

Alt Solunum Yolu İnfeksiyonlarının Mikrobiyolojik Tanısında Transtrakeal Aspirasyon Örneklerinin Değeri

Efsun Akbaş¹, Meral Dinç², Nihal Başay², İbrahim Dalkılıç¹, Engin Güvener¹

Özet: Alt solunum yolu infeksiyonları (ASYİ)'nin tanısında transtrakeal aspirasyon (TTA) örnekleri en uygun mikrobiyolojik inceleme örneği olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada ASYİ tanısı alan 23 erişkin hastanın TTA örnekleri ve serumları incelemeye alınmıştır. TTA örnekleri rutin bakteriyolojik ve mikolojik besiyerlerinde, *Legionella* spp. tanısı için ise spesifik besiyerlerinde kültüre edilmiştir. Yanı sıra aynı örneklerden DFA ile *L.pneumophila* antijeni aranmış, serumlarda ise *Chlamydia* spp. için mikro-immünofluoresans (MIF) yöntemi ile IgM çalışılmıştır. Beş TTA örneği yetersiz, dört örnek ağız mikroflorası ile kontamine bulunmuştur. Diğer örneklerin 8'inde ise sorumlu ajan olarak şu mikroorganizmalar saptanmıştır: *S.pneumoniae* (2), *S.aureus* (2), *B.catarrhalis*, *H.influenzae*, *X.maltophilia* ve *C.albicans*. Olguların hiçbirinde *Legionella* türleri saptanmamıştır. Bir olguda *C.pittaci* MIF IgM (>1:20 titre) pozitif, bir diğer olguda *C.pneumoniae* MIF IgM (>1:20 titre) pozitif bulunmuştur. Sonuç olarak TTA örneklerinin yeterli ve uygun alınması halinde ASYİ'da etken tanısına olanak sağladığı gözlenmiştir. Bulgularımız, yalnızca iki olguda başlanan ampirik tedavinin yeniden düzenlenmesini gerektirmiştir.

Anahtar Sözcükler: Alt solunum yolu infeksiyonları, transtrakeal aspirasyon.

Summary: Value of transtracheal aspirates for diagnosis of lower respiratory tract infections. In the diagnosis of lower respiratory tract infections (LRTI), transtracheal aspiration (TTA) materials are accepted the most suitable samples for microbiologic examination. Therefore, TTA samples and sera from 23 adult patients with LRTI were taken to examination. All TTA samples were cultured on routine bacteriologic and mycologic media, also specific media for the diagnosis of *Legionella* species were used. In addition, the same samples were screened by DFA technique for *L.pneumophila* antigen, and the sera were studied for *Chlamydia* spp. IgM by MIF test. Five TTA samples were inadequate and four were contaminated by oral microflora. From eight of the remaining samples, following microorganisms were isolated as responsible agents; *S.pneumoniae* (2), *S.aureus* (2), *B.catarrhalis*, *H.influenzae*, *X.maltophilia* and *C.albicans*. *Legionella* spp. were not detected in any cases. In one case, *C.pittaci* IgM was positive (>1:20 titer) and in another case, *C.pneumoniae* IgM was positive (>1:20 titer) by MIF. Results of this study suggest that TTA samples taken adequately and appropriately, can provide the isolation of the causative agent of LRTI. Our results indicated that modification of the initial empiric therapy was necessary in only two cases.

Key Words: Lower respiratory tract infections, transtracheal aspiration.

Giriş

Son yıllarda önem kazanan *Legionella* spp., *Chlamydia pneumoniae* gibi yeni ajan patojenlerle birlikte alt solunum yolu infeksiyonları (ASYİ)'nin mikrobiyolojik tanısı için gerekli laboratuvar spektrumu da genişlemiştir. Bununla birlikte bu ajanların tanısına yönelik incelemeler rutin laboratuvarların çoğunda yapılamamaktadır ve klinisyen ampirik tedaviye alınan yanıtı göre yönlendirilmektedir (1). Öte yandan gelişmiş laboratuvar şartları ve tanı tekniklerine rağmen ASYİ etyolojisinin % 49'lara varan oranlarda saptanamadığı da bilinmektedir (2). Günümüzde DNA probları ve PCR ile hemen her etkene yönelik hızlı ve duyarlı tanı prosedürleri geliştirilmiş olmakla birlikte pratik yaygınlık kazanmamıştır. Son yıllarda serum ve idrar örneklerinde antijen aranması, özellikle balgam çıkaramayan olgularda başvurulan yöntemlerdir, ancak sensitiviteyi % 30'larda kalmıştır (3).

Bu çalışmada, ASYİ olan olgulardan alınan transtrakeal aspirasyon (TTA) örnekleri ve hasta serumlarından, mümkün olan en geniş spektrumda mikrobiyolojik tanı koymayı ve uygulanan ampirik tedavinin etkinliğini saptamayı amaçladık.

Yöntemler

Aralık 1993-Nisan 1994 tarihleri arasında Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi'ne ASYİ tanısı ile yatırılan sekizi kadın, 23 erişkin (ortalama yaş 48) olgunun serum ve TTA örnekleri incelemeye alındı. Ateş yükselmesi, öksürük, pürülan balgam çıkarma veya balgam miktarında artma, nefes darlığı gibi ASYİ bulguları tüm hastalarda kaydedildi. Çalışmaya ağır dispne, syanoz, şiddetli öksürük, ortopne, boyunda kitile bulguları olan ve TTA işlemini kabul etmeyen olgular dahil edilmedi. Hastaların rutin kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı ve protrombin zamanı testleri yapıldı; PA ve yan akciğer grafileri çekildi.

Hasta grubu, poliklinik başvurusu üzerine hastaneye yatırılmış toplum kaynaklı pnömoni veya pnömoni ile birlikte altta yatan diğer bir hastalık öyküsü olan olgulardan oluşmaktaydı. Bronkoskopi ile klinik tanı kesinleştiğinde dört olgunun akciğer malignitesi zemininde gelişen pnömoni olduğu anlaşıldı. Bronşektazili bir olgu ise, infeksiyon hastanede bulunduğu sırada geliştiğinden nozokomiyal pnömoni tanısı almıştı (Tablo 1).

TTA işlemi Cava-Fix 355-45 kullanılarak ve Pecora yöntemi ile gerçekleştirildi. Hastanın başı hiperekstansiyonda iken çevre dokuların zedelenmemesine özen gösterilerek krikotiroid membrandan trakeaya girildi ve kateter gönderildikten sonra iğne geri çekildi. Bu arada 10 ml steril distile su trakeaya verildi ve öksürük refleksi olunca geri aspire edildi. Örnekler, aynı hastalardan alınan serumlarla birlikte bir saat içinde, buz kabında laboratuvara ulaştırıldı.

(1) Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

(2) Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi, Ankara

5. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (4-6 Eylül 1995, İstanbul)'nde bildirilmiştir.

Tablo 1. Olguların Klinik Özellikleri, TTA ve Serum Örneklerinin İnceleme Bulguları

Hasta No.	Yaş	C	Klinik Tanı	Mikroskopik İnceleme	İzole Edilen Mikroorganizma	Legionella DFA	Chlamydia MIF IgM (>1/20)
1	35	E	P	Bol PNL, GNKB	<i>H.influenzae</i>	-	-
2	75	E	P	Bol PNL, GPKD	<i>S.pneumoniae</i>	-	-
3	45	E	P+B	Bol PNL, GPKD	<i>S.pneumoniae</i>	-	-
4	52	E	OP	YM	-	-	-
5	69	E	P	Bol PNL	-	-	-
6	69	E	OP	>10 PNL	-	-	-
7	16	E	P*	>10 PNL	-	-	-
8	49	K	P+Pa	KM	Boğaz florası	-	-
9	45	E	P+B	KM	Boğaz florası	-	-
10	61	E	P (+kanser?)	>10 PNL	<i>C.albicans</i>	-	-
11	69	K	P+B	YM	-	-	-
12	36	E	P+B	YM	-	-	-
13	32	E	P	KM	Boğaz florası	-	-
14	43	E	P	>10 PNL	<i>B.catarrhalis</i>	-	-
15	60	K	OP	>10 PNL	-	-	-
16	46	E	P	Bol PNL, GPK	<i>S.aureus</i>	-	-
17	22	E	P	YM	-	-	-
18	55	K	P+B**	KM	Boğaz florası	-	-
19	25	K	AA	Bol PNL, GPK	<i>S.aureus</i>	-	-
20	32	K	P	Bol PNL	<i>X.maltophilia</i>	-	<i>C.pneumoniae</i>
21	32	E	P	YM	-	-	-
22	45	K	P	Bol PNL	-	-	<i>C.psittaci</i>
23	54	K	OP+B	Bol PNL	-	-	-

* TTA alınmadan önce üç doz penisilin kullanılmış

** Nozokomiyal pnömoni

C: cinsiyet, DFA: direkt fluoresan antikor, MIF: mikroimmünofluoresans,
PNL: polimorf nüveli lökosit, GPKB: Gram-pozitif kokobasiller, GPKD: Gram-pozitif diplokoklar,
GPK: Gram-pozitif koklar, YM: yetersiz materyal, KM: kontamine materyal,
P: pnömoni, B: bronşektazi, OP: obstrüktif pnömoni,
AA: akciğer apsisi, Pa: pakiplörüt.

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü Laboratuvarları'nda TTA örneklerinden örnek kalitesi ve ön değerlendirme açısından direkt mikroskopik inceleme ve Gram preparatı hazırlandı. Her örnek rutin bakteriyolojik ve mikolojik inceleme için % 5 insan kanı agar, çikolata agarı, MacConkey agarı ve Sabouraud dekstroza agarı (sikloheksimid içeren ve içermeyen) besiyerlerine inoküle edildi. İnsan kanlı ve çikolata agarı besiyerleri % 5 CO₂'li ortamda 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. *Legionella* türleri için, TTA örnekleri 3000 g'de 15 dakika santrifüje edildikten sonra sedimentten spesifik besiyerlerine ekim yapıldı. Spesifik besiyeri olarak α-ketoglutarat eklenmiş BCYE (buffered charcoal yeast extract) agar bazı içeren BMPAα agar (Oxoid) ve GVPC medium (Oxoid) kullanıldı. Ayrıca her TTA örneği *L.pneumophila* serogrup 1-6 için direkt fluoresan antikor (DFA) (MarDx, Diagnostic, Inc.) yöntemi ile incelendi. Serum örneklerinden ise *Chlamydia* spp. için MIF yöntemi ile IgM çalışıldı (MRL Diagnostics, Ca.).

Sonuçlar

TTA örneklerinden beşi, direkt mikroskopik ve Gram boyalı preparat incelemeleri sonucunda yetersiz bulunmuş, yapılan bakteriyolojik kültürlerde de üreme saptanmamıştır. Dört TTA örneği ise farinks/ağız mikroflorası ile kontamine olup, mikros-

kopilerinde tipik ağız mukoza epitel hücreleri ve kopilerinde tipik ağız mukoza epitel hücreleri ve farklı morfolojide bakteriler gözlenmiştir. Bu, olasılıkla invazif bir girişim olan TTA örneğinin alınması sırasında refleks olarak farinks sekresyonlarının aspirasyonuna bağlıdır. Diğer 14 TTA örneğinin sekizinde rutin mikrobiyolojik inceleme sonucu izole edilen mikroorganizmalar Tablo 1'de belirtilmiştir. Olguların hiçbirinden *Legionella* türleri izole edilememiştir. Serolojik incelemede bir olguda *C.psittaci* MIF IgM pozitif (>1/20 titre) saptanmıştır. *Xanthomonas maltophilia* izole edilen bir olguda ise aynı zamanda *C.pneumoniae* MIF IgM pozitif (>1/20) bulunmuştur.

Bir olguda örnek alınmadan önce hastanın üç doz penisilin kullandığı saptanmıştır. Diğer olgularda TTA örnekleri alındıktan sonra ampirik antibiyotik tedavisine başlanmıştır. Yalnız bir olgu (*Candida albicans* izole edilen) tedavi başlanmadan kaybedilmiştir.

İrdeleme

Bu çalışmada ASYİ'nin tanısında genişletilmiş bir laboratuvar spektrumu ile mikrobiyolojik incelemenin etkinliği üzerinde durulmuştur. ASYİ'nin mikrobiyolojik tanısında en yaygın kullanılan klinik örnek, balgamdır. Bu ülkemiz için de geçerlidir. Ancak balgam örneklerinin en ideal şartlarda alınmasında bile farinks/ağız florası ile kontamine olması ve örneklerin incelenmesinde yeterli standardizasyon sağlanamaması, önemli dezavantajlardır. Woodhead ve arkadaşları (4)'nün toplumda edinilmiş 105 pnömoni olgusunda yaptıkları çalışmada, balgam örneklerinin rutin mikrobiyolojik incelenmesi sonucunda olguların yalnızca % 8'inde başlangıç ampirik antibiyotik tedavisinin değiştirilmesine gerek duyulduğu saptanmıştır.

Bronkoalveolar lavaj (BAL) ve TTA ile alınan örneklerde üst solunum yolu florası önemli ölçüde ekarte edildiğinden etkenin yönelik sensitivite artmaktadır. Ancak her iki yöntem de uygulamada getirdiği güçlükler nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır (5,6).

Bizim çalışmamızda 23 TTA örneğinden 14'ünün (% 61) mikrobiyolojik inceleme yeterliliğine sahip olması yöntemin tanı değerini sınırlayıcı bir faktör olmuştur. İnvazif bir girişim olması nedeniyle işlemin tekrarlanamaması bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bununla birlikte yetersiz/kontamine materyal değerlendirilmesi yapılan tüm olgularda, başlanan ampirik tedaviye olumlu yanıt alınmıştır.

TTA incelemesinde yeterli bulunan 14 örneğin ise sekizinde (% 57.1) rutin mikrobiyolojik inceleme ile sorumlu ajan saptanmıştır. İki olguda *Streptococcus pneumoniae*, biri akciğer apsisi olan iki olguda *Staphylococcus aureus*, bir olguda *Haemophilus influenzae*, bir olguda *Branhamella catarrhalis*, bir olguda *X.maltophilia*, bir olguda *C.albicans* etken olarak izole edilmiştir. Bu olgulardan ikisinde (*B.catarrhalis* ve *X.maltophilia* izole edilen) başlanan ampirik tedavinin mikrobiyolojik sonuca göre yeniden düzenlenmesi gerekmiştir. Hasta grubu sınırlı olmakla birlikte, oran verilecek olursa bu çalışmada da mikrobiyolojik sonuç başlangıç ampirik antibiyotik tedavisini % 8 oranında de-

güştürmüştür. *C.albicans* izole edilen olgu ise klinik stabilizasyon sağlanamadan kaybedilmiştir. TTA örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar diğer çalışmalarda izole edilenlerle benzer spektrumda bulunmuştur.

Mikrobiyolojik inceleme yeterliliğine sahip olarak saptanan örneklerin altısında ise rutin besiyerlerinde herhangi bir etken izole edilememiş olup, bunların dördü bronkoskopi sonucu bronş kanseri tanısı almışlardır. Bir olguda TTA örneği alınmadan önce üç doz penisilin kullanımı söz konusudur. Bir olguda ise *C.psittaci* IgM pozitif bulunmuştur.

Serolojik yöntemler de ASYİ'nin tanısında sınırlı bir değer taşımaktadır. Akut dönemde antikor titrelerinin yeterince yükselmemiş olması ya da her etkene yönelik spesifik testlerin geliştirilmemiş olması gibi nedenler sayılabilir. Çoğu kez serolojik yöntemler klinik ve mikrobiyolojik tanıyı desteklediğinde değer kazanmaktadır.

Bizim çalışmamızda *C.psittaci* IgM pozitif bulunan olgunun, TTA örneği mikroskopik incelemesinde bol PNL gözlenmiş rutin kültürlerinde üreme saptanmamıştır. Bu durumda tablonun psittakoz olduğu ileri sürülebilir. Ancak laboratuvarında test sonucu çıkana dek geçen sürede hastaya uygulanan ampirik penisilin tedavisine başarılı bir şekilde yanıt alınması, söz konusu pozitifliğin izahını güçleştirmiştir. Benzer şekilde *X.maltophilia* izole edilen bir olguda aynı zamanda *C.pneumoniae* IgM pozitif bulunmasına rağmen hasta non-spesifik bir tedavi ile iyileşmiştir. Her iki durum için de muhtemel açıklamalardan biri yanlış pozitiflik, diğeri ise yakın zamanda büyük olasılıkla subklinik geçirilmiş infeksiyonlara bağlı pozitiflik şeklinde olabilir. Çalışılan kitin absorpsiyonlu olması RF'den kaynaklanabilecek yanlış pozitiflik olasılığını ekarte ettirmektedir. Öte yandan ülkemizde her iki *Chlamydia* türüne bağlı infeksiyonlar hakkında da yeterince veri toplanmamıştır. *C.psittaci* antikor prevalansının araştırıldığı bir çalışmada risk grubu (tavuk çiftliği çalışanları), pnömonili olgular ve kontrol olgularında IgG antikorları sırasıyla % 21.7, % 20 ve % 16.7, IgM antikorları ise risk grubunda % 1.7, pnömoni grubunda % 3.3 bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (7). *C.pneumoniae* IgG prevalansının koroner kalp hastalığı olan olgularda araştırıldığı bir diğer çalışmada da olgu grubunda % 40 oranında pozitif bulunurken kontrol grubunda % 12 oranında pozitiflik saptanmıştır (8). Yurt dışı çalışmalarda ise özellikle gelişmekte olan ülkelerde normal popülasyonda *C.pneumoniae* IgG seroprevalansının % 40-60 kadar yüksek olduğu bildirilmektedir (9). Ülkemiz bulguları ile kıyaslandığında ortaya çıkan belirgin fark henüz konu ile ilgili geniş serilerde çalışmalar yapılamamış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Seroprevalansı bilmediğimiz durumda laboratuvarında saptanan, ancak klinik olarak desteklenmeyen IgM pozitifliğinin yorumunu yapmak da güçleşmektedir.

Özet olarak; 23 olguluk bir hasta grubunda alınan TTA örneklerinin 14'ü mikrobiyolojik değerlendirme kriterlerine uygun bulunmuş ve bunların da 8'inde ajan patojen izole edilmiştir. Ancak bir olgu hariç, diğer olguların tümünde TTA örneklerinin alınmasından hemen sonra ampirik antibiyotik tedavisi başlanmış, ikisinde tedavi izole edilen etkene göre yeniden düzenlenmiş ve tüm olgular klinik ve/veya radyolojik iyileşme ile taburcu edilmişlerdir. Serolojik inceleme bulguları ile hastaların

prognozu arasında bir ilişki kurulamamıştır. Ülkemizde TTA örneklerinden yapılan incelemelerle ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır ve burada olduğu gibi genellikle küçük gruplarda gerçekleştirilmiştir (10,11). Bu çalışmalardan birinde incelenen 25 olgudan ayrıca balgam kültürleri de yapılmış ve TTA örneklerinin kültürleri ile balgam kültürlerinin arasında üç olguda korelasyon saptanmıştır (10). Buna göre TTA kültürlerinin mikrobiyolojik tanı açısından belirgin bir üstünlüğü olduğu söylenebilir. Ancak çalışmamızın sonucuna bakıldığında da mikrobiyolojik tanının ampirik tedaviyi yönlendirmekte anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

ASYİ tanısı için laboratuvarında en geniş spektrumda inceleme yapmanın olanaksızlığı aşıkardır. Bununla birlikte iyi seçilmiş hasta, uygun örnek alınması (iyi alınmış balgam veya BAL, TTA, uygun zamanda alınmış serum ve idrar örnekleri) mikroskopik incelemeden başlayarak dikkatli gözlem ve aşgari mikrobiyolojik tanı araçlarının (uygun besiyerleri ve kitler) kullanılması ile başarı oranını artırmak mümkündür. Bu konuda tartışmaların sonuca ulaşmasında büyük hasta gruplarında yapılacak benzer çalışmaların önemli katkıları olacaktır.

Kaynaklar

1. Nguyen MH, Victor LY. Community-acquired pneumonia. *Curr Opin Infect Dis* 1993; 6: 158-62
2. Fang GD, Fine M, Orloff J, et al. New and emerging etiologies for community-acquired pneumonia with implications for therapy: a prospective multicenter study of 359 cases. *Medicine* 1990; 69: 307-16
3. Kalin M, Grandien M. Rapid diagnostic methods in respiratory infections. *Curr Opin Infect Dis* 1993; 6: 150-7
4. Woodhead MA, Arrowsmith J, Chamberlain-Webber R, Wooding S, Williams I. The value of routine microbial investigation in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 1991; 85: 313-7
5. Rankin JA. Getting the bugs out off BAL. *Chest* 1991; 100: 1-2
6. Bjermer L, Rust M, Heurlin N, Rennard S, Klech H. The clinical use of broncho-alveolar lavage in patients with pulmonary infections. *Eur Respir Rev* 1992; 2: 106-13
7. İlvan A, Kocabeyoğlu Ö, Yenen OŞ, Keskin K, Aydılek R, Uçan ES. Tavuk çiftliği işçilerinde ve pnömonili hastalarda *Chlamydia psittaci* antikorları [Özet]. In: Anđ Ö, Ađaçfidan A, eds. *I. Ulusal Chlamydia İnfeksiyonları Simpozyumu Bildirileri*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No. 23, 1995: 85
8. Yılmaz E, Ađaçfidan A, Yılmaz G, Koylan N, Badur S, Nişancı Y, Meriç M. Koroner kalb hastalarında *Chlamydia pneumoniae* infeksiyonu yeni bir risk faktörü olabilir mi? [Özet]. In: Anđ Ö, Ađaçfidan A, eds. *I. Ulusal Chlamydia İnfeksiyonları Simpozyumu Bildirileri*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No. 23, 1995: 83
9. Thom DH, Grayston JT. Infections with *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Chest Med* 1991; 12: 245-55
10. Güçlü S, Akın M, Kılınç O, Yorgancıoğlu A, Özbakkaloğlu B. Akciğer enfeksiyonlarının tanı ve tedavisinde transtrakeal aspirasyonun (TTA) katkısı. In: Erkan F, Kılıçaslan Z, Tabak L, eds. *II. Akciğer Hastalıkları Kongresi* (3-5 Mayıs 1990, İstanbul) Panel, Konferans, Serbest Bildiriler. İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, 1990: 348-55
11. Başay N, Özkul M, Erdoğan Y, Yıldırım E, Şen N. Alt solunum yolu enfeksiyonlarında ciprofloksacin ile alınan sonuçlar. In: Erkan F, Kılıçaslan Z, Tabak L, eds. *II. Akciğer Hastalıkları Kongresi* (3-5 Mayıs 1990, İstanbul) Panel, Konferans, Serbest Bildiriler. İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, 1990: 337-47