

ALT SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONLARININ TANISINDA MİKROBİYOLOJİK TESTLER

MICROBIOLOGIC TESTS IN THE DIAGNOSIS OF LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Güneş ŞENO L

Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

Anahtar sözcükler: Alt solunum yolu infeksiyonları, etyolojik tanı, mikrobiyolojik yöntemler

Key words: Lower respiratory tract infections, etiologic diagnosis, microbiologic methods

ÖZET

Alt solunum yolu infeksiyonlarının (ASYİ), özellikle pnömoninin tanısının konması acil bir problem olduğu için, laboratuvarlar bu tanılarda eskiye göre büyük ve önemli gelişmeler ortaya koymuşlardır. Bir çok yeni test kullanıma girmiş ve rutinde olan bir çok test ise geliştirilmiştir. Mikrobiyolojik testler kesin tanı koymak için genellikle yararlı olmakla beraber, uygun örnek seçimi ve uygulama zamanı testlerin verimliliğini etkiler. ASYİ tanısında olduğu kadar, tedaviye yanıtın izlenmesinde de mikrobiyolojik testlerin büyük önemi vardır. İnflamatuar reaksiyonun izlenmesi ve mikrobiyolojik eradikasyonun gösterilebilmesi sonucun daha objektif olarak değerlendirilebilmesini sağlar. Hangi hastadan, hangi durumda, hangi testin yapılması gerektiğinin bilinmesi testlerin etkinliğini arttıracaktır. Bazı testlerin değerlendirilmesi ise özel bir bilgi ve deneyim gerektirir.

Alt solunum yolu infeksiyonları (ASYİ) yüksek morbidite ve mortalite nedenidir. İnfeksiyona bağlı ölümlerde ilk sırada yer alır. Yaşa ve organizmanın savunma gücüne göre bir çok bakteri, virüs, mantar ve parazit akut ve kronik infeksiyonlara yol açabilir (1,2).

SUMMARY

Because the diagnosis of lower respiratory tract infections, primarily pneumonia has become urgent problem, laboratories have made significant strides in establishing some of these diagnoses more expeditiously than in the past. Lots of new tests has come into usage and some routine tests has developed. Microbiologic tests have great importance in diagnosis and following the response to therapy in lower respiratory diseases. Following inflammatory reaction and showing microbiologic eradication would allow to evaluate results more objectively. Selection the appropriate sample and application time affects the yield of the tests although the microbiologic tests are generally useful for definite diagnosis. Recognizing which tests should be performed in which patients and situations will improve the effectiveness of the tests. Special information and experience is required for evaluation of some tests.

ASYİ tanısında, klinik yakınma, fizik bakı ve radyolojik bulgular oldukça yönlendirici olabilir. Hafif seyreden ve ayaktan takip edilebilecek olgularda laboratuvar incelemeleri gerekmez. Ancak klinik gidişi orta ve ağır olan bütün olgularda ileri laboratuvar tetkiklerine ihtiyaç vardır.

Hastaneye yatırılması planlanan tüm hastaların tam kan sayımı ve formülü, serum kreatinini, kan üresi, kan şekeri, elektrolitleri ve karaciğer fonksiyon testleri yanısıra, etkenin saptanabilmesi için mutlaka en az iki hemokültür, hasta çıkarabiliyorsa balgam Gram boyaması ve kültürü istenmelidir. HIV serolojisinin, hastanın izni alınarak, özellikle 15-54 yaşları arasındaki kişilerden istenmesi de önerilmektedir (3-5).

ASYİ'ne yol açan etkenin izolasyonu veya en azından belirli bir etken grubunun düşünülmesi o hastanın bireysel olarak sağaltım başarısını artırmanın yanısıra, bölgesel epidemiyolojik verilerin ve akılcı ampirik sağaltım tablolarının oluşmasına katkıda bulunur. Antibiyotiklerin kötü kullanılmasını ve antibiyotik israfını engeller. Tanıya yönelik testlerde verimlik, ancak, kliniklerle laboratuvarın yakın işbirliği ve uyumlu çalışması ile sağlanabilmektedir (3,6,7).

Mikrobiyolojik Tanısal Yaklaşımlar

Mikrobiyoloji, değişik tanı yaklaşımları arasında, etkeni ortaya koymaya çalışan etyolojik tanı sistemleri ile uğraşır.

Etyolojik tanı

İnfeksiyon hastalığı olarak ASYİ etyolojik tanısında iki ana yol vardır (2,3):

- * Etkeni görmek, varlığını göstermek ve üretmek yoluyla doğrudan,
- * Etkene karşı oluşan yanıt ve yanıt ürünlerini göstererek dolaylı olarak.

Tanının doğruluğuna olan güvenilirlik etken patojene ve seçilen tanısal testlere bağlıdır.

Kesin tanı: Kesin etyolojik tanı, uyumlu klinik bulgularla birlikte kontamine olmayan örnekten (kan, plevral sıvı, transtrakeal aspirat veya trans-toraksik aspirat) olası etyolojik etkenin üremesi veya solunum sekresyonlarından üst solunum yollarının normal florasında bulunmayan (*Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* sp., *Influenzae* virüs, *Pneumocystis carinii* vb.) bir etkenin izole edilmesiyle konur. Anlamlı sonuçların elde edilmesi belirli bir zaman gerektiren ve tanısal kriterleri tartışmalı olduğu halde bazı serolojik testler de diagnostik sayılmaktadır (3,5).

Tablo 1. İzole edilen etkenlerin ASYİ açısından tanısal değerleri (3).

| | Tüm örneklerde kesin tanısal değeri olan patojenler. | Solunum örneklerinden elde edildiğinde tanısal değeri kesin olmayan patojenler. |
|-------------|--|---|
| Bakteri | | |
| | <i>Legionella</i> species | <i>Nocardia</i> ve <i>Actinomyces</i> dahil olmak üzere tüm diğer bakteriler |
| Mikobakteri | | |
| | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | <i>M. tuberculosis</i> dışı mikobakteriler |
| Virüs | | |
| | İnfluenza | CMV |
| | RSV | Herpes simplex |
| | Hantavirus | |
| | Parainfluenzae | |
| | Adenovirus | |
| Parazit | | |
| | <i>Strongyloides</i> sp. | |
| | <i>Toxoplasma capsulatum</i> | |
| Mantar | | |
| | <i>Pneumocystis carinii</i> | <i>Candida</i> species |
| | <i>Histoplasma capsulatum</i> | <i>Aspergillus</i> species |
| | <i>Coccidioides</i> | <i>Zygomycetes</i> |
| | <i>Blastomyces dermatitidis</i> | <i>Cryptococcus neoformans</i> |

Olası tanı: Olası etyolojik tanı, uyumlu klinik bulgularla birlikte pulmoner bir patojenin solunum sekresyonlarından (balgam, bronş aspiratı veya kalitatif bronkoalveoler lavaj -BAL- sıvısı veya fırça katater örneği kültürü) saptanması ile konur. Semikantitatif kültürde patojen belirgin olarak veya sayıca fazla üreme göstermelidir (3,5).

Tablo 1'de örneklerden izole edilen patojenlerin hangi durumlarda muhtemel veya kesin hastalık etkeni olabilecekleri gösterilmektedir.

Etyolojik tanıda kullanılan örnekler

Vücut sıvıları: Hastaneye yatırılan akut pnömoni hastalardan mutlaka kan kültürü (iki veya daha fazla her biri ayrı bölgelerden) alınmalıdır. Hastanın ateşi yükselmeden, antibiyotik başlanmadan, tedavi alan hastalarda da antibiyotik dozundan hemen önce ve aseptik koşullarda alınmalıdır.

dır (3,5,7). Tablo 2'de hemokültürlerden anlamlı sonuçlar elde edebilmek için kan örneği alınması sırasında uyulması gereken kurallar izlenmektedir.

Klinik bulgu veren potansiyel infekte diğer vücut bölgelerinden alınan sıvılardan (plevral sıvı, eklem sıvısı, BOS gibi) hem kültür hem de Gram boyama yapılmalıdır (2,3).

Balgam: Elde edilmesi invaziv işlem gerektirmediği için önemli ve değerli solunum yolu örneğidir. Gram boyaması; antibiyotik başlanmadan, derin bir öksürük sonrası elde edilen, laboratuvara hızla ulaştırılmış ve uygun şekilde işlenmiş balgamın, nispeten basit, pahalı olmayan ve başlangıç antibiyotik tedavisine rehberlik edebilen bir tetkiktir. Balgamın toplanması, taşınması ve işlenmesi için önerilen kurallar Tablo 3'te görülmektedir.

Tablo 2. Hemokültür alınması sırasında uyulması gereken kurallar:

- Hemokültür hastanın ateşinin yükselmeye başladığı ve henüz tepe noktasına ulaşmadığı zaman diliminde alınmalıdır. Ateş tepe noktasına ulaştığı anda, özellikle intermittan bakteriyemide, dolaşımdaki bakteriler genellikle temizlenmiş olurlar. Her hastadan en az iki defa, ortalama üç defa hemokültür alınmalıdır.
- Hemokültürler hastaya antibiyotik tedavisi başlanmadan, antibiyotik alınmakta ise antibiyotik dozundan hemen önce alınmalıdır.
- Hastada ateş izlenmiyor ancak hemen ampirik antibiyotik verilmesi gerekiyorsa ateşin yükselmesi beklenmeden hemokültür alınabilir.
- Kanın alınacağı bölgedeki deri önce iyotlu bir antiseptik ile merkezden çevreye sirküler hareketlerle silinir. Antiseptik maddenin fazlası alkolle alınır. Ele steril eldiven giyilir. Erişkin hastalar için 5-10 cc., pediatrik hastalar için ise 3-5 cc. venöz kan alınır. Damarı palpe etmek için yapılan manipülasyonun deri dezenfeksiyonundan önce yapılması daha uygundur (8).

Tablo 3. Balgamın toplanması, taşınması ve işlenmesi için öneriler (3).

- Balgam, antimikrobiyal tedavi verilmeden önce, bir sağlık elemanı gözetiminde, derin bir öksürükle elde edilmeli ve gözle görülür pürülans içermelidir.
- Örnek, hemen işlenmek üzere derhal laboratuvara ulaştırılmalıdır.
- Gram boyama ve kültür için pürülans kısım seçilmelidir. Quellung boyama*, mümkünse, yapılmalıdır.
- Mikroskopun küçük büyütmesi ile (x 100) hücresel bileşenlerin belirlenmesi için sitolojik tarama yapılmalıdır. Sitolojik değerlendirme, örneklerdeki solunum virüslerinin, Legionella sp. veya mikoplazma saptanması için gerekli değildir.
- Kültürler standart teknikler kullanılarak yapılmalı ve sonuçlar semikantitatif** rapor edilmelidir.

* Quellung boyama: Antikapsüler antiserum kullanılarak bakteriyi çevreleyen kapsülün görünür hale gelmesi. Balgam incelemesinde pnömokokların çabuk tanımlanmasında kullanılır.

** Tam koloni sayısı verilmeden, göreceli olarak 1+'den 4+'e kadar derecelendirme yapılarak.

mektedir. Rutin laboratuvar testleri, sitolojik kri-
terleri sağlayan balgam örneklerinin Gram boyama,
sitolojik tetkik ve aerobik kültürlerini içermelidir
(3, 7). Ancak, antimikrobiyal tedavi, ASYİ olan
hastalarda mikrobiyolojik çalışmalar için örnek
alınmasındaki zorluk nedeniyle geciktirilmemelidir.

Balgamın sitolojik olarak kalitesi, mikroskopta
küçük büyütme ile bakıldığında içerdiği polimorf
nüveli lökositler (PMN) ve epitel hücresi sayısına
bağlıdır. Bu kriterler için bir kaç farklı değerlendirmeye
sistemi vardır. En fazla kullanılan kriter,
her küçük büyütme alanında ortalama * 25 PMN;
* 10 epitel hücresi olmasıdır. Bu kriterleri karşılayan
balgamların en az oranda üst solunum yolu florası ile
karışmış olduğu kabul edilir. * 10 epitel içeren örneklerin
ise tükürük ile karıştığı ve buna bağlı olarak üst solunum
yolu flora bakterilerini yoğun olarak taşıdığı düşünülür.
Nötropenik hastalarda, Legionella ve Mycoplasma infeksiyonlarında
balgamda az sayıda lökosit olabilir veya hiç görülemeyebilir.
Diğer değerlendirme sistemleri Tablo 4, Tablo 5 ve Tablo 6'da
izlenmektedir.

Tablo 4. Bartlett değerlendirmesi (7-9).

| Nötrofil sayısı(x10) | Derece | Epitel hücre sayısı (x10) | Derece |
|----------------------|--------|---------------------------|--------|
| < 10 | 0 | 10-25 | -1 |
| 10-25 | +1 | >25 | -2 |
| >25 | +2 | | |
| Mukus varlığı | +1 | | |

20-30 farklı alandaki epitel hücre ve nötrofil sayısının ortalaması alınır. 0 veya daha az ise orofaringeal kontaminasyon düşünülür.

Tablo 5. Murray ve Washington değerlendirmesi (6, 10).

| | Nötrofil sayısı (x10) | Epitel hücresi sayısı (x10) |
|---------|-----------------------|-----------------------------|
| Grup 1. | >10 | 25 |
| Grup 2. | 10-25 | 25 |
| Grup 3. | 25 | 25 |
| Grup 4. | 25 | 10-25 |
| Grup 5. | 25 | <10 |

Grup 1-4 orofaringeal kontaminasyon nedeniyle uygunsuz örneklerdir.
Grup 5. uygun örnektir.

Tablo 6. Gram Değerlendirmesi (11)

| | Nötrofil (x10) | Epitel hücresi (x10) |
|----------------|----------------|----------------------|
| Grup 6. (TTA)* | <25 | <25 |
| Grup 5. | >25 | <10 |
| Grup 4. | >25 | 10-25 |
| Grup 3. | >25 | >25 |
| Grup 2. | 10-25 | >25 |
| Grup 1. | <10 | >25 |

*Mikroorganizma izlenmiyor ve epitel hücre sayısı >10 ise örnek reddedilmelidir.

- Grup 4-6 kültür için uygundur. Grup 1-3 uygun örnekler değildirler.
- Uygun örneklerde mikroorganizma izlenmiyorsa (grup 4-5) Legionella, Mycoplasma ve mikobakteriler düşünülmalıdır.
- >25 nötrofil olan (Grup 3,4,5) ve üreme olmayan örneklerde anaeroblar, zor üreyen bakteriler ve antibiyotik kullanımı akla gelmelidir.

İndükte balgam: % 3 NaCl solüsyonunu 10 dakika nebulizasyon yoluyla verilerek balgam çıkışı uyarılır. Kullanılan NaCl antibakteriyel maddeler içerebileceği için, parenteral ilaç hazırlanmak için kullanılan ticari ampüller kullanılmamalıdır. İndükte balgamın M. tuberculosis ve P. cariini dışındaki patojenler için yarar tartışmalıdır (3, 12).

Bronkoskobik Örnekler: İnvaziv işlemlerdir. Balgam çıkarmayan seçilmiş hasta gruplarında yapılmalıdır (3,4X).

BAL: Fiberoptik bronkoskop ile 30-50 steril serum fizyolojik verilir ve geri aspire edilir. Diffüz lezyonlarda orta loptan, lokalize olanlarda ilgili bölgelerden yapılmalıdır. P. cariini, CMV ve M. tuberculosis tanısı için uygun örneklerdir. Kantitatif kültür çalışması yapılabilir (3, 13).

Korunmalı BAL ve Protective Specimen Brush (PSB): Pahalı yöntemlerdir. Kantitatif kültür çalışması için uygun örneklerdir. Trombosit sayısı 50.000 ve üzerinde olan hastalarda uygulanmalıdır. Üst solunum yolu florası ile en az kontaminasyon bu örneklerde izlenir. Fırça çıkarıldıktan sonra steril bir lama yayılıp, steril makasla kesildikten sonra 1-2 cm. kesilerek 1 cc. Ringer laktat gibi dengeli bir solüsyon içine konarak derhal laboratuvara gönderilmelidir (11-15).

(Transbronşiyal biopsi) TBB: En invaziv ve yüksek morbiditeye sahip yöntemdir. P. cariini, CMV, HSV, invaziv Aspergillus ve invaziv Candida enfeksiyonu veya enfeksiyon dışı bir neden düşünülüyorsa yapılmalıdır. Diffüz lezyonlarda alt loptan, lokalize hastalıklarda lezyonların yoğun olduğu bölgeden yapılmalıdır. Yüksek komplikasyon riski nedeniyle orta loptan kaçınılmalıdır (3,13).

Transtrakeal aspirasyon: Trakeanın içinden plastik kataterle sekresyonların aspirasyonu yolu ile elde edilir. Üst solunum yolu florası ile kontamine edilmemeli ve sıvı ilave edilip sekresyonlar sulandırılmamalıdır. Aktinomikoz ve diğer anaerobik enfeksiyon olasılığında ve aspirasyon pnömonisi düşünülen hastalara uygulanmalıdır (3, 14).

Transtorasik ince iğne asp. ve torasentez: Göğüs duvarından plevral alana veya pnömoni konsali-

dasyon alanına ince iğne ile girilir, serum fizyolojik verilir ve aspire edilir. 1-5 ml örnek mikrobiyolojik çalışmalar için yeterlidir (11).

Açık akc. biopsisi ve video-assisted thoracoscopy (VATS): Aseptik şartlarda iğne biopsisi, minilaparotomi ve VATS ile alınan örnek steril kaplarda formalinsiz olarak laboratuvara gönderilir. Çalışmadan artan örnek -20 veya -70 °C'de en az 4 hafta saklanmalıdır. Doku hem bakteriyolojik, hem mantar açısından kültüre alınmalıdır. Doku, viral ajanlar (HSV) ve P. cariini tanısında önemlidir. Tanısal değeri yüksek (%90'ın üzerinde), komplikasyon riski diğer yöntemlere göre daha fazla (%2-20 kanama ve pnömotoraks) ve %1'in altında da olsa mortalite riskine sahip bir yöntemdir (12,13).

Etyolojik tanıda kullanılan testler

Makroskobik inceleme

Laboratuvara gelen solunum yolu örneği önce makroskobik olarak değerlendirilir. Belirgin olarak tükürükle karışmış balgam örnekleri hiç kabul edilmez. Makroskopi, bazı enfeksiyonlar için değer taşıyan ipuçları verebilir. Pürülan balgam üzerindeki çizgi şeklindeki kan akciğer tüberkülozunu, koyu renkli paslı görünüm pnömokoksik pnömoniyi, kırmızı mukoid balgam Klebsiella pnömonisini, pürülan ve yeşilimsi balgam Pseudomonas enfeksiyonunu düşündürülebilir. Akciğer embolisinde kahverengi-kanlı ve kötü kokulu, akciğer abselerinde ve bronşektazilerde yine kötü kokulu ve koyu renkli balgam izlenir. Mycoplasma, Legionella ve Adenovirus enfeksiyonlarında ise normal hatta sulu görünümlü olabilir (2, 7, 13).

Mikroskobik inceleme

Boyasız inceleme: Balgamın direk taze, boyasız preparatlarının mikroskobun 300-400 büyütmesinde incelenmesiyle bazı parazitlerin yumurta ve trofozoitleri (Ascaris, Strongyloides, Paragonimus), mantar elemanları (%10 KOH ile), aktinomikozun sülfür granülleri görülebilir. Pnömokok ve H. influenzae düşünüüyorsa antikapsül serumla

kapsül şişme (Quellung test) reaksiyonu izlenebilir. Bu testin kültür sonuçlarıyla uyumunun %85 olduğu bildirilmektedir. Nadiren diğer -hemolitik streptokoklarla yalancı olumlu sonuçlar izlenebilir (2,13).

Boyalı inceleme: Boyalı preparatlarda en fazla Gram boyasından yararlanır. Hazırlanan yaymanın kalite kriterlerine uygun olduğu izlenirse örnek incelenmeye devam edilir. Lanset şekilli Gram olumlu diplokokların tanımlanması %50-60 duyarlılıkta, %80'in üzerinde özgüllükte pnömoksik pnömoneyi gösterir. H. influenzae pnömoneisinde ise Gram boyama çok daha güvenilirdir. Bol miktarda Gram olumsuz küçük kokobasiller izlenir. Lökosit sayısının fazlalığına karşın antibiyotik almamış bir hastanın balgamında bakteri izlenmemesi, sık rastlanan bakteriyel etkenlerin rahatlıkla dışlanmasına neden olur. Herşeye rağmen balgamın Gram boyasının okunmasının geçerliliği direkt olarak değerlendirilen kişinin deneyimine bağlıdır (2,3,13,20).

BAL örneklerinin santrifüjlendikten sonra yapılan boyalı preparatında alveoler makrofajların içinde >%5 bakteri izlenmesi ventilatöre bağlı pnömoneilerde önemlidir. >% 5 fagosite bakteri varlığında acil ampirik antibiyotik tedavisi başlanır (13-15).

Gram boyama ile bazı bakterilerin izlenemeyeceği ve bu bakterilerin gösterilebilmesi için doku boyaları veya başka özel boyama teknikleri gerektiği bilinmelidir. Calymmatobacterium granulomatis, Borrelia, Rickettsia ve Chlamydia için Giemsa/Wright; Rickettsia, Chlamydia ve Legionella pneumonia için Gimenez ve Mycobacteriumlar için Ziehl-Nielsen ve Kinyoun gibi farklı boyama yöntemleri kullanılır. Ziehl-Nielsen ve Kinyoun yöntemi ile ışık mikroskopisi dışında Auromine-Rhodamine boyama ile de floresan mikroskopunda tüberküloz basilleri gösterilir. Aynı yöntemlerle Nocardia ve Criptosporidium türleri de saptanabilir. Bu mikroorganizmalar için modifiye Gomori metanamin ve Toluidin mavisi boyaları da uygulanabilir. Bu boyalarla P. cariini de izlenir. Ancak P. cariini için monoklonal antikor boyaları

daha özgül ve duyarlıdır. Diğer bazı infeksiyon etkenlerinin (Legionella, Chlamydia, Bordetella Bacteroidesler, HSV, CMV, Adenovirus, RSV) görülmesi için yapılan direkt floresan antikor boyama tekniği de kullanılır (3,13,20).

KÜLTÜR

Balgam kültürlerinde her zaman kesin sonuçlar alınamaz. Kesin pnömone olduğu düşünülen olgularda bile tamamen olumlu sonuç almak mümkün değildir. Birçok laboratuvarın balgamın rutin kültürü için kullandığı genel yöntemler ne hassas, ne de özgüldür. Mikrobiyolojik sonuçların güvenilir olmayışının en olası açıklaması alt solunum yolu örneğinin inflamatuvar içerik açısından yeterli zengin olmaması, hastanın öksürükle kaliteli bir balgam verememesi ve sağlık çalışanlarının kaliteli bir örnek elde edilmesi için yeterli çaba harcamamasıdır. Diğer nedenler arasında tetkik öncesi antibiyotik alımı, örneğin işlenmesinde gecikme, ekim sırasında balgamın tükürükten iyi ayırlamaması ve üst solunum yolu florası ile bulaş nedeniyle değerlendirme zorlukları sayılabilir (2-7,13).

Flora potansiyel patojenleri içerebilir (yalancı pozitif kültür), veya normal flora gerçek patojen yanısıra aşırı miktarda üreyip onu kapatabilir (yalancı negatif kültür). Örnekler alınmadan antibiyotik başlanması durumunda da genel solunum patojenleri kültürden silinebilir ve S. aureus ve gram olumsuz basil gibi üst solunum yollarının kontaminantlarıyla yalancı pozitiflikler çıkarılabilir (3).

Tablo 7'de solunum yolu örneklerinin kültürü sırasında uyulması gereken genel kurallar izlenmektedir.

Balgam dışı solunum sekresyonlarının kültür sonuçlarının infeksiyon açısından anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesi için üreyen koloni sayısı önemlidir. % 1'in altında epitel içeren PSE ve TBB örnekleri kültür için uygundur. PSB için 10^2 - 10^5 , BAL örnekleri için 10^5 - 10^4 , endotrakeal aspirasyonlarda 10^5 üzerinde bakteri üremesi infeksiyon varlığını düşündürür. Önceden

Tablo 7. Kültür işlemleri sırasında uyulması gereken genel kurallar

- * Alt solunum yolu örneklerinin kültüründe, balgama semikantitatif, diğerlerinde kantitatif yöntemlerle ekim yapılır
- * Balgam ve bronş aspirasyon sıvıları flora bakterisi ile bulaşık olduklarından anaerob kültür çalışılmaz.
- * Bronkoskobik örnekler kantitatif çalışılmalıdır.
- * Boğmaca, Legionella, mikobakteri, mikoplazma ve mantar infeksiyonu kuşkusunda laboratuvar mutlaka bilgilendirilmelidir.
- * Hastanın immun yetmezliği ve kistik fibrozisi varsa kültür değerlendirilirken tanı konmasını etkileyeceğinden mutlaka belirtilmelidir (2,13).

antibiyotik almış hastalarda yalancı negatiflikler, bakteri yükü fazla pürülan bronşitlerde de yalancı pozitiflikler görülebilmektedir. Uzamış mekanik ventilasyon ve antibiyotik tedavisi testlerin özgüllük ve duyarlılığını azaltmaktadır (4,7, 13-19).

Anaerob kültürler, akciğer absesi, bronşektazi ve ampiyem olgularında TTA ve uygun alınmış akciğer aspirasyon örneklerinden çalışılır. Örnek miktarı en az 1-5 ml olmalıdır. Örnekler laboratuvara hızla ulaştırılmalı veya anaerobik kültür için uygun taşıma besiyerine alınmalıdır (2,3,13).

Pnömonili bir hastanın kan kültüründe üreyen bir bakteri, muhtemelen pnömoninin etkenidir. Pnömonili hastaların 1/3'ü bakteriyemiktir. Balgam kültürü negatif olan hastaların bile %25-30'unun kan kültürü pozitif bulunabilir (1,3,5, 12,13).

KÜLTÜR DIŞI YÖNTEMLER

Antijen saptanması: DFA (direk floresan antikor boyası), lateks aglütinasyon, koaglütinasyon, CIE (counter immun elektroforez), RIA (radyoimmun assay), ELISA, Western blotting gibi yöntemler boğaz sürüntüsü, nazofarinks yıkama sıvısı, balgam, plevra sıvısı, serum ve idrarda

infeksiyon etkenlerine özgü antijenleri gösterebilir. Maliyet, zamanlama, duyarlılık ve özgüllükte değişkenlikler bu testlerin kullanımını sınırlamaktadır (1-3,13).

S. pneumoniae ve *L. pneumophila* için idrardan antijen tespiti yapan immunokromotografik testler yüksek özgüllük ve (% >90) ve duyarlılıkla (% 85-90) sonuç vermektedirler (3, 21).

DFA boyama, en optimal sonuçları *L. pneumophila* için vermektedir. *Legionella* için pozitif kültür ve idrar antijeni sonuçları gerçekten tanısaldır. Ancak negatif sonuçlar *Legionella* tanısını ekerte ettirmez. DFA testlerinde, diğer respiratuvar patojenler için duyarlılık ve özgüllük, tecrübeli uzmanlar tarafından özellikle çok belli antikorlar kullanılmadan yapıldığında düşüktür (3,13).

H. influenzae tip 1, *S. pneumoniae* (83 serotip), *N. meningitis*, *S. pyogenes*, *C. neoformans* ve diğer streptokoklar lateks aglütinasyon ve koaglütinasyon ile araştırılabilirler. ELISA yöntemi ile *C. trochomatis*, adenovirüsler, RSV'ye ait antijenler saptanabilirler. Western blotting özellikle virüs içeren örneklerin incelenmesi için hassas bir yöntemdir (13).

Mikroorganizmaların metabolitlerinin saptanması:

S. pneumoniae, *M. tuberculosis* ve baz diğer patojenlerin bir takım metabolik ürünleri gaz-likid kromatografisi ve diğer kromatografik yöntemlerle incelenebilir (1,2,13).

Nükleik asit saptanması: DNA probu (işaretleli bir DNA parçası) kullanarak hastalık örneğinde hibrid DNA araştırılır. Bu teknikte HSV, CMV, EBV, Adeno virüs, *Chlamydia*, *Mycoplasma* ve *Legionella* DNA'sını saptayabilen kitler geliştirilmiştir. Örnekte az sayıda etken bulunması halinde duyarlılık düşük olur (13,22).

İn situ hibridizasyon ile de infekte akciğer hücrelerinde içinde HSV, Adenovirus, CMV, VZV saptanabilir (11).

PCR ile mikroorganizmaya ait nükleik asit polimeraz enzimi ile sayıca çoğaltılır ve saptanır. Virüsler (CMV, HSV, EBV), bakteriler (*S. pneumoniae*,

Mycobacterium, Chlamidia, Mycoplasma, Coxiella) ve parazitler (P. Cariini, T. gondii) için geliştirilmektedir (22).

Özellikle M. pneumonia, Legionella ve Chlamydia için, serum ve solunum sekresyonlarında nükleik asit amplifikasyonunun kullanıldığı bazı hızlı tanısal testler geliştirilmektedir. Bu testlerin hepsi Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmamıştır. FDA yayma pozitif örneklerde M. tuberculosis için PCR testine resmen izin vermiştir (3).

Polymerase Chain Reaction (PCR) bazlı testlerin en büyük potansiyel yararının, Mycoplasma, Legionella ve hastalık durumu dışında üst solunum yollarında nadiren kolonize olan patojenlerin hızlı tanısının konması ve zamanında patojene özgü tedaviye başlanabilmesine olanak sağlanması olması beklenmektedir (3,22).

Antikorların saptanması: Üretilmesi güç, özel laboratuvar koşulları gerektiren mikroorganizmalarla oluşan akciğer infeksiyonlarında kanda oluşan özgül antikorların saptanması esasına dayanırlar. Toplumdan kaynaklı pnömonilerin başlangıç aşamasında değerlendirmesinde pek yardımcı değildirler. Epidemiyolojik bilgi elde

etmek için yararlıdır. Kompleman birleşme, ELISA, IFA ve soğuk aglütinasyon belli başlı serolojik yöntemlerdir (3,11).

1:64 üzeri titrede saptanan soğuk aglütinınları %30-60 duyarlılıkta M. pneumoniae infeksiyonu tanısını destekler. Ancak özgüllüğü düşüktür. M. pneumoniae'nın IgM antikorlarının tanısal düzeye ulaşması bir haftaya kadar uzar. Duyarlılıklar konusunda görüşler çeşitlidir. Chlamydia ve Legionella türlerine karşı antikor cevaplarının ortaya çıkması daha uzun sürer. Bazı otoriteler Legionella hastalığında olası tanı için sınırın 1:256 kabul edilmesini, buna rağmen pozitif prediktif değerinin sadece %15 olduğunu bildirmektedirler. Eğer serolojik testler kullanılacaksa, akut dönemde hastadan bir serum örneği alınmalı, daha sonra eğer tanı belirsizliğini koruyacak olursa, konvelasan dönemde de serum alınıp serolojik testleri çift serum örneğinde çalışılmalıdır. Mevcut bilgiler, M. pneumonia, Chlamydia, L. pneumophilia infeksiyonlarının tedavisine rehberlik edebilecek yaygın kabul görmüş serolojik testlerin olmadığını göstermektedir (21,23,24).

Tablo 8'de pnömoni etkenleri için kullanılan tanı testleri toplu olarak izlenmektedir.

Tablo 8. Toplumdan kazanılmış pnömoni etkenleri için tanısal testler (3,5).

| Patojenler | Hızlı tanısal testler | Standart kültür yapılacak örnek türü | Seroloji ve diğer testler |
|--------------------------------------|--|--|---|
| Bakteri ve bakteri benzerleri | Gram boyama morfolojisi | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsisi. | S. pneumoniae için idrar antijeni. |
| Zorunluanaeroblar | Gram boyama morfolojisi | Kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsisi | |
| Mycoplasma pneumoniae | PCR | Boğaz veya nazofarengeal sürüntü. (Nadiren yapılır, özel kültür teknikleri gerektirir.) | ELISA*; KB**; soğuk aglütinasyon |
| Chlamydia pneumoniae | PCR | Boğaz veya nazofarengeal sürüntü. (Nadiren yapılır, özel kültür teknikleri gerektirir.) | MIF*** |
| Chlamydiapsittaci | | Genellikle yapılmaz. (Laboratuvar kazası riski) | KB |
| Legionellasp. | İdrar antijeni testi, PCR, DFA (L. pneumophilia serogrup 1 için özel, ancak diğer serogruplarla ve türlerle yalancı pozitiflik). | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | IFA 1=> 128; tek titre saptanması düşük özgül sonuçlara yol açar. |

| | | | |
|--------------------------|---|---|--|
| Nocardia sp. | Gram boyama morfolojisi, modifiye karbol fuksin boyama | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | - |
| Coxiella burnetti | - | - | KB |
| Mycobacterium sp. | ARB boyama (florokrom veya karbol fuksin) | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | - |
| Patojenikfungi | | | |
| Histoplasma sp. | GMS veya kalsiflor beyazı boyası | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | KB, kan, idrar ve solunum sekresyonlarında Histoplasma kapsül antijen testleri |
| Coccidioides sp. | Calcoflour beyazı boyası veya KOH le faz kontrast mikroskopisi | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | KB |
| Blastomyces sp. | Calcoflour beyazı boyası | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | - |
| Cryptococcus sp. | Calcoflour beyazı boyası veya KOH'le faz kontrast mikroskopisi. | - | Serum antijeni için ELISA veya LA |
| Fırsatçımantarlar | | | |
| Candida sp. | Gram boyama | Ekspektore balgam, kontamine olmamış pleural sıvı, kan, TTA veya TBA veya akciğer biopsi örneği. | Histoloji istenir (Candida implecata). |
| Aspergillus sp. | GMS veya kalsiflor beyazı boyası | Solunum sekresyonlarının boyanması, kontamine olmamış örnekler, histoloji ve biopsi örnekleri | Allerjik bronkopulmonary aspergilloz: serology; septalı hif elemanlarının görülmesi. |
| Zygomycetes sp. | GMS veya kalsiflor beyazı boyası | Solunum sekresyonlarının boyanması, kontamine olmamış örnekler, histoloji ve biopsi örnekleri | Solunum sekresyonlarında geniş septumsuz hif elemanları. |
| Pneumocystis carinii | GMS, Giemsa veya DFA boyama. | İndükte balgam, bronkoskopi | - |
| Virüsler | | | |
| Influenza | ELISA ile antijen saptanması, DFA boyama | Nazofarengeal sürüntü örnekleri. | KB, HAI, ELISA, DFA+, PCR++. |
| RSV | ELISA ile antijen saptanması, DFA boyama | Nazofarengeal yıkama örnekleri. | - |
| Adenovirüs | DFA boyama, PCR | Nazofarengeal sürüntü örnekleri. | ELISA, RIA+++ |
| Parainfluenza | DFA boyama | Nazofarengeal sürüntü örnekleri. | - |
| Varicella | Deri lezyonları ile birlikte klinik bulgular | Virüs izolasyonu | KB (akut dönemde negatif) |
| Herpes simpleks CMV | Tipik sitopaloji Solunum sekresyonlarının tipik sitopatolojisi | Virüs izolasyonu 24 saat inkübasyonlu shell vial metodu. DFA boyaması veya periferik PNL immunofloresans. | Histopatoloji (tercihan) Histopatoloji (tercihan) |
| Hantavirüs | PCR | - | Tam kan sayımı, IgM ve IgG için ELISA, antijen için immünohistokimya. |

*ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, **KB: Kompleman Birleşme, ***MIF: Microimmunofluorescence, ****LA: Latex agglütinasyon, *****HAI: Hemagglütinasyon inhibisyonu, +DFA: Direkt Floresan Assay, ++PCR: Polymerase Chain Reaction, +++RIA: Radyoimmün Assay.

SONUÇ

Ayaktan takip edilecek hastalar için tanısal testler: Pnömoni tanısı için, göğüs radyografisinde bir infiltrasyon görülmesi beklenir. Bu nedenle posterior-anterior ve yan göğüs radyogramları tavsiye edilir. Hastaneye yatmaya aday olan hastalar için ek testler Tablo 9'da özetlenmiştir. Klinik durumu ağır olmayan ve hastaneye yatırılması gerekmeyen hastalar için, kültür ile beraber veya değil, Gram boyaması yapılması takip eden hekimin isteğine bağlıdır. Formül ve kan sayımı hastalığın ilerisini değerlendirmek, hastalığın ağırlığını, eşlik eden durumların varlığını ve infeksiyonun kronikliğini saptamak için bazen yardımcı olur (3,5).

Hastaneye yatırılan hastalar için tanısal testler: Hastaneye yatırılmış hastalara uygulanacak tanısal testler Tablo 9'da izlenmektedir. Hastaneye yatırılmış akut pnömonili hastalardan, antibiyotik tedavisi verilmeden, tercihan 10 dakikadan uzun aralıklarla birden fazla kan kültürü alınmalıdır. Yine antibiyotik tedavisi verilmeden derin bir öksürükle ekspektore olan balgam bir hemşire veya hekim gözetiminde sağlanmalıdır. Bu örnek 2 saat içinde Gram boyama ve kültür için laboratuvara ulaştırılmalıdır. Klinik olarak düşünüldüğünde Legionella sp., M. tuberculosis ve diğer patojenler için özel testler istenmelidir. Akut dönemde, hastaların tedavisi, mikrobiyolojik test

Tablo 9. Toplumdan edinilmiş pnömonilere tanısal yaklaşım.

| | | |
|-------------------------|---|--|
| İlk görüşme | Göğüs radyografisi (Pnömoni tanısını kanıtlamak, eşlik eden akciğer hastalığını saptamak, bazı olgularda etken patojeni öngörebilmek, ciddiyeti değerlendirmek ve tedaviye cevabı değerlendirebilmek için başlangıç oluşturması için) | |
| Ayaktan hastalar | Sıradan bakteriler için balgam Gram boyaması ve kültür isteğe bağlı yapılabilir. | |
| Yatan hastalar | <u>İstenmesi gereken testler</u> Tam kan sayımı ve formül | <u>İstenmesinde fayda olan testler</u> Serum kreatinin, üre, glikoz, elektrolit, bilirubin, karaciğer fonksiyon testleri 15-54 yaşları arasındaki kişiler için HIV serolojisi. Gerekli hastalar için akciğer kan gazları. |
| | Kan kültürü (x2, tedaviye başlamadan) Balgamın Gram boyaması ve kültürü. | Ekspektore balgama alternatif örnekler: Entübe hastaların aspiratları, trakeotomi aspiratları ve nasotrakeal aspiratlar. Transtrakeal aspirasyon. Bronkoskopi. |
| | Mycobacterium tuberculosis için ARB boyası ve kültürü (bir aydan fazla öksürüğü, diğer genel bulguları ve uyumlu radyolojik değişiklikleri olan hastalar için) >40 yaş üzerinde, bağışık yanıtı normal, beta laktam antibiyotiklere cevap vermeyen, klinik özellikleri tanıyı destekleyen veya salgın varlığında, veya tanı almamış ciddi hasta olan tüm hastalar için Legionella testleri. Plevral sıvının boyama, kültürü ve pH ve lökosit formülü. | |
| İsteğe bağlı | Klinik özelliklere, kaynakların uygunluğuna, altta yatan durumlara ve/veya epidemiyolojik özelliklere göre ilave yapılabilecek sitolojik ve mikrobiyolojik testler, Tablo 8'de izlenmektedir. Serum: Eğer ihtiyaç varsa, dondurulup serolojik testler için saklanır. | |

ler için örnek sağlanması amacıyla geciktirilmemelidir. İndükte balgam örneklerinin genel kullanımı sınırlıdır; ancak P. cariini ve M. tuberculosis saptanmasında değeri vardır. Bronkoskopi ve kantitatif bakteriyoloji ile beraber bronkoskopik incelemeler, bağışıklığı baskılanmış konakta pnömoni, prodüktif öksürüğü olmayan tüberküloz şüphesi, kronik pnömoni, kitle ve yabancı cisim şüphesi, Pneumocystis pnömonisi veya akciğer biopsisi gerektirebilecek seçilmiş olgularda uygulanmalıdır (3-5,18).

Tedaviye cevabın değerlendirilmesi

Tedaviye beklenen cevapta, konağın bağışıklık durumu, hastalığın ağırlığı, patojen ve göğüs filmi bulguları önem taşır. Göreceli bir cevap genellikle tedavinin başlangıcından sonra 1-3 içinde izlenir. Objektif parametreler ise, solunumsal semptomlar (öksürük, dispne), ateş, oksijen parsi-

yel basıncı, periferik lökosit sayımı, seri radyografilerdeki bulgulardır. Ateş pnömokoksik pnömonide ortalama 2.5 gün, bakteriyemik pnömonide 6-7 günde düşer. Yaşlı hastalarda febril yanıt izleniyorsa kontrol altına alınması daha fazla zaman alır. Mycoplasma pnömonisinde hastalar 1-2 günde afebril hale geçerler. Bağışıklığı normal hastalarda ise legionella infeksiyonunda defervesans ortalama 5 gündür (3).

Bakteriyemik pnömonili olgularda kan kültürleri genellikle tedavinin 24-48 saatinde negatifleşir. Genellikle solunum sekresyonlarındaki patojen 24-48 saat içinde baskılanır. P. aeruginosa (ve diğer Gram negatif basiller), uygun tedaviye rağmen kalıcı olabilir. M. pneumoniae da genellikle etkili tedaviye rağmen uzun süre solunum yollarında kalabilir. Tüberküloz dışında, kan ve balgam takip kültürleri hastaların tedaviye cevaplarını göstermez (3).

KAYNAKLAR

1. Donowitz GR, Mandell GL. Acute pneumoniae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone. 1995: 619-37.
2. Bilgehan H. Alt solunum yolu infeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısı. Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir: Şafak Matbaası. 1992: 305-9.
3. John G. Bartlett, Scott F. Dowell, Lionel A. Mandell, Thomas M. File, Jr., Daniel M. Musher, and Michael J. Fine. Guidelines from the infectious diseases society of America. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. Clinical Infectious Diseases 2000; 31: 347-82.
4. Grossman RF, Fein A. Evidence-Based Assessment of Diagnostic Tests for Ventilator-Associated Pneumonia. Chest 2000; 117: 177-81.
5. G. Huchon, M. Woodhead, Gialdroni-Grassi, P. Léophonte, F. Manresa, T. Schaberg, A. Torres. Guidelines for management of adult community-acquired lower respiratory tract infections. Eur Respir J 1998; 11: 986-91.
6. Woods GL, Washington JA. The clinical and the microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995: 169-99.
7. Koneman EW, Allen SD, Jonda WM, Schreckenberger PC, Win WC Jr. The role of the microbiology laboratory in the diagnosis in infectious diseases. Guidelines to practice and management In Color atlas and text book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company, 1997: 1-39.
8. Şenol G, Biçmen C, Öztuna I. Alt solunum yolu infeksiyonu olan hastaların hemokültürlerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotiklere dirençleri. Solunum 2002; 4: 449-53.
9. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol 1. Washington, DC. American Society for Microbiology, 1992: 1.1-1.6, 1-12, 1.5.
10. Forbes BA, Granato PA. Processing specimens for bacteria. In: Murray PR (ed). Washington, DC: American Society for Microbiology; 1995: 265-81.
11. Chapin K. Clinical microscopy. In: Manuel of Clinical Microscopy. Murray PR.(ed). ASM Pres. 6th Washington; 1995: 41-2
12. Koneman EW, Allen SD, Jonda WM, Schreckenberger PC, Win WC Jr. The role of the micro-

biology laboratory in the diagnosis in infectious diseases. Guidelines to practice and management. In: Color atlas and text book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia: JB. Lippincott Company; 1997: 121-70.

13. Yüce A. Pnömonilerde mikrobiyolojik tanı. Ekim N (ed). Solunum sistemi infeksiyonları. Ankara: Toraks Derneği; 2001: 110-24.
14. Bartlett JG. Invasive diagnostic techniques in pulmonary infections. In: Pennington J, ed. Respiratory infections: diagnosis and management. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994: 73-99.
15. Wermert D., Marquette C.-H., Copin M.-C., Wallet F., Fraticelli A., Ramon P., Tonnel A.-B. Influence of Pulmonary Bacteriology and Histology on the Yield of Diagnostic Procedures in Ventilator-Acquired Pneumonia. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 1998; 158(1): 139-47.
16. De Jaeger A., Litalien C., Lacroix J., Guertin M.-C., Infante-Rivard C. Protected specimen brush or bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial nosocomial pneumonia in ventilated adults: A meta-analysis. Critical Care Medicine 1999; 27(11): 2548-60.
17. Jimenez P, Saldias F, Meneses M, et al. Diagnostic fiberoptic bronchoscopy in patients with community-acquired pneumonia: comparison between bronchoalveolar lavage and telescoping-plugged catheter cultures. Chest 1993; 103: 1023-7.
18. Karas S, Lukens CTW. Clinical Policy for the Management and Risk Stratification of Community-

Acquired Pneumonia in Adults in the Emergency Department. Ann Emerg Med. July 2001; 38: 107-13.

19. Bregeon F. Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator-associated bacterial pneumonia. Europ Respir J 2000; 16(5): 969-75.
20. Senol G, Biçmen C. Alt solunum yolu örneklerinin incelenmesinde Gram boyamanın önemi. İnfeksiyon Dergisi 2002; 16(2): 195-9.
21. Edelstein PH. Legionnaires' disease. Clin Infect Dis 1993; 16: 741-9.
22. Ieven M, Goossens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 242-56.
23. Dorigo-Zetsma JW, Zaat SAJ, Wertheim-van Diller PME, et al. Comparison of PCR, culture, and serological tests for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae respiratory tract infection in children. Clin Microbiol 1999; 37: 147
24. Grayston JT, Aldous MB, Easton A, et al. Evidence that Chlamydia pneumoniae causes pneumonia and bronchitis. J Infect Dis 1993; 168: 1231-5.

Yazışma Adresi:

Dr. Güneş ŞENOL
İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Hastanesi, İZMİR
Tel : 232 433 33 33/137
E-mail : gunes_senol@hotmail.com
