL- 6 üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+P, makrofaj hücreleri ve parazit içeren kuyucuk; M+P+Pr, makrofaj hücreleri + parazit + propolis içeren kuyucuk)

Şekil 3



Şekil 3. Leishmania paraziti ve propolisin U937 hücrelerinde IL-12 üretimine etkisi (M, sadece makrofaj içeren kuyucuk; M+P, makrofaj hücreleri ve parazit içeren kuyucuk; M+P+Pr, makrofaj hücreleri + parazit + propolis içeren kuyucuk)

P298 - 2003-2010 YILLARINDA HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ PARAZİTOLOJİ LABORATUVARI'NDA İNCELENEN DIŞKI, KAN VE DİĞER ÖRNEKLERİN SONUÇLARI

Dolunay Gülmez Kıvanç, Zeynep Sarıbaş, Yakut Akyön Yılmaz, Sibel Ergüven
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Bu çalışmanın amacı 2003-2010 yılları arası, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 'nın parazitolojik inceleme sonuçlarının değerlendirilmesidir.
Gereç-Yöntem
Parazitoloji Laboratuvarı'na gelen 75418 dışkı, kan ve doku örneği incelenmiştir. Laboratuvara gelen dışkı örnekleri yarı-otomatize sistem, lugol, trikrom boyama ve seloteyp yöntemiyle; kan ve doku örnekleri Giemsa ile boyanarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Laboratuvara gelen 75418 örneğin 3057'sinde pozitif sonuç saptanmıştır. Aynı hastadan elde edilen sonuçlar tek sonuç olarak değerlendirildiğinde ise toplam 2255 hastada parazit varlığı belirlenmiştir. Parazit saptanan hasta sonuçlarının yıllara ve türlere göre dağılımı Tablo'da görülmektedir.
Sonuç
Pozitif örnekler içinde en sık Giardia lamblia, Entamoeba coli, Blastocystis hominis görülmüştür. Yıllara göre incelendiğinde gelen örnek sayısının azaldığı ancak pozitif örnek oranının belirgin olarak farklılık göstermediği gözlenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Parazit sıklığı, dışkı, kan

Tablo 1: 2003-2010 yılları arası, Parazitoloji Laboratuvarı'na gelen toplam ve pozitif test sayıları

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Toplam test sayısı	10320	11693	11023	9515	9241	8857	7851	6918
Pozitif test sayısı	447	652	468	382	336	284	239	249

Tablo 2: Yıllara göre parazit saptanan hasta sayısı ve dağılımı

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	TOPLAM
A. lumbricoides	8	8	1	1	1	1	0	0	20
B. hominis	82	94	34	44	21	17	18	24	334
C. parvum	1	1	0	0	0	0	0	1	3
Cyclospora türler	1	4	0	3	1	2	2	0	13
D. fragilis	2	58	6	27	19	12	19	26	169
E. nana	0	0	0	1	0	0	0	1	2
E.coli	44	85	33	37	40	30	17	19	305
E.hartmanni	0	0	0	6	7	8	7	3	31
E.histolytica/dispar	4	3	4	1	2	4	0	0	18
E.vermicularis	4	25	23	25	8	12	10	8	115
E.hominis	0	0	0	0	0	0	0	1	1
G.lamblia	182	194	177	132	113	98	81	68	1045
H.nana	2	5	4	0	0	2	2	3	18
I.butschlii	0	3	2	1	0	2	2	0	10
Leishmania	0	0	0	2	2	0	0	0	4
Plasmodium	2	0	0	0	1	0	0	0	3
Echinococcus skoleksi	5	6	12	10	7	13	15	20	88
Taenia	7	18	8	8	15	6	8	6	76

TOPLAM	344	504	304	298	237	207	181	180	2255

P299 - GASTROİNTESTİNAL SİSTEM SEMPTOMLARI OLAN HASTALARDA BLASTCYSTİS SPP İNSİDANSI: VAKA KONTROL ÇALIŞMASI

Yeşim Çekin[1], Gülsüm Koçlar[3], Ayhan Hilmi Çekin[2], Yeşim Adakan[2]
[1]*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Antalya*
[2]*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, İç hastalıkları Kliniği, Antalya*
[3]*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarı, Antalya*

Amaç
Ocak 2010-Mayıs 2011 tarihleri arasında, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğine intestinal şikayetlerle başvuran 276'sı (%11.8) Ülseratif Kolit (UC), 59'u (%0.3) Crohn Hastalığı (CH) ve 877'si (%37.6) İBS tanısı almış hastalar olmak üzere toplam 2334 olguda Blastocystis spp. sıklığının ve klinik semptomlarının araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem
Çalışma Ocak 2010-Mayıs 2011 tarihleri arasında Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğine intestinal şikayetlerle başvuran ve rutin gaita mikroskopisi parazit aranması testi istenen 2334 hasta taranarak yapılmıştır. Hastalar gastroenteroloji uzmanı tarafından yapılan klinik ve laboratuar testleri sonucunda konulan tanılarına göre gruplara ayrılarak ispatlanmış İBH olanlar, İBS tanısı konulan hastalar ve herhangi bir özgün tanı almamış gastrointestinal yakınmaları olan hastalar olarak sınıflandırılmışlardır. İBH olguları, detaylı klinik bulgular, endoskopik, histopatolojik ve laboratuar incelemeler sonucunda "Ülseratif kolit" ve "Crohn hastalığı" olarak tanı almışlardır. IBS hastaları ise Rome III kriterlerine göre tanı almışlardır. Ayrıca herhangi bir gastrointestinal semptomu olmayıp rutin muayene için dahiliye polikliniğine başvuran 192 hasta kontrol grubunu oluşturmuştur.Tüm olgulara ait dışkı örneklerine nativ-lugol ve formol etil asetat konsantrasyon yöntemi uygulanmıştır.

Bulgular
Hastaların toplam 241'inde(%10.3) bir veya birden fazla parazit saptanmıştır. Parazit saptanan olguların %55,6'sında (134/241) Blastocystis enfeksiyonu rapor edilmiştir. Gastrointestinal şikayetleri olan grupta, 134/2334 (%5.74) oranında en sık saptanan parazit Blastocystis spp. olmuş ve kontrol grubuna göre (%3,12) daha yüksek oranda saptanmıştır. İBH (Crohn Hastalığı, Ülseratif Kolit) ve İBS hastaları ve gastrointestinal yakınmaları olan hastalar ve kontrol grubuna Blastocystis spp. enfeksiyonu saptanma oranları sırasıyla %6.78, %8.70, %5.72, %4.90 ve 3.12 olarak saptanmıştır.

Sonuç
Çalışmamızda İBS ve İBH hastalarında ve semptomatik olup tanı almamış hastalarda Blastocystis spp. prevelansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.
Blastocystis spp. enfeksiyonu IBH hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek saptanmıştır.Parazitin,sebebi bilinmeyen infalamatuvar barsak hastalıklarıyla bağlantısı daha büyük hata gruplarıyla, çeşitli bölge ve toplumlarda araştırılmaya devam edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Ülseratif Kolit, Crohn Hastalığı, İrritabl barsak sendromu, Bastocystis spp

---

Tablo 1. İBH ve İBS olgularında B. hominis insidansı

Hasta grupları	sayı	sayı	%
Toplam semptomatik hastalar	2334	134	5,74
• Semptomatik hastalar/ tanı yok	1122	55	4,90
• İBH	335	28	8,35
-Ulseratif kolit	276	24	8,70
-Crohn Hastalığı	59	4	6,78
• İBS	877	51	5,82
Kontrol	192	6	3,12

Tablo 1. İBH ve İBS olgularında *B. hominis* insidansı

P300- AKUT GASTROENTERİTLİ 5 YAŞ ALTI ÇOCUKLARDA CLOSTRİDİUM DİFFİCİLE ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI VE GİARDİA İLE ENTAMOEBA ENFEKSİYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİ

Özgür Çelebi[1], Çiğdem Eda Balkan[2], **Ülkü Altoparlak[2]**, Demet Çelebi[3]
[1]*İl Sağlık Müdürlüğü, Erzurum*
[2]*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Erzurum*
[3]*Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Erzurum*

Amaç
Çalışmamızda; Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastaneleri'ne başvurarak akut gastroenterit ön tanısı alan 5 yaş altı çocuklarda Clostridium difficile saptanması ve bu enfeksiyona sahip çocuklarda paraziter etkenlerin araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Eylül 2010 ile Eylül 2011 tarihleri arasında hastanelerimize başvurarak akut gastroenterit ön tanısı alan 5 yaş altı 340 çocuğa ait dışkı örneği dâhil edildi. Dışkı örneklerinde Clostridium difficile toksin varlığı Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Entamoeba histolytica ve Giardia intestinalis antijenlerinin varlığı immünokromatografik yöntem ile araştırıldı. Clostridium difficile enfeksiyonu pozitif olgular, Giardia intestinalis ve Entamoeba histolytica enfeksiyonu açısından incelendi.
Bulgular
Dışkı örneklerinin 30'unda (%8.8) Clostridium dificile toksini saptandı. Clostrdium difficile pozitifliği saptanan dışkı örneklerinin 17'sinde (%56.7) eş zamanlı olarak Entamoeba histolytica, 13'ünde (%43.3) ise Giardia intestinalis antijen pozitifliği tespit edildi.
Sonuç
Entamoeba histolytica ve Giardia intestinalis etkeni saptanan hastaların ishallerinin bu paraziter enfeksiyonlardan mı yoksa Clostridium difficile enfeksiyonundan dolayı mı oluştuğu tam olarak aydınlanmış değildir. Yapılan sorgulamada bu hastaların geniş spektrumlu antibiyotik almadıkları hatta yakın geçmişte herhangi bir antibiyotiği kullanmadıkları bildirilmiştir. Bu nedenle özellikle ''Amip ve Giardia bulaşı sonucunda Clostridium ortam bulup sekonder bir enfeksiyon mu oluşturmuştur; yoksa Clostridium birincil etken olup sağladığı ortamda mı bu parazitler sekonder bir enfeksiyon oluşturmuştur?'' sorusu yeni çalışmalarla aydınlığa kavuşturulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Clostridium difficile, Entamoeba histolytica, Giardia intestinalis

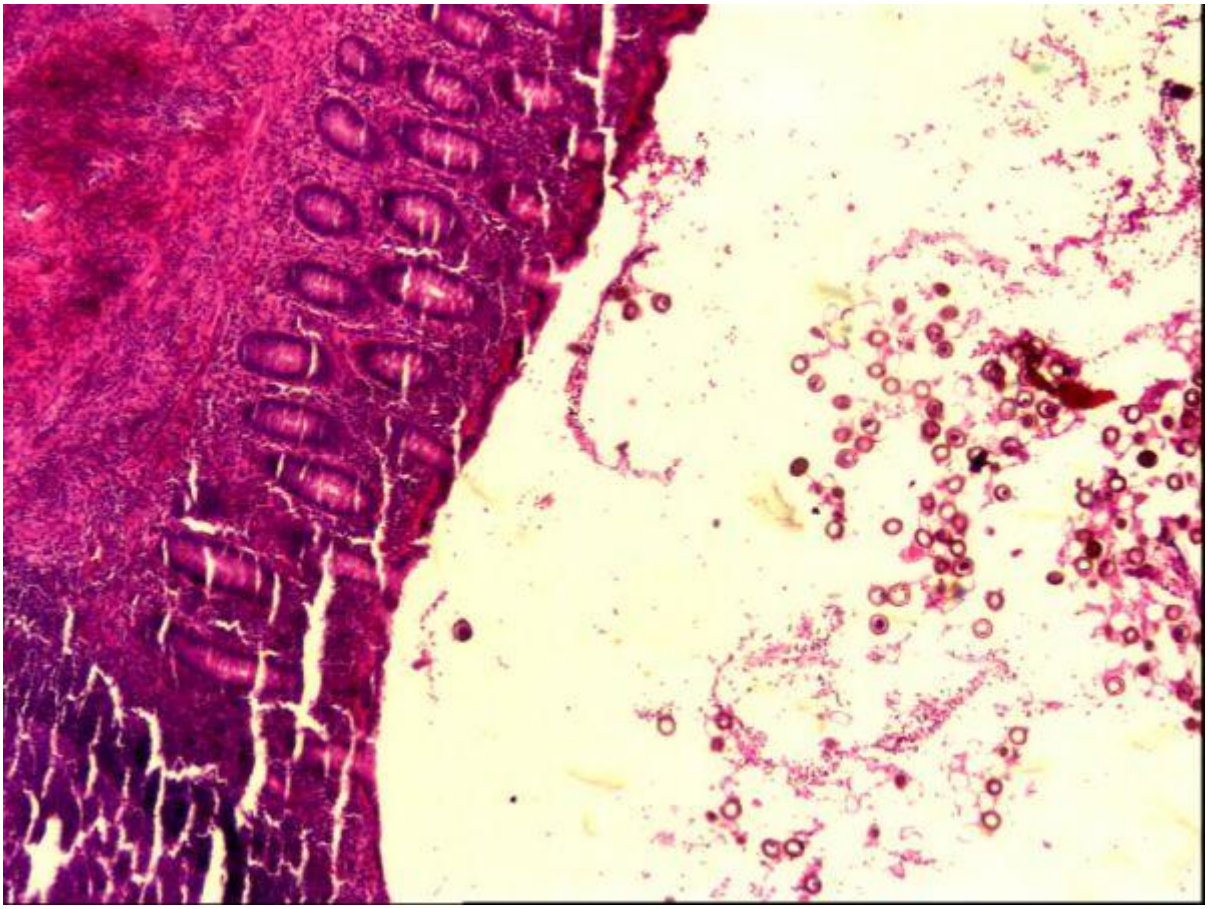
P301- APPENDİKS VERMİFORMİSTE TAENİA ENFEKSİYONU

Hadiye Demirbakan[1], Yasemin Kibar[2], Abdullah Tekin[3], Serap Toru[4]
[1]*Şehitkamil Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gaziantep*
[2]*Patoloji Laboratuvarı, Gaziantep*
[3]*Genel Cerrahi Kliniği, Gaziantep*
[4]*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, Antalya*

Amaç
Taenia saginata ve Taenia solium yassı solucanlar (cestod) grubundan olup yetişkin formları insan bağırsağında bulunur. Taenia enfeksiyonları direkt olarak çiğ ya da az pişmiş cysticercus larvası bulunan etlerin yenmesiyle ortaya çıkar. Işık mikroskopu ile Taenia türlerinin yumurtalarının ayrımı mümkün değildir.
Vaka
29 yaşında erkek hasta kliniğe sağ alt kadranda 7 gündür kramp tarzında ağrı ile başvurdu. Fizik muayenede hastada batında defans ve rebound saptandı. Akut batın ön tanısı ile batın açıldığında inflame olarak gözlenen appendikse appendektomi uygulandı. Ameliyat materyalinin parazitolojik ve histopatolojik incelemesinde tenya yumurtaları görüldü.
Işık mikroskopi ile T. saginata ve T. solium yumurtaları morfolojik olarak ayırt edilememektedir. Ancak bu olgu klinik olarak, hastanın Müslüman olması ve domuz eti yeme öyküsünün olmaması nedeniyle, spesifik parazitolojik ayrıma gerek duyulmadan T. saginata olarak değerledirilmiş ve hastaya oral niklozamid tedavisi uygulanmıştır.
Sonuç
Akut appendisit kliniği ile gelen hastalarda paraziter nedenlerin de olabileceği göz önünde bulundurulmadır. Paraziter nedenlerden en sık Enterebius vermicularis akut appendisit benzeri klinik tabloya yol açsa da tenyaların da etken olabileceği unutulmamalıdır.

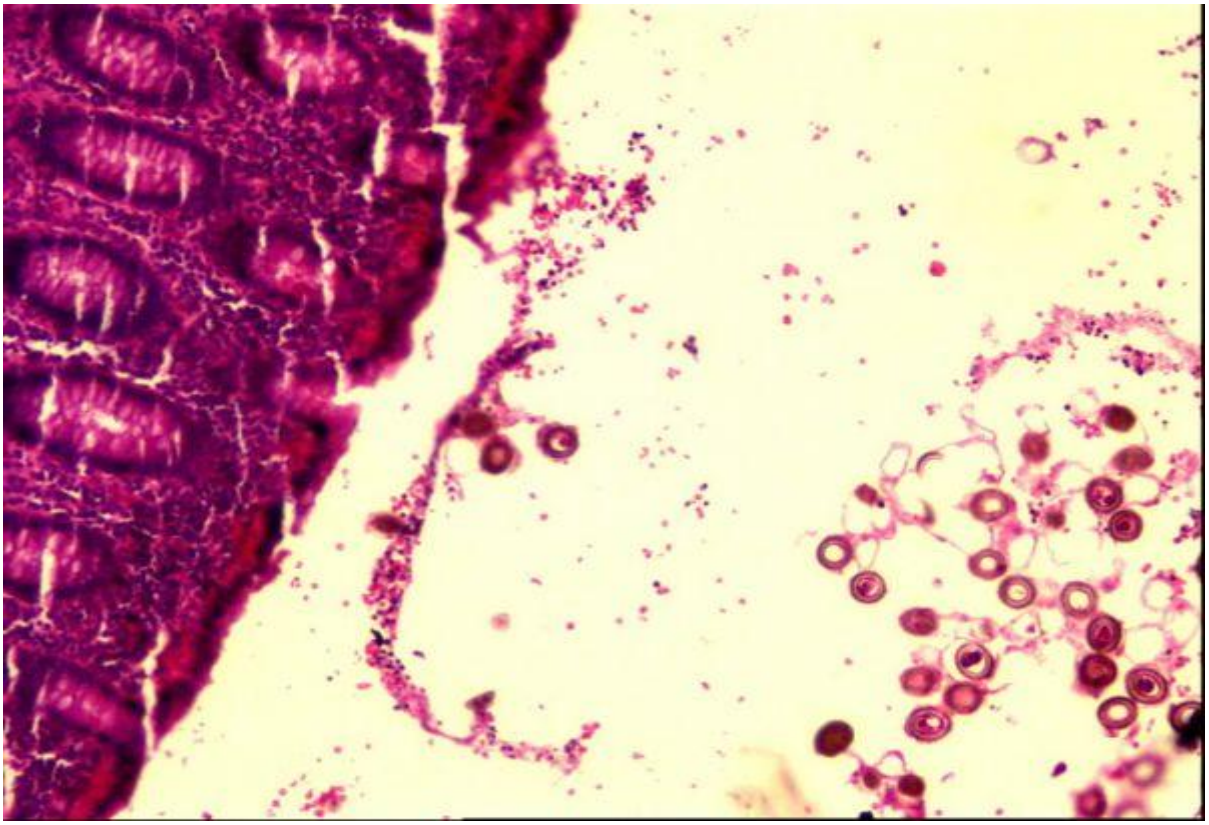
Anahtar Kelimeler: Appendiks, Appendisit, Taenia

Resim 1



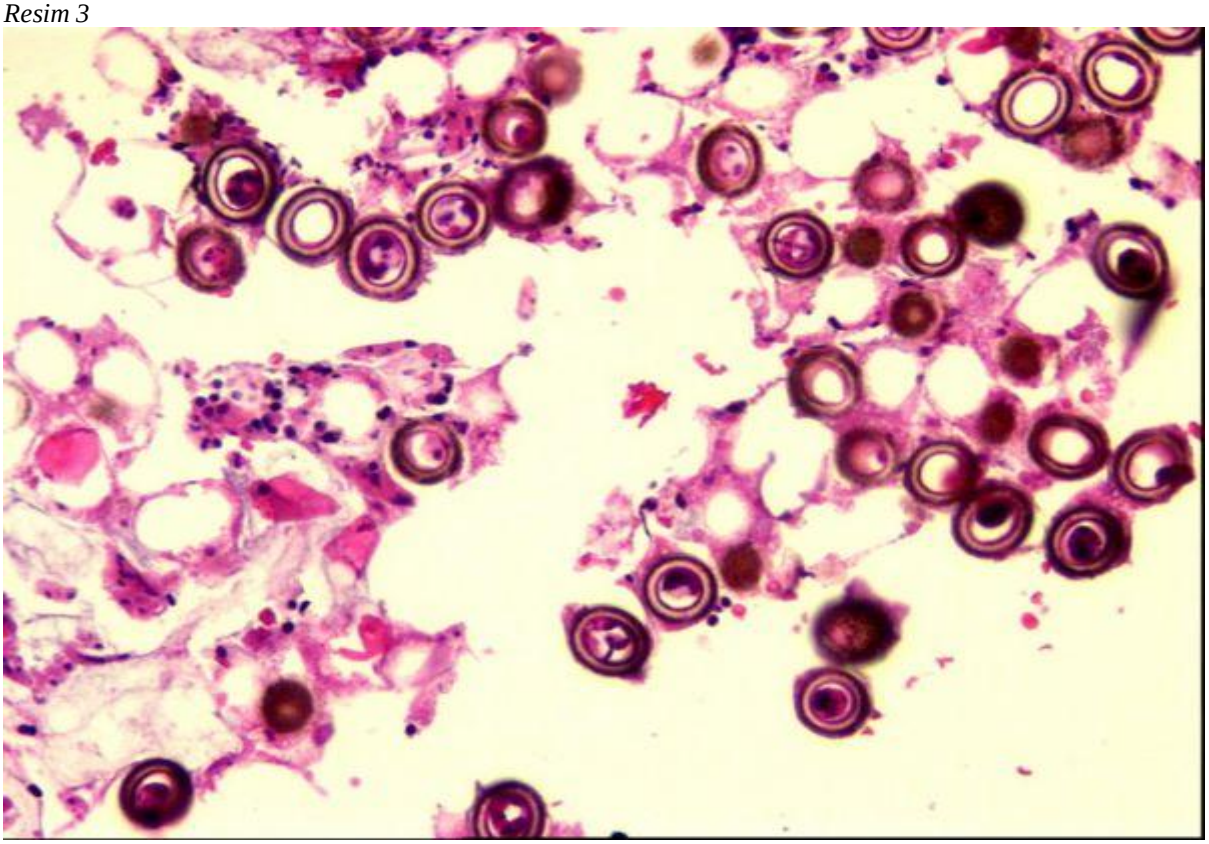
Appendiks vermiformis lümeninde Taenia yumurtaları (H&E x5)

Resim 2



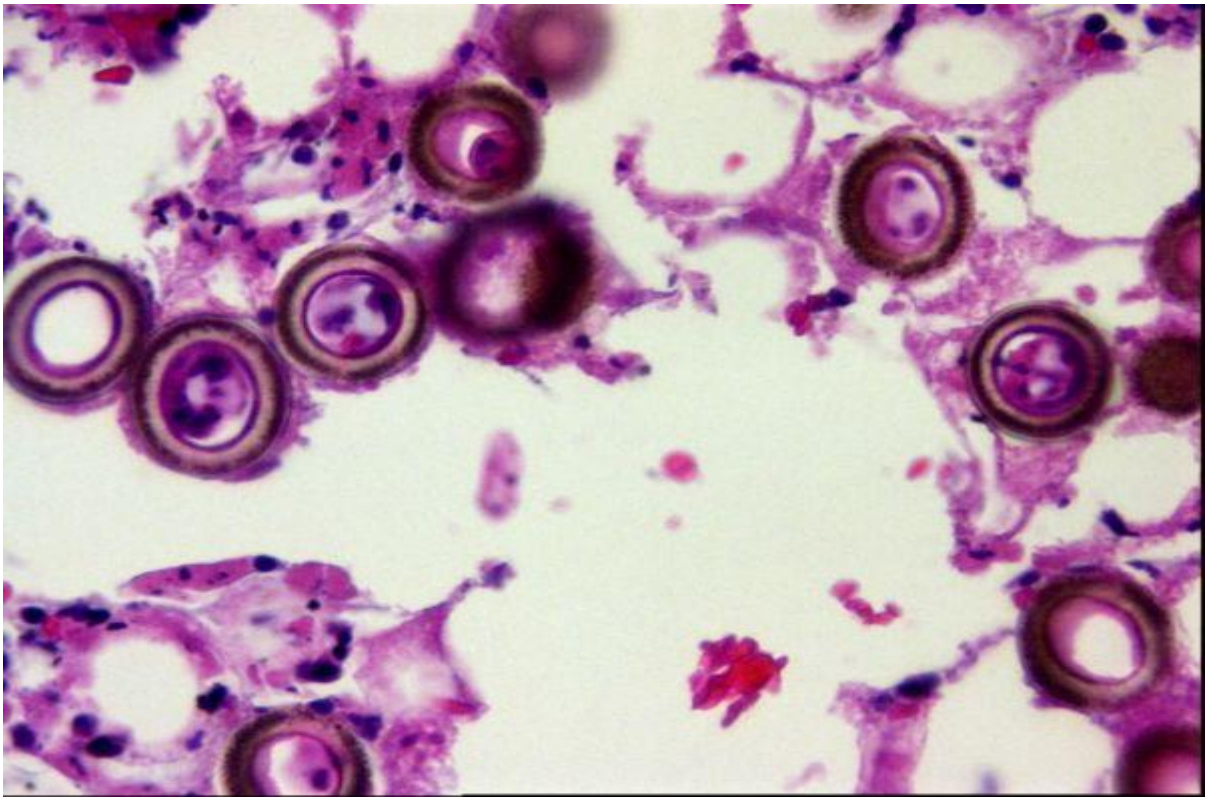
Appendiks vermiformis lümeninde Taenia yumurtaları (H&E x10)

Resim 3



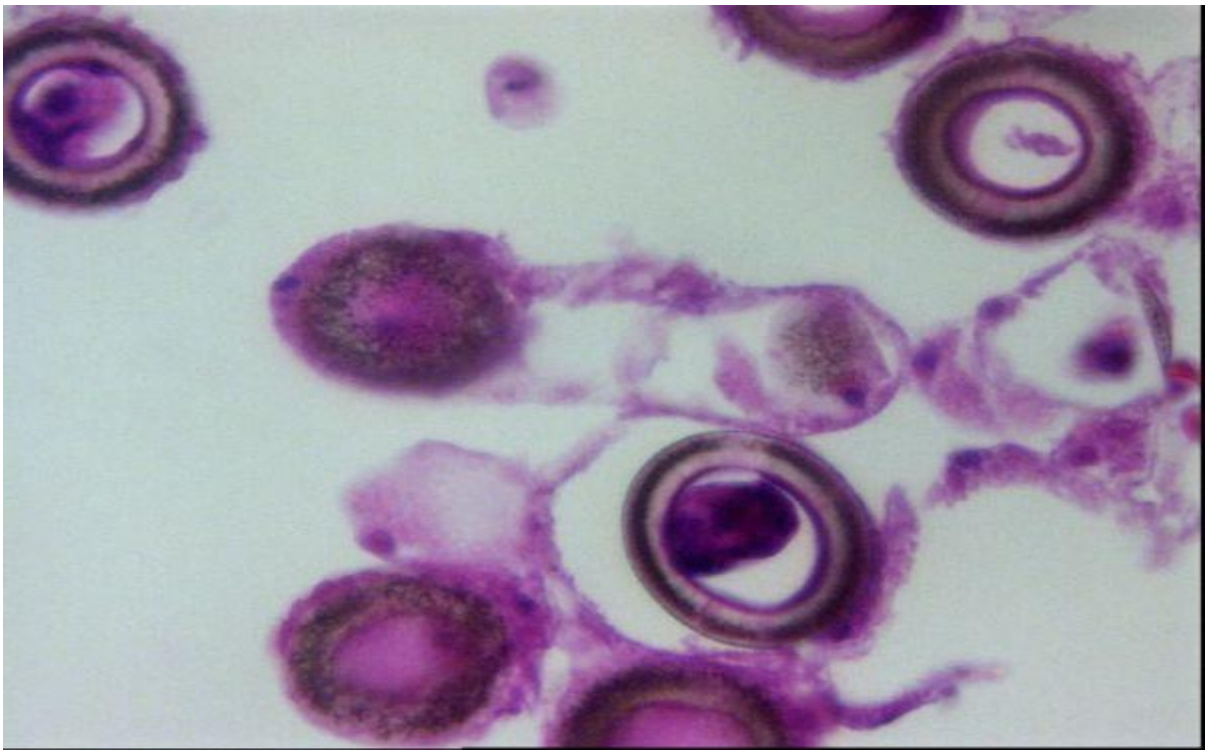
Taenia yumurtaları (H&Ex20)

Resim 4



Taenia yumurtaları (H&E x40)

Resim 5



Taenia yumurtaları (H&E x60)

.P302 - YAŞ GRUPLARINA GÖRE TOXOPLAZMA VE HEPATİT A SEROPOZİTİFLİKLERİ

Barış Yalçın, Bayhan Bektöre, **Mehmet Burak Selek**, Orhan Baylan, Mustafa Özyurt
Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul

Amaç
Marmara bölgesinde kadın ve erkeklerde, yaş grubuna göre seropozitiflik oranlarının belirlenmesi hedeflenmiştir.
Gereç-Yöntem
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Servisi seroloji laboratuvarından Nisan-Eylül 2011 tarihleri arasında tetkik ve kontrol amaçlı istenilen HAV-IgG ve Toxo-IgG testlerine ait sonuçlar 0-4, 5-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49 ve >=50 yaş grupları için ayrı ayrı retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
HAV-IgG açısından yapılan değerlendirmede 252 örneğin %79,3 (n: 200)'ü seropozitif bulunmuştur. Seropozitiftik oranları; kadınlarda, 0-4 yaş, 5-9 yaş, 10-19 yaş, 20-29 yaş, 30-39 yaş, 40-49 yaş ve >=50 yaş için sırasıyla; %1,3, %0, %2,6, %17,3, %17,3, %20 ve %41,3; erkeklerde ise %2,4, %0,8, %2,4, %34,4, %20, %20,8 ve %19,2 olarak saptanmıştır. Toxo-IgG açısından yapılan değerlendirmede ise 566 örneğin %29,1(n: 165)'inde seropozitiftik saptanmıştır. Seropozitiftik oranları; kadınlarda, 0-4 yaş, 5-9 yaş, 10-19 yaş, 20-29 yaş, 30-39 yaş, 40-49 yaş ve >=50 yaş için sırasıyla; %0,8, %0, %0, %38,3, %38,3, %5,8 ve %16,6; erkeklerde ise %0, %2,2, %2,2, %46,6, %11,1, %11,1 ve %26,6 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Maternal antikor düzeyleri (0-4 yaş grubu) HAV için %1.3-2.4, Toxoplasma için %0-0.8 oranları arasında değişmektedir. Seropozitif grup içerisinde 20 yaşa kadar olan popülasyonda seropozitivite oranı, cinsiyet farkı gözetilmeksizin HAV için %5 (n=10/200) ve Toxoplasma için %1,8 (n=3/165) olarak saptanmıştır. HAV-IgG seropozitifliği değerlendirildiğinde, erkek popülasyonda 20 yaş sonrası oranın belirgin olarak azaldığı (%34,4-19,2), kadın popülasyonda ise bu durumun tersine artış gösterdiği (%17,3-41,3) gözlenmiştir. Ayrıca doğurganlık çağındaki (20-39) kadın popülasyonundaki yüksek Toxo-IgG oranlarının (%38,3) 40 yaştan sonra düştüğü saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Toxo-IgG, HAV-IgG, Seropozitiflik

Hepatit A ve Toksoplazma Seropozitiflikleri

Test	Cinsiyet	Seropozitiflik (Yaş)							Seropozitiflik (Toplam)	Test Sayısı
		0-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49	≥50		
Anti-HAV IgG	K	%1,3	%0	%2,6	%17,3	%17,3	%20	%41,3	%79,3 (n=200)	252
	E	%2,4	%0,8	%2,4	%34,4	%20	%20,8	%19,2		
Anti-Toxoplasma IgG	K	%0,8	%0	%0	%38,3	%38,3	%5,8	%16,6	%29,1 (n=165)	566
	E	%0	%2,2	%2,2	%46,6	%11,1	%11,1	%26,6		

P303- KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE SAPTANAN BARSAK PARAZİTLERİ: YILLAR İÇİNDEKİ DEĞİŞİM

Gülden Sönmez Tamer, Devrim Dündar
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli

Amaç
Barsak parazitleri özellikle sosyo-ekonomik seviyesi düşük, gelişmemiş veya az gelişmiş ülkelerin önemli bir sağlık sorunudur. Yurdumuzda son yıllarda kentsel bölgelere göç, alt yapı hizmetlerinin iyileştirilmesine yönelik çalışmalar barsak parazitlerinin prevalansını önemli ölçüde azaltmıştır. Bu çalışmada Ocak 2009-Aralık 2010 tarihleri arasındaki iki yıllık sürede Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Parazitoloji Laboratuvarına başvuran 10.149 kişinin dışkı örneklerinin rutin parazitolojik inceleme sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş ve sonuçların geçmiş yıllarla ve diğer bölgelerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Tüm dışkı örnekleri önce makroskobik olarak, daha sonra serum fizyolojik-lugol, formol-etilasetat yoğunlaştırma yöntemleriyle incelenmiştir. Şüpheli örnekler ek olarak trikrom ve kinyon asit fast boyamayla araştırılmıştır. Ayrıca selofanlı lam yöntemi uygulanmıştır.
Bulgular
Toplam 10.149 dışkı örneğinin 623'ünde (%6.2) bir veya birden fazla parazite rastlanmıştır. Parazitlerin türlere göre kendi içinde dağılımları; 118'inde (%18.9) Giardia intestinalis, 123'ünde (%19.7) Entamoeba coli, 126'sında (%20.2) Enterobius vermicularis, 174'ünde (%27.9) Blastocystis hominis, 14'ünde (%2.24) Iodamoeba butschlii, 19'unda (%3.0) Dientamoeba fragilis, 8'inde (%1.3)Entamoeba histolytica/dispar, 13'ünde (%2.1) Taenia spp., 5'inde (%0,80) Chilomastix mesnili, 6'sında (%0.9) Hymenolepis nana, 12'sinde (%1.9) Cryptosporidium spp. ve 5'inde (%0.8) Strongyloides stercoralis şeklindedir.
Sonuç
Daha önce Ocak 2007- Aralık 2008 yılları arasındaki iki yıllık sürede yapılan kopro-parazitolojik incelemede örneklerin %11.8'inde bir veya birden fazla parazite rastlanmış, en sık görülen üç etken sırasıyla Entamoeba coli, Giardia intestinalis ve Blastocystis hominis olarak bildirilmiştir. İki yılı kapsayan bu araştırmamızda ise incelenen dışkı örneklerinin %6.2'sinde bir veya birden fazla parazite rastlanmış, en sık gördüğümüz paraziter etkenler sırasıyla Blastocystis hominis, Enterobius vermicularis ve Entamoeba coli olarak saptanmıştır. Bu çalışmada barsak paraziter enfeksiyon sıklığı daha önceki yıllarda bildirilen sonuçlardan ve Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerine göre daha düşük oranda bulunmuştur. Ancak paraziter hastalıklar ülkemiz için önemli bir problem olmaya devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Barsak parazitleri, trikrom boyama, prevalans

P304- DIŞKI YOĞUNLAŞTIRMA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI; MODİFİYE FORMOL ETİL ASETAT ÇÖKTÜRME YÖNTEMİ VE PARAKON®

Gülden Sönmez Tamer, Devrim Dündar
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Parakon, dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde kullanılmak üzere geliştirilmiş, kısa sürede sonuç veren kapalı sistem çöktürme yöntemidir. Ayrıca içerdiği formol ve triton-X ile parazitler morfolojik yapıları bozulmadan bir süre saklanabilmekte ve boyalı preparatlar hazırlanabilmektedir. Bu araştırmada, dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde kullanıma hazır Parakon® ile laboratuvarımızda rutinde koproparazitolojik tanıda kullandığımız formol etil asetat çöktürme yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Parazitoloji Laboratuvarına başvuran 318 hastanın dışkı örnekleri serum fizyolojik-lugol inceleme, modifiye formol etil asetat ve Parakon® çöktürme, trikrom ve modifiye asit fast boyama yöntemleriyle değerlendirilmiştir.
Bulgular
Toplam 318 hastanın rutin parazitolojik incelemesinde 102 hastanın en az bir barsak paraziti ile enfekte olduğu, bunların 93'ünün (%91.2) formol etil asetat çöktürme yöntemiyle, 86'sının (%84.3) Parakon® ile saptandığı görülmüştür. Parazitlerin morfolojik yapıları ve mikroskop altındaki görünümleri açısından herhangi bir fark saptanmamıştır.
Sonuç
Modifiye formol etil asetat çöktürme yöntemine göre parakon® ile incelenen dışkı miktarının daha küçük olması sebebiyle daha düşük oranda barsak paraziti saptansa da, daha az toksik olması, uygulama kolaylığı ve hemen incelenemeyecek örneklerde kullanılabilmesi nedeniyle özellikle yoğunlaştırma yöntemlerini kullanmayan laboratuvarlar için iyi bir seçenek olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dışkı yoğunlaştırma yöntemleri, parakon, formol etil asetat çöktürme yöntemi

P305- İSHALLİ OLGULARDA BARSAK KOKSİDİAN PROTOZOONLARININ ARAŞTIRILMASI

Gülden Sönmez Tamer, Devrim Dündar
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Kocaeli

Amaç
Cyclospora , Cryptosporidium ve Isospora türleri son yıllarda önemi giderek artan çocuklarda ve yetişkinlerde ishale neden olan koksidian parazitlerdir. Bu araştırmanın amacı rutin kopro-parazitolojik incelemelerde gözden kaçabilen veya başka nedenlerle tanısında sorun yaşanan barsak koksidian parazitlerinin ishalli olgularda görülme sıklığının araştırılmasıdır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Parazitoloji Laboratuvarına başvuran 385 ishalli hastanın dışkı örneği kullanılmıştır. Örneklerin tamamı serum fizyolojik-lugol inceleme, modifiye formol etil asetat çöktürme yöntemi ve kinyoun asit fast boyama yöntemleriyle koksidian parazitler açısından araştırılmıştır.
Bulgular
Toplam 385 örneğin direkt ve yoğunlaştırma sonrası serum fizyolojik-lugol inceleme yöntemi sonrası bir örnekte Cyclospora türlerine ait ookistler görülmüştür. Direkt Kinyoun asit fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların ikisinde Cyclospora türlerine, birinde Cryptosporidium türlerine ait ookistler saptanmıştır. Yoğunlaştırma yöntemi sonrası Kinyoun asit fast boyama ile üç örnekte Cyclosporatürleri, beş örnekte Cryptosporidium türleri olmak üzere toplam sekiz (%2.1) örnekte koksidian barsak protozoonu saptanmıştır. Yapılan kopro-parazitolojik incelemelerin hiçbirinde Isospora türlerine rastlanılmamıştır. Yoğunlaştırma yöntemleri sonrası kinyoun asit fast ile boyama yöntemi barsak koksidian protozoonlarının araştırılmasında istatistiksel olarak diğer yöntemlerden anlamlı bulunmuştur.
Sonuç
Rutin tanıda ishalli olgularda barsak koksidian protozoonlarının araştırılmasında yoğunlaştırma yöntemleri sonrası kinyoun asit fast boyamanın barsak koksidian protozoonlarının araştırılmasında en ideal yöntem olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Cryptosporidium spp., Cyclospora spp., Kinyoun asit-fast boyama

P306 - GASTROİNTESTİNAL YAKINMALARI OLAN ÇOCUKLARDA DÖRT FARKLI GAİTA TESTİ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Şaban Abdullah Kaya, Keramettin Yanık, **Osman Aydın**, Gökçe Çelep, Caner Urfalılar
Sabuncuoğlu Şerefeddin Devlet Hastanesi Kadın ve Çocuk Hastalıkları Bölümü, Amasya

Giriş-Amaç
Çocukların kliniğini önemli derecede etkileyen ve ciddi dehidratasyona neden olan gastroenterit etkenlerinin tanısı, tedavi ve hastaların izlemi açısından önemlidir. Çalışmada, çocuk polikliniğine gastrointestinal yakınmaları ile başvuran hastalara istenen dört farklı gaita test sonuçlarının yorumlamak, elde edilen sonuçları literatürle karşılaştırarak bölgemizden ilk kez olarak bu sonuçları klinisyenlerle paylaşmayı amaçladık.
Gereç-Yöntem
2009-2010 tarihlerinde bölgemizin tek Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi çocuk polikliniğe gastrointestinal yakınmaları ile başvuran 1540 çocuk hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalara klinik muayene sonucu aynı anda istenen rotavirüs, parazit aranması, direkt mikroskopi inceleme ve gizli kan testleri mikrobiyoloji laboratuarında hastalardan alınan dışkı örneklerine bekletilmeden çalışıldı. Preparat incelemesinde parazit etkenleri için serum fizyolojik ve lugol solüsyonu kullanılarak iki farklı lam lamel arası preperatlar hazırlanrak mikroskopta 10'luk ve 40'lık büyütmede incelendi. Şüpheli test sonuçları için hastalara yeni numune ile test tekrarı önerildi. Viral etkenlere yönelik olarak sadece Rotavirus için Rota sitrip testi, bakteriyel etkenleri için direkt mikroskopi incelemede lökosit varlığı araştırıldı. Bu testleri desteklemek ve olası farklı altta yatan diğer hastalıklar için gaitada gizli kan tespiti için ise Gikan kiti kullanılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya alınan 1540 çocuk hastanın 592 (%42,4) kız, 888 (%57,6) erkek ve yaş ortalamaları 4,6 idi. Bu hastalardan 599 (%38,9)'unda dört farklı testin herhangi birinde pozitiflik tespit edildi. 370 (%24) çocukta paraziter etkenlerden Entamoeba histolytica/dispar kistleri ve Enterebius yumurtası pozitif bulundu. 260 (%16,8) çocukta viral gastroenterit etkenlerinden rotavirüs pozitifliği tespit edildi. Çocukların 50(%3,2)'sinde ise bakteriyel etken düşündüren lökosit varlığı, 29 (%1,9)'unda ise altta yatan bir hastalığın yanında yanlış pozitiflik veya kan kaybına neden olan paraziter bir hastalıktan şüphelenilen gaitada gizli kan pozitifliği bulunmuştur. 50(%3,2) çocuk hastada ise dört farklı testin aynı anda pozitif bulunurken biri invazif özellikte olan en az iki farklı etkenle enfekte oldukları kanısına varıldı. Testlerin diğer testlerle birlikte değerlendirilmesi tercih edilmediğinde bu testlere ait pozitiflik oranlarının daha da azaldığı görüldü. Vakaların test sonuçlarına göre mevsimsel dağılımı incelendiğinde Entamoeba histolytica/dispar kisti tespit edilen vakaların sıcak aylarda arttığı, Enterobius tepit edilen çocukların ise mevsimlere göre değişiklik göstermediği görüldü. Çocuklarda çok sık görülen Enterobius vermicularis etkeninin selofon bant yöntemiyle bakılmadığından pozitif tespit edilen hastalar bu etkenin bölgemizdeki sıklığını tam olarak yansıtmamaktadır. Çocuklarda viral gastroenterit etkenleri arasında sık görülenlerden, rotavirus pozitif vakaların soğuk aylarda sıcak aylara göre daha da arttığı tespit edildi. Bakteriyle etken düşündüren vakaların ise ilkbahar ayı haricinde yılın her ayında görülebildiği saptandı. Gizli kan testine ait pozitiflik ise mevsimsel özellik göstermediği kanısına varıldı. Tablo1.
Sonuç
Gastrointestinal yakınmaları olan çocuklarda viral,paraziter, gizli kan ve lökosit varlığını gösteren dört farklı testin bir arada çalışılmasının hastaların kliniğinin açıklanmasında ve ayırıcı tanısında önemli olduğu kanısına varıldı. Ancak bu testlerin sonuçları hastaların kliniğiyle birlikte değerlendirildiğinde daha fazla anlamı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Çocuk, gastrointestinal yakınma, rotavirus, parazit, bakteriyel etkenler

Tablo 1: Dört farklı Gaita testi pozitif hastaların mevsimlere göre dağılımı

	Parazit Tespit Edilen Hastalar n:370		Viral Etken Pozitif Hastalar n:260	Bakteriyel Etken ? Pozitif Hastalar n:50		Gizli Kan	Tüm Testler Pozitif
AYLAR	E.histolitica/dispar	Enterobius	Rotaviruas	Lökosit Pozitif olanlar	Gizli Kan ve Lökosit	(+)	(+)
Ocak (n:130)	15	6	28	9	0	0	**0**
Şubat (n:154)	27	4	33	8	1	3	**3**
Mart (n :129)	28	3	28	6	1	1	**4**
Nisan (n 126)	22	5	26	0	0	3	**4**
Mayıs (n:121)	22	4	21	0	0	5	**3**
Haziran (n:130)	26	5	20	0	0	3	**7**
Temmuz(n:119)	39	5	10	4	2	4	**2**
Ağustos (n:139)	41	5	9	3	1	1	**6**
Eylül (n:114)	34	2	16	2	0	4	**6**
Ekim (n:149)	26	4	21	3	0	2	**6**
Kasım (n:115)	18	3	27	5	0	1	**3**
Aralık (n: 114)	23	3	21	5	0	2	**6**
TOPLAM	321 (%20,8)	49(%3,2)	260(%16,9)	45(%2,9)	5(%0,3)	29(%1,9)	50(%3,2)

n:Test çalışılan toplam hasta sayısı.

Tablo2: Tek başına değerlendirilen gaita testi sonuçaları.

AYLAR	Tüm Testler Pozitif Hastalar	Sadece Parazit Testi Pozitif Hastalar	Sadece Rotavirus Pozitif Hastalar	Sadece Lökosit Pozitif Hastalar	Sadece Gizli Kan Pozitif Hastalar
Ocak (n:130)	0	6	24	5	0
Şubat (n:154)	3	7	20	7	2
Mart (n :129)	4	15	20	4	1
Nisan (n 126)	4	12	18	0	2
Mayıs (n:121)	3	12	14	0	5
Haziran (n:130)	7	14	11	0	3
Temmuz(n:119)	2	28	2	0	2
Ağustos (n:139)	6	28	2	2	1
Eylül (n:114)	6	22	4	2	0
Ekim (n:149)	6	15	8	2	0
Kasım (n:115)	3	13	20	5	0
Aralık n 114	6	10	11	5	0
TOPLAM	50(%3,2)	182(%12,5)	154 (%10)	32(%2,2)	16(%1,1)

n:Belirtilen ayda dört farklı gaita testi çalışılan toplam hasta sayısı.

Tablo3:Gaita testlerinin birlikte pozitifliğinin değerlendirlemesi

AYLAR	Tüm Testleri Pozitif Hastalar	Parazit ve Lökosit Pozitif Hastalar	Parazit, Lökosit ve Gizli Kan Pozitif Hastalar	Rotavirus ve Lökosit Pozitif Hastalar	Parazit ve Rotavirus Pozitif Hastalar	Rotavirus ve Gizli Kan Pozitif Hastalar	Gizli Kan ve Lökosit Pozitif Hastalar lökosit
Ocak (n:130)	0	13	2	4	0	0	0
Şubat (n:154)	3	12	3	3	6	1	1
Mart (n :129)	4	3	6	1	3	0	1
Nisan (n 126)	4	2	6	0	3	1	0
Mayıs (n:121)	3	1	6	0	4	0	0
Haziran (n:130)	7	1	7	0	2	0	0
Temmuz(n:119)	2	10	2	2	2	2	2
Ağustos (n:139)	6	8	3	0	1	0	1
Eylül (n:114)	6	6	0	0	2	4	0
Ekim (n:149)	6	5	0	1	4	2	0
Kasım (n:115)	3	2	1	0	3	1	0
Aralık n 114	6	6	2	0	2	2	0
TOPLAM	50 (%3,2)	69 (%4,5)	38 (%2,6)	11 (%0,8)	32 (%2,1)	13 (%0,9)	5 (%0,3)

n:Belirtilen ayda dört farklı gaita testi çalışılan toplam hasta sayısı.

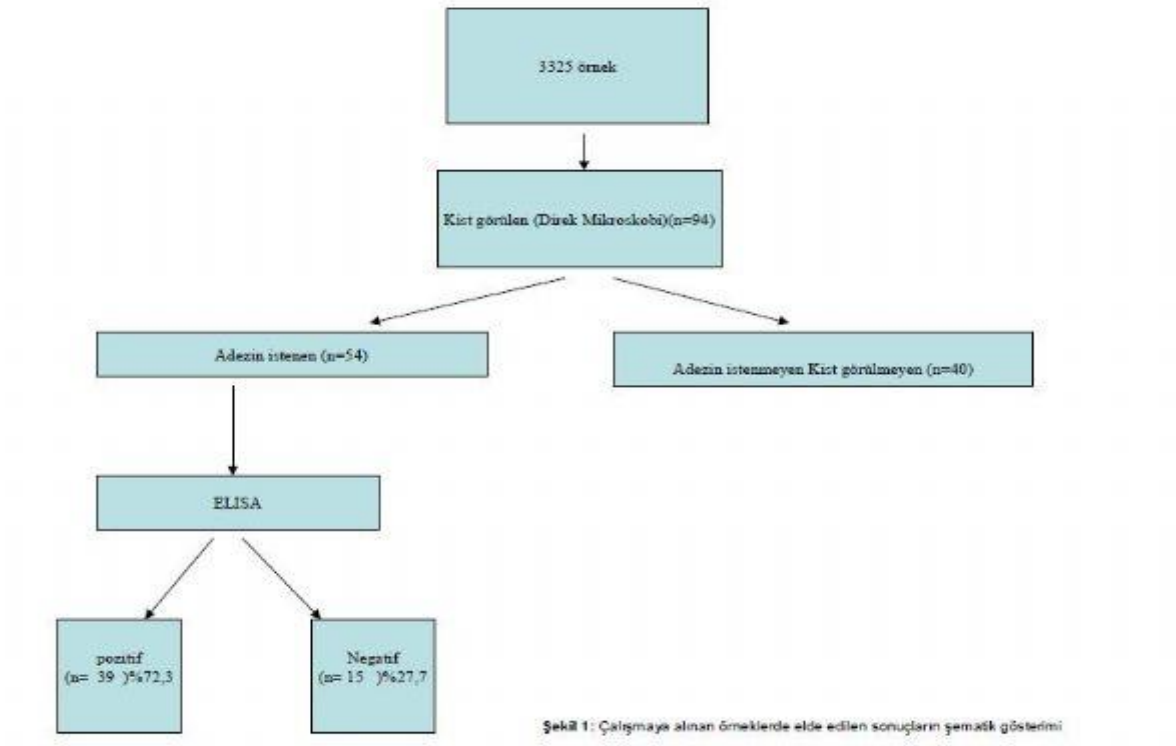
P307 - DIŞKI ÖRNEKLERİNDE ELISA YÖNTEMİ İLE ENTAMOEBA HİSTOLYTİCA/DİSPAR SIKLIĞININ SAPTANMASI

Hacer İşler, Selim Görgün, Melek Bilgin, Eşe Akbulut
Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Samsun

Amaç
Amebiasis, gelişmekte olan ülkeler için halen önemli bir sağlık sorunudur. İnsanlar Entamoeba'nın amibik kolit ve karaciğer absesine neden olan E.histolytica ve nonpatojen E.dispar olmak üzere morfolojik olarak ayırt edilemeyen iki türü tarafından enfekte olmaktadır. Çalışmamızda laboratuvarımıza Ocak 2011- Eylül 2011 ayları arasında başvuran hastaların dışkısında direkt mikroskobi ile E.histolytica/E.dispar kisti saptanan örneklerde ELISA yöntemiyle E.histolytica adhezin antijeni araştırmak amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında Samsun Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına, çeşitli poliklinik ve servis hastalarından gönderilen dışkı örnekleri incelenmiştir. Hastalardan yalnızca amip kistleri saptananlara ait; cinsiyet, yaş, geldiği poliklinik veya servis ve geliş tarihi gibi bilgiler kaydedilmiştir. Direkt incelemede amip kistleri görülen örneklerde ELISA (Wampole TM E. histolytica II,Adhesin kiti,U.S) kiti ile E. histolytica'ya ait spesifik adhesin antijeni araştırılmıştır. ELISA testi firmanın önerileri doğrultusunda ve bu iş için deneyimi olan personelimiz tarafından uygulanmıştır.
Bulgular
Toplam 3325 dışkı nativ-lugol metodu ile incelenmiştir. Bu dışkıların %52,12 (49) erkek, %47,87 (45) kadın olmak üzere toplam 94'ünde (%2,82) amip kisti görülmüştür. Bu istemlerin en sık ayda 20 (%21,27) ile Haziran ve Temmuz ayında, en az 3'ü (%3,19)nün de Ocak ayında yapıldığı gözlenmiştir. Amip kisti görülen dışkı örneklerinin 54'ünden (%57,44) E. histolytica'ya spesifik adhesin antijeni istendiği, 40'ından (%42,55) ise istenmediği, görülmüştür. E. histolytica'ya spesifik adhesin antijeni bakılan 54 dışkıdan 15'inde (%27,7) negatiflik, 39'unda (%72,3) pozitiflik saptanmıştır.
Sonuç
Bizim çalışmamızda da görüldüğü gibi E. histolytica tespitinde sadece direkt boyasız incelemenin yalancı pozitiflik oranı yüksektir. Dolayısıyla amip varlığından şüphelenilen hastalarda gereksiz tedaviden kaçınmak için direkt boyasız mikoskobik incelemeye ek olarak ELISA testinin de çalışılması yalancı pozitiflikleri önleyecektir.

Anahtar Kelimeler: Entamoeba histolytica, Entamoeba histolytica Adhesin antijeni, ELISA

Şekil 1



Şekil 1: Çalışmaya alınan örneklerde elde edilen sonuçların şematik gösterimi

tablo 1

Çalışma	Yıl	Toplam örnek sayısı	ELISA (-) Amip saptanan örnek sayısı	(*E. histolytica*'ya özgün antijen saptanan) örnek sayısı	Amip saptanan örnekler içinde *E. histolytica* saptananların yüzdesi
Taylan Özkan ve ark.	2005	231	81	35	43.2
Doğruman Al ve ark.	2005	?	29	15	51.7
Tuncay ve ark.	2007	9378	33	18	54.5
Delialioğlu ve ark.	2008	272	29	21	72.4
Delialioğlu ve ark.	2004	88	18	14	77.7

Diğer Merkez Çalışmaları

tablo 2

	Ocak 2011	Şubat 2011	Mart 2011	Nisan 2011	Mayıs 2011	Haziran 2011	Temmuz2011	Ağustos2011	Eylül 2011	TOPLAM
ELISA (+)	1	2	2	2	3	8	8	7	6	39
ELISA (-)	1	1	1	1	2	2	2	3	2	15
Toplam	2	3	3	3	5	10	10	10	8	54

Samsun ELISA sonuçları

P308 - HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLABİLEN BAZI MANTARLARIN ÇEŞİTLİ KUMAŞ TÜRLERİNDE YAŞAM SÜRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özlem Koca, **Ülkü Altoparlak**, Ahmet Ayyıldız
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD , Erzurum

Amaç
Özellikle son yıllarda, hastanede kazanılan eksojen ve/veya endojen kaynaklı mantar infeksiyonları önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır. Kontamine olmuş yüzeyler, hastane ortamındaki patojen mikroorganizmaların yayılımına neden olmaktadırlar. Bu çalışmada hastane infeksiyonlarına yol açabilen bazı mantarların çeşitli kumaş türlerindeki yaşam sürelerinin araştırılması amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda, hastanelerde sık kullanılan bazı kumaş tipleri (yün, ipek, pamuk, pamuk-polyester), Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, Candida glabrata, Candida parapsilosis, Cryptococcus neoformans, Geotrichum candidum, Aspergillus fumigatus suşları ile kontamine edilerek, yaşam süreleri mikolojik kültür yöntemleri ile tespit edildi.
Bulgular
Bulgular tabloda özetlenmiştir.
Sonuç
Hastane infeksiyonu etkenleri arasında sayılan mantar türleri, hastanelerde sıklıkla kullanılan kumaş türleri üzerinde uzun süre canlılıklarını devam ettirmektedirler. Bu durum; yatak çarşafları, battaniye, havlu, personel önlükleri, hasta kıyafetleri, üniforma ve perde gibi malzemelerin değiştirilmesi, temizlenmesi ve dezenfeksiyonunda var olan standartlara hassas bir şekilde uyulması gerekliliğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kumaşlar, Hastane infeksiyonu, Mantarlar, Yaşam süreleri

Mantarların kumaş türleri üzerindeki yaşam süreleri (gün)

Mantarlar	Pamuk	Pamuk–Polyester	Yün	İpek
C. albicans	7	7	11	11
C. tropicalis	4	9	>30	23
C. krusei	4	7	>30	21
C. glabrata	>30	>30	>30	>30
C. parapsilosis	>30	>30	>30	>30
G. candidum	22	7	11	7
A. fumigatus	>30	>30	>30	26
C. neoformans	>30	>30	>30	>30

P309 - FUNGEMİ ETKENLERİNİN BEŞ YILLIK DAĞILIMI

Feza Otağ, Umut Çağdaş, Şahin Direkel, Mehmet Yarpuzlu, Gürol Emekdaş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

Amaç
Kan kültürlerinden Candida türlerinin doğru ve hızlı identifikasyonu fungal kan dolaşımı infeksiyonlarla ilgili mortalite ve morbiditeyi azaltmak ve etkili antifungal tedavi sağlamak için önemlidir. Beş yıllık süreçte (2006-2011) laboratuvarımıza gönderilen hemokültür örneklerinden izole edilen mantarların türlere, servislere ve yıllara dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Hastanemizin çeşitli servisleri ve yoğun bakım ünitelerindeki pediatrik ve erişkin hastalardan gönderilen hemokültür örneklerinden izole edilen mantarlar çalışmaya dahil edilmiştir. Mantarların izolasyonu ve identifikasyonunda konvansiyonel yöntemler (mısır unu-tween 80 agarda hif ve blastospor oluşumunun izlenmesi, çimlenme borusu deneyi), kromojenik besiyeri (CHROMagar Candida, BBL), gerektiğinde ticari identifikasyon sistemi (API 20C-AUX, Bio-Merieux, Fransa), laktofenol pamuk mavisi boyama yöntemi kullanılarak yapılmıştır.
Bulgular
Laboratuvarımıza 5 yıllık süreçte gönderilen 45709 hemokültür örneğinin 987'sinde fungemi etkeni tespit edilmiştir. Bu örnekler 408 hastaya ait olup 116 (%28.4)'sı pediatrik, 292 (%71.6)'si erişkin yaş grubunda idi. Sıklık sırasıyla, 695 (%70.4) C. parapsilosis, 156 (%15.8) Candida albicans, 55 (%5.6) C. tropicalis, 36 (%3.6) C. glabrata, 12 (%1.2) C. kefyr, 7 (%0.7) C. krusei, 7 (%0.7) C. pelliculosa, 7 (%0.7) C. guillermondi, 3 (%0.3) Pichia ohmeri, 2 (%0.2) Geotrichum capitatum, 2 (%0.2) Cryptococcus neoformans, 2 (%0.2) C. norvegensis, 1 (%0.1) Cryptococcus albidus, 1 (%0.1) Saccharomyces cerevisiae ve 1 (%0.1) Fusarium izole edilmiştir.
Sonuç
C. albicans, fungeminin en sık etkeni olarak bilinmekteyken, kateterizasyon artışına parelel olarak bizim çalışmamızda olduğu gibi albicans dışı Candida türleri lehine giderek arttığı bildirilmektedir. Fungemi şüpheli hastalarda ve kateterizasyonun izlenmesinde Candida türlerinin belirlenmesi, hastane infeksiyonlarının önüne geçilmesi ve morbidite-mortalitenin düşürülmesinde faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: fungemi, hemokültür, Candida türleri, Fusarium, Mersin

Fungemi etkeni mantarların yıllara ve türlere göre dağılımı

Fungemi Etkeni Mantarların Türlere ve Yıllara Göre Dağılımı

Yıl	Kan kültürü/ Toplam kültür	C.alb (H/S)	C.para (H/S)	C.trop (H/S)	C.glab (H/S)	C.kef (H/S)	P.ohm (H/S)	C.kru (H/S)	C.pel (H/S)	G.capit (H/S)	C.neo (H/S)	C.guil (H/S)	C.nor (H/S)	S.cer (H/S)	F.equ (H/S)	Toplam Hasta	Toplam Suş
2006	6858/22950	10/17	45/95	5/8	7/12		1/2	1/1			1/1					70	136
2007	7450/27813	9/16	31/54	8/14	2/3	3/4		1/1			1/1		1/2			56	95
2008	7120/29571	11/16	36/76	5/5	2/3	1/3	1/1		1/1			1/1		1/1		59	107
2009	8673/32559	21/46	44/219	6/10	5/11	1/1		1/2	1/5	2/2	1/1				1/1	83	298
2010	9118/33281	21/40	58/172	5/7	2/2	1/2		2/3	1/1							90	227
2011	4830/15153	10/21	29/79	5/11	4/5	1/2						1/6				50	124
Toplam	44089/161327	82/156	243/695	34/55	22/36	7/12	2/3	5/7	3/7	2/2	3/3	2/7	1/2	1/1	1/1	408	987

H/S: Hasta sayısı/Suş sayısı, **C.alb:** *Candida albicans*, **C.para:** *Candida parapsilosis*, **C.trop:** *Candida tropicalis*, **C.glab:** *Candida glabrata*, **C.kef:** *Candida kefyr*, **P.ohm:** *Pichia ohmei*, **C.kru:** *Candida krusei*, **C.pel:** *Candida pelliculosa*, **G.capit:** *Geotrichum capitatum*, **C.neo:** *Cryptococcus neoformans*, **C.guil:** *Candida guilliermondii*, **C.nor:** *Candida norvegensis*, **S.cer:** *Saccharomyces cerevisiae*, **F.equ:** *Fusarium equiseti*

Albicans ve non-albicans mantarların yıllara ve yaş grubuna göre dağılımı

Yıllar	Alb/Non-alb	Pediatri	Erişkin	Toplam
2006	C.albicans	4	13	**17**
	Non- albicans	14	105	**119**
2007	C.albicans	5	11	**16**
	Non- albicans	22	57	**79**
2008	C.albicans	9	7	**16**
	Non- albicans	22	69	**91**
2009	C.albicans	26	18	**44**
	Non- albicans	76	178	**254**
2010	C.albicans	19	21	**40**
	Non- albicans	35	152	**187**
2011	C.albicans	3	18	**21**
	Non- albicans	28	75	**103**
Toplam		**263**	**724**	**987**

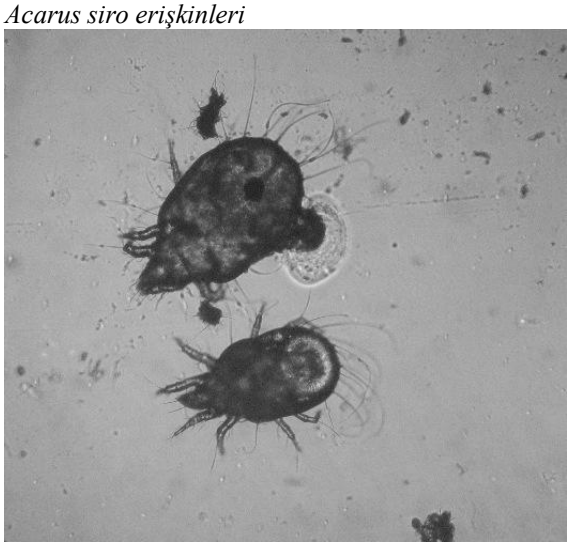
P310 - KÜF MANTARI PASAJI YAPILAN BİR BESİYERİNDE SAPTANAN ACARUS SİRO

Aslıhan Yonca Koçak[1], **Gülay Aral Akarsu[2],** Aydın Karaarslan[3]
[1]*Evliya Çelebi Devlet Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Kütahya*
[2]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Tıbbi Parazitoloji BD, Ankara*
[3]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Deri kazıntı örneklerinden dermatofitlerin araştırılması sırasında besiyerinde akarcıkların da saptanabileceğine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.
Vaka
Psöriazis tanısı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'nda takip edilen hastalarda gözlenen deri ve tırnak değişikliklerinde dermatofit enfeksiyon sıklığı, etken olan dermatofit ve psöriazisin klinik tipi ve şiddetiyle ilişkisinin saptanması amacıyla yapılan bir çalışma sırasında alınan kazıntı örnekleri, direkt mikroskopi ve kültür yöntemleri ile değerlendirilmiştir. İzolasyon ve identifikasyon klasik mikolojik yöntemlerle yapılmıştır. Sabouraud dekstroz agar besiyerinde üreyen bir küf kolonisinden patates dekstroz agar besiyerine yapılan pasajın 12. gününde bol miktarda hareketli artropod görülmesi üzerine mikroskobik bakı sonucunda bunların bir tahıl akarcığı olan Acaridae ailesinden Acarus siro olduğu anlaşılmıştır.
Sonuç
Grimsi beyaz bir renge ve sarıdan kahverengine kadar değişen renkte bacaklara sahip ve 200-500 µm boyunda olan A. siro tahıl akarcıkları arasında en sık rastlanan artropoddur. İkinci ve üçüncü çift bacakları arasında bir kesiğe ve arka tarafından çıkan uzun tüylere sahiptir. Yumurtadan erişkine kadar gelişim oda şartlarında 10 gün-3 hafta arasında meydana gelmektedir. Erişkin ise 30-50 gün yaşamaktadır. Genel olarak A.siro'nun besinleri arasında mantarlar da bulunurken, ayaktaki mantarlarla da beslenebildikleri bildirilmiştir. Bu akarcıkların hasta materyaliyle beraber geldiği ve besiyerinde uygun sıcaklık, nem ve beslenme koşulları altında iyi bir şekilde geliştiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Acarus siro, dermatofit, besiyeri

Acarus siro erişkinleri



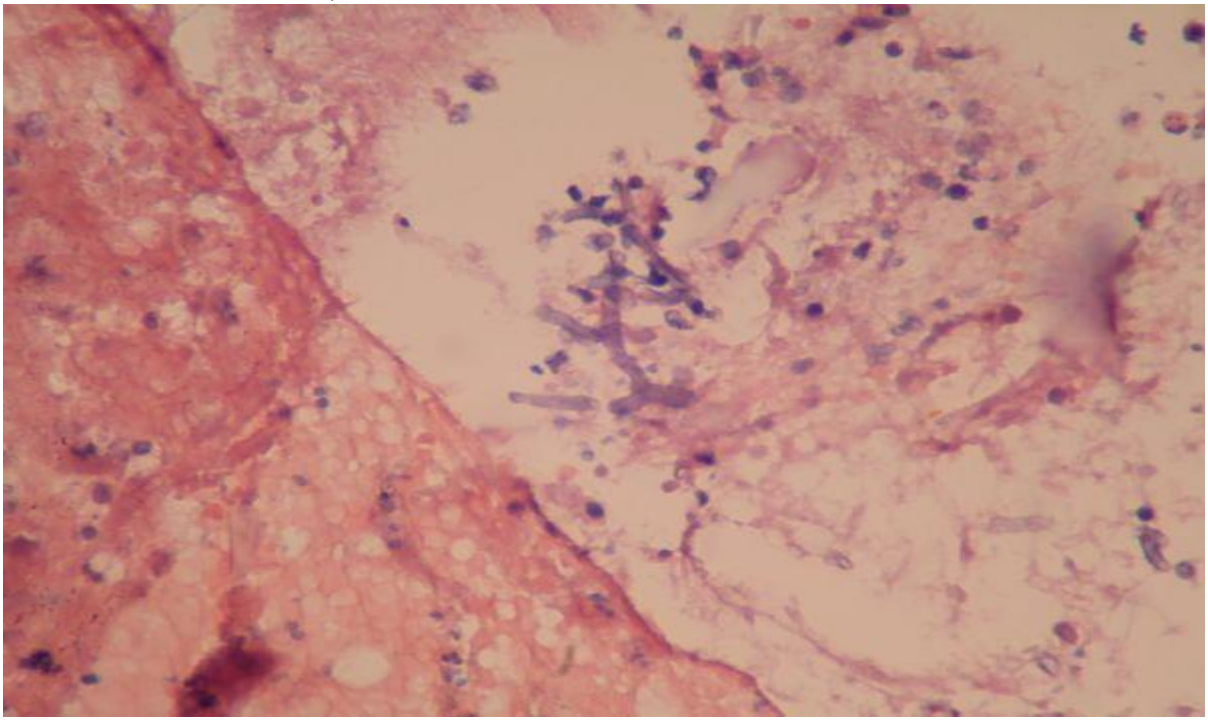
P311- İMMÜNSUPRESİF HASTADA GELİŞEN YUMUŞAK DOKU ABSESİNİN NEDENİ: ASPERGİLLUS FUMİGATUS

Alicem Tekin[1], Tuba Dal[1], Recep Tekin[2], Özcan Deveci[2], Uğur Fırat[3], Mahmut Mete[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.BD, Diyarbakır*
[3]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji A.BD, Diyarbakır*

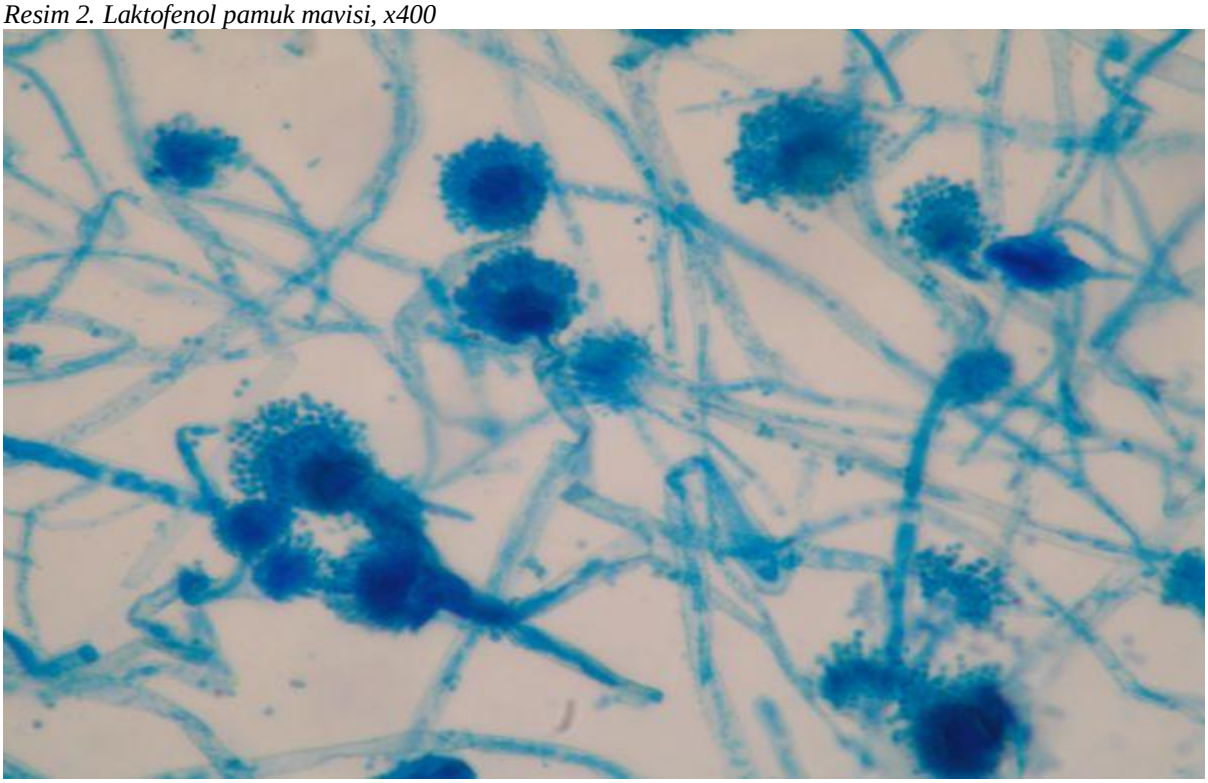
Amaç
Aspergilloz, özellikle nötropenik ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkabilen, mortalitesi yüksek fırsatçı bir enfeksiyondur. Bu hastalarda sıklıkla invaziv pulmoner aspergilloz görülürken, yumuşak doku aspergillozu nadirdir. Bu çalışmada kalp transplantasyonu sonrası gelişen yumuşak doku aspergillozu olgusunun klinik, laboratuvar ve tedavisi irdelendi.
Olgu
Otuz dokuz yaşındaki erkek hasta on gündür devam eden yüksek ateş, sağ kalçada şişlik ve ağrı şikayeti ile enfeksiyon hastalıkları kliniğine yatırıldı. Hastaneye yatış esnasında yapılan genel fizik muayenesinde; ateş: 39.1°C, tansiyon arteryel: 110/60 mmHg, nabız: 92/dk, solunum sayısı: 18/dk, genel durumu orta ve şuur açık idi. Fizik muayenesinde sağ kalçada şişlik ve kızarıklık mevcut olup, diğer sistem muayeneleri normal idi. Hastanın laboratuvar tetkiklerinde; lökosit sayısı: 12.000/mm3, eritrosit sedimentasyon hızı: 155 mm/saat, C-reaktif protein düzeyi: 24 mg/dl olarak saptandı. Hastaya ampirik olarak 6 gr/gün dozunda ampisilin/sulbaktam tedavisi başlandı. Yapılan yumuşak doku ultrasonografisinde; sağ uyluk proksimal kesimde posterolateral yerleşimli cilt yüzeyinden 1.5 cm derinlikte kas dokusu içerisinde yaklaşık 12x3 cm boyutlarında yoğun içerikli septalı sıvı koleksiyonu (abse?) izlendiği raporlandı. Abse cerrahi olarak drene edildi. Ameliyat sırasında lezyondan alınan materyaller hem mikrobiyoloji hem de patoloji laboratuvarlarına incelenmek üzere gönderildi. Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan gram boyalı preparatlarda dallanan septalı hifalar görüldü. Aynı zamanda materyalden Sabouraud's Dextrose agar besiyerine ekim yapıldı. Kültür plakları hem 25°C hem de 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası besiyeri yüzeyinde üreyen küf mantarı kolonilerinin sarı-yeşil pigmentasyon gösterdiği ve kolonilerden hazırlanan laktofenol pamuk mavisi preparatlarında vezikül, fialid ve konidyaların spesifik görüntüleri gözlendi. Patoloji laboratuvarına gönderilen materyalden hazırlanan hematoksilen-eozin boyalı preparatta da doku içerisinde dallanma gösteren septalı hifalar izlenmesi nedeniyle Aspergillus fumigatus tanısı konuldu. Hastaya 5 mg/kg/gün dozunda IV olarak amfoterisin B tedavisi başlandı ve tedavi süresi 14 güne tamamlandı. Semptomları azalan ve lezyonu iyileşen hasta kontrole gelmek üzere taburcu edildi.
Sonuç
Aspergillusa bağlı gelişen enfeksiyonlar immünsuprese bireylerde sıklıkla invaziv formda, mortal seyreden enfeksiyonlar şeklinde karşımıza çıkabilmektedir. Bu hastalarda invaziv pulmoner aspergilloz daha sık görülürken, yumuşak doku aspergillozu nadirdir. Immünsuprese hastalarda gelişen yumuşak doku abselerinde etken olarak aspergillus mutlaka akılda tutulmalıdır. Bu hastalarda erken tanı ve antifungal tedavi mortalite ve morbiditeyi önemli derecede azaltacaktır.

Anahtar Kelimeler: Aspergilloz, Aspergillus fumigatus, immünsupresif, yumuşak doku absesi

Resim 1. Hematoksilen&Eosin, x400



Resim 2. Laktofenol pamuk mavisi, x400



P312- KÜLTÜRLE TANISI KONULAN DERMATOFİT SUŞLARININ "MATRİX-ASSİSTED LASER DESORPTİON IONİZATİON- TİME OF FLİGHT MASS SPECTROMETRY"(MALDI-TOF) YÖNTEMİ İLE DE TANIMLANMALARI

Nilgün Karabıçak[1], **Işın Akyar[2]**, Simge Can[3]
[1]*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara*
[2]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[3]*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*

Amaç
Son yıllarda mikrobiyolojide kullanımı yaygınlaşan matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi – matrix assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry (MALDI TOF-MS) bakteri ve mayaların hızlı tanımlanmasında yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak dermatofit türü mantarların ve küflerin tanısında kullanımı konusunda çalışmalar sürmektedir. MALDI-TOF identifikasyonu için henüz kesinleşmiş olan bir yöntem yoktur.
Çalışmamızın amacı, klasik kültür yöntemleriyle identifikasyonu yapılmış suşların yeni ve güvenilir bir yöntem olan MALDI TOF-MS yöntemiyle de tanımlayarak iki yöntemin değerlendirilmesidir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Mikoloji Laboratuvarı'nda klasik yöntemlerle identifikasyonu yapılan 115 Dermatofit suşunun Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları'nda, kütle spektrometrisi yöntemine dayanan (MALDI-TOF MS) yöntemi ile de identifikasyon çalışmaları yapılmıştır.
Klinik örnekler, sikloheksimid ve kloramfenikol ilave edilmiş Saburo dekstroz agara (SDA) (Difco) ekimleri yapılarak 25oC de 2-4 hafta inkübe edilmiştir. Patojenik mikroorganizmalar, koloni morfolojisi ve patates dekstroz agarda pigment oluşumları, lactophenol cotton blue (LCB) preparatının mikroskobik incelenmesi, Trichophyton agar 1-7 (Difco) üremeleri ile tanımlanmıştır. Trichophyton rubrum'un T.mentagrophytes var. interdigitale'den ayrımı için üreaz testi ve kıl delme deneyi kullanılmıştır. Dermatofit suşları, patates-dekstroz agara(PDA) (Difco) ekilerek canlandırılmıştır. 115 dermatofit türü; 69 Trichophyton rubrum, 58 Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale, 7 Trichophyton tonsurans, 2 Microsporum audonii, 1 Microsporum gypseum, 1 Epidermophyton floccosum, 1 Microsporum gallinae kolonileri, güvenlik kabini içinde sıvı Saburo dekstroz (Difco) besiyerine ekilmişlerdir. 30 gün boyunca hergün 2'şer saat çalkalayıcıda çalkalanan bu besiyerleri 30 ºC'lik etüvde inkübe edilmişlerdir. 30 gün sonra sıvı Saburo dekstroz besiyerinde üremiş olan mantar kolonileri santrifüj edilerek elde edilen pellet yıkanmış, kurutulmuş ve bu pelletten MALDI-TOF-MS kütle spektrometrisi yöntemi ile çalışılmıştır.
Bu yöntemde örnek metal bir plak üzerine damlatılarak, üzerine bir matriks solüsyonu eklenerek havada kurutulmaktadır. Matriks içerisinde "alpha-cyano 4-hydroxycinnamic acid" ve trifluoroasetik asit ile asetonitril bulunmaktadır. Aygıt içine yerleştirilip lazer ışınları ile vuruşlar yapıldıktan sonra, matriks ışığı emerek ilgilenilen molekül(ör; DNA veya proteinler) haline dönüştürmektedir. Genellikle, tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluşmakta ve "Biotyper" ile mikroorganizma tür tanımlamaları yapılmaktadır.
Bulgular
Klasik yöntemlerle identifikasyonları yapılmış olan 115 dermatofit suşu için MALDI-TOF yöntemiyle elde ettiğimiz sonuçlar Tablo 1 de özetlenmiştir:
Tablo 1.
Elde ettiğimiz bu bulgulara göre Trichophyton rubrum'da %90 civarında bir başarı elde edilmekle birlikte T. mentagrophytes var. interdigitale ve T. tonsurans'da daha düşük başarılar elde edilmiştir. Ancak sayısı da az olan Microsporum ve Epidermophyton türlerinde identifikasyonda başarı sağlanamamıştır.
Sonuç
Dermatofitlerin identifikasyonunda MALDI-TOF MS yöntemi bakteriler ve mayaların identifikasyonunda olduğu kadar iyi sonuç vermemiştir. Belirgin olarak Trichophyton rubrum'da iyi tanımlama yapılabilmesine karşın diğer Trichophyton türleri ve Microsporum ve Epidermophyton türleri ile daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

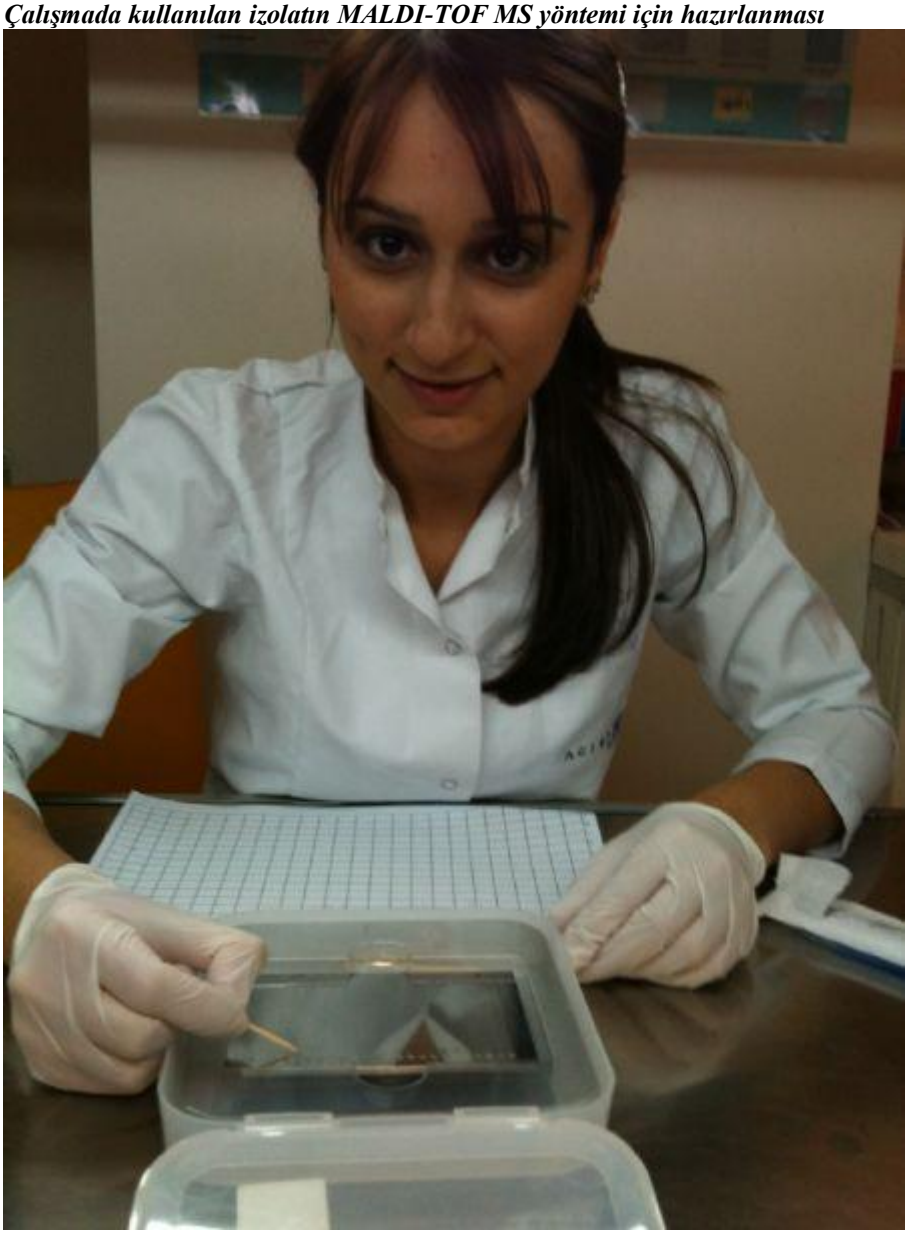
Anahtar Kelimeler: MALDI-TOF, Trichophyton, Epidermophyton, Microsporum

Dermatofit türlerinin MALDI-TOF sonuçları

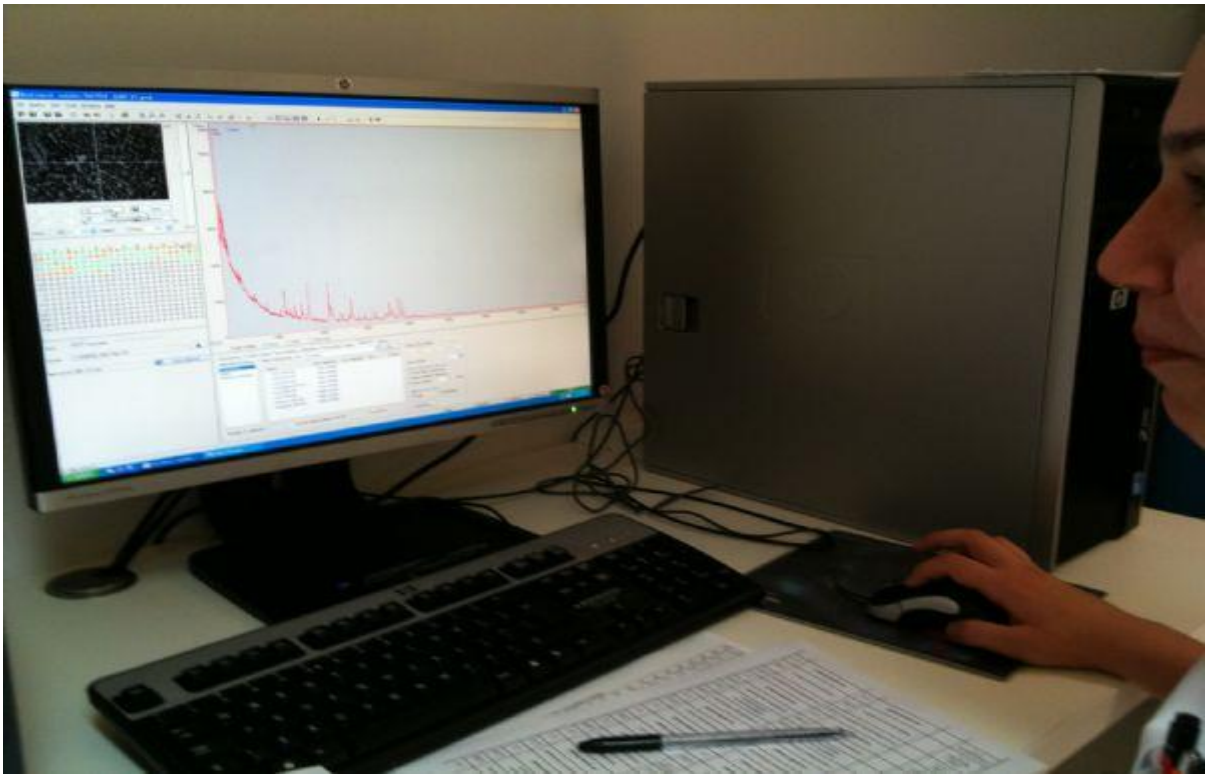
Dermatofit türü(n)	MALDI-TOF ile doğru okuma oranı(%)	MALDI-TOF ile yanlış okuma/okuyamama oranı(%)
Trichophyton rubrum(69)	91	9
Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale(34)	33	67

Trichophyton tonsurans((7)	57	43
Microsporum audonii(2)	0	100
Microsporum gypseum(1)	0	100
Microsporum gallinae(1)	0	100
Epidermophyton floccosum(1)	0	100

Çalışmada kullanılan izolatın MALDI-TOF MS yöntemi için hazırlanması

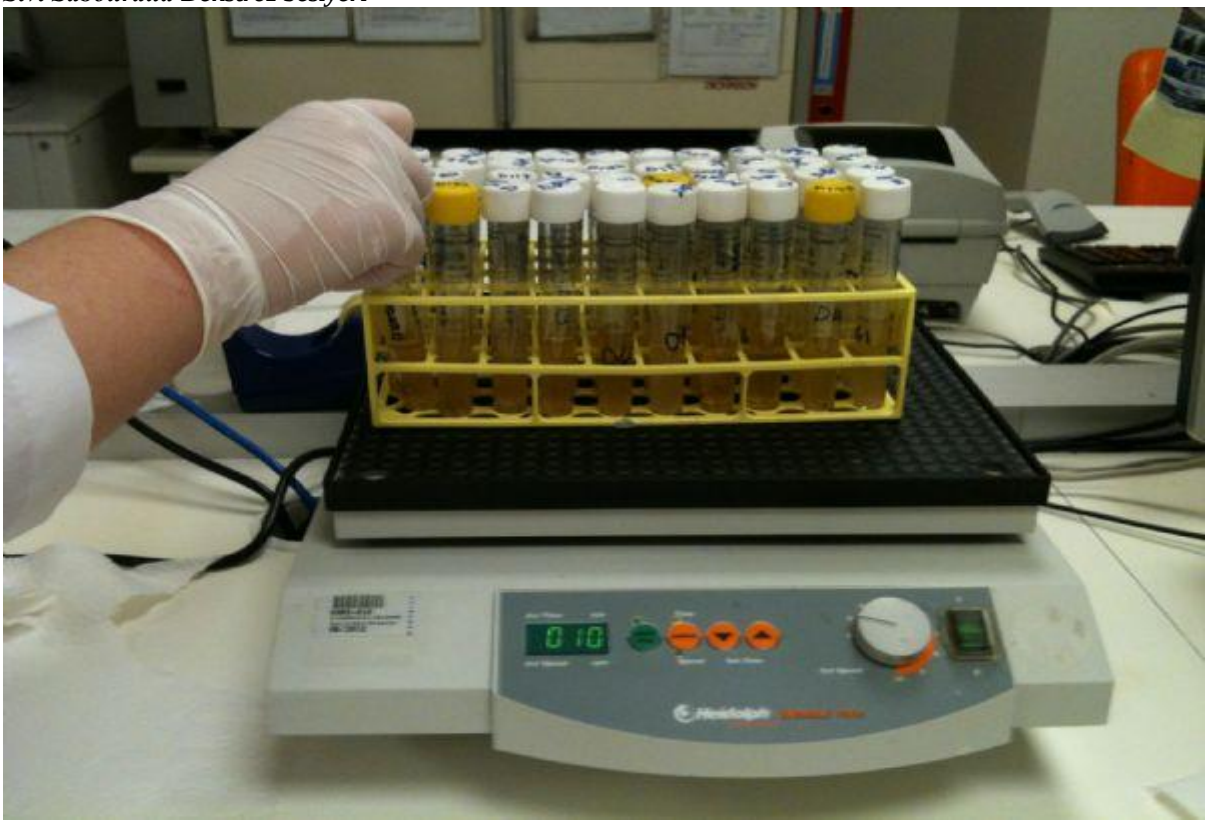


Maldi-tof MS cihazında okuma



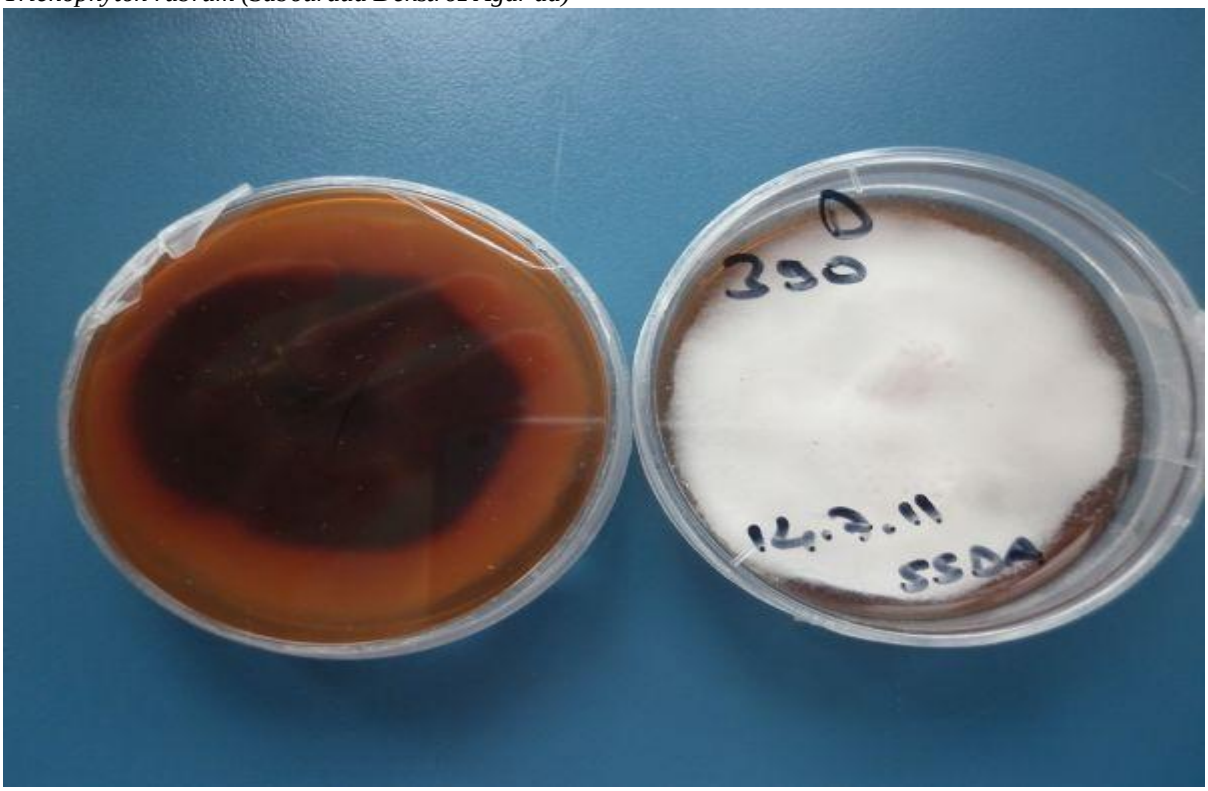
Çalışmada kullanılan örneğe ait izolatın MALDI-TOF MS yönteminde-"fingerprinting" görüntüsü

Sıvı Sabouraud Dekstroz besiyeri

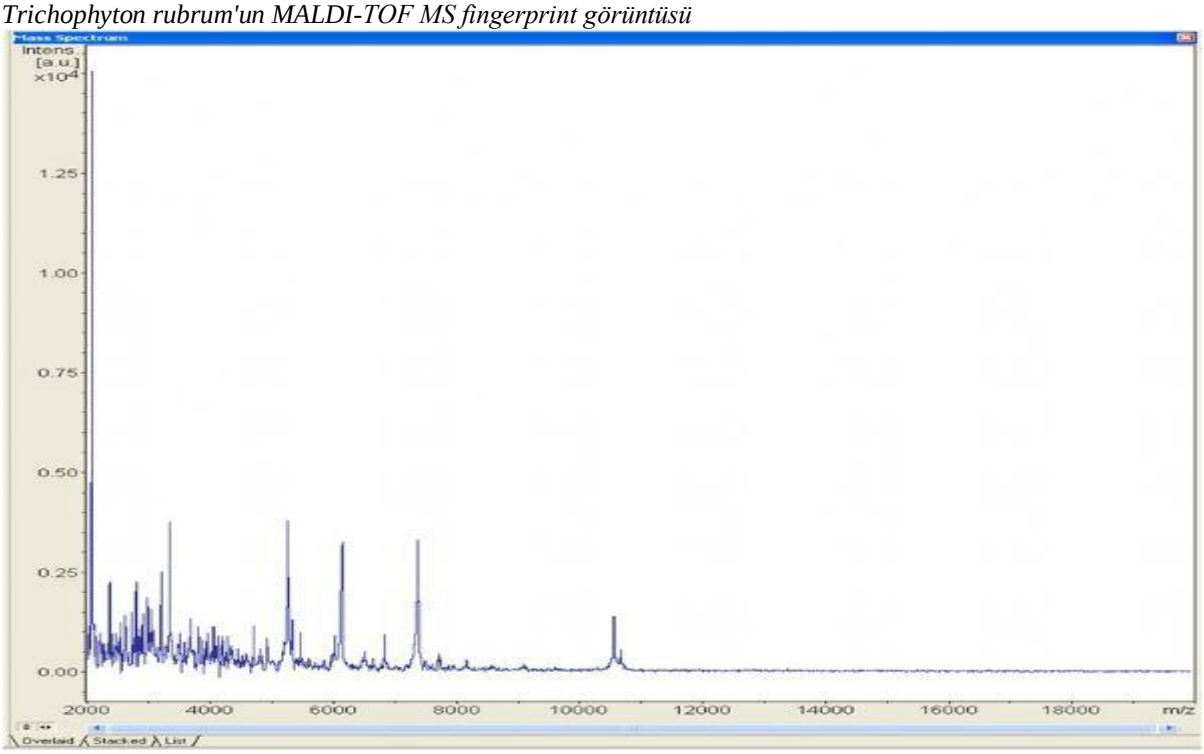


Sıvı Sabouraud Dekstroz besiyerine ekimleri yapılmış olan mantar kolonileri 20 gün boyunca günde iki kez en az 1'er saat çalkalanarak inkübe edildiler.

Trichophyton rubrum (Sabouraud Dekstroz Agar'da)



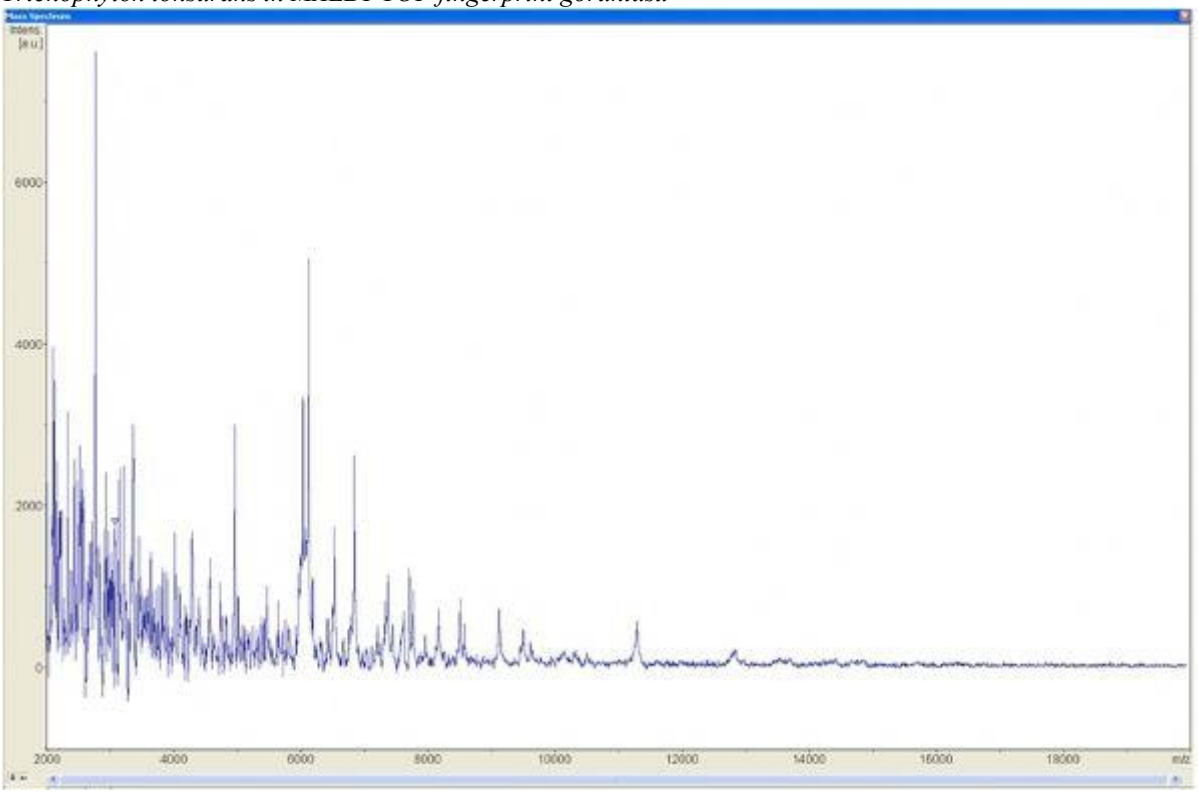
Trichophyton rubrum'un MALDI-TOF MS fingerprint görüntüsü



Trichophyton mentagrophytes (Sabouraud Dekstroz Agar'da)



Trichophyton tonsurans'ın MALDI-TOF fingerprint görüntüsü



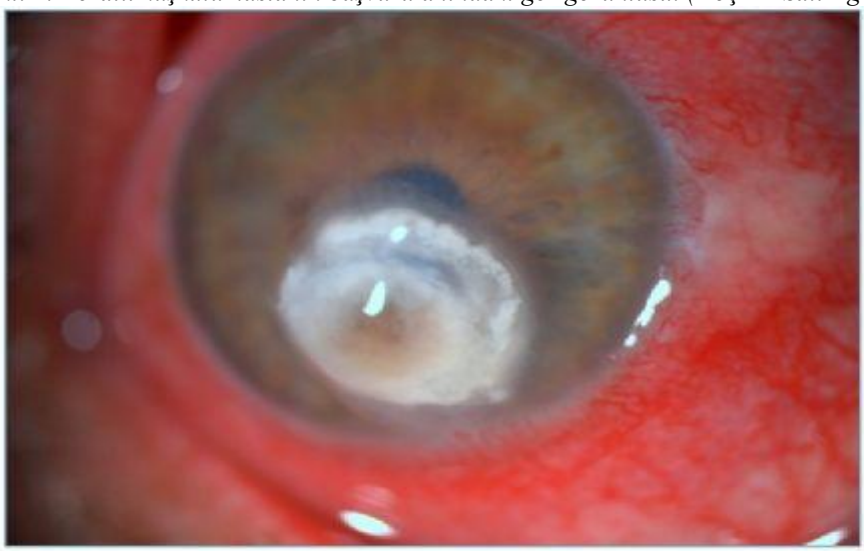
P313 - EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MİKOLOJİ LABORATUVARINDA, 2001-2010 YILLARI ARASINDA SAPTANAN KERATİT ETKENİ MANTARLAR VE TÜR DAĞILIMLARI

Süleyha Hilmioğlu Polat[1], Dilek Yeşim Metin[1], Sait Eğrilmez[2], Melis Palamar Onay[2], Ramazan İnci[1], Emel Tümbay[1]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyolji ABD, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları ABD, İzmir*

Amaç
Mantar keratitleri erken tanınıp sağaltılmaz ise körlüğe neden olabilen, sıklıkla kornea nakli gerektiren infeksiyonlardır. Tüm dünyada bölgelere göre değişiklik göstermekle birlikte mantarlara bağlı keratit sıklığı artmaktadır.
Bu çalışma retrospektif, olarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Mikoloji Laboratuvarında 2001-2010 yılları arasında keratit kuşkulu hastalardan soyutlanan mantarların sıklığını ve tür dağılımını saptamak amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
Mantar keratiti kuşkulu 78 hastadan (45 erkek, 33 kadın), keratoplasti sırasında alınan 89 kornea butonu (dokusu), konvansiyonel mikolojik yöntemlerle incelenmiştir.
Bulgular
Yirmi üç hastadan (15 erkek, 8 kadın) alınan 31 örnekte mantar üremiştir. Örneklerin 18 tanesinde küf, 13 tanesinde maya mantarı üremiştir. Küf mantarı üreyen örneklerin 16 tanesinde, maya üreyenlerin yalnızca bir tanesinde olmak üzere 17 örneğin direkt mikroskobik incelemesinde mantar elemanı görülmüştür.
En sık rastlanan etken Candida albicans [dokuz hastanın 10 örneğinde, olmuştur. İkinci sıklıkta Fusarium spp. [beş hastanın on örneğinde, saptanmıştır. Acremonium spp. dört hastanın beş örneğinde saptanarak üçüncü sırada yer almıştır. Bunları Aspergillus spp (2), Penicillium spp (1), Candida glabrata (1), Candida kefyr (1) ve Candida parapsilosis (1) izlemiştir.
Sonuç
On yıllık dönemde mantar keratitlerinde en sık Candida albicans etken olarak saptanmış, bunu Fusarium ve Acromonium türleri izlemiştir. Keratitli hastalarda etkenin bilinmesi, uygun sağaltımın seçilmesi açısından önemlidir. Mikrobiyolojik inceleme amacı ile gönderilen göz örneklerinde, direkt mikroskobik inceleme, kültür sonuçlarını değerlendirirken yol gösterici olmaktadır. Ancak, özellikle mayaların etken olduğu infeksiyonlarda direkt mikroskobik incelemenin olumsuz olmasının mantar infeksiyonunu reddettirmeyeceği dikkate alınmalıdır.

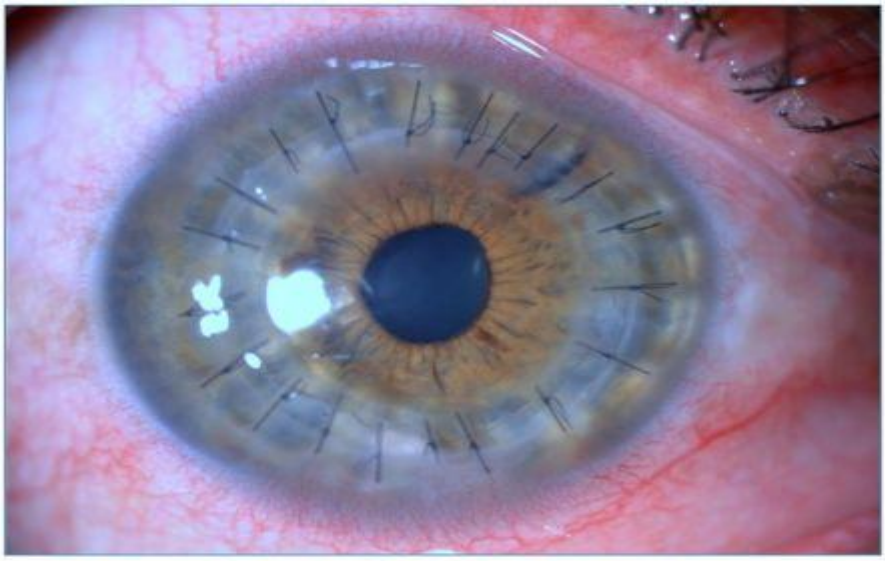
Anahtar Kelimeler: Keratit, küf, mantar, maya

Şekil 1. Keratit kuşkulu hastanın başvuru anındaki göz görüntüsü. (Doç Dr Sait Eğrilmez'in arşivinden alınmıştır)



Şekil 1. Keratit kuşkulu hastanın başvuru anındaki göz görüntüsü. (Doç Dr Sait Eğrilmez'in arşivinden alınmıştır)

Şekil 2. Hastanın, keratoplasti sonrası göz görüntüsü. (Doç Dr Sait Eğrilmez'in arşivinden alınmıştır)



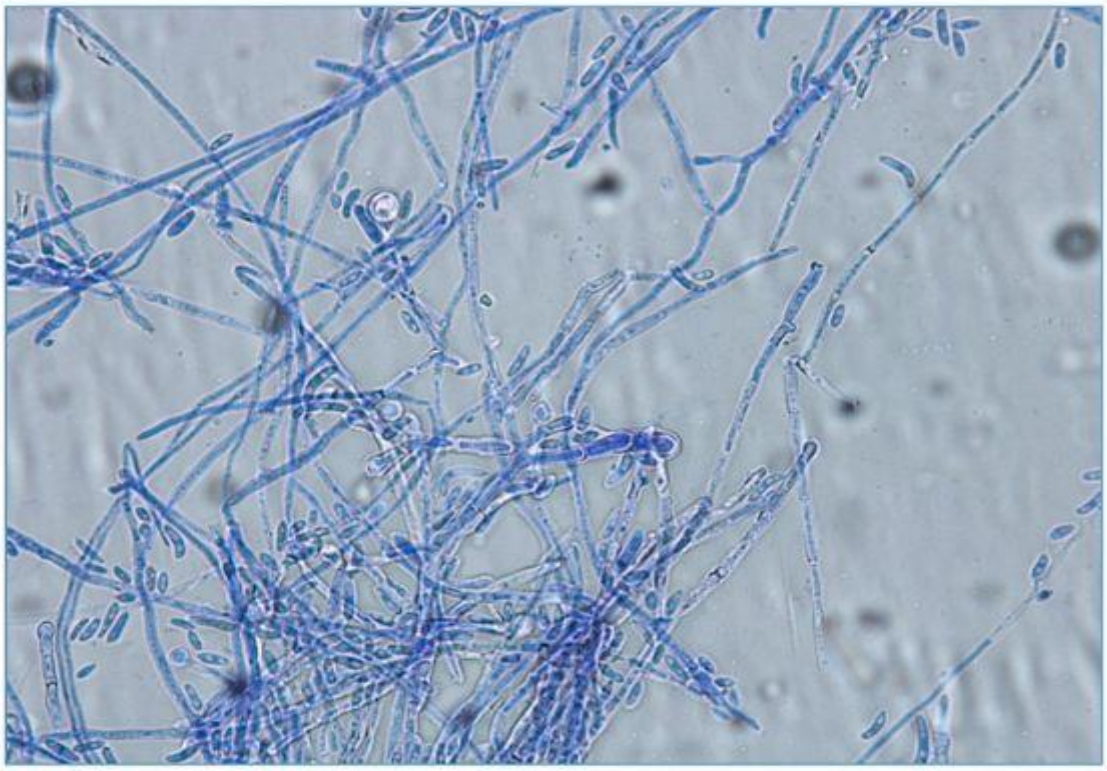
Şekil 2. Hastanın, keratoplasti sonrası göz görüntüsü. (Doç Dr Sait Eğrilmez'in arşivinden alınmıştır)

Şekil 3. Hastanın, göz örneğinde üreyen Fusarium kolonileri



Şekil 3. Hastanın, göz örneğinde üreyen *Fusarium* kolonileri

Şekil 4. Koloniden hazırlanan laktofenol pamuk mavisi preparasyonda Fusarium hifler ve konidyumlar. (Işık mikroskobu 40X)



Şekil 4. Koloniden hazırlanan laktofenol pamuk mavisi preparasyonda *Fusarium* hifler ve konidyumlar. (Işık mikroskobu 40X)

P314 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN ALBİCANS DIŞI CANDİDA TÜRLERİNDE İTRAKONAZOL, VORİKONAZOL VE ANİDULAFUNGİN DUYARLILIĞININ İKİ FARKLI YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

Bedia Dinç[1], Yasemin Tezer[3], Melda Meral[2], Sevgi Özyeğen Arslan[4], **Merve Aydın[4]**, Ayşe Kalkancı[4]
[1]*T. Yüksek İhtisas Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Ankara*
[2]*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Adana*
[3]*T. Yüksek İhtisas Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, Ankara*
[4]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Kan kültürlerinden enfeksiyon etkeni olarak albicans dışı Candida türlerinin izolasyon oranı artmaktadır. Bu çalışmada Kan kültürlerinden izole edilen albicans dışı Candida türlerinde itrakonazol, vorikonazol ve anidulafungin duyarlılığının iki farklı yöntemle araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada kan kültürlerinden izole edilen 12 Candida parapsilosis, 9 C. tropicalis, 4 C. glabrata, 2 C. kefyr, 1'er C. rugosa, C. guilliermondii, C. lusitaniae olmak üzere toplam 30 köken kullanılmıştır. Tür düzeyinde tanımlama için germ tüp testi negatif olan mayaların mısır unu-tween 80 agardaki morfolojileri ve karbonhidrat asimilasyon özellikleri birlikte değerlendirilmiştir. Kökenlerin ıtrakonazol ve vorikonazol duyarlılıkları E test ve referans mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmalı çalışılmış, anidulafungin duyarlılıkları ise sadece E test yöntemi ile çalışılmıştır. Mikrodilüsyon ve E test yöntemleri ile elde edilen minimal inhibitör konsantrasyon değerleri 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda değerlendirilmiştir.
Bulgular
Kırk sekiz saat sonunda E test yöntemleri ile elde edilen MİK 50 değerleri itrakonazol, vorikonazol ve anidulafungin için sırasıyla; 0.12, 0.12, 0.06 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK 90 değerleri yine itrakonazol, vorikonazol ve anidulafungin için sırasıyla; 0.25, 2, 0.09 mg/ml olarak bulunmuştur. Mikrodilusyon yöntemiyle elde edilen MİK 50 değerleri itrakonazol ve vorikonazol için sırasıyla 1 ve 0.5 mg/ml olarak bulunmuştur. Yine mikrodilusyon yöntemiyle elde edilen MİK 90 değerleri itrakonazol ve vorikonazol için sırasıyla 1 ve 4 mg/ml olarak bulunmuştur. Mikrodilüsyon yöntemi referans yöntem olarak kabul edildiğinde, itrakonazol ve vorikonazol için iki yöntem arasında hata oranları hesaplanmıştır. Itrakonazol için çok büyük, büyük ve küçük hata sırasıyla % 16.7, % 0, % 56.7 olarak hesaplanmıştır. Vorikonazol için bu değerler sırasıyla % 13.3, % 0 ve % 26.7 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Bu sonuçlar bize antifungal duyarlılık çalışmalarında referans yöntemin mikrodilüsyon yöntemi olduğunu, hızlı sonuç alınması gereken koşullarda bile E test sonuçlarının mikrodilüsyon ile doğrulanması gerektiğini bir kez daha göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: albicans dışı Candida, antifungal duyarlılık, minimum inhibitör konsantrasyon

Şekil 1:E Test yöntemiyle ıtrakonazol, vorikonazol ve anidulafungin duyarlılığı



Tablo 1: Kan kültürlerinden izole edilen albicans dışı Candida kökenlerinin MIK sınırları MİK 50 ve MİK 90 değerleri

Antifungal Ajan	Yöntem	MİK aralığı (µg/ml)	MİK 50 (µg/ml)	MİK 90 (µg/ml)
Itrakonazol	Mikrodilusyon	0.125-4	1	1
Itrakonazol	E Test	0.012-1.5	0.125	0.25
Vorikonazol	Mikrodilusyon	0.125-8	0.5	4
Vorikonazol	E Test	0.016-8	0.06	0.094
Anidulafungin	E Test	0.012-0.125	0.06	0.094

Tablo 2: Sonuçların duyarlı, doza bağımlı duyarlı ve dirençli olma durumları göz önüne alındığında saptanan çok büyük, büyük ve küçük hata oranları.

Antifungal Ajan	Çok Büyük Hata n (%)	Büyük Hata n (%)	Küçük Hata n (%)
Itrakonazol	5 (16.7)	0	17 (56.7)
Vorikonazol	4 (13.3)	0	8 (26.7)

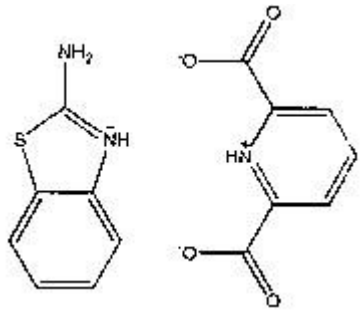
P315 - YENİ SENTEZLENEN 2-AMİNOBENZOTİYAZOL GRUBU BİLEŞİKLERİN KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ASPERGİLLUS TÜRLERİNE KARŞI ANTİFUNGAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Nedim Karagenç[1], Halil İlkimen[2], Cengiz Yenikaya[2], **Çağrı Ergin[3]**, Uğur Çitil[3], Aydın Karaarslan[4]
[1]*Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Denizli*
[2]*Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kütahya*
[3]*Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Denizli*
[4]*Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*

Amaç
Benzotiyazol grubu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri 1950'li yıllardan beri araştırılmaktadır. Bu halka grubunu taşıyan bazı bileşiklerin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antitümöral etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir. Bu nedenle farklı kimyasal sentez yöntemleri kullanılarak elde edilen benzotiyazol grubu taşıyan farklı bileşiklerin tedaviye yönelik etkilerinin varlığı sürekli araştırılmaktadır. Sunulan araştırmanın amacı, 2-aminobenzotiyazol grubuna sahip 4 farklı kimyasal bileşiğin Aspergillus kökenleri üzerine antifungal etkisinin araştırılmasıdır.
Gereç-Yöntem
Araştırmaya aspergilloz (6 invaziv, 15 otomikoz) etkeni olarak izole edilen 8 Aspergillus niger, 6 A.fumigatus, 6 A.flavus ve 1 A.terreus olmak üzere toplam 21 Aspergillus kökeni alındı. Çalışmaya alınan, yeni sentez edilmiş, 4 farklı kimyasal [(ABT)(DPC), Co (ABT)(DPC)xH_2O, Ni (ABT)(DPC)xH_2O, Cu(ABT)(DPC)xH_2O] su ve/veya etanol içinde çözdürülerek su ile dilüe edildi. Mikrotitrasyon plağında son konsantrasyonu 32 ve 16 µg/ml olarak hazırlanan %2 glukoz içeren RPMI 1640 (glutaminli, bikarbonatsız) besiyerinde son spor konsantrasyonu 1-5x10^3 yoğunlukta olacak şekilde mantar süspansiyonu ekildi. Nemli ortamda, 30^0C etüvde üç gün süre ile enkübe edildi ve süre sonunda kuyucuklardaki üreme varlığı değerlendirildi.
Bulgular
İki A.flavus kökeninin test kuyucuklarında, (ABT)(DPC) ve Co (ABT)(DPC)xH_2O kimyasalları için, enkübasyonun 48. ve 72. saatlerinde üreme gözlenmedi (MIK<16 µg/ml). Diğer tüm kimyasallar için MIK>32 µg/ml olarak değerlendirildi.
Sonuç
Son yıllarda giderek artan sayıda yeni ve farklı yapılarda kimyasal bileşikler sentezlenmektedir. Ancak yeni sentezlenen bu bileşiklerin çok azı tıbbi alanda kullanıma sunulabilmektedir. Aspergilloz hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Diğer tüm invaziv enfeksiyon yapabilen mantar türlerinde olduğu gibi, özel olarak yeni sentezlenen bileşiklerin etkinliğinin araştırılması aspergilloz gibi hayatı tehdit eden enfeksiyonlarda önemlidir. Ancak test edilecek bileşiğin suda çözünürlüğü yanında toksisitesi, (tüm makrosiklik bileşiklerde olduğu şekilde) kanserojen etkisi ve olası yan etkileri ilgili test laboratuvarlarında çalışılmalıdır.

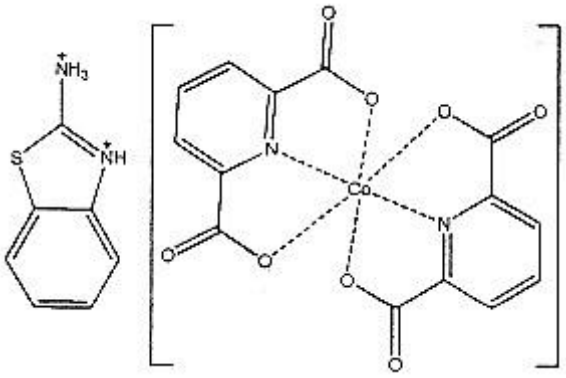
Anahtar Kelimeler: Aspergillus, antifungal, kimyasal, 2-aminobenzotiyazol

FİGÜR 1:



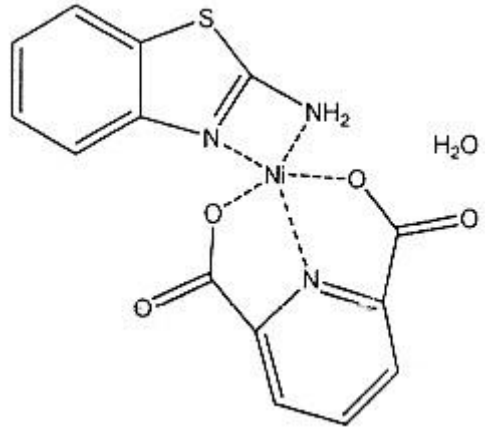
ABT DPC YAPISI

FİGÜR 2:



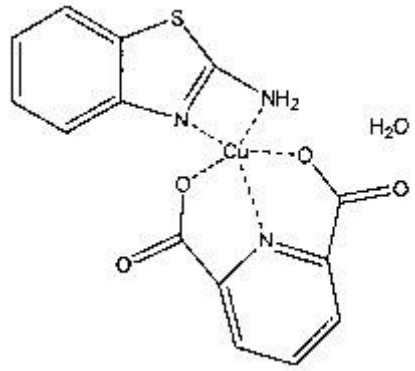
CO(ABT)(DPC)XH2O YAPISI

FİGÜR 3:



Nİ(ABT)(DPC)XH2O YAPISI

FİGÜR 4:



CU(ABT)(DPC)XH2O YAPISI

P316 - KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN CANDİDA TÜRLERİNİN DAĞILIMI

Sibel Özsu Caymaz, Ali Ilgın Olut, Evrim Şefika Yücel, Özlem Yüksel Ergin, Meltem Avcı, Ayten Coşkuner
İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştıtma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, İzmir

Giriş
Tüm mantar infeksiyonları içinde Candida türleri, Candida türleri arasında da Candida albicans en sık izole edilen mantardır. Kandidemi tanı ve tedavisi zor ve oldukça yüksek mortaliteyle seyreden bir infeksiyondur. En sık C. albicans'a bağlı gelişmekle birlikte albicans dışı türlerin sıklığında artış gözlenmektedir. En önemli predispozan faktörler, damar içi kateter kullanımı vaya yaygın antibiyotik kullanımı gibi iatrojenik faktörler ve immunosupresyondur. Bazı albicans dışı türlerde flukanazol, amfoterisin gibi antifungallere artmış direnç gözlenmekte ve infeksiyonların daha yüksek mortaliteyle seyrettiği bildirilmektedir. Çalışmamızda Ocak 2009 ve Ocak 2011 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen Candida türleri tiplendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
Sadece yetişkin hastalara hizmet veren hastanemizde, belirtilen tarihler arasında, BACTEC 9210 (Becton Dickinson, ABD) kan kültür sisteminde üreyen 93 adet Candida suşu çalışmaya alınmıştır. Kan kültürleri yedi gün süreyle inkübe edilmiş, bu süre içinde sinyal veren örneklerden preperat hazırlanmış ve gram boyası ile maya hücresi tespit edilen örnekler sabouraud dextroz agara pasajlanmıştır. Üreyen Candida suşlarının tür tayini, germ tüp testi, mısır unu Tween 80 agardaki mikroskobik görünüm ve CHROMagar Candida besiyerindeki koloni renk ve görünümü ile tanımlanmış (Oxoid, İngiltere), bu yöntemlerle tanımlanamayan türlerin belirlenmesi API 20C AUX (BioMerieux, Fransa) kiti ile yapılmıştır.
Bulgular
İzole edilen 93 Candida suşu, şöyle tiplendirilmiştir:
C. albicans 51 (%55), C. tropicalis 27 (%29), C. glabrata 10 (%11), kefyr 2 (%2), mondii 1 (%1), parapsilosis 1 (%1), norvegenesis 1 (%1).
Tartışma
Çalışmamızda diğer bir çok çalışmadaki gibi C. albicans, kandidemilerde en sık izole edilen tür olmuştur. Bununla birlikte diğer ilk iki sırayı mortalitesi göreceli olarak daha yüksek bildirilen C. tropicalis ve C. glabrata almıştır. Mortalitesi hayli yüksek olan Kandidemi'nin hızlı tanısının önemli olduğu kadar, özellikle o birimde izole edilen türlerin ve antifungal duyarlılıklarının bilinmesi uygun antifungal tedavi başlanması açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Candida, Kandidemi, Tür dağılımı

Kandidemi

Candida Türleri	C. albicans	C. tropicalis	C. glabrata	C. kefyr	C. mondii	C.parapsilosis	C.norvegenesis
n(93)/%	51 (%55)	27 (%29)	10 (%11)	2 (%2)	1 (%1)	1 (%1)	1 (%1)

P317 - 2006 – 2011 YILLARI ARASINDA İDRAR VE KATETER İDRARI ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MAYALARIN DAĞILIMI

Feza Otağ, Emine Yaşa, Gönül Aslan, Gürol Emekdaş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

Amaç
Hastanede yatan hastaların idrar örneklerinden maya izolasyonu oldukça sık rastlanan bir durumdur. Özellikle dahili ve cerrahi yoğun bakım ünitelerinde E. coli'den sonra ikinci sıklıktadır. Etkenin kateterizasyona bağlı kolonizasyon ya da gerçek infeksiyon oluşturduğu konusunda ayrımının yapılması tedavi kararında önemlidir. Bu çalışmada laboratuvarımıza gönderilen idrar ve kateter idrar örneklerinden izole edilen mayaların türlere ve servislere dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Şubat 2006-Temmuz 2011 sürecinde Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na yoğun bakım üniteleri ve diğer servislerde yatmakta olan pediatrik ve erişkin hastalardan gönderilen idrar ve kateter idrarı örneklerinden izole edilen mayalar çalışmaya dâhil edilmiştir. Mayaların identifikasyonunda hem konvansiyonel hem ticari yöntemler kullanılmıştır.
Bulgular
Laboratuvarımıza kültür amaçlı gönderilen 542'si idrar ve 1215'i kateter idrarı toplam 1757 örnekten izole edilen mayalar idrar örneklerinde C.albicans > C.tropicalis > C.glabrata > C.kefyr > C.krusei > T.asahii > C.parapsilosis şeklinde sıralanırken, kateter idrar örneklerinde C.tropicalis > C.albicans > C.glabrata > T.asahii > C.parapsilosis > C.kefyr > C.krusei şeklinde sıralanmaktadır. Beş yıllık süreçte 151' i pediatrik, 770' i erişkin toplam 914 hastadan örnek gönderilmiştir. Kateter idrar örneklerinin gönderildiği servisler ise reanimasyon > pediyatri ve pediyatrik yoğun bakım ünitesi (YBÜ) > dahili YBÜ > cerrahi YBÜ şeklinde sıralanmaktadır.
Sonuç
İdrar dışı örneklerde de olduğu gibi C.albicans en sık etken olarak izole edilmekte ise de kateterizasyona parelel olarak albicans dışı Candidalarda artış olduğu gözlemlenmektedir. Dolayısıyla fungürili kritik hastalarda türlerin belirlenmesi morbidite ve mortalitenin düşürülmesinde ve kateterizasyonun takibinde hastane infeksiyonları açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Candida spp, funguri, üriner kateter

İdrar ve kateter idrar örneklerinden izole edilen mayaların yıllara ve örneklere göre dağılımı

	2006		2007		2008		2009		2010		2011		DEĞERLENDİRME	
	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	Örnek toplam	%
Pediyatrik	1	18	17	0	25	13	45	10	43	21	13	19	225	12,6
Erişkin	29	130	88	110	63	161	74	214	98	293	38	227	1525	85,3
C.albicans	10	41	42	18	34	48	48	88	81	97	27	71	605	34,6
Non-albicans	20	107	63	92	54	126	71	135	60	218	24	175	1145	65,5
C.tropicalis	10	48	42	60	20	34	16	28	15	116	9	104	502	28,7
C.glabrata	3	20	10	16	17	48	18	30	6	48	4	28	248	14,2
T.asahii		3			7	15	16	35	1	11		14	102	5,8
C.parapsilosis	2	18	2	12	3	10	5	16	4	15		8	95	5,4
C.kefyr	2	4	6	3	7	8	8	7	19	11	5	15	95	5,4
C.krusei	2	7	3			5	11	13	14	12	4	5	76	4,3
C.lusitaniae						2	2	1	1	2	1		9	0,5
C.incons/norvog								4		1			5	0,3
C.utilis	1	4											5	0,3
K.ohmeri		3								1			4	0,2
G.capitatum			1			2							3	0,2
C.guillermondi					1						1		2	0,1
C.inconspicua					2								2	0,1
C.valida							1						1	0,1
C.lambies						1							1	0,1
S.cerevisiae							1						1	0,1
C.lipolytica							1						1	0,1
TOPLAM	30	148	106	109	91	173	127	222	141	314	51	245	1757	
%	1,7	8,5	6,1	6,2	5,2	9,9	7,3	12,7	8,1	18,0	2,9	14,0		

İdrar ve kateter idrar örneklerinden izole edilen mayaların servislere göre dağılımı

	2006		2007		2008		2009		2010		2011		DEĞERLENDİRME	
	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	İDRAR	KATİD	Örnek toplam	%
Acil	0	0	12	17	8	18	1	5	0	0	0	0	61	3,5
Reanimasyon	0	115	2	57	0	25	0	51	0	68	3	60	381	21,8
Genel Cerrahi	0	0	6	1	0	12	2	35	0	32	0	37	125	7,1
Üroloji	6	0	8	14	3	4	14	13	11	17	6	9	105	6,0
Nöroşirürji	0	9	3	5	0	7	0	19	0	28	0	22	93	5,3
KH Doğum	2	0	1	3	2	3	3	4	4	9	1	0	32	1,8
Kalp Damar Cer.	0	0	3	0	3	2	0	3	0	9	1	0	21	1,2
Göğüs Cer	0	2	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	14	0,8
Ortopedi	0	0	2	4	0	0	0	1	0	0	0	0	7	0,4
KBB	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	1	5	0,3
Plast Cer	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,2
Dahiliye	15	0	29	3	33	44	34	10	45	24	12	23	272	15,6
Pediyatri	1	18	17	0	25	13	45	10	43	21	13	19	225	12,9
Nöroloji	5	0	6	4	3	17	4	18	2	29	0	15	103	5,9
Onkoloji	0	0	3	0	0	0	0	1	32	19	5	34	94	5,4
Kardiyo	0	3	1	2	0	15	0	20	0	19	0	15	75	4,3
Enfeksiyon	1	0	5	5	6	9	6	5	3	15	2	0	57	3,3
Göğüs Hast.	0	0	4	2	5	3	1	14	0	10	4	4	47	2,7
Gastroenteroloji	0	0	0	0	0	0	9	10	0	0	4	6	29	1,7
Ped.YBÜ	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	2	8	0,5
TOPLAM	30	147	105	119	88	175	119	221	140	315	51	247	1757	
%	1,7	8,4	6,0	6,8	5,0	10,0	6,8	12,6	8,0	18,0	2,9	14,1		

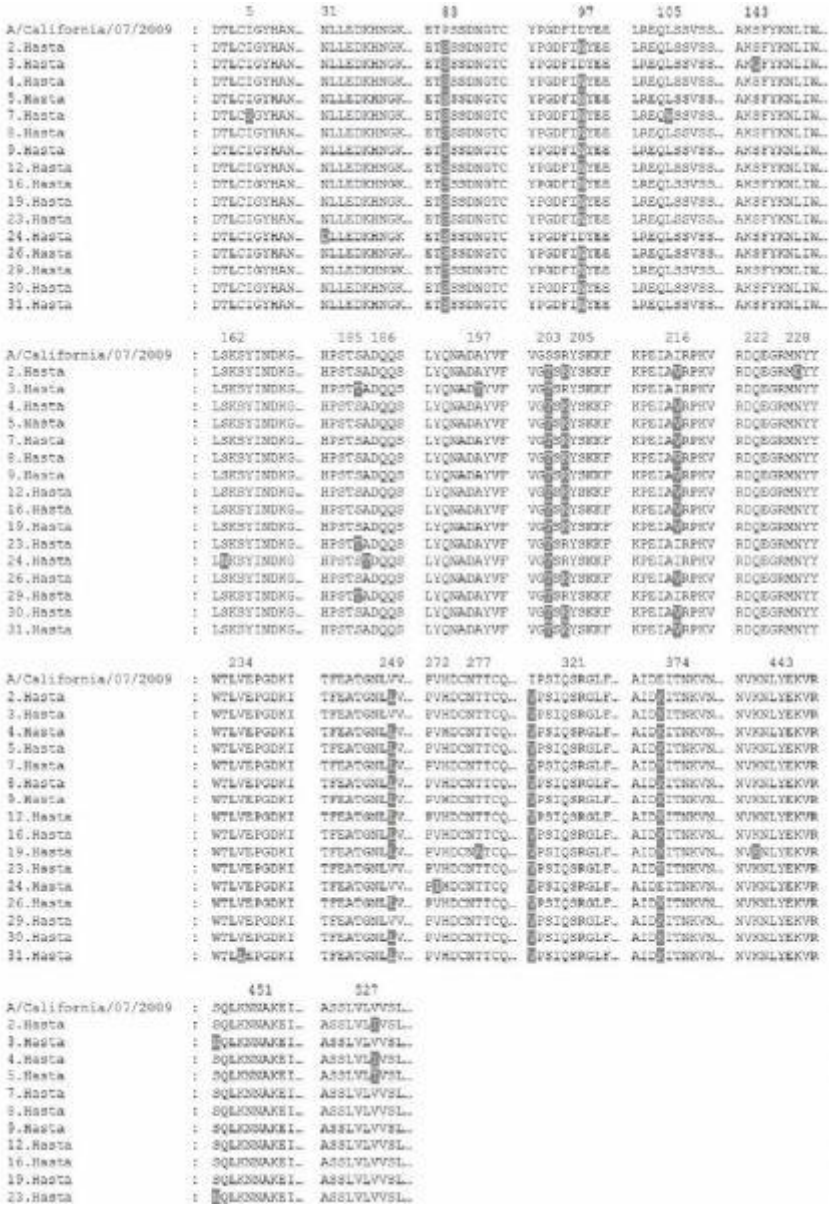
P318 - TÜRKİYE'DE 2010-2011 İNFLUENZA SEZONUNDA GÖRÜLEN PANDEMİK INFLUENZA A (H1N1) VİRÜSÜNÜN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Dilek Güldemir, Atila T. Kalaycıoğlu, Rıza Durmaz, A. Başak Altaş, Gülay Korukluoğlu, Mustafa Ertek
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara

Amaç
2010-2011 influenza sezonunda saptanan pandemik Influenza A (H1N1) virüsünün moleküler epidemiyolojik karakterizasyonu, virüslerdeki reseptör bağlanma bölgelerinde mutasyon olup olmadığının izlenmesi ve oseltamivir direncinden sorumlu mutasyonunun araştırılması.
Gereç-Yöntem
2010-2011 influenza sezonunda (2010 yılının 40.haftası ile 2011 yılının 20.haftası arası), sezonun başı ile 14.hafta arası merkezimize solunum yolu viral etkeni şüphesi ile gönderilen 2601 nazal/nazofaringeal örnek, realtime RTPCR kit (Qiagen) ile değerlendirildi. Pandemik Influenza A (H1N1) pozitif olan 233 örnek içerisinden rastgele seçilen 16 izolatın Dünya Sağlık Örgütü tarafından dizayn edilen primerler kullanılarak, hemaglütinin (HA) geninin tamamının DNA dizi analizi yapıldı. Ayrıca nöraminidaz (NA) bölgesinde 275. amino asid olan histidin yerine tirozin girmesi sonucu oluşan ve oseltamivir direncine neden olan mutasyonun olup-olmadığı araştırıldı. MEGA 4.1 software (Beta 3) programı kullanılarak; 16 izolatın DNA dizi analizi ile A/California/07/2009 (H1N1) suşunun DNA dizi analizi karşılaştırıldı ve homoloji oranları saptandı.
Bulgular
2010-2011 influenza sezonunda merkezimize gelen 2601 hasta örneğinin 1045'inde viral solunum yolu etkenleri bulunmuştur. Viral etkenlerden 404'ü Influenza A olup, bunların da 233'ü Pandemik Influenza A (H1N1)'dir. Böylece incelenen örneklerin %9'u ve viral etkenlerin %22'si İnfluenza A (H1N1) olarak saptanmıştır. Sekansı yapılan 16 izolatın A/California/07/2009 (H1N1) suşu ile baz dizisi homoloji oranının >%98.7 olduğu tespit edilmiştir. HA1 domain üzerinde düşük oranda saptanan A186T (%6.25) hariç, diğer reseptör bağlanma bölgelerinde (135, 160, 184, 187, 191, 222, 223 ve 225. amino asitler) mutasyon görülmemiştir. Buna karşın suşların %75-100'ünün HA1 domainindeki P83S, D97N, S203T, R205K, I216V, V249L, I321V, E374K bölgelerinde amino asit değişimi görülmüştür. NA geninde bulunan ve NA inhibitörlerine dirençten sorumlu H275Y mutasyonu saptanmamıştır.
Sonuç
Bulgularımızı 2009-2010 influenza sezonundaki bulgularımızla mukayese ettiğimizde şu sonuçlar ortaya çıkmıştır: 1. Her iki sezonda ülkemizde sirküle olan virüsün HA gen bölgesinde önemli değişiklik yoktur; 2. Bu sezonda incelenen virüslerin reseptör bağlanma bölgelerinde önemli bir mutasyon yoktur; 3. Suşların çoğunda saptadığımız reseptör bağlanma bölgesi dışındaki amino asit değişimleri, mutasyonların birikmesinin izlenmesi açısından önem arzetmektedir; 4. Ülkemizde hali hazırda oseltamivir direnci sorun oluşturmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: H1N1 Virüs, Oseltamivir direnci, Pandemik Influenza A

Şekil 1. A/California/07/2011 (H1N1) suşu ve 16 klinik izolatın amino asit sekansının karşılaştırılması. Mutasyon taşıyan segmentler ve bu segmentler üzerinde gri zemin üzerinde beyaz renkli olarak belirtilmiş olan amino asit değişimleri.



P319 - DİYARBAKIR BÖLGESİNDEKİ SAĞLIKLI KAN BAĞIŞÇILARINDA HBSAG, ANTİ-HCV, ANTİ-HIV 1/2 VE SİFİLİZ SEROPREVALANSI: ONBİR YILLIK DEĞERLENDİRME

Saim Dayan[1], **Alicem Tekin[2]**, Recep Tekin[1], Muhammet Bekçibaşı[1], Ümit Can Yazgan[3], Kadri Gül[1]
[1]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Diyarbakır*
[2]*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD., Diyarbakır*
[3]*Dicle Üniversitesi Hastaneleri, Bölge Kan Merkezi, Diyarbakır*

Amaç
Bu çalışmada; Ocak 2000-Aralık 2010 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastaneleri Bölge Kan Merkezine başvuran sağlıklı gönüllü kan bağışçılarında HBV, HCV, HIV 1/2 ve sifiliz seropozitiflik oranlarının araştırılması ve sonuçların yaş ve cinsiyete göre dağılımının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak 2000-Aralık 2010 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastaneleri Bölge Kan Merkezine başvuran toplam 266.035 sağlıklı gönüllü kan bağışçısının HBV, HCV, HIV 1/2 ve sifiliz serolojik test sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV 1/2 serolojik testleri bölge kan merkezimizde tam otomatize cihaz ve kitleri (Axsym, Abbott, USA ve Architect, Abbott, USA) tarafından mikropartikül enzim immünassay (MEIA) yöntemi ile çalışıldı. Anti-HIV 1/2 pozitifliği saptanan kan örnekleri Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı HIV-AIDS Doğrulama laboratuvarına Western blot analizi için gönderildi. Sifiliz taraması ise Ocak 2000-Aralık 2009 tarihleri arasındaki toplam 246.341 (%92.6) kan bağışçısının Rapid Plasma Reagin (RPR) karbon testi (Plasmatec, U.K.) ile Ocak 2010-Aralık 2010 tarihleri arasındaki 19.694 (%7.4) kan bağışçısının tam otomatize cihaz ve kitleri (Architect, Abbott, USA) tarafından mikropartikül enzim immünassay (MEIA) yöntemi ile çalışıldı. İstatistiksel değerlendirme Fisher's exact test kullanılarak yapıldı.
Bulgular
Bölge Kan Merkezi kayıtlarına göre Ocak 2000-Aralık 2010 tarihleri arasında başvuran toplam 266.035 sağlıklı gönüllü kan bağışçısından 259.384'ünün (%97.5) cinsiyetinin erkek 6.651'inin (%2.5) cinsiyetinin ise kadın olduğu saptandı. Sağlıklı gönüllü kan bağışçılarından; 8.422'ünün (%3.17) HBsAg ve 1.703'inin (%0.64) anti-HCV yönünden pozitif olduğu belirlendi. Kan bağışçılarından sadece 1'inin (%0.0004) Western blot doğrulama testi ile anti-HIV 1/2 yönünden pozitif olduğu tespit edildi. Sifiliz pozitiflik oranı; Ocak 2000-Aralık 2009 tarihleri arasında 246.341 kişide RPR karbon testi ile çalışılmış olup 166 (%0.07) pozitiflik saptanırken Ocak 2010-Aralık 2010 tarihleri arasında ise 19.694 kişide MEIA yöntemi ile çalışılmış olup 53 (%0.27) pozitiflik belirlendi. RPR testi pozitiflik oranı (%0.07) ile MEIA yöntemi pozitiflik oranı (%0.27) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0.05$). Elde edilen bu istatistiksel bulgu, RPR testinin sifiliz tanısı açısından sorunlu olduğunu göstermektedir.
Sonuç
Çalışmada elde edilen tüm seropozitiflik oranlarının Türkiye'nin diğer illerinden daha yüksek olduğu tespit edildi. Literatüre de uygun olan bu sonuçlar özellikle bölgemizde kan ve kan ürünleri ile bulaşan enfeksiyonların halen önemli bir morbidite nedeni olmaya devam ettiğini göstermektedir. Kan transfüzyonu yoluyla bulaşan hastalıkların önlenmesi için immünizasyon programları eksiksiz olarak uygulanmalı ve kan tranzfüzyonuyla bulaşan hastalıklar konusunda toplum yeterince eğitilmelidir. Özellikle pencere dönemindeki kan bağışçılarının oluşturduğu riskleri ortadan kaldırmak için kan bağışçılarının bu enfeksiyonlar açısından sorgulanmasında daha hassas davranılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kan bağışçısı, HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, sifiliz

Tablo 1. HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1/2 ve sifiliz seropozitiflik oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıl	n	HBsAg % (n)	anti-HCV % (n)	anti-HIV % (n)	Sifiliz % (n)
2000	18.753	2.66 (498)	0.40 (75)	0	0.20 (37)
2001	20.274	4.00 (812)	0.59 (119)	0	0.10 (20)
2002	25.061	3.66 (916)	0.62 (155)	0	0.10 (25)
2003	21.218	3.30 (700)	0.69 (147)	0	0.11 (23)
2004	25.039	2.89 (723)	0.64 (161)	0	0.07 (18)
2005	26.923	2.98 (803)	0.63 (169)	0	0.04 (11)
2006	31.320	2.47 (774)	0.42 (130)	0	0.04 (12)
2007	26.715	2.96 (790)	0.76 (202)	0	0.03 (8)

2008	29.537	3.24 (957)	0.73 (216)	0	0.02 (5)
2009	21.501	3.39 (728)	0.79 (169)	0	0.03 (7)
2010	19.694	3.66 (721)	0.81 (160)	0.005 (1)	0.27 (53)
Toplam	266.035	3.17 (8.422)	0.64 (1.703)	0.0004 (1)	0.08 (219)

P320 - RİZE 82.YIL DEVLET HASTANESİNE BAŞVURAN HASTALARDA HEPATİT B VE HEPATİT C SEROPREVALANSI

Ayşegül Çopur Çiçek[1], Zeynep Şentürk Köksal[2], Ayşe Ertürk[3], Ersin Köksal[4], Osman Birol Özgümüş[1]
[1]*Rize Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Rize*
[2]*Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Rize*
[3]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Rize.*
[4]*Rize 82.Yıl Devlet hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Rize*

Amaç
Bu çalışmada, Rize 82.Yıl Devlet Hastanesine başvuran erişkinlerde hepatit B virusu (HBV) ve hepatit C virusu (HCV) seroprevalansının araştırılması, ilimize ait oranların belirlenmesi ve elde edilen oranların ülkemizin farklı yerlerindeki oranlarla karşılaştırılarak ülkemiz verilerine katkı sağlanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Rize 82.Yıl Devlet Hastanesi'ne 05.Şubat.2010 – 15.Temmuz.2011 tarihleri arasındaki dönemde başvuran erişkin yaş grubu hastaların HBsAg, Anti-HBs ve Anti-HCV seropozitiflik oranları incelenmiştir. Kemilimünesans immünassay yöntemi (Vitros ECİ Q, Ortho Clinical Diagnostics, U.S.A) ile çalışılan sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışmaya alınan hastaların 13323'ünde HBsAg, 8177'ünde Anti-HBs, 11926'unda Anti-HCV testi çalışılmıştır.Tüm hastalarda HBsAg, AntiHbs ve AntiHCV seropozitiflik oranları sırasıyla %7.9, %37.0 ve % 2.6 olarak bulunmuştur. Erkeklerde HBsAg ve AntiHCV pozitifliği %12.1ve %2.9 oranları ile kadınlardan daha yüksek iken, AntiHBs pozitifliği %39.1 oranı ile kadınlarda daha yüksek bulunmuştur. Seropozitiflik oranları yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde ise HBsAg seropozitifliği en çok 25-34 yaş grubunda, AntiHBs ve AntiHCV seropozitifliği ise en çok 65 yaş üstü kişilerde görülmüştür.
Sonuç
Çalışmamızda saptanan anti-HBs pozitiflik oranları, ülkemizin genel populasyonu için bulunmuş olan pozitiflik oranlarıyla benzerlik göstermekle birlikte HBsAg ve Anti-HCV seropozitiflik oranlarındaki yükseklik dikkat çekicidir. Sonuç olarak, her yaş grubunda hepatit B açısından etkili tarama ve aşılama programlarının uygulanması, toplum sağlığı açısından uygun bir yaklaşım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: HBV, HCV, seroprevalans

HBsAg, Anti-HBs ve Anti-HCV seropozitiflik sayı ve oranları.

	HBsAg(n=13323)		AntiHbs(n=8177)		AntiHCV(n=11926)	
	sayı	yüzde	sayı	yüzde	sayı	yüzde
kadın	494/8100	6.5	1813/4636	39.1	174/7111	2.4
erkek	565/5223	12.1	1214/3541	34.3	140/4815	2.9
toplam	1059	7.9	3027	37.0	314	2.6

P321 - ŞANLIURFA İLİNDE DOĞURGANLIK ÇAĞINDAKİ KADINLARDA TOXOPLASMA GONDİİ ANTİKORLARININ ELİSA İLE ARAŞTIRILMASI:ÜÇ YILLIK DEĞERLENDİRME

Ayşegül Çopur Çiçek[1], Fazilet Duygu[2], İbrahim Halil İnakçı[3], Nuray Boyar[4], İbrahim Hakan Boyar[4]
[1]*Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Rize*
[2]*Tokat Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Tokat*
[3]*Şanlıurfa Balıklıgöl Devlet Hastanesi, Şanlıurfa*
[4]*Şanlıurfa Özel OSM Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Şanlıurfa*

Amaç
Toxoplasma gondii'nin sebep olduğu Toxoplasmosis prevalansı coğrafik konuma, yaşa, beslenme ve hijyen alışkanlıklarına bağlı olarak farklılıklar gösteren parazitik bir hastalıktır.Bu çalışmada, 01.01.2007-31.12.2009 tarihleri arasındaki üç yıllık dönemde Şanlıurfa Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi'ne başvuran risk grubunu oluşturan doğurganlık çağındaki kadınlarda konjenital enfeksiyonlara neden olabilen Toxoplasma gondii parazitine karşı oluşan antikorların seroprevalansının araştırılması ve daha önce yapılmış olan çalışmalarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Yaşları 15-49 arasında yaş ortalaması 28.35±7.48 olan doğurganlık çağındaki kadınlardan alınan serum örneklerinden kemilüminesans immüno assay (Liaison) ve ElectroChemiLuminescence(RocheElecsys2010) yöntemi ile çalışılan toksoplazma antikor sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir.
Bulgular
Çalışılan serum örneklerinde gebe ve gebe olmayanlarda toksoplazma IgG antikorlarının seropozitiflik yüzdesi sırasıyla %68.9 ve %63.0 olarak saptanmıştır. Yine gebe ve gebe olmayan kadınlarda Toksoplazma Ig M seropozitiflik yüzdesi ise sırasıyla %2.8 ve %3.0 olarak bulunmuştur. Anti-Toksoplazma IgG pozitifliği hem gebe hem gebe olmayan kadınlarda en çok 35-44 yaş grubunda görülmüş olup, bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
Sonuç
Şanlıurfa ilinde gebe ve gebe olmayan kadınlarda yüksek oranda toksoplazma seropozitifliği saptadığımız için tarama gerekli olmayabilir kanısına varılmıştır. Çiğ köfte tüketiminin çok olduğu bu ilde duyarlı anne adaylarının toksoplazma infeksiyonlarından korunma ve kontrol konusunda eğitilmeleri ve takiplerinin doğumsal anomali riskini azaltacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, Toxoplasma gondii, seroprevalans

Gebe ve Gebe olmayan Kadınlarda Toksoplazma IgM ve Toksoplazma Ig G Seronegatiflik ve Seropozitiflik Oranları.

	Tokso Ig M negatif		Tokso Ig G negatif		Tokso IgM pozitif		Tokso IgG pozitif	
	sayı	yüzde	sayı	yüzde	sayı	yüzde	sayı	yüzde
Gebe	11505	95.2	2975	30.8	336	2.8	6655	68.9
Gebe olmayan	1937	94.6	614	36.7	61	3.0	1056	63.0

P322- KRONİK HEPATİT C İNFEKSİYONLU HASTALARDA HCV GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

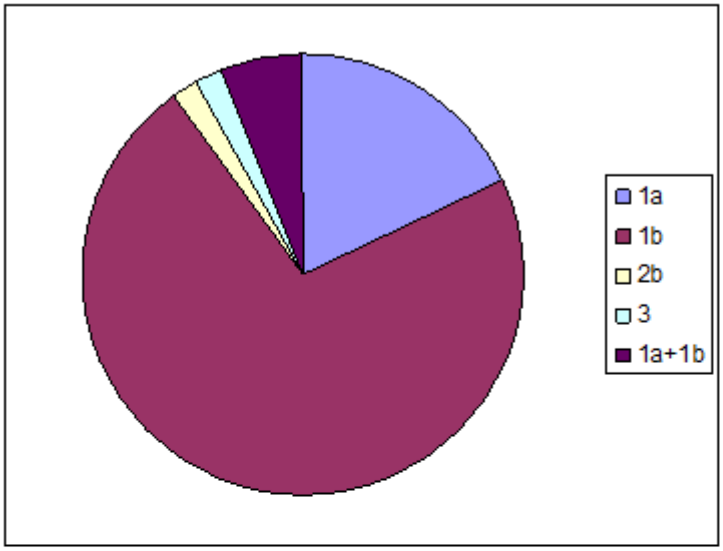
Sevin Kırdar[1], Hadi Yaşa[2], Neriman Aydın[1], Berna Gültekin[1], Şerife Barçın Öztürk[3], İmran Kurt Ömürlü[4]
[1]*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Aydın*
[2]*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji BD, Aydın*
[3]*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ABD, Aydın*
[4]*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD, Aydın*

Amaç
Dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olmaya devam eden Hepatit C virüsü (HCV), kronik hepatit infeksiyonu, siroz ve hepatosellüler karsinom oluşmasına neden olmaktadır. Yapılan dizi analizi çalışmaları ile HCV'nin 6 genotipi ve 100'den fazla alt tipi ve türümsülerinin olduğu ortaya konmuştur. Hepatit C virüs genotip 1'in genotip 2 ve 3'e göre daha ciddi hastalık yaptığı ve tedaviye kalıcı yanıtın daha az olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, kronik hepatit C hastalarında tedaviye yanıtı öngörmek için HCV genotip dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Ağustos 2007-Aralık 2010 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji BD ve Enfeksiyon Hastalıkları AD Polikliniklerinde kronik HCV infeksiyon tanısı ile takip edilen 50 hasta dahil edildi. Hasta örneklerinde Anti–HCV ticari mikropartikül ELISA test kiti ile (Murex Anti-HCV, UK), otomatize sistemde (Grifols Triturus, İspanya) araştırıldı. HCV RNA düzeyleri, real-time PCR yöntemi ile iki ayrı sistem (Rotor-Gene 6000,Corbett Research, ABD ve Cobas Tagman, Roche Diagnostic, ABD) kullanılarak çalışıldı. Anti-HCV ve HCV RNA pozitif hastalarda HCV genotip tayini virüs genomundaki 5'UTR bölgesinin amplifikasyon ürünlerinin ters hibridizasyonu temeline dayanan HCV-TS test kiti (AB analytica, Padova, İtalya) ile çalışıldı.
Bulgular
Çalışmaya alınan toplam 50 hastanın 27'si (%54) kadın, 23'ü (%46) erkek olup yaş ortalaması 59.92±13.02'dır. Hastalarda HCV genotipleri, 36 (%72)'sında genotip 1b, dokuzunda (%18) genotip 1a, birinde (%2) genotip 2b, birinde (%2) genotip 3 ve üç (%6) hastada ise genotip 1a ve 1b olarak belirlenmiştir. HCV genotipleri ile kantitatif HCV-RNA düzeyleri ve anti-HCV indeks değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).
Sonuç
Aydın ilinde bulunan hastanemizde takip ve tedavi edilen kronik hepatit C hastalarında genotip 1b en yüksek oranda saptanmış ve bu hastalarda kalıcı viral yanıtın zayıf olabileceği öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virus, genotip, HCV-RNA, Anti-HCV

Bulgular

Figür 1: Kronik Hepatit C infeksiyonlu hastalarda HCV genotiplerinin dağılımı



Tablo 1: Kronik HCV Hastalarında HCV Genotiplerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş Grubu (yıl)	Genotip 1a		Genotip 1b		Genotip 2b		Genotip 3		Genotip 1a + 1b	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0-20										
21-40			1	2						
41-60	3	6	17	34	1	2	1	2		
61 -80	6	12	16	32					3	6
80 ve üstü			2	4						
Toplam	9	18	36	72	1	2	1	2	3	6

P323- KONYA BÖLGESİNDE EVLİLİK ÇAĞINDAKİ BAYANLARDA RUBELLA IGG POZİTİFLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Şerife Yüksekkaya[1], Fatma Kalem[2], Hatice Türk Dağı[3]
[1]*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya*
[2]*Konya Numune Hastanesi, Konya*
[3]*Selçuk Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Konya*

Amaç
Rubella virusu çocuk ve erişkinlerin döküntü, ateş ve lenfadenopati ile seyreden kızamıkçık hastalığının etkenidir. Çocukluk döneminde hafif semptomlarla geçirilen bu hastalığa gebeliğin erken döneminde yakalanan kadınlarda virüsün fetusa geçmesi ile konjenital rubella sendromuna yol açmakta ve birçok anomaliye neden olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, evlilik çağındaki kadınlarda rubella seroprevalansının belirlenmesidir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada,2011 yılında evlilik öncesi testlerini yaptırmak üzere birinci basamak sağlık kuruluşlarına başvuran evlilik çağındaki kadınların serumlarında rubella IgG antikorları prospektif olarak araştırılmıştır. Electrochemiluminescenceimmunoassay (Cobas,Roche,Almanya) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Kitin prospektüsünde önerilen cut-off değerinden (10 IU/ml) yüksek olan sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi.
Bulgular
Rubella IgG antikorları 963 kadının 929'unda (%96.5) pozitif, 34'ünde (%3.5) negatif olarak saptanmıştır.
Sonuç
Kızamıkçık sonrası oluşan sıvısal ve hücresel bağışıklık ömür boyu sürmektedir. Ülkemizde yapılan araştırmaların bulguları Türkiye'de rubella seropozitifliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Rubella IgG, Kızamıkçık, Kızamıkçık aşısı

P324 - GASTROENTERİTLİ ÇOCUKLARDA ROTAVİRÜS VE ENTERİK ADENOVİRÜS ANTİJENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Feza Otağ, Şahin Direkel, Didem Özgür, Nuran Delialioğlu, Gönül Aslan, Gürol Emekdaş
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Mersin

Amaç
İnfeksiyöz gastroenteritler, alt solunum yolu infeksiyonlarından sonra çocuklarda morbidite ve mortalitenin ikinci en sık nedenidir. Çocukluk çağı ishallerinin büyük kısmından gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde virüsler, az gelişmiş ülkelerde ise bakteriler sorumlu tutulurken, son yıllarda viral patojenleri içinde %30-50 oranında Rotavirus saptanmıştır.
Bu çalışmada gastroenterit bulguları ile dışkı örneği gönderilen ve Rotavirüs ve Adenovirüs antijen testi istenen olgularda antijen pozitifliğinin dağılımı ve demografik verilerle ilişkinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ocak-2009 ile Haziran-2011 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Parazitoloji Laboratuvarında gastroenterit bulgularına sahip 513 çocuk hastanın dışkı örneğinde antijen varlığı spesifik monoklonal antikorların birleşimi ile hazırlanmış kalitatif immüno-kromatografik yöntem (VIKIA Rota-Adeno, Biomerieux, Fransa) (özgüllükleri %100, duyarlılığı Rotavirüs için %100, Adenovirus için %97.6 olarak bildirilen) kullanılarak araştırılmıştır.
Bulgular
Yaşları 0-72 ay arasında değişen (ortalama 2.66 yıl) 513 hastanın 151 (%29.4)'inde Rotavirüs, 18 (%3.5)' inde Adenovirüs antijen pozitifliği bulunmuştur. Sadece 5 hastada (%0.97) (yaşları 10, 11, 13, 17 ve 48 aylık) Rotavirüs ve Adenovirüs pozitifliği birlikte saptanmıştır. Rotavirüs pozitifliği en sık Kasım (36 vaka-%24), Aralık (25 vaka-%16.6) ve Ocak (29 vaka-%19.3) aylarında ve 0-2 yaş grubunda (78/263, % 29.2) saptanmıştır.
Sonuç
Özellikle kış aylarında 0-2 yaş grubundaki çocuklarda akut gastroenterite neden olan rotavirüs ve enterik adenovirüs antijenlerinin %50'nin üzerinde pozitif bulunması önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Bu durum bakteriyel ve paraziter etkenlerin yanında viral etkenlerin de araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Rotavirüs ve Adenovirüs antijen varlığının araştırılmasında özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek olan hızlı yöntemlerin kullanılması erken tanıya yardımcı olacak ve gereksiz antibiyotik kullanımını önleyecektir.

Anahtar Kelimeler: Rotavirüs, Adenovirüs, viral antijen, gastroenterit

Rotavirüs antijen pozitifliğinin yaşlara göre dağılımı



Rotavirüs ve Adenovirüs pozitifliklerinin 0-2 yaş grubundaki sıklığını gösteren çalışmalar

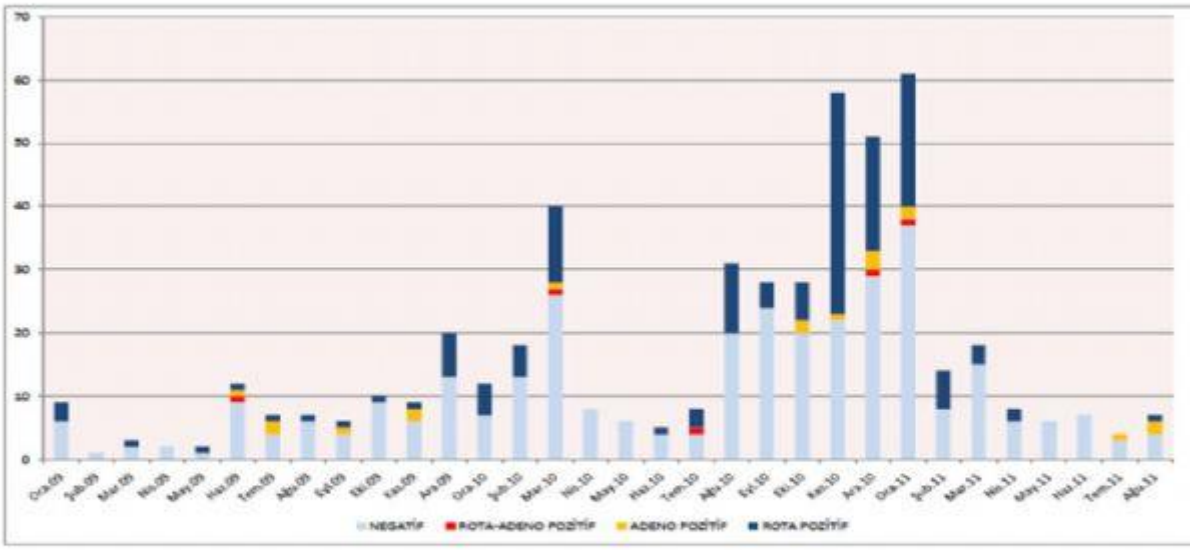
Yazar/Kaynak no	Rota (+)	Adeno (+)	En yoğun aylar	Yöntem	Araştırma tarihi
Gül ve ark.(7)	%71	%85.7	Ocak-Şubat	**Lateks aglütinasyon** (RIDA Quick Rota-Adeno-Kombi R Biopharm)	Ocak 2003 - Haziran 2004
Biçer ve ark.(3)	%70.7	-	Ocak-Şubat	**İmmüno-kromatografik test** (Rida Quick, R-Biopharm)	Ocak 2007 - Ocak 2008
Bayraktar ve ark.(8)	%51	-	Kış ayları	**İmmüno-kromatografik test** (Rota/Adeno SDiagnostics)	Eylül 2008 - Temmuz 2009
Kurtoğlu ve ark.(9)	-	%81	Eylül-Aralık	**İmmüno-kromatografik test** (Adenovirus Rapid Test –Biotech)	Ocak 2009 - Aralık 2009
Cunliffe ve ark.(10)	%98	-	Mayıs-Ekim	**ELISA** (Rotaclone; Meridian Diagnostics)	Temmuz 1997- Haziran 2007
Otağ ve ark.	%51.6	-	Kasım-Ocak	**İmmüno-kromatografik test** (VIKIA Rota-Adeno, Biomerieux)	Ocak 2009 - Ağustos 2011

Ocak 2009-Ağustos 2011 tarihleri arasında Rotavirüs antijen pozitifliğinin yaşlara göre dağılımı

Ocak 2009 –Ağustos 2011 tarihleri arasındaki Rotavirüs pozitifliğinin yaşlara göre dağılımı

YIL	0-12 ay	12-24 ay	24-36 ay	36-48 ay	48-60 ay	60-72 ay	Toplam
2009	1	6	5	3	2	1	18
2010	18	38	25	10	3	6	100
2011	5	10	7	4	3	4	33
Toplam	24	54	37	17	8	11	151

Rotavirüs ve Adenovirüs antijen pozitifliklerinin aylara göre dağılımı



P325 - REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI AIDS DOĞRULAMA MERKEZİ TEST SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Tülay Kezban Yalçınkaya, Hasan Uçar, Mustafa Uzun, Betül Gümüşlüoğlu
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Viroloji Laboratuvar Şefliği AIDS Doğrulama Merkezi

Amaç
Yapılan retrospektif çalışmada 10.05.2007-19.08.2011 döneminde toplam 9222 örnekte yapılan HIV doğrulama (immun blot) testi sonuçları değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
Örnekler ticari test kitleri kullanılarak immun blot yöntemi ile test edilmiştir.
Sonuç
Test edilen örneklerin 7782'inde negatif (%84,3), 1182'inde pozitif (%12,8) ve 258'inde indeterminant/belirsiz (%2,79) sonuç saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *HIV doğrulama testi, immun blot, sonuç*

Test sonuçları

Yıl	Test edilen örnek sayısı	Negatif Sonuç Sayısı (%)	Pozitif Sonuç sayısı (%)	Belirsiz Sonuç sayısı (%)
2007	802	639 (79,6)	125 (15,5)	38 (4,7)
2008	1862	1587 (85,2)	229 (12,2)	46 (2,4)
2009	2590	2206 (85,1)	266 (10,2)	118 (4,5)
2010	2378	2036 (85,6)	309 (12,9)	33 (1,3)
2011	1590	1314 (82,6)	253 (15,9)	23 (1,44)
Toplam	9222	7782 (84,3)	1182 (12,8)	258 (2,79)

P326 - OTOLOG HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA ANTİ-HAV (ANTİ-HEPATİT A VİRÜSÜ) ANTİKORU SEROKONVERSİYONU

Ayşe Dede[1], **Seyyal Rota[2]**, Işıl Fidan[2], Gülsan Sucak[3]
[1]*Afşin Devlet Hastanesi, Kahramanmaraş*
[2]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[3]*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Hematoloji BD, Ankara*

Amaç
Hematopoietik kök hücre nakli sonrasında bakteriyel ve özellikle viral enfeksiyonlara karşı daha önceden gelişmiş antikorların kaybolduğu bilinmektedir. Hepatit A virüsüne karşı gelişen antikorların kaybı ile ilgili yayınlar da mevcuttur. Bu çalışmada otolog hematopoietik kök hücre nakil hastalarında anti-HAV antikoru seroprevalansının belirlenmesi, antikor kaybında muhtemel risk faktörlerinin (yaş, cinsiyet, tanı, hazırlama rejimi, ortalama takip süresi) tespit edilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi kök hücre nakil ünitesinde, Eylül 2003 ve Aralık 2010 tarihleri arasında çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla otolog hematopoietik kök hücre nakli yapılan 153 hasta, hastane kayıtlarından geriye dönük olarak taranmış, pozitif saptanan ve nakil sonrası 6. ay ve sonrasında total anti-HAV antikoru bakılan 125 hasta anti-HAV antikoru kaybı araştırmasına dahil edilmiştir.
Bulgular
153 hastanın %98'inde anti-HAV antikoru pozitifliği saptanmıştır. Anti-HAV antikoru kaybı çalışmasına dahil edilen 125 hastanın 7'sinde (%5,6) anti-HAV antikoru kaybı tespit edilmiştir. Bu kayıplar ortalama 7,9 ayda (1-18 ay) gerçekleşmiştir. Hastaların yaklaşık %30'u 40 yaş altındadır ve kayıp gözlenen hasta sayısı bu yaş grubunda çok daha fazladır (Saptanan 7 kaybın 5'i). Anti-HAV antikoru kaybı ve erken yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Çalışmaya alınan hastaların sayısı kadın/erkek: 50/75, anti-HAV antikoru kaybı kadın/erkek: 4/3'tür. Kök hücre kaynağı olarak %80 periferik kan (100/125), %20 kemik iliği kullanılmıştır. Anti-HAV antikoru kaybı sadece periferik kan nakli hastalarında görülmüştür. Hastaların %55'i myelom, %26,4'ü Hodgkin hastalığı tanılıdır. Hazırlama rejimi olarak en çok melfalan ve daha sonra da BEAM (Karmustin (Bicnu), etoposid, sitarabin (arabinosid), melfalan) kullanılmıştır. Nakil sonrası anti-HAV antikoru bakılma sürelerine bakıldığında hastaların en çok 24 aylık takiplerinin yapıldığı, en uzun takip süresinin de 76 ay olduğu görülmektedir. Nakil sonrası ikinci yılını tamamlayan hastaların %52,8'ine, 4 yılını tamamlayan hastaların %12'sine anti-HAV antikoru takibi yapılmıştır.
Sonuç
Yaş ilerledikçe saptanan anti-HAV kaybı yüzdesinde azalma tespit edilmiştir. Ayrıca takip süresinin uzamasıyla da anti-HAV kaybı yüzdelerinde azalma olduğu görülmüştür. Bu risk faktörlerinin hangi mekanizmalarla antikor kaybına yol açtıkları ve başka hangi faktörlerin etkili olabileceği araştırılması gereken konulardır. Nakil sonrasında bazı enfeksiyöz etkenlere karşı bağışıklığın takibi gerekli ve önemlidir. Hepatit A enfeksiyonunun ilerleyen yaşla beraber daha ağır seyretme ihtimalinin olması ve aşı ile önlenebilirliği antikor takibini gerekli kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anti-HAV, otolog, risk faktörleri

Tablo 1: Kullanılan testler

Testin Markası	Eşik Değeri	Duyarlılık	Özgüllük
Access	>40 mIU/mL	% 100	% 99,8
Vitros	*-	% 99,81	% 99,65
Advia	>20 mIU/mL	% 98,66-100	% 99,35-100

**: Her teste göre hesaplanan bir değerdir.*

Tablo 2: Yaşa göre Anti-HAV antikoru kaybı

Yaş	Hasta sayısı	Kayıp	Kayıp yüzdesi (%)
17-39 yaş	38	5	13,15
40 yaş ve üzeri	87	2	2,3
Toplam	125	7	5,6

Tablo 3: Anti-HAV takip sürelerine göre Anti-HAV antikoru kaybı

Anti-HAV takip süreleri	Taranan ve anti-HAV (+) olan hasta sayısı (n)	Kayıp sayısı (n)	Kayıp yüzdesi (%)
İlk 6 ay	125	4	3,2
İkinci 6 ay	96	2	2,08
2. yıl	67	1	1,5
3. yıl	25	0	0
4. yıl	13	0	0
>4 yıl	7	0	0

P327 - HEPATİT B VİRUS İLE ENFEKTE HASTALARDA ANTİ-DELTA ANTİKOR POZİTİFLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Hadiye Demirbakan[1], Nuran Akmirza İnci[2], Emine Filiz Ünlü[1], Gülhan Safkan Korkmaz[1], Azize Yetişgen[3], Gülseren Baran[2], Ayşen Bayram[4]
[1]*Şehitkamil Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gaziantep*
[2]*Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Gaziantep*
[3]*Osmaniye Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Osmaniye*
[4]*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep*

Amaç
Hepatit D virusu (HDV) HBsAg pozitif olan kişilerde hastalık yapabilen, tek başına patojen olmayan bir RNA virusudur. Dünyada yaklaşık 15 milyon kişi HDV ile enfektedir. HDV enfeksiyonu, HBV enfeksiyonunun tüm klinik formları ile birlikte görülebilse de sıklığı hastalığın ağırlığına göre değişebilmekte, asemptomatik taşıyıcılarda % 4 civarında iken kronik aktif hepatit ve karaciğer sirozunda % 40'a kadar yükselmektedir. Ancak son yıllarda HDV insidansının azalmakta olduğuna dair yayınlara rastlanmaktadır.
Bu çalışmada hastanemize başvuran HBV ile enfekte hastalarda retrospektif olarak anti-delta antikor sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Ocak 2011- Eylül 2011 tarihleri arasında Şehitkamil Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine başvuran ve HBsAg pozitif olarak saptanan 358 hasta alınmıştır. Bu hastaların serum örneklerinde anti-delta antikoru mikro EIA (RADIM Diagnostic, ITALY) yöntemiyle araştırılmıştır.
Bulgular
Toplam 358 hastanın 13'ünde (% 3.6) anti-delta antikor pozitif olarak saptanmıştır.
Sonuç
Hastanemize başvuran hastalarda anti-delta antikoru pozitifliği, çeşitli çalışmalarda bildirilen oranlarla benzer olarak bulunmuştur. Bölgemizde Hepatit B virus enfeksiyonlarının yaygın görülmesi ve Hepatit B ile infekte kişilerde Hepatit D virusunun varlığının hastalığın seyrini etkilemesi nedeniyle, bu hastalarda takip ve korunma önlemlerinin alınmasının yanı sıra seronegatif kişilerde aşılama çalışmalarının da yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: HBV, HDV, Anti-delta antikor

P328 - KAN DONÖRLERİNDE HBSAG, ANTİ-HCV, ANTİ-HIV SEROPREVALANSI

Birol Şafak, Nedim Tunç
Balıkesir Atatürk Devlet Hastanesi, Balıkesir

Giriş
Günümüzde, güvenli donörün seçimi en az uygun kanın temini kadar önemli bir konu haline gelmiştir. Birçok mikrobiyal patojenin yayılımı kan yolu ile olmaktadır. Hepatit B, hepatit C ve HIV gibi virusların neden olduğu ciddi hastalıklar nedeniyle, nakledilecek kan ürünlerinde bu etkenlerin varlığının araştırılması kanuni bir zorunluluk olup transfüzyon amacıyla her kan alımı öncesinde tarama yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda, transfüzyon yoluyla geçen bu infeksiyon etkenlerinin kan donörlerinde sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.
Materyal-Metod
Balıkesir atatürk Devlet Hastanesi Kan Merkezi 2006-Ağustos 2011 tarihleri arasındaki donör kayıtları geriye dönük olarak incelenmiştir. Toplam olarak 19670 donörün örneklerinde HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1,2 + p24 Ag seropozitifliği kemilüminisans ve MikroELISA yöntemleriyle araştırılırken, Axyms (Abbott), Architect I-1000 (Abbott), Alisei SEAC (RADİM) ve Triturus (Grifols) cihazları kullanılmıştır.
Bulgular
Merkezimizde 2006 yılında 3046, 2007 yılında 3693, 2008 yılında 3553, 2009 yılında 2407, 2010 yılında 4875 ve 2011 (ilk 8 ay) yılında 2096 olmak üzere yedi yıllık süre zarfında toplam 19670 donasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan tarama testlerinde tespit edilen seropozitivite ve oranları Tabloda özetlenmiştir. Bu çalışmada bulduğumuz yıllık HBsAg prevalansı %0,33-2,09 arasında olup yedi yıllık ortalama sıklığı %0,87 olarak saptanmıştır. Çalışılan donörlerin yıllık anti-HCV sıklığı yıllık %0,04-0,39 arasında olup yedi yıllık ortalama prevalansı %0,17 olarak bulunmuştur. Anti-HIV pozitifliği saptanmamıştır.
Sonuç
Donörler için saptadığımız değerlerin, genel toplum değerlerine göre oldukça düşük bulunmasının başlıca nedeni olarak donör seçim kriterleri ile sağlıklı bireylerin kan vermek için aday kabul edilmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Donör, Tarama, Kan Bankası, Hepatit

Yıllara Göre Seropozitivite Oranları

	HBsAg		Anti-HCV		Anti-HIV	
Yıllar (donör sayısı)	n	%	n	%	n	%
2006(3046)	63	2,09	12	0,39	-	-
2007(3693)	38	1,02	14	0,37	-	-
2008(3553)	27	0,75	-	-	-	-
2009(2407)	8	0,33	5	0,2	-	-
2010(4875)	26	0,33	2	0,04	-	-
2011(2096)	11	0,52	1	0,04	-	-
Toplam(19670)	173	0,87	34	0,17	0	0

P329 - OKÜLT HBV ENFEKSİYON VARLIĞININ HBSAG NEGATİF FARKLI PATERNLERDE REAL-TİME PCR YÖNTEMİYLE SAPTANMASI

Sena İzmirli[1], Deniz Gözde Çelik[1], **Pelin Yüksel[1]**, Mustafa Aslan[1], Sümeyye Şen[1], Bülent Çakal[2], Ali Öner[2], Bekir Kocazeybek[1]
[1]*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*
[2]*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İstanbul*

Amaç
Hepatit B virus (HBV) enfeksiyonlarının tanısında sıklıkla kullanılan serolojik testlerde bazen tanısal sorunlar yaşanmakta ve HBsAg testi negatifleşen bazı hastaların plazma ve karaciğer dokusunda HBV varlığı devam edebilmektedir. Bu durum hepatit B serolojisi yönünden seronegatif (tüm hepatit belirteçleri negatif) ve seropozitif (Anti HBc +/- ve Anti HBs +) olarak iki paternde Okült (gizli) HBV enfeksiyonu olarak tanımlanmakta ve bu durum aynı zamanda izole Anti-HBc olgularında da görülmektedir. Bu klinik tabloya sahip kişilerin HBV bulaştırıcılığı yönünden toplumda potansiyel risk oluşturmaları nedeniyle tespit edilmeleri çok önemlidir. Çalışmamızda dört farklı grupta HBV-DNA varlığının belirlenmesiyle, gizli (okült) HBV enfeksiyon oranlarının saptanması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Dört farklı grupta [1) 20 HBV; izole Anti-HBc, 2) 23 HBV;doğal bağışık, 3) 20 HBV; seronegatif, ALT miktarı yüksek, 4) 23 HBV;aşılı kişi] HBV-DNA varlığının belirlenmesiyle, gizli (okült) HBV enfeksiyon oranları araştırılmıştır. HBsAg negatif, ancak farklı serolojik paternlerdeki bu olgulardan HBV-DNA çalışılmak üzere plazma örnekleri alınmıştır. Bu örneklerde, okült HBV enfeksiyon varlığını araştırmak üzere analitik duyarlılığı yüksek (<=3,8 IU/ml) Real-Time PCR kitleri kullanılmış ve kullanılan moleküler yöntemin güvenirliği internal ve eksternal kontroller ile pozitif kontrollerin kantitasyon standartlarının artışı ile sağlanmıştır.
Bulgular
Araştırmaya aldığımız dört farklı gruba ait 86 kişide HBV-DNA pozitifliği saptanamamıştır.
Sonuç
Çalışmamızda okült HBV enfeksiyonunu saptayabilecek performansta moleküler yöntem kullanmış olsa da okült HBV enfeksiyon varlığını saptayamamızın araştırmaya alınan olguların azlığı ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bundan dolayı, bu konu ile ilgili yeni, geniş serili çalışmaların yapılmasının yararlı olabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Okült HBV, Real-Time PCR, ELIZA

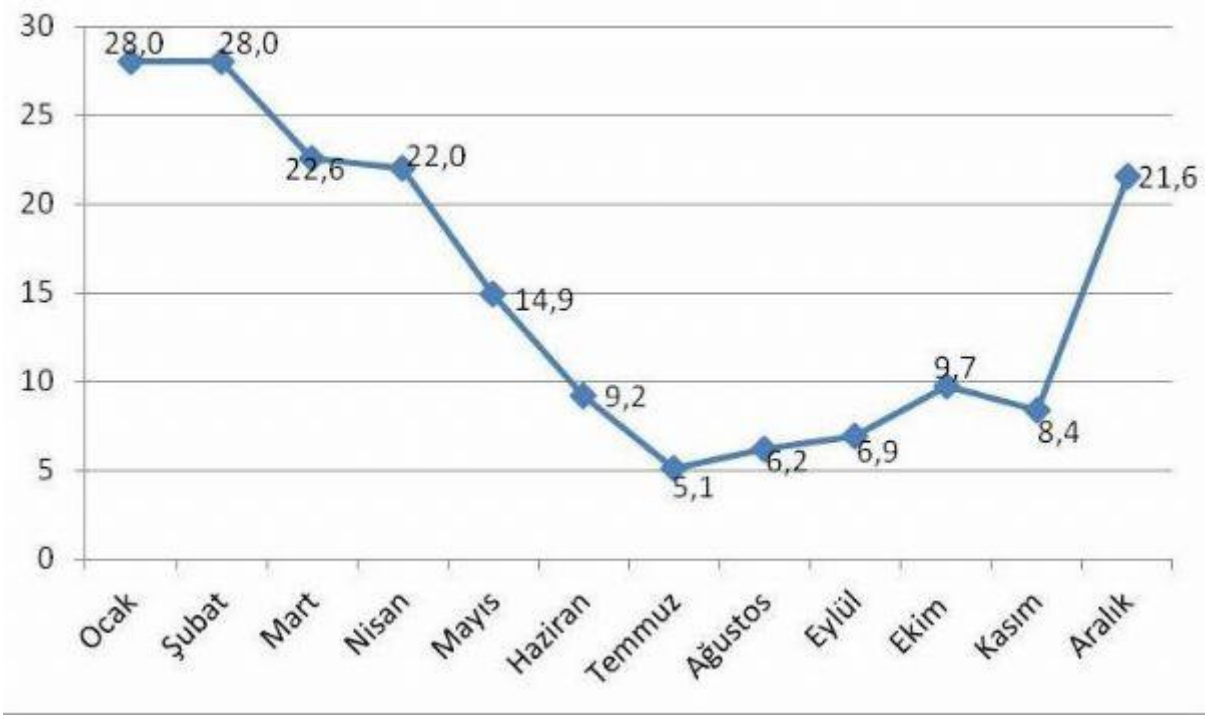
P330 - ROTAVİRUS SIKLIĞININ VE MEVSİMSEL DAĞILIMININ ARAŞTIRILMASI (2006-2010)

Mehmet İlktaç, Ayşegül Şahin, Betigül Öngen
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul.

Amaç
Çocukluk çağı gastroenteritlerinin büyük bir kısmından sorumlu olan rotavirus ishallerinin insidansında aşı uygulaması sonrasında azalma olduğu bildirilmektedir. Bölgemizde rotavirus infeksiyonlarının epidemiyolojisindeki değişikliklerin takip edilmesi amacıyla bu çalışmada, son beş yıllık dönemde 0-18 yaş grubu hastalara ait dışkı örneklerinde rotavirus sıklığı araştırılmış ve rotavirus infeksiyonunun mevsimsel dağılımı incelenmiştir.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda 2006-2010 yılları arasında rotavirus antijeni araştırılması için laboratuvarımıza gönderilen dışkı örnekleri immunokromatografik yöntemle rotavirus varlığı açısından incelenmiştir. Rotavirus sezonunun başlangıcı olarak pozitif sonuç veren örnek oranının % 10'dan büyük olduğu ilk ay, rotavirus sezonunun sonu olarak ise pozitif sonuç veren örnek oranının % 10'dan büyük olduğu son ay kabul edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.
Bulgular
Beş yıllık dönem boyunca, 2006 yılında 1941, 2007 yılında 2000, 2008 yılında 2241, 2009 yılında 2893 ve 2010 yılında 2636 olmak üzere toplam 11,711 dışkı örneği incelenmiş ve 1818 (% 15,5) örnekte rotavirus antijeni saptanmıştır. 2006, 2007, 2008, 2009 ve 2010 yıllarında rotavirus pozitifliği sırasıyla % 19,2, % 14,5, % 17,3, % 16,6 ve % 11 oranında belirlenmiştir. Rotavirus pozitifliğinin aylara göre dağılımı incelendiğinde, rotavirus sezonunun Aralık ayında başladığı ve Mayıs ayında bittiği, pozitiflik oranının yaz ve sonbahar aylarında (Haziran-Kasım) düşük (% 5-10) olduğu, Aralık ayında artış gösterdiği ve Ocak-Şubat aylarında ise en yüksek düzeye (% 28) ulaştığı görülmüştür (Grafik).
Sonuçlar
Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler ülkemizde yapılan çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte bu çalışmada saptanan rotavirus pozitifliğinin (% 15.5) 2003-2005 yılları arasındaki çalışmamız sonuçlarına (% 20.6) göre azalma gösterdiğini ve rotavirus sezonunun yaklaşık iki ay daha kısa sürdüğünü göstermektedir. Sonuç olarak bölgemizde rotavirus infeksiyonlarının sıklığının azaldığı ancak çocukluk çağı hastalıkları arasında hala önemli bir yere sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Rotavirus, sıklık, mevsimsel, dağılım

Grafik: Rotavirus pozitifliğinin aylara göre dağılımı (%).



P331 - OCCULT HBV PREVALANSI

Simin Cevan Amirhizi Köse, Efe Serkan Boz, **Servet Delice,** Sebahat Aksaray
Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

Amaç
Occult (gizli) Hepatit B Virus(HBV) infeksiyonu, serumda HBsAg'nin tespit edilemediği ancak serum veya karaciğerde HBV DNA'nın varlığı ile tanımlanır. Kronik hepatit C, hepatoselüler karsinom (HCC) ve hemodiyaliz hastalarında, kriptojenik karaciğer hastalığı olanlarda, intravenöz ilaç kullananlarda ve Human Immundeficiency Virus(HIV) taşıyıcılarında, ayrıca sık kan transfüzyonu yapılanlarda ve kan donörlerinde occult (gizli) HBV infeksiyonunun varlığı bilinmektedir.
Çalışmamızın amacı eşzamanlı HBV DNA ve HBsAg çalışılmış hastalarda occult HBV prevalansının tespitidir.
Gereç-Yöntem
Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı' na Eylül 2010 – Eylül 2011 arasında viral hepatit şüphesi ile gönderilen 873 hasta (%55'i erkek,%45'i kadın) örneği çalışılmıştır. HBsAg testi otomatize enzim immunoassay yöntemiyle [Axsym, Architect i2000 (Abbott), Nexgen], kantitatif HBV DNA testi ise otomatize gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [Cobas AmpliPrep, Cobas Taqman 48 Realtime PCR (ROCHE)] ile çalışılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya alınan 873 hasta örneğinden %1.5' inde (13) HBsAg negatif iken HBV DNA düşük düzey (<25 IU/mL) pozitif tespit edilmiştir. Bu hastaların geçmiş sonuçları tarandığında 5 (%38.5) hastanın daha önceden HBsAg pozitifliği bulunduğu ve sonradan negatifleştiği; 6 (%46,1) hastanın son 2 yıl içinde HBsAg' sinin negatif seyrettiği ve 2 (%15.4) hastanın ise daha önce hiç HBsAg sonucu bulunmadığı tespit edilmiştir. Sekiz hastada occult HBV riski olduğu düşünülmüştür.
Sonuç
Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında hastanemizdeki bir yıllık occult HBV prevalansının %0.9 olduğu tespit edilmiştir. Özellikle risk grubuna giren hastalarda ve sık kan tranfüzyonu yapılanlarda HBV infeksiyonun erken tanısında ve kan donör taramalarında HBsAg'nin yanında HBV DNA' nın da duyarlılığı yüksek bir yöntemle çalışılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, HBV DNA, Occult HBV

P332 - GASTROENTERİT TANISI ALMIŞ HASTALARDA ROTAVİRUS VE ADENOVİRUS VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Hadiye Demirbakan, Emine Filiz Ünlü, Gülhan Safkan Korkmaz
Şehitkamil Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gaziantep

Amaç
Rotavirus, ishal nedeniyle çocukluk çağı ölümlerinden sorumlu en önemli viral etkendir. Enterik adenoviruslar ise infantil gastroenteritte rotaviruslardan sonra ikinci sıklıkta görülen etkendirler. Her iki virüsde sıklıkla kontamine yiyecek ve sularla fekal oral yolla bulaşmaktadır.
Bu çalışmada gastroenterit ön tanısı almış hastalarda Rotavirus ve Adenovirus sıklığını belirlemek amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda Mayıs 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen ve Rota/Adenovirus Hızlı Antijen Testi (SD Standart Diagnostics Inc., Korea) ile çalışılan toplam 344 hastanın dışkı örneği retrospektif olarak incelenmiştir.
Bulgular
Dışkı örneklerinin 15 'i (%58) erkek, 11'i (%42) kız olmak üzere toplam 26'sında (%7.6) Rotavirus, 3'ü (%60) erkek ve 2'si (%40) kız olmak üzere toplam 5'inde (%1.5) Adenovirus pozitif olarak saptanmıştır. Rotavirus ile enfekte olduğu belirlenen hastaların yaşları incelendiğinde 2 ay ile 10 yaş arasında dağıldığı ve olguların 12 (%46.1)'sinin 2 yaş altı erkek, dokuzunun (%34.6) 2 yaş altı kız çocuk olduğu görülmüştür. Adenovirus ile enfekte olduğu belirlenen hastaların yaşları incelendiğinde 9 ay ile 10 yaş arasında dağıldığı ve olguların ikisinin (%40) 2 yaş altı erkek, birinin (%20) 2 yaş altı kız çocuğu olduğu bulunmuştur (Tablo 1).
Tartışma
Yapılan çalışmalarda özellikle yaz aylarında rotavirus pozitifliğinin en düşük oranda olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda Mayıs 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen örnekler değerlendirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda saptadığımız oranlar çeşitli çalışmalarda bildirilen oranlara göre düşük bulunmuştur.
Sonuç
Erken çocukluk dönemindeki ishallerde dışkı örneklerinde rotavirus ve adenovirus varlığının araştırılmasının dehidratasyon-malnütrisyon gelişimini, endikasyon dışı antibiyotik kullanımını önleyeceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Adenovirus, Gastroenterit, Rotavirus

Tablo 1. Rotavirus ve/veya Adenovirus pozitif saptanan olguların yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Rotavirus 2 yaş altı	Rotavirus toplam	Adenovirus 2 yaş altı	Adenovirus toplam
ERKEK	12 (%46.1)	15	2 (%40)	3
KIZ	9 (%34.6)	11	1 (%20)	2
TOPLAM	21 (%80.7)	26	3 (%60)	5

P333- ŞEHİTKAMİL DEVLET HASTANESİ HAZİRAN 2011-EYLÜL 2011 ANTİ-HAV IGG SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Hadiye Demirbakan, Emine Filiz Ünlü, Gülhan Safkan Korkmaz
Şehitkamil Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gaziantep

Amaç
Hepatit A virusu (HAV), tüm dünyada yaygın olarak bulunan Picornaviridae ailesinden bir DNA virusudur. HAV infeksiyonunun fekal-oral yoldan bulaştığı ve dolayısıyla bir ülkedeki prevalansının o bölgenin ekonomik gelişimi ile paralel olduğu bilinmektedir.
Bu çalışmada Haziran 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında hastanemize başvuran hastalarda Hepatit A seroprevalansını belirlemek amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmamızda laboratuvarımıza gönderilen toplam 297 hastanın serum örneği incelenmiştir. Anti-HAV IgG antikorlarının varlığı EIA (Ortho Diagn., Vitros) yöntemiyle araştırılmıştır.
Bulgular
Yapılan çalışmada toplam seropozitiflik oranı % 79.1 olarak bulunurken, çocuklarda bu oran % 65.9, 18 yaş üstü hastalarda ise % 98.3 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda kadınlarda ve erkeklerde seropozitiflik oranı sırasıyla %78.3 ve %80 benzer olarak bulunmuştur. Anti-HAV IgG pozitif olarak saptanan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir.
Sonuç
Çalışmamızda saptadığımız bu oranlar ülkemizde geçmiş yıllarda yapılan diğer çalışmalarla benzer olarak bulunmuştur.
Ülkemizde bazı kentlerde zaman içerisinde seropozitiflik oranında düşme gözlenmesine rağmen, bölgemizde hala % 80'lere varan oranların gözükmesi, sanitasyon ve hijyen koşullarının iyileştirilmesine yönelik çalışmaların arttırılması ve özellikle hastanemizin hizmet verdiği bölge gibi sosyoekonomik açıdan yetersiz bir toplumun yaşadığı kesimlerde çocukluk çağında erken dönemde aşılama çalışmalarının yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti-HAV IgG, HAV, seroprevalans

Tablo 1. HAV IgG pozitif saptanan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Pozitif Erkek/Toplam Erkek	Pozitif Kadın/Toplam Kadın
0-6 YAŞ	13/32 (%40.6)	18/38 (%47.4)
7-11 YAŞ	18 /26 (%69.2)	23/32 (%71.9)
12-16 YAŞ	26 /28 (%92.9)	10/12 (%83.3)
17-21 YAŞ	10/10 (%100)	10/10 (%100)
22-26 YAŞ	7/7 (%100)	3/4 (%75)
27-31 YAŞ	9/9 (%100)	13/14 (%92.9)
32< YAŞ	33/33 (%100)	42/42 (%100)
TOPLAM	116/145 (%80)	119/152 (%78.3)

P334 - POLATLI DUATEPE DEVLET HASTANESİ SAĞLIK ÇALIŞANLARININ HBV, HCV VE HIV SEROPREVALANSLARI

Hatice Uludağ Altun, Aşır Eraslan, Gülsemin Özdemir
Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi,Ankara

Amaç
Bu çalışmada, hastanemizde çalışan 409'u kadın, 296'sı erkek toplam 705 sağlık personelinin hepatit B virusu (HBV), hepatit C virusu (HCV) ve insan yetmezlik virusu (HIV) seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Hastanemiz 2010- 2011 yılı sağlık çalışanlarından tarama amacıyla alınan kan örneklerinin hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti HBs), HCV antikoru (anti HCV) ve HIV antikoru (anti HIV) sonuçları laboratuvarımızda kemiluminesans immunassay yöntemi (ADVIA CENTAUR XP, SIEMENS) ile çalışılmıştır.
Bulgular
Hastane personelinin meslek dağılımı incelendiğinde 71 (%10.1)'i doktor, 181(%25.7)'si ebe-hemşire, 17(%2.4)'ü sağlık memuru, 51 (%7.2)'si teknisyen(laboratuvar/röntgen/anestezi), 132 (%18.7)'si temizlik personeli, 16 (%2.3)'ü hizmetli, 105 (%14.9)'u tıbbi sekreter, 76 (%10.8)'i memur, 29 (%4.1)'i güvenlik personeli, 27 (%3.8)'i yemekhane personelidir. Hepatit B virusu açısından yapılan tarama sonuçları değerlendirildiğinde sağlık personelinin 623(%88.3)'ünde anti-HBs pozitif olarak tespit edilmiştir. 73 (%10.35) personelin aşısız, 613 (%86.95)'inin aşılı, 10 (%1.42)'sinin doğal bağışık ve 9 (%1.28)'inin de taşıyıcı olduğu saptanmıştır. Sağlık çalışanlarında anti HIV ve anti HCV pozitifliği saptanmamıştır. Sağlık personelinde hepatit test sonuçlarının dağılımı incelendiğinde teknisyenlerde iki, güvenlik personelinde bir, temizlik personelinde iki, tıbbi sekreterde üç, memurlarda bir HBsAg pozitifliği tespit edilmiştir. Doktor ve Ebe-hemşire grubunda HBsAg pozitifliği saptanmamıştır. Aşılı olmayan sağlık çalışanları aşılama programına alınıp, taşıyıcı olanların takipleri yapılmaktadır.
Sonuç
Sağlık personeli, kan ve kan ürünleri ile teması söz konusu olduğu için HCV, HBV ve HIV bulaşması yönünden risk altında bulunmaktadır. HBsAg pozitif bir sağlık personelinin de virusu başka hastalara bulaştırma ihtimali söz konusudur. Hastanede çalışan personelin öncelikli olarak korunma yöntemlerini uygulaması gereklidir. Hasta ve çalışan güvenliği açısından sağlık personeline bulaşıcı hastalıklardan korunma yöntemleri konusunda düzenli olarak eğitimlerin verilmesi, tarama tetkiklerinin düzenli yapılarak mevcut durumlarının tespiti, taşıyıcı olanların rutin takiplerinin yapılması ve aşılı olmayanların aşılanması önem arz etmektedir. Sağlık personelinin aşılanması HBV enfeksiyonuna yakalanma ve enfeksiyonu bulaştırma riskinide azaltacaktır.

Anahtar Kelimeler: Sağlık çalışanları, HBV, HCV, HIV, seroprevalans

P335 - EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ VE MERSİN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KAN MERKEZLERİNE BAŞVURAN HBSAG NEGATİF KAN VERİCİLERİNDE HBV-DNA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Arzu Bayram[1], Seda Tezcan[2], Aysu Değirmenci[3], Gürol Emekdaş[2], Ajda Turhan[3], Selda Erensoy[1], Yeşim Aydınok[3], Naci Tiftik[2], Rüçhan Yazan Sertöz[1]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir*
[2]*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma Uygulama Hastanesi Kan Merkezi, Mersin*
[3]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezi, İzmir*

Amaç
Kan yoluyla bulaşan infeksiyon etkenlerinin geçişi sağlıklı görünen kan vericilerinden yapılan infekte transfüzyonlar sonucunda olmaktadır. Kan ve kan ürünlerinde güvenlik, sağlıklı kan verici seçimi ile başlar (1). Bu çalışmada MP-NAT'a (küçük havuzlarda nükleik asit testi) göre duyarlılığı daha yüksek olan ID-NAT (tek tek yapılan nükleik asit testi) ile HBsAg negatif kan vericilerinde HBV-DNA'nın araştırılması planlanmıştır (2,3,4). Ayrıca ülkemizde uygulanmakta olan kan vericisi tarama testlerinin yeterli olup olmadığı, ülkemiz koşullarını da dikkate alarak yeni bir düzenleme getirilip getirilemeyeceğini irdelemek ve olası yeni bir algoritma oluşturulmasına katkıda bulunabilmek amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi (MÜTF) Sağlık Araştırma Uygulama Hastanesi Kan Merkezi'ne Nisan 2010 ile Ocak 2011 tarihleri arasında başvuran 18-65 yaş arası (ortalama: 35,6 yıl), toplam 4352 HBsAg negatif kan vericisi çalışmaya alındı.
Kan vericilerinin HBsAg'leri, kemilüminesen mikropartikül immunuassay (CMIA, Architect i2000SR, Abbott Laboratories, ABD) yöntemi ile çalışıldı. Kan vericilerin 1971'i EÜTF Kan Merkezi'nden, 2381'i MÜTF Kan Merkezi'nden toplandı. Kan vericilerin örneklerinde HBV-DNA varlığını araştırmak için, otomatik ekstraksiyon kiti (QIAsymphony Virus/Bacteria Mini Kit, Qiagen, Almanya) kullanılarak QIAsymphony (Qiagen, Almanya) cihazında ekstraksiyon ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) kitleri (artus HBV QS-RGQ Kit, Qiagen, Almanya) ile RT-PCR cihazında (Rotor gene Q, Corbett Research Pty Ltd., Avusturya) saptama çalışması yapıldı. Testin analitik duyarlılığı 10,22 iü/mL' dir. Çalışmada Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) kalite kontrol örnekleri aynı test ve farklı test ile çalışıldı.
Bulgular
Çalışılan 4352 kan vericisinin plazmalarında RT-PCR yöntemi ile HBV-DNA araştırılması sonucunda iki pozitif sonuç bulundu. İki pozitif sonuç aynı yöntemle iki kez ve farklı alternatif yöntemle (Inno-LiPA HBV DR Line Probe assay, Innogenetics N.V., Belçika) doğrulamak amacıyla tekrarlandı. Tekrarlayan çalışmalarda örneklerin tümünde HBV-DNA negatif olarak bulundu.
Sonuç
Bu çalışmada HBsAg negatif bulunan 4352 kan vericisinde başlangıçta iki adet pozitiflik saptanmış.
Ancak aynı yöntemle ve alternatif diğer yöntemle pozitiflikleri doğrulanamamıştır. Örneklerin tümü negatif olarak kabul edilmiştir. Fakat gizli HBV infeksiyonlarında viral yükün sıklıkla alt sınırlarda olduğu da bilinmektedir. Bu çalışmada kullanılan ID-NAT yönteminin duyarlılığı yüksek olmasına karşın maliyet-etkin olmaması, deneyimli personel gerektirmesi gibi nedenlerle kan merkezlerinde rutin olarak uygulanması zordur. Örneklerin toplandığı her iki ilde de Türkiye geneline göre HBsAg taşıyıcılık oranlarının düşük olması DNA pozitiflik oranlarını etkilemiştir. Bunun yanında ülkemizin öncelikleri gözönüne alınarak kan merkezlerinde hepatit B taramalarında HBV-DNA'nın moleküler tekniklerle bakılmasından önce farklı serolojik algoritmalar üzerinde çalışılmasına gerek olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: gizli Hepatit B virüs infeksiyonu, hepatit B virüs, HBV-DNA, kan verici, nükleik asit testi

P336 - GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE GİZLİ HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU SIKLIĞI

Tuba Müderris[1], Osman Sezer Cirit[2], Tülin Yazıcı[3]
[1]*Ankara İl Halk Sağlığı Laboratuvarı, Tıbbi ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara*
[2]*Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi ve Klinik Mikrobiyoloji, Şanlıurfa*
[3]*Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Şanlıurfa*

Amaç
Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu dünyada ve Türkiye'de ciddi bir morbidite ve mortalite sebebidir. Son yıllarda enfeksiyonlu donörlerden duyarlı alıcılara virüsün geçişinin mümkün olması gizli HBV enfeksiyonu üzerine olan ilgiyi artırmıştır. Saptanamayan HBV yüzey antijeni (HBsAg) ile birlikte kronik HBV enfeksiyonunu tanımlayan bu yeni durum gizli HBV enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Bu çalışmada özellikle HBV enfeksiyonunun çok yaygın olarak görüldüğü Türkiye'nin az gelişmiş bir bölgesinde gizli HBV varlığı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı.
Gereç-Yöntem
Anti HIV, Anti HCV, HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc: Kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkiki (Chemiluminescent Microparticle Immunoassay, CMIA) yöntemi ile Archıtect i2000 SR (Abbott, İrlanda) sistemde değerlendirildi.
ALT(alanin aminotransferaz), AST(aspartat aminotransferaz), GGT(gamma glutamiltransferaz): Roche Modular P ve Roche İntegra otoanalizöründe Roche marka (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany) ticari kitler kullanılarak ölçüldü.
HBV-DNA PZR: Abbott Real Time HBV Amplification Reagent Kit kullanılarak belirlendi.
Bulgular
Çalışmaya 1662 hastadan alınan serum örneği dahil edildi. Bu örneklerin 269'unda HBsAg negatif bulunurken bu örneklerin 11'inde HBV-DNA pozitif saptandı. Çalışmamızda gizli HBV oranı %4.1(11/269) oranında bulundu. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastalarda ALT, AST, GGT düzeylerinin normal veya normalden hafif yüksek olduğunu saptadık. Hastaların 4'ünde izole Anti-HBc pozitifliği (HBsAg-negatif hastada anti-HBc pozitifliği) olduğu belirlendi. Ayrıca 7 hastada anti-HBs pozitif bulundu. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların hiçbirinde Hepatit C virüs ve Human Immunodeficiency virus enfeksiyonu saptanmadı.
Sonuç
Çalışmamızda gizli HBV enfeksiyonu oranının yüksekliği (%4.1) kan transfüzyonu için donörlerden alınan kanların gizli HBV enfeksiyonu açısından dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini bir kere daha vurgulamaktadır. Oranın yüksekliğini kullandığımız tekniğin duyarlılığının yüksek olmasına ve çalışmayı yaptığımız bölgenin HBV enfeksiyonu bakımından prevalansının yüksek olmasına bağlamaktayız. Bu hastaların 7'sinde anti-HBs pozitif bulundu. Çalışmamız, 'anti-HBs'nin pozitif olması her zaman iyileşme anlamına gelmemektedir' görüşünü desteklemektedir. Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, gizli HBV'li hastalarda anti-HBs'nin varlığı, HBV'nin yetersiz nötralizasyonunu ve rutin serolojik profilin HBV enfeksiyonunun durumunu tanımlamada her zaman için tek başına yeterli olmayabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda gizli HBV enfeksiyonu düşünülen hastaların ALT, AST, GGT düzeylerinin normal veya normalden hafif yüksek olduğunu saptadık. Saptanan gizli HBV enfeksiyonu sayısının azlığı bu bilginin sağlıklı olarak değerlendirilmesini engellemekle birlikte, serum aminotransferaz düzeylerinin gizli HBV enfeksiyonu için uygun bir tarama metodu olamayacağını düşündürmüştür. Çalışmamızın dezavantajı çalışma grubumuzun normal sağlıklı insanlardan oluşmayıp, çeşitli nedenlerle HBV-DNA PZR çalışılmak üzere laboratuvarımıza gönderilmiş hasta numuneleri ile yapılmasıdır. Bu nedenle HBsAg'si negatif hasta sayımız düşüktür. Fakat hasta sayımız düşük olmasına rağmen gizli HBV enfeksiyonu saptadığımız hasta sayısı oldukça yüksektir. Ayrıca çalışmamızın retrospektif bir çalışma olması nedeni ile gizli HBV düşünülen hastalardan karaciğer biyopsisi gibi daha ileri tetkikler yapılması mümkün olmamıştır. Sonuç olarak gizli HBV enfeksiyonu toplumda sık olarak görülebilen ve özellikle kan transfüzyonları sırasında bulaştırıcılığa neden olması bakımından oldukça önemli olan bir durumdur. Bu nedenle donörlerden alınan kanların nakli yapılmadan önce HBV enfeksiyonu yönünden duyarlı ve standardizasyonu yapılmış bir test ile araştırılması gerektiğini ve gizli HBV enfeksiyonunun tanısında anahtar testin HBV-DNA'nın saptanması olduğuna inanmaktayız. Gerçek prevalansın belirlenmesinde doğru ve güvenilirliği yüksek büyük popülasyon çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Gizli Hepatit B, HBV DNA, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

P337 - EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİNE 2007-2010 YILLARI ARASINDA BAŞVURAN EŞ ZAMANLI HBSAG, ANTİ-HBC IGG, ANTİ-HBS VE HBV DNA İSTEĞİ BULUNAN HASTA SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Hale Kalfaoğlu, Rüçhan Sertöz, İmre Altuğlu, Aysin Zeytinoğlu
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İzmir

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Laboratuvarına 2007-2010 yılları arasında başvuran eş zamanlı HBsAg, anti-HBc IgG, anti-HBs ve HBV DNA isteği bulunan toplam 4023 örnek değerlendirmeye alınmıştır.
Değerlendirmenin sonuçlarına göre 4023 örnekte; 853 HBV DNA pozitifliği saptanmıştır. HBV DNA'sı pozitif bulunan 15 örneğin HBsAg'lerinin negatif olduğu (%1.75); bu örneklerin 12'sinde anti-HBcIgG tek başına pozitif, üçünde anti-HBcIgG ve anti-HBs birlikte pozitif olduğu görüldü. Birlikte pozitif bulunan örneklerde HBV DNA viral yükleri 4.2 E3, 5.4 E2, 6.9 E2 kopya/mL idi.
Değerlendirmeye alınan grubun Klinik Viroloji Laboratuvarına başvuran hastalar olduğu göz önüne alınarak; HBsAg negatif, HBV DNA pozitif bulunan örneklerin sayısının anlamlı derecede yüksek olduğu ve ülkemizdeki diğer veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: HBsAg, anti-HBc IgG, anti-HBs, HBV DNA

Örneklerin HBsAg, anti-HBc IgG, anti-HBs ve HBV DNA sonuçları

HBsAg	Ani-HBc	Anti-HBs	HBV-DNA	Toplam (%)
-	-	-	-	585 (%14.5)
-	-	+	-	285 (%7)
-	+	+	+	3 (%0.08)
-	+	+	-	392 (%9.72)
-	+	-	+	12 (%0.3)
-	+	-	-	211 (%5.2)
+	+	-	-	2516 (%62.5)
+	-	-	+	15 (%0.4)
+	-	-	-	4 (%0.1)
				4023

P338 - ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT SOLUNUM YOLLARI İNFEKSİYONLARINDA BOCAVİRUS SAPTANMASI

Sevinç Yenice[1], Devran Gerçeker[1], Deniz Tekin[2], Fikret Şahin[1], Emine Suskan[2]
[1]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara*
[2]*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Ankara*

Amaç
2 yaş altındaki çocuklarda alt solunum yolu hastalığı etkeni olduğu düşünülen olarak İnsan Bocavirusu (HBoV) varlığının araştırılması amaçlanmıştır.
Yöntem
Mart 2009 - Kasım 2009 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı poliklinikleri ve Çocuk Acil servisine başvuran ve akut solunum yolu enfeksiyonu tanısı konulan 2 yaş altı 200 (128 erkek, 72 kız) çocuk hastaya ait nazofarengeal aspirat örnekleri çalışılmıştır. Gestasyonel yaşı 36 haftanın ve doğum ağırlığı 2500 gramın altında olan bebekler, kronik akciğer hastalığı ya da konjenital kalp hastalığı olanlar ve daha önce bronkodilatatör ya da steroid kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Örneklerde HBoV varlığı, BoV188F ve BoV542R primerleri kullanılarak PZR yöntemi ile araştırılmıştır.
Bulgular
İncelenen 200 örnekten altısında (%3) HBoV pozitif bulunmuştur.
HboV pozitifliği saptanan bu altı hastanın beşi (%83.3) erkek, biri kız idi ve yaşları 4-24 ay aralığındaydı.Hastalarda en sık tespit edilen bulgular burun akıntısı ve interkostal retraksiyon (4/6 hastada)iken, ateş (3/6 hasta),öksürük (3/6) ve hırıltılı solunum (2/6) diğer gözlenen semptomlardı. Sadece iki hastada eş zamanlı olarak retraksiyon ve hırıltılı solunum saptandı
Sonuç
HBoV'nin patojenitesi ile ilgili kanıtlar artmakla birlikte, HBoV'nin hastalıklarla ilişkisi ve şiddetiyle ilgili bilgilerin artması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır

Anahtar Kelimeler: Çocuk, insan Bocavirus, PZR, solunum yolu enfeksiyonu

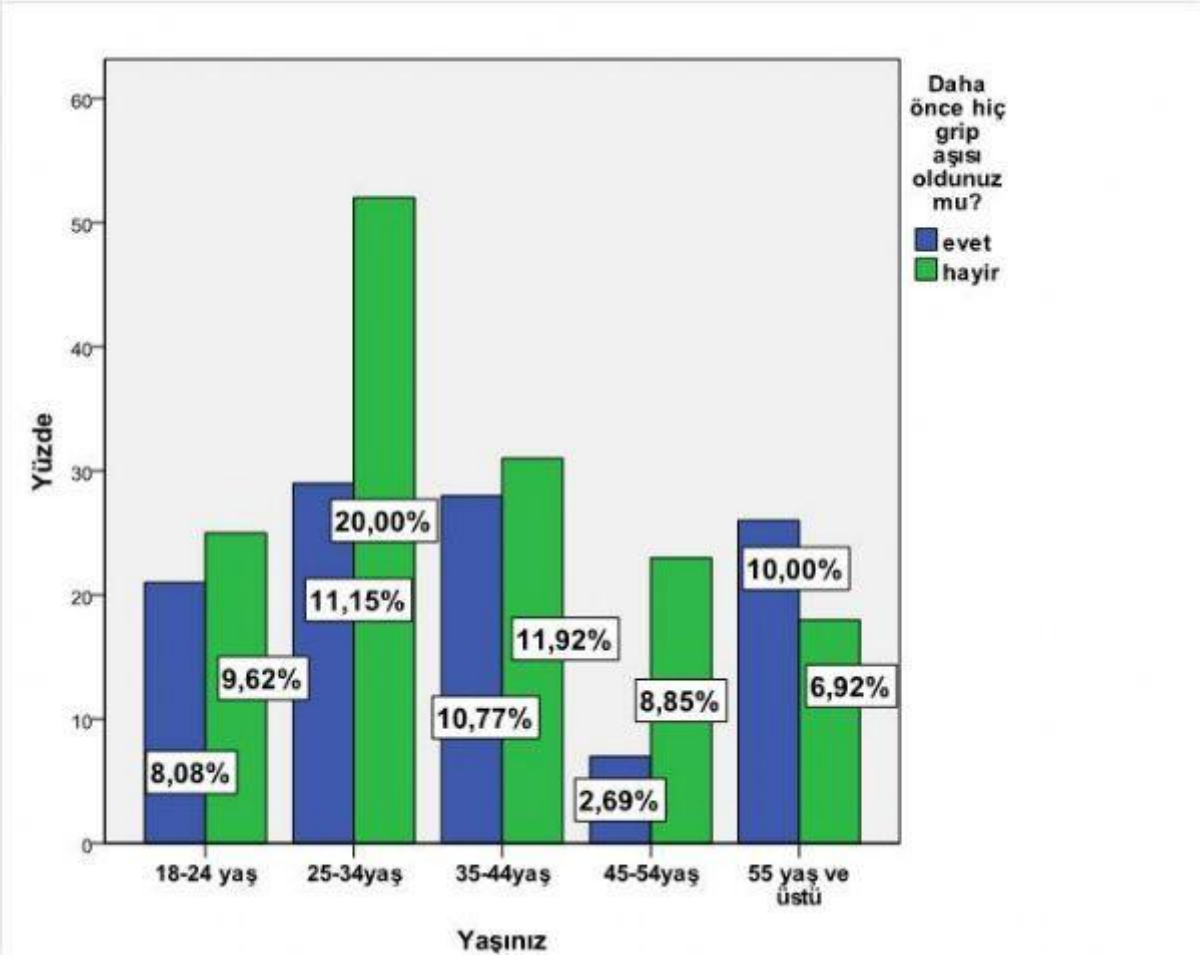
P339 - ANTALYA'DAKİ GRİP AŞILAMA BİLİNCİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ceyhan Bozyurt, Serkan Akıncı
Akdeniz Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İşletme ABD, Antalya

Amaç
Bu çalışmanın amacı, grip aşısı olmayan bireylerin neden grip aşısı olmadıklarını ortaya çıkarıp, grip aşılama oranlarını arttırmak için neler yapılabilir ve mevcut çalışmalarda ne gibi iyileştirmeler yapılabilir, sorularına cevap aramaktır. Elde edilen veriler, bireylerin çeşitli demografik verileri açısından değerlendirilecektir.
Gereç-Yöntem
Araştırmada örneklem yöntemi olarak, olasılıksız örneklem yöntemlerinden kolayda örneklem yöntemi uygulanmıştır. Veri toplama aracı olarak anket yöntemi tercih edilmiştir. Araştırma Antalya'nın, Konyaaltı ve Muratpaşa ilçe sınırları içerisinde yaşayan 18yaş ve üstündeki 260 kişiye verilen anketlerin doldurulması ile yapılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya katılan bireylerin %51,2'sini bayanlar oluştururken, %48,8'ini baylar oluşturmuştur. Çalışmaya katılan bireylerin %17,7'sini 18-24 yaş arasındaki bireyler, %31,2'sini 25-34 yaş arasındaki bireyler, %22,7'sini 25-34 yaş arasındaki bireyler, %11,5'ini 35-44 yaş arasındaki bireyler ve son olarak %16,9'unu 55yaş ve üstü bireyler oluşturmuştur. Araştırmaya katılan bireylerin %9,6'sının kronik rahatsızlığı vardır. Bu hastaların %47,4'ü diyabet, %26,3'ü akciğer hastası ve %26,3'ü kalp hastasıdır. Risk grubu hastaların %79,2'sinin raporu var. %20,8'inin yok.Çalışmaya katılan bireylerin %11,5'ini ilkokul mezunu bireyler, %6,9'unu ortaokul mezunu bireyler, %29,2'sini lise mezunu bireyler, %44,6'sını üniversite mezunu bireyler ve son olarak %7,7'sini yüksek lisans mezunu bireyler oluşturmuştur. Araştırmaya katılan bireylerin %42,7'si daha önce en az 1(bir) kez grip aşısı olmuş, %57,3'ü ise hiç grip aşısı olmamıştır. 2010 senesinde domuz gribinin de etkisiyle aşılama oranlara bu seneye oranla daha fazladır. Grip aşısı bilincinin toplumun her eğitim seviyesindeki bireylerde aynı düşük seviyede olduğu bulumuştur. Araştırmaya katılan bireylerden 18-24 yaş arası grubun %8,08'i, 24-35 yaş arası grubun %11,15'i, 35-44 yaş arası grubun %10,77'si, 45-54 yaş arası grubun %2,69'u ve son olarak 55 yaş ve üstü grubun %10'u grip aşısı olmaktadır. Araştırmaya katılan bireylerden grip aşısı olmama nedenlerine bakıldığında bir çok neden içerisinde en çok 2 neden ön plana çıkmaktadır, birincisi %34,7 ile "etkinliğine inanmamaları" diğeri ise %11,3 ile bireylerin "aşı ile ilgili bilgi sahibi olmaması"dır. Katılımcıların sadece % 2,7'si grip aşısını pahalı bulduğu için yaptırmamaktadır. Araştırmaya katılan ve hiç grip aşısı olmamış bireylerden %33,6'sı ileride grip aşısı olmayı düşünmektedir. Araştırmaya katılan ve aşı olan bireylerin %21,6'sı aşılarını eczanede, %44,1'i sağlık ocağında, %18,9'u hastanede, %53,6'sı evde, %11,7'si işyeri,spor, salonu veya huzurevinde olmuştur. Araştırmaya katılan ve aşı olan bireylerin %42,2'si doktor, %19,3'ü eczacı, %2,8'i komşu, %10,1'i arkadaş, %25,7'si tv, internet vb yayın organlarında yayınlanan grip aşılaması önerileri nedeniyle aşı olmuşlardır. Katılımcı bireylerin %10,8'i Vaxigrip (sanofi pasteur), %0,4'ü İnfluvac (Solvay) grip aşısını marka olarak tercih etmekte, Fluarix (GSK) markasını ise katılımcılar arasında hiç bilen yoktur. Araştırmaya katılan ve altta yatan hastalığı olan bireylerin %52,17'sinin grip aşılarının raporlu hastalara ücretsiz verildiği konusunda bilgisi yoktur. Araştırmaya katılan ve altta yatan hastalığı olan, ama aşı olmayan bireylerin %13,04'ü, grip aşılarının raporlu hastalara ücretsiz verildiğini bilseydim aşı olurdum demiştir.
Sonuç
Grip mevsiminde doktor, eczacı ve yayın organlarının etkisi, grip aşısı ile aşılanma nedenlerinin %87,2'sini oluşturmakta ve bu 3 gruba yapılacak bilgilendirme çalışmalarına daha da önem verilmesi gerektiğini söyleyebiliriz. Halkın grip hastalığını basit bir hastalık olarak sınıflandırması nedeniyle, aşılama oranları düşük kalmakta. Bu nedenle bilgilendirme faaliyetlerinde grip hastalığını ne kadar ciddi bir hastalık olduğunu daha somut örneklerle anlatılması ile bireylerin bu konudaki farkındalıkları arttırılmalıdır. Ancak bu sayede aşılama oranlarını arttırılabilir.

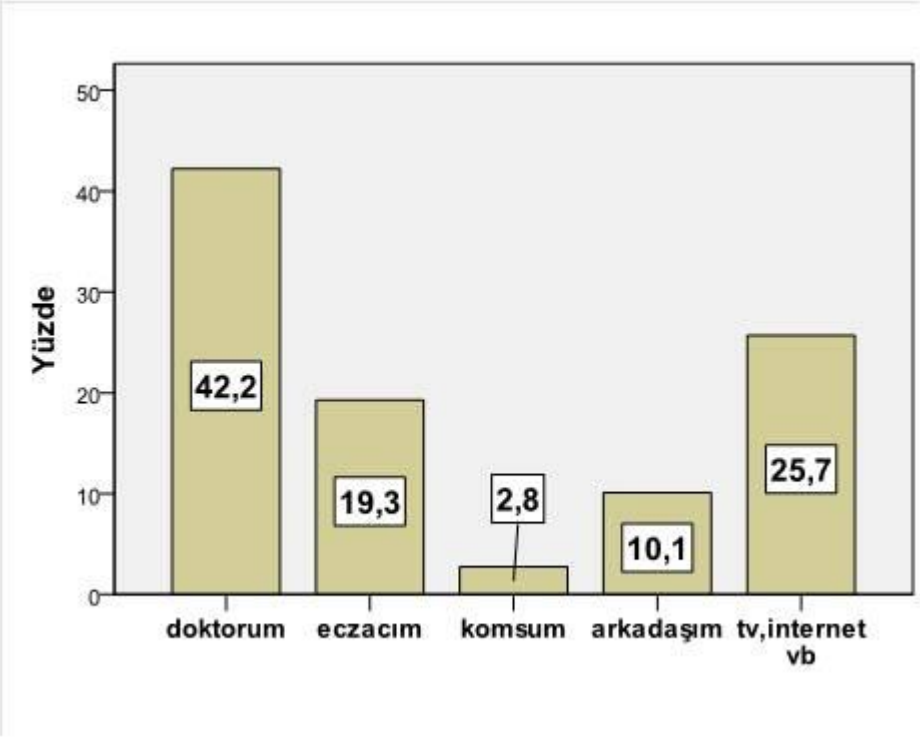
Anahtar Kelimeler: Aşılama, engeller, grip, öneriler

Araştırmaya Katılan bireylerin Yaş Dağılımı.



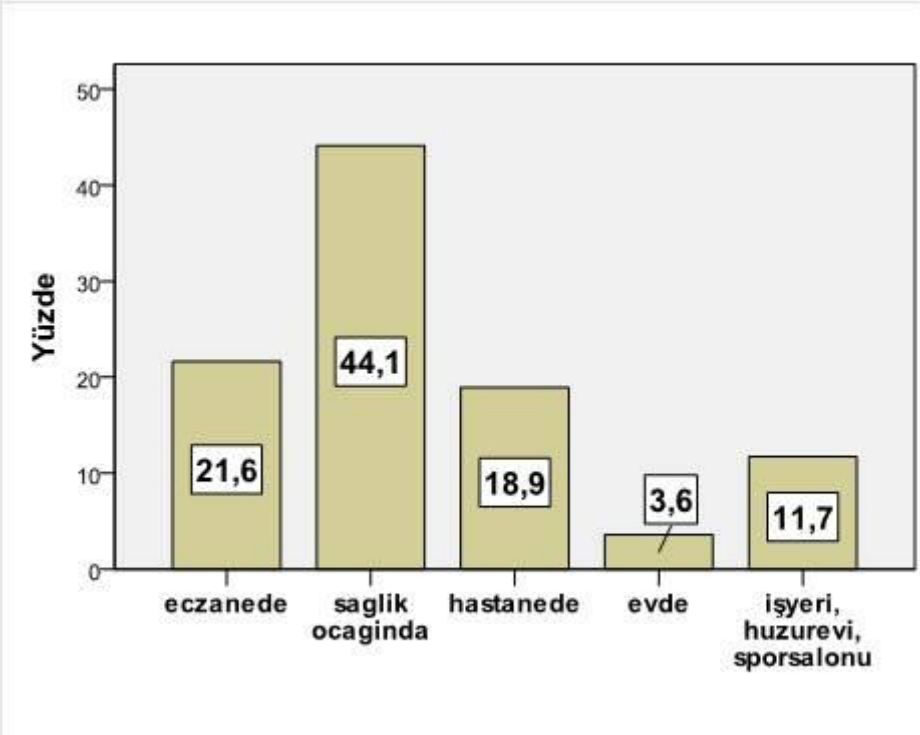
Araştırmaya katılan bireylerin yaş dağılımı Tablo'da sunulmuştur. Çalışmaya katılan bireylerin %17,7'sini 18-24 yaş arasındaki bireyler, %31,2'sini 25-34 yaş arasındaki bireyler, %22,7'sini 35-44 yaş arasındaki bireyler, %11,5'ini 45-54 yaş arasındaki bireyler ve son olarak %16,9'unu 55yaş ve üstü bireyler oluşturmuştur.

Grip Aşısı Olmanızı Kim Önerdi?



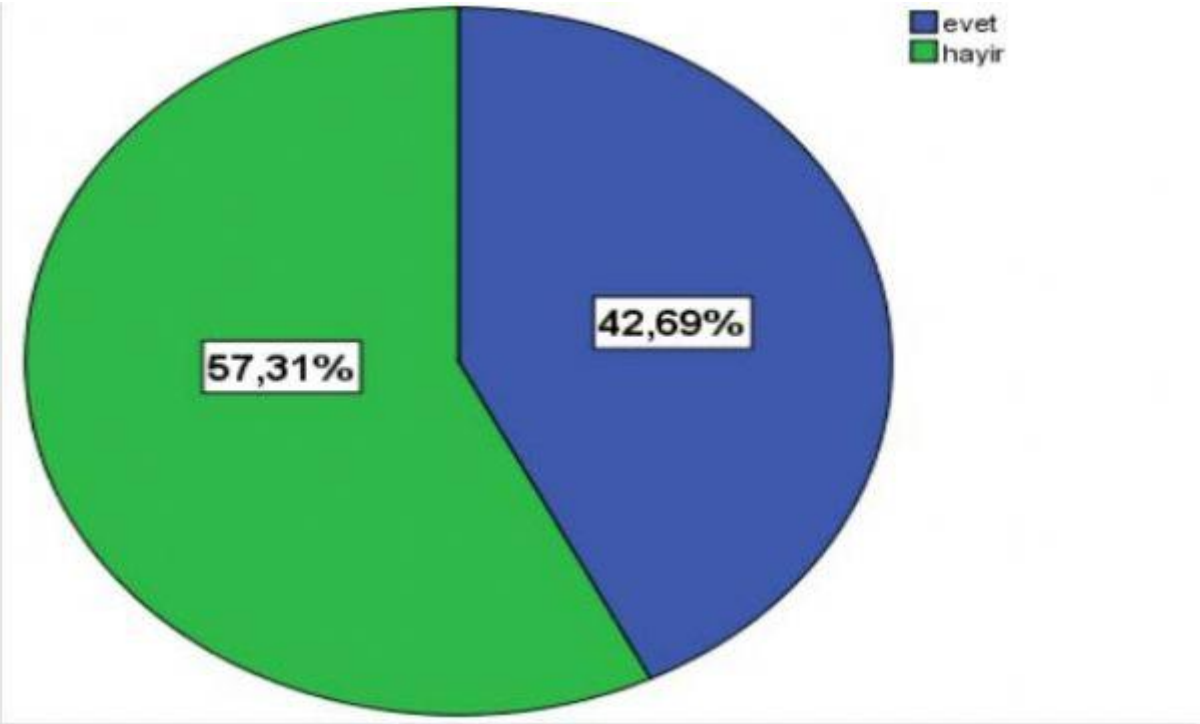
Araştırmaya katılan ve aşı olan kişilerin %42,2'sini doktoru, %19,3'ünü eczacısı, %2,8'ini komşusu, %10,1'ini arkadaşı, %25,7'sini tv, internet vb yayın organlarındaki yayınlar etkileyip aşı olmalarını sağlamıştır.

Grip Aşısını Nerede Oldunuz?



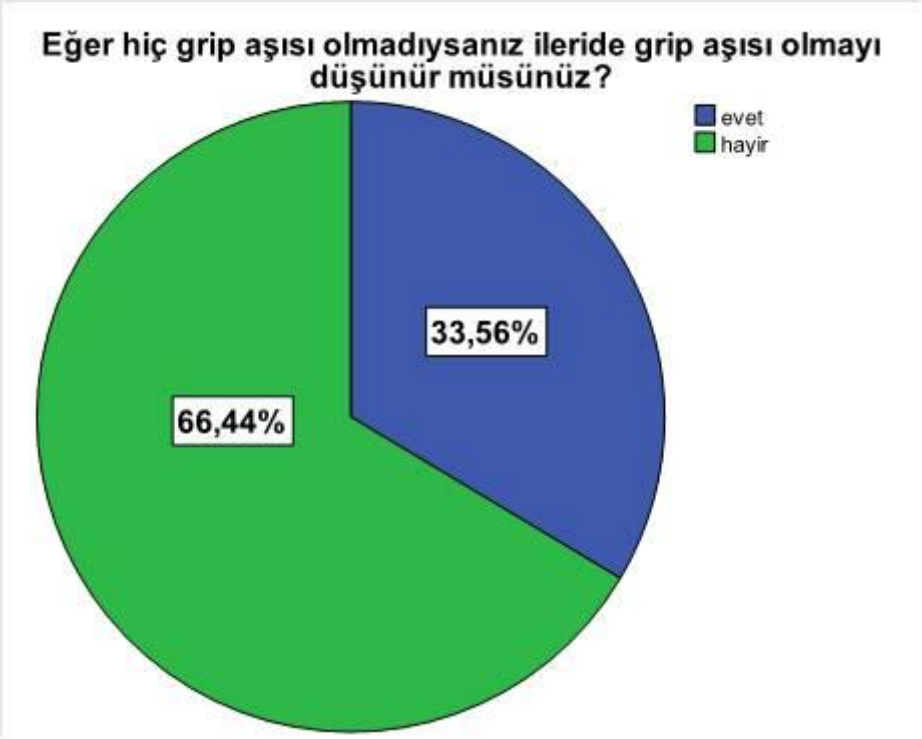
Araştırmaya katılan ve aşı olan kişilerin %21,6'sı aşılarını eczanede, %44,1'i sağlık ocağında, %18,9'u hastanede, %53,6'sı evde, %11,7'si işyeri,spor salonu veya huzurevinde olmuş.

Daha Önce Hiç Grip Aşısı Oldunuz Mu?



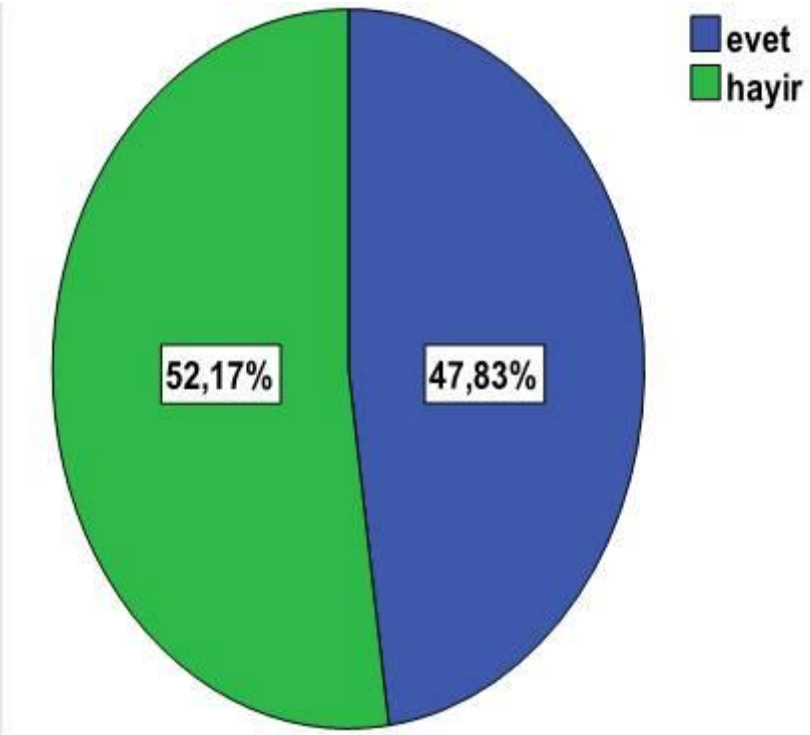
Araştırmaya katılan kişilerin %42,7'si daha önce en az 1(bir) kez grip aşısı olmuş, %57,3'ü ise hiç grip aşısı olmamıştır. Yani Antalya'da daha popülasyon'un yarısından fazlası (%57) hayatında hiç grip aşısı olmamış.

Hiç Grip Aşısı Olmadıysanız, İleride Grip Aşısı Olmayı Düşünür Müsünüz?



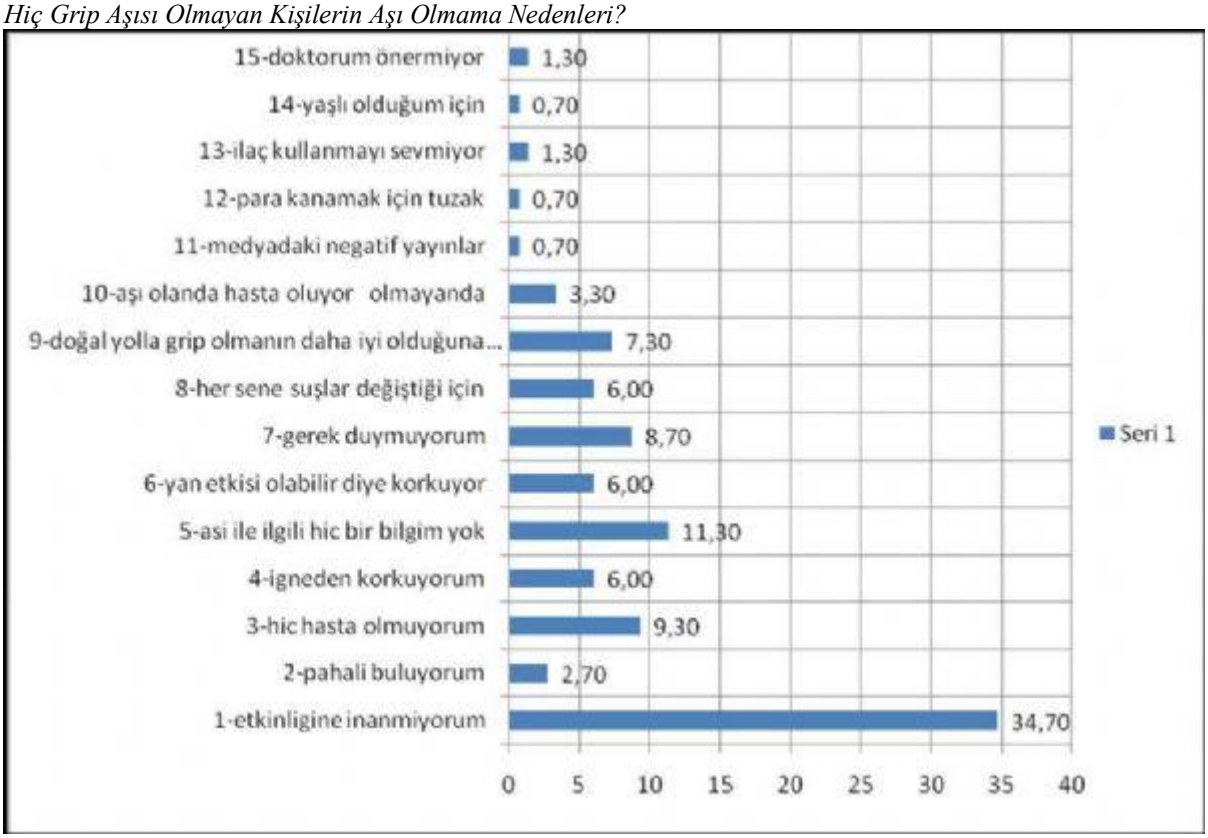
Araştırmaya katılan ve hiç grip aşısı olmamış kişilerden %33,6'sı, ileride grip aşısı olmayı düşünüyor. Bu nedenle bu gruba yönelik yapılacak aktiviteler aşılama oranlarını arttırmaya yardımcı olacaktır, ayrıca pazarın daha ne kadar açık olduğunun en büyük göstergesi.

Raporlu Hastalara Grip Aşılarının Ücretsiz Olduğunu Biliyor Musunuz?



Araştırmaya katılan ve altta yatan hastalığı olan kişilerin %52,17'sinin grip aşılarının raporlu hastalara ücretsiz verildiği konusunda bilgisi yok. Türkiye'de 10milyon'dan fazla raporlu hasta olduğunu düşünürsek, bu hastaların bilinçlendirilmesi aşılama oranlarını arttırmada büyük fayda sağlayacaktır.

Hiç Grip Aşısı Olmayan Kişilerin Aşı Olmama Nedenleri?



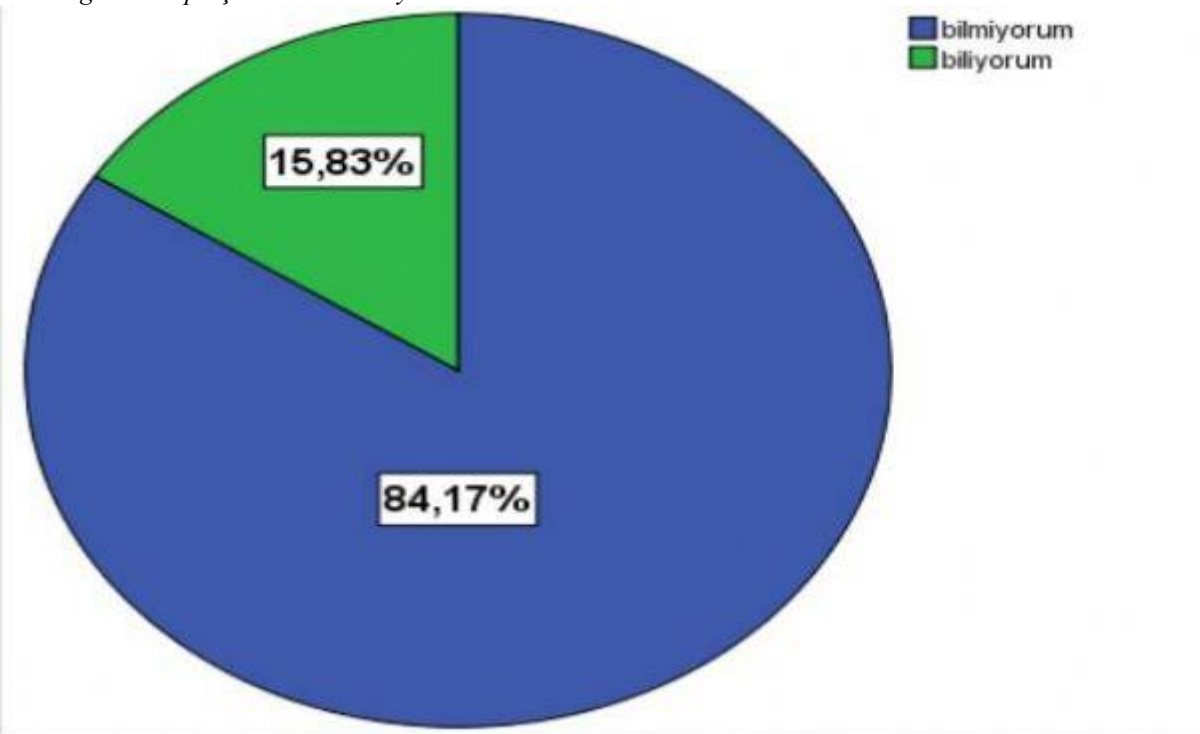
Araştırmaya katılan kişilerden grip aşısı olmama nedenlerine bakıldığında bir çok neden içerisinde en fazla 2 değer göze çarpıyor, birincisi %34,7 ile "etkinliğine inanmamaları" diğeri ise %11,3 ile kişilerin "aşı ile ilgili bilgi olmaması".

Araştırmaya Katılan Kişilerin Bilgili Olduklarını Düşündükleri Konular?

	Ortalama
1-Soğuk algınlığı gibi küçük ve geçici sağlık problemlerini engelleme konusunda bilgiliyimdir.	4,1142
2-Kendi sağlığımı koruma konusunda diğer insanlara kıyasla daha bilgiliyimdir.	3,8047
3-Grip, kızamık gibi önemli ve geçici hastalıkların engellenmesi konusunda bilgiliyimdir.	3,5354
4-Alerjiler ve deri kuruluğu gibi küçük ve kronik problemlerin engellenmesi konusunda bilgiliyimdir.	3,3216
5-Grip aşısının faydalı olduğunu düşünüyorum	3,2283
6-Hipertansiyon ve diyabet gibi kronik ve kalıcı hastalıkların engellenmesi konusunda bilgiliyimdir.	3,0512
	253 Kişi

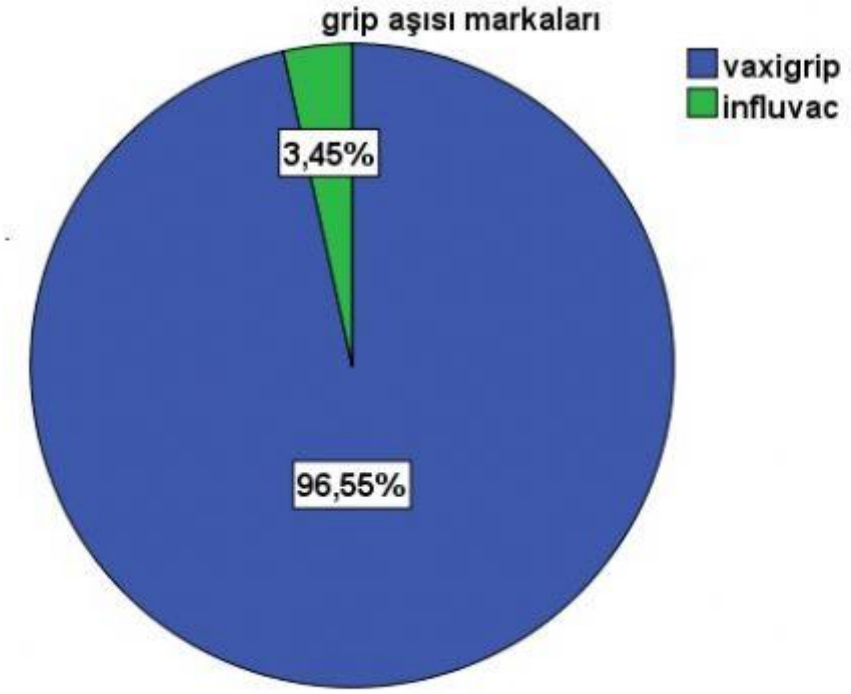
Araştırmaya katılan kişilerin bilgili olduklarını düşündükleri konuların ilk üçünü, 1-soğuk algınlığı ve küçük sağlık problemleri engelleme konusunda bilgiliyimdir, 2- kendi sağlıklarını koruma konusunda bilgiliyimdir ve 3-grip,kızamık gibi önemli hastalıkların engellenmesi konusunda bilgiliyimdir, oluşturmakta. Bireyler bu konularda yeterince bilgili olduklarını düşündükleri ve grip hastalığını basit bir hastalık olarak sınıflandırdıkları için aşılama oranları düşük kalmakta.

Herhangi Bir Grip Aşısı Markası Biliyor Musunuz ?



Araştırmaya katılan kişilerin sadece %15,8'i aşı markası konusunda bilinçli, geri kalan kişiler de ya aşı olmuyor ya da marka tercihi yapmadan aşı oluyorlar. Yani aşı olan insanlarda daha bir marka bilinci gelişmemiş.

Grip Aşıları'nın Marka Bilinirliği.



Araştırmaya katılan ve grip aşısı markalarını bilen bireylerin %96,5'i Vaxigrip (Sanofi Pasteur), %3,5'i İnfluvac (Solvay) markalarını cevap olarak verdi. Ankete katılanlar arasında Fluarix (GSK) ismini bilen hiç yok.

P340 - KONYA BÖLGESİNDE TOPLUM KÖKENLİ PNOMONİ İÇİN HASTANEYE YATIRILAN ÇOCUK HASTALARDA SOLUNUMSAL VİRAL ENFEKSİYON ETKENLERİNİN MULTİPLEKS GERÇEK ZAMANLI-PCR İLE TANIMLANMASI

Ahmet Sert[1], **Recep Keşli[2],** Dursun Odabaş[1], Hüseyin Bilgin[1], Ebru Aypar[1], Melike Keser[3], Abdullah Yazar[1], Muhammet Güzel Kurtoğlu[2], Fatih Akın[1]
[1]*Konya Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hastalıkları Kliniği, Konya.*
[2]*Konya Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloj Laboratuvarı, Konya.*
[3]*Konya Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Konya.*

Amaç
Bu çalışmanın amacı toplum kökenli pnömoni tanısı ile hastaneye yatırılan çocuklarda viral pnömoni etkenlerinin moleküler tanı teknikleri kullanarak tanımlanmasını değerlendirmektir.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Konya bölgesindeki viral pnömoni etkenlerini tanımlamak amacı ile toplum kökenli pnömoni nedeni ile hastaneye yatırlan altmış dört çocuk dahil edildi. Çalışma Ekim 2009 ve Aralık 2010 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Yaşları bir ay ile sekiz yaş arasında olan ve toplum kökenli pnömoni olarak tanı konulan çocuk hastalardan nazo-faringeal sürüntü örnekleri elde edildi. Hastalarda resipratuvar sinsityal virus (RSV), adenovirus, influenza virus ve paranifluenza viruslar gibi viral pnömoni etkenlerinin varlıklarını, kabul edildikleri zamanda belirlemek için, multipleks gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirildi. Enfeksiyon etkeni bakterilerin izolasyonu için hastalardan kan kültürleri alınarak tam otomatik kan kültür sisteminde (Bactec 9120 BD, Sparks MD, USA) inkübe edildi ve izole edilen bakteriler tam otomatik bakteri tanımlama ve duyarlılık sistemi ile (Phoenix 100 BD, Sparks MD, USA) tanımlandı.
Bulgular
Toplam 64 hastanın 22'si (% 34.4) viral enfeksiyonlar, 5'i (% 7.7) bakteriyel enfeksiyonlar ve 2'si (% 3.1) hem viral hem de bakteriyel enfeksiyonlar için pozitif olarak bulundu. Otuz yedi (% 57.8) hastada muhtemel hiçbir etken bulunmadı. Respiratuvar sinsityal virus (RSV) (% 23.4) ve adenovirus (% 4.6) en sık viral patojenler olarak belirlendi. Mortaliteye rastlanmadı.
Sonuç
Bu çalışma yaşları bir ay ve sekiz yaş arasında olan ve hastaneye yetırlan çocuklarda virusların toplum kökenli pnömoninin sık etkenleri olarak belirlendiklerini göstermektedir. Virusların etyolojik tanılarının geliştirilmesi enfekte hastalarda gerekesiz olarak uygulanan özellikle antibiyotikler gibi tedavilerden ve önleyici izolasyonlardan sakınmamıza şüphesiz katkı sağlayacaktır. Hastaneye yatan hastalarda toplum kökenli pnömoninin etyolojisinde virusların rollerini açıklamaya odaklanan daha fazla ve yeni çalışmaların gerçekleştirilmesi bu hasta grubunun tedavilerinde doğru politikaların tesis edilmesine yardım edecektir.

Anahtar Kelimeler: Çucuklar, toplum kökenli pnömoni, viral etiyoloji, multipleks gerçek zamanlı-(PZR)

Tablo 1: TKP tanısı ile hastaneye yatırılan çocuklarda görülen viral ve bakteriyel ajanların dağılımları.

Patojen	Hasta Sayıları (n, %)
Viral ve bakteriyel ajanlar	27 (42.1)
Viruslar	22 (34.4)
Influenza A virus	2 (3.1)
Influenza B virus	0
Parainfluenza Type 1, 2, 3 viruses	2 (3.1)
Respiratory syncytial virus	15 (23.4)
Adenovirus	3 (4.6)
Bakteriler	5 (7.7)
Staphylococcus aureus	2 (3.1)
Streptococcus pneumoniae	2 (3.1)
Listeria monocytogenes	1 (1.5)
Tanımlanamayan vakalar	37 (57.9)
Toplam	64 (100)

Tablo 2: TKP viral etyolojilerinin yaşlara göre dağılımları.

Yaş	Hasta Sayısı	Viral Etiyoloji (n %)
<2	4	1 (25)
2-11	22	9 (40.9)
12-23	13	4 (30.7)
24-59	16	5 (31.2)
>59	9	3 (33.3)
Total	64	22 (34.4)

Tablo 3: Viral, bakteriyel etiyoloji ve tanımlanamayan gruplarda göğüs grafisi bulguları.

Göğüs grafisi bulguları	Viral Etiyoloji	Bakteriyel Etiyoloji	Tanımlanamayan etiyoloji
Normal	13	2	26
Konsolidasyon	2	1	4
Intercystitial infiltration	5	1	2
Peribronchitis	0	0	1
Hiler/ mediastinal lymphadenopathy	1	0	0
Hyperinflation	1	1	4
Total	22	5	37

P341 - ESKİŞEHİR BÖLGESİNDE KRONİK HEPATİT C ENFEKSİYONLU HASTALARDA HEPATİT C VİRÜS GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

Tercan Us, Ferhat Gürkan Aslan, Nilgün Kaşifoğlu, Yurdanur Akgün
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir

Amaç
Hepatit C virüsü (HCV) dünya genelinde, hepatit, karaciğer sirozu ve karaciğer kanserine yol açabilen önemli bir enfeksiyon etkenidir. HCV'nin yaptığı birçok enfeksiyon belirtisiz olup sadece antikor varlığı ile saptanan asemptomatik tablodan hem akut hem kronik enfeksiyonlara kadar birçok tabloyu kapsar. HCV, akut hepatit enfeksiyonlarının % 20'sinde, kronik hepatitlerin ise % 70'inde etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Nükleik asit dizi analizleriyle yapılan çalışmalarda en az 6 major HCV genotipi belirlenmiş ve 100'den fazla subtipi olduğu saptanmıştır. HCV'ye bağlı enfeksiyonlarda farklı genotiplerin, hastalık tablosu ve tedaviye cevapta farklılıklar ortaya çıkardığı bu nedenle genotip belirlemenin hastaların klinik takip ve tedavisinde önemli olduğu bilinmektedir. Bu çalışma,kronik hepatit C hastalarının tedaviye yanıt durumlarında fikir vermesi açısından HCV genotip dağılımının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
Araştırmada 2009-2011 yılları arasında, ESOGÜ Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli kliniklerde kronik HCV enfeksiyonu tanısı ile izlenen 41 hastanın Anti-HCV, HCV RNA viral yükü ve HCV genotip dağılımı değerlendirilmiştir. Laboratuvarımıza gönderilen hasta serumlarında mikropartikül ELİSA test kiti ile otomatize sistemde (Abbott Axsym System HCV 3.0) Anti-HCV araştırılmıştır. Ekstraksiyon işlemini (QIAGEN Biorobot M48) takiben, HCV RNA düzeyleri, artus HCV RG PCR kiti (QIAGEN, Almanya) kullanılarak, Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Almanya) cihazında real time PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Anti-HCV ve HCV RNA pozitif hastalarda HCV genotip tayini, HCV genotip Pyrosequencing testi (QIAGEN, Almanya) ile yapılmıştır.
Bulgular
Araştırmada değerlendirilen 41 hastanın 13 (% 31,7)'ü erkek, 28 (% 68,3)'i kadındı. Hastaların yaş aralığı 14-72 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 53 olarak hesaplanmıştır. HCV genotip dağılımı; 39 hastada (% 95,1) genotip 1, 2 hastada (% 4,9) genotip 2 olarak belirlenmiştir. Genotip 1 saptanan 39 hastanın 21 (% 53,8)'inde genotip 1b, 4 (% 10,3)'ünde genotip 1a saptanmıştır. Genotip 1 saptanan 14 hastada (% 35,9) ise alttiplendirme yapılamamıştır. Genotip 2 saptanan 2 hastanın 1 (% 50)'i genotip 2b olarak alttiplendirilirken, diğeri alttiplendirilememiştir. Hastaların HCV RNA düzeylerinin $1,25x10^3$-$1,64x10^6$ aralığında olduğu, ortalama HCV RNA düzeyinin ise $1,94x10^5$ olduğu belirlenmiştir. Anti-HCV'si negatif olan bir hastanın HCV RNA düzeyi ise $4,56x10^5$ olarak belirlenmiştir. Bu hastanın HCV genotip profili genotip1 olup alt tipi belirlenememiştir.
Sonuç
Bu araştırmada, Eskişehir bölgesinde takip ve tedavi edilen kronik hepatit C hastalarında en en sık rastlanan HCV genotipinin, genotip 1b olduğu görülmüştür. Bu hastalarda kalıcı viral yanıtın zayıf olabileceği göz önüne alınarak, tedavi protokollerinin buna göre tekrar değerlendirilmesi yerinde bir yaklaşım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Eskişehir, HCV genotiplendirme, kronik hepatit C enfeksiyonu, RT-PCR

Tablo 1

	HCV-S1									HCV-S2								HCV-S3							HCV-S4					
	T	G	C	C	A	G	G	A	C	T	A	A	A	.	C	C	C	G	A	A	G	A	C	T	G	C	C	T	T	A	C	G
1a											A/C			-/A					A/G										C/T			G/A
1b											C/T			-/A					G/A										C/T			A/G
2a					G				A									A										A			
2b		A/G			G		A		A									A								A/T/G		T/C			
3a	C			T	G			G	T	A/G	C/T								G/A				T	C	A			C/T			G/A
3b	C				G				T	A	C								G				T	C	A			A			G/A
3k	C				G			T	T	A	C	T							G/A									C			A
4a	C				A/G				C/T		A/T/C																	A			A/T/C
4d	C				G				T																			A			T
5a					G				C/T										G									A/G			
7a					G				A		C							A	G							A		G			C

Kaynak: HCV database (http://hcv.lanl.gov)

HCV sekans tablosu

Tablo 2

Özellik	
Cinsiyet (E/K)	13/28
Yaş aralığı / ortalama	14-72 / 53,0
HCV RNA düzeyleri	$1,25x10^3$-$1,64x10^6$

Hastaların cinsiyet, yaş aralığı ve HCV RNA düzeyleri

Tablo 3

HCV genotip	Olgu sayısı	%
Tip 1	39	95,1
Tip 1a	4	10,3
Tip 1b	21	53,8
Alt tipi belirlenemeyen	14	35,9
Tip 2	2	4,9
Tip 2b	1	50
Alt tipi belirlenemeyen	1	50

Hastaların HCV genotip dağılımı

P342- SERUM ÖRNEKLERİNDE ELİSA TESTLERİ İLE SAPTANILAN ANTİ HCV POZİTİFLİĞİNİN LİNE İMMUNASSAY YÖNTEMİ İLE DOĞRULANMASI

Erdal Özbek[1], Fkret Tekay[2], Hakan Temiz[1], Habibe Çolak Pirinççioğlu[3]
[1]*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Diyarbakır*
[2]*Diyarbakır Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboraruvarı, Diyarbakır*
[3]*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları, Diyarbakır*

Amaç
HCV asemptomatik infeksiyon tablosundan fulminan infeksiyon tablosuna kadar çeşitli klinik formlarda hastalığa neden olabilen, tüm dünyada yaygın olarak görülen ve primer olarak karaciğeri etkileyen sistemik bir infeksiyon etkenidir. Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ü kronik HCV taşıyıcısı olduğu bildirilmektedir. Türkiye'de HCV görülme sıklığı %0,3-1,8 (ortalama %0,5) arasındadır. HCV infeksiyonu; akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin %70' inden, son dönem sirozun %40' ından, hepatosellüler karsinomun (HCC) %60' ından ve karaciğer transplantasyonunun %30'undan HCV sorumlu tutulmaktadır
Günümüzde HCV infeksiyonu tanısı için yaygın olarak kullanılan ELİSA testleri duyarlılığı %95'in üzerindedir ve serokonversiyon süresi ortalama 12 haftaya inmiştir. Ancak yine de yaygın olarak tarama amaçlı kullanılan Anti HCV testlerinde elde edilen yanlış pozitif sonuçlar önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.
Bu çalışmada laboratuvarımızda ELİSA ile Anti HCV pozitifliği saptanan serum örneklerinde Line Immunassay (LIA) yöntemi ile doğrulama çalışılması ve doğrulama testinin rutin uygulamaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem
01/03/2010 ile 26/05/2010 tarihleri arasında rutin hepatit serolojisi için laboratuvarımıza gelen 3.290 hastaya ait serum Anti HCV pozitif saptanan 70 hastaya ait Anti HCV negatif saptanan 30 hastaya ait serum örneği çalışmaya dahil edildi.
Anti HCV varlığı, Modular Analytics E170 (ROCHE® İSVİÇRE) cihazı ile elektrokemulimmunesans ELISA yöntemi ile Roche HCV version 3.0 kitleri kullanılarak araştırıldı. Pozitif sonuç saptanan örnekler, yüksek devirli santrifüjden sonra 2 kez test edildi. ELİSA yöntemi ile Anti HCV Pozitif olanlar INNO-LIA™ HCV Score (INNOGENETICS® BELÇİKA) kitleri kullanılarak Line Immunassay yöntemi ile araştırıldı. Ayrıca bu serum örnekleri, Inceptra Cycler 9660 (RTA® Türkiye) cihazı ve RTA RNA izolasyon ve PCR kitleri kullanılarak Real Time PCR yöntemi ile HCV RNA varlığı araştırıldı.

Bulgular
Çalışmada Anti HCV seroprevalansı %2,12 olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 100 örnekten anti HCV negatif olanların tamamı LIA ve PCR testleriyle de negatif olarak bulundu. ELİSA testinde Anti HCV değeri 30 s/co' üzerinde saptanan 15 örneğin tamamında, birlikte LIA testi de pozitif bulundu, ayrıca PCR incelenmesinde HCV RNA' ları da pozitif olarak saptandı. Bu hastaların öz geçmişleri araştırıldığında 14'ün HCV infeksiyonu anamnezi tespit edildi.
Geriye kalan 55 serum örneğinin 6'sında (%10,9) LIA testi pozitif saptanırken, 1' i (%1,8) belirsiz, 48' i (%87,3) negatif olarak saptandı. PCR yöntemiyle LİA yöntemiyle anti HCV negatif olan hastaların tamamı HCV RNA negatif bulunurken, pozitif saptanan 5 hastada HCV RNA pozitif, 1' inde negatif olarak saptandı. LİA testi ile belirsiz olan serum örneğinde PCR testiyle HCV RNA negatif bulundur. LİA testi ile PCR testleri arasında %98 oranında uyum saptandı.

Sonuç
Bu çalışma sonucunda; rutin olarak kullanılan ELİSA yöntemiyle Anti HCV testi negatif olduğunda herhangi bir doğrulama testine ihtiyaç olmadığı düşünüldü. Bununla birlikte, çalışmamızda Anti HCV değeri 30 s/co' ya kadar 55 örneğin 6' sında (%10,9) LIA testinin pozitif olduğu, bunlarında 5'inde (% 9) PCR testi ile HCV RNA pozitif saptandı. Bu nedenle; rutin laboratuvar uygulamasında düşük düzey Anti HCV pozitifliği saptandığı durumlarda sonucun bir doğrulama testi ile doğrulandıktan sonra raporlanmasının daha uygun olacağı ve özellikle moleküler tanı imkanı olmayan merkezlerde doğrulama testi olarak LİA yönteminin kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: HCV, ELİSA, Line İmmunassay, Doğrulama

ELİSA SONUÇLARI ile LİA SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

			ELİSA SONUCU			
LİA SONUCU	<1 s/co	1-5 s/co	5-10 s/co	10-20 s/co	20-30 s/co	>30 s/co
Negatif	30	31	6	8	3	0
Pozitif	0	1	1	4	0	15
Belirsiz	0	0	0	0	1	0

LİA SONUÇLARI ile PCR SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

	PCR SONUCU	
LİA SONUCU	Negatif	Pozitif
Negatif	77	0
Pozitif	1	21
Belirsiz	1	0

P343- ŞANLIURFA İLİNDE HEPATİT C VİRUS GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

Ayser Uzala Mızraklı, Ayşe Barış, **Osman Sezer Cirit**
Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Şanlıurfa

Amaç
Bu çalışmada Şanlıurfa ilindeki HCV genotip ve alt tiplerinin dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya 2011 yılı Ocak-Ağustos ayları arasında Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran anti-HCV (mikropartikül EIA;Abbott Laboratoires,ABD) ve HCV-RNA (RT-PCR;Abbott Real Time,ABD) testleri pozitif olan 37 hasta (15 kadın,22 erkek) dahil edilmiştir. Hastaların genotiplendirilmesi, Abbott m2000sp ve m2000rt cihazları kullanılarak revers hibridizasyon yöntemi ile yapılmıştır.
Bulgular
Genotip dağılımı değerlendirildiğinde; hastaların % 70.3' ünde (26/37) genotip1, alt grup ise %76.9 oranıyla (20/26) genotip 1b olmuştur. Sekiz hastada genotip 2 (%21.6), bir hastada genotip1,genotip1b, genotip 2 birlikteliği (%2.7) saptanmıştır. İki hastada ise (%5.4) HCV genotipi belirlenememiştir. Çalışmamızın dezevantajı kombine genotip saptadığımız bir hastanın örneğini başka bir yöntemle doğrulama imkanı bulamamamızdır.
Sonuç
Sonuç olarak ilimizde saptanan en yaygın genotipin, ülkemiz verileri ile uyumlu olarak genotip 1 b olduğu saptanmıştır. Genotip 2'nin ise onu izlediği belirlenmiş, bu durumun hastaların izleminde ve tedavinin planlanmasında dikkate değer bir bulgu olarak yorumlanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: genotip, hepatit C, moleküler

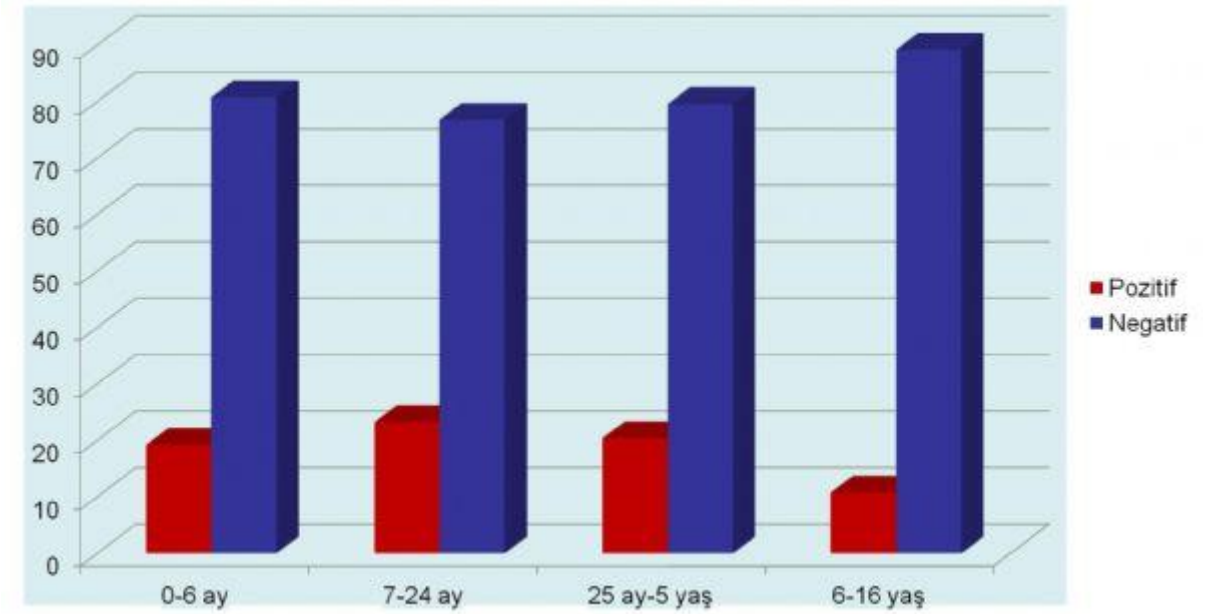
P344 - 2005 – 2011 YILLARI ARASINDA ESOGÜ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA SAPTANAN ROTAVİRÜS ANTİJEN POZİTİFLİKLERİ

Nilgün Kaşifoğlu, Tercan Us, **Ferhat Gürkan Aslan**, Yurdanur Akgün
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir

Amaç
Enfeksiyöz gastroenteritler, çocukluk yaş grubunda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindendir. Her yaşta görülebilen akut gastroenteritlerin etiyolojik nedenleri ve hastalığın şiddeti yaşa ve mevsime göre değişkenlik gösterir. Çocukluk döneminde, enfeksiyöz gastroenteritler arasında viral etkenler önemli bir yere sahiptir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, ilk 5 yaşta en sık görülen viral gastroenterit etkeni rotavirüstür. Bu yaş grubundaki çocuklarda morbidite ve mortalite ile seyreder, 2 yaşın altındaki çocuklarda bu oranlar 5 kat daha fazladır. Özellikle bebeklerde ölümcül ishale neden olan rotavirüs enfeksiyonlarının etiyolojik tanısı, akut dönemde alınan dışkı örneklerinde yapılmaktadır. Bu çalışmada 2005 – 2011 yılları arasında ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına, akut gastroenterit ön tanısıyla gönderilen, 0-16 yaş arası 1241 çocuğa ait gaita örneğinde saptanan rotavirüs pozitiflik oranları irdelenmiştir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmada 01 Ocak 2005 – 31 Temmuz 2011 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına rotavirüs araştırılması için gönderilen, 0-16 yaş arası çocuklara ait 1241 ardışık olmayan taze gaita örneği değerlendirildi. Taze gaita örneklerinde immunokromotografik yöntem olan RIDA QUICK Rotavirus (r-biopharm, Almanya) kiti veya ELISA testi olan Vidas Rotavirus (Biomerieux, Fransa) kiti ile testlerin prosedürüne uygun olarak rotavirüs antijeni araştırıldı. Daha sonra bu olguların demografik ve laboratuvar verileri retrospektif olarak incelendi.
Bulgular
Yapılan çalışmada 1241 hastaya ait gaita örneklerinden 531 tanesi kız çocuklarına, 710 tanesi erkek çocuklarına aittir. 1241 hasta örneğinin 247 (% 19,90)'sinde rotavirüs antijeni pozitif bulunmuştur. Pozitiflik saptanan olguların 114 (% 46,15)'ü kız çocuklarına, 133 (% 53,84)'ü erkek çocuklarına aittir. Kızların pozitiflik oranı % 21,46, erkeklerin pozitiflik oranı % 18,73 olarak hesaplanmıştır. Yaş grupları açısından değerlendirildiğinde rotavirus antijen pozitifliğinin en sık ilk 5 yaşta (%21,76) görüldüğü saptanmıştır. İlk 5 yılda ise en sık, anne sütünden ek gıdalara geçme yaşı olan 6 aylık dönem ile 2 yaş arasında (%23,15) olduğu görülmüştür. Mevsimsel dağılım açısından bakıldığında, rotavirüs antijen pozitifliğinin en sık kış mevsiminde saptandığı (105 olgu, %42,51), en az ise sonbahar mevsiminde (31 olgu, % 12,55) rotavirüs antijen pozitifliği tespit edildiği görülmüştür. Rotavirüs antijen pozitifliğinin en sık görüldüğü ilk 3 ay sırasıyla Şubat (% 38,09), Ocak (%35,22) ve Aralık (%34,21) olarak belirlenmiştir.
Sonuç
Akut gastroenteritler, çocuklarda morbidite ve mortalite açısından solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Çocukluk yaş grubunda, enfeksiyöz ishaller arasında viral gastroenteritler, özellikle de rotavirüs önemli bir yer tutmaktadır. Rotavirüs görülme sıklığı yaşa ve mevsime bağlı olarak değişmektedir. Beş yaş altında ve kış mevsiminde akut gastroenteritli çocuklarda etiyolojide rotavirüs mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Gaitada rotavirüs antijeninin kolaylıkla tespit edilmesi, tanı kolaylığı sağlarken birçok hastaya gereksiz antibiyotik verilmesi de önlenmiş olacaktır.

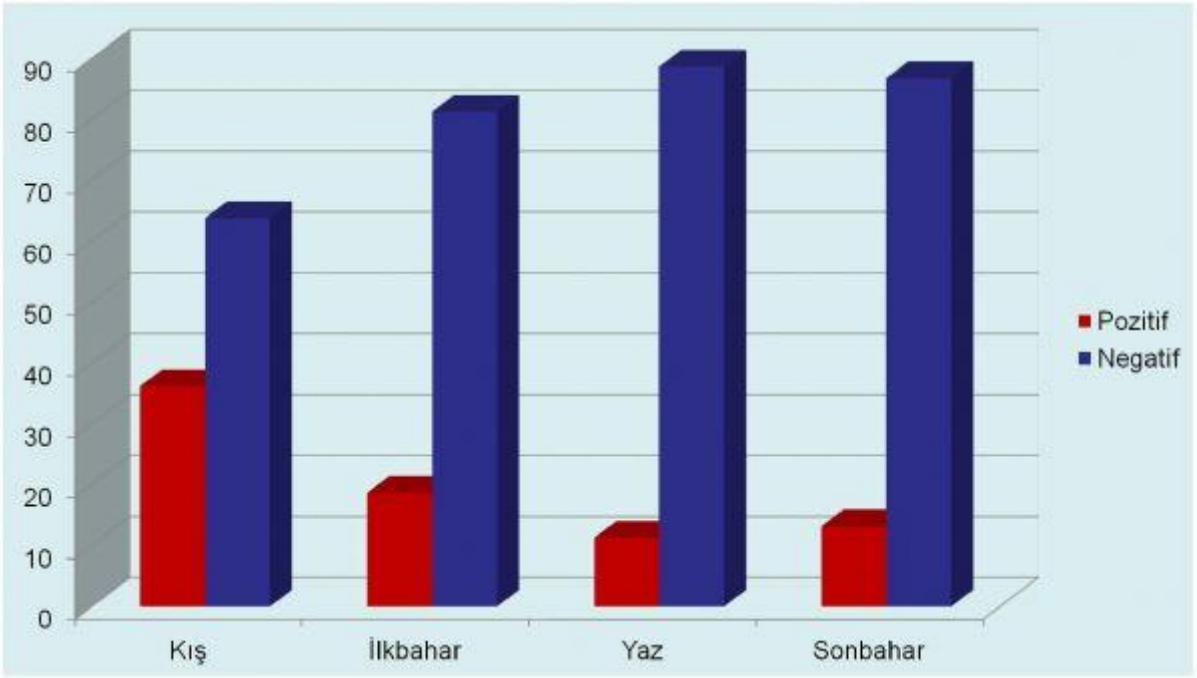
Anahtar Kelimeler: akut gastroenterit, çocukluk çağı, rotavirüs

Grafik 1



Rotavirüs antijeni araştırılan örneklerin pozitif ve negatifliklerinin yaşlara göre dağılımı

Grafik 2



Rotavirüs bakılan örneklerdeki pozitif ve negatifliklerin mevsimsel dağılımı

Tablo 1

AYLAR	POZİTİF (%)	NEGATİF (%)	TOPLAM (%)
OCAK	**31 (35,2)**	**57 (64,8)**	**88 (100,0)**
ŞUBAT	**48 (38,1)**	**78 (61,9)**	**126 (100,0)**
MART	26 (19,8)	105 (80,2)	131 (100,0)
NİSAN	30 (20,0)	120 (80,0)	150 (100,0)
MAYIS	20 (16,0)	105(84,0)	125 (100,0)
HAZİRAN	17 (12,9)	115 (87,1)	132 (100,0)
TEMMUZ	9 (9,4)	87 (90,6)	96 (100,0)
AĞUSTOS	9 (11,0)	73 (89,0)	82 (100,0)
EYLÜL	8 (10,0)	72 (90,0)	80 (100,0)
EKİM	3 (4,2)	69 (95,8)	72 (100,0)
KASIM	20 (24,1)	63 (75,9)	83 (100,0)
ARALIK	**26 (34,2)**	**50 (65,8)**	**76 (100,0)**
TOPLAM	247 (19,9)	994 (80,1)	1241 (100,0)

Rotavirüs bakılan örneklerin pozitif ve negatifliklerinin aylara göre dağılımı

P345 - ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ ANTİ HAV IGG SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Sema Aydoğdu, Nevzat Ünal, Adil Karadağ, Murat Günaydın
0ndokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Samsun

Amaç
Enfeksiyöz hepatit olarak da adlandırılan Hepatit A gelişmekte olan ülkelerde sorun olmaya devam eden fekal-oral yolla bulaşan bir enfeksiyon hastalığıdır. Çoğunlukla çocukluk çağında sessiz geçirilmekle birlikte sosyo ekonomik düzeyin gelişmesine paralel olarak virüsle karşılaşma yaşının erişkin yaşlara kaydığı gözlenmektedir. İlerleyen yaşlarda hastalığa bağlı morbidite ve mortalitenin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada anti HAV IgG sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş ve sonuçların yaşa göre dağılımları incelenerek seronegatiflik oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır
Yöntem
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesine çeşitli nedenlerle Ocak 2008 - Temmuz 2011 tarihleri arasında başvuran 8342 hastanın serum örneklerindeki anti HAV antikorlarının varlığı EIA (Abbott, Architect) yöntemiyle araştırılmıştır
Bulgular
Total seropozitiflik oranı % 62 olup; yaşa göre dağılımları incelendiğinde anti HAV IgG düzeyleri 0-23 ay arası % 55, 2-6 yaş arası %30, 7-10 yaş arası %33, 11-20 yaş arası %48, 21-30 yaş arası %69, 31-40 yaş arası %90, 41- 50 yaş arası %99, 51 yaş ve üzeri %99 oranında pozitif olarak saptanmıştır
Sonuç
Özellikle 30 yaş altındakilerin %54' ünün seronegatif saptanmış olması Hepatit A virüsü ile karşılaşma olasılığının geçmiş yıllara oranla ileri yaşlara doğru kaydığını düşündürmektedir. Akut hepatitlerin %40' ının nedeni olan Hepatit A'nın ileri yaşlarda daha komplike seyredebildiği göz önüne alındığında, enfekte çocukların %90'ı, enfekte erişkinlerin de %25-50'sinin enfeksiyonunun belirtisiz ancak prodüktif seyrettiği için kolaylıkla yayılabileceğinden adölesan, genç erişkin ve risk grubundaki bireylerin Hepatit A virüsü ile karşılaşma durumunun araştırılarak duyarlı bireylerin aşılanması uygun bir seçenek olabilir.Rutin aşı programına eklenmesinin faydalı olabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Hepatit A, Anti HAV IgG, seropozitiflik

---

yaşa göre seropozitiflik oranları



P346-HIV İNFEKSİYONU TANISINDA ANTİ-HIV EIA/S/CO DEĞERİNİN ROLÜ

Alp Aslan[1], İmre Altuğlu[1], **Rüçhan Sertöz[1]**, Mehmet Orman[2]
[1]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,İZMİR*
[2]*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bioistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD,İZMİR*

Amaç
Bu çalışmada HIV infeksiyonu tanısında anti-HIV EIA olumlu olgularda sinyal/eşik (S/CO) değeri ile doğrulama testi olarak kullanılan Inno-LiA HIV1/2 Score (Innogenetics NV, Belgium) sonuçları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.
Yöntem
EÜTF Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 2008-2010 yılları arasında anti-HIV Ag/Ab Combo testi (Architect, Abbott-ABD) ile olumlu bulunan ve eş zamanlı doğrulama sonuçları bulunan 105 örnek değerlendirilmeye alındı. İstatiksel analizde SPSS, 19.0 kullanılarak ROC eğrisi analizi yapıldı.
Bulgular
Anti-HIV olumlu bulunan 105 olgunun ikisinde (%1.9) doğrulama sonucu belirsiz, 43'ünde (% 41) pozitif ve 60'ında (% 57.1) negatif olarak saptandı.105 olgunun S/CO değeri 1.07 ve 1078 (ortalama 179, ortanca 5 S/CO) arasında izlendi. S/CO ve doğrulama sonuçlarında pozitifik arasındaki ilişkinin saptanması için yapılan ROC eğrisi analizinde S/CO değeri 13.5 olarak alındığında duyarlılık %100 ve özgüllük %95 olarak saptandı.

Anahtar Kelimeler: HIV, EIA, S/CO

P347 - ESOGÜ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINA 2008 – 2011 YILLARI ARASINDA GÖNDERİLEN BOS ÖRNEKLERİNDEKİ HERPES SİMPLEKS VİRÜS DNA REAL-TİME PCR SONUÇLARI

Nilgün Kaşifoğlu, Tercan Us, **Ferhat Gürkan Aslan**, Yurdanur Akgün
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Eskişehir

Amaç
Merkezi sinir sistemi enfeksiyonları (MSS), hızlı ilerleyen, ölüme veya kalıca sekellere neden olabilen hastalıklardandır. Bu nedenle MSS enfeksiyonlarında hızlı tanı çok önemlidir. Akut menenjit ve ensefalit etiyolojisinde en sık karşılaşılan etken virüslerdir. Bu hastalıklarda viral etkenleri belirlemedeki başarı, nükleik asit saptama testleri sayesinde % 50- 70'lere ulaşmıştır. Bu etkenler arasında Herpes Simpleks Virüs (HSV) önemli bir yere sahiptir. MSS enfeksiyonu tanısında, HSV DNA'nın beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edilmesi altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada 2008 – 2011 yılları arasında, laboratuvarımıza gönderilen BOS örneklerindeki HSV DNA real-time PCR sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.
Gereç-Yöntem
Yaptığımız çalışmada, 2008 – 2011 yılları arasında, MSS enfeksiyonu ön tanılı hastaların, ESOGÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderilen 42 BOS örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Bu BOS örneklerinde, DNA izolasyonu yapıldıktan sonra artus HSV 1/2 RG PCR (QIAGEN, Almanya) kitleri kullanılarak real-time PCR yöntemi ile Corbett Research cihazında HSV 1/2 DNA varlığı araştırılmıştır.
Bulgular
Çalışılan BOS örneklerinden 17 (% 40,47)'si kadın hastalara (yaş ortalaması: 42,47), 25 (% 59,52)'i erkek hastalara (yaş ortalaması: 34,08) aitti. HSV 1/2 DNA'sı araştırılan BOS örneklerinin % 33,33 (14)'ü Nöroloji, % 23,80 (10)'i Enfeksiyon Hastalıkları, % 23,80 (10)'i Pediatri Yoğun Bakım, % 4,76 (2)'sı Anestezi Yoğun Bakım, % 4,76 (2)'sı Hematoloji, % 4,76 (2)'sı Nöroloji Yoğun Bakım, % 2,38 (1)'i Genel Cerrahi, % 2,38 (1)'i ise dış merkez hastalarına aitti. Gönderilen 42 BOS örneğinin 3 (% 7,14)'ünde HSV 1 DNA pozitif saptanırken hiçbir BOS örneğinde HSV 2 DNA saptanmamıştır. HSV 1 DNA'sı pozitif saptanan hasta örneklerinden 2'si Enfeksiyon Hastalıkları, 1'i Nöroloji servisinden gönderilmiştir. Bu hastaların yaş ortalaması 54,33 (40-71) olarak saptanmıştır. Pozitif örneklerden 2'si kadın hastalara, 1'i erkek hastaya aitti.
Sonuç
HSV'ye bağlı MSS enfeksiyonlarında, BOS'da HSV DNA'nın varlığı tanı koydurucudur. Real-time PCR yöntemi ile hücre kültürüne göre daha hızlı sonuç alınabilmesi, bu yöntemin daha çok tercih edilmesini sağlamıştır. MSS enfeksiyonlarında HSV 1 ve 2'nin benzer klinik tablo oluşturmaları, BOS örneklerinde her ikisinin de aranmasını gerektirir.

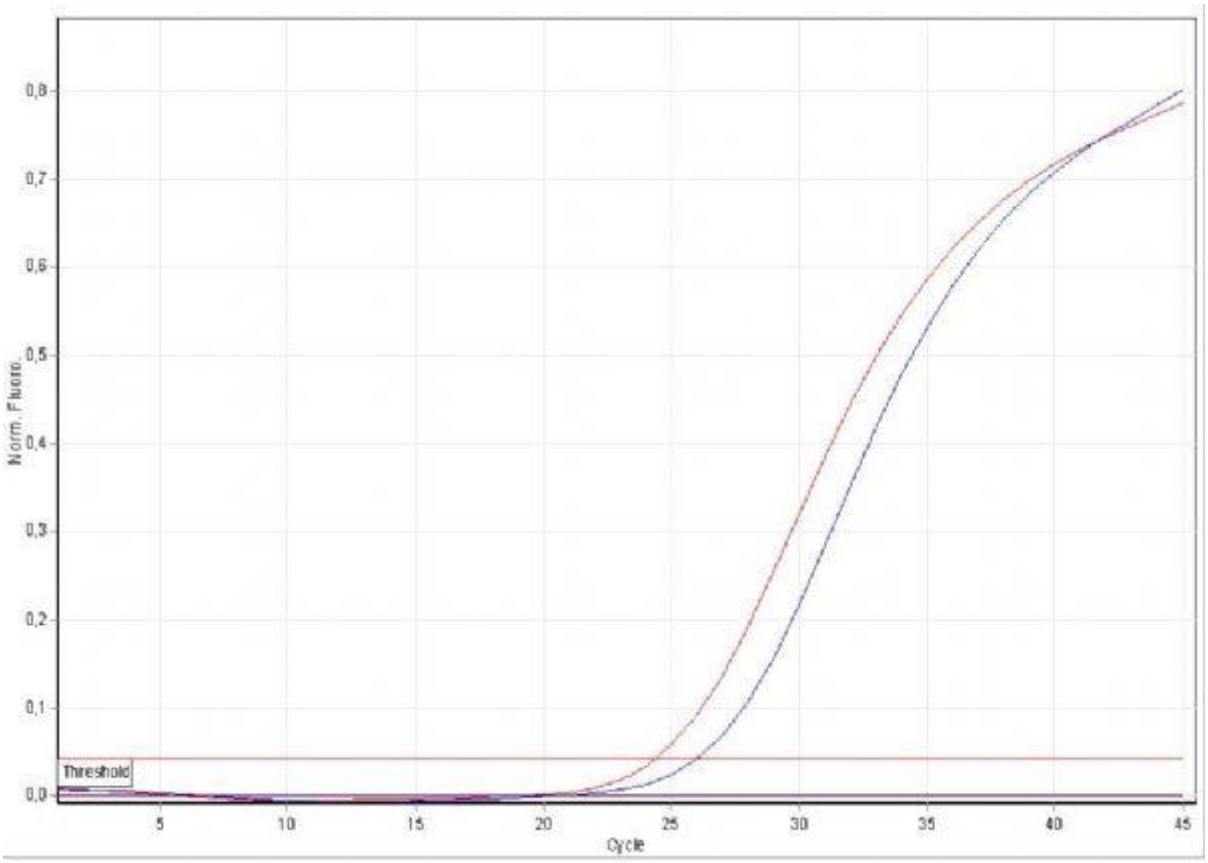
Anahtar Kelimeler: BOS, HSV DNA, real-time PCR

Tablo 1

ÖRNEK	YAŞ	KLİNİK	HSV 1	HSV 2
1	58	Anestezi	negatif	negatif
2	50	Anestezi	negatif	negatif
3	47	Dış merkez	negatif	negatif
4	47	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
5	26	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
6	16	Gen. Cer	negatif	negatif
7	58	Nöroloji	negatif	negatif
8	40	Nöroloji	negatif	negatif
9	1	Pediatri Yb	negatif	negatif
10	31	Nöroloji	negatif	negatif
11	76	Nöroloji	negatif	negatif
12	7	Pediatri Yb	negatif	negatif
13	2	Pediatri Yb	negatif	negatif
14	69	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
15	22	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
16	2	Pediatri Yb	negatif	negatif
17	54	Hematoloji	negatif	negatif
18	16	Pediatri Yb	negatif	negatif
19	19	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
20	14	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
21	12	Pediatri Yb	negatif	negatif
22	11	Pediatri Yb	negatif	negatif
23	6	Pediatri Yb	negatif	negatif
24	73	Nöroloji	negatif	negatif
25	71	Enfeksiyon hast	pozitif	negatif
26	46	Hematoloji	negatif	negatif
27	44	Nöroloji	negatif	negatif
28	83	Nöroloji	negatif	negatif
29	55	Nöroloji	negatif	negatif
30	40	Enfeksiyon hast	pozitif	negatif
31	1	Pediatri Yb	negatif	negatif
32	40	Nöroloji	negatif	negatif
33	66	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
34	36	Nöroloji	negatif	negatif
35	52	Nöroloji	pozitif	negatif
36	21	Enfeksiyon hast	negatif	negatif
37	9	Pediatri Yb	negatif	negatif
38	74	Nöroloji	negatif	negatif
39	58	Nöroloji	negatif	negatif
40	43	Noroloji Yb	negatif	negatif
41	58	Nöroloji	negatif	negatif
42	20	Noroloji Yb	negatif	negatif

BOS örneğinde real-time PCR yöntemi ile HSV DNA çalışılan olgular

Resim 1



HSV 1 DNA pozitif olgunun PCR görüntü örneği

P348 -VAN YÖRESİNDE GÖZLENEN GASTROENTERİTLERDE ROTAVİRUS VE ADENOVİRUS SIKLIĞI

Bilge Gültepe, Hüseyin Güdücüoğlu, Aytekin Çıkman, Mehmet Parlak, Mustafa Berktaş
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Van

Amaç
Gastroenteritler, çocukluk dönemi infeksiyonları arasında morbidite bakımından solunum yolu infeksiyonlarından sonra gelmektedir. Özellikle 5 yaş altındaki çocuklarda gözlenen gastroenteritlerin büyük kısmından virüsler sorumludur. Bunların başında da rotavirüs ve enterik adenovirüsler gelmektedir. Çalışmada, bölgemizdeki akut gastroenterit olguları arasında viral infeksiyon etkenlerinden rotavirüs ve adenovirüs sıklığının belirlenmesi ve çeşitli yaş gruplarındaki dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır.
Yöntem
Ocak 2010 - Haziran 2011 tarihleri arasında, akut gastroenterit nedeniyle çeşitli kliniklerden gönderilen 955 dışkı örneğinde çalışılan viral gastroenterit etkenlerine ait sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir. Bu amaçla lateks aglutinasyon yöntemi ile çalışan Rotavirus-Adenovirus kiti (Rotavirus and Adenovirus Combo Rapid Test Device, MK Bio, Çin), üretici firmanın direktifleri doğrultusunda kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar aylara göre dağılım, yaş ve cinsiyet farklılıklarına göre değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışılan 955 gaita örneğinin 124'ünde (%13) rotavirus, 81'inde (%8,5) adenovirus, 45'inde (%4,7) ise her iki antijen birlikte saptanmıştır. Rotavirus ve adenovirus pozitifliğinin en sık kış ve ilkbahar aylarının erken dönemlerinde yüksek olduğu, ilkbahar sonu ve yaz aylarında ise giderek azaldığı görülmüştür. Akut gastroenterit yakınmalı hastalarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığının aylara göre dağılımı tablo 1'de gösterilmiştir. Rotavirus ve adenovirus sıklığının yaşlara göre dağılımı incelendiğinde ise; en yüksek oranın 1 ve 2 yaş arasında olduğu gözlenmiştir. Akut gastroenterit yakınmalı hastalarda rotavirus ve adenovirus sıklığının yaşlara göre dağılımı tablo 2'de gösterilmiştir. Cinsiyete göre pozitiflik incelendiğinde rotavirus ve adenovirus sıklığı sırasıyla erkeklerde 68 (%15), 39 (%9); kızlarda ise 56 (%11), 42 (%8) oranında bulunmuştur.
Sonuç
Viral gastroenterit etkenlerinden rotavirüs ve adenovirüs, dışkıda bakılan antijen testleriyle kolaylıkla tespit edilebilir. Özellikle kış aylarında oluşan çocuk gastroenteritlerinde rotaviruslar önemli bir etkendir ve rutin olarak araştırılmalıdır. Virüslerin etken olarak saptanması durumunda gereksiz antibiyotik kullanımı azalacaktır.

Anahtar Kelimeler: Rotavirus, Adenovirus, Gastroenterit, sıklık

Akut gastroenterit yakınmalı çocuklarda rotavirus ve adenovirus sıklığının cinsiyete göre dağılımı

	Kızlar (%) (n:501)	Erkekler (%) (n:454)	Toplam (%) (n:955)
Rotavirus pozitif	56(%11)	68(%15)	124 (%13)
Adenovirus pozitif	42(%8)	39(% 9)	81 (%8,5)

Akut gastroenterit yakınmalı hastalarda rotavirus ve adenovirus sıklığının aylara göre dağılımı.

Aylar	İncelenen dışkı sayısı (n)	Rotavirus (+) (n) (%)	Adenovirus (+) (n) (%)
Ocak	120	22 (18)	7 (6)
Şubat	87	11 (13)	8 (9)
Mart	95	19 (20)	8(8)
Nisan	98	16 (16)	11 (11)
Mayıs	116	15 (13)	14 (12)
Haziran	47	2 (4)	1 (2)
Temmuz	31	3 (10)	4 (13)
Ağustos	76	1 (1)	7 (9)
Eylül	89	6 (7)	5 (6)

Ekim	83	18 (22)	12 (14)
Kasım	68	6 (9)	1 (1)
Aralık	45	5 (11)	3 (6)
Toplam	955	124 (13)	81 (8)

Akut gastroenterit yakınmalı hastalarda rotavirus ve adenovirus sıklığının yaşlara göre dağılımı

Yaş	n	Rotavirus(+) n	Rotavirus(+) %	Adenovirus(+) n	Adenovirus(+) %
1 yaş	407	59	14,5	31	7,6
2 yaş	178	32	18,0	25	14,0
3 yaş	65	6	9,2	5	7,7
4 yaş	51	5	9,8	2	3,9
5 yaş	45	6	13,3	6	13,3
5 yaş üstü	209	16	7,7	12	5,7

N: İNCELENEN DIŞKI SAYISI

P349 - BÖLGEMİZDE HEPATİT C VİRÜS GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

Tekin Karslıgil, **Yusuf Doğan,** Mustafa Sağlam, Mustafa Çay
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.BD, Gaziantep

Amaç
Hepatit C virüsü,kronik karaciğer hastalıklarına sebep olması, kronikleşmesi ve kanser gelişme riski açısından önem taşımaktadır. Özellikle bazı HCV genotipleri kronikleşme ve tedaviye direnç göstermeleriyle öne çıkmaktadır. Bu çalışma bölgemizdeki HCV genotiplerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.
Gereç-Yöntem
Çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 2009-2011 yılları arasında HCV genotiplendirmesi amacıya gönderien 585 kan örneğinde Real time PCR (M 2000 rt, Abbott, ABD) ile HCV genotiplendirilmesi yapılmıştır.
Bulgular
Kan örneklerinin 543'ü (%92.8'i) genotip 1, sekiz'i (%0.1'i) genotip 2, 34'ü (%0.6'sı) genotip 3 olarak belirlenmiştir. Tip 1 olarak belirlenen 543 örneğin %84,6'sı (449 örnek) Tip 1b, %0,9'u (5 örnek) Tip 1a olarak belirlenirken %16.4'ünün (89 örnek) alt grubu belirlenememiştir.
Sonuç
Bölgemizde en yaygın genotipin 1b olduğu, ayrıca tip 2 ve tip 3 ün de bulunduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: HCV, kronik hepatit C, genotiplendirme

Örneklerin gönderildiği kliniklere ve genotiplere göre dağılımı

BÖLÜM ADI	Tip 1	Tip 1a	Tip 1b	Tip 2	Tip 3	Genel Toplam
Büyük Acil Tıp		1				1
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları			1			1
Hematoloji			3			3
Dermatoloji			1			1
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji	45	2	190	4	21	262
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon			1			1
Gögüs hastalıkları	1					1
Dahiliye	1		1		1	3
Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi	1		6			7
Yetişkin Gastroenteroloji	40	2	243	4	12	301
Nefroloji	1		3			4
Genel Toplam	89	5	449	8	34	585

P350 -SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK YÜKSEKOKULU ÖĞRENCİLERİNDE HBSAG, ANTİ HBS, ANTİ HCV VE ANTİ HAV IGG SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Arzu Altunçekiç Yıldırım[1], **Yeliz Çetinkol[2]**
[1]*Ünye Devlet Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ordu*
[2]*Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ordu*

Amaç
Çalışma Ordu Ünye 70. yıl Cumhuriyet Sağlık Meslek Lisesi öğrencilerinin hepatit A, hepatit B ve hepatit C virüsleri açısından taranarak seropozitiflik durumlarının ve bağışıklama ihtiyaçlarının belirlenerek aktif olarak hasta ile karşılaşmadan önce korunmalarının sağlanabilmesi amacıyla planlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Sağlık meslek lisesi ikinci ve üçüncü sınıfa devam etmekte olan 200 öğrenciden alınan yaklaşık 10 cc kan örneği santrifüj işlemi ile ayrıştırılarak serum örneklerinde; HBsAg, Anti HBs, Anti HCV ve Anti HAV IgG antikorlarının varlığı CMIA (Kemilüminesan Mikropartikül Enzim İmmünolojik Test) yöntemi ile araştırılmıştır (Abbott, Architect). Sonuçların yorumu üretici firmanın önerileri doğrultusunda; HBsAg, Anti HCV ve Anti HAV IgG için 1 S/CO altındaki değerlere sahip numuneler negatif ve >= 1 S/CO değerlerine sahip örnekler pozitif, Anti HBs için ise konsantrasyon değerleri < 10.00 mIU/ml olan numuneler negatif, >= 10.00 mIU/ml olan numuneler ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Yaş ortalaması 17 olan 126 kız, 74 erkek öğrencide yapılan değerlendirmelerde HBsAg ve Anti HCV tüm öğrencilerde negatif olarak saptanmıştır. Anti HBs pozitifliği %89, anti HAV IgG pozitifliği ise % 39.5 olarak tespit edilmiştir.
Sonuç
Tüm sağlık personeli için geçerli olduğu gibi sağlık hizmetlerine yönelik personel yetiştiren bu okullarda eğitim gören öğrencilerinde klinik uygulamalar öncesinde viral hepatit taramalarının yapılarak hepatit A ve B açısından bağışık hale gelmeleri sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Anti HBs, Anti HCV, Anti HAV IgG, HBsAg, seropozitiflik

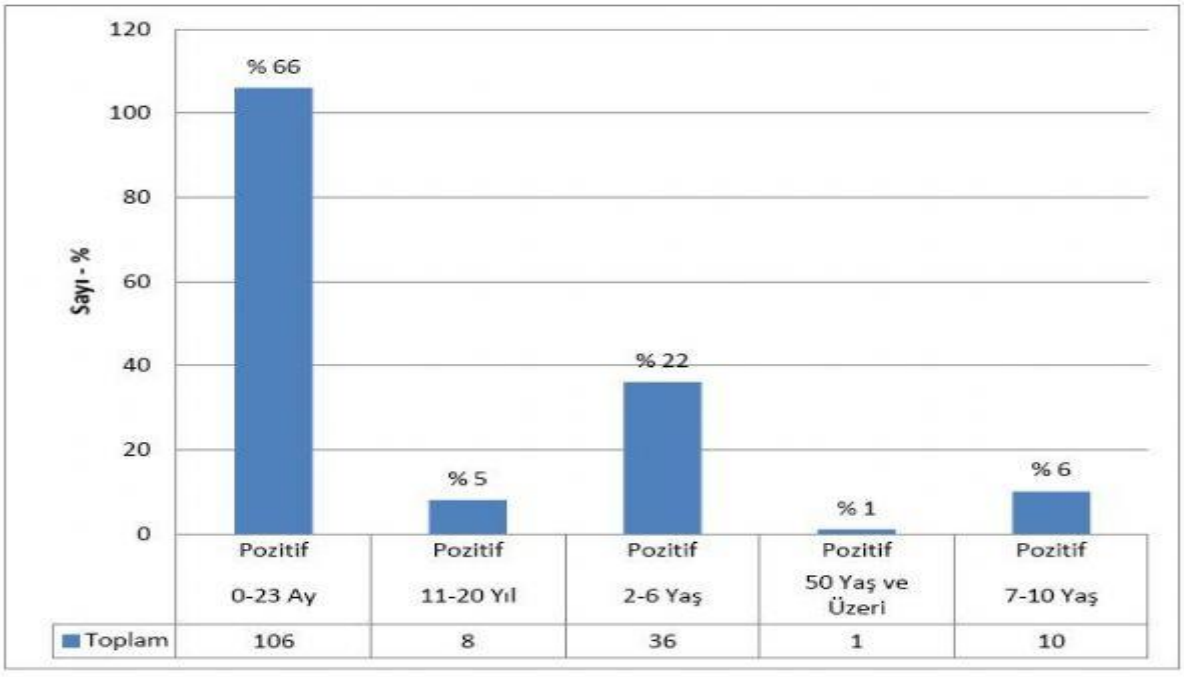
P351 - AKUT GASTROENTERİT ÖNTANISI İLE GÖNDERİLEN ÖRNEKLERDE ROTAVİRÜS ANTİJENLERİNİN İMMÜNOKROMATOGRAFİK YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Nevzat Ünal, Sema Aydoğdu, Murat Hökelek, Cafer Eroğlu, Murat Günaydın
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD , Samsun

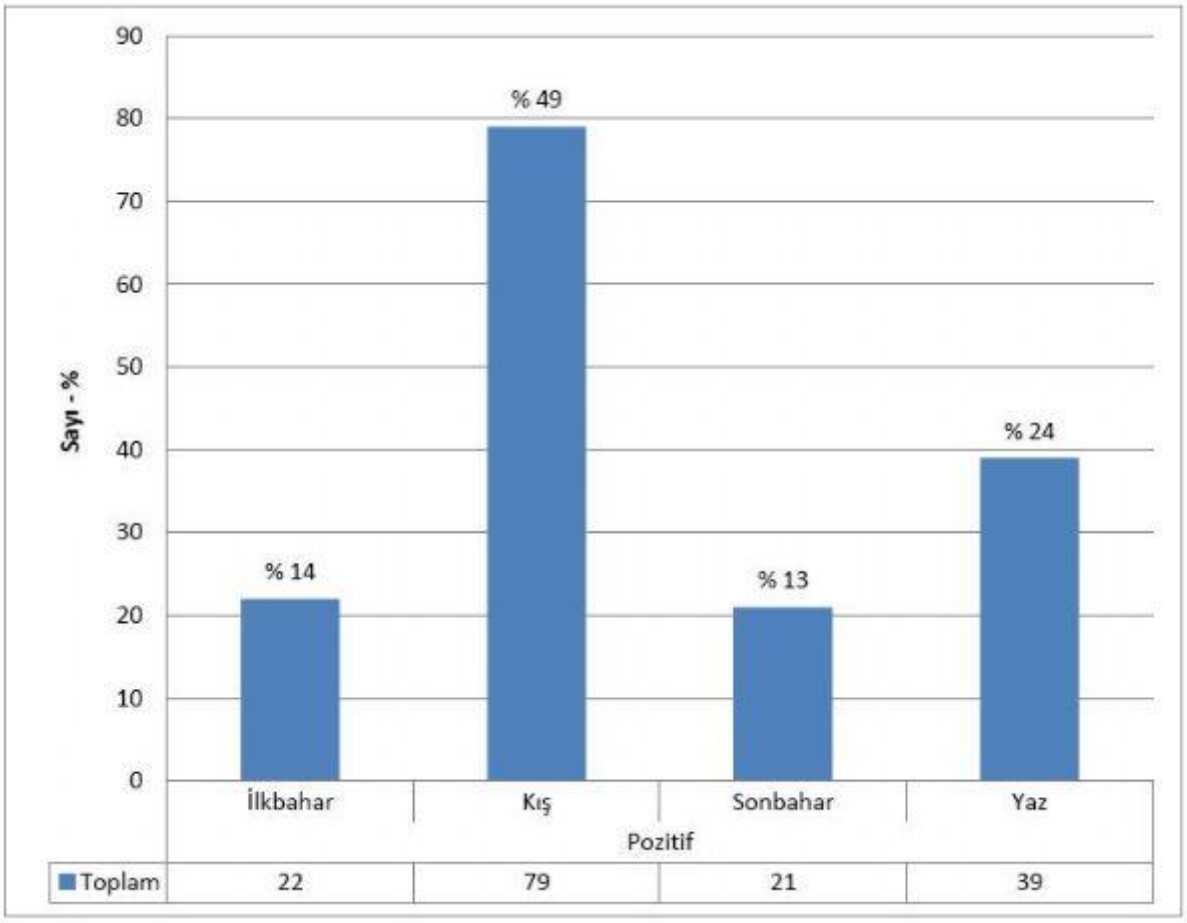
Amaç
Enfeksiyöz gastroenteritler tüm dünyada morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindendir. Bakteriyel kökenli olmayan gastroenteritlerin çoğunda etken virüslerdir. Viral gastroenteritler özellikle çocuklar başta olmak üzere tüm yaş gruplarında görülür. Rotavirüsler bütün dünyada küçük çocuklarda viral diyarenin en yaygın sebeplerinden biridir. Bu çalışmada laboratuarımıza gastroenterit ön tanısı ile gönderilen örneklerde rotavirüs sıklığının yaşa ve mevsimlere göre dağılımının belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına Ocak 2008-Temmuz 2011 tarihleri arasında gönderilen gaita örneklerindeki rotavirüs antijenlerinin varlığı kalitatif immünokromatografik yöntemle(RIDA Quick Rota-Adeno-Kombi R-Biopharm AG, Germany) araştırıldı. Testin rotavirüs için bildirilen duyarlılığı %97,8 ve özgüllüğü % 94,4'tür.
Bulgular
İncelemeye alınan 1373 hastaya ait gaita örneğinin 161 (%12)'inde rotavirüs antijeni pozitif olarak tespit edildi. En sık pozitiflik 106 (%66) olgu ile 0-23 ay yaş grubunda görüldü. Yaşa göre diğer gruplar değerlendirildiğinde; 2-6 yaş 36 (%22), 7-10 yaş 10 (%6), 11-20 yaş 8 (%5) ve 50 yaş ve üzeri 1 (%1) gaita örneğinde rotavirüs antijeni pozitif bulundu. Mevsimsel olarak en sık 79 (%49) olgu ile kış aylarında daha çok görüldüğü belirlendi. Ek olarak kullanılan test ile eş zamanlı olarak adenovirus antijeni de araştırıldığından 19 hastaya ait gaita örneğinde adenovirus antijeni de pozitif olarak bulundu. Her iki antijenin pozitif olduğu örnekler en sık 12 (% 63) 0-23 ay yaş grubunda görüldü.
Sonuç
Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, laboratuarımızda incelenen örneklere göre, özellikle kış aylarında ve 0-23 ay yaş grubunda görülen gastroenteritlerde ayırıcı tanıda etken olarak rotavirüsün akılda tutulması gerektiği düşünüldü. Gaita örneklerinden yapılacak immünokromatografik testle rotavirusün hızlı bir şekilde belirlenip, gelişebilecek dehidratasyonun önlenmesi ve gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçilebilmesinin mümkün olabileceği değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Viral gastroenterit, rotavirüs, immünokromatografik yöntem

Grafik 1: Rotavirüs antijeni pozitif saptanan olguların yaşa göre dağılımı



Grafik 2: Rotavirüs antijeni pozitif saptanan olguların mevsimlere göre dağılımı



P352- NEFROLOJİ HASTALARINDA VE HEMODİYALİZE GİRENLERDE HBV- HCV SEROPREVALANSI

İsmail Davarcı[1], Pınar Alagöz[1], Naz Çobanoğlu[1], Nazım Denizli[2], Sebahat Aksaray[1]
[1]*Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuarı, İstanbul*
[2]*Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniği, İstanbul*

Amaç
Hemodiyaliz hastalarında hepatit B (HBV) ve hepatit C (HCV) seroprevalansı normal popülasyondan yüksektir. Bu çalışmamızda hastanemizde nefroloji hastalarından ve hemodiyalize giren hastalardan laboratuvarımıza gönderilen hepatit şüpheli serum örneklerindeki HBV ve HCV seroprevalansının tespit edilmesi ve ülkemizdeki diğer verilerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
1 Ocak 2005-31 aralık 2010 arası laboratuvarımıza gönderilen, Abbott AXSYM ve ARCHITECT 2000 SR cihazları kullanılarak ELISA yöntemi ile değerlendirilen nefroloji ve hemodiyaliz hasta serumlarında HBsAg ve anti-HCV sonuçları retrospektif olarak incelendi.
Bulgular
Toplam 5690 hastada anti-HCV antikoru çalışılmıştır. Bunların 1262'si(%22.1) hemodiyalize giren hastalardır, 4438'i(%77.9) hemodiyalize girmeyen nefroloji hastalarıdır. Hemodiyalize giren hastaların 71'inde(%5.6), hemodiyalize girmeyen nefroloji hastalarının ise 75'inde(%1.7) anti-HCV pozitiftir.($p<0.01$)
Toplam 5887 hastada HBsAg çalışılmıştır. Bunların, 1082'si(%18.3) hemodiyalize giren hastalardır, 4805'i(%81.7) hemodiyalize girmeyen nefroloji hastalarıdır. Hemodiyalize giren hastalarının 45'inde(%4.2), hemodiyalize girmeyen nefroloji hastalarının 135'inde(%2.8) HBsAg pozitif bulunmuştur.($p<0.05$)
Sonuç
Ülkemizdeki hemodiyaliz hastalarında HBsAg pozitifliği %3.1-27.9 arasında, anti-HCV pozitifliği %14.9-48 arasında değişmektedir. Bizim hastanemizdeki hemodiyaliz hastalarındaki HBsAg pozitifliği ülkemizde yapılan benzer çalışmalarla uyumluluk göstermekle beraber anti-HCV pozitifliği düşüktür. Çalışmamızda; hastanemizdeki hemodiyalize giren hastalarla, hemodiyalize girmeyen nefroloji hastaları arasında HBsAg pozitifliği(Odds:1.5) ve anti-HCV pozitifliği(Odds:3.4) yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: HBV, HCV, Hemodiyaliz, nefroloji

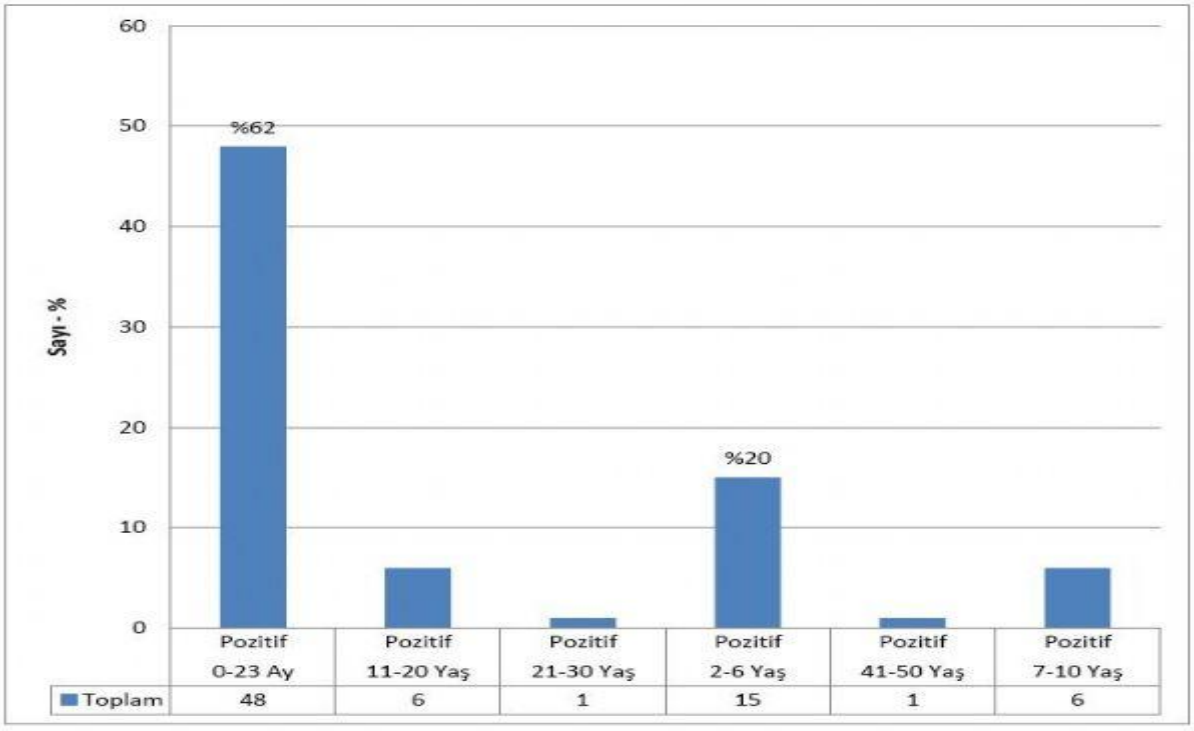
P353- GASTROENTERİT ÖN TANISIYLA İNCELENEN GAİTA ÖRNEKLERİNDE ADENOVİRÜS ANTİJENLERİNİN YAŞLARA VE MEVSİMLERE GÖRE DAĞILIMI

Nevzat Ünal, Sema Aydoğdu, Murat Hökelek, Cafer Eroğlu, Murat Günaydın
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Samsun

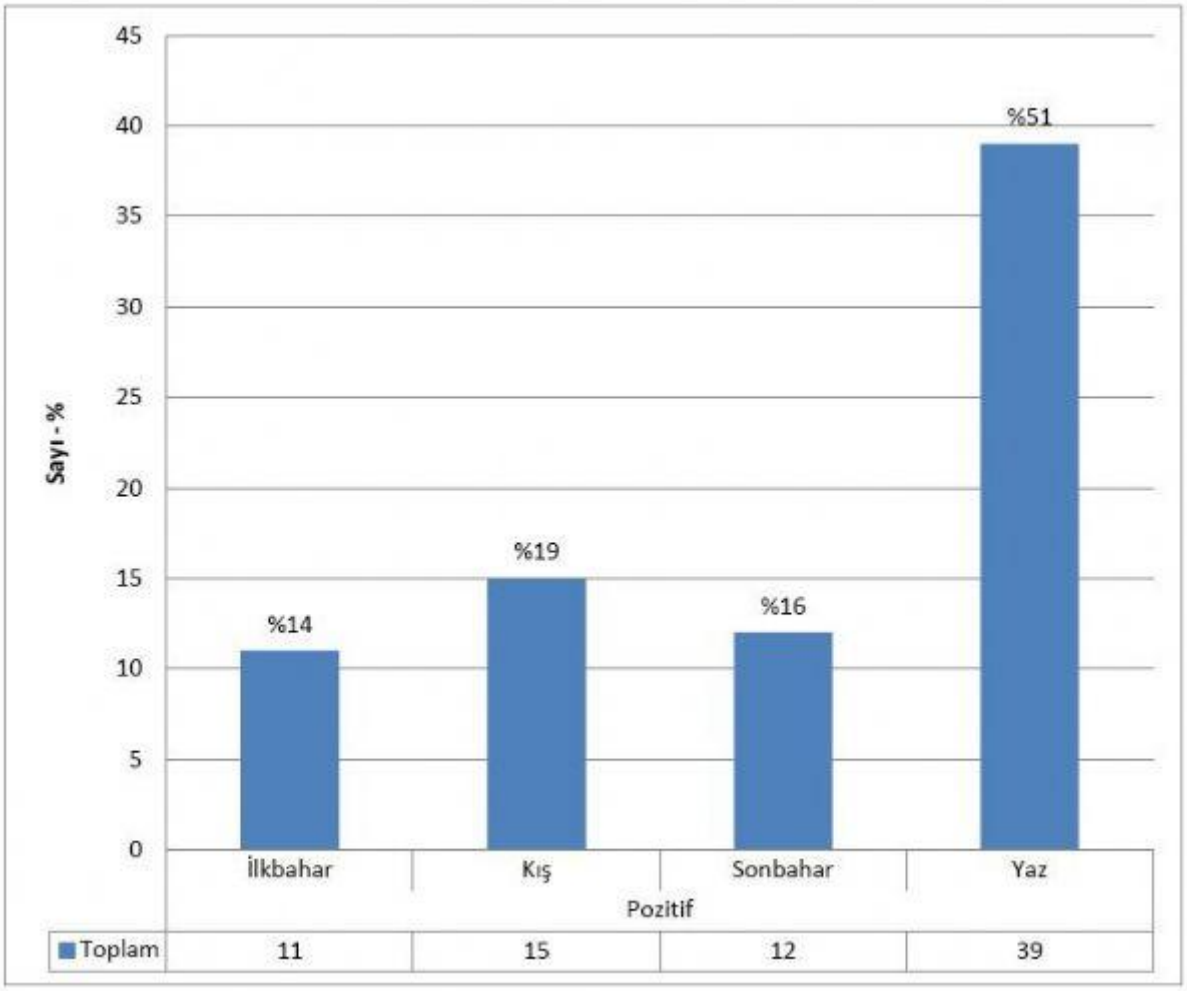
Amaç
Çocukluk dönemi başta olmak üzere tüm yaş gruplarında viral gastroenteritler önemli enfeksiyon hastalıklarındandır. Enterik adenovirüsler, enfeksiyöz gastroenteritlerde önemli sıklıkta görülen etkenlerdendir. Bu çalışmada laboratuarımıza gastroenterit ön tanısıyla gönderilen gaita örneklerinde adenovirüs antijenlerinin yaşa ve mevsimlere göre dağılımını belirlenmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına Ocak 2009-Temmuz 2011 tarihleri arasında gönderilen gaita örneklerindeki adenovirüs antijenlerinin varlığı kalitatif immünokromatografik yöntemle(RIDA Quick Rota-Adeno-Kombi R-Biopharm AG, Germany) araştırıldı. Testin adenovirüs için bildirilen duyarlılığı % 72,7 ve özgüllüğü % 98,2'dir.
Bulgular
İncelemeye alınan 1240 hastaya ait gaita örneğinin 77 (%6)'inde adenovirüs antijeni pozitif olarak saptandı. Pozitif örnekler 48 (%62) olgu ile en sık 0-23 ay yaş grubunda belirlendi. Diğer gruplarda ise, 2-6 yaş 15 (%20), 7-10 yaş 6 (%8), 11-20 yaş 6 (%8), 21-30 yaş 1 (%1) ve 41-50 yaş 1 (%1) gaita örneğinde adenovirüs antijeni pozitif bulundu. Olguların yaz, sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimlerine göre dağılımları sırasıyla 39 (%51), 12 (%16), 15 (%19), 11 (%14) olarak belirlendi. Ek olarak kullanılan test ile eş zamanlı olarak rotavirüs antijeni de araştırıldığından 19 hastaya ait gaita örneğinde rotavirüs antijeni de pozitif olarak bulundu. Her iki antijenin pozitif olduğu örnekler en sık 12 (% 63) 0-23 ay yaş grubunda görüldü.
Sonuç
Bu çalışmaya göre, sonuç olarak, 0-23 ay yaş grubunda görülen enfeksiyöz gastroenteritlerde adenovirüslerin önemli bir etken olduğu, yaz mevsiminde daha sık rastlanma olasılığı bulunduğu düşünülmüştür. Adenovirus tanısında gaita örneklerinde immünokromatografik hızlı testler, ayırıcı tanıda etkin olarak kullanılabileceği ve zaman kaybını önleyebileceği için önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Viral gastroenterit, enterik adenovirüs, immünokromatografik yöntem

Grafik 1: Adenovirüs antijeni pozitif saptanan olguların yaşa göre dağılımı



Grafik 2: Adenovirüs antijeni pozitif saptanan olguların mevsimlere göre dağılımı



P354 - ÜLKEMİZDE KUDUZ TARİHÇESİ

Serhat Duyan, Orhan Bedir, Berksan Şimşek, Ahmet Celal Başustaoğlu
Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Ankara

Amaç
Kuduz aşısının bulunması sonrasında ülkemizde yapılan ilk uygulamaları, elde edilen ilk sonuçları aktarmak ve o günlerde kuduz için verilen mücadeleler konusunda meslektaşlarımızı bilgilendirmek
Yöntem
Kuduz hastalığı ile mücadele konusunda yayınlanmış olan kaynaklar taranarak bir derleme yapıldı.
Bulgular
Ülkemizde de kuduz aşısı kullanıma girmeden önce hurafelere ve işkenceye dayalı yöntemler tedavi adı altında kullanılmaktaydı. Bunlar; Yarayı emmek, kızgın demir yada nitrik asitle yakmak, dil altını kesmek, ısırılan kişiyi, ısıran köpeğin ortadan ikiye bölünmüş cesedi arasından geçirmek ve pırpırlamaktı. Dünyada ilk kez kuduz aşısı Louise Pasteur tarafından 1885 yılında uygulanmıştır. Kuduz aşısının keşfi tüm dünyada yankı uyandırmış ve Osmanlı Devleti de bu gelişmeye kayıtsız kalmamıştır. Sultan Abdülhamit tarafından Mekteb-i Tıbbiye-i Askeriye-i Şâhâne'den; Müderris Alexander Zoeros Paşa'nın başkanlığında, Kaymakam (Yarbay) Dr. Hüseyin Remzi ve Kaymakam (Yarbay) Veteriner Hüseyin Hüsnü Bey'den oluşan heyet Pasteur'e kuduz aşısının üretimi için eğitim almaya gönderilmiştir. Pasteur'e de verdiği eğitimden ve insanlığa yapmış olduğu hizmetlerden dolayı Sultan Abdülhamit tarafından Mecidi Nişanı ve 800 liralık para gönderilmiştir. Ülkemizden gönderilen bu heyet 6 ay sonunda eğitimlerini bitirip yurda dönmüşlerdir. Sultan Abdülhamit'in emri ile Sirkeci'de eğitime devam etmekte olan Askerî Tıbbiyenin bahçesindeki bir binada "Dersaadet Da-ül Kelp ve Bakteriyoloji Ameliyathanesi" kuruldu. Pasteur Enstitüsü'nden sonra dünyanın 3 ncü kuduz müessesesi kurulmuş ve müdürlüğüne Zoeros Paşa getirilmiştir. Müessese çalışmalarına başladıktan sonra her geçen yıl artan sayıda insana hizmet vermeye başlamıştır. İstanbul Kuduz Tedavi Müessesesinde 1887-1890 yılları arasında 76 kişi tedavi görmüş ve tedavi sırasında ölen kimse olmamıştır.1891-1899 yılları arasında 2278 kişi tedavi görmüş bunların 45'i, 1900-1909 yıları arasında 8075 kişi tedavi görmüş bunların 103'ü, 1910-1919 yıllarında 10821 kişiden 123'ü, 1920-1929 yıllarında 10596 kişiden 89'u, 1930-1939 yılları arasında ise 16865 kişiden 62'si, 1940-1950 yılları arasında ise 25907 kişiden 26'sı hayatını kaybetmiştir. Toplamda 74618 hasta tedaviye almış ve bu hastalardan 448'i tedavi sırasında hayatını kaybetmiştir. Yıllar ilerledikçe uygulamalara yenilikler getirilmiş, tedavi alan kişi sayısı artmış ve kazanılan tecrübelerle tedavi sırasında kaybedilen hasta sayısı ise azalmıştır.
Sonuç
1887'de büyük mücadeleler verilerek kuduz aşısı ülkemize getirilmiştir. Uygun tedavilerin yurdumuzda hayata geçmesi ile kuduz hastalığı ülkemizde kontrol altına alınmaya çalışılmıştır. Eskiden sık görülen insan kuduzu vakası günümüzde ise yıllık olarak beşin altına inmiş olup mortalite hızı da 0 civarındadır. Günümüzde insan kuduz vakaları açısından bakacak olursak ülkemiz; elimine olmakla sporadik epidemilerin görülmesi arasında bir noktadadır.

Anahtar Kelimeler: Alexander Zoeros, Kuduz, Louise Pasteur, Sultan Abdülhamit

İstatistiki Veriler

Yıl	Tedavi gören hasta sayısı	Tedavide ölen hasta sayısı
1887-1889	39	0
1890	37	
1891	77	
1892	112	
1893	223	45
1894	252	
1895	254	
1896	329	
1897	266	
1898	339	
1899	426	
1900-1909	8075	103
1910-1919	10821	123
1920-1929	10596	89
1930-1939	16865	62
1940-1950	25907	26
Toplam	74618	448

Paris'e Kuduz aşısı üretimini öğrenmek için gönderilen Zoeros Paşa başkanlığındaki heyet



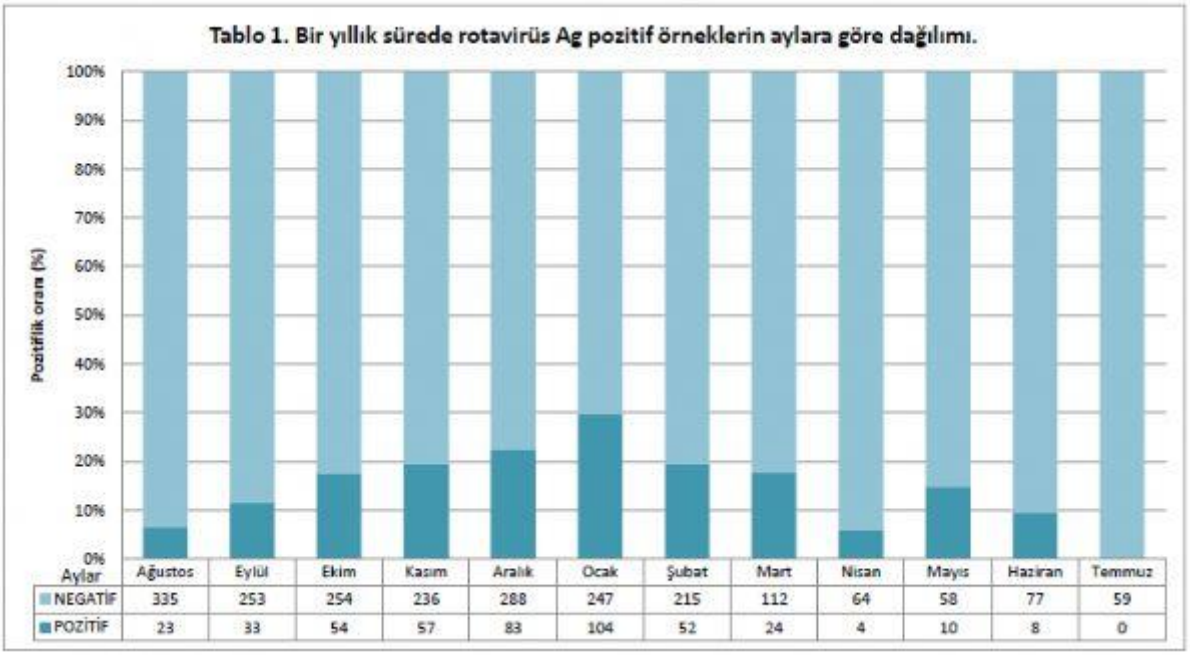
P355- KAYSERİ BÖLGESİNDE ÇOCUKLUK YAŞ GRUBU GASTROENTERİTLERİNDE ROTAVİRÜS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Barış Derya Erçal, Gülhan Yağmur
Kayseri Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuarı, Kayseri

Giriş-Amaç
Rotavirus, çocukluk çağı ölümlerinden sorumlu akut gastroenteritlerin en önemli viral etkenlerinden biridir. Özellikle 2 yaşın altındaki çocuklarda viral gastroenteritlerin en sık nedenidir ve bu yaş grubunda ciddi dehidratasyona neden olurlar. Yılda tüm dünyada 18 milyondan fazla yenidoğan bebek ve çocuk rotavirüs gastroenteritine yakalanır ve bu vakalardan yaklaşık 1 milyonu ölümle sonuçlanır.
Bu çalışmanın amacı, Kayseri Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesine başvuran akut gastroenteritli çocuk hastalardan laboratuvara gönderilen gaita örneklerinde rotavirüs antijenini tespit etmek ve bu enfeksiyonun yaş ve mevsimsel olarak dağılımını saptamaktır.
Gereç-Yöntem
Ağustos 2010 – Temmuz 2011 tarihleri arasında 0-14 yaş grubu bebek ve çocuklardan 2650 gaita örneği çalışmaya alındı. Örnekler SD Rota/Adeno Ag Rapid Test kiti (Standard Diagnostics, Korea) ile üreticinin talimatları doğrultusunda çalışıldı.
Bulgular
Çalışmaya alınan 2650 örnekten 1299 (%49)'u erkek, 1351 (%51)'i kız çocuklara aitti. Bu örneklerden toplam 452 (%17) tanesinde rotavirüs Ag pozitif saptandı. Pozitif örneklerden 205 (%45,4) tanesi erkek, 247 (%54,6) tanesi de kız çocuklara aitti. Mevsimsel olarak dağılıma bakıldığında en fazla kış aylarında pozitiflik görüldü. En yüksek pozitiflik oranı %29,6 ile Ocak ayında görülmekle beraber Kasım (%19,4), Aralık (%22,3) ve Şubat (%19,4) aylarında da yüksek oranlarda pozitiflik saptandı. Yaş dağılımına bakıldığında ise 1-2 yaş (%31,1) arası en sık pozitiflik oranı saptanırken sırayla 2-3 yaş (%17,5) ve 0-1 yaş (%16,6) arası çocuklarda da pozitiflik oranları yüksek oranlarda saptandı. Diğer yaş gruplarında ise oran nispeten daha düşüktü.
Sonuç
Özellikle kış aylarında görülen bebeklik ve çocukluk çağı gastroenteritlerinde rotavirus enfeksiyonları ayırıcı tanıda akla gelmesi gereken etkenlerden en önemlisidir. Sonuçlar incelendiğinde yaş ilerledikçe ve sıcak aylarda pozitif olgu oranının düşük olduğu görüldü. Gastroenterit vakalarında gereksiz antibiyotik kullanılmasının önlenmesi açısından özellikle kış aylarında, rotavirus enfeksiyonlarının tanısında rotavirus Ag testlerinin kolay uygulanabilir, hızlı ve maliyet-etkin testler olduğu sonucuna varıldı.

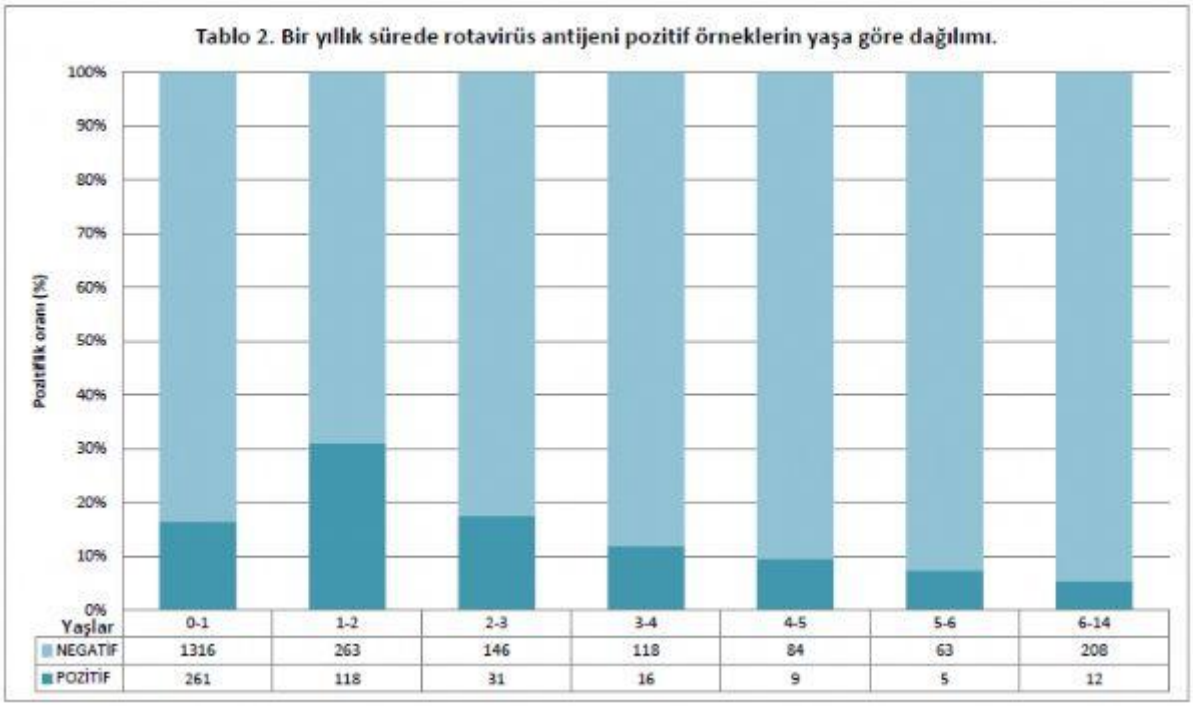
Anahtar Kelimeler: Gastroenterit, Rotavirüs, mevsim, yaş, çocukluk yaş grubu

Tablo 1



Aylar	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz
NEGATİF	335	253	254	236	288	247	215	112	64	58	77	59
POZİTİF	23	33	54	57	83	104	52	24	4	10	8	0

Tablo 2



Yaşlar	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-14
NEGATİF	1316	263	146	118	84	63	208
POZİTİF	261	118	31	16	9	5	12

P356 - UŞAK YÖRESİNDE BEHÇET HASTALARINDA HBV, HCV VE HIV SIKLIĞI

Arzu Akağaç Etem[1], Ebru Önalan Etem[2], **Güliz Toklu Doğan[3]**, Sembol Türkmen Yıldırmak[4], Işıl Öz[5]
[1]*Uşak Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Uşak*
[2]*Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Elazığ*
[3]*Uşak Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Uşak*
[4]*Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İstanbul*
[5]*Dokuz Eylül Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Ekonometri ABD, İzmir*

Amaç
Behçet hastalığı (BH) ataklarla birlikte uzun süreli bir seyir gösteren, çok sayıda organı tutabilen ve temel patolojisi vaskülit olan sistemik bir hastalıktır. İlk kez 1937 yılında, Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından oral ve genital ülserlerle birlikte hipopyonlu üveitten oluşan üç semptomlu bir kompleks olarak tanımlanmıştır.Hastalığın etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Bugün için üzerinde en çok durulan hipotez; hastalığın, viral, bakteriyel vb. gibi çevresel bir antijenle ve/veya ısı şok proteinleri gibi otoantijenlerle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan düzensiz bir immün yanıt olduğu yönündedir. Vaskülitlerde çözünebilen immün kompleksler yoluyla bazı mikroorganizmaların özellikle de virüslerin tetikleyici faktör olabileceği iyi bilinmektedir. Bir vaskülit olan poliarteritis nodosalı hastaların önemli bir kısmında geçirilmiş HBV enfeksiyonu mevcuttur.Bizim amacımız etiyolojisi bilinmeyen sistemik bir vaskülit olan Behçet Hastalığı(BH)'nın hepatit (HBV, HCV) ve HIV virüsleriyle ilişkili olup olmadığını belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Bu çalışmaya Uluslar arası BH tanı kriterleri ile tanı konulan 56 BH ve 56 sağlıklı kontrol alındı. Hasta ve kontrol grupları yaş, cinsiyet ve etnik köken açısından birbirine benzerdi. Her iki gruptada HBsAg, anti-HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV serolojik göstergeleri i 2000 SR (Abbott Architect system, İllinois, USA) otoanalizöründe çalışıldı.İstatistik analizler SPSS 11.5 paket programıyla yapıldı. Yüzde oranlarının karşılaştırılmasında Pearson Ki kare analizi kullanıldı.. Gruplar arasındaki fark $p<0.05$ olduğunda anlamlı kabul edildi.
Bulgular
İki grup arasında HBsAg, Anti-HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV serolojileri açısından Pearson Ki-kare testi ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,154, p=0,468, p=1,000, p=1,000). HbsAg 2 kadın (%3,57) Behçet hastasında üst referans sınır olan 0,999 mIU/mL üzerinde bulundu. Kontrol grubunda HbsAg pozitif olan olgu mevcut değildi (%0) (p=0,154).
Sonuç
Geçirilmiş HBV, HCV ve HIV enfeksiyonunun serolojik kanıtları BH ve kontrol grubunda istatistiksel olarak farklı değildi. Bununla beraber HBsAg, sağlıklı kontrolde tespit edilmez iken 2 Behçet hastasında mevcuttu. Bizim bulgularımız BH ve HBV, HCV, HIV arasındaki ilişkinin rastlantısal olduğunu göstermesine rağmen, daha geniş serilerde incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, Hepatit B virusü (HBV), Hepatit C virusü (HCV) ve İnsan İmmün Yetmezlik virusü (HIV)

P357 - GAZİANTEP SOSYAL HİZMETLER VE ÇOCUK ESİRGEME KURUMUNDA (SHÇEK) YAŞAYAN ÇOCUKLARDA HAV SALGINI NEDENİYLE HAV VE DİĞER VİRAL HEPATİT SEROLOJİK BELİRTEÇLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Reyhan Yiş, Süleyman Değirmenci
Gaziantep Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Gaziantep

Amaç
Hepatit A virüsünün (HAV) neden olduğu akut viral hepatit A geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde daha fazla olmak üzere tüm dünyada görülen, aşı ile korunulabilen bildirimi zorunlu bir infeksiyon hastalığıdır. Enfekte kişilerin gaitaları ile kontamine su ve gıdalar, hepatit A salgınlarına yol açabilmektedir. Yetiştirme yurtlarında yaşayan çocuklarda HAV, HBV ve HCV seroprevalansı, normal popülasyondan daha yüksek olabileceği için çalışmamızda Gaziantep Sosyal Hizmetler ve Çocuk Esirgeme Kurumu (SHCEK) yetiştirme yurdunda yaşayan çocuklarda HAV ve HBV seroprevalanslarının saptanarak serolojik belirteçlere göre aşılamanın gerçekleştirilmesi ve HCV seroprevalansının değerlendirilmesi amaçlandı.
Gereç-Yöntem
3 Ocak 2011 tarihinde halsizlik, iştahsızlık ve sarılık şikayetleri ile Gaziantep Çocuk Hastanesine başvuran 4 yaşındaki hastanın Anti HAV IgM testi sonucu pozitif saptanması sonrasında 3 Ocak- 28 Şubat 2011 tarihleri arasında Gaziantep SHÇEK'e bağlı yurtlarda yaşayan 8 ay- 14 yaş arası çocuklardan serum örnekleri alınarak ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Anti HAV IgM, Anti HAV IgG, HBsAg, anti HBs, Anti HBc IgM, Anti HBc IgG ve Anti HCV (Architect System, Abbott Diagnostics) testleri çalışıldı. Ayrıca alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), total bilirubin (TB) ve direkt bilirubin (DB) değerleri ölçüldü.
Bulgular
Çalışmaya alınan 65 çocuktan, 14'ünde (%21.53) Anti HAV IgM ve Anti HAV IgG birlikte pozitifken, 2 hastada Anti HAV IgM grey zone, Anti HAV IgG pozitif, 1 hastada da Anti HAV IgM tek başına pozitif olarak saptanmıştır. Akut HAV enfeksiyon oranı toplamda %30.77 (20 hastada) pozitif olarak belirlenmiştir. Yaşları 3 ile 8 arasında değişen 15 (%23.07) çocuk önceden HAV enfeksiyonu geçirmiş ve Anti HAV IgG sonuçları pozitif olarak saptanmıştır. HBsAg, Anti HBc IgM, Anti HBc IgG ve Anti HCV testi sonuçları tüm çocuklarda negatif saptanırken, 50 (%76.92) hastada HBV serolojik göstergelerinden Anti HBs tek başına pozitif olarak bulunmuştur. HAV enfeksiyonu olan hastalarda AST (85- 4000 U/lt) ve ALT (82- 4000 U/lt) yüksek olarak bulunmuştur. TB ve DB, HAV enfeksiyonu olan 20 hastanın 10 tanesinde yüksek saptanmıştır (1.5-21.23 mg/dl)/ (0.94- 14.65 mg/dl). Çalışmamızda yer alan 33 hastanın HAV belirteçleri negatif saptandığı için HAV aşıları yapılması planlanmıştır. Ancak aşılama gerçekleştirilemeden 3 çocukta daha HAV infeksiyonu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle geri kalan 30 çocuk aşılanmıştır. Çocukların büyük bir çoğunluğunun HBV aşısının yapılmış olması (%76.92) ülkemizde aşılamanın düzenli olarak yapıldığını göstermektedir. Yaşları 2-10 arasında değişen 15 çocuk ise taramanın ardından aşılanmıştır.
Sonuç
Gaziantep SHÇEK'te yaşayan toplam 20 çocukta akut HAV infeksiyonu saptanarak kurumda HAV salgını olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle öncelikle HAV ile karşılaşmamış olan çocuklar aşılanmış, bulaşın önlenebilmesi için gerekli önlemler alınmıştır. Yetiştirme yurtlarında yaşayan çocuklarda HAV, HBV ve HCV seroprevalansı normal popülasyondan daha yüksek olabileceği için özellikle önlenebilirlikleri mümkün olan HAV ve HBV infeksiyonları için aşılama programlarının planlanması ve uygulanması, HCV infeksiyonları için de bulaşın önlenebilmesi için gerekli önlemlerin alınması büyük önem taşımaktadır. Bunun yanında bu tür kurumlarda özellikle çalışanların eğitimi ile birlikte sanitasyon önlemlerinin etkin bir şekilde alınması ve altyapı eksikliklerinin de giderilmesinin viral hepatitlerin bulaşının önlenmesi açısından çok önemli olduğu açıktır.

Anahtar Kelimeler: HAV Salgını, HBV, HCV

P358 - HEPATİT C VİRÜS ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDA HCV GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

İmre Altuğlu, **Rüçhan Sertöz,** Uğur Tüzüner, Ayşegül Aksoy Gökmen
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, İzmir

Giriş
Hepatit C Virüsünün genotiplerinin saptanması, epidemiyolojik çalışmalar yanısıra kronik HCV enfeksiyonu olan hastaların yönetiminde önemli bir parametre olarak belirlenmiştir. HCV genotip saptanması tedaviye yanıtı ve tedavi süresini belirlemede önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran hastalarda son dört yıllık yakın dönemde HCV genotiplerinin dağılımını belirlemektir.
Gereç-Yöntem
HCV enfeksiyonu olan hastalarda HCV genotiplerinin incelenmesi amacı ile Mart 2007-Mart 2011 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuarına başvuran 535 hasta örneği çalışmaya alındı.
HCV tiplemesi için RNA ekstraksiyonu (High Pure Viral Nucleic Acid Kit, Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, ABD) ardından RNA peletinden random hekzanükleotid karışımı ve avian myeloblastosis virüs reverz transkriptaz kullanılarak komplementer DNA sentezlendi. 5' NCR bölgesinde 256 bp' lik korunmuş bölge için nested PCR uygulandı. Daha sonra BsuR1-Rsa1, Mva1-Hinf1 ve Bsh 12361 (Fermentas International Inc., Kanada) enzimleri kullanılarak bu bölgenin RFLP analizi gerçekleştirildi. Farklı bant paternleri Mc Omish ve ark. tanımladığı şekilde değerlendirildi.
Genotip 1 dışındaki örneklerin bant paternlerinin doğrulanması amacı ile Big Dye Terminator DNA Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA, USA) ve ABI Prism 310 genetic analyzer cihazı (Perkin Elmer, ABD) kullanılarak bu örneklerin 5' NCR bölgesinin dizi analizi yapıldı.
Bulgular
Çalışma grubu yaşları 51.46+14.5 olan 535 hastadan oluşmaktaydı (Yaş aralığı 9-85). 535 hastanın 499'unda (%93.3) genotip 1 saptandı. Genotip 1 saptanan olguların 69 'unda genotip 1a (%12.9.), 430 'unda(80.4%) 1b subtipi saptandı. Genotip 3, 20 hastada (%3.7), genotip 2, sekiz hastada (%1.5) ve genotip 4, sekiz hastada (%1.5) saptandı. Genotip 5 ve 6'ya rastlanmadı. HCV genotiplerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı tablo 1'de gösterilmektedir.
Sonuçlar
Bölgemizde genotip 1 b baskın genotip olmaya devam etmektedir. Genotiplerin yaşa göre incelenmesi tip 1 ile enfekte olguların, tip 1 dışı olgulara göre daha yaşlı olduğunu ortaya koymuştur. Genotip dağılımında cinsiyet farklılıkları incelendiğinde, tip 1 ve tip 1 dışı olgularda bir farklılık gözlenmedi.

Anahtar Kelimeler: HCV enfeksiyonu, Genotip, RFLP

Çalışma grubunda HCV genotiplerinin yaşa ve cinsiyete göre dağılımı (Hasta sayısı: 535)

	1a	1b	2	3	4
Sayı (%)	69 (%12.9)	430 (%80.4)	8 (%1.5)	20(%3.7)	8 (%1.5)
Cinsiyet (%)					
Kadın (294)	33 (%11.2)	245 (%83.3)	5 (%1.7)	6 (%2)	5 (%1.7)
Erkek (241)	36 (%14.9)	185 (%76.8)	3 (%1.2)	14 (%5.8)	3 (%1.2)
Yaş					
Ortalama yaş (SD)	44.7 (13.1)	53.2(13.9)	44.3(15.9)	38.1 (15.7)	56(16.3)
Kadın (SD)	45.6 (13.6)	53.7 (14.0)	43.2(20.8)	27.8 (14.5)	52.1(14.7)
Erkek(SD)	43.7 (12.8)	52.6(13.9)	46.0(3.61)	42.5(14.4)	50.7(14.2)

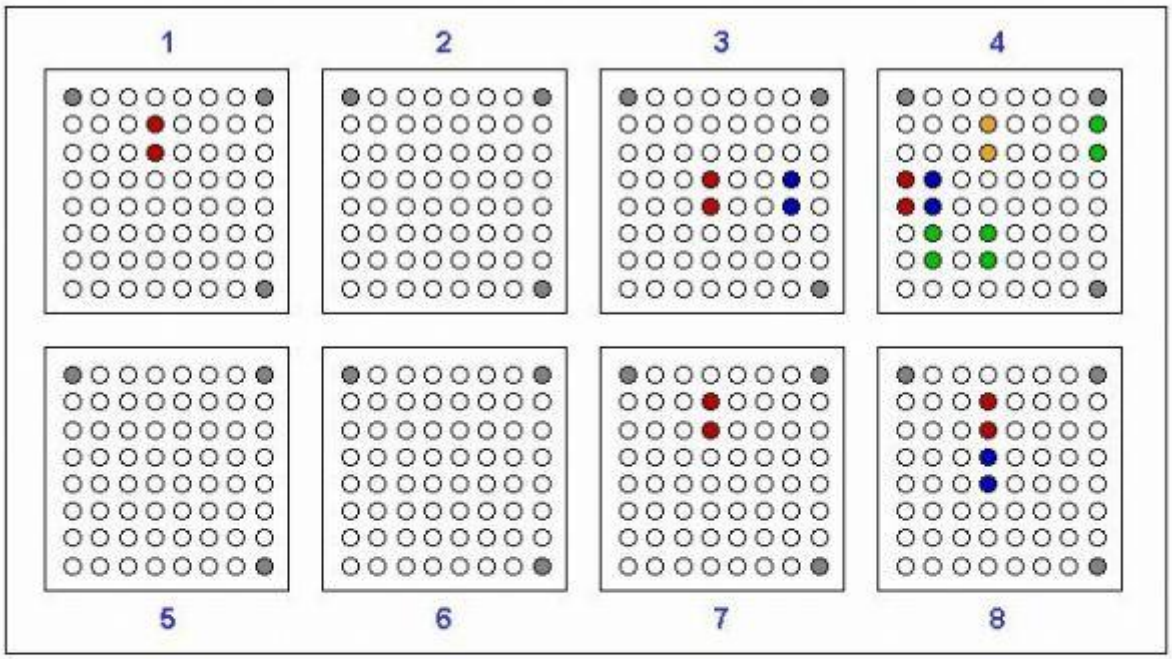
P359 - ESKİŞEHİR BÖLGESİNDE HPV DNA VE PAP SMEAR TESTLERİYLE SERVİKAL TARAMA

Sinan Özalp[1], Tercan Us[2], Emine Arslan[1], Tufan Öge[1], Ülkü Öner[3], **Nilgün Kaşifoğlu[2]**, Evrim Çiftçi[3]
[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Eskişehir*
[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Eskişehir*
[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, Eskişehir*

Amaç
Bu çalışmanın amacı Eskişehir ili ve yakın çevresinde HPV prevalansını ve pap smear, kolposkopi ve kolposkopik biyopsi sonuçları ile ilişkisini belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Çalışmaya Aralık 2009 ve Aralık 2010 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran 615 kadın dahil edilmiştir. Bu hastalardan pap smear örneği alınmadan önce veya kolposkopi işlemi yapılacaklarda işlem yapılmadan önce servikal sürüntü örnekleri alınmış Viral Transport Medium içersinde Mikrobiyoloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Bu örneklerden viral DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, LCD Array HPV 3.5 kit (CHIPRON GmbH; Almanya) kullanılarak hastalarda HPV DNA varlığı ve tipleri belirlenmiştir.
Bulgular
Hastaların 26 (%4,2)'sı HPV pozitif olarak saptanmıştır. Bu 26 hastanın 12'sinde HPV tip 16, 3'ünde tip 18, 3'ünde tip 51, 2'sinde tip 6, 1'inde tip 52, 1'inde tip 33, 1'inde tip 16-31, 1'inde tip 6-52, 1'inde tip 56-90, 1'inde tip 39-66 bulunmuştur. Servikal kanseri olan 4 hastada ve CIN III olgularının 3'ünde HPV DNA ve pap smear birlikte pozitif olarak saptanmıştır. Dört servikal kanser hastasının 3'ü HPV tip 16, 1'i HPV tip 18 için pozitif olarak bulunmuştur. Pap smear sonuçlarına göre LGSIL (low grade squamous intraepithelial lesion) ve HGSIL (high grade squamous intraepithelial lesion) hastalarının %50'si HPV pozitif grupta yer almıştır. Malign pap smear sonucu olan tüm hastalar HPV pozitif gruptayken, AGUS (Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance) (n: 4), ASCUS (Atypical Squamous cells of undetermined significance) (n: 35), CIN I (n: 2) olan hastaların tümü HPV negatif grupta yer almıştır ($p<0.05$). Normal pap smear sonucu olan 19 hastada HPV DNA pozitif olarak bulunmuştur.
Sonuç
Bizim hastanemizde HPV pozitiflik oranı, Türkiye'deki diğer çalışmalarla uyumlu olarak düşük bulunmuştur. HPV tipi ve servikal biyopsi sonuçları arasında iyi bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. HPV DNA tarama testlerinin maliyetlerinin daha düşük olması durumunda, kısa sürede sonuç vermesi, uygulama kolaylığı ve yüksek duyarlılığı nedeniyle tarama programlarında yer alması gerektiği görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: Eskişehir, HPV DNA, pap smear, servikal kanser

LCD Array analiz ekranı



Field 1	Field 2	Field 3	Field 4
02:04 HPV-16		05:04 HPV-45 04:07 HPV-53	04:01 HPV-39 04:02 HPV-42 02:04 HPV-16 02:08 HPV-35 06:04 HPV-59 06:02 HPV-56
Field 5	**Field 6**	**Field 7**	**Field 8**
		02:04 HPV-16	02:04 HPV-16 04:04 HPV-45

HPV pozitif hastalarda HPV tipleri ve sitoloji ilişkisi

		Pap Smear	Pap Smear	Pap Smear	Pap Smear	Pap Smear	Pap Smear
Hasta no	HPV tipi	Negatif	ASCUS (Atypical Squamous cells of undetermined significance)	AGUS (Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance)	LGSIL (low grade squamous intraepithelial lesion)	HGSIL (high grade squamous intraepithelial lesion)	KANSER
1	16	+					
2	16	+					
3	16	+					
4	16	+					
5	16				+		
6	16	+					
7	6	+					
8	16	+					
9	33	+					
10	52, 6	+					

11	16, 31					+	
12	16	+					
13	18	+					
14	18						+
15	16						+
16	51	+					
17	18	+					
18	16	+					
19	56, 90	+					
20	51					+	
21	51	+					
22	16						+
23	16						+
24	52	+					
25	39, 66	+					
26	6	+					

Kolposkopi ile incelenen hastalarda HPV varlığı ve tipinin histoloji ile ilişkisi

	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	HPV tipi	
Kolposkopik biyopsi	16	18	16, 31	51	33	52, 6	56, 90	52	39, 66	6	TOPLAM
Negatif	5	1	-	-	-	1	-	-	-	1	177
CIN I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8
CIN II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
CIN III	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	5
KANSER	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	4

Kolposkopi, HPV tip 16 pozitif 12 hastanın 3'üne, HPV tip 18 pozitif 3 olgunun 1'ine, 3 HPV tip 51 olgusunun 2'sine, HPV tip 6 pozitif 2 olgunun 1'ine ve tip 33, 56-90, 39-66, 52 olgularına (n:1) uygulanmamıştır.

P360 - HAZİRAN 2010-HAZİRAN 2011 TARİHLERİ ARASINDA HASTANEMİZDE İZOLE EDİLEN ACİNETOBACTER BAUMANİİ SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ DURUMU

Hünkar Şahin, Ali Kudret Adiloğlu, Ayşe Esra Karakoç, Ufuk Önde, Ayşegül Öztürk
S.B.Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü,Ankara

Amaç
S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Haziran 2010 - Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden kabulu yapılan numunelerden izole edilen Acinetobacter baumanii suşlarının kliniklere göre dağılımı ve antibiyotik direnç profillerinin geriye dönük olarak araştırılması amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
İzole edilen suşların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi VİTEK2 Compact (Biomerieux,France) otomatize tanımlama sistemi ile yapılmıştır.
Bulgular
Hastanemiz Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında belirtilen tarihler arasında toplam 210 adet Acinetobacter baumanii suşu izole edilmiştir.Yoğun bakım ünitelerinden 157 (% 75),dahili servislerden 26(%12), cerrahi servislerden 23 (%11) ve polikliniklerden 4 (% 2) olmak üzere toplam 210 adet suşun; 76'sı (%36) trakeal aspirat, 38'i (%18) yara yeri,26'sı (%12) sonda idrarı, 26'sı (%12) kan, 18'i (%9) kan-kateterden, 11'i (%5) periton sıvısı, 15'i (%8) orta akım idrarı, beyin omurilik sıvısı, plevra aspiratı ve balgam numunelerinden izole edilmiştir. İzole edilen suşların direnç yüzdeleri; amikasin %56, gentamisin %55, tetrasiklin 65, tobramisin %35, siprofloksasin %91,levofloksasin %90, sefepim %91, sefoperazon/sulbaktam %86, seftazidim %93, seftriakson %100, imipenem %85, meropenem %85, piperasilin %94, piperasilin/tazobaktam %94, ampisilin/sulbaktam %94, tikarsilin %95, trimetoprim/sulfametoksazol % 58, tigesiklin % 20 şeklindedir. Kolistin direnci % 0 olarak bulunmuştur.
Sonuç
Bu çalışmada hastanemizde izole edilen Acinetobacter baumanii suşlarının dirençli olduğu görülmektedir. Bu bakterinin hastane ortamında birçok antibiyotiğe karşı çok hızlı geliştirebildiği çoklu antibiyotik direnci tedavide önemli sorun oluşturmaktadır. Klinisyenlerin ampirik tedavide önlerini görebilmeleri için her hastanenin direnç durumlarının belli aralıklarla ortaya konması oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Acinetobacter baumanii, antibiyotik, direnç

tablo 1:İzole edilen Acinetobacter baumanii suşlarının kliniklere göre dağılımı

KLİNİKLER	SAYI	%
yoğun bakım üniteleri	157	75
dahili servisler	26	12
cerrahi servisler	23	11
poliklinikler	4	2

tablo 2:Acinetobacter baumanii suşlarının izole edildiği klinik örnekler

ÖRNEKLER	SAYI	%
trakeal aspirat	76	36
yara yeri	38	18
sonda idrarı	26	12
kan	26	12
kan-kateter	18	9
periton sıvısı	11	5
diğer(orta akım idrarı,beyin omurilik sıvısı,plevra aspiratı,balgam)	15	8

tablo 3:İzole edilen Acinetobacter baumanii suşlarının antibiyotik direnç yüzdeleri

ANTİBİYOTİK	DİRENÇ %
amikasin	56
gentamisin	55
tetrasiklin	65
tobramisin	35
siprofloksasin	91
levofloksasin	90
sefepim	91
sefoperazon/sulbaktam	86
seftazidim	93
seftriakson	100
imipenem	85
meropenem	85
piperasilin	94
piperasilin/tazobaktam	94
ampisilin/sulbaktam	94
tikarsilin	95
trimetoprim/sulfametoksazol	58
tigesiklin	20
kolistin	0

orta duyarlı suşlar dirençli kabul edilmiştir.

P361- İSTANBUL'DA BİR SAĞLIK OCAĞI'NA BAŞVURAN ERİŞKİNLERİN H1N1 (DOMUZ GRİBİ) PANDEMİSİ HAKKINDA BİLGİ, TUTUM VE DAVRANIŞLARI

Seyhan Hıdıroğlu, Emel Lüleci, **Fatih Torlak**, Yaşar Keskin, Melda Karavuş
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, İstanbul

Amaç
İstanbul'da Ümraniye bölgesinde bir sağlık ocağına Aralık 2009'da başvuran 18 yaş üzeri erişkinlerin H1N1 hakkındaki bilgilerini, tutumlarını ve davranışlarını belirlemektir.
Gereç-Yöntem
Tanımlayıcı tipteki bu araştırma, 21 – 28 Aralık 2009'da Türkiye'de H1N1 pandemisi saptandığı sıralarda İstanbul'un göç alan bir ilçesi olan Ümraniye'de genellikle orta ve alt düzey eğitim seviyesi olan erişkinlerin yaşadığı bir bölge olan Dudullu'da bir sağlık ocağına herhangi bir nedenle başvuran hasta ve yakınlarına yüz yüze anket uygulayarak yapılmıştır. Örnekleme yöntemi kullanılmamış olup 321 erişkine gelişigüzel önceden ön denemesi yapılmış olan anket uygulanmıştır. Ön deneme benzer bir sağlık ocağında araştırmadan bir önceki hafta 10 kişiye anket uygulayarak yapılmıştır. Veriler bilgisayarda analiz edilip, tablo ve grafikler oluşturulmuştur.
Bulgular
Araştırmaya katılanların yaklaşık %16'sı 18 – 24, %30'u 25 – 34, %20'si 35 – 44, %14'ü 45 – 54, %11'i 55 – 64 ve %9'u 65 yaş üzeri gruptaydı. Katılımcıların %45,2'si erkek, %54,8'i kadındı, %11'i üniversite, %20'si lise, %19'u ortaokul, %36'sı ilkokul mezunu, %7'si okuryazar, %7'si ise okuryazar değildi.Katılımcıların %93'ü salgın hakkındaki bilgilerini medyadan öğrendiklerini ifade etmişlerdir. Katılımcıların %45'i domuz gribi ile normal grip arasında bir fark olduğunu belirtmişlerdir ve farkları şu şekilde ifade etmişlerdir; %23 katılımcı daha yüksek ateş, %17 katılımcı bulantı ve kusma, %11'i ise ölüm riski daha yüksek.
Katılımcıların %16'sı domuz gribi geçirdiğini düşünüyordu. Sadece 2 katılımcı kan tahlili sonucu, 2 katılımcı ise klinik muayene sonucu domuz gribi tanısı aldığını bildirdi. Katılımcıların %28'i kendisini orta düzey risk grubunda görürken, %17'si hiç risk altında görmüyor, %9'u ise çok yüksek risk sahibi olduğunu düşünüyordu. Katılımcıların %82'si korunmada el yıkamanın etkili olduğunu biliyordu. Maske kullanımını etkili bulma yüzdesi ise %40 kadar olup, aşıyı etkili bulanlar katılımcıların %9'unu oluşturuyordu.Katılımcıların %85'i hastalığın hava yoluyla bulaştığını, %68'i hasta kişiyle, temas sonucu bulaştığını, %26'sı kontamine eşyalarla bulaştığını bildirirken %17'si kirli su tüketimiyle, %15'i domuz eti tüketimiyle, %3'ü ise böcek ısırığıyla bulaştığını ifade etmişlerdir.
Katılımcıların %14'ü daha önce mevsimsel grip aşısı yaptırdığını sadece %5'i domuz gribi aşısı yaptırdığını ifade etmişlerdir. Aşı yaptırmama nedenleri arasında %35'i yan etkileri, %18'i aşının yeni oluşumu, %16 kadarı da politik sebepleri gösterdi. Aşı yaptırmama nedenleri arasında 'ticari bir oyun', 'domuz gribi diye bir hastalık yoktur', 'daha önce aşı olanların olumsuz referansları', 'aşının kendi domuz gribi yapar', 'aşının bileşenleri dinen haramdır', 'aşının etkisi kalıcı değildir', 'neden politikacılar anlaşmıyor' gibi az sayıda ancak ilginç sebepler ifade edilmiştir.
Sonuç
Katılımcıların H1N1 (domuz gribi)'den korunma konusunda genellikle bilgili oldukları, ancak aşısı ile ilgili pek çok önyargılarının bulunduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: H1N1, domuz gribi, aşı

P362- İNTERN VE PRATİSYEN HEKİMLERİN H1N1 AŞISININ KULLANIM VE ETKİNLİĞİ KONUSUNDA TUTUM VE DAVRANIŞLARI

Mustafa Taşdemir, Seyhan Hıdıroğlu**, Fatih Torlak**, Fatma Dindar, Lercan Aslan, Zeliha Gençoğlu, Seranur Polat, Melda Karavuş
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, İstanbul

Amaç
Domuz gribi, influenza A (H1N1) tipi virüsten kaynaklanan, insanlarda hastalığa yol açan viral bir hastalıktır. Kasım ayında ülkemizde aşı uygulamaları öncelikle sağlık çalışanlarını ve risk gruplarını kapsayacak şekilde başlatılmıştır.
Bu çalışmada, intern ve pratisyen hekimlerin H1N1 aşı uygulamaları ve aşının etkinliği konusunda kişisel tutum ve uygulamalarının ve bunları etkileyen faktörlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Gereç-Yöntem
Kesitsel nitelikli bu çalışma Kasım- Aralık 2009 tarihleri arasında Kadıköy'de bulunan Tus dershanelerine devam eden 194 intern ve pratisyen hekime uygulanmıştır. Devamsızlık gibi sebeplerden ötürü 148 (%76,2) kişiye ulaşılmıştır.
20 sorudan oluşan anket formu yüz yüze uygulanmıştır. Veriler SPSS for Windows V.15 programı kullanılarak değerlendirilmiştir ve istatistiki analizde ki kare testi kullanılmıştır.
Bulgular
Çalışmaya katılanlar 22-39 yaş arası ortalama 25.5±3.55 yaşındadır.(Ortanca: 24)
Çalışmaya katılanların % 43.5 kadın iken % 56.5 erkektir. Çalışmaya katılanların %59.2'si intern, %40.8'si ise mezun ve pratisyen hekimdir. Çalışmaya katılanların %68'si kendisini risk altında hissederken % 32'si kendisini risk altında hissetmemektedir. Grip benzeri tablo geçiren 109 kişiden 42'si bunun domuz gribi olduğunu 67'si ise olmadığını düşünmektedir. Domuz gribi olduğunu düşünen 41 kişinin 36'sı kendisi öyle olduğunu düşünürken 3 kişinin laboratuar sonucu bu şekilde gelmiş, 1 kişinin ise enfeksiyon hastalıkları tarafından tanı konulmuştur. Çalışmaya katılanların %58.5'i aşı yaptırmış, %9.5 yaptırmadığı halde yaptırmayı düşünmekte ve %32'si yaptırmamış ve yaptırmayı düşünmemektedir.Çalışmaya katılan internlerin %65,5'i hekimlerin %45,0'i domuz gribi aşısı yaptırmış iken,yaptırmayı düşünenler internlerin %8'i iken hekimlerin %13,3'ü idi. Mevsimsel grip aşısı yaptıran hekimlerin %22,9'u H1N1 aşısı yaptırırken. Mevsimsel grip aşısını yaptırmayan hekimlerin %93,8'i H1N1 aşısını da yaptırmamayı seçmiştir. Çalışmaya katılanlarda %9,5'inin kronik hastalığı var iken %90,5'unun herhengi kronik hastalığı yoktur Çalışmaya katılanların %33.3'ü aşının yararını aşacak yan etki göstereceğine inanırken %66.7'si aşının yararını aşan yan etkiler göstermediğini düşünmektedir. Çalışmaya katılanların H1N1 aşısını %73,5'u yakınlarına %76,2'si danışanlarına önerdiğini belirtirken %26,5'u yakınlarına, %23,8'i danışanlarına aşıyı önermemektedir. Çalışmaya katılanların H1N1 aşısı hakkında yeterli bilgiye sahip olduğunu düşünme durumu ile aşıyı gebelere önermeleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur(p=0,083), H1N1 aşısı hakkında yeterli bilgiye sahip olduğunu düşünenlerin %71,4'ü aşıyı gebelere önerirken yeterli bilgiye sahip olmadığını düşünenlerin %57,1'i aşıyı gebelere önermektedir. Çalışmaya katılanların %66,7'si domuz gribi aşısı hakkında yeterli bilgiye sahip olduklarını, %33,3'ü ise yeterli bilgiye sahip olmadıklarını düşünüyorlar.Hekimlerin çalışma süreleri ile aşı yaptırma arasında istatistiksel anlamlı fark çıkmamıştır(p=0,455).
Domuz gribi aşısı hakkında yeterli bilgiye sahip olma ile H1N1 aşı yararını aşacak yan etki göstermesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmıştır (p =0,035).
Sonuç
H1N1 aşısı yaptıran intern veya hekimlerin %94'ü aşıyı kendisine danışanlara önerirken aşı yaptırmayan ve yaptırmayacak olan hekimlerin %37'5i aşıyı kendilerine danışanlara önermektedir. H1N1 influenza pandemisine karşı geliştirilen aşıya ilişkin bilgi edinme ve aşılanma konusunda başta hekimler olmak olmak üzere tüm sağlık çalışanlarının daha duyarlı olması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: H1N1, intern hekim, aşı

P363- MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYDARPAŞA KAMPÜSÜ ECZACILIK FAKÜLTESİ VE HEMŞİRELİK YÜKSEKOKULUNDA ÖĞRENİM GÖREN ÖĞRENCİLERİN H1N1 AŞISI İLE İLGİLİ BİLGİ, TUTUM VE DAVRANIŞLARI

Seyhan Hıdıroğlu, **Fatih Torlak**, Nurcan Şentürk, Semra Sarı, Hümeyra Yaşar, Ceren Meriç, Serkan Calp, Melda Karavuş
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD, İstanbul

Amaç
Marmara Üniversitesi Haydarpaşa Kampüsü'nde Eczacılık Fakültesi ve Hemşirelik Yüksekokulu öğrencilerinin pandemikH1N1aşısı hakkındaki bilgi,tutum ve davranışlarını ortaya koymak için yapılan bir çalışmadır.
Gereç-Yöntem
Araştırma,15Mart-15Nisan tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Haydarpaşa Kampüsü Eczacılık Fakültesi ve Hemşirelik Yüksekokulu'nda öğrenim gören, gelişigüzel seçilen 385 kişiyi kapsayan tanımlayıcı türde bir çalışmadır.Katılımcıların her birine 34 soru içeren ve katılımcıların sosyo-demografik özelliklerini, pandemik H1N1 aşısı ile ilgili bilgi, tutum ve davranışlarını sorgulayan nitelikte yüz yüze bir anket uygulanmıştır. Araştırmanın verileri SPSS 16.0 programında Ki-kare ve T testi kullanılarak değerlendirilmiştir.
Bulgular
Çalışmaya katılan 385 kişinin 282'si (%73,2) kadın, 103'ü (%26,8) erkektir. Çalışmamıza katılanların yaş ortalaması 20.81±1.87 dir(min: 18, max: 29). Çalışmaya katılan 11 kişi yaşını belirtmemiştir. Çalışmaya katılanların %52,7' si Eczacılık Fakültesi, %47,3' ü Sağlık Bilimleri Fakültesinde eğitim görmektedir. Çalışmaya katılanların 54'ü(%14) pandemik H1N1 enfeksiyonu geçirdiğini düşünürken, 256'sı (%66.5) geçirmediğini, 73'ü (%19) ise enfeksiyon geçirip geçirmediği konusunda emin olmadığını belirtmiştir, 2(%0,5) katılımcı ise bu soruya cevap vermemiştir. Enfeksiyon geçirdiğini düşünenlerin sadece %9,4'ü, enfeksiyon varlığının kendisine tıbbi teşhis olarak bildirildiğini ifade etmiştir. Çalışmaya katılan öğrencilerin13(%3,4)'ü pandemik H1N1 aşısı olduğunu belirtmiştir. Çalışmaya katılan 280 kadın katılımcının 9'u (%3.2) aşı olduğunu, 271'i (%96.8) aşı olmadığını, 103 erkek katılımcının ise 4'ü (%3.9) aşı olduğunu, 99'u (%96.1) aşı olmadığını belirtmiştir. Çalışmaya katılan 203 eczacılık fakültesi öğrencilerinin 9'u(%4,4) aşı olduğunu, 194'ü (%95,6) aşı olmadığını,180 sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinin ise 4'ü(%2,2) aşı olduğunu, 176'sı(%97,8) aşı olmadığını belirtmiştir.
Kadınların %50,7'si bilgiyi çevrelerinden edindiklerini ifade ederken bu oran erkeklerde %29,1'dir. Aşı hakkındaki bilgilerini çevresinden edinen katılımcılar cinsiyet açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmıştır($p<0.05$).
"Pandemik H1N1 enfeksiyonu geçirirsem ölme riskim yüksektir" önermesine katılıyorum(%24) cevabını verenlerin %34,1'i gelecekte yeni bir salgın olursa aşılanacağını, %41,8'i bu konuda kararsız kaldığını, %24,1'si aşılanmayacağını belirtmiştir.İlk önermeye kararsızım cevabını(%28) verenlerin %21,7'si gelecekte yeni bir salgın olursa aşılanacağını, %56,6'sı bu konuda kararsız kaldığını, %21,7'si aşılanmayacağını belirtmiştir. Yine ilk önermeye katılmıyorum(%48) cevabını verenlerin %37,6'sı gelecekte yeni bir salgın olursa aşılanmayacağını, %47,5'i ise aşılanıp aşılanmama konusunda kararsız kaldığını %14,9'u ise aşılanacağını belirtmiştir.'Pandemik H1N1 enfeksiyonu geçirirsem ölme riskim yüksektir' önermesi ile 'Gelecekte yeni bir salgın olursa aşılanırım' önermesine verilen cevaplar arasında istatistiksel açıdan önemli ilişki saptanmıştır($p<0.05$).
Aşı olmama nedenleri sorgulandığında aşı olmayan katılımcıların %23,4'ü aşıya güvenmediği, %16,4'ü aşı olmayı gereksiz bulduğu, %8,8'i aşının yan etkileri olduğu,%7'si kişisel hijyen ve dengeli beslenme ile kendisini koruyabileceğini, %6.2'si aşı hakkındaki çelişkili haberler yüzünden, %3,6'sı aşının ticari amaçlı piyasaya sürüldüğünü düşündüğü için aşı olmadığını belirtirken, %19,2'si aşı olmama nedenini diğer nedenler olarak belirtmiş, %15,4'ü ise fikrim yok cevabını vermiştir. Katılımcıların %19,2'si sağlık bakanlığının yetersiz bilgi vermesi, başbakanın da aşı olmaması, risk grubunda olduğunu düşünmemesi aşının etkisiz olduğunu düşünmesi gibi nedenler belirtmiştir. Aşı olan 13 kişinin ise 4'ü H1N1 enfeksiyonunun yaygınlaştığı, 3'ü doktorlara güvendiği, 2'si insanlara bulaştırmamak, 1'i etrafindakiler tavsiye ettiği, 1'i aşı firmasına güvendiği için aşı olduğunu belirtirken aşı olan 2 kişi ise aşı olma sebebini belirtmemiştir.
Sonuç
Araştırmamız Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Hemşirelik Yüksekokulu'nda öğrenim gören öğrenciler arasında PandemikH1N1aşılanma oranlarının düşük olduğunu göstermiş olup aşılanma oranının artırılması için farklı politikaların aranması gerekliliğini ortaya koymuştur.Aşılanma oranlarının düşük olmasının başlıca sebeplerini aşıya karşı duyulan güvenin az olması,kişilerin aşıya gereksinim duymaması oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: H1N1, eczacılık, hemşirelik

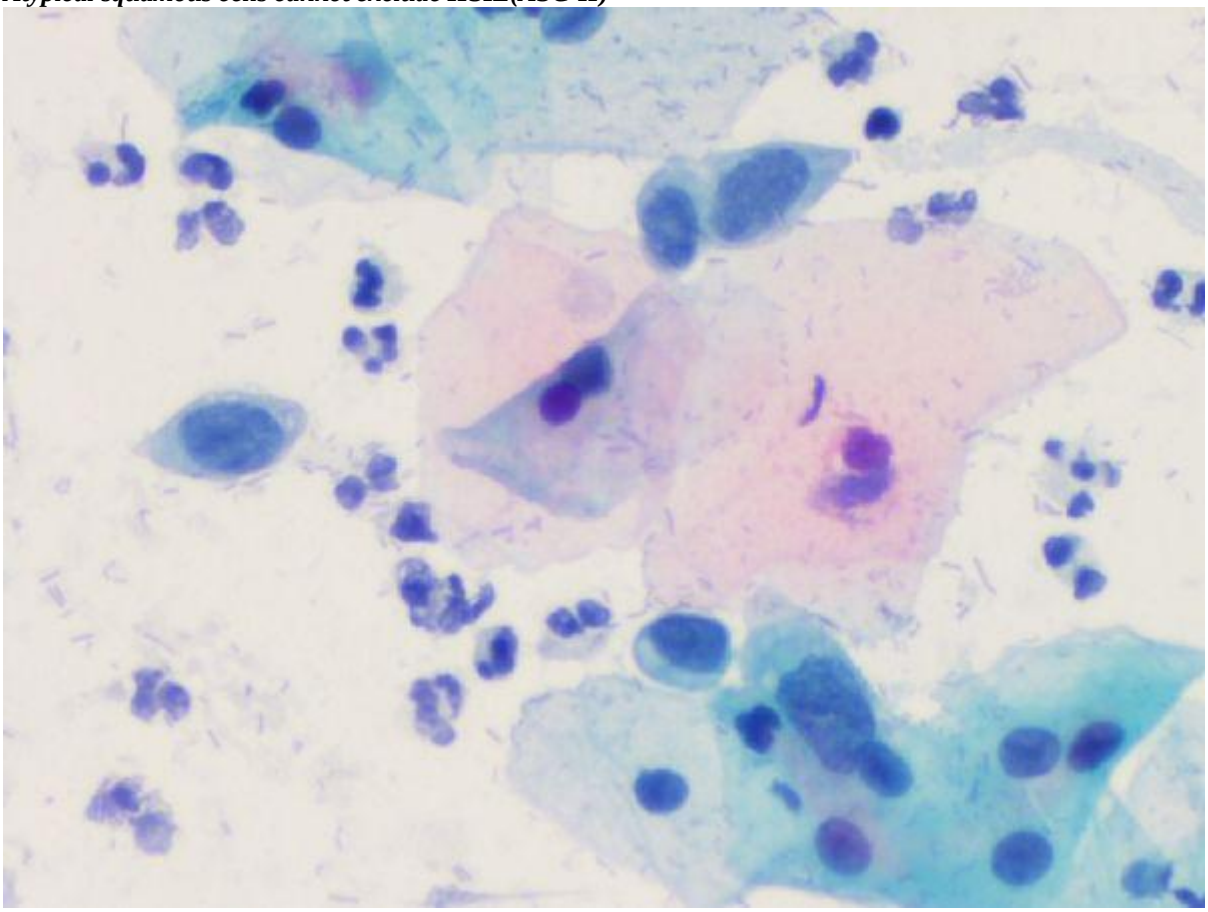
P364- SIVI BAZLI SERVİKAL ÖRNEKLERDE HUMAN PAPİLLOMAVİRUS PREVALANS VE TİPLERİ

Işın Akyar[1], Özlem Aydın[2], Mustafa Cengiz Yakıcıer[3], Tanıl Kocagöz[1], Ümit İnce[2], İbrahim Ünsal[4]
[1]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*
[2]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul*
[3]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*
[4]*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul*

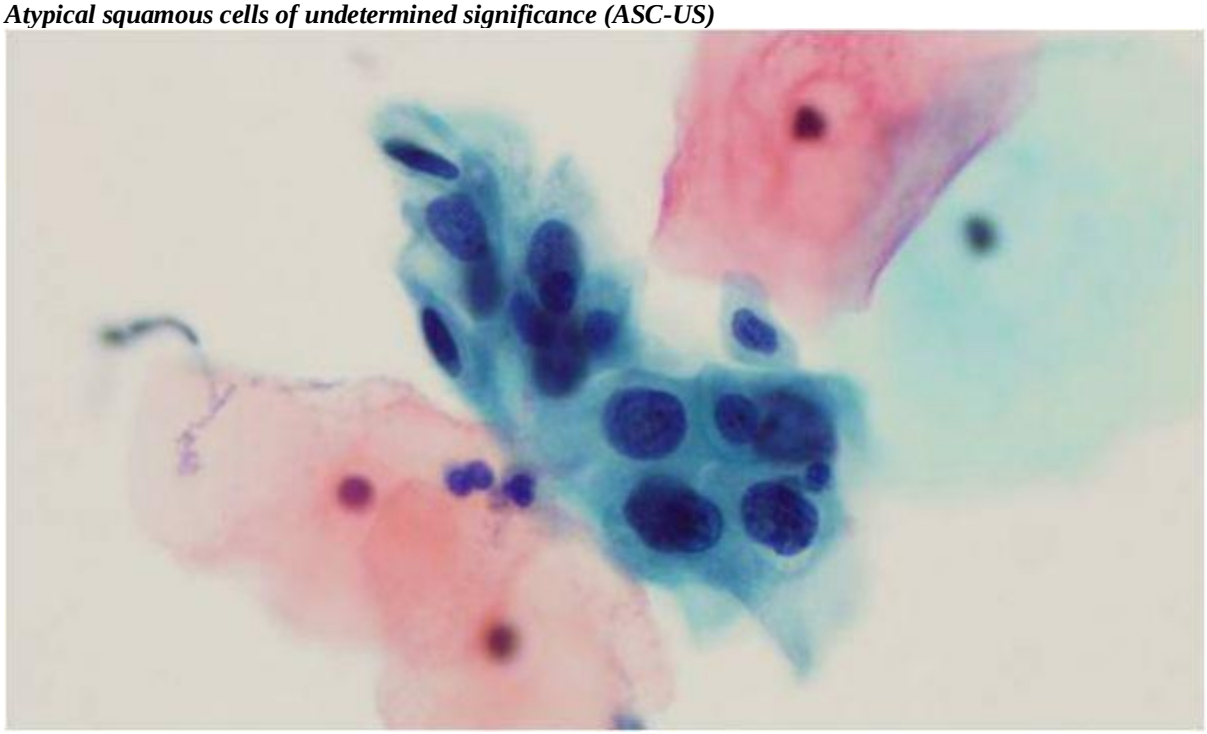
Amaç
Servikal kanser tüm dünyada kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Her yıl yaklaşık olarak 50 000 olgu ortaya çıkmaktadır. Bu olgularda fatalite oranı %50'dir. Gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda kanserin en sık nedeninin Human papillomavirus(HPV)olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda servikal kanserlerde HPV saptanma prevalansı %99.7'dir. Bu çalışmada amacımız HPV prevalansını saptamak ve farklı sitolojik tanı sınıflarında HPV tip dağılımını göstermektir.
Gereç-Yöntem
2007-2010 yılları arasında kurumumuza ait 6 hastanenin(Kadıköy, Bakırköy, Kozyatağı, Maslak, International Hospital, Bursa) kadın doğum polikliniklerine başvuran 1014 kadın hastanın sıvı bazlı servikal örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Servikal örnekler "Liquid based cytology-Sıvı bazlı sitoloji(LBC)" yöntemleri (Thin Prep®, Cytyc Corp.(TP) ve Liqui Prep ™ System(LP) ile hazırlanmış ve preparatlar Papanicolau (PAP) ile boyanmıştır. Sitolojik sınıflama için Bethesda sistemi kullanılmıştır. Çalışmada; "Negatif" intraepitelyal lezyon veya malignansi açısından anormal herhangibir şey saptanmayan, "Pozitif" ise "Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), "Atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H), "Low-grade squamous intraepithelial lesion"(LSIL) ve "High-grade squamous intraepithelial lesion"(HSIL) saptanan hastalar için kullanılmıştır.
Standart preparatların hazırlanmasından sonra, geri kalan örnekler moleküler mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir.
Bu örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu(PZR)testi iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle tarama testi niteliğinde HPV'ye özgü GM11(13 primer miks) ve GM09(5 primer miks) kullanılarak PZR testi çalışılmıştır. %2'lik agaroz jel elektroforezi çalışıldığında 650 baz çifti civarında bant veren örnekler HPV pozitif olarak kabul edilmiştir. Tiplendirme çalışmasında yöntem olarak kullanılan DNA dizi analizi Megabase 750 cihazında gerçekleştirilmiştir. PZR testi ile pozitif olarak saptanan örneklerde DNA dizi analizi ile tiplendirme HP5 ve HP6 primerleri ile çalışılmıştır. HPV negatif olarak saptanan örneklerde ise HP3 ve HP4 primerleri ile nested PZR çalışılarak kontrol edilmiştir. Her iki aşamada da negatif saptanan örneklerde DNA izolasyonu internal kontrol olarak beta globin primerleriyle kontrol edilmiştir.
Bulgular
Toplam 1014 sıvı bazlı/thin prep incelenmiştir. Örnekler sitoloji sonuçlarına göre sınıflandırılmışlardır. 1014 örneğin 459(%45)'i sitolojik olarak negatif, 369(%36.4)'sı ASC-US, 3(%0.3)'ü ASC-H, 170(%16.8)'i LSIL ve 13(% 1.3)'ü de HSIL olarak sınıflandırılmıştır.
Toplam olarak 733(71.8%) örnekte PZR ile HPV pozitif olarak saptanmıştır: Sitolojik olarak normal bulunan 459 örneğin 308(%67.1)'i, 369 ASCUS saptanan örneğin 255(%69.1)'i, 3 ASC-H saptanan örneğin 1(%33)'ü, 180 LSIL saptanan örneğin 166(92.2%)'si, 13 HSIL saptanan örneğin 12(92.3%)'si pozitiftir.
Pozitif olarak saptanan 733 örneğin 730(%99.6)'sında moleküler yöntemlerle tiplendirme yapılabilirken 3(%0.4)'ünde yapılamamıştır.
En sık görülen HPV tipleri sırasıyla; 16, 6, 18, 31, 66 ve 56'dır. Bu tiplerin prevalansları ise yine sırasıyla %14.2, 8.7, 5.5, 4.5, 3.8 ve 3.3 'dür. Örneklerin 484(% 47.7)'sinde HPV DNA yüksek riskli, 74(% 7.3)'ünde orta ve 182 (%17.9)'unda düşük riskli gruplarda saptanmıştır. Yaşları 15-68 arasında olan kadınlar çalışmaya dahil edilmişlerdir.
Sonuç
HPV prevalansı ve tip dağılımı tüm dünyada rapor edilen sonuçlara benzemekle birlikte, çalışmamızda saptadığımız HPV prevalansı Türkiye'den daha önce bildirilen çalışmalara göre daha yüksektir. Bunun nedeni kullanılan yöntemler ve çalışmamıza aldığımız örneklerin öncelikle kadın doğum polikliniklerinde muayene olup kanser şüphesi olan hastalardan alınan örnekler olması ve bu örneklerin sitolojilerinin yüksek oranda anormal olarak saptanmasıdır.
Hastaların daha iyi bir şekilde rutin olarak taranması ve klinik yaklaşımın belirlenmesinde normal ve anormal thin prep incelemesi ile birlikte HPV saptanması ve genotiplendirmesinde PZR ve DNA dizi analizi yöntemi sitolojiyi tamamlayan etkili ve duyarlı bir yöntemdir.

Anahtar Kelimeler: Sitoloji, HPV DNA, genotip, polimeraz zincir reaksiyonu

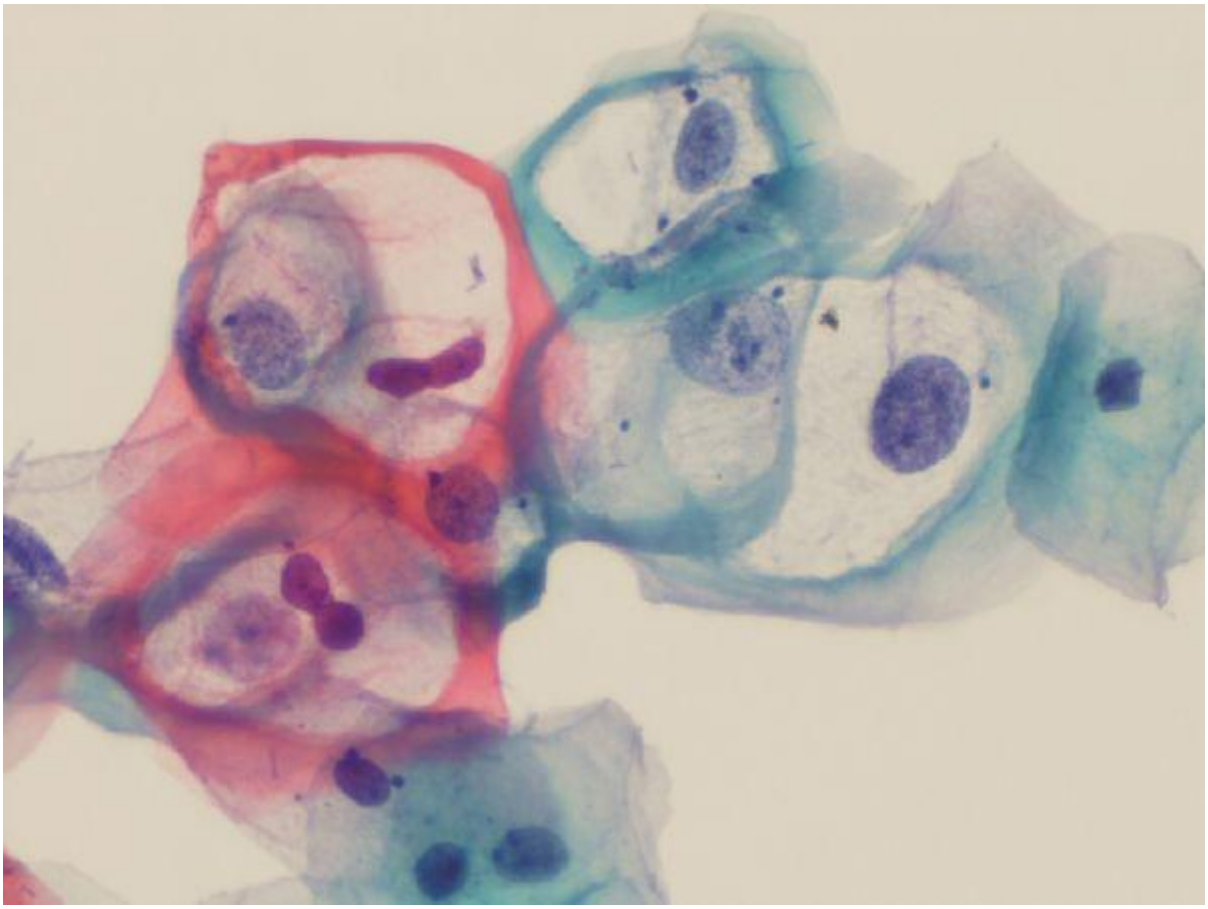
Atypical squamous cells cannot exclude HSIL(ASC-H)



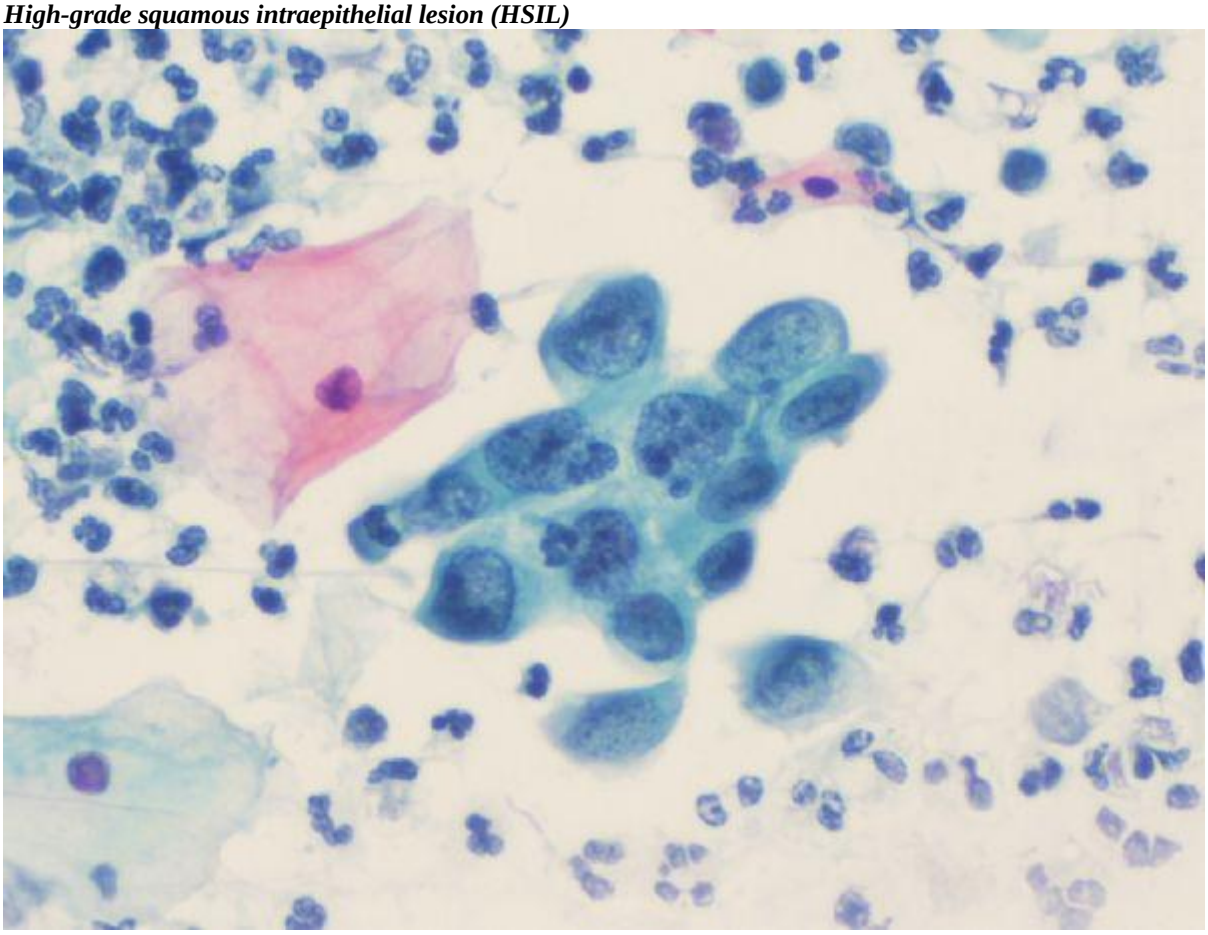
Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US)



Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)



High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)



Hp 3/4 nested PZR



GM 11/09 outer primerleri ile PZR



Sitolojik kategorilere göre HPV risk grupları

	NEGATİF n/(%)	ASC-US n(%)	ASC-H n(%)	LSIL n(%)	HSILn/(%)	Toplam n/(%)
HPV negatif	151(32.9)	114(31.1)	2(66.7)	14(8.2)	-	281(19.9)
Pozitif (tiplendirilememiş)	-	3(0.3)	-	-	-	3(0.3)
Yüksek risk	179(39.0)	171(46.7)	1(33.3)	121(71.2)	12(92.3)	484(47.7)
Orta risk	30(6.5)	22(6.0)	-	22(12.9)	-	74(7.3)
Düşük risk	99(21.6)	59(16.1)	-	23(13.5)	1(7.7)	182(17.9)
Toplam	459(45.0)	369(35.8)	3(0.3)	170(16.8)	13(1.3)	1014

Sitolojik kategorilere göre yüksek riskli HPV tipleri

HPV tipi(yüksek risk)	NEGATİF n(%)	ASC-Usn(%)	ASC-Hn(%)	LSILn(%)	HSILn(%)	Toplam n(%)
Tip 16	47(10.2)	48(13.0)	1(33.3)	41(24.1)	7(53.8)	144(14.2)
Tip 31	16(3.5)	20(5.4)	-	10(5.9)	-	46(9.5)
Tip 18	1(0.2)	17(4.9)	-	10(5.9)	1(7.7)	56(5.5)
Tip 56	6(1.3)	7(1.9)	-	10(5.9)	-	33(3.3)
Tip 51	4(0.8)	5(1.4)	-	10(5.9)	-	16(3.3)
Tip 53	7(1.5)	12(3.3)	-	8(4.7)	-	26(2.6)
Tip 52	9(2.0)	3(0.8)	-	3(1.8)	1(7.7)	11(2.3)
Tip 45	6(1.3)	11(3.0)	-	4(2.4)	-	22(2.2)
Tip 62	9(2.0)	7(1.9)	-	5(2.9)	-	21(2.1)
Tip 58	6(1.3)	8(2.2)	-	5(2.9)	1(7.7)	20(2.0)
Tip 59	9(2.0)	5(1.4)	-	4(2.4)	-	18(1.8)
Tip 67	6(1.3)	6(1.6)	-	4(2.4)	-	16(1.6)
Tip 35	5(1.1)	6(1.6)	-	1(0.6)	-	12(1.2)
Tip 73	7(1.5)	3(0.8)	-	1(0.6)	1(7.7)	12(1.2)
Tip 33	2(0.4)	4(1.1)	-	3(1.8)	-	9(0.9)
Tip 39	3(0.6)	4(1.1)	-	2(1.2)	-	9(0.9)
Tip 68	5(1.1)	2(0.5)	-	-	-	7(0.7)
Tip 82	1(0.2)	2(0.5)	-	-	1(7.7)	4(0.4)
Tip 86	1(0.2)	1(0.3)	-	-	-	2(0.2)
Toplam n/(%)	179(37.0)	171(35.3)	1(0.2)	121(25)	12(2.5)	484

Sitolojik tanısal kategorilere göre HPV DNA Analizi

HPV DNA analizi	Sitolojik Tanısal Kategori		
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)	Toplam n(%)
Negatif	151(14.9)	130(12.8)	281(27.7)
Pozitif	308(30.4)	425(41.9)	733(72.3)