

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN TANISI

Ayşe Semra
GÜRESER

Laboratuvar süreçleri



ÖRNEK KALİTESİ

Uygun Örnek Toplama Kuralları:

Örnek alma zamanı:

- Antibiyotik başlanmadan önce,
- Aktif enfeksiyon bölgesinden,
- Çevre doku ve salgılar ile örneği kontamine etmeden alınmalıdır.

Örnek Alma Yeri



Ayaktan İzlenen Hasta

Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu

- Nazofaringeal ve orofaringeal
- Nazofaringeal yıkama/aspirasyon

Alt Solunum Yolu

- Balgam

Yatan Hasta

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

Uygun Örnek Toplama Kuralları:

Mikrobiyolojik
örnek
alındıktan
sonra

- Örnek kabı doğru etiketlenmeli
 - Barkod kapağa değil numune kabına yapıştırılmalı
- Hasta ve numune hakkında laboratuvara yeterli klinik bilgi verilmeli
- Mümkün olan en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalı

Klinik Bilgi ?

Klinik ön tanı

- İmmünsupresyon
- Antibiyotik kullanım öyküsü

Laboratuvara yardım
hastaya yardım....

KLİNİK-LABORATUVAR İLETİŞİMİ

Solunum Yolu Florası

BOX 32.1 Normal Nasopharyngeal and Oropharyngeal Organisms

Bacteria

Usually Present

Streptococcus mitis group, *Streptococcus salivarius* group, and other viridans streptococci

Streptococcus pneumoniae

Non-group A β -hemolytic streptococci

Streptococcus pyogenes

Nonhemolytic streptococci

Veillonella spp.

Bacteroides spp.

Fusobacterium spp.

Prevotella spp.

Porphyromonas spp.

Coagulase-negative staphylococci

Neisseria spp.

Diphtheroids

Micrococcus spp.

Eikenella spp.

Capnocytophaga spp.

Occasionally Present

Haemophilus influenzae

Haemophilus parainfluenzae

Peptostreptococcus

Actinomycetes

Staphylococcus aureus

Mycoplasma

Fungus

Candida spp.

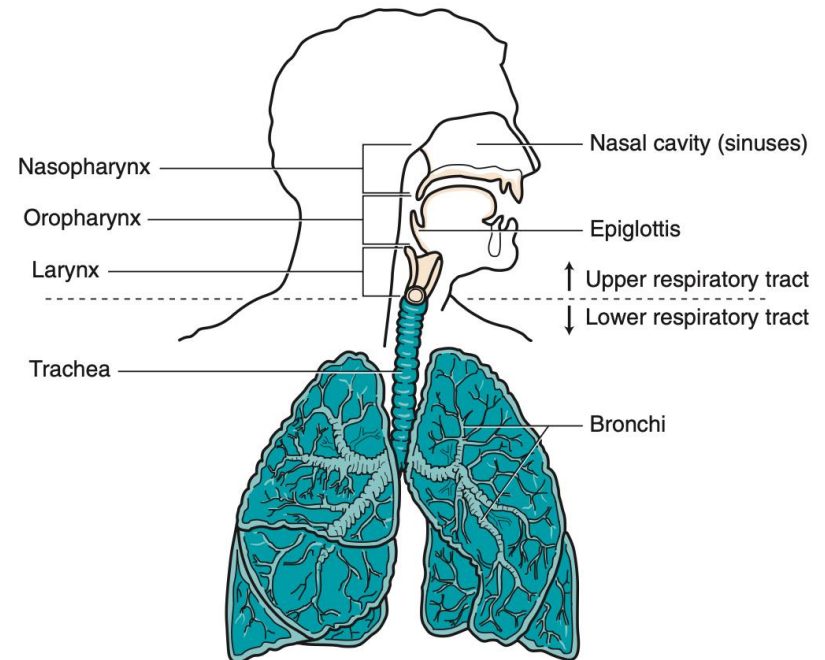


FIG. 32.1 Anatomy of the respiratory tract.

Üst Solunum Yolu Örnekleri

Burun sürüntüsü

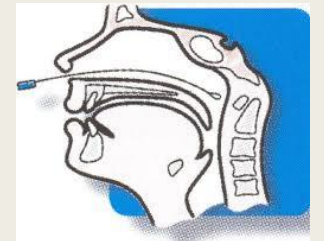
- MRSA taşıyıcılığının izlenmesi, MRSA kaynaklı hastane enfeksiyonu salgınlarının tanısı
- AGBS taşıyıcılığı
- *K. rhinoscleromatis*'in etken olduğu rinoskleroma enfeksiyonları
- Atrofik rinit (ozena) etkeni olan *K. ozaenae* tanısı
- Burun difterisi şüpheli olgularda *C. diphtheriae* tanısı



Üst Solunum Yolu Örnekleri

Nazofarinks örnekleri

- Difteri ve Boğmaca hastalığı ön tanısı
- Virüs enfeksiyonları (nazofarinks sürüntü/aspirasyon)
 - Rhinovirus, Coronavirus, Adenovirus, Parainfluenza virüsleri, İnfluenza virüsleri, CMV, EBV, HSV, RSV, Coxsackie virus tip A ve diğer enterovirüsler, SARS CoV-2
- İmmün sistemi baskılanmış kişilerde invaziv hastalık şüphesi durumunda
 - *Aspergillus* spp., *Mucor* spp.



Üst Solunum Yolu Örnekleri

Boğaz sürüntü örnekleri öncelikle akut farenjit tanısı için değerlidir.

BOĞAZ SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİ

BOĞAZ KÜLTÜRÜ

HIZLI (DİREKT) ANTİJEN TESTLERİ

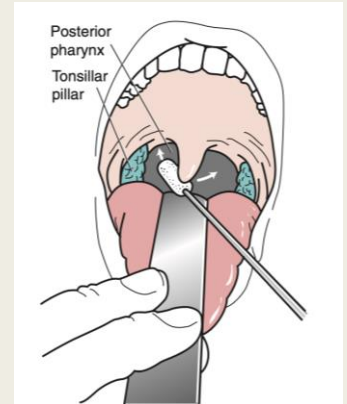
NAAT

Dil basacağı ile dile hafif bir baskı uygulanır.

Steril eküvyon dudak, yanak mukozası, uvula ve dile dokundurulmadan uvulanın arkasından iki tonsil arasından uzatılır.

Eküvyon ileri geri olarak posterior farinks, tonsiller ve varsa inflamasyonlu ya da eksudatif alanlara sürülür.

DİKKAT! Epiglot inflamasyonlu görülüyorsa solunum örnek alınmaz!



Şekil 2.1.1-1 Çift uçlu eküvyon ve taşıma besiyeri

BOĞAZ KÜLTÜRÜNDE ARANAN ETKENLER	TAŞIMA ÖZELLİKLERİ	SAKLAMA KOŞULLARI	ÖZEL DURUMLAR
A Grubu beta hemolitik streptokok	Eküvyon ile nemli olarak veya taşıyıcı besiyerinde ≤ 2 saat, oda ısısında	≤ 24 saat, oda ısısında	AGBS için kültür ve hızlı antijen testinin birlikte yapılacağı durumlarda çift eküvyon kullanılır.
<i>A. haemolyticum</i>	Eküvyon ile nemli olarak veya taşıyıcı besiyerinde ≤ 2 saat, oda ısısında	≤ 24 saat, oda ısısında	Genç erişkinlerde ve bazen çocuklarda döküntü ile birlikte seyreden akut farenjitlerde etken olabilir.
<i>N. gonorrhoeae</i>	Kömür tozlu taşıma besiyerinde ≤ 2 saat, oda ısısında	≤ 12 saat, oda ısısında	Rutin boğaz kültürlerinde araştırılması önerilmez. Cinsel aktif yaşta farenjit etkeni olabilir.
<i>F. necrophorum</i>	Anaerop taşıma sisteminde ≤ 2 saat, oda ısısında	Anaerop taşıma sisteminde ≤ 24 saat, oda ısısında	Rutin boğaz kültürlerinde aranmaz. Tekrarlayan ve iyileşmeyen farenjitlerde, peritonsiller apsede akılda tutulmalıdır.

Hızlı Antijen Testleri (AGBHS)



Hızlı antijen testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri testte kullanılan yöntemlere göre değişebilir;

Duyarlılıkları %70-90
Özgüllükleri %95



Hızlı antijen testi ve boğaz kültürü birlikte yapılacaksa duyarlılığı korumak için her birine ayrı örnek alınmalıdır

AGBS Sık Sorulan Sorular

Tedavi sonrası kontrol kültürü yapmalı mıyım?

Temaslılarda tanı ve tedavi gerekir mi?

Asemptomatik taşıyıcılık durumu için boğaz kültürü alınmalı mı?

Alt Solunum Yolu Örnekleri

Balgam

Bronkoskopi örnekleri

- Bronkoalveolar lavaj (BAL)
- Transbronşial biyopsi (TBB)
- Transbronşiyal iğne aspirasyonu (TTNA)

Transtrakeal aspirat

Plevra sıvısı

Transtorasik iğne biyopsisi

Açık akciğer biyopsisi

Alt Solunum Yolu Örnekleri

Balgam

- Sabah balgamı alınmalıdır
- Balgam örneği toplanmadan önce ağız çalkalanmalı, FAKAT AĞIZ ÇALKALAMA SUYU KULLANMAMALI, DİŞ FIRÇALANMAMALI
- Takma diş varsa çıkartılmalıdır
- Öksürtülerek veya indüklenerek alınmalı

Transport en kısa zamanda (toplama ve işlem süresi 2 saati geçmemeli)



Makroskopi

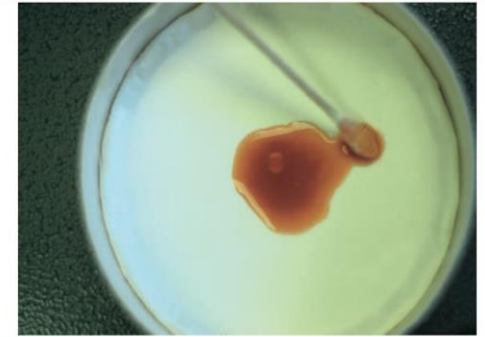


FIGURE 69-1 "Currant-jelly" sputum associated with *Klebsiella pneumoniae* pneumonia.

Pas ve çikolata renginde balgam:

- *S. pneumoniae*

Kanlı jelöz balgam (frenk üzümü jölesi):

- *K. pneumoniae*

Pürülan, yeşilimsi balgam:

- *Pseudomonas* spp., apse, neoplazma

Balgam hacminde artış:

- Akciğer apsesi, bronşektazi

Pürülan balgamda çizgi şeklinde kan:

- *M. tuberculosis*

Kahverengimsi kanlı görünüm:

- Akciğer gangreni

Kötü kokulu balgam:

- Akciğer gangreni, bronşektazi, anaerob enfeksiyon

Alt Solunum Yolu Örnekleri

Balgamdan kültür değerlendirmesi boyalı mikroskopik inceleme ile birlikte yapılır.

Yassı epitel ve PMNL; 10x objektifle en az 10 alan, bakteriler ise 100x objektifle en az 20-40 immersiyon alanı incelenerek değerlendirilir.

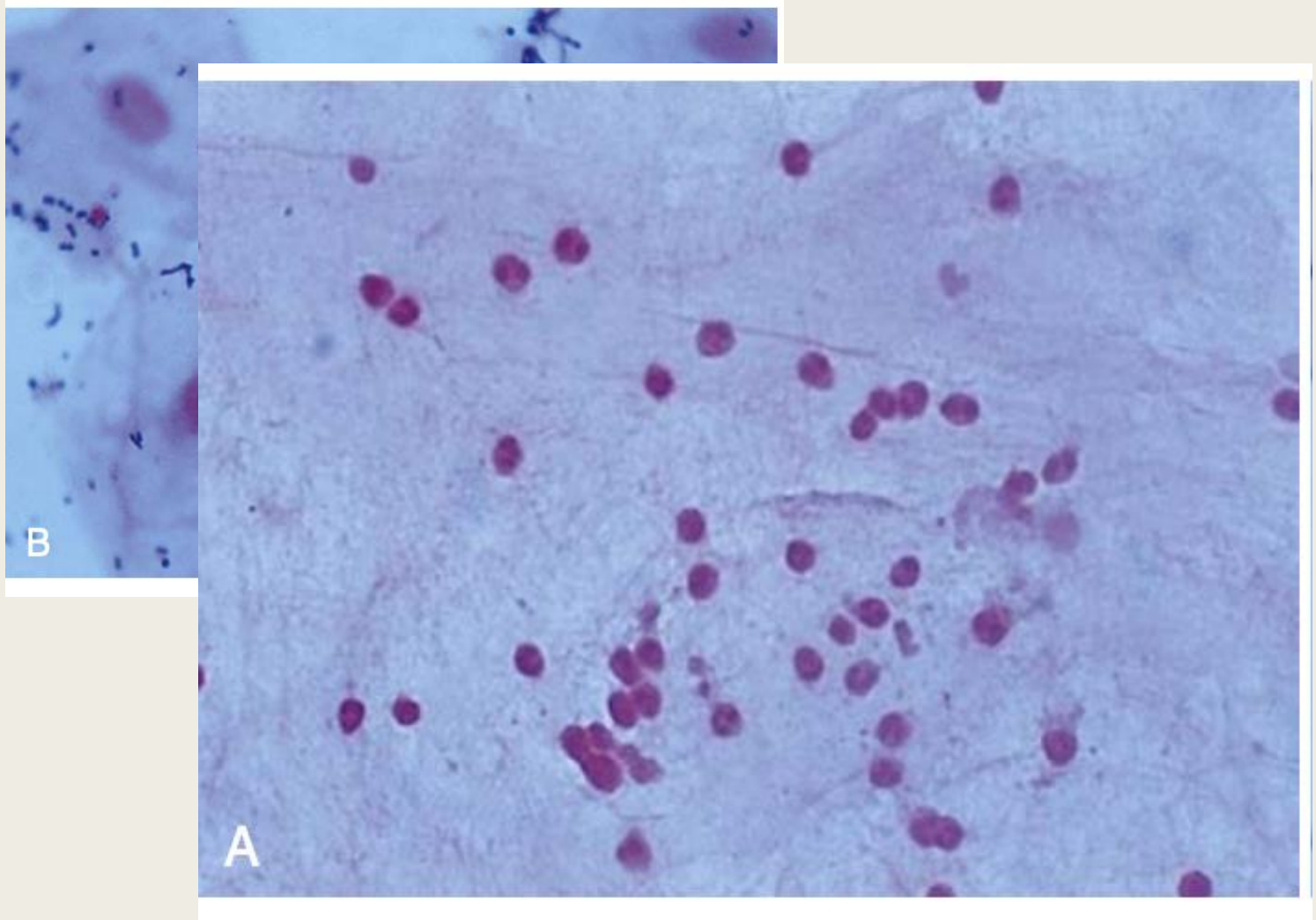
Fazla sayıda yassı epitel varlığı üst solunum yolu florası ile kontaminasyonu gösterir.

Örnek kalitesini değerlendirmek için Bartlett'in skorlama yöntemi en fazla kabul gören ölçüt.

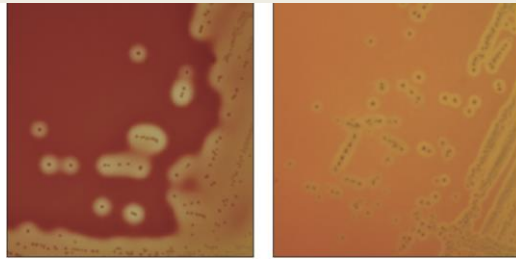
Bartlett Skorlama Yöntemi

Hücre tipi ve sayısı		Skor
PNL	<10	0
	10-25	+1
	>25	+2
Mukus varlığı		+1
Epitel hücreleri	10-25	-1
	>25	-2
	Toplam skor	>0 ise balgam incelemeye alınır.

Gram Boyalı Balgam Örneği



Bakteriyolojik Kültür ve Tanımlama



(a) Beta hemolysis

(b) Alpha hemolysis

Figure 60.1 Beta- and alpha-hemolytic reactions on blood agar

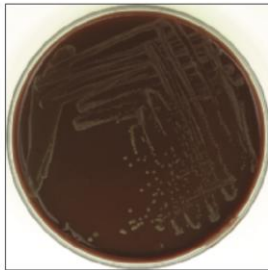


Figure 60.2 Colony growth on chocolate agar from a throat culture

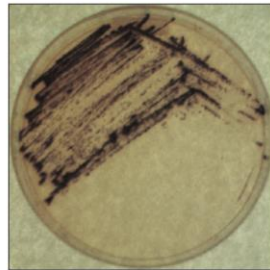
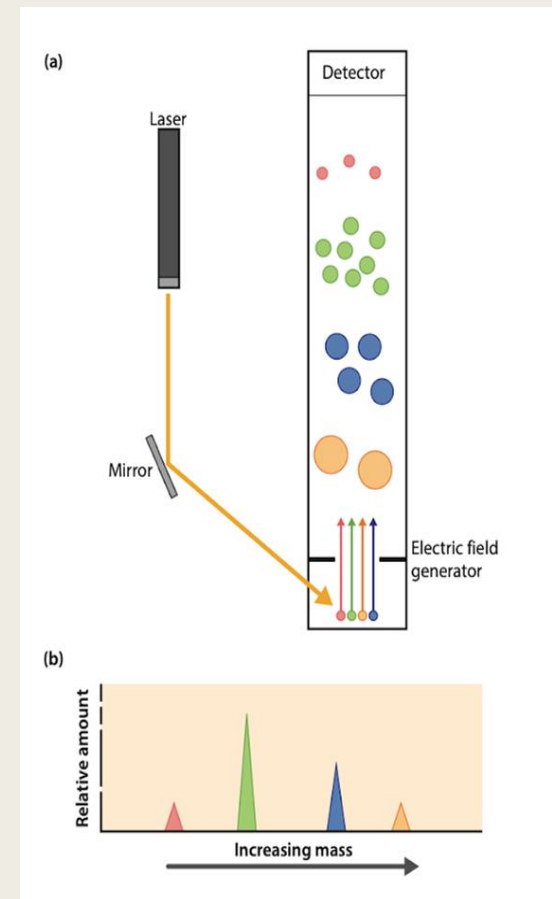
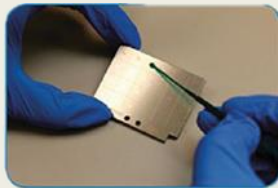
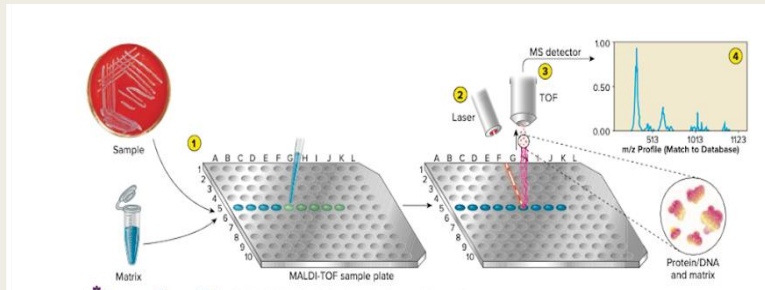


Figure 60.3 Mueller-Hinton tellurite agar plate. Growth of black, pinpoint colonies indicates the presence of diphtheroids.



MALDI-TOF Kütle Spektrometresi



Antibiyogram



Balgam Kültürü Dışında Kullanılan Testler

Kan Kültürü:

Hastane-kaynaklı ve ventilatör ilişkili pnömonide her hastadan en az iki set kan kültürü

İdrar Antijen Testi:

L. pneumophila
S.pneumonia

Seroloji:

Mycoplasma,
C.pneumonia,
Legionella,
Coxiella

İndirekt floresan antikor testi:

Nazal aspirat, yıkama sıvısı, nazofarengeal sürüntü

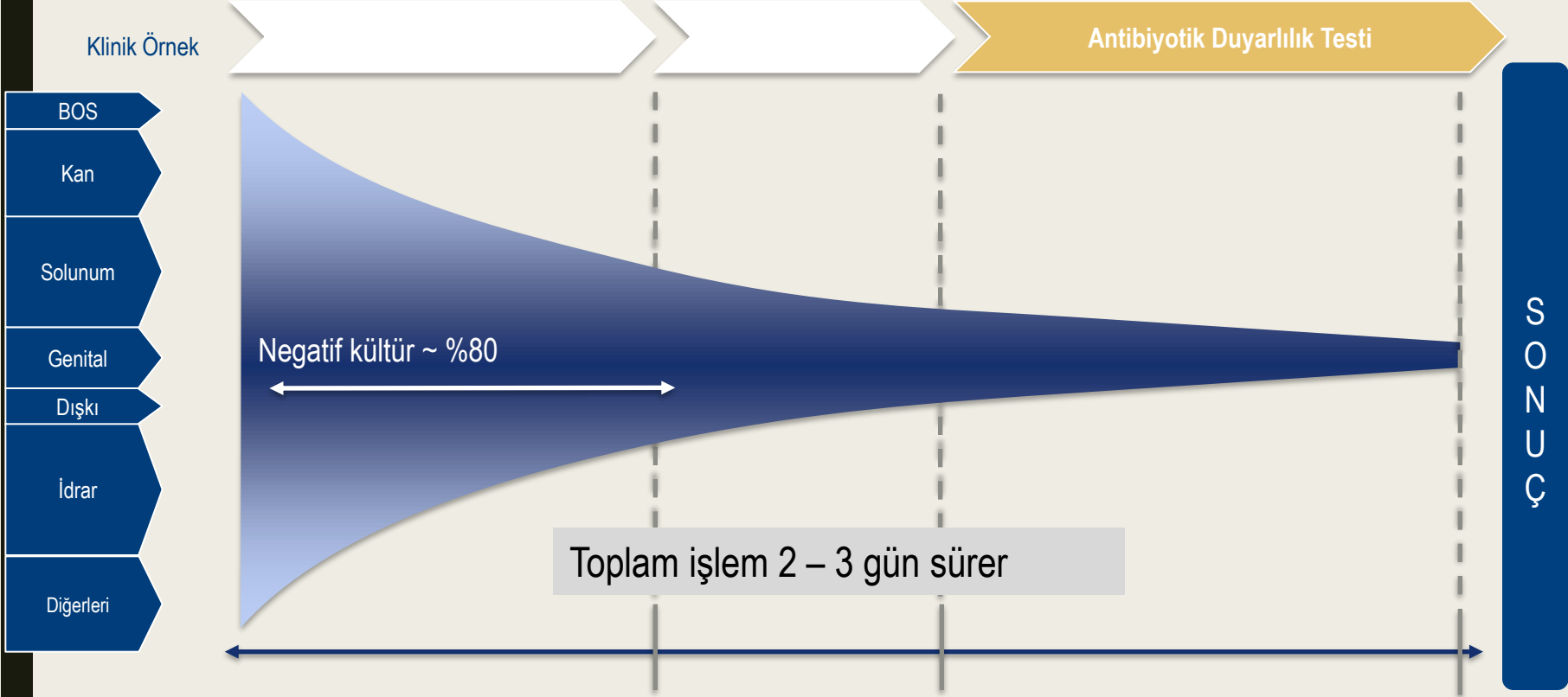
Moleküler tanı yöntemleri:

Hibridizasyon yöntemleri
Multipleks PCR
M.pneumonia, C.pneumoniae
S. pneumonia Legionella

L. pneumophila Üriner Antijen Testi

- *L. pneumophila* için duyarlılık %57-90, özgüllük >%90;
- *L. pneumophila* **serogrup 1** için geliştirilmiştir.
 - Diğer *L. pneumophila* serogruplarında (serogrup 2-14 arası) tanısal değeri yoktur.
- Antijenüri günler sonra başladığından başlangıç döneminde negatif sonuç alınabilir.
- Antijenürinin başlangıcından ve serolojik iyileşmenin ardından aylarca pozitif kalabilir.

Bakteriyolojik Kültür



Sendromik Testler



Klinik Olarak Önemli Bir Zamanda



Tanı konulması zor ve ya zaman alacak



Özel Hasta Gruplarında ve Klinik Tablolarda



- İmmun baskılanmış hastalar
- Transplant Hastaları
- Genel durumu rutin yöntemleri beklemeye uygun olmayan
- Uzun antibiyotik tedavisi alan hastalar

Sendromik Test

- Biofire FilmArray, IVD FilmArray panelleriyle kullanılmak üzere tasarlanmış, in vitro tanı amaçlı (IVD) kullanıma yönelik, otomatik bir cihazdır.
- Multipleks Real Time Nested PCR



Hastalığa Özgü Paneller



BIOFIRE®
SOLUNUM
PANELİ
RP1.2+ Panel

23 Hedef

- 4 bakteri
- 19 virüs



BIOFIRE®
KAN KÜLTÜRÜ
TANIMLAMA 2
PANELİ
BCID2 Panel

43 Hedef

- 26 bakteri
- 7 maya
- 10 AMR Geni



BIOFIRE®
FILMARRAY®
GASTROİNTESTİNAL PANEL
GI Panel

22 Hedef

- 13 bakteri
- 5 virüs
- 4 parazit



BIOFIRE®
FILMARRAY® MENENJİT
ENSEFALİT PANELİ
ME Panel

14 Hedef

- 6 bakteri
- 7 virüs
- 1 maya



BIOFIRE® FILMARRAY®
PNEUMONİAPlus
PANEL
PN+ Panel

33 Hedef

- 18 bakteri
- 8 virüs
- 7 AMR Geni



BIOFIRE®
EKLEM
ENFEKSİYON
PANELİ
JI Panel

39 Hedef

- 29 bakteri
- 2 maya
- 8 AMR Geni



BIOFIRE® PNÖMONİ PLUS (PNplus) PANELİ

34 Hedef. 1 Saat.

BAKTERİLER

ATM-111-112

ESBLs

CTX-M

*Acinetobacter calcoaceticus-
baumannii* complex
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Serratia marcescens

ATİPİK BAKTERİLER

ATM-111-113

CARBAPENEMASES

KPC / VIM / IMP / NDM

*Acinetobacter calcoaceticus-
baumannii* complex
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Serratia marcescens

Oxa-48 like

Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Proteus spp.
Serratia marcescens

ANTİMİKROBİYAL

ATM-111-114

β-LACTAM (METHICILLIN)

mecA/C and MREJ

Staphylococcus aureus

Molecular Testing for Acute Respiratory Tract Infections: Clinical and Diagnostic Recommendations From the IDSA's Diagnostics Committee

Kimberly E. Hanson, MD, MPH, IDSA, IDPH, CDC, 78; Azar MM, IDSA, IDPH, CDC, 78; Banerjee R, IDSA, IDPH, CDC, 9,10



Panel testler gereksiz antibiyotikleri ve akciğer grafilerini azaltabileceği de için PEDIATRİK hastalarda uygun maliyetli olabilir.



Bağışıklık sistemi baskılanmış ve pnömonisi olan kritik hastalar ve hava yolu hastalığı alevlenmeleri olan hastalar için panel testlerin kullanımı linik açıdan anlamlıdır.



Respiratuar virüslerin tespitinde klasik yöntemlere göre daha hassastır, tanısal belirsizliği azaltarak erken hasta yönetimi kararlarını yönlendirmeye yardımcı olabilir.

ERS/ESICM/ESCMID/ALAT TKP REHBERİ 2023

Teknoloji mevcutsa, standart olmayan toplum kökenli pnömoni antibiyotikleri reçete edildiğinde veya düşünüldüğünde, Sendromik Panel testleri için bir alt solunum yolu örneği (balgam veya endotrakeal aspiratlar) gönderilmesini öneriyoruz.

Sendromik panel testlerinin en büyük potansiyel faydası, şüphelenilmeyen antibiyotik dirençli patojenler için antibiyotikleri hızla ayarlama yeteneğidir.

Kültüre dayalı tanı için sonuçların beklenmesi sırasında 48 ila 72 saatlik uygunsuz antibiyotik tedavisi aralığının TKP'de olumsuz sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aşırı geniş antibiyotik tedavisi de olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilmiştir.

GUIDELINES

ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of severe community-acquired pneumonia

Ignacio Martin-Loeches^{1,2,3,4*}, Antoni Torres^{3,4}, Blin Nagavci⁵, Stefano Aliberti^{6,7}, Massimo Antonelli⁸, Matteo Bassetti⁹, Lieuwe D. Bos¹⁰, James D. Chalmers¹¹, Lennie Derde¹², Jan de Waele¹³, Jose Garnacho-Montero¹⁴, Marin Kollef¹⁵, Carlos M. Luna¹⁶, Rosario Menendez¹⁷, Michael S. Niederman¹⁷, Dmitry Ponomarev^{18,19}, Marcos I. Restrepo²⁰, David Rigau²¹, Marcus J. Schultz^{10,22,23}, Emmanuel Weiss²⁴, Tobias Welte²⁵ and Richard Wunderink²⁶

Question 1: In patients with sCAP, should rapid microbiological techniques be added to current testing of blood and respiratory tract samples?

Recommendations

If the technology is available, we **suggest** sending a lower respiratory tract sample (either sputum or endotracheal aspirates) for multiplex PCR testing (virus and/or bacterial detection) whenever non-standard sCAP antibiotics are prescribed or considered.
Conditional recommendation, very low quality of evidence.

Moleküler tanı testleri

Moleküler Testler

- 908140-CMV PCR
- 908140.1-CMV PCR (BAL)
- 908150-HBV DNA (PCR)
- 908170-HCV RNA (PCR)
- 20000-Sepsis Paneli
- 20055-Eklem Enfeksiyonları Paneli
- 20033-Menenjit Paneli
- 20011-Pnömoni Paneli
- 20022-Gastrointestinal Panel
- 908143-EBV PCR
- 908113-BK Virüs PCR
- 908232-JC VİRÜS PCR
- 908230-Human papilloma virus (HPV) PCR
- 908332-Pneumocystis jirovecii PCR
- 908112-Aspergillus PCR
- 00000-Aspergillus PCR

Sonuç:

ÖRNEK KALİTESİ

KLİNİK-
LABORATUVAR
İLETİŞİMİ

KÜLTÜR
KISITLILIKLARI

ANTİJEN TESTİ
SINIRLILIKLARI

TEŞEKKÜRLER...