

Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı

İ. Zafer Ecevit

Solunum yolu enfeksiyonlarında tanı ve tedaviyi etkileyen mikrobiyolojik test sonuçları, doğrudan tanı için alınan örneğin kalitesi ile ilişkilidir. Klinik pratikte ne yazık ki örnek alma yöntemlerinin hekimler tarafından iyi bilinmediği ya da bu işlemler sırasında sıklıkla hata yapıldığı, örneklerin ideal şekilde alınmadığı gözlemlenmektedir. Bu nedenle örnek alma şekli, ideal örnek alma zamanı ve alınan örneklerin saklanması ile laboratuvara nakil yöntemlerinin iyi bilinmesinin gerekliliği göz önünde bulundurularak öncelikle örnek alma yöntemleri anlatılacaktır.

Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Tanı İçin Örnek Toplama

Genel Prensipler

Genel olarak her respiratuar patojene göre etkeni tespit etme şansını artırmak için örnek tipi, örnek alma yöntemi, örneklerin transportu ve uygulanacak tanısal işlemler farklılık gösterir. Burada birkaç spesifik respiratuar patojen dışında her respiratuar patojen için ayrı ayrı bu yöntemlere değinilmeyecek, birçok patojenin saptanmasında kullanılan genel yöntem ve prensipler vurgulanacaktır.

Solunum yolu patojenlerinin mikrobiyolojik tanısı için genel prensipler şunlardır:

- 1. Örnek alma yeri:** Ayaktan takip edilen ve hastanede yatan hastalarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenlerin saptanmasında, örnek alma yerleri farklılık gösterir.¹⁻⁵ Bunlar **Tablo 1**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Ayaktan ve Hastaneye Yatırılarak İzlenen Hastalarda Solunum Yolu Patojenlerinin Saptanması Amacıyla Klinik Örnek Alma Yerleri (1-6,11,12)

Klinik Örnekleme	
Ayaktan İzlenen Hasta	Yatan Hasta
I. RESPIRATUAR ÖRNEK Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu – Nazofaringeal ve orofaringeal – Nazofaringeal yıkama/aspirasyon Alt Solunum Yolu – Balgam	I. RESPIRATUAR ÖRNEK Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu – Nazofaringeal ve orofaringeal – Nazofaringeal yıkama/aspirasyon Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu – Balgam – Trakeal aspirasyon – Bronkoalveolar lavaj – Bronşiyal yıkama/fırçalama – Transtrakeal aspirasyon – Plevral sıvı
II. NON-RESPIRATUAR ÖRNEK Kan – Serum: Akut dönemde ve başlangıçtan 3-6 hafta sonra (konvelasan dönemde) – Plazma İdrar Dışkı	II. NON-RESPIRATUAR ÖRNEK Kan – Serum: Akut dönemde ve başlangıçtan 3-6 hafta sonra (konvelasan dönemde) – Plazma Vücut sıvıları Gastrik lavaj Doku (akciğer vb) İdrar Dışkı

2. Örnek alma zamanı: Solunum yolundan alınacak örnekler hastalık seyri sırasında mümkün olduğu kadar erken dönemde ve antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Birçok virüs ve bakteri enfeksiyonunda etkeni saptama olasılığı, semptomların başlamasından 72 saatten daha uzun bir süre geçtikten ve uygun antibiyotik tedavisi başlanmasından sonra belirgin şekilde azalır. Bu nedenle ideal olan, solunum yollarından örnekleme semptomların başlamasından sonraki ilk 72 saat içinde yapılmasıdır. İlk 72 saat içinde örnek alınamamış ise, 7. güne kadar örnekleme yapılabilir ancak 7. günden sonra örnek alınmamalıdır.¹⁻⁵

3. Sürüntü alımında kullanılacak kültür çubuğu: Çubuk kısmı plastik ve bükülebilir özellikte olan, dakron, rayon veya poliyester-fiber uçlu kültür çubukları kullanılmalıdır. Kalsiyum aljinat ile işlem görmüş pamuk uçlu, çubuk kısmı tahtadan yapılmış olan kültür çubuklarının, bazı virüs ve moleküler testleri (PCR gibi) inhibe edici maddeler içerebildiklerinden viral enfeksiyon tanısında

kullanılması önerilmez.⁶⁻⁸ Bu tip çubuklar bakteriyel patojenlerin izole edilmesinde kullanılabilir.

- 4. Mikrobiyoloji laboratuvarı ile korelasyon:** Rutin kültürler dışında bazı mikroorganizmalar (Bordetella, difteri, gonore, lejionella, arkanobakteri, klamidya, mikoplazma ve virüsler) örnek alımında özel teknikler ve spesifik transport/ kültür vasatı gerektirdiğinden, örnek almadan önce mikrobiyoloji laboratuvarı ile temasa geçilmelidir.
- 5. Etiketleme:** Alınan örneğin üzerine hasta bilgileri ile birlikte örnek alınma tarihi ve alınma yeri ile şekli açık biçimde yazılmalıdır.
- 6. Örnek saklama ve nakli:** Viral çalışma için alınan örnekler hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Eğer alınan örnekler 48 saat içinde çalışılmayacak ise 4°C’de saklanmalı, ıslak buz içinde ya da soğutulmuş jel paketleri içinde nakli sağlanmalıdır.^{2,8} Kırk sekiz saat içinde nakli sağlanamayacak veya çalışılmayacak örnekler $\leq -70^{\circ}\text{C}$ ’de saklanmalı ve kuru buz içinde nakli sağlanmalıdır.⁸
- 7. Sonuçların değerlendirilmesi:** Test sonuçları, laboratuvara gönderilen örneğin uygun yerden uygun şekilde alınıp alınmadığı, örneğin laboratuvara gönderilirken saklanma ve gönderme işleminin uygun biçimde yapılıp yapılmadığı, patojene spesifik testlerin duyarlılığı ve hastanın almakta olduğu tedaviler akılda bulundurulurken yorumlanmalıdır. Ayrıca, bazı patojenlerin üst solunum yolunda kolonize olabileceği (*S. pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae* tip b gibi) veya asemptomatik ya da semptomatik enfeksiyona yol açabileceği (rinovirüs, koronavirüs gibi) göz önünde bulundurulmalıdır.⁸ Bu nedenle her laboratuvar sonucu, her patojen için ayrı ayrı yorumlanmalıdır.

Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Tanısı İçin Örnek Alınması

Solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında örnekleme ve örnek alma yöntemleri aşağıda detaylı olarak anlatılmaktadır.

- 1. Orofaringeal sürüntü:** Dil basacağı ile dile basarken kültür çubuğu farinks ve her iki tonsil üzerine dairesel hareketle sürülerek örnek alınır. Bu işlem sırasında dil, diş, diş eti ve yanaklara kültür çubuğunun uç kısmının değmemesine dikkat edilmelidir.^{8,10}
- 2. Nazofaringeal örnek alınması:** Nazofaringeal örnekler özellikle solunum yolu enfeksiyonuna neden olan viral patojenlerin saptanmasında kullanılır.¹⁰ Nazofaringeal örneklerin alınmasında nazofaringeal sürüntü ve nazofaringeal yıkama ve vakum yardımı ile nazofaringeal aspirasyon yöntemleri kullanılır.^{6,9,10} Nazofaringeal aspirasyon öncelikli olarak tercih edilen örnek alma yöntemidir.^{4,6,8,9} Bu işlemler sırasında örnek alan sağlık personelinin enfekte olmasını

önlemek için, örnek alan kişinin maske, eldiven ve koruyucu gözlük kullanması önerilir.

A) Nazofaringeal Sürüntü

Gerekli malzemeler: - Sürüntü alınırken kullanılacak kültür çubuğu bükülebilir özellikte olmalı, viral enfeksiyon tanısı için nazofaringeal sürüntü alınıyor ise rayon, dakron veya sentetik fiber uçlu steril kültür çubuğu kullanılmalıdır - Steril tüp içinde viral transport vasatı (1-2 ml) (VİRÜS İZOLASYONU İÇİN)

Örnek alma yöntemi (4,6,9):

1) Kültür çubuğu nazofarinkse kolayca girebilecek şekilde, sterilitesi bozulmadan bükülür. 2) Hasta oturur pozisyonda ve başı 70° açı ile arkaya eğik durumda iken kültür çubuğu burun deliğinden sokularak damağa paralel bir şekilde nazikçe posterior farinkse kadar ilerletilir (kültür çubuğunun uç kısmının nazofarinkse ulaşması için burna yerleştirilen kısmın uzunluğu burun deliklerinden kulak deliğine kadar olan mesafe ile aynı olmalıdır). 3) Kültür çubuğu enfekte hücreleri toplamak için nazikçe sürtülür ve birkaç kez kendi etrafında döndürülür, kültür çubuğu çıkarılmadan önce sekresyonları absorbe etmesi için birkaç saniye beklenir. 4) Örneklemenin ideal olması için aynı işlem diğer burun deliğinden tekrarlanır. 5) Kültür çubuğu transport vasatı içine yerleştirilir. Virüs için kültür alınıyorsa, kültür çubuğu 2 ml antibiyotik içermeyen viral transport vasatı içeren steril kap içine konarak, tüpün dışına taşan çubuk kısmı aseptik olarak kesilmeli ya da kırılarak koparılmalı ve tüpün kapağı sıkıca kapatılmalıdır (**Şekil 1**).

B) Nazofaringeal Yıkama ile Örnek Alınması

Bu 5 yaşından küçük çocuklarda sık kullanılan ve viral çalışma için tercih edilen örnek alma yöntemidir. Nazofaringeal yıkama ile örnekler, enjektör ya da steril lastik burun aspiratörü kullanılarak alınır.^{4-6,8-10}

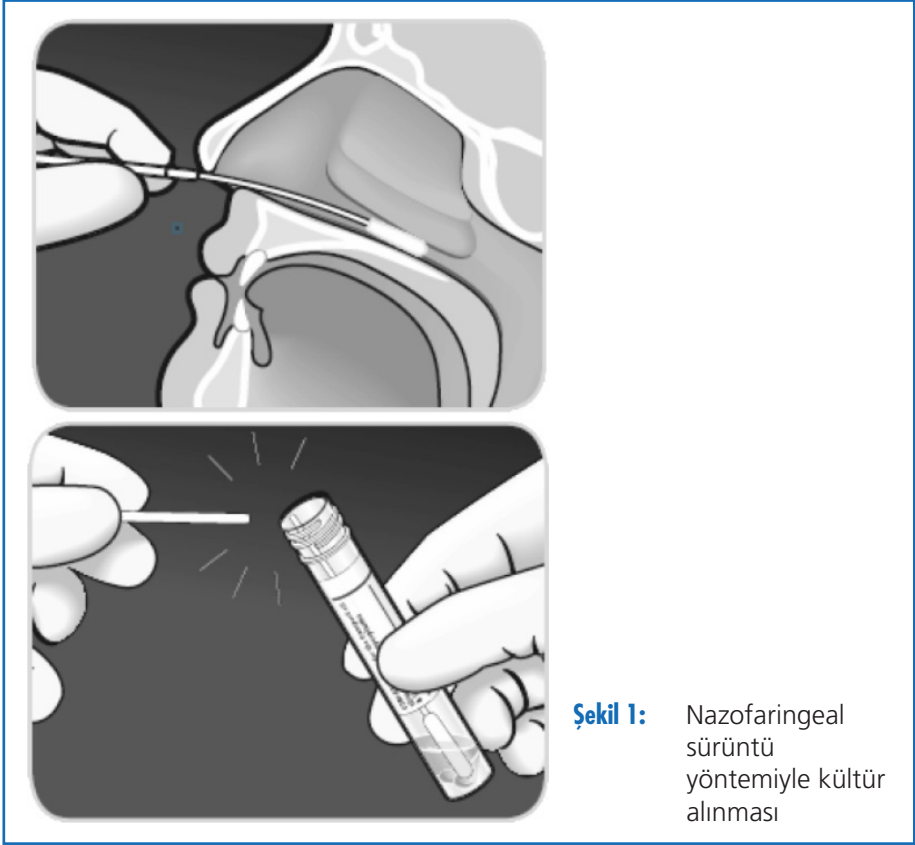
B.1). Enjektör yöntemi ile nazofaringeal yıkama:

Gerekli malzemeler:

- Steril enjektör (5 ml'lik)
- Steril kateter veya nazogastrik tüp 8F
- Steril serum fizyolojik (SF)
- Steril virüs transport vasatı
- Steril tüp veya kapaklı şişe

Örnek alma yöntemi:

1. Enjektör 1-3 ml serum fizyolojik ile doldurulur, kateter enjektörün ucuna takılır.



2. Hasta oturur pozisyonda ve başı 70° açı ile arkaya eğik durumda iken burun deliğinden posterior nazofarinkse kadar kateter yerleştirilir (kateterin nazofarinkse ulaşması için burna yerleştirilen kateterin uzunluğu burun deliklerinden kulak deliğine kadar olan mesafe ile aynı olmalıdır).
3. Enjektör içindeki serum fizyolojik hızla burun boşluğuna enjekte edilir ve yine hızlı bir şekilde enjektörün pistonuyla geri çekilir.
4. Kateter nazikçe kendi etrafında döndürülerek ve yavaşça dışarı doğru çekilerek nazofaringeal sekresyonlar aspire edilmeye devam edilir.
5. İdeal bir örnekleme için aynı işlem diğer burun deliğinden tekrarlanır.
6. Aspire edilen sekresyonlar steril tüp içindeki viral transport vasatı içine konulur (Şekil 2).



B.2). Lastik aspiratör yöntemi ile nazofaringeal yıkama:

Gerekli malzemeler:

- Steril lastik burun aspiratörü
- Steril serum fizyolojik
- Steril virüs transport vasatı
- Steril tüp veya kapaklı şişe

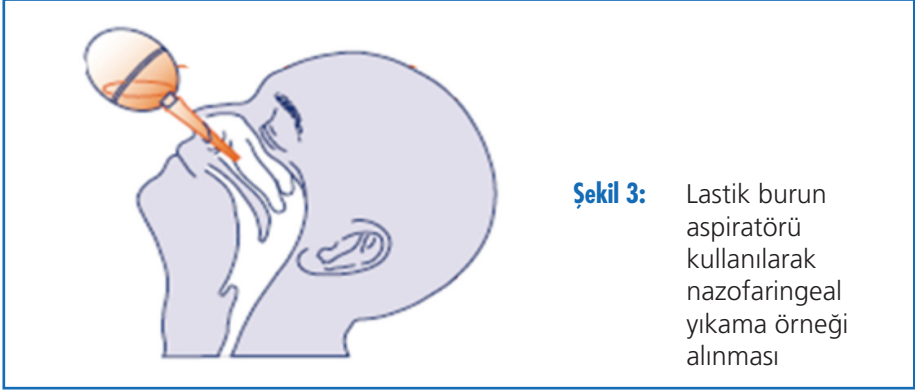
Örnek alma yöntemi:

1. Çocuğun yaşına uygun tek kullanımlık steril kauçuk aspiratör 3-5 ml SF ile doldurulur.
2. Hasta oturur pozisyonda ve başı 70° açı ile arkaya eğik durumda iken lastik aspiratörün uç kısmı burun deliğini kapatıncaya kadar burun içine yerleştirilir.
3. Lastik aspiratörü tek bir kez sıkıştırılarak içindeki SF burna boşaltılır boşaltılmaz hızlı bir şekilde el gevşetilir ve burun içine boşaltılan SF'nin lastik aspiratör içine tekrar çekilmesi sağlanır.
4. Alınan örnek viral transport vasatı içeren steril kap içine boşaltılır.
5. İdeal bir örnekleme için aynı işlem diğer burun deliğinden tekrarlanır. Her iki burun deliğinden alınan örnekler aynı transport kabı içine konularak laboratuvara gönderilir (Şekil 3).

C. Nazofaringeal aspirasyon

Aspirasyon yolu ile nazofaringeal örnek alımı vakum yardımıyla yapılır. Gerekli malzemeler:

- Steril kateter
- Aspiratör/vakum
- Mukus toplayıcı özel kap (Luken tüpü)
- Steril viral transport vasatı - Steril tüp veya kapaklı şişe



Örnek alma yöntemi:

1. Mukus toplayıcı özel kap (Luken tüpü), aspiratör ve çocuğun yaşına uygun katetere bağlanır; bu işlem sırasında kateterin sterilitesini bozmamak için kateter ambalajından tamamen çıkarılmaz.
2. Aspiratörün emme basıncı **Tablo 2**'de gösterildiği gibi çocuğun yaşına uygun şekilde ayarlanır.
3. Hasta oturur pozisyonda ve başı 70° açı ile arkaya eğik durumda iken, aspiratörü çalıştırmadan kateter burun deliğinden posterior nazofarinkse ulaşınca kadar ilerletilir (kateterin nazofarinkse ulaşması için burna yerleştirilen kateterin uzunluğu burun deliklerinden kulak deliğine kadar olan mesafe ile aynı olmalıdır).
4. Kateter yerleştirildikten sonra aspiratör çalıştırılır, rotasyonel hareketle kateter yavaşça geriye doğru çekilerek burundan çıkarılır (kateter nazofarinkste 10 saniyeden uzun süre tutulmamalıdır).
5. Toplanan sekresyonun aspiratöre gitmesini önlemek için bu işlem sırasında mukus toplama kabı dik pozisyonda tutulur.
6. Kateter 2 ml viral transport vasatı ile yıkanır (yeterli örnek alınamamış ise).
7. Yeni bir kateter ile aynı işlem diğer burun deliğinden tekrarlanır.
8. Mukus toplama kabı, aspiratör ve kateterden ayrılır ve örnek viral transport vasatı bulunan steril kaba boşaltılıp laboratuvara gönderilir (**Şekil 4**).

Balgam, trakeal aspirasyon, bronkoalveolar lavaj (BAL), plevral sıvı:

Balgam dışındaki diğer örneklemeye yöntemleri hastanede yatan ağır hastalara uygulanır.^{4-6,11}

İdeal örneklemeye zamanı: Bu örnekler hastalığın seyri sırasında herhangi bir zamanda, en ideali antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır.

Tablo 2: Aspiratör/Vakum kullanılarak nazofaringeal aspirasyon yoluyla örnek alınmasında yaşa göre kullanılacak kateter ölçüsü ve emme basıncı (4-6,8,9)

Hasta Yaşı	Kateter	Aspiratörün Emme Basıncı
Prematüre	6 F	80-100 mmHg
İnfant	6 F	80-100 mmHg
Okul öncesi	8 F	100-120 mmHg
Okul çağındaki çocuk	8 F	100-120 mmHg
Adolesan/Erişkin	8 F	120-150 mmHg



Pulmoner Tüberküloz Hastalığının Tanısı İçin Örnek Toplama Yöntemleri

Pulmoner TB tanısı örnekleme yöntemleri "Çocuklarda tüberküloz tanı yöntemleri" adı altında ayrı bir bölümde anlatılmıştır.

Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı

Bu bölümde tanıya göre en sık etken olan mikrobiyolojik ajanlar, tanısal testler ve tanı için ideal örnekler tablolar halinde gösterilmiştir.

Bronşiyolit

Çocukluk yaş grubunda trakeobronşiyal ağacı tutan bronşiyolit ve trakeobronşiyolit'in en sık etkeni virüslerdir, daha az sıklıkta etken olan bakteriler *B. pertussis*, *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae*'dir. Etiyolojik ajana göre ideal örnekler ve tanısal testler **Tablo 3**'te gösterilmiştir.

Tablo 3: Bronşiyolitinin etiyolojik ajanlara göre mikrobiyolojik tanısında kullanılan tanı testleri (4-6,13)

Etken Mikroorganizma	Tanısıl Testler	Tanı için İdeal Örnek
Bakteri <i>Bordetella pertussis</i>	Bordetella kültürü/ NAAT	Nazofaringeal sürüntü
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	NAAT Seroloji (IgM ve IgG)	Nazofaringeal sürüntü, balgam 5 ml serum
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NAAT	Boğaz sürüntüsü, nazofaringeal sürüntü veya aspirasyon, balgam
Virüs* İnfluenza Adenovirüs Parainfluenza Respiratuar sinsityal virüs Human metapnömovirüs Rinovirüs Koronavirüs	Hepsi için NAAT, virüs kültürü, hızlı antijen testleri	Nazal aspirasyon ya da yıkama, nazofaringeal sürüntü, aspirasyon, yıkama, boğaz sürüntüsü
* Virüs için alınan materyaller laboratuvara buz içinde gönderilmelidir. NAAT: Nükleik asit amplifikasyon testi		

Toplumda Kazanılmış Pnömoni

Toplumda kazanılmış pnömoni tanısı spesifik semptomların varlığı ve radyolojik bulgular ile kolaydır. **Tablo 4** ve **5**'te toplumda kazanılmış pnömonilerde en sık etken olan ajanların saptanmasında uygulanabilecek testler ve ideal örnekler gösterilmiştir. Bu enfeksiyonlarda etiyolojik ajanın saptanması antimikrobiyal tedavinin düzenlenmesinde yararlı olduğu için önem taşır.

Hastanede Kazanılmış Pnömoni ve Ventilatör İlişkili Pnömoni

Hastanede kazanılmış pnömoniler ve ventilatör ilişkili pnömoniler genellikle çok ilaca dirençli gram negatif bakteriler, daha az sıklıkta da nazokomiyal olarak bulaşan virüs ve fungal ajanlar ile oluşur (**Tablo 6**). Pnömoniyeye neden olan mikroorganizmanın saptanmasında başlangıçta endotrakeal aspirasyon ve balgam örneğinin Gram boyaması ve semikantitatif kültürü yararlıdır. Endotrakeal aspirasyon yaymasında enflamatuar hücre bulunmayışı ve kültürün negatif olmasının negatif prediktif değeri oldukça yüksektir.⁴⁻⁶ Endotrakeal aspirasyon kültürlerinde enfeksiyon etkeninin yanı sıra kolonize olan diğer bakteriler de üreyebileceğinden, antibiyotik seçiminde

Tablo 4: Toplumda kazanılmış pnömonilerde bakteri ve funguslara yönelik etiyolojik tanısal testler (4-6,12,14)

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Haemophilus influenzae</i>	Gram boyama, Kültür	Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	– NAAT – Seroloji	– Boğaz veya nazofaringeal sürüntü, balgam, BAL – Serum
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram boyama, kültür	Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	– Gram boyama, kültür – İdrarda antijen tayini	– Balgam, bronkoskopik örnek – İdrar
<i>Enterobacteria spp.</i>	Gram boyama, kültür	Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	– NAAT – Seroloji	Nazofaringeal sürüntü, balgam, bronşiyal örnek
Miks anaerobik bakteri (<i>Aspirasyon pnömonisi</i>)	Gram boyama, aerobik ve anaerobik kültür	Bronkoskopik örnek, plevral sıvı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram boyama, kültür	Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Legionella spp.</i>	– İdrarda antijen – <i>L.pneumophila</i> serogrup1 selektif kültür – NAAT	– İdrar – Balgam, bronkoskopik örnek – Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ve nontüberküloz mikobakteri	– ARB için yayma – Kültür – NAAT	– Balgam, bronkoskopik örnek
<i>Histoplasma capsulatum</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer fungal boyamalar – Mantar kültürü – Histoloji – Antijen testleri – Serumda antikor tayini	– Balgam, bronkoskopik örnek, doku – Balgam, bronkoskopik örnek, doku – Doku – Serum, idrar, plevral sıvı – Serum
<i>Blastomyces dermatitis</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer fungal boyamalar – Mantar kültürü – Histoloji – Antijen testleri – Serumda antikor tayini	– Balgam, bronkoskopik örnek, doku – Balgam, bronkoskopik örnek, doku – Doku – Serum, idrar, plevral sıvı – Serum

Tablo 4: Devamı

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Coccidioides immitis/ posadasii</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer fungal boyamalar – Mantar kültürü – Histoloji – Serumda IgM ve IgG antikor tayini	– Plevral sıvı, plevral biyopsi – Serum

BAL; Bronkoalveoler lavaj, ARB: Asit rezistan basil

Tablo 5: Toplumda kazanılmış pnömonilerde viral etiyolojiye yönelik tanısal testler (2-7,9)

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
İnfluenza A, B	Hızlı antijen testi* DFA** Virüs kültürü NAAT	Nazal aspirasyon veya yıkama, nazofaringeal sürüntü veya yıkama Boğaz sürüntüsü, bronkoscopi ile alınan örnekler
Parainfluenza virüs 1-4	DFA Virüs kültürü NAAT	
Adenovirüs	DFA Virüs kültürü NAAT	
Respiratuar sinsityal virüs (RSV)	Hızlı antijen testi* DFA Virüs kültürü NAAT	
Human metapnömovirüs	DFA NAAT	
Koronavirüs	NAAT	
Rinovirüs	Virüs kültürü NAAT	
Enterovirüs	Virüs kültürü NAAT	

* Solunum yolu virüsleri için hızlı antijen testlerinin sensitivitesi çok düşüktür, spesifiteleri ise kullanılan testlere göre değişiklik gösterir. Bu testte alınan örnek kalitesi çok önemlidir. Hızlı antijen testleri yalnızca tarama testi olarak kullanılmalıdır. Negatif testler başka bir yöntemle değerlendirilmelidir.

** DFA: direkt floresan antikor testi

Tablo 6: Hastanede kazanılmış pnömoni ve ventilatör ilişkili pnömonilerde etiyolojik ajanlara yönelik tanısal testler (3-6,9,11,14,15)

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Bu ajanların hepsi için: – Kan kültürü – Gram boyama – Aerobik ve anaerobik kültürler (kantitatif veya semikantitatif)	– Kan kültürleri – Balgam – Endotrakeal aspirasyon materyali, BAL, bronkoskopik örnekler, akciğer dokusu
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Yukarıdaki testlere ek olarak idrarda antijen testi	İdrar
<i>Legionella spp.</i>	– Kültür – NAAT – İdrarda antijen testi (yalnız <i>L. pneumophila</i> serogrup 1 için)	– Balgam, endotrakeal aspirasyon materyali, BAL, bronkoskopik örnekler, akciğer dokusu – İdrar
Miks anaeroblar (aspirasyon pnömonisi)	– Gram boyama – Kültür	– Bronşiyal fırçalama ile alınan örnek, akciğer dokusu
<i>Aspergillus spp</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Histoloji – Galaktomannan (1-3) β -D-glukan	– Endotrakeal aspirasyon – BAL, bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu – Serum, BAL
İnfluenza A, B virüs, parainfluenza, adenovirüs, respiratuar sinsityal virüs	Hızlı antijen testi, virüs kültürü, NAAT	– Nazal aspirasyon veya yıkama, nazofaringeal sürüntü veya yıkama – Boğaz sürüntüsü, bronkoskopi ile alınan örnekler, endotrakeal aspirasyon materyali

dikkatli olunması gerekir. Endotrakeal aspirasyon veya bronkoskopik olarak alınan alt solunum yolu sekresyonlarının kantitatif kültüründe, mililitrede üreyen mikroorganizma sayısının eşik değerinin üstünde olması pnömoni için tanı koydurucu kabul edilir. Bu eşik değerler alınan örneğe göre değişiklik gösterir, antibiyotik tedavisi almayan hastada endotrakeal aspirasyon için eşik değer 10^6 CFU/mL, bronkoalveoler lavaj için 10^4 CFU/mL'dir.^{4-6,11}

Kistik Fibrozisli Hastalarda Pnömoni

Kistik fibrozisi olan hastalarda sıklıkla akciğer enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalar **Tablo 7'**de gösterilmiştir. Çocukluk çağının erken dönemlerinde, kistik fibrozisli çocuklarda akciğer enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalar (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus* gibi), kistik fibrozisi olmayan çocuklardaki etkenler ile benzerlik gösterir. İlerleyen dönemlerde ve adolesanlarda ise, akciğerde ortaya çıkan yapısal değişikliklere ve hipoksi ile kolayca mukoid koloni formuna dönüşerek biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* en önemli patojen olarak karşımıza çıkar.^{6,16}

Bu hastalarda karşılaşılan diğer önemli patojen *Burkholderia cepacia complex*'tir.¹⁶ *B. cepacia complex*'in kültürde üretilmesi ve mukoid *P. aeruginosa* kolonilerinin ayırt edilmesi özel mikrobiyolojik yöntemler gerektirdiğinden, bu hastalardan kültür gönderilirken laboratuvarın bilgilendirilmesi ve teknik olarak yeterli olmayan laboratuvarların sonuçları değerlendirilirken bu özelliğin akılda bulundurulması gerekir. *S. maltophilia* ve *Achromobacter xylosoxidans*'a genellikle nazokomiyal patojen olarak hastanede yatan hastalarda rastlanılmaktadır.

Erişkin yaşa ulaşmış hastalarda nontüberküloz mikobakterilerle oluşan enfeksiyon sıklığında artma gözlenir. Bu nedenle 15 yaşından büyük hastalarda enfeksiyon etiolojisine yönelik olarak rutin kültürlerin yanı sıra mikobakteri için de kültür yapılmalıdır.

Kistik fibrozisli hastalarda özellikle en sık akciğer enfeksiyonuna neden olan fungus ise *Aspergillus fumigatus*'tur ve genellikle alerjik bronkopulmoner hastalık şeklinde kendini gösterir.^{15,16}

İmmün Yetmezliği veya İmmün Sistemi Baskılanmış Olan Hastalarda Akciğer Enfeksiyonları

İmmün yetmezliği olan hastalarda (primer veya sekonder immün yetmezlik) toplumda ve hastanede kazanılmış pnömoni etkenlerine ek olarak sık karşılaşılan diğer etkenler ve tanı yöntemleri **Tablo 8'**de gösterilmiştir.

Bu hastalarda kesin etiyolojik tanı için bronkoskopi, bronkoalveoler lavaj, transbronşiyal veya transtorasik biyopsi gerekebilir. Histolojik inceleme yapılırsa kültür, NAAT ile birlikte değerlendirilmelidir.

Tablo 7: Kistik fibrozisli hastalarda akciğer enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı (4,15-18)

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Enterik basiller <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Achromobacter spp.</i>	Kültür	Ekspektore balgam, boğaz sürüntüsü, diğer solunum yolu örnekleri
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	Kültür; <i>Burkholderia cepacia</i> selektif agar kullanılmalıdır	
Glukoz fermente etmeyen gram negatifler <i>Burholderia gladioli</i> <i>Ralstonia spp.</i> <i>Cupriavidus spp.</i> <i>Pandorea spp.</i>	Kültür	
<i>Mycobacterium avium</i> complex <i>Mycobacterium abscessus</i>	Mikobakteri kültürü	Ekspektore balgam, bronkoskopik örnekler, diğer solunum yolu örnekleri
<i>Aspergillus spp.</i> <i>Scedosporium spp.</i> <i>Trichosporon</i>	Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları Mantar kültürü	
İnfluenza A, B Parainfluenza Adenovirüs RSV Rinovirüs Koronavirüs Human metapnömovirüs	Hızlı antijen testi DFA Virüs kültürü NAAT	Nazal aspirasyon, nazal yıkama, nazofaringeal sürüntü veya yıkama, boğaz sürüntüsü, bronkoskopik örnekler

Tablo 8: İmmün yetmezliği olan hastalarda pnömoninin laboratuvar tanısı (3-6,13,15)

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> (nontifoidal) <i>Elizabethkingae meningoseptica</i>	– Gram boyama – Kültür	– Balgam – Bronkoskopik örnek
<i>Nocardia</i> , <i>Actinomyces</i>	– Gram boyama – Modifiye ARB boyaması – Kültür	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu
<i>Rhodococcus</i>	– Gram boyama – Kültür	– Balgam – Bronkoskopik örnek
Sitomegalovirüs	– Antijen testi ile birlikte shell vial kültür – Sitolojik analiz ve doku histolojisi tanı ile ilgili yorumda yardımcı olabilir – NAAT – Kantitatif antijenemi	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu – Plazma, BAL
Herpes simpleks virüs	– Antijen testi ile birlikte kültür – Sitolojik analiz ve doku histolojisi tanı ile ilgili yorumda yardımcı olabilir – NAAT	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu
<i>M. tuberculosis</i> <i>M. avium</i> <i>intracellulare complex</i> <i>M. kansasii</i> <i>M. xenopi</i> <i>M. haemophilum</i> <i>M. abscessus</i>	– ARB boyaması – ARB kültürü – NAAT – Histoloji	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	– DFA – NAAT – Sitolojik boyama – Doku boyaması	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu

Tablo 8: Devamı

Etken Mikroorganizma	Tanısal Testler	Tanı için İdeal Örnek
<i>Cryptococcus neoformans</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Kriptokkal antijen testi – Doku boyaması	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Serum – Akciğer dokusu
<i>Aspergillus spp.</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Histoloji – Galaktomannan (1-3) β-D-glukan	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu – Serum
<i>Fusarium spp.</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Histoloji – Fungal kan kültürü	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu – Kan
<i>Mucor, Rhizopus gibi zygomycetes’ler</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu
<i>Histoplasma capsulatum</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Fungal kan kültürü – Antijen testi – Seroloji (kompleman fiksasyon)	– Balgam – Bronkoskopik örnek – Akciğer dokusu – Kan – Serum, idrar, BAL, plevral sıvı – Serum
<i>Coccidioides immitis/ posadasii</i>	– Kalkoflor-potasyum hidroksid veya diğer mantar boyamaları – Mantar kültürü – Fungal kan kültürü – Serumda IgM, IgG antikor tayini	– Balgam – Balgam, bronkoskopik örnek, akciğer dokusu – Serum

KAYNAKLAR

1. Sharp SE, Robinson A, Saubolle M, Santa Cruz M, Carroll K, Baselski V, eds. *Cumitech 7B: lower respiratory tract infections*. Washington, DC: ASM Press, 2004.
2. She RC, Taggart EW, Ruegner R, Hymas WC, Bender JM, Weir P, et al. Identifying respiratory viruses in nasal mucus from children. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29:970–2.
3. Bhat N, O'Brien KL, Karron RA, Driscoll AJ, Murdoch DR; Pneumonia Methods Working Group, et al. Use and evaluation of molecular diagnostics for pneumonia etiology studies. *Clin Infect Dis* 2012; 54(Suppl 2):S153–9.
4. Murdoch DR, O'Brien KL, Driscoll A, Karron RA, Bhat N; Pneumonia Methods Working Group; PERCH Core Team. et al. Laboratory methods for determining pneumonia etiology in children. *Clin Infect Dis* 2012;54(Suppl 2):S146–53.
5. Hammitt LL, Murdoch DR, Scott AG, Driscoll A, Karron RA, Levine OS, et al; the Pneumonia Methods Working Group. Specimen Collection for the Diagnosis of Pediatric Pneumonia *Clinical Infectious Diseases* 2012;54(S2):S132–9
6. ASM Press, *Manual of Clinical Microbiology*, 10th edition. Volume 1. James Versalovic, editor. 2011
7. Pierce VM, Elkan M, Leet M, McGowan KL, Hodinka RL. Comparison of the Idaho Technology FilmArray system to real-time PCR for detection of respiratory pathogens in children. *J Clin Microbiol* 2012; 50:3.
8. Walsh P, Overmyer CL, Pham K, Michaelsom S, Gofman L, DeSalvia L, et al. Comparison of respiratory virus detection rates for infants and toddlers by use of flocced swabs, saline aspirates, and saline aspirates mixed in universal transport medium for room temperature storage and shipping. *J. Clin. Microbiol* 2008; 46:2374–2376.
9. Ginocchio CC, McAdam AJ. Current Best Practices for Respiratory Virus Testing. *J Clin Microbiol* 2011; 49:44–48.
10. Abu-Diab A, Azzeh M, Ghneim R, Ghneim R, Zoughbi M, Turkuman S, et al. Comparison between pernasal flocced swabs and nasopharyngeal aspirates for detection of common respiratory viruses in samples from children. *J Clin Microbiol*.2008; 46:2414–2417.
11. Sachdev A, Chugh K, Sethi M, Gupta D, Wattal C, Menon G. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in children in resource-limited setting: a comparative study of bronchoscopic and nonbronchoscopic methods. *Pediatr Crit Care Med* 2010; 11:258–66.
12. Lynch T, Bialy L, Kellner JD, Osmnond MH, Klassen TP, et al. A systematic review on the diagnosis of pediatric bacterial pneumonia: when gold is bronze. *PLoS One* 2010; 5:e11989.
13. Carroll KC, ed. *Etiology, epidemiology, and diagnosis of lower respiratory tract infections in immunocompromised patients*. Washington, DC: ASM Press, 2008.
14. CLSI. *Laboratory Detection & Identification of Mycobacteria; Approved Guidelines*. CLSI document M48-A. Wayne, PA: Clinical & Laboratory Standards Institute; 2008.
15. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, et al. *Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America*. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2008.; 46:327–60.64–71.
16. Lipuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 299–323.
17. Hickey PW, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Wickes BL, Schmidt HJ, et al. *Trichosporon mycotoxinivorans*, a novel respiratory pathogen in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2009; 47:3091–3097.
18. Al-Saleh S, Dell SD, Grasemann H, yau YC, Waters V, Martin S, et al. Sputum induction in routine clinical care of children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2010; 157:1006–11. e1.