

# İnşaat-Yıkım-Yenileme İşlemleri ve Hastane İnfeksiyonları: Bir Rehber Önerisi: Mikrobiyolojik İncelemeler

Dr. Mine YÜCESOY\*

\* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

Son yıllarda özellikle hastane kökenli *Aspergillus* infeksiyonlarının insidansı dramatik olarak artmakta ve de temel ve önemli bir klinik sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Bu durumun birçok nedeni söz konusudur, şöyle ki; bu hastalıklar için risk altında bulunan popülasyon, immünsüprese hastaların artmasına bağlı olarak artmakta ve de özellikle yoğun bakım hastalarında aspergilloz mortalitesi %80'leri bulmaktadır (2). Bunun yanında, invaziv aspergillozun tanısı zor olup, uzun ve pahalı tedavi gerektirmesi nedeniyle ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır (3). Bu bağlamda düşünüldüğünde hastane kökenli *Aspergillus* infeksiyonlarının epidemiyolojik izlemi ve bu infeksiyondan korunma önlemleri büyük önem taşımaktadır.

Hastane kökenli aspergillozun genel olarak hava yolu ile bulaştığı, havadaki *Aspergillus* sporlarının infeksiyon açısından önemli olduğu ve genellikle hava filtre veya havalandırma sistemlerinde bir sorun olduğunda infeksiyonların ortaya çıktığı bilinmektedir (1,4-7). Konidya inhalasyon kaynakları olarak; doğa, hava kanalları ve diğer yerlerdeki tozlar, ziyaretçi ve sağlık personelinin giysileri, yiyecekler, kişisel ve tıbbi ma-

teryaller belirtilmiştir (1,6,8). Baharatlar, meyve, çiçek ve toprak gibi maddelerin de önemli kaynak oluşturdukları, toprakta 50 koloni oluşturan birim (kob)/mL'nin üzerinde *Aspergillus fumigatus* bulunabildiği rapor edilmiştir (1,9). Postoperatif aspergilloz olgularının büyük bir çoğunluğunda spor kaynağının cerrahi sırasındaki ameliyathane havası olduğu saptanmıştır (10). Bunun yanında hastane ortamında bulunan inşaat, yıkım ve yenileme işlemlerinin de invaziv aspergilloz infeksiyonlarına yol açtığı, hatta buna bağlı salgınların ortaya çıktığı bildirilmiştir (6,11). İnşaat, yıkım ve yenileme işlemlerinin havadaki fungal spor miktarını dramatik olarak arttırdığı ve sonuçta duyarlı kişilerde *Aspergillus* infeksiyon riskini arttırdığının gösterildiği saptanmıştır (7,12). Yine bu fungal infeksiyon için hastane sularının da potansiyel kaynak olduğu ve buradan ortaya çıkan konidyalardan hava yolu ile infeksiyona yol açtığı belirtilmiştir (6,13,14). Öte yandan, *Aspergillus* ve diğer küfler için bağırsaklar ve deri gibi farklı giriş yolları olabileceği bildirilmiştir (14).

Hastane kökenli *Aspergillus* infeksiyonlarının etkenleri arasında sırası değişebilmekle birlikte *A. fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* yer almaktadır (6,7, 14,15).

Bu infeksiyonların izleminde mikrobiyolojik incelemelerin ayrı bir yeri bulunmaktadır. "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)", sağlık kuruluşlarında çevreden rastgele, hedefsiz mikrobiyolojik örnekleme yapılmaması gerektiğini, uygun olduğunda epidemiyolojik araştırmanın bir parçası olarak veya çevre kirliliğini

araştırmada kontaminasyonu saptamak ve çevre kirliliğinin azaldığını doğrulamak amacıyla yapılabileceğini belirtmiştir. Yine aynı kurum, mikrobiyolojik örnekleme kalite güvencesi amacıyla sınırlandırılması gerektiğini ve bunlardan enfeksiyon kontrol ölçümleri veya enfeksiyon kontrol protokollerindeki değişikliklerin etkisinin kısa dönem değerlendirilmesinin önemli olduğunu rapor etmiştir (16).

Streifel, kontrollü çevrede fungusların miktarının belirlenerek normal kontrolsüz çevre ile karşılaştırılması gerektiğini, ancak bunun rutin bir işlem olarak önerilmediğini ve aşağıdaki durumlarda yapılmasının uygun olacağını belirtmiştir (17):

1. Hastane enfeksiyonları çevre-hava kökenli bir fungusla bağlı olarak ortaya çıktığında,
2. Duyarlı hastalara yakın mesafede iç ve dış inşaat varlığında,
3. Özel kontrollü alanların kullanımından önce,
4. En temiz hava kalitesinin sağlanması ve devamı için gereken işlemlerin yapıldığı durumlarda.

Filtrasyon sistemlerinin pozitif basınç sistemlerinin incelenmesi, dışarıdan oluşan kaçakların belirlenmesi ve fungal sporların kaynağının saptanması için dışarıya veya kontrolsüz alanlara komşu kontrollü alanlardan sırasıyla örnekleme yapılır (17). Cooper ve arkadaşları, hastanedeki yıkım ve inşaat işlemleri açısından inceleme yapabilmek için, hava örneklerini işlem başlamadan önce, işlem sırasında haftada bir olarak ve gündüz işlem esnasında ve de işlem bittikten bir hafta sonra almışlardır (18). Ayrıca aynı çalışmada, yıkım ve inşaat alanlarından örnek alırken yüksek hacimli ve çevre örnekleme ile birlikte yapılmasının fungal sporların saptanmasını arttıracığı bildirilmiş ve etkinliğin değerlendirilmesi açısından hem bu alanlardan hem de bu alanların dışından örnek alınması gerektiği vurgulanmıştır (18). Bizim hastanemizde bir-iki hafta sürecek küçük inşaatlar için inşaat başlamadan önceki üç gün içinde, inşaat başladıktan üç gün sonra, inşaat bittikten üç gün sonra; iki haftadan daha uzun sürecek inşaatlar için inşaat başlamadan önceki üç gün içinde, inşaat başladıktan üç gün sonra, inşaat esnasında ayda bir ve inşaat bittikten üç gün sonra hava örnekleri alınmaktadır.

Hastane kökenli aspergilloz olgularının insidansı arttığı zaman inceleme başlanmakta, ancak enfeksiyon dönemindeki spor miktarında bir artış saptanamayabilmektedir. Bu açıdan, hava-

nın kontrolü yanında çevreden sürüntü örnekleri de alınmalı ve yere inen sporlar da bu şekilde saptanmaya çalışılmalıdır (7). Heinemann ve arkadaşları yüzeylerden örnek alınmanın özellikle spor sayısının örnek başına 1000 kob'dan az olduğu durumlarda daha yararlı olduğunu belirtmişlerdir (19). Bir başka çalışmada ise *Aspergillus* miktarının 10-15 kob/mL olduğu durumlarda çevre sürüntü kültürleri de alınmıştır (18). Yine hava örneklemeinde çok fazla miktarda benzer organizmaların soyutlanması durumunda yüzey örnekleme önerilmektedir (17).

## HAVA ÖRNEKLEMESİ

Hava ölçümlerinde, düşük düzey kontaminasyonu da inceleyebilmek için büyük miktarlarda hacimde (> 1000 L) ölçüm yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (7). Örnekleme yapılacak hava hacminin kuşku bölgedeki tahmin edilen fungus sayısına göre ayarlanması gerektiği bildirilmektedir. Örnek miktarı hava temiz olduğunda alt sınırları saptayabilecek, hava kirli olduğunda ise üst sınırı kantitatif saptayabilecek düzeyde olmalıdır (17). Mikrobiyolojik hava örneklemede kullanılan yöntemler dört gruba ayrılabilir (17,20,21):

1. Koloni sayım yöntemleri: Bunlar metreküp başına düşen koloni oluşturan birim (kob/m<sup>3</sup>) değerini verir.

a. Pasif hava örnekleme (plak açma-sedimentasyon) yöntemi,

b. Aktif hava örnekleme yöntemleri ile örnekleme.

2. Kimyasal bileşenlerin ölçümü,

3. Sayım yöntemi,

4. Partikül sayımı.

### 1. Koloni Sayım Yöntemleri

a. **Pasif hava örnekleme (plak açma-sedimentasyon) yöntemi:** İlk olarak Louis Pasteur sonra da Robert Koch tarafından kullanılan bu yöntemde, katı besiyeri içeren petri kutuları belirli bir süre açık bırakılır. Mikroorganizma taşıyan partiküllerin besiyeri yüzeyine ortalama 0.46 cm/saniye hızla çöktüğü bildirilmiştir (21). Plaklar 36 ± 1°C'de inkübe edilir. Besiyeri yüzeyinde, havadaki mikrobiyal düzeyleriyle orantılı sayıda koloni üremesi olur. Bu yöntemin avantajlarının; ucuz ve kolay uygulanabilir olması, steril olması, aynı anda farklı yerlerden birçok örneğin alınabilmesi, kritik yüzeylerle ilgili anlamlı sonuçlar vermesi, sonuçlarının karşılaştırılabilir, geçerli

ve güvenilir olması, havalandırmanın etkilenmesi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu yöntemin havada asılı mikroorganizmaların ölçüldüğü aktif örnekleyicilere göre yara ve aletler üzerine düşen mikroorganizmaları daha gerçekçi bir şekilde belirlediği rapor edilmiştir. Yöntemde örneklenen hava hacminin bilinmemesi, bu açıdan kantitatif sonuçlar yerine kalitatif sonuç vermesi, partikül şekli ve büyüklüğünden etkilenmesi, daha çok büyük partikülleri toplaması, örnek toplamak için gerekli zamanın standart olmaması (15 dakika-1 saat), resmi kılavuzlar tarafından her zaman kabul edilmemesi ise dezavantajlarını oluşturmaktadır (7,21). Bu yöntemin değerlendirilmesinde tam geçerli bir matematik formülü bulunamamakla birlikte, genelde mikrobiyal hava kontaminasyon indeksi (IMA) kullanılmaktadır. Buna göre; 9 cm'lik petri kabı yerden 1 m yüksekte, duvarlar ve diğer fiziksel engellerden 1 m uzaklıkta açık tutulur (1/1/1).  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyondan sonra elde edilen koloni sayısı (kob/saat) IMA değerini verir.

Bu yöntemde sonuçlar saatte  $\text{dm}^2$ 'ye düşen mikroorganizma sayısı olarak da ifade edilebilir. Buna göre (22);

$$\text{kob/dm}^2/\text{saat} = k \times a/p \times h$$

**k:** Besiyerinde sayılan koloni sayısı,

**a:** Petri kutusundaki  $\text{dm}^2$  olarak besiyeri yüzeyi,

**p:** Açık bırakılan petri kutusu sayısı,

**h:** Saat olarak besiyerinin açık bırakıldığı süre.

Sonuçlar  $\text{kob/m}^2/\text{dakika}$  olarak verilecekse, a yerine 155 sayısı (9 cm çaplı petri kutusundaki besiyeri yüzeyinin  $1/155 \text{ m}^2$  olması nedeniyle) koyulur ve h yerine de süre dakika olarak yazılarak aynı formül uygulanır (22).

#### **b. Aktif hava örnekleyicileri ile örnekleme:**

Bu örnekleyiciler, farklı tekniklerle belirli bir miktar havayı toplayıp, besiyeri üzerine püskürtür. Aktif hava örnekleyici tipleri ve örnekleri Tablo 1'de görülmektedir (17,21).

### **2. Kimyasal Bileşenlerin Ölçümü**

Bu yöntemde  $1\text{m}^3$  havada bulunan mikroorganizma hücrelerinin kimyasal bileşenlerinin ölçümü söz konusudur. ATP, DNA, enzimler vb. kimyasal bileşenlerin ölçümünün duyarlılığı düşüktür (21).

### **3. Sayım Yöntemi**

Mikroskop veya flow sitometri ile sayım yapılabilir. Bu yöntemin kullanımı kısıtlıdır (21).

### **4. Partikül Sayımı**

Çok kanallı taşınabilir modelleri olup, partiküllerin büyüklüğüne göre sayım yapılabilir. Örnek olarak lazer partikül sayıcılar (met one laser particle counter) verilebilir (15). Partikül sayımı yönteminin özellikle fungal kültürlerle karşılaştırıldığında çok hızlı sonuç verdiği ve acil önlem alınmasına olanak sağladığı bildirilmiştir (23).

Kocazeybek ve arkadaşları ameliyathane örnekleme için sedimentasyon, partikül sayım yöntemi ve filtreli örnekleyicilerle hava emme yöntemini karşılaştırmış ve yöntemlerin paralel sonuçlar verdiğini, ancak partikül sayım yönteminin diğer iki yöntemle göre zaman açısından daha avantajlı olduğu sonucuna varmışlardır (22). Cooper ve arkadaşları, vuruşlu-elekli ve santrifüjlü örnekleme sistemlerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, iki sistem arasında orta dereceli bir uyum saptamış ve her ikisinin de çevredeki  $4 \mu\text{m}$ 'nin altındaki sporları belirleyebildiğini bildirerek, çalışmanın özellikle santrifüjlü örnekleyiciyi değerlendirmek açısından fungal kontaminasyonun yüksek olduğu durumlarda da yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (18).

İşlemler için kullanılabilecek besiyerlerinin inhibitör küf agar, "rose bengal" agar, triptikez soy agar, beyin-kalp infüzyon agar veya "saboraud dekstroz agar (SDA)" olabileceği bildirilmiştir (17,20).

### **SU ÖRNEKLEMESİ**

Su örneklerinin fazla miktarlarda (en az bir litre) sodyum tiyosülfat (0.8 mL %3'lük) içeren şişelere alınması ve  $0.45 \mu\text{m}$  (veya  $0.22 \mu\text{m}$ )'lik selüloz filtrelerden geçirildikten sonra filtrelerin agar yüzeyine (örneğin; antibiyotikli SDA'ya) yerleştirilmesi uygun olacaktır (14,20).

### **YÜZEY ÖRNEKLEMESİ**

Yüzey örnekleri çeşitli çalışmalarda yüzeye göre değişmek üzere plak değdirme yöntemi veya eküvyonlar ile sürüntü şeklinde örnekleştirilmiştir (9,14). Yapılan bir çalışmada çevre ve su dağıtım sistemi örnekleri, duşların iç ve dış kısımları ve lavabo örnekleri, stetoskop yüzeyleri, dereceler, perdeler, tuvalet oturma yerleri ve içleri eküvyonlar ile düz yüzeylerin  $25 \text{cm}^2$ 'lik alanına sürülerek transport besiyerine alınmış ve antibiyotikli SDA'ya ekilmiştir (14).

**Tablo 1. Aktif Hava Örnekleyici Tipleri.**

<p><b>1. “Impinger” (çarpırtmalı):</b> Hava sıvı besiyerinden teğet geçerken partiküller sıvı besiyerine düşer. Sıvı besiyeri agarlı besiyeri ile karıştırılarak, inkübe edilir. Düşük hacimlerde örnekleme yaptığı ve canlı partikülleri bozduğu için kullanımları hayvan kümesleri gibi yüksek miktarda mikroorganizma bulunan ortamlarla kısıtlıdır. Klinik dışı örnekler için uygundur. En bilinen modelleri “All-Glass Impinger”, “Midget Impinger” ve “Folin Bubbler”dir.</p> <p><b>2. “Impactor” (vuruşlu)</b></p> <p><b>a. Slit (aralıklı) tip:</b> Üzerinde standart boyuttaki petri kutularının konulduğu dönen bir disk bulunur. Etkili partikül toplayıcıları olup, elekli tip cihazlara göre daha hızlı örnekleme yapabilir, ancak partikülleri ayıramaz. Dakikada 25 m<sup>3</sup>'e kadar hava toplayabildiği için örnek alma işlemi dakikalar içinde tamamlanır. Sporların yüksek konsantrasyonda bulunmaları durumunda etkindir. Fungal sporların yüksek konsantrasyonda bulunmaları halinde duyarlılık kısıtlıdır. En bilinen modelleri “Casella Single Slit”, “Mattson-Garvin Air Sampler”, “New Brunswick STA Air Sampler”dir.</p> <p><b>b. Sieve (elekli) tip:</b> İçinden parçacıkların geçebileceği 200 veya 400 delikten oluşur ve aşağıya inildikçe delikler küçülür. Farklı büyüklüklerdeki parçacıklar agar yüzeyine çarpıtılabilir. Etkili partikül toplayıcıları olup, kantitatif sonuç verir ve de solunabilir (&lt; 5 µm) ve solunamayan (&gt; 5 µm) partikülleri ayırır. Dakikada 1 m<sup>3</sup> hava emdiği için çok temiz ortamlarda az miktarda sporu yakalayabilmek için süreyi uzatmak gerekebilir. Alet sessiz çalıştığı için uzun süreli örnek toplamalarda rahatsız edici olabilir. Sporların yüksek konsantrasyonda bulunmaları durumunda etkindir. En bilinen modelleri “Andersen”, “Ross-Microban Sieve Air Sampler” ve “System Air System Sampler”dir.</p> <p><b>3. Filtreli örnekleyiciler:</b> Emilen hava jelatin filtre üzerinden geçirilir ve jelatin filtre besiyeri üzerine yerleştirilerek inkübe edilir. Bu yöntem primer olarak hava kaynaklı mineraller ve solunan tozun değerlendirilmesi için kullanılır. Filtre kasetleri çok küçük ve de düşük miktarda (yaklaşık 1 L/dakika) örnekleme hızına sahip olduğundan canlı mikropların sayımı için uygun değildir. En bilinen örnekler “Milipore Membrane Filterfield Monitor”, “Gelman Membrane Filter Air Sampler”, “Sartorius MD8 Air Sampler”dir.</p> <p><b>4. Santrifüjli örnekleyiciler:</b> Örnekleme başının etrafında üzerinde agar dolu kuyucuklar bulunan bir şerit bulunur. Taşınabilir olması nedeniyle basit, ufak işlemler için idealdir. Kalibrasyon ilk üretimde yapıldığından, farklı bölgelerdeki fungal kontaminasyon oranları rölatif olarak karşılaştırılabilir. Üreyen fungusların kuyucuklarda identifikasyonu zor olduğundan, ek pasaj gerekir. Örnek olarak “RCS Centrifugal Sampler” ve “Wells Sampler” verilebilir.</p> <p><b>5. Rotorlu örnekleyiciler:</b> Yapışkan bir cam yüzey dışarıda bulunan havada döndürülür. Bunlarda düşük miktarda kontaminasyon söz konusu olduğundan, iç mekanlar için uygun değildir. Alet cansız partikülleri sayar. Daha çok allerji çalışmalarında spor ve polenlerin miktarını ölçmekte kullanılmaktadır.</p> <p><b>6. Presipitasyon temeline dayalı örnekleyiciler</b></p> <p><b>a. Elektrostatik:</b> “LSV Sampler” ve “General Electric Electrostatic Air Sampler” örnekleridir.</p> <p><b>b. Termal:</b> Örnek olarak “Thermal Precipitator, Hot Wire” verilebilir.</p>
--

Hastane kökenli invaziv aspergilloz insidansı ile fungal kontaminasyon arasında bir ilişkinin gösterildiği bildirilse de bu hastalık için risk oranının sayısal olarak bildirildiği kesin ve hem fikir olunan bir düzey söz konusu olmamıştır. Bu açıdan tek örnekten yorum yapmaktansa bir akımı yakalayabilmek için belirli bir zaman içinde bir

seri örnek alınması ve toplam fungal sayının 1.0 kob/mL'yi birkaç kez geçmesi durumunda da havalandırma sisteminin ve çevrenin incelenmesi gerektiği bildirilmiştir (23).

Sonuçların yorumlanmasında bazı noktaların unutulmaması gerektiği vurgulanmıştır, şöyle ki; az miktarda havanın örneklenmesi, *Aspergillus*

sporlarının nadiren salınımı yanlış sonuçlara yol açabilir. Bunun yanında, havadaki sporlarla temas ile invaziv aspergilloz arasındaki ilişki spor sayısı yanında immünsüpresyon düzeyi, antibiyotik kullanımı, daha önce bu sporlarla karşılaşmış olma gibi birçok faktöre bağlıdır. Çevre havasındaki fungal spor miktarı 0.2-15.0/cm<sup>3</sup> olarak bildirilmiştir (1). Genellikle risk altındaki hastaların bulunduğu yerdeki havanın < 1 kob/mL *Aspergillus* sporu barındırması gerektiği belirtilmiş ancak yüksek riskli, ciddi immünyetmezlikli hastalarda bu miktarın bile tehlike oluşturabildiği vurgulanmıştır (7). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda hasta odalarında *A. fumigatus*'un ortalama konsantrasyonunun 0.9 kob/mL olması durumunda invaziv aspergilloz riskinin %5.4 olduğu, bu düzey 0.009 kob/mL'ye indiğinde ise hiç aspergilloz vakası görülmediği bildirilmiştir (18).

Örneklerde özgün bir patojenin belirlenmesi çevre kaynağını gösterebilir, ancak belirlenmemesi bu etkenin hastanın infekte olduğu dönemde bulunmadığını göstermez. Eğer bir patojen kolonisi belirlenirse, örnek tekrarı şarttır. Bu arada çok kez izlenen patojenler, nadiren soyutlanan tek bir patojen partikülüne göre daha önemlidir. Eğer yüksek düzeyli filtre edilen hava örneğinden bir patojenin multipl kolonileri soyutlandı ise örnek tekrarı mutlaka yapılmalıdır. İyi filtre edilen bölgelerde total patojen (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *Fusarium* spp. vb.) düzeyi < 0.1 kob/m<sup>3</sup> olmalıdır. Bu sayı 1 kob/m<sup>3</sup>'ü birkaç kez aşarsa, hastaların yattığı yerlerdeki hava sistemleri ve işlemler ciddi olarak değerlendirilmelidir. Yüksek filtre edilen bölgelerde eğer fungal patojenlerden ziyade genel koloni sayıları dikkate

alınırsa, fungal düzey oda ısısında inkübe edilen kültürlerde 15 kob/m<sup>3</sup>, 37°C'de inkübe edilen kültürlerde 2 kob/m<sup>3</sup>'ü aşmamalıdır. Bir mikroorganizmanın homojen olarak saptanması içerideki bir alandan nokta kaynağı gösterir ki, bu durum daha çok kontrol edilemeyen nem veya su kaçağı sonucu ortaya çıkar (17).

Plak açma yöntemine göre kabul edilebilir maksimum IMA düzeyleri ve saatte dm<sup>2</sup>'ye düşen mikroorganizma sayıları Tablo 2'de verilmiştir.

Hava örnekleme ile ilgili birçok ülkede resmi standartlar belirlenmiş ve yayınlanmıştır. Bunların birçok benzerlikleri olsa da bazı farklılıklar söz konusudur (Tablo 3).

*Aspergillus* türleri hasta örnekleri ile hava, su ve çevre örneklerinden soyutlandıktan sonra et-

**Tablo 2. Plak Açma Yöntemine Göre Kabul Edilebilir Maksimum IMA Düzeyleri ve Saatte dm<sup>2</sup>'ye Düşen Mikroorganizma Sayıları (21).**

Oda sınıfı	IMA	kob/dm <sup>2</sup> /saat
Çok temiz*	0-5	0-9
Temiz**	6-25	10-39
Orta temiz***	26-50	40-84
Kirli	51-75	85-124
Çok kirli	≥ 76	≥ 125

\* İmplantasyon, transplantasyon operasyonları yapılan ameliyathaneler.  
 \*\* Konvansiyonel ameliyathaneler, diyaliz ünitesi, sürekli bakım üniteleri.  
 \*\*\* Hasta odaları, mutfak.

**Tablo 3. Standartlar Arasında Mikrobiyal Kontaminasyon Sonuçlarına Göre Karşılaştırma (F).**

EU GMP* dereceleri	FS209E**	NASA kob/m <sup>3</sup>	p.a***	EU GMP kob/m <sup>3</sup>	p.a****	IMA p.a*****	ISO sınıfları
A	100	3.5	0.6	Küç 1	Küç 0.25	0	5
B	100	3.5	0.6	10	1.25	5	5
C	10.000	17.6	3.0	100	12.5	-	7
D	100.000	88.4	15.0	200	25	25	8

\* European Union Good Manufacturing Practice.  
 \*\* Federal Standard for air contamination by inert particles.  
 \*\*\* 73.5 cm<sup>2</sup> genişliğindeki plakların bir saat açılması ile elde edilen sonuçlar.  
 \*\*\*\* 9 cm çapındaki plakların bir saat açılması ile elde edilmesi beklenen kob (dört saat açık bırakılma ile elde edilmiş sonuçlardan hesaplanarak).  
 \*\*\*\*\* 9 cm çapındaki plakların bir saat açılması ile elde edilen sonuçlar.

ken ile çevre izolatlarının genetik yakınlıklarının incelenmesi amacıyla moleküler yöntemlerle tiplendirilir. Bu amaçla hibridizasyon ile birlikte "restriction fragment length polymorphism (RFLP)", "random amplified polymorphic DNA (RAPD)" ve mikrosatellit belirleyicilerin analizi yöntemleri kullanılmıştır (13,14,19,24-28). Ancak bu yöntemlerin hiçbiri yeterli ayırt edici güç, tekrarlanabilirlik, kolay uygulama ve yorum gibi avantajları birarada sağlayamadığından, sekansa özgül DNA öncül (SSDP) analizi kullanılmaya başlanmış ve bu yöntemin ucuz ve kolay uygulanabilir olduğu vurgulanmıştır (9,14). Öte yandan bir başka çalışmada kullanılan otomatik "repetitive sequence based PCR fingerprinting assay (rep-PCR)"in kısa zamanlı, etkin, kolay kullanılabilir yeni bir genotiplendirme yöntemi olduğu bildirilmiştir (29). Kontoyiannis hiçbir tiplendirme yönteminin epidemiyolojik çalışmalar için yeterli kesinlikte olmadığını vurgulamıştır (3). Birçok çalışmada hastaların birden fazla *Aspergillus* genotipi ile infekte oldukları, çevreden alınan örneklerde ise *A. fumigatus*'un geniş bir genetik polimorfizmi olduğu saptanmıştır. *A. fumigatus* izolatlarının sistematik olarak tiplendirilmesi önerilmemekte, sadece kısıtlı durumlarda yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (9). Hastalık etkeni olarak daha az rastlanan ve doğada daha az yaygın olan *A. terreus*, *A. flavus* gibi türler için ise ekzojen kaynak ve klonal ilişkinin tiplendirme yöntemleri ile araştırılmasının uygun olabileceği bildirilmiştir (9). Tiplendirme için altın standart olmadığı için Munoz ve arkadaşları, birden fazla yöntemin birlikte kullanılmasının tek yönetime göre daha iyi bir ayırım yapabileceğinin bildirildiğini öne sürmüştür (27).

Mikrobiyolojik izlem ve örnekleme konularında bazı sorunlar söz konusudur. Bunlar; örnekleme yöntemi ve yapılacak işlemler için standart protokollerin belirlenmemiş olması, kullanılacak sistemlerin duyarlılıklarının tam olarak saptanmamış olması, sonuçların yorumlarında farklılıklar bulunması, fungal spor düzeyleri ile infeksiyon oranları arasındaki ilişkinin standartlarının olmaması şeklinde özetlenebilir.

Sonuç olarak; hastane kökenli *Aspergillus* infeksiyonlarının epidemiyolojik izlemi açısından hava, su ve çevre örneklerinin mikrobiyolojik örnekleme için büyük önem taşıdığı söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Vandenberg MFO, Verweij PE, Voss A. Epidemiology of nosocomial fungal infections: Invasive aspergillosis and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34:221-7.
2. Graybill JR. Aspergillosis: From the breeze or from the bucket? *Clin Infect Dis* 2001;33:1545.
3. Kontoyiannis DP, Bodey GP. Invasive aspergillosis in 2002: An update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:161-72.
4. Hajjeh RA, Warnock DW. Counterpoint: Invasive aspergillosis and the environment-rethinking our approach to prevention. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1549-52.
5. Gangneux JP, Bretagne S, Cordonnier C, et al. Prevention of nosocomial fungal infection: The French approach. *Clin Infect Dis* 2002;35:343-5.
6. Warris A, Verweij PE. Clinical implications of environmental sources for *Aspergillus*. *Med Mycol* 2005;43:59-65.
7. Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect* 2006; 63:246-54.
8. Simmons RB, Price DL, Noble JA, Crow SA, Ahearn DG. Fungal colonization of air filters from hospitals. *Am Ind Hyg Assoc J* 1997;58:900-4.
9. Symoens F, Burnod J, Lebeau B, et al. Hospital-acquired *Aspergillus fumigatus* infection: Can molecular typing methods identify an environmental source? *J Hosp Infect* 2002;52:60-7.
10. Pasqualotto AC, Denning DW. Post-operative aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:1060-76.
11. Perfect JR, Schell WA. The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis* 1996;22:112-8.
12. Munoz P, Burillo A, Bouza E. Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:38-45.
13. Anaissie EJ, Costa SF. Nosocomial aspergillosis is waterborne. *Clin Infect Dis* 2001;33:1546-8.
14. Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, et al. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: A 3-year prospective study. *Clin Infect Dis* 2002;34:780-9.
15. Lutz BD, Jin J, Rinaldi MG, Wickes BL, Huycke MM. Outbreak of invasive *Aspergillus* infection in surgical patients, associated with a contaminated air-handling system. *Clin Infect Dis* 2003;37:786-93.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for environmental infection control in health-care facilities, recommendations of CDC and healthcare infection control practices advisory committee (HICPAC). 2003.
17. Streifel AJ. Air cultures for fungi. In: Isenberg HD (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 1992:11.8.1-11.8.7.
18. Cooper EE, O'Reilly MA, Guest DI, Dharmage SC. Influence of building construction work on *Aspergillus* infection in a hospital setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:472-6.

19. Heineman S, Symoens F, Gordts B, Jannes H, Nollard N. Environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus flavus* during an outbreak of postoperative infections. *J Hosp Infect* 2004; 57:149-55.
20. McGowan JE, Weinstein RA. The role of the laboratory in control of nosocomial infection. In: Bennett JV, Brachmann PS (eds). *Hospital Infections*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 1998:143-64.
21. Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A. The index of microbial air contamination. *J Hosp Infect* 2000; 46:241-56.
22. Kocazeybek B, Ordu A, Ayyıldız A, Aslan M, Sönmez B, Demiroğlu C. Cerrahi merkezlerinde ameliyathane hava temizliği ölçümlerinde farklı yöntemlerin irdelenmesi: Üç merkezli bir çalışma. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2000;4:164-70.
23. Humphreys H. Positive-pressure isolation and the prevention of invasive aspergillosis. What is evidence? *J Hosp Infect* 2004;56:93-100.
24. Anderson MJ, Gull K, Denning DW. Molecular typing by random amplification of polymorphic DNA and M13 Southern hybridisation of related paired isolates of *A. fumigatus*. *J Clin Microbiol* 1996; 34:87-93.
25. Rodriguez E, Symoens F, Mondol P, et al. Combination of three typing methods for the molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* infections. *J Med Microbiol* 1999;48:181-94.
26. Bart-Delabesse E, Humbert J, Delabesse E, Bretagne S. Microsatellite markers for typing *Aspergillus fumigatus* isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2413-8.
27. Munoz P, Guinea J, Pelaez T, Duran C, Blanco JL, Bouza E. Nosocomial invasive aspergillosis in a heart transplant patient acquired during a break in the HEPA air filtration system. *Transpl Infect Dis* 2004;6:50-4.
28. Lair-Fullerger S, Guillot J, Desterke C, et al. Differentiation between isolates of *Aspergillus fumigatus* from breeding Turkeys and their environment by genotyping with microsatellite markers. *J Clin Microbiol* 2003;41:1798-800.
29. Healy M, Reece K, Walton D, Huong J, Shah K, Kontoyiannis DP. Identification to the species level and differentiation between strains of *Aspergillus* clinical isolates by automated repetitive-sequence-based PCR. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4016-24.

#### YAZIŞMA ADRESİ

Prof. Dr. Mine YÜCESOY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji ve

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İZMİR