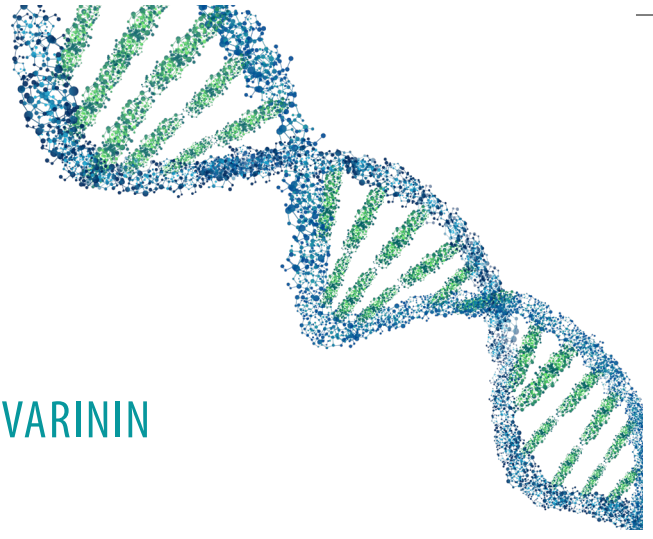


BÖLÜM 1

MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARININ TASARIMI VE BİYOGÜVENLİK



Özgür APPAK¹
Nuran ESEN²

Bulaşıcı hastalıklar, dünya çapında mortalite ve morbiditenin ana nedenidir. Bakteriler, virüsler, parazitler ve mantarlar dahil olmak üzere çeşitli patojen türlerinin neden olduğu farklı enfeksiyon türleri giderek artmaktadır¹. İlerleyen yaş, kanser, immün supresyona neden olan hastalıklar da bu artışa katkıda bulunan faktörler arasındadır. Bulaşıcı hastalık etkenlerinin erken ve doğru tanısı, tedavi için önemlidir. Kültür, seroloji ve mikroskopi gibi rutin klinik ve mikrobiyolojik işlemler tanı için tercih edilen ve maliyet etkin olan yöntemlerdir². Ancak bulaşıcı hastalıklar için erken müdahalenin gerekli olduğu durumlarda geleneksel kültür yöntemleri etkeni üretme, tanımlama ve antibiyotik duyarlılığı gibi aşamaları nedeniyle kısa sürede sonuç vermemektedir. Ayrıca enfeksiyon hastalığı ile uyumlu semptomları olan bazı hastalarda, kültürler mikroorganizmaları üretmede başarısız da olabilmektedir.

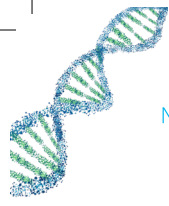
Yaklaşık 30 yıl önce "polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] teknolojisinin geliştirilmesiyle birlikte moleküler tanı,

mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaya başlanmıştır^{3,4}. Moleküler mikrobiyoloji alanında hastalıkları teşhis etmek, mikroorganizmaları tanımlamak, antimikrobiyal/ antiviral ilaç direncini tespit etmek, genleri klonlamak ve dizileme yapmak amacıyla hızlı ve duyarlılığı yüksek olan PCR kullanılmaktadır^{5,6}.

Mikroorganizmaların DNA veya RNA'larını tespit edebilen PCR yöntemlerinin mikrobiyolojik tanıda kullanımı ve sonuçların yorumlanması konusunda ise dikkatli olunması gerekmektedir⁷. Moleküler tespit yöntemleri ile numunelerde eser sayıdaki nükleik asitler, amplifikasyon ile çok fazla miktarda çoğaltılarak mükemmel bir duyarlılık sağlasa da bu yöntemler için kontaminasyon önemli bir sorundur. Laboratuvar malzemelerine ve ekipmanına sızan, aerosolde bulunan önceden amplifikasyonu yapılmış az miktardaki PCR ürünü en önemli kontaminasyon kaynağıdır. Laboratuvarlarda işleme alınan klonlanmış DNA'lar, hasta örnekleri arası çapraz geçiş ve personel kaynaklı hatalar diğer kontaminasyon kaynaklarıdır⁸. Özel-

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., ozgur.appak@deu.edu.tr

² Prof. Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., nuran.esen@deu.edu.tr



Kaynaklar

1. Leeuwen WB Van. Molecular Diagnostics in Clinical Microbiology. *Iranian Journal of Microbiology* 2009;1(2): 5–20.
2. N Khardori. Future of diagnostic microbiology. *Indian J Med Microbiol* 2014;32(4): 371–77.
3. Mullis KB. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. *Ann Biol Clin* 1990;48(8): 579-82.
4. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230(4732): 1350-4.
5. MacLean E, Kohli M, Weber SF, Suresh A, Schumacher SG, Denking CM, et al. Advances in Molecular Diagnosis of Tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2020;58(10): e01582-19.
6. Clutter DS, Jordan MR, Bertagnolio S, Shafer RW. HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect Genet Evol* 2016;46: 292-307.
7. Speers DJ. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. *Clin Biochem Rev* 2006;27: 39-51.
8. Lo YM, Chan KC. Setting up a polymerase chain reaction laboratory. *Methods Mol Biol* 2006;336: 11-8.
9. Hu, Y. Regulatory Concern of Polymerase Chain Reaction (PCR) Carryover Contamination. In: Samadikuchaksaraei, A. editor. *Polymerase Chain Reaction for Biomedical Applications* [Internet]. London: IntechOpen; 2016 [cited 2022 May 19]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/52932>
10. Laboratory design and maintenance. Geneva: World Health Organization; 2020 (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). [cited 2022 May 19]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011397>
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2007. Laboratory design; approved guideline, 2nd ed. CLSI document QMS04-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Binnicker MJ. Laboratory Design, pp: 51-56. In: Loeffelholz MJ. *Clinical Virology Manual*. 2016, 5nd ed. ASM Press, Washington, DC.
13. Kurec AS, Lifshitz MS. General concepts and administrative issues, pp. 7–11. In: McPherson RA, Pincus MR(ed), Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 2011, 22nd ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA.
14. T.C Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (2021). Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Laboratuvar Güvenliği Rehberi Ankara. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/kurumsal/yayinlarimiz/rehberler/UMS-Laboratuvar_GAVeliAi_Rehberi-2021_2_versiyon.pdf
15. Millar BC, Xu J, Moore JE. Risk assessment models and contamination management: implications for broad-range ribosomal DNA PCR as a diagnostic tool in medical bacteriology. *J Clin Microbiol* 2002;40(5): 1575-80.
16. Standards Unit, Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations: Good practice when performing molecular amplification assays. (Accessed on May 20 2022). Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/682533/Q4i5.pdf
17. Hardy DJ. Practical Aspects and Considerations When Planning a New Clinical Microbiology Laboratory. *Clin Lab Med* 2020;40(4): 421-31.
18. Regional Office for South-East Asia, World Health Organization. (2016). Establishment of PCR laboratory in developing countries, 2nd edition. WHO Regional Office for South-East Asia. (Accessed on May 21 2022). Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/249549>.
19. McDonagh S. Equipping and establishing a PCR laboratory. *Methods Mol Biol* 2003;226: 15-20.
20. T.C. Sağlık Bakanlığı. Moleküler testler çalışılan tıbbi laboratuvarların fiziksel altyapı standartları ile ilgili kılavuz. (Accessed on May 21 2022). Available from: <https://shg-mtetkikdb.saglik.gov.tr/TR,4439/molekuler-testler-calisilan-tibbi-laboratuvarlarin-fiziksel-altyapi-standartlari-ile-ilgili-kilavuz-yayinlanmistir.html>
21. Mifflin TE. Setting up a PCR laboratory. *CSH Protoc* 2007;7: pdb.top14.
22. Defense Health Agency Facilities. Chapter 530: Pathology and Clinical Laboratory, DoD Space Planning Criteria. (Accessed on May 23 2022). Available from: https://www.wbdg.org/FFC/DOD/MHSSC/ARCHIVES/spaceplanning_healthfac_530_2015.pdf
23. OECD (2018), "Facilities", in Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP), OECD Publishing, Paris.
24. Sehulster L, Chinn RY; CDC; HICPAC. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-10):1-42.
25. Yildiz O, Bradford P.D. Aligned carbon nanotube sheet high efficiency particulate air filters. *Carbon* 2013; 64: 295-304.
26. Whistler T, Kaewpan A, Blacksell SD. A Biological Safety Cabinet Certification Program: Experiences in Southeast Asia. *Appl Biosaf* 2016;21(3): 121-27.
27. Pawar SD, Khare AB, Keng SS, Kode SS, Tare DS, Singh DK, et al. Selection and application of biological safety cabinets in diagnostic and research laboratories with special emphasis on COVID-19. *Rev Sci Instrum* 2021;92(8): 081401.
28. Kehl KS. Laboratory Safety, pp: 41-50. In: Loeffelholz MJ. *Clinical Virology Manual*. 2016, 5nd ed. ASM Press, Washington, DC.
29. WHO (2004), Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland. (Accessed on May 23 2022). Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9241546506>
30. Karagül MS, Saraç F, Hasöksüz M. Enhanced Significance of Laboratory Biosafety and Biosecurity During COVID-19 Pandemic. *Acta Veterinaria Eurasia* 2021;47(2): 108-116.
31. WHO (2020), Laboratory biosafety manual, 4th edition. World Health Organization. (Accessed on May 24 2022) Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.
32. WHO (2021), Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): interim guidance, 28 January 2021. (Accessed on May 24 2022) Available from: World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/339056>.
33. Wu X, Paik S. Measuring toxic gases generated from reaction of guanidine isothiocyanate-containing reagents with bleach. *Chem Health Saf* 2005;12(4): 33-38.