

YABANCI YAYINLARDAN ÖZETLER

Klinik Laboratuvarıda Karbapeneme Duyarlı Metallo- β -laktamaz Üreten Gram Negatif Basillerin Fenotipik Olarak Saptanması.

Franklin C, Liolios L, Peleg AY. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. J Clin Microbiol 2006, 44: 3139-44.

Karbapenemlerin klinik kullanımı, kazanılmış karbapenemazların özellikle de Ambler sınıf B metallo- β -laktamazların (MBL'ler) ortaya çıkışıyla tehdit altındadır. Bu enzimlerin varlığı aztreonam dışında tüm β -laktamlara yüksek düzey dirençle ilişkilidir. Özellikle *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp* ve *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerde IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM olmak üzere 5 enzim tipi tanımlanmıştır. Kazanılmış MBL genlerinin plazmid veya transpozonlar gibi mobil genetik elemanlarda yerleşik integronlarda yer alması yaygınlaşmalarını kolaylaştırmaktadır. MBL üreten organizmaların erken saptanması organizmanın yayılımının önlenmesi için enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması açısından önem taşımaktadır. MBL üreten mikroorganizmalar genellikle karbapenem dirençli fenotip göstermezler. MBL'lerin PCR ile saptanması güvenilir bir yöntem olmakla birlikte, rutin laboratuvarıda kullanımı sınırlıdır. MBL'lerin saptanmasında moleküler olmayan pek çok yöntem denenmiştir. Ancak, fenotipik testlerin karbapeneme duyarlı, MBL-taşıyan izolatlarda duyarlılığı düşüktür. Bugüne kadar, hem karbapeneme duyarlı hem de dirençli MBL-pozitif izolatlarda duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir metod geliştirilememiştir. Bu çalışmada, tek bir agar plağında imipenem (10 μ g) diski ile 292 μ g EDTA içeren imipenem (10 μ g) diskinin kullanıldığı kombine disk testi ve imipenem (10 μ g) diski ile 292 μ g EDTA diskinin kullanıldığı çift disk sinerji testinden oluşan bir fenotipik MBL saptama yöntemi tasarlanmıştır. Besiyeri olarak IsoSensitest agar tercih edilmiştir. Tüm izolatlara PCR uygulanarak MBL varlığı araştırılmıştır. PCR sonuçları altın standart olarak alındığında, klinik örneklerden izole edilen karbapeneme duyarlı ve dirençli, MBL-taşıyan farklı Gram negatif bakterilerde duyarlılığı %100, özgüllüğü %98 olan, basit ve ucuz bir fenotipik MBL saptama yöntemi ortaya konulmuştur.

Şehnaz ÖZYAVUZ ALP

Neisseria meningitidis'in Penisilin G Duyarlılığının Saptanmasında PCR-tabanlı Yöntemlerin Laboratuvarlar Arası Karşılaştırması.

Taha MK, Zarantonelli ML, Neri A, Enriquez R, Vazquez JA, Stefanelli P. Interlaboratory comparison of PCR-based methods for detection of penicillin G susceptibility in *Neisseria meningitidis*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 887-92.

Meningokokal enfeksiyonlarda, özellikle erken antibakteriyel tedavi sonrası kültür-negatif olgular sıktır. Kültür-negatif klinik örneklerde *Neisseria meningitidis*'in saptanmasında ve tanımlanmasında kullanılabilen moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler *N.meningitidis*'in tanımlanmasına ve

serogruplandırılmasına olanak sağlarken, meningokokların antibakteriyel duyarlılıklarına ilişkin bilgi verememektedir. İnvaziv meningokokal enfeksiyonlarda hastanın tedavisi ve hastayla teması olanların profilaksisinin bir an önce uygulanması için antibakteriyel duyarlılık konusunda erken bilgi edinilmesine gereksinim vardır. İnvaziv meningokokal enfeksiyonların tedavisinde ilk seçenek beta-laktam antibiyotiklerdir. Bununla birlikte, giderek artan sayıda meningokokal izolatlarda penisilin G'ye azalmış duyarlılık saptanmaktadır. Penisilin G'ye *N.meningitidis*'in azalmış duyarlılığı penisilin bağlayan protein 2 (PBP2)'deki değişiklikler nedeniyle. Bu değişiklikler *penA* geninin dizi analizi ile ortaya konabilmektedir. Bu çalışmada, *penA* genindeki polimorfizmin saptanmasında üç hızlı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntem, *penA* geninin 511 bp'lik parçasını amplifiye eder ve ardından RFLP analizi ile *penA*'daki değişiklikleri ortaya koyarak penisilin G'ye azalmış duyarlılığı belirler. İkinci yöntem, penisiline duyarlı ve penisiline azalmış duyarlılık gösteren izolatlar arasındaki farklı erime sıcaklıklarını *penA*'daki değişikliklerin bir göstergesi olarak kullanarak *penA* genindeki değişikliği saptayan real-time PCR yöntemidir. Üçüncü yöntem, *penA* geninde değişiklik yoksa pozitif PCR sonucu vermek üzere tasarlanmış primerlerin kullanıldığı PCR yöntemidir ki, bu durumda izolat penisilin G'ye duyarlı olarak yorumlanır. Çalışmada, 13 klinik örnek ve bu örneklerin kültürlerinde üretilmiş 13 *N.meningitidis* suşunun penisilin G'ye duyarlılığının belirlenmesinde "European Monitoring Group on Meningococci (EMGM)" üyesi üç farklı laboratuvarında uygulanan moleküler yöntemlerin ve bakterilerin sekans analizi verilerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Kültürde üretilen bakterilerde kullanılan PCR-tabanlı hızlı üç yöntemin birbirleriyle uyum içinde olduğu ve bakterilerin sekans verileriyle de tam bir uyum gösterdiği saptanmıştır. Aynı derecede uyum, klinik örneklerde *penA* geninin PCR tabanlı RFLP ve real-time PCR ile oligonükleotid termal analiz yöntemleriyle elde edilmiştir. Uygulanan moleküler yöntemlerin başarısına rağmen, meningokokal hastalık tanısında kültür dışı yöntemlerin konvansiyonel yöntemlerle birlikte kullanılmaları gerektiği belirtilmiştir. Kültürde üretilen bakteriler meningokokal enfeksiyonların patogenezi hakkında bilgi sahibi olunabilmesinde önemli bir kaynak olduğu için kültür dışı yöntemlerin bu açıdan kültürün yerini dolduramayacağı vurgulanmıştır.

ŞEHNAZ ALP

***Staphylococcus aureus* Boğaz Kolonizasyonu Burundaki Kolonizasyondan Daha Sık Görülmektedir.**

Nilsson P, Ripa T: *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. J Clin Microbiol 2006; 44: 3334-9.

Bu çalışmada, *S.aureus* burun taşıyıcılığı ile ilişkili olarak boğazdaki taşıyıcılığın sıklığını ve persistansını belirlemek amacıyla ortopedi bölümündeki 259 hastadan ve 87 personelden her iki bölgeden alınan sürüntü örnekleri çalışılmıştır. Zenginleştirilmiş besiyeri kullanılarak *S.aureus* için kültürleri yapılmış ve her iki grupta da taşıyıcılığın en sık boğazda olduğu saptanmıştır. Hastaların %40'ında ve personelin %54'ünde boğazda *S.aureus* pozitif olarak

saptanırken, burundaki oranlar sırasıyla %31 ve %36 olarak bulunmuştur. Boğaz taşıyıcılığı olanların yarısında, burundan alınan en az bir örnekte de kültür pozitifliği belirlenmiştir. Persistan taşıyıcılığı belirlemek amacıyla da, 67 kişiden 24 ay boyunca 5-10 kez (ortalama 7.8 kez) örnek alınmış ve her iki bölgedeki kültür sonuçları değerlendirildiğinde 39 (%58) kişide *S.aureus*'un persistan taşıyıcılığı saptanmıştır. Bu 39 kişiden 15'inde sadece boğaz taşıyıcılığı varken, ikisinde (%5) sadece burun taşıyıcılığı olduğu görülmüştür. *S.aureus* izolatlarının "Pulsed Field" jel elektroforezi ile tiplendirmesi yapıldığında, bu kişilerde zaman içerisinde aynı suşun taşıyıcılığının devam ettiği izlenmiş ve boğazdaki persistansın en az burundaki taşıyıcılık kadar fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, *S.aureus* taşıyıcılığını tanımlamada boğazın da incelenmesi uygun görünmektedir.

Server YAĞCI

Pankreas Kanseri Olan Hastaların Pankreas, Mide ve Duodenum Dokularında *Helicobacter* Türlerinin Ribosomal DNA'sının Araştırılması.

Nilsson HO, Stenram U, Ihse I, Wadström T. *Helicobacter* species ribosomal DNA in the pancreas, stomach and duodenum of pancreatic cancer patients. World J Gastroenterol 2006; 12: 3038-43.

Günümüzde yirmi tane *Helicobacter* türü tanımlanmıştır. Bunlar içinde en sık *H.pylori* insanda gastrit, peptik ülser, gastrik adenokanser ve MALT lenfoma etkeni olarak bilinmektedir. Son yıllarda safraya dirençli bazı *H.pylori* suşlarının ve diğer enterohepatik bazı *Helicobacter* türlerinin karaciğer, safra yolları ve pankreas ile ilgili hastalıkların patogeneziindeki rolleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada da, gastrik ve enterohepatik *Helicobacter* türlerinin pankreas kanseri ile ilişkili olup olmadığını araştırılmıştır. Ekzokrin pankreas kanseri (40), nöroendokrin kanser (14), multiple endokrin neoplazi tip 1 (8) ve kronik pankreatit (5) hastaları çalışma grubuna dahil edilmiştir. Kontrol grubuna ise, benign pankreas hastalığı (10) ve başka bir nedenle ameliyat edilen hastaların normal pankreas dokusu (7) alınmıştır. Pankreas kanseri olan hastaların 41'inden normal pankreas dokusundan, 13'ünden atrofik pankreas dokusundan, 27'sinden mide/duodenum dokusundan, 18'inden safra kesesinden ve 8'inden safra kesesinden örnekler alınmıştır. Alınan biyopsi örnekleri patoloji laboratuvarında incelendikten sonra mikrobiyoloji laboratuvarında değerlendirilmiştir. Deparafinizasyon ve DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra *Helicobacter* cinsine özgül PCR gerçekleştirilmiş, PCR ürünleri DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ile tespit edilmiştir. Jelden saflaştırılan nükleik asitlere DNA sekans analizi uygulanmıştır. Ayrıca barsak dokusundan translokasyon olup olmadığını anlamak için *Bacteroides*' e özgü PCR da yapılmıştır. Pankreasın normal ve/veya atrofik dokusu da dahil olmak üzere, ekzokrin pankreas kanserli hastaların %75'inde, nöroendokrin kanseri olanların %57'sinde, multiple endokrin neoplazi tip 1'li hastaların %38'inde ve kronik pankreatiti olan hastaların %60'ında *Helicobacter* PCR pozitifliği saptanmıştır. Mide/duodenumdan alınan örneklerin %33'ünde *Helicobacter* PCR'ı pozitif bulunmuş; bu örneklerin

%60'ında *H.bilis* tanımlanmıştır. Kontrol grubundan alınan örneklerin, safra kesesi ve koledok kanalından alınan örneklerin hepsinin *Helicobacter* cinse özgül PCR'ı negatif olarak belirlenmiştir. Pankreas dokusunda bakılan *Bacteroides*'e özgül PCR sonuçları da negatif bulunmuştur. Tür düzeyinde tanımlama yapıldığında 7 normal pankreas dokusunda, 6 atrofik pankreas dokusunda, 12 pankreas tümör dokusunda, 2 kronik pankreatit dokusunda, 2 mide/duodenum dokusunda *H.pylori*; 6 mide/duodenum dokusunda *H.bilis*; 2 kronik pankreatit dokusunda *H.hepaticus*; 7 pankreas tümör dokusunda *H. sp. flexispira* ve 2 pankreas tümör dokusunda *H. cineadi* tanımlanmıştır. Tümörlü hastaların mide/duodenum dokularında *Helicobacter* pozitifliğinin düşük olması, operasyon öncesi metronidazol kullanmalarına bağlanmıştır. Pankreas dokusunda PCR pozitif bulunan pek çok hastanın mide/duodenum dokusunda PCR negatif bulunmasının ya da her iki dokuda farklı *Helicobacter* türlerinin tanımlanmasının, mideden pankreasa migrasyon olmadığını gösterdiği ifade edilmektedir. Barsak florasının önemli bir elemanı olan *Bacteroides* için yapılan PCR'da hiçbir örneğin pozitif bulunmaması ise, barsaktan pankreasa translokasyon olmadığını göstermektedir. Sonuç olarak *Helicobacter* cinse özgül PCR, kontrol grubunda negatif bulunurken pankreas kanseri olan hastalarda yüksek oranda pozitif bulunmuş ve bu bakterilerin etiyolojideki rollerini ortaya koymak için daha ileri çalışmaların gerektiği vurgulanmıştır.

Olcay ÖZÇAKIR

Kistik Fibrozis Hastalarında *Staphylococcus aureus* Küçük Koloni Varyantlarının Prevalansı ve Klinik Önemi.

Besier S, Smaczny C, von Mallinckrodt C, et al. Prevalence and clinical significance of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis lung disease. J Clin Microbiol 2007; 45: 168-72.

Staphylococcus aureus, kistik fibrozisli hastaların kronik olarak enfekte olan solunum yollarından izole edilebilmektedir. Bu yavaş üreyen morfolojik varyantlar ile persistan ve antibiyotiğe dirençli enfeksiyonlar (osteomyelit gibi) arasında ilişki kurulabilmektedir, ancak bu özel fenotipin kistik fibrozisdeki klinik önemi ile ilgili bir bilgi yoktur. Bu yüzden bu çalışmada, kistik fibrozis hastalarındaki küçük koloni varyantlarının prevalansı 12 aylık bir prospektif çalışmada araştırılmış ve mikrobiyolojik kültür sonuçları, hastaların klinik verileri ile karşılaştırılmıştır. *S.aureus* taşıyıcıları arasında prevalans %17 olarak bulunmuştur. Küçük koloni varyantı olan *S.aureus* izolatları, normal fenotipi olanlara göre önemli derecede daha yüksek antibiyotik direnci göstermişlerdir. Küçük koloni varyantı pozitif olan hastaların, normal fenotip *S.aureus* taşıyan hastalara göre önemli derecede daha yaşlı olduğu ($p=0.0099$), *Pseudomonas aeruginosa* ile daha sık kolonize oldukları ($p=0.0454$) ve hastalık semptomlarının daha ciddi olduğu (örn. 1 sn.deki zorlu ekspirasyon hacmi daha düşük) ($p=0.0148$) belirlenmiştir. Lojistik regresyon modeli ile yapılan değerlendirmede, düşük kilonun ($p=0.016$), ilerlemiş yaşın ($p=0.000$) ve trimetropim-sülfometoksazol profilaksisinin ($p=0.002$) *S.aureus* küçük koloni varyantı pozitifliğinde bağımsız

risk faktörleri olduğu saptanmıştır. Kistik fibrozis hastalarının klinik durumlarının birden çok parametre tarafından etkilendiği bilinmektedir. Bununla birlikte, burada gösterilen bağımsız risk faktörleri *S.aureus* küçük koloni varyantlarının ilerlemiş kistik fibrozis hastalığındaki kronik ve persistan enfeksiyonlara olan etkisine dikkat çekmektedir.

Emrah RUH

İdrar Örnekleri Dahil Olmak Üzere 9.558 Akciğer Dışı Örnekten Mikobakteri İzolasyonu İçin BACTEC Mikobakteri Üreme İndikatör Tüp 960 Otomatize Sisteminin Kullanımı.

Hillemann D, Richter E, Rüşch-Gerdes S. Use of the BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 Automated System for recovery of Mycobacteria from 9.558 extrapulmonary specimens, including urine samples. J Clin Microbiol 2006; 44: 4014-7.

Bu çalışmada, akciğer dışı örneklerden mikobakterilerin izole edilebilmesi için BACTEC Mikobakteri Üreme İndikatör Tüp 960 (MGIT 960) sistemi uygulanmış ve katı besiyerleri (Lowenstein-Jensen ve Stone-brink) ile karşılaştırılmıştır. Çalışmaya 3074 vücut sıvısı, 1878 doku ve 2069 idrar örneği de dahil olmak üzere, henüz MGIT 960 sisteminde çalışılmamış toplam 9.558 örnek alınmıştır. Bu yöntem ile 494 *Mycobacterium tuberculosis* kompleksinin 446'sı (%90.3) ve 259 atipik mikobakterinin 223'ü (%86) saptanabilmiştir. Buna karşılık katı besiyerlerinde, *M.tuberculosis* izolatlarının 358'i (%72.6) ve atipik mikobakteri izolatlarının 164'ü (%66.8) üretilenmiştir. *M.tuberculosis* izolatlarından 136'sı (%27.6) ve atipik mikobakterilerin 95'i (%19.2) sadece MGIT 960 sisteminden izole edilebilirken, *M.tuberculosis* izolatlarının 48'i (%9.7) ve atipik mikobakterilerin 36'sı (%13.9) sadece katı besiyerlerinde üremiştir. Böylece, akciğer dışı örneklerden mikobakteri izolasyonunda MGIT 960 sistemi ve katı besiyerleri için duyarlılık oranları sırasıyla %88.8 ve %69.3 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, MGIT 960 sisteminin etkinliğinin ancak ek olarak katı besiyerlerinde kültür yapılmasıyla artırılabilceği belirtilmektedir.

Emrah RUH

***Pneumocystis carinii*'ye Karşı Konak Yanıtında Gerekli Olan Dectin-1, *Candida albicans*'a Karşı Yanıtta Gerekli Değildir.**

Saijo S, Fujikado N, Furuta T, et al. Dectin-1 is required for host defense against *Pneumocystis carinii* but not against *Candida albicans*. Nat Immunol 2007; 8: 39-46.

Dectin-1, maya ve küf mantarlarının hücre duvarında bulunan ve bağışıklık sistemi aktivasyonunu tetikleyebilen beta 1,3 ve beta 1,6 glukanlarını tanıyan bir C tipi lektindir. Bu makalede, *Candida albicans* ve *Pneumocystis carinii*'nin konak tarafından tanınmasında ve gerekli bağışık yanıtın başlatılmasında önemli olduğu düşünülen dectin-1 molekülünün bu enfeksiyonlardaki rolleri araştırılmıştır. Bu amaçla, dectin-1 molekülünü kodlayan genleri silinmiş olan

dectin-1 “knock out” fareler ve dectin-1 kodlayan gene sahip dectin-1 “WT” fareler kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, önemli bağışık yanıt modölatörü olan beta 1,3 ve 1,6 glukanların tek reseptörlerinin dectin-1 olduğu gösterilmiştir. Stimüle edilmiş makrofajlardan ve dendritik hücrelerden reaktif oksijen radikallerinin salgılanması ve kemik iliğinden dendritik hücre olgunlaşması açısından da dectin-1’in önem taşıdığı belirlenmiştir. Yapılan in vitro ve in vivo deneyler sonucunda, *P.carinii* ile enfeksiyon sonrasında doğal bağışıklığın tetiklenmesi açısından önem taşıdığı ispatlanan dectin-1 adaptör molekülünün, *C.albicans*’ın tanınmasında ve takiben doğal bağışıklığın tetiklenmesinde aynı şekilde rol oynamadığı ortaya çıkarılmıştır. Araştırmacılar, *P.carinii* bağışıklığının baskılanmış olduğu durumlarda bile dectin-1 tarafından doğal bağışıklığın tetiklenebilmesinin önemli olduğunu vurgularken, *C.albicans*’ın aynı yolu direk olarak kullanamıyor olmasını, duvar yapısındaki beta glukan yerleşimi ve bu yerleşim nedeniyle dectin-1 reseptörü ile kısıtlı bağlantı kuruyor olması ile ilişkilendirmişlerdir.

Pınar YURDAKUL