

ALTSOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDA MİKROBİYOLOJİK TANI

Prof. Dr Neziha YILMAZ
Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi

EKMUD ANKARA GÜNLERİ
2015 OCAK

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, dünyada yaklaşık 4.180.000 kişi solunum yolu enfeksiyonları nedeniyle ölmektedir

Ölüm nedenleri arasında dünyada üçüncü, düşük gelirli ülkelerde ise ilk sırada yer alır

Hastaneye yatış nedenleri arasında üriner sistem enfeksiyonlarından sonra ikinci sıradadır.

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en fazla morbidite ve mortaliteye nedenidir

DSÖ raporuna göre enfeksiyonlardan kaynaklanan mortalitenin % 20'sinden ASYE sorumlu

Ramana KV. Int J Res Med Sci. 2014 Feb;2(1):10-12

TABLE 1. Most common pathogens implicated in lower respiratory tract syndromes and their relative contributions^a

Disease and pathogen	% of cases
Acute bronchitis	
Respiratory viruses ^b	90
<i>Bordetella pertussis</i> - <i>Bordetella parapertussis</i>	5-10 ^c
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	5-10 ^c
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	5-10 ^c

TABLE 1. Most common pathogens implicated in lower respiratory tract syndromes and their relative contributions^a

Disease and pathogen	% of cases
Community-acquired pneumonia	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	66
<i>Haemophilus influenzae</i>	1–12
<i>Legionella</i> species.....	2–15
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2–14
<i>Klebsiella</i> species.....	3–14
Enteric gram-negative bacilli.....	6–9
<i>Staphylococcus aureus</i>	3–14
<i>Chlamydia</i> species.....	5–15
Influenza virus.....	5–12
Hantaviruses.....	<1–2
Other viruses.....	<1–12
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<1–10
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<1–2
Unknown.....	23–49

TABLE 1. Most common pathogens implicated in lower respiratory tract syndromes and their relative contributions^a

Disease and pathogen	% of cases
Hospital-acquired pneumonia	
Gram-negative bacilli	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
<i>Enterobacter</i> species.....	11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
Other enteric gram-negative bacilli.....	9
<i>Acinetobacter</i>	3
<i>Legionella</i> species.....	0-2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0-2
Other	0-10
Gram-positive cocci	
<i>Staphylococcus aureus</i>	17
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2-20
Other	2-5
Anaerobes.....	10-20
Fungi	0-10
Mixed	13-54

Table 3. Regional Incidence of Pathogens Isolated from Patients Hospitalized with Pneumonia in the Last 5 Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (31,436 Cases).

Pathogen	Incidence, %			
	All regions	United States	Europe	Latin America
<i>Staphylococcus aureus</i>	28.0	36.3	23.0	20.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21.8	19.7	20.8	28.2
<i>Klebsiella</i> species	9.8	8.5	10.1	12.1
<i>Escherichia coli</i>	6.9	4.6	10.1	5.5
<i>Acinetobacter</i> species	6.8	4.8	5.6	13.3
<i>Enterobacter</i> species	6.3	6.5	6.2	6.2
<i>Serratia</i> species	3.5	4.1	3.2	2.4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3.1	3.3	3.2	2.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.9	2.5	3.6	2.4
<i>Haemophilus influenzae</i>	2.7	2.5	3.7	1.3

Tablo 7: Ülkemizde hastane kökenli pnömoniler, ventilatörle ilişkili pnömoniler ve yoğun bakımda gelişen pnömonilerdeki etkenler ve % olarak oranları (11-14)

Etkenler	HKP (11)	HKP (13)	VİP (12)	YB (14)
<i>P.aeruginosa</i>	23	36	38	25
<i>MRSA</i>	*	**	15	?
<i>Acinetobacter spp</i>	22	22.8	12	14
<i>K.pneumoniae</i>	17	14.6	12	11
<i>MSSA</i>	*	**	4	?
<i>E.coli</i>	5	2.7	3	5.3
<i>Kuagülaz (-) stafilokoklar</i>	?	?	3	?
<i>Enterobacter spp</i>	?	2.7	3	?

- * *MRSA/MSSA* ayırımı yapılmadan *S.aureus* olarak bildirilmiş: % 15
- ** *MRSA/MSSA* ayırımı yapılmadan *S.aureus* olarak bildirilmiş: % 16.8

11. Akalın H,Özakın C,Sütçü S,ve ark. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde hastane infeksiyonları. Klinik 1999;12:55-7.
12. Uzel S,Çağatay A,Özsüt H, ve ark. Yoğun bakım biriminde ventilatörle ilişkili pnömoni etkeni olabilecek bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Klinik 1999;12:60-4.
13. Sevinç C,Uysal Ü,Kılınç O,et al. Clinical and bacteriological features of hospital acquired pneumonias. ERS Annual Congress Abstract Book 2001:p
14. Akalın H,Özakın C,Kahveci F. Yoğun bakım biriminde en sık izole edilen Gram-negatif bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. Klinik 1999;12:65-8.

Yaşa göre pnömoni Etkenleri

<u>Yaş</u>	<u>En olası Pnömoni etkeni</u>
Yenidođan (0-1 m)	E. coli, S. agalactiae
Bebek (1--6 m)	C. trachomatisrhomatis, RSV
Çocuk (6 m-5 y)	RSV, parainfluenza v.
Çocuk (5-15 y)	M. pneumoniae, influenza A
Genç (16-30 y)	M. pneumoniae, S. pneumoniae
Erişkin(> 30 y)	S. pneumoniae, H. influenzae

HASTANE KAYNAKLI PNÖMONİLERDE KOLAYLAŞTIRICI FAKTÖRLER VE ETKENLER

KOLAYLAŞTIRICI	ETKEN
Aspirasyon, abdominal cerrahi geçirilmesi	Anaeroblar
Koma, kafa travması geçirilmesi, influenza İV ilaç bağımlılığı, diabetes mellitus, böbrek yetmezliği	S.aureus
Yüksek doz steroid kullanımı	Legionella
Antibiyotik kullanımı, invaziv mekanik ventilasyon	Acinetobacter
Antibiyotik kullanımı, uzamış invaziv mekanik ventilasyon	MRSA
Yoğun bakımda izlem, steroid /antibiyotik kullanımı, yapısal akciğer hastalığı, malnütrisyon, uzamış hospitalizasyon, invaziv mekanik ventilasyon uygulanması	P.aureginosa

Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Tanı Zorlukları

- %40-60'ında etken üretilememektedir (Kültür duyarlılığı düşük ~ %50).
- Pnömoni etkenleri zor üreyen bakterilerdir.
- ASY örnekleri ÜSY florası ile kontamine olabilmektedir.
- Hastanede gelişen pnömonilerde geniş bir etken dağılımı vardır (Özellikle ventilatör ilişkili pnömonilerde).
- VIP'te balgam dışı ASY örnekleri tanıda daha değerlidir.

ASYE TANISINDA KULLANILAN MİKROBİYOLOJİK YÖNTEMLER

- Direkt mikroskopi
- Kültür
- Serolojik testler
- Molekuler tesler
- MALDITOF-MS

Solunum yolu örnekleri

Balgam örnekleri

Noninvaziv teknikler Endotrakeal aspirat (ETA)

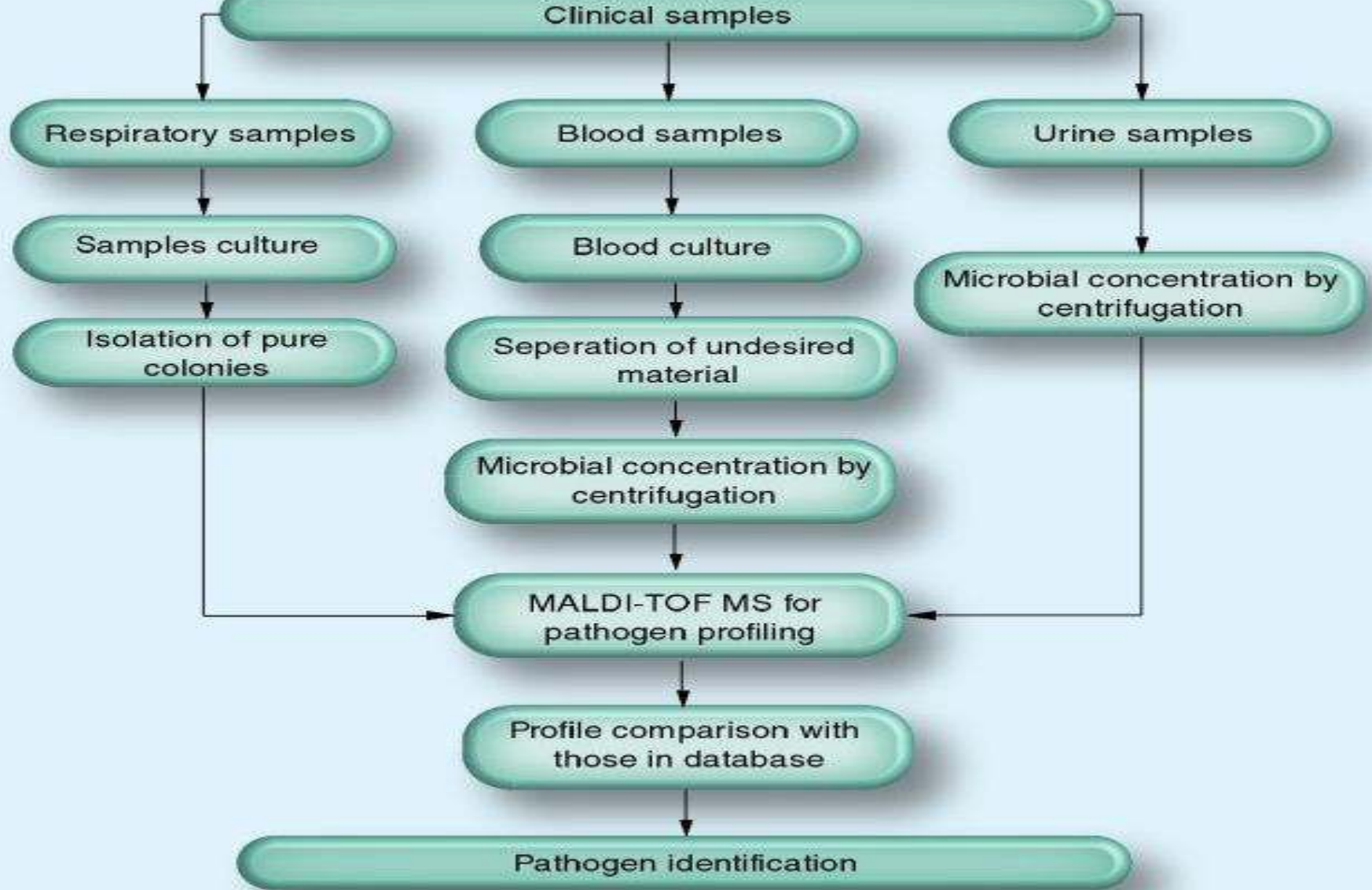
İnvaziv teknikler

- Bronkoskopik Korunmuş fırça örneği (KFÖ)
Bronşiyal yıkama
Bronkoalveolar lavaj (BAL)
Transbronşiyal biyopsi
- Nonbronkoskopik Mini BAL
- Perkütan Akciğer iğne biyopsisi
Trans torasik iğne aspirasyonu (TTİA)
Plevral sıvı-torasentez
- Cerrahi Akciğer biyopsisi

Teknik	BALGAM/BALGAMDIŐI GRAM BOYA/ DİREKT MİKROSKOBİ
Avantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Hızlı➤ predominant morfoloji belirler➤ Ampirik tedaviyi yönlendirir➤ Kültür sonuçlarını öngörebilir➤ Direkt Kantitasyon➤ Polimikrobial etkeni gösterebilir
Dezavantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Duyarlılık ve özgüllük düşük➤ Doğru tanımlama yetersiz➤ Viral pnömöni için uyumlu değil➤ Laboratuvarlar arası farklılık gösterir➤ Yorumlanması deneyim gerektirir

Teknik	BALGAM/BALGAM DIŞI ASY ÖRNEĞİ KÜLTÜR
Avantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Ampirik tedavinin de-escalasyonu➤ Patojen yükünü belirler➤ Kolonizasyon/enfeksiyon ayırımı➤ Antibiyotik duyarlılık testi➤ En azından tür düzeyinde doğru identifikasyon➤ Polimikrobiyal tanımlama potansiyeli var
Dezavantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Sonuçlanması 48-72 saat veya daha uzun➤ Kültür yapılamayan patojenleri tesbit edemez➤ Başlangıç antibiyoterapi için yol gösterici değil

Teknik	MALDI-TOF MS
Avantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Ucuz➤ Hızlı➤ Doğru identifikasyon➤ Polimikrobiyal tanımlam potansiyeli var
Dezavantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Kültür bağımlı➤ Yenitürleri tesbit edemez➤ Miks flora ??



Source: Future Microbiol © 2013 Future Medicine Ltd

Figure 2.

Available applications and workflow of matrix-assisted laser desorption ionization TOF mass spectrometry using different clinical samples.

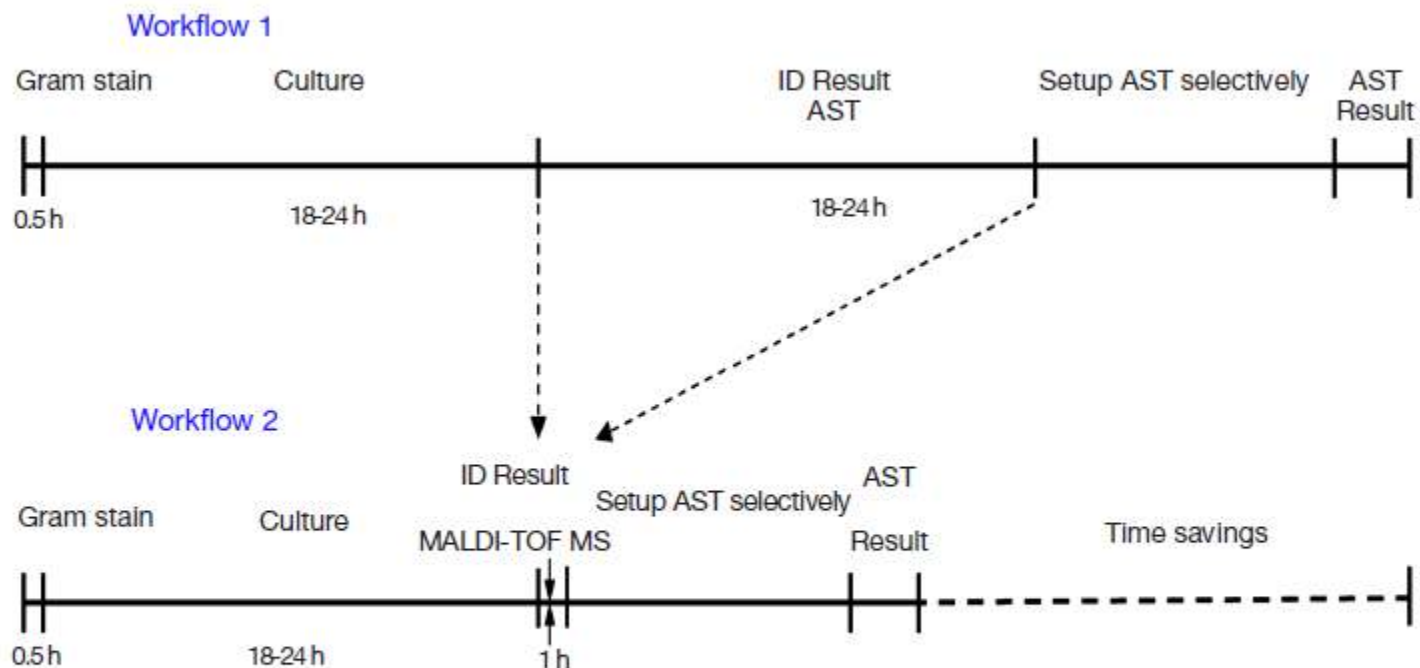
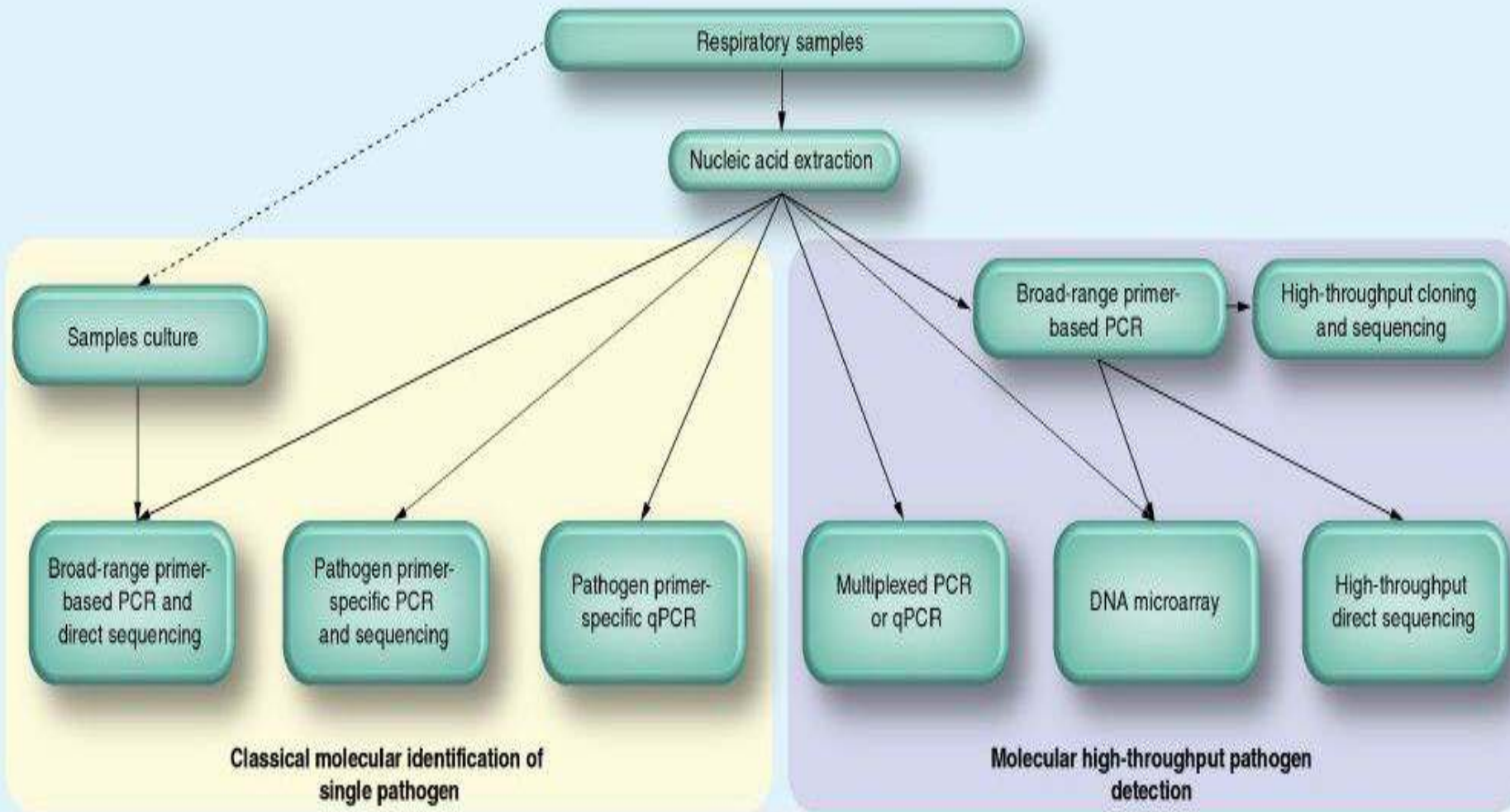


Figure 1 Comparison of new method workflow with traditional culture workflow. In the ideal situation when there is one predominant colony grow from the culture. If there are mixed cultures with different colonies, the time of saving could be two days as the subcultures are needed for pure colony and for identification by conventional method. Workflow 1, conventional culture; workflow 2, new method with MALDI-TOF MS; ID, identification; AST, antimicrobial susceptibility testing.

Teknik	SEROLOJİK TANI Antijen/Antikor
Avantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Hızlı➤ Kronik / akut enfeksiyon ayrımı➤ Serokonversiyonu gösterir➤ Kompleks Polimikrobiyal tanımlama potansiyeli
Dezavantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Çapraz reaksiyon➤ İkinci serum ihtiyacı

Teknik	MOLEKÜLER TANI
Avantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Yavaş üreyen yada kültürü yapılamayan patojenlerin tesbit eder➤ Yüksek doğrulukta identifikasyon➤ Tüm solunum örneklerine uygulanabilir➤ Kompleks Polimikrobiyal tanımlam potansiyeli var
Dezavantaj	<ul style="list-style-type: none">➤ Antibiyotik duyarlık testi yapılamaz➤ PAHALI➤ PCR inhibitörleri nedeni ile yalancı negatiflik verebilir

**Figure 3.**

Classical and modern molecular tools for single- and high-throughput pathogen detection.

KLİNİK TABLOYA GÖRE ÖRNEK SEÇİMİ

Örnek	Bronşit	TK pnömoni ayaktan	HK pnömoni	VAP	Immun yetmezlik
ÜSY	(+)	(+)	-	-	(+)
Balgam	+	+	+	-	+
TA			(+)	(+)	-
Kan kült	-	-	+	+	+
idrar	-	(+)	(+)	-	(+)
Br yıkama / fırca	(+)	-	-	-	(±)
PSB	-	-	+	+	(+)
BAL	-	-	+	+	+
TBB/TBİA	-	-	-	-	(+)
TTA	-	-	(+)	-	-
TTİA	-	-	-	-	(+)
AABiyop	-	-	-	-	(+)

Balgam makroskobik inceleme

Görünüm/Renk	En olası etken / pnömoni tipi
Pürülan	Tipik pnömoni
Mukoid	Interstisiyel pnömoni
Pas rengi	<i>S. pneumoniae</i>
Yeşil renk	<i>S. pneumoniae</i>
Kalın jöle kıvamı	<i>P. aeruginosa</i> , <i>H. influenzae</i>
üzüm rengi	<i>K. pneumoniae</i>
Fazla miktarda kan	Kaviter tbc, A.C. apsisi
Kötü koku	Anaeroplara

Sonuçların doğruluğu balgam örneğinin kalite ve kantitesine bağlı

<p>Uygun örnek alınması</p> <p>Orofaringeal flora kontaminasyonuna dikkat!!!!!!</p>	<p><u>Normal Balgam</u> Örnek vermeden önce 1-2 saat yemek Ø SF/ Su ile ağız çalkalanmalı Derin nefes alıp öksürerek balgam çıkarmalı</p> <p><u>İndüklenmiş balgam</u> Balgam çıkaramayan hastalarda %3-5 NaCl nebulizatörle aerosol olarak 4 kez 5'er dakika solutulur</p> <p><u>Gastrik aspirasyon /lavaj</u> Balgam çıkaramayan hastal/Çocuk hastalar Gastrik lavaj içeriği nötralize edilmeli</p>
<p>Hızlı laboratuvara nakil</p>	<p>mümkün olabilen en kısa süre (maksimum2 saat içinde)</p>
<p>Laborauvarda uygun örnekleme</p>	<p>Pürülan kısımdan</p>
<p>Boyama /kültür</p>	<p>teknikğine uygunkanlı,cukulata, MacConkey by ekim</p>
<p>Örnek kabulünde bilinmesi gerekenler</p>	<p>Kimlik bilgileri Örnekleme saati Ön tanı Örnek cinsi Servis / Poliklinik Antibiyotik kullanımı Altta yatan hastalık</p>

Table 6. Criteria for assessing specimen quality by microscopic screening of lower respiratory tract secretions

Author(s) (yr)	Reference	Method ^a	Minimum criteria for specimen acceptance ^b
Bartlett (1974)	25	Sum of neutrophils/LPF (10-25, +1; >25, +2), mucus (+1), and SEC/LPF (10-25, -1; >25, -2)	Score of >0
Murray and Washington (1975)	196	Enumerate SEC/LPF	<10 SEC/LPF
Van Scoy (1977)	280	Enumerate neutrophils/LPF	>25 neutrophils/LPF
Geckler et al. (1977)	102	Enumerate SEC/LPF	<25 SEC/LPF
Barry (1978)	12	Sum of neutrophils/LPF (1-75, +1; 76-150, +2; >150, (5-15, +3) and SEC/LPF (-1; 16-25, -2; >25, -3)	Positive summation score
Heineman and Radano (1979)	118	Ratio of neutrophils to SEC	>10 neutrophils/SEC
Kalin et al. (1983)	136	Ratio of neutrophils to SEC	>5 neutrophils/SEC
Morris et al. (1993)	189	Enumerate SEC/LPF and presence or absence of organisms/OIF	<10 SEC/LPF and organisms present
Zaidi and Reller (1996)	298	Presence or absence of organisms/OIF	Organisms present

^a LPF, low-power field; SEC, squamous epithelial cells.

*Örnek kalite standartları geliştirilmiştir.
(PMN/SEC oranı SEC, PMNL sayısına göre)*

Bartlett Skorlama Sistemi

	Hücre Sayısı X100 Büyütmede		Skor
PMNL	<10		0
	10-25	+1	
	>25		+2
Mucus			+1
Skvamoz Epitel Hücresi	10-25		-1
	>25	-2	

20-30 alan incelenir

0 skoru inflamasyon yok / kontaminasyon

Kaliteli balgam örneği



Mikroskopide

Her alanda (100X büyütme)

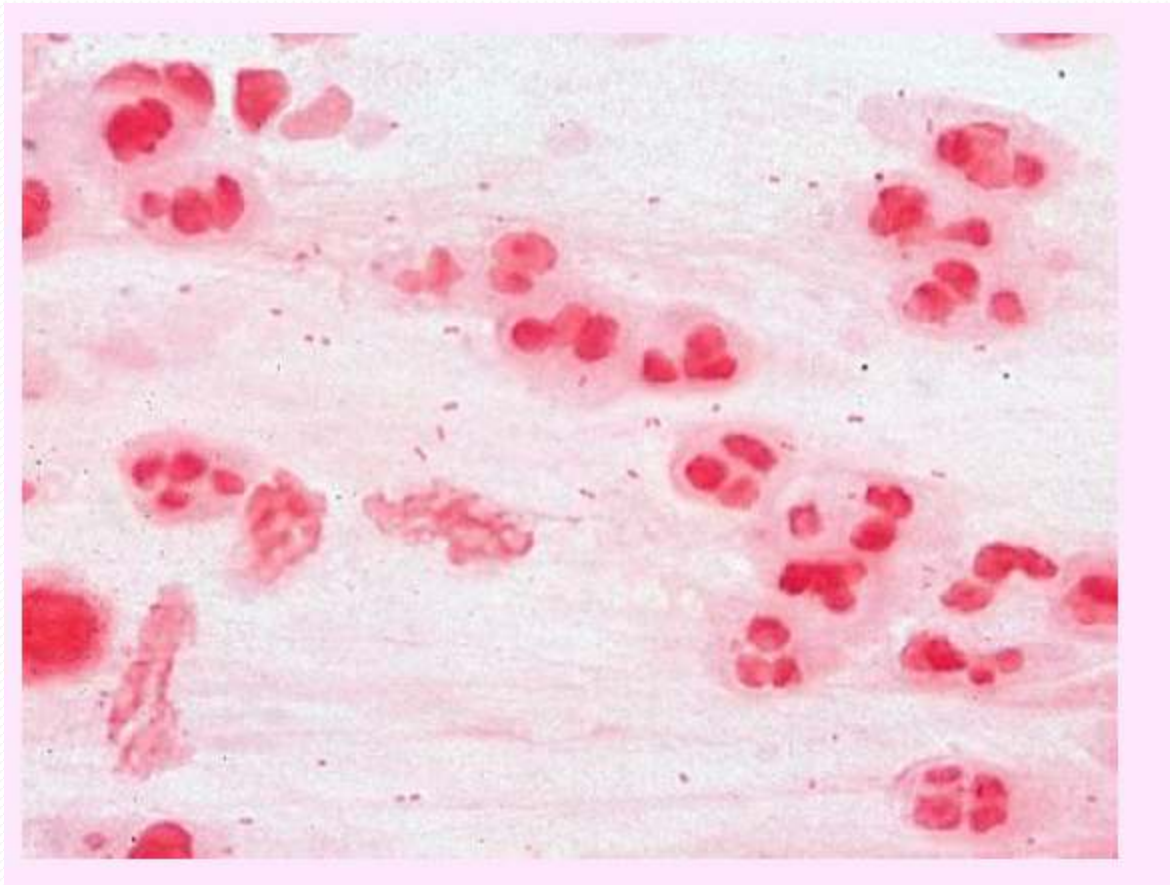
<10 yassı epitel ve

>25 nötrofil görülmesi

Nötrofil / epitel: > 5:1

Mukus iplikçikleri

Uygun balgam örneği



Prospective Study of the Usefulness of Sputum Gram Stain in the Initial Approach to Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization Roson, B, et. al. 2000. Clin Infect Dis 31:869-74.

Prospektif çalışma

1,000 yataklı bir hastane

Acil Dr.ları balgam alınması, Gram /kültür konusunda bilgilendirilmiş

TKP tanısı ile hastanede izlenen immun sistemi sağlam hastalardan balgam örnekleri asistan ya da hemşire gözetiminde alınmış

Sonuçlar

190/533 (%35.6) hasta örnek vermemiş.

133/533 (%25) hasta kötü örnek vermiş.

210/533 (%39.4) hasta kaliteli vermiş.

Prospective Study of the Usefulness of Sputum Gram Stain
Prospective Study of the Usefulness of Sputum Gram Stain in the Initial Approach to Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization

Kaliteli balgam örneği n=210

Gram prep. + kültür

Direkt Mikroskopisi

	Duyarlılık	Özgüllük
Pnömonokok	% 57	% 97
H. influenzae	% 82	% 99

Kombine tdv. yerine monoterapi başlama % 95

İyi örnekte Gram boya ile tanı %80

Maliyetin düşürülmesi ve antimikrobiyal tedavinin yan etkilerinin azaltılmasına katkı

BALGAM DIŞI MATERYAL

Gram preparatı sonuç raporu

Hücre (Epitelyal/PMNL)

Tanım	OIF(x100)
1+ Nadir	<1
2+ Az	1-5
3+ Orta	6-10
4+ ok	>10

Mikroorganizma (Bakteri/mantar)

Tanım	OIF(x100)
1+ Nadir	<1
2+ Az	2-10
3+ Orta	11-50
4+ çok	>50

>10 saha incelenmeli

Alt solunum yolu örnekleri - Gram Yayma

- ✓ Örneğin kalitesi hakkında bilgi verir.
- ✓ Anında ve önemli bilgi sağlayan en iyi ve ucuz yöntemdir.
- ✓ Kültür sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir.
- ✓ İşleme alma şeklini belirler.
- ✓ Hücresel durum hakkında bilgi verir.
- ✓ Biyopsi örneğinde sürtme preparat veya homojenattan hazırlanır.
- ✓ BAL/ETA örneklerinde sitosantrifüjle (100 μ L örnek, 3000 rpm'de 5 dk santrifüjlenir) yayma yapılır.
- ✓ Aspirasyon pnömonisi için yaymada, nötrofiller içinde, pleomorfik Gram (-) basiller ile Gram (+) koklar ve basiller görülmesi, karakteristiktir. Tedavide, anaeroblar da dikkate alınmalıdır.

Alt solunum yolu örnekleri-Gram Yayma

Aspirasyon pnömonilerinde Gram yayma önemli !!

- ≤ 10 Epitel hücresi
- ≥ 25 PNL
- ≥ 50 mik org / imm oil
- Hücre içi Gram(+) ve (-) bakteriler

“Yaymada, nötrofiller içinde, Pleomorfik Gram (-) basiller ile Gram(+) koklar ve basiller görülmesi, aspirasyon pnömonisi için karakteristiktir.

Tedavinin, anaerobları da içermesi sağlanır”

ETKENE ÖZGÜ RUTİN TANISAL İŞLEMLER

işlem	Etken	teknik	özellik
Boyama	Bakteri , Nocardia spp. Mikobakteri, Fungal , P.jirovecii	Gram ARB Calcoflor beyazı ,Giemsa Toluidin mavisi	TA: Epitel hücresi > 10 (10X) Gram yaymada mo görülmemesi BAL: >%1 epitel hücresi kontaminasyon Bakteri içeren PNL oranı %5 pnömoni için spesifiktir
Kültür	Bakteri , Nocardia spp. Mikobakteri, Legionella pneumophila, Mantar viral kültürler	Kantitatif kültür , özel besiyeri	Trakeal aspirat >10 ⁵ BAL >10 ⁴
Sitolojik inceleme	Hücre differansiasyonu Intrasellüler patojen Sitopatojenik etki		
Antijen testleri	Bakteri, legionella Pneumocystis jirovecii Mantar, klamidy, Virüsler	Lateks, immunfloresans ELISA	
Nükleik asit amplifikasyon testi	C. pneumoniae M.tbc, P.jirovecii, Legionella, virüsler M pneumoniae		Pahalı Standardizasyon zor Kolonizasyon-inf

Balgam dışı ASY Örneklerde kalite kriterleri

Numune	İnceleme yöntemi	İnceleme sonucu	
		Uygun	Uygun olmayan
Trakeal aspirat	Gram boyalı yaymanın mikroskopik incelemesi	<10 SEH/ortalama 10X alan ve en az 1-20 alanda (X100) bakteri tespiti	>10 SEH/ortalama 10X alan ve 20 alanda (X100) bakteri yok
Bronkoalveoller lavaj sıvısı	Gram boyalı yaymanın mikroskopik incelemesi	Hücrelerin <%1'inde SEH	Hücrelerin >%1'inde SEH

ALT SOLUNUM YOLU BAKTERİYEL KÜLTÜR SONUÇLARININ YORUMLANMASI

Numune	Kayda değer olması muhtemel	Kayda değer olması muhtemel olmayan	Önemli izolat olduğunu düşündüren ek bilgiler
Trakeal aspirat	Gram boyama ve kültürde hakim muhtemel patojen Bol PMNL	Muhtemel patojen kültürde sadece 1-2 + ürer. Gram boyamada PMNL bol değildir.	$>10^5$ CFU/mL muhtemel patojen. PMNL içinde muhtemel patojen (intraselüler bakteriler).
Bronkoalveoller lavaj sıvısı	X100 büyütmede Gram boyalı yaymanın her alanında hakim muhtemel patojen görülür. Kantitatif kültürde $>10^5$ CFU/mL muhtemel patojen belirlenir.	Muhtemel patojen Gram boyamada görülmez. Kantitatif kültürde $>10^4$ CFU/mL muhtemel patojen belirlenir.	PMNL içinde muhtemel patojen (intraselüler bakteriler).

ALT SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN KANTİTATİF KÜLTÜRÜ BAL/ETA, KFÖ

Özgüllük artar, duyarlılık “sınır değer”e bağlıdır.

- **Duyarlılık ve özgüllük:** BAL/ETA % 70 – 100
KFÖ % 62 – 100
- **Sınır değer:** BAL $\geq 10^4$ CFU/mL
KFÖ $\geq 10^3$ CFU/mL
ETA $\geq 10^{5-6}$ CFU/mL } bakteriyel pnömoni
- Bu sınır değerler akciğerde 10^5 - 10^6 CFU/mL bakteri varlığını gösterir.
- Sınır değerinin altında ise “kontaminasyon” kabul edilmeli, işleme alınmamalıdır.

Sheldon Campbell and Betty a Forbes. The Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections. J Clin Microbiol 2011; 49(9 supplement):30-33



Olgu 7: 25 y, poliklinik hastası, öksürük, ateş?

Olgu 8: 51 y, yatan hasta

Sonuç Raporu

Mikroskopi:

>25 Lökosit,

>25 y.epitel/ hpf

Kültür:

E ASYE için klinik veya radyol. bulgu yoksa bu sonuç ÜSY kolonizasyonunu düşündürür. Klinik endikasyon düşünüyorsanız Klin.Mik.uzmanı ile görüşünüz. Gereğinde ADT sonuçlarına ulaşabilirsiniz.



Alt solunum yolu örnekleri ekimi-2

Anaerob kültür isteđi sadece;

- **Korunmuş fırça örneği**
- **Biyopsi**
- **Plevral sıvı**
- **Diđer ÜSY ile kontamine olmadığı düşünölen örneklerden yapılmalıdır**
- **Aspirasyon pnömonisi veya benzer klinik varsa anaerob işlem uygulanır**

Alt solunum yolu örnekleri değerlendirme

- 24 sa plakları incele (24 veya 48 saat daha inkübe et)
- 24 sa üreme varsa da 48.sa tekrar incele (Yeni morfolojiler !)
- Gram yayma ile Kültür uyumuna bak !! (Uyumsuz ise yaymaya tekrar bak)
- Identifikasyon yap
 - Önemli miktarda üreme varsa,
 - Üreme az ama PNL'li yaymadaki etkenle uyumlu ise
 - Üreme az ama %90 saf ise ve yayma enflamasyona uyuyorsa
 - Kistik fibrozda miktara bakılmaz (örn Pseudomonas için)
 - KFÖ → $\geq 10^3$ cfu/ml ise
 - BAL/ ETA → $\geq 10^4$ cfu/ml ise
- Üreme kanşık ise doğru ID için pasajla (Kanlı /çukolata Agara)

Alt solunum yolu örnekleri Raporlama

Test edilecek ve daima rapor edilecekler

- Streptococcus pyogenes
- Grup B Streptokok (Çocukta)
- Francisella tularensis
- Bordetella spp. (özellikle B. Bronchiseptica)
- Yersinia pestis
- Neisseria gonorrhoeae
- Nocardia
- Bacillus anthracis
- Criptococcus neoformans
- Küf mantarları (Saprofit / kontaminant olarak düşünülmeyenler)

Miktarı fazla, dominant bir üreme var ve Gram yayma ile uyumlu ise;

- *Staphylococcus aureus* + ADT
- Beta hemolitik Streptokok grup B (erişkin), C veya G
- Tek morfoloji Gram (-) basil + ADT
- Narin Gram (-) basiller (Beta laktamazını raporla)
- *Corynebacterium* (yoğun bakımdan entübe hastadan gelmişse)
- *Rhodococcus equi* (İmmüdüşkün konak ise)

Alt solunum yolu örnekleri-Raporlama

Streptococcus pneumoniae ve *Haemophilus influenzae* ;

- Gram yaymada görülmedikçe düşük sayıda üremeler için işlem yapılmaz,
- Üreme var ve yayma ile uyumlu ise rapor edilir,
 - - *Streptococcus pneumoniae* için ADT,
 - - *Haemophilus influenzae* için beta laktamaz sonucu bildirilir.

Üreme miktarı önemli ölçüde fazla ise rapor edilecekler

- *Moraxella catarrhalis*
- Yatan hasta (HE açısından) - *P.aeruginosa* +ADT,
 - *Acinetobacter spp.* +ADT,
 - *Burkholderia cepacia* +ADT,
 - *Stenotrophomonas maltophilia* +ADT

Mayalar ?

Cryptococcus neoformans ekarte edilmelidir, diğer mayalar ID yapılmamalıdır

Candida pnömoni nedeni mi ?

- Sekonder olarak mümkün
 - Dissemine candidiasiste hematojen yolla gelişir
 - Kültür değil, histopatolojik incelemede doku invazyonu değerlidir
- Primer olarak (oro-farengeal aspirasyon sonrası) çok nadir
 - Lösemi,
 - Akciğer organ alıcısı
 - Yeni doğanda önemli olabilir
- Predominant ve büyük miktarlarda üremedikçe ve yayma ile uyumlu olmadıkça rapor edilmemelidir.

Nötropenik hastalar dışında bronkoskopik veya nonbronkoskopik alt solunum yolu örneklerinde *Candida spp.* üremesi sıklıkla kolonizasyonu yansıtır.

Toplumda gelişen pnömonilerde kan kültürü önemli midir?

- **EVET**

Hastanede yatırılarak izlenmesi gereken tüm toplum kaynaklı pnömonilerde kan kültürü alınmalıdır.

- ★ Bakteriyel pnömonili hastaların % 10-20'si bakteriyemik
- ★ (+) Kan kültürü etiyolojiyi kanıtlar
- ★ (+) Kan kültürü kötü prognoz demektir
- ★ Ancak akciğer dışı bakteriyemi kaynağı da araştırılmalıdır

Kan kültürleri

- ❑ İmmünyüpresyöne hasta pnömonilerinde %15-30 pozitif
- ❑ Özellikle bakteriyel etyolojinin ön planda olduđu
Febril nötropeni,
Kalp akciğer transplantasyonları erken dönemi



Toplumda gelişen pnömonilerde antijen testlerinin katkısı nedir?

- Klinik ve epidemiyolojik olarak *Legionella* enfeksiyonu şüphesi olanlar ile
- Ağır seyirli toplumsal kaynaklı pnömonilerde,

İdrarda *Legionella pneumophila* serogrup 1 antijen belirleme testi önerilmektedir.

Toplumda gelişen pnömonilerde serolojik testlerin katkısı nedir?

- TGP'li bir hastanın takibinde serolojik testler önerilmez.
- Serolojik testler;
 - *Mycoplasma pneumoniae*,
 - *Chlamydia pneumoniae*,
 - *Legionella* enfeksiyonlarında önerilir.

Bireysel hasta takibinden çok epidemiyolojik çalışmalarda daha yararlıdır.

Toplumda gelişen pnömonilerde amplifikasyon testleri yararlı mı?

- İnfluenza ve *Respiratory syncytial virus* (RSV) için, kış mevsiminde moleküler testler düşünülebilir.
- Atipik patojenler için güvenilir (valide edilmiş) testlerle, tedavi açısından yeterince hızlı sonuçlar elde edilebilir.

İnvaziv Aspergilloziste tanı



- ❑ Galaktomannan antijen –erken tanı (serum ve BAL)
- ❑ (1-3)-B-D-glukan
- ❑ PZR: duyarlılık % 45-93 özgüllük %72-100

Galaktomannan

- ❑ Metaanaliz: duyarlılık %79 özgüllük %86
- ❑ Sıklık: haftada iki kez
- ❑ BAL'daki duyarlılık serumdan yüksek (%85-100 vs %73-83)

Wheat LJ, Walsh T. Eur J Clin Microbiol Inf Dis 2008

Klont R CID 2004

BAL örneklerinde EIA -Galaktomannan antijenemi tayini ile invaziv pulmoner aspergilloz tanısı

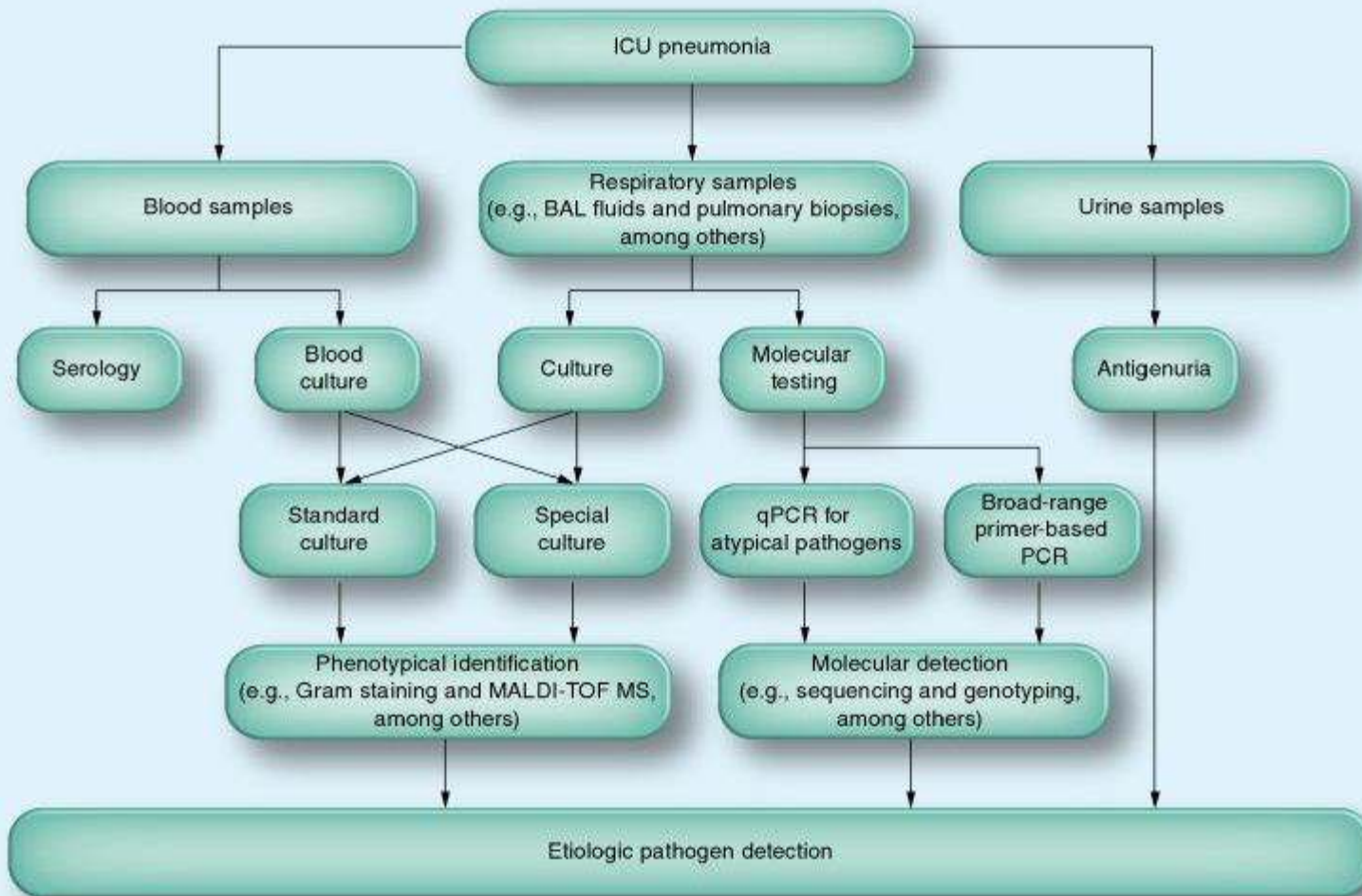
Hasta grubu	Eşik indeks değeri 0.5		Eşik indeks değeri 1.0		referans
	Duyarlılık - %	Özgüllük - %	Duyarlılık - %	Özgüllük - %	
Hematoloji	belirtilmemiş	belirtilmemiş	98.1	100(CO 1.1)	27
Hematoloji	belirtilmemiş	belirtilmemiş	100	100	28
Kİ transplant	76	94	61	98	29
Organ transplant	100	84	100	91	30
Organ transplant	67	95	67	98	31
Yoğun bakım ünitesi	88	87	belirtilmemiş	belirtilmemiş	33
İmmüno-kompr omize olmayan	100	78	100	88	32

27: Li-Yang Hsu et al. BM C Infect Dis 2010 28:Becker MJ et al.Br J haematol 2003, 29:Musher B et al. J Clin Microbiol 2004, 30:Clancy CJ et al. J Clin Microbiol 2007, 31:Hussain S et al. Transplantatation 2007 32:Nguyen MH et al. J Clin Microbiol 2007 33: Meersseman W et al. Am J Respir Crit Care 2008

Beta glukun

- ❑ Panfungal? – Zygomycosis ve Cryptococcosis'da yardımcı değil –
- ❑ Aspergillus -Candida ayırımı yapamaz
- ❑ ECIL 2010
- ❑ Maliyet
- ❑ Yalancı pozitif reaksiyonlar

Invaziv fungal enfeksiyonda
TARAMA amaçlı kullanılmalıdır!!!!!!



Source: Future Microbiol © 2013 Future Medicine Ltd

Figure 1.

Common strategies for the microbial diagnosis of intensive care unit pneumonia.