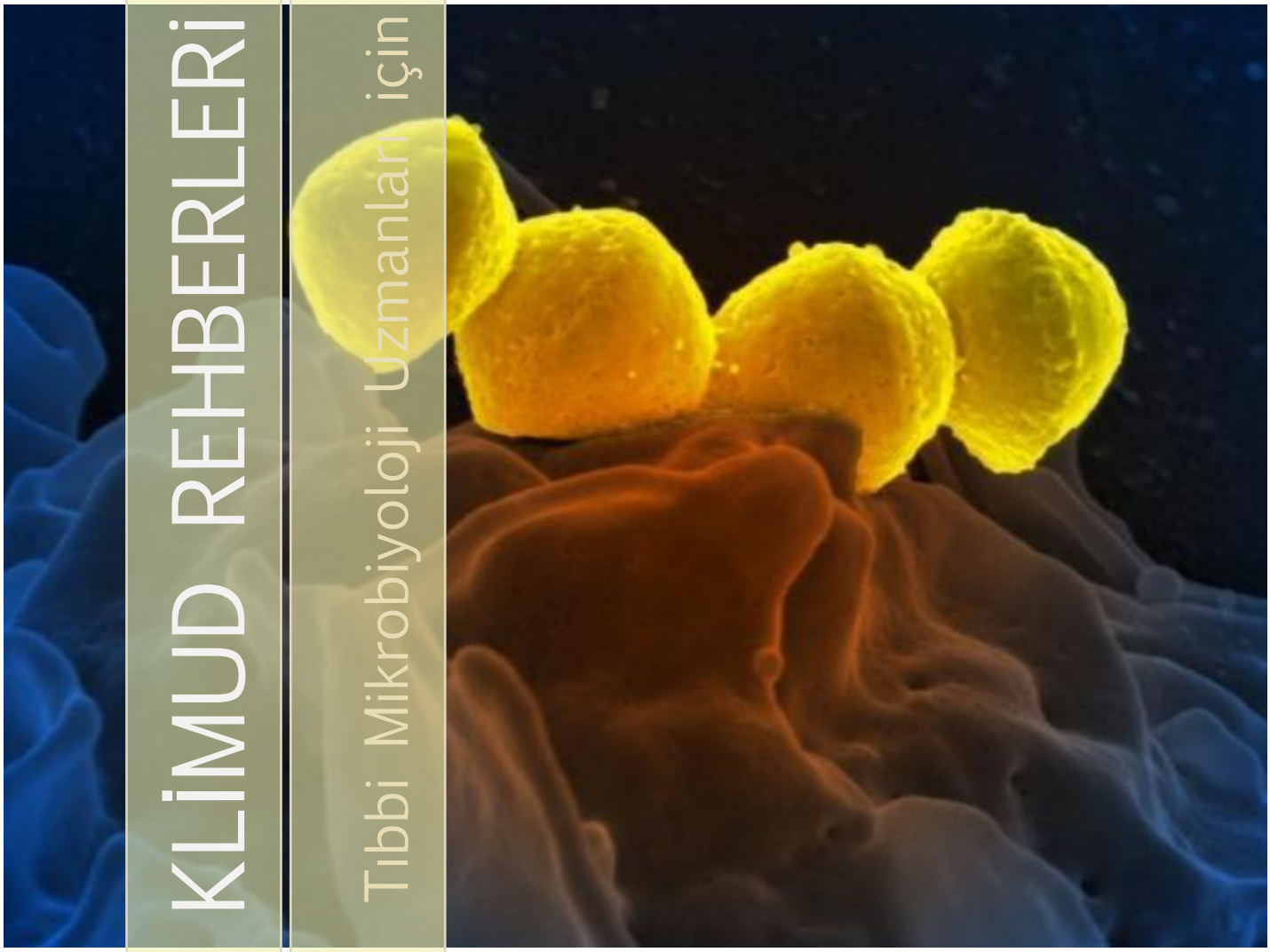
KLİMUD REHBERLERİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları için



SOLUNUM SİSTEMİ ÖRNEKLERİNİN LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ

2. Baskı, 2022 / ANKARA
KLİMUD-SOL.REH.10/22.Ver02

Bu Rehber Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) tarafından hazırlatılmış olup Rehberin her türlü yayın, basım ve dağıtım hakkı KLİMUD'a aittir. KLİMUD'un yazılı izni olmadan Rehberin tümü ya da bir bölümü herhangi bir ortamda yayınlanamaz ve/veya çoğaltılamaz. Ancak kaynak gösterilerek kısa alıntılar yapılabilir. Rehber ilgili kişi ve kurum/kuruluş için hazırlanmış olup ücretsizdir ve para ile satılamaz.

Ekim 2022, Ankara

ISBN: 978-605-84108-5-5

KLİMUD Kaynak No: 10

Düzeltilmiş 2. Baskı

KLİMUD-SOL.REH.10/22.Ver02

Kapak deseni: *Streptococcus pyogenes*

* *Kaynak:* National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Date 18 July 2011 Source National Institutes of Health (NIH); Scanning electron micrograph of *Streptococcus pyogenes* bacteria (yellow) bound to a human neutrophil (blue). https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Streptococcus_pyogenese_Bacteria.jpg (public domain)

REHBER KOORDİNASYON KURULU (RKK)

Efsun AKBAŞ (Başkan)
Duygu FINDIK
Aydan ÖZKÜTÜK
Serap SÜZÜK YILDIZ
Ayşın ZEYTİNOĞLU

SOLUNUM SİSTEMİ ÖRNEKLERİNİN LABORATUVAR İNCELEMESİ REHBERİ ÇALIŞMA GRUBU*

Başkan
Berrin ESEN

Yazıcı Üyeler
Sevtap ARIKAN
Candan ÇİÇEK
Gül ERDEM
Nuran ESEN
Metin KORKMAZ
Selin NAR ÖTGÜN
Mihriban YÜCEL

Uygulayıcı Üyeler
Emek TÜRKEKUL ŞEN
Zehra ORTARIK

Klinisyen Üyeler
Ayşe TANA ASLAN
Ülkü YILMAZ

KLİMUD REHBERLERİ GÖZDEN GEÇİRME KURULU (GGK)

Gülay AKARSU
Şöhret AYDEMİR
Neriman AYDIN
Gülendam BOZDAYI
Gülden ÇELİK
Feriha ÇİLLİ
Melek DEMİR
Neşe GÖL
Demet HACISEYİTOĞLU
Süleyha HİLMİOĞLU POLAT
Nedret KOÇ
Dilek METİN
Özlem MİMAN
Betigül ÖNGEN
Tuncer ÖZEKİNCİ
Arzu SAYINER
Cemile SÖNMEZ
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU
Burçin ŞENER
Nilay UÇARMAN

(*) Soyadına göre alfabetik dizin

Teşekkür…

KLİMUD Rehberleri doğası gereği güncellemeler yapılan dokümanlardır ve her güncelleme önceki baskılara katkıları geliştirmekte, genişletmektedir. İlk baskıların yayımlanmasından bu yana alanımızdan birçok bilim insanı bu çok önemli çalışmaya katkıda bulunmuştur.

Rehber Koordinasyon Kurulu olarak, aşağıda adı geçen değerli uzmanlara, 'Solunum Sistemi Örnekleri Laboratuvar İnceleme Rehberi'nin önceki baskılarının koordinasyonunda, okunmasında ve değerlendirilmesinde verdikleri katkılardan dolayı şükranlarımızı sunuyoruz.

Hakan ABACIOĞLU, Ali ADİLOĞLU, Mehmet BAYSALLAR, Rukiye BERKEM, Selda ERENSOY,
Pınar ZARAKOLU KÖŞKER, Belkıs LEVENT, Cüneyt ÖZAKIN,
Güner SÖYLETİR, Tercan US

İçindekiler

Bu Rehberi nasıl kullanacaksınız? ix
Kısaltmalar ve tanımlar x
Anahtar kelimeler / Key words x
Biyogüvenlik uygulamaları xi

BÖLÜM 1 - SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDA OLASI ETKENLER 1

Rehberin çerçevesi 1
Olası etkenler, klinik örnekler 1
Kaynaklar 5

BÖLÜM 2 - ÜST SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ 7

Genel özellikler 7
Boğaz örnekleri 7
- Örnek alınması, taşınması, saklanması 8
- Örneklerin işlenmesi 9
- Hızlı antijen testleri 10
- İş akış şeması 10
- Sonuçların raporlanması 11
- AGBS dışında farenjit etkeni olabilecek diğer bakteriler 11

Nazofarinks örnekleri 13
- Örnek alınması, taşınması, saklanması 13

Kulak örnekleri 15
- Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 15
- Kulak örneklerinin işlenmesi 16
- Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 17

Sinüs aspirasyon/biyopsi örnekleri 18
- Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 18
- Örneklerin işlenmesi 19
- Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 20

Burun örnekleri 21
- Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 21
- Burun örneklerinin işlenmesi 22
- Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 23

Diğer ÜSY örnekleri 23
- Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 23
- Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 25

Kaynaklar 26

BÖLÜM 3 - ALT SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ...27

Balgam ... 27
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 27
Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri ... 29
Balgam kültürü ... 30
Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi ... 32
Moleküler tanı yöntemleri ... 32
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 32

Kistik fibroziste balgam incelemesi ... 34
Sıklıkla etken olan bazı mikroorganizmalar ... 34

ASY enfeksiyonları tanısında diğer testler ... 35
Kan kültürü ... 35
Üriner antijen testi ... 35
Seroloji ... 36

Balgam dışı ASY örnekleri ... 37
Balgam dışı ASY örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri ... 38
Balgam dışı ASY örnekleri için ara raporlar ve panik değer ... 39
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 40

Kaynaklar ... 42

BÖLÜM 4 - ÖZEL ENFEKSİYONLARDA ÖRNEKLERİN İNCELENMESİ ... 43

Tanı süreçleri ... 43
Difteri ... 44
Örneklerin alınması, taşınması ve işlenmesi ... 45
Ara raporlar ve panik değerler ... 45
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 46

Boğmaca ... 47
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 47
Örneklerin işlenmesi ... 48
Ara raporlar ve panik değerler ... 49
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 49

Lejyoner Hastalığı ... 50
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 50
Örneklerin işlenmesi ... 50
Ara raporlar ve panik değerler ... 50
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 52

Kaynaklar ... 53

BÖLÜM 5 - SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN MİKOBAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ 55

TB tanısında laboratuvarın düzenlenmesi ... 55
Biyogüvenliğe özel düzenlemeler ... 55

TB tanısında örnek yönetimi ... 56
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 56
Örneklerin işlenmesi ... 56
TB tanısında iş akış şeması ... 59
Ara raporlar ve panik değerler ... 60
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması ... 60

Kaynaklar ... 63

BÖLÜM 6 - SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN VİROLOJİK İNCELEMESİ 65

Genel özellikler 65
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 66
Örneklere uygulanan testler ve özellikleri 66
Ara raporlar ve panik değer 69
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 69

İnfluenza virüsleri 70
SARS-CoV-2 71
Kaynaklar 72

BÖLÜM 7 - SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN MİKOLOJİK İNCELEMESİ 73

Giriş 73
Örnek alınması, taşınması, işlenmesi ve kültür özellikleri 73
Ara raporlar ve panik değer 76
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 76

Kaynaklar 77

BÖLÜM 8 - SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN PARAZİTOLOJİK İNCELEMESİ 79

Giriş 79
Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri 79
Örneklerin işlenmesi ve iş akışı 80
Ara raporlar ve panik değer 81
Sonuçların yorumlanması ve raporlanması 81

Kaynaklar 82

BÖLÜM 9 - BİLDİRİMİ ZORUNLU SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARI 83

TABLOLAR

Tablo 1. Üst solunum yolu (ÜSY) enfeksiyonlarında klinik örnek ve olası etkenler ... 2
Tablo 2. Alt solunum yolu (ASY) enfeksiyonlarında klinik örnek ve olası etkenler ... 4
Tablo 3. Boğaz sürüntüsü örneklerinin alınması, taşınması ve saklanması ... 8
Tablo 4. Boğaz kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin kültür* için işlenmesi ... 9
Tablo 5. Nazofarinks örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve özel durumlar ... 13
Tablo 6. Kulak örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 15
Tablo 7. Kulak kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin işlenmesi ... 16
Tablo 8. Sinüs örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 18
Tablo 9. Sinüs örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve aranan mikroorganizma$,† ... 19
Tablo 10. Burun sürüntüsü örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 22
Tablo 11. Burun kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin işlenmesi ... 22
Tablo 12. Diğer ÜSY örneklerinin incelenmesinde kullanılan yöntemler ile örnek alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 24
Tablo 13. Diğer ÜSY örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve aranan etkenler 24
Tablo 14. Balgam örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri ... 27
Tablo 15. Bartlett skorlama yöntemi ... 29
Tablo 16. Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri ... 31
Tablo 17. Moleküler ve serolojik tanı yöntemleri için örnekleri saklama koşulları ... 32
Tablo 18. Balgam dışı ASY örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 37
Tablo 19. Balgam dışı örneklerin işlenmesi ve kültür özellikleri ... 39
Tablo 20. Alt solunum yolu kültürlerinde primer patojenlerin değerlendirme ve raporlanması ... 41
Tablo 21. Solunum yolu enfeksiyonlarında özel patojenlerin incelenmesi: Kültür ... 43
Tablo 22. Solunum yolu enfeksiyonlarında özel patojenlerin incelenmesi: İKT, DFA, PCR ve seroloji ... 44
Tablo 23. Boğmaca hastalığı tanısında örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 48
Tablo 24. Lejyoner hastalığı tanısında örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 51
Tablo 25. Lejyoner hastalığının tanısında uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi ... 52
Tablo 26. Akciğer TB tanısında kullanılan klinik örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri ... 57
Tablo 27. Akciğer TB tanısında kullanılan klinik örneklerin işlenmesi ... 57
Tablo 28. Akciğer TB tanısında kullanılan testler, yöntemler ve değerlendirme ... 58
Tablo 29. Akciğer TB tanısında kullanılan testler için panik değerler ... 60
Tablo 30. Virolojik incelemeler için solunum yolu örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 65
Tablo 31. Etkene göre örneğin alınma yeri ve zamanı* ... 66
Tablo 32. Klinik tanıya göre en uygun örnekler ... 66
Tablo 33. Virüslerin saptanmasında klinik örneklere uygulanan testler ve özellikleri ... 67
Tablo 34. Virüslerin saptanmasında kullanılan testlerin avantaj ve dezavantajları ... 68
Tablo 35. İnfluenza virüslerinin tanı yöntemleri ve testlerin özellikleri ... 70
Tablo 36. SARS-CoV-2 tanısında kullanılan yöntemler ve testlerin özellikleri ... 71
Tablo 37. Mantar örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 74
Tablo 38. Solunum yolu enfeksiyonlarında mantarların tanısında kullanılan kültür dışı testler ve özellikleri ... 74
Tablo 39. Mantar örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri ... 75
Tablo 40. Parazit örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri ... 79
Tablo 41. Solunum yolu enfeksiyonlarında etken olabilecek parazitlerin tanısında kullanılan mikroskopi dışı testler ve özellikleri ... 80
Tablo 42. Bildirimi zorunlu solunum sistemi enfeksiyonları* ... 84

ŞEKİLLER

Şekil 1 Çift uçlu eküvyon ve taşıma besiyeri ... 8
Şekil 2 Boğaz sürüntüsü örneklerinde iş akışı ... 10
Şekil 3 KFÖ ve BAL örneklerinin kantitatif ekimi ... 38
Şekil 4 Mikobakteri laboratuvarına gönderilen örneklerin tanı akış şeması ... 59

Bu Rehberi nasıl kullanacaksınız?

KLİMUD rehberleri, Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarımıza klinik örnek alınmasından raporlama aşamasına kadarki tüm süreçlerin yönetilmesinde yardımcı bir kaynak oluşturulması amacıyla hazırlanmıştır.

Bu Rehber tanı amacıyla laboratuvara gönderilen 'solunum sistemi örnekleri' incelemeleri için Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarının günlük uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Rehberin; örneklerin alınması, laboratuvara gönderilmesi, laboratuvarda işlenmesi, kültürlerin değerlendirilmesi, sonuçların yorumlanması ve raporlanması konularında Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanlarına yol gösterici olması hedeflenmiştir. Metinler okuyucunun kolayca bilgiye ulaşmasını gözeten tablolar ve algoritmalar ile desteklenmiştir. Rehberin; uzmanın doğru ve hızlı sonuç verebilecek, sağlık hizmeti kalitesini artıracak ve maliyet etkin uygulamaları gözetecek bir yaklaşımı geliştirmesine destek olacağı da umut edilmektedir.

Bölümler içerisinde yer alan "**bilgi notları**" konu ile ilgili olarak bilinmesi gereken en önemli noktalara, "**uyarı**" kutucukları ise özellikle uygulamada dikkatli olunması gereken süreçlere vurgu yapmakta olup, bu amaçla tüm rehberde aşağıda yer alan simgeler kullanılmaktadır.

Rehberde "Biyogüvenlik Uygulamaları"na ise kısaca –solunum sistemi örnekleri ile çalışan bir laboratuvar için öncelikli güvenlik önlemlerini hatırlatıcı düzeyde– yer verilmiştir. Laboratuvarlar yürüttükleri çalışmaların tamamını kapsayacak şekilde *risk değerlendirmesi temelinde* uygun biyogüvenlik önlemlerini almak üzere daha fazla bilgiye "UMS Laboratuvar Güvenliği Rehberi" ve konuya özel diğer kaynaklardan ayrıca ulaşmalıdır.

Bilgi simgesi
İlgili örnek ve/veya enfeksiyon hakkında mutlaka bilinmesi gereken bilgi

Uyarı-dikkat çekme simgesi
Önemli mesajlar/uygulamalar

Raporlama simgesi
İlgili örneğin raporlanmasında kullanılan farklı şablonlar

Kısaltmalar ve tanımlar

ADT antimikrobiyal duyarlılık testi
AGBS A grubu beta hemolitik streptokok
AMS açlık mide suyu
ARB aside dirençli basil/boyama (aside-rezistan basil/boyama) (acid-fast stain)
ASM American Society for Microbiology (Amerikan Mikrobiyoloji Derneği)
ASY alt solunum yolu
BAL bronkoalveoler lavaj (sıvısı)
BCYE buffered charcoal yeast extract agar (tamponlanmış kömürlü maya özütü agar)
BGD biyogüvenlik düzeyi
BGK biyogüvenlik kabini
BHI brain-heart infusion (beyin-kalp infüzyon)
bkz. bakınız
CDC Centers for Disease Control and Prevention (ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri)
cfu colony forming unit (koloni oluşturan birim)
CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CMV cytomegalovirus
DFA direkt floresan antikor
DHK dekontaminasyon-homojenizasyon-konsantrasyon
DTA derin trakeal aspirat
EBV Eppstein Barr virus
EIA enzim immünoassay
EMB eosin-methylene blue (eozin metilen mavisi)
ETA endotrakeal aspirat
EUCAST The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)
EZN Ehrlich-Ziehl-Neelsen (boyama)
IDSA Infectious Diseases Society of America (Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği)
IFAT indirekt floresan antikor testi
IU international unit (bazı hastalıkların bağışıklık düzeyi değerlendirmesi için ve/veya serolojik testlerde kullanılan uluslararası birim)
İDT ilaç duyarlılık testi
İGST interferon gama salınım testi
İKT immünokromatografik test
HIV human immunodeficiency virus
HSGM Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü
HSV herpes simplex virus
KF kistik fibrozis
KFÖ korunmuş fırça örneği
KKA koyun kanlı agar (%5 koyun kanı içeren)
KKD kişisel koruyucu donanım
KNS koagülaz negatif stafilokok
KOH potasyum hidroksit
LJ Löwenstein-Jensen (besiyeri)
MAC MacConkey agar
MRSA metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*
MTBC *Mycobacterium tuberculosis* kompleks
NAAT nükleik asit amplifikasyon testleri
OS oda sıcaklığında
örn. örneğin
PCR polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
PNL polimorfonükleer lökosit
RG Resmi Gazete
RSV respiratory syncytial virus
SF serum fizyolojik
SG serogrup
TA trakeal aspirat
TB tüberküloz
TDM tüberküloz dışı mikobakteriler
UMS Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (2014) – Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (şimdiki adı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü) tarafından yayımlanmış olan, bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıkların tanısında standart yöntemleri ve algoritmaları içeren rehber doküman
UTRL Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı
ÜSY üst solunum yolu
VTM viral taşıma(transport)besiyeri
VZV varicella zoster virus

Anahtar kelimeler / Key words

akut solunum yolu enfeksiyonu, alt solunum yolu, atipik pnömoni, bakteriyel, boğmaca, bronşiolit, bronşit, COVID-19, difteri, epiglottit, farenjit, hastane kaynaklı pnömoni, laboratuvar tanı, Lejyoner hastalığı, mikolojik, otitis media, paraziter, parotit, plevra sıvısı, seyahat-ilişkili pnömoni, tonsillit, trakeit, tüberküloz, üst solunum yolu, ventilatör-ilişkili pnömoni, viral

/

acute respiratory infection, atypical pneumonia, bacterial, bronchitis, bronchiolitis, COVID-19, diphtheria, epiglottitis, hospital-acquired pneumonia, laboratory diagnosis, Legionnaires' disease, mycological, lower respiratory tract, otitis media, parasitic, parotitis, pleura fluid, pertussis, pharyngitis, tonsillitis, tracheitis, travel-associated pneumonia, tuberculosis, upper respiratory tract, ventilator-associated pneumonia, viral

Biyogüvenlik uygulamaları

Tanı amaçlı incelemeler için solunum sistemi örnekleri ile çalışırken laboratuvar personelinin karşı karşıya olduğu **en ciddi risk** aerosol yoluyla bulaşabilen patojenlere (TB, SARS-CoV-2, …) maruziyet ve enfeksiyon riskidir. İşlemler *asgari* **biyogüvenlik düzeyi 2** (BGD2) laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmeli, eldiven, bedeni tam kapatan önlük, maske -TB ve SARS-CoV ile ilgili çalışmalarda yüksek koruyucu özellikte maske ve göz koruması – dâhil, evrensel önlemler alınmalıdır (TB ile ilgili biyogüvenlik uygulamalarının ayrıntıları ayrıca ilgili bölümde de verilmiştir).

Mikroaerosol oluşturma potansiyeli ya da sıçrama/saçılma riski olan her türlü prosedür (*örn.*, örnekleri vorteksleme, örnek kapaklarının açılması, katalaz testi vb.) bir **BGK** içinde yürütülmelidir. Özellikle aerosol ile bulaşma potansiyeli yüksek mikroorganizmaların (*Mycobacterium tuberculosis, Neisseria meningitidis*...) bulunduğu şüpheli örneklerle ve bunların kültürleri ile ilgili tüm çalışmalar (yaymaların hazırlanması, santrifüj tüplerinin açılması, sonikasyon, besiyerlerine ekim, biyokimyasal ve moleküler testler…) **BGK** içinde yapılmalıdır.

Eğer **santrifüj** edilecekse bütün örnekler için kapaklı santrifüj rotorları veya örnek kapları kullanılmalı; rotorlar ve kaplar *ideal olarak* bir BGK içinde yüklenmeli ve boşaltılmalıdır. BGK dışındaki prosedürler kazara örnek saçılmasına maruz kalma olasılığını en aza indirecek şekilde gerçekleştirilmelidir. Örnekler işlendikten sonra çalışma yüzeyleri ve ekipman her zaman uygun bir dezenfektan ile dekontamine edilmelidir.

Mikroskopi için kullanılmış lamlar, çeşitli aktarma amaçları için kullanılmış pipet uçları ile kültürler için kullanılmış tek kullanımlık özeler **kesici-delici atık** kabul edilirler ve **kesici-delici atık kutusu**na atılırlar. Bu kutular delinmeye dayanıklı sert çeperli, kapağı hiçbir şekilde açılamaz, boşaltılamaz ve tekrar kullanılamaz özellikte (tek kullanımlık) olmalıdır. Gerçekte pipet uçları ve tek kullanımlık özeler insan cildi için kesici-delici nitelikte olmamakla birlikte, diğer biyolojik kirlilerin konduğu torbalara atılmaları halinde torbayı delerek sızıntıya neden olabilirler ve ciddi enfeksiyöz risk doğurabilirler; bu nedenle kesici-delici atık kabına atılmalıdırlar.

İlgili personel SARS-CoV-2'ye karşı aşılanmış olmalı, ayrıca TB ve difteri ile çalışan personelin bağışıklık durumları değerlendirilmeli; bağışık değillerse aşılanmalıdırlar.

Laboratuvarlar, BGD2 laboratuvar şartlarını sağlamak, çalışmalarının bütünü için *risk değerlendirmesi temelinde* uygun önlemleri almak ve güvenli laboratuvar uygulamalarını her yönü ile hayata geçirebilmek için ayrıca "UMS Laboratuvar Güvenliği Rehberi"ne başvurmalıdır.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 1

SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDA OLASI ETKENLER

Rehberin çerçevesi

Bu rehberde ön burun boşluklarından başlayarak nazofarinks, orofarinks, larinks, epiglot, iç/orta kulak ve paranazal sinüsleri içine alan **üst solunum yolları** ile trakea, bronş ve bronşiyoller, akciğer dokusu ve plevrayı içine alan **alt solunum yolları** enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısına yönelik olarak klinik örnekten sonuç raporuna kadarki tüm süreçler ele alınmaktadır.

Rehberin; solunum yolu örneklerinde en sık rastlanan bakteri, virüs, mantar ve parazitler ile bunların tanısında kullanılacak testlerin seçimi, örneğin alınması ve işlenmesi, test sonuçlarının yorumlanması ve raporlanması konularında bir kaynak oluşturması amaçlanmaktadır. Erişkin ve çocuklarda sık görülen enfeksiyonlara daha geniş yer verilmiş olup bakteriyel olanlar arasında özel klinik öneme sahip tüberküloz, difteri, boğmaca, Lejyoner hastalığı etkenleri ile solunum yollarında enfeksiyona neden olan mantarlar, virüsler ve parazitler ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

Rehbere bu baskısında COVID-19 enfeksiyonu için de yeni bir başlık eklenmiştir. Rehberin son bölümünde ise, Bildirimi Zorunlu Hastalıklar listesinde yer alan solunum yolu enfeksiyonlarına ait güncel düzenlemelere yer verilmiştir.

Rehberde, etken mikroorganizmaların tanımlanması süreçlerine (laboratuvar tekniklerinin uygulanması, ilgili besiyerlerinin hazırlanması, vb.) ilişkin bilgi yer almamaktadır. Enfeksiyonların/mikroorganizmaların tanısına/tanımlanmasına yönelik ayrıntılı standart çalışma prosedürleri Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS2014)'de yer almaktadır; bu rehberin kullanıcılarına *bildirimi zorunlu solunum sistemi etkenleri*nin tanısında kullanılan laboratuvar tekniklerinin ayrıntıları için de UMS2014'e başvurmaları önerilir (*bkz.* Bölüm 1, Kaynaklar).

Olası etkenler, klinik örnekler

Solunum yolunda enfeksiyon etkeni olabilecek tüm mikroorganizmalar ile tanıda kullanılacak klinik örnekler, üst solunum yolu ve alt solunum yolu olmak üzere sırasıyla **Tablo 1** ve **Tablo 2**'de özetlenmektedir.

Tablo 1. Üst solunum yolu (ÜSY) enfeksiyonlarında klinik örnek ve olası etkenler

Hastalık/Klinik durum	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
Akut farenjit	Boğaz sürüntü örneği	**A grubu beta hemolitik streptokok,** C ve G grubu beta hemolitik streptokoklar *Neisseria gonorrhoeae* *Neisseria meningitidis* (etken ve taşıyıcılık araştırması) *Arcanobacterium haemolyticum* *Corynebacterium diphtheriae* *Fusobacterium necrophorum* (Lemierre hastalığı) *Francisella tularensis** *Yersinia enterocolitica*	Rhinovirus Coronavirus Adenovirus Parainfluenza ve influenza virüsleri CMV, EBV, HSV Coxsackievirus tip A ve diğer enterovirüsler		
	Boğaz çalkantı suyu				
	Nazofaringeal sürüntü örneği	*Bordetella pertussis* *Bordetella parapertussis* *C. diphtheriae*			
	Faringeal ülserden sürüntü (DFA için)	*Treponema pallidum*			
	Serum	*Chlamydophila pneumoniae* *Chlamydophila psittaci*	HIV, EBV, CMV		
Larenjit ve laringotrakeobronşit (krup)	Nazofaringeal sürüntü, aspirasyon veya yıkama sıvısı	*B. pertussis* *B. parapertussis* *C. diphtheriae*	Parainfluenza virüs tip 1-4 (en sık), İnfluenza virüsleri Rhinovirus Adenovirus, RSV		
Epiglotit	Kan kültürü	*Haemophilus influenzae* *Haemophilus parainfluenzae* *Streptococcus pneumoniae* *Streptococcus pyogenes* *Staphylococcus aureus*	Parainfluenza virüsler Adenovirus RSV		
Trakeobronşit	Orofaringeal sürüntü Nazofaringeal sürüntü	*Mycoplasma pneumoniae* *C. pneumoniae*	Coronavirus Adenovirus Parainfluenza ve influenza virüsleri		
Otitis media	Miringotomi tüp drenajı Timpanosentez sıvısı	*S. pneumoniae* *H. influenzae* *Moraxella catarrhalis* *S. pyogenes* *S. aureus* Viridans grup *Streptococcus* spp. *Pseudomonas aeruginosa* Diğer Gram-negatif basiller *Alloiococcus otitis* *Bordetella trematum* *Turicella otitidis*	RSV Human metapneumovirus		
Otitis eksterna	Dış kulak yolu sürüntüsü, Fronkülden iğne aspirasyon örneği, Cerrahi debridman örneği	*S. aureus* *P. aeruginosa* *S. pyogenes* *Vibrio alginolyticus* Anaeroplar	Herpesvirus	*Aspergillus* spp. *Candida albicans*	
Rinit	Burun sürüntüsü		Rhinovirus ve Coronavirus (en sık), Adenovirus, RSV, Parainfluenza ve influenza virüsleri Coxsackievirus Echovirus		

Hastalık/Klinik durum	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
Primer atrofik rinit-rinoskleroma	Burun sürüntüsü	*Klebsiella ozaenae* *Klebsiella rhinoscleromatis*			
Stafilokok taşıyıcılığı	Ön burun delikleri sürüntü örneği	***S. aureus* (MRSA)**			
Akut sinüzit	Sinüs aspirasyon örneği Sinüs biyopsi örneği	*S. aureus* *S. pyogenes* *S. pneumoniae* *H. influenzae* *M. catarrhalis*	RSV, Human metapneumovirus, Parainfluenza ve influenza virüsleri, Adenovirus	*Aspergillus* spp. Dematisiyöz (pigmentli) mantarlar (*Alternaria, Bipolaris, Exophiala* spp.) *Fusarium* spp. *Mucorales* *Rhizopus* ve diğer türler **	
Hastane-kaynaklı sinüzit	Sinüs aspirasyon örneği Sinüs biyopsi örneği	*S. aureus, P. aeruginosa* *Serratia marcescens* *Klebsiella pneumoniae* *Enterobacter* spp. *Proteus mirabilis*			
Kronik sinüzit	Sinüs aspirasyon örneği Sinüs biyopsi örneği	Akut sinüzit etkenleri Fakültatif aerop Gram-negatif basiller, Anaeroplar (*Propionibacterium, Peptostreptococcus, Fusobacterium, Prevotella* spp., diğer fakültatif anaerop basiller)			
Gingivit, Stomatit, Orofaringeal lezyon	Lezyondan sürüntü - kazıntı Steril SF ile ağız çalkantı suyu (DFA için)	Stafilokoklar *S. pyogenes* Spiroketler *Prevotella* *Porphyromonas* *Actinobacillus*	HSV (DFA için)	*Blastomyces dermatitidis* *Candida* spp. *Cryptococcus neoformans* *Geotrichum candidum* *Histoplasma capsulatum* *Paracoccidio-ides brasiliensis* *Penicillium marneffei*	*Entamoeba gingivalis* *Trichomonas tenax*
Parotit	Ağızdan sürüntü örneği (Parotis meatusundan)	Stafilokoklar, *S. pyogenes* Viridans grup *Streptococcus* spp. *Enterobacterales* Diğer Gram-negatif basiller Anaeroplar	Kabakulak Parainfluenza ve influenza virüsleri Enterovirüsler EBV, CMV		
Vincent anjini	Biyopsi veya Gingiva sürüntü örneği	*Borrelia vincenti* (spiroketler) Anaeroplar (fuziform basiller)			
Lemierre hastalığı	Kan kültürü Apse materyali	*F. necrophorum*			
Faringeal/ Peritonsiller apse	Apse materyali	*Prevotella* *Porphyromonas* *Fusobacterium* *Peptostreptococcus* *S. pyogenes* *S. anginosus grup* *S. aureus* *H. influenzae*			
Orofaringeal tularemi	Apse materyali serum	*F. tularensis**			

* Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı ile bağlantı kurunuz.
** Mantarlar, bağışıklık sistemi normal olan olgularda kronik sinüzit, bağışıklık sistemi baskılanmış olgularda ya da kontrolsüz diabetes mellitus olgularında mortalitesi yüksek, ağır klinik tablo ile seyreden sinüzit etkenidir.

Tablo 2. Alt solunum yolu (ASY) enfeksiyonlarında klinik örnek ve olası etkenler

Hastalık/ Klinik durum	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
Bronşiyolit	ASY örnekleri	*Mycoplasma pneumoniae*	İnfluenza virüs tip A ve B Parainfluenza virüs tip 1-4, RSV Adenovirus Human meta-pneumovirus Coronavirus		*Paragonimus* spp.[4]
Bronşit	Balgam İndüklenmiş balgam TA, KFÖ BAL sıvısı, İdrar[1] Yıkama veya aspirasyon sıvısı	*H. influenzae* *H. parainfluenzae* *S. pneumoniae*[1] *M. catarrhalis, Neisseria* spp. *Klebsiella* spp. *Pseudomonas* spp., Zorunlu aerop Gram-negatif basiller *C. pneumoniae* *M. pneumoniae*			
	Nazofaringeal sürüntü	*Bordetella pertussis*			
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) alevlenmesi	Nazofaringeal sürüntü, yıkama veya aspirasyon sıvısı, Burun sürüntüsü, Boğaz sürüntüsü, Balgam, BAL sıvısı, TA	*H. influenzae,* *M. catarrhalis* *S. pneumoniae* *K. pneumoniae* *P. aeruginosa* *M. pneumoniae* *C. pneumoniae* *S. aureus*	İnfluenza virüs tip A ve B, RSV Adenovirus Rhinovirus Human meta-pneumovirus Human bocavirus		
Pnömoni (toplum-kaynaklı)	Balgam Bronkoskopik örnekler idrar[1] Akciğer dokusu[2]	*S. pneumoniae* *H. influenzae, S. aureus* *K. pneumoniae* *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *Burkholderia cepacia* *Legionella pneumophila*[1] *Legionella* spp. Oral anaeroplar (aspirasyon) *N. meningitidis* *M. catarrhalis* *M. pneumoniae* *Yersinia pestis** *Bacillus anthracis** *Francisella tularensis** *Pseudomonas pseudomallei* *C. pneumoniae, C. psittaci*	RSV İnfluenza virüs tip A ve B, Adenovirus Parainfluenza virüs tip 1-3 Human meta-pneumovirus Coronavirus	*Blastomyces dermatitidis*[3] *C. immitis/ posadasii*[3] *H. capsulatum*[3]	*Echinococcus* spp. *Ascaris lumbricoides* *Ancylostoma duodenale* *Necator americanus*[4] *Strongyloides stercoralis* *Toxocara* spp. *Paragonimus* sp.[4] *Plasmodium falciparum*[4] Filaryal nematodlar[4] *Schistosoma* spp.
Pnömoni (hastane-kaynaklı)	Balgam, İndüklenmiş balgam, TA, KFÖ, BAL İdrar[1] Akciğer dokusu[2]	*P. aeruginosa, E. coli* *K. pneumoniae* *Enterobacter* spp. *S. marcescens* *B. cepacia* *Acinetobacter* spp. *S. maltophilia* *S. aureus, H. influenzae* *S. pneumoniae*[1] Miks anaerop bakteri (Aspirasyon pnömonisi)[2] *Legionella* spp.[1,2]		*Aspergillus* spp.	
Pnömoni (immün yetmezlik)	Balgam, Bronkoskopik örnekler İdrar[1]	*Enterobacterales* *Pseudomonas* spp. ve ilişkili zorunlu aerop Gram-negatif basiller *S. aureus* *S. pneumoniae*[1] *Nocardia* spp. *Legionella* spp.[1]	HSV VZV CMV	*Aspergillus* spp. *C. neoformans* Endemik mikoz etkenleri[3] *Fusarium* spp. *Mucorales* *P. marneffei* *P. jirovecii* *Scedosporium apiospermum* (teleomorf: *P. apiospermi*) *Trichosporon* spp.	*S. stercoralis* *Toxoplasma gondii*

Hastalık/ Klinik durum	Örnek türü	Olası etkenler			
		Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
Aspirasyon pnömonisi	KFÖ Plevral sıvı (mümkünse)	*Peptostreptococcus* spp. *Fusobacterium nucleatum* *Porphyromonas asaccharolytica* *Prevotella melaninogenica* *Enterobacterales* *Pseudomonas* spp. ve hastane-kaynaklı pnömoni etkenleri			*Echinococcus* spp.
Akciğer apsesi	Apse materyali	*Peptostreptococcus* spp. *F. nucleatum* *P. melaninogenica* *Bacteroides fragilis* grup *S. aureus* *E. coli* *K. pneumoniae* *P. aeruginosa* *S. pneumoniae*			*Echinococcus* spp. *Entamoeba histolytica*
Plevral boşluk enfeksiyonları	Plevral sıvı İdrar[1]	*S. aureus* *S. pneumoniae*[1] *S. pyogenes* *H. influenzae* *Streptococcus anginosus* *Enterobacterales* *P. aeruginosa* *Nocardia* *Legionella* spp.[1]		*Aspergillus* spp. *B. dermatitidis*[3] *Candida* spp. *C. immitis / posadasii*[3] *Fusarium* spp. *Mucorales* *H. capsulatum*[3] *P. marneffei* *P. jirovecii* *S. apiospermum* (teleomorf: *P. apiospermi*) *Trichosporon* spp.	*Echinococcus* spp. *E. histolytica*

*Sağlık Bakanlığı, HSGM, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı ile bağlantı kurunuz.
[1] Klinik durum varlığında idrar örneklerinde etkene yönelik üriner antijen testi yapılabilir.
[2] Klinik durum varlığında özel etken tanımlanması için kültür koşulları etkene-özel olarak değiştirilmelidir.
[3] Bu mantarlar endemik mikoz etkenleridir. Türkiye bu mantarlar yönünden endemik bölge değildir. Ancak endemik bölgelere seyahat ile ilişkili enfeksiyonlar olasıdır.
[4] Türkiye bu parazitler yönünden endemik bölge değildir. Ancak endemik bölgelere seyahat ile ilişkili enfeksiyonlar olasıdır.

Kaynaklar

1. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the IDSA and the ASM. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6): e1–e94. https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039 (erişim t: 23.08.2022)
2. Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook 3rd ed. Volume 1, Section 3.11. ASM Press, Washington, DC. 2010.
3. Fishman JA. Epidemiology of pulmonary infections in immunocompromised patients. *In:* Blumberg EA, Bond S (Section eds) *UpToDate*. https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-of-pulmonary-infections-in-immunocompromised patients (erişim t: 30.01.2022)
4. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Aydoğdu Ofset, Ankara, 2014. (erişim t: 02.04.2022)

   https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf (Bildirimi zorunlu bakteriyel enfeksiyonların izolasyonu ve tanımlanması)

   https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_2.pdf (Yaygın kullanılan tanımlama teknikleri, Enfeksiyöz materyal transportu, ADT)

   https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_3.pdf (Dışkının parazitolojik incelemesi, Viral enfeksiyonların tanısı, Sendromik tanı)

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.

BÖLÜM 2

ÜST SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ

Genel özellikler

Üst solunum yolunu oluşturan anatomik bölge; ön burun boşluklarından başlayarak nazofarinks, orofarinks, larinks, epiglot, iç/orta kulak ve paranazal sinüsleri de içine alarak larinkse kadar uzanır. Üst solunum yolu normal florası pek çok nedenden etkilenmekte olup, bunlar konağın yaşı, yaşam koşulları, bağışıklık durumu, aşılanma durumu ve antibiyotik kullanımı gibi önemli faktörlerdir. Üst solunum yolu enfeksiyonları klinisyenlerin en sık karşılaştığı enfeksiyonlardır. Solunum yolu, solunan hava ile alınabilecek birçok enfeksiyon etkenine doğrudan maruz kalan bir vücut bölgesidir. Doğal anatomik engellere karşın yine de pek çok mikroorganizma üst solunum yolu dokularına tutunabilme ve enfeksiyon oluşturabilme yeteneğine sahiptir. *S. pyogenes* gibi bölgesel enflamatuvar hastalık yapan etkenlerin yanı sıra *C. diphtheriae* gibi toksini ile etkili mikroorganizmalar da üst solunum yolu enfeksiyonuna neden olabilir.

Üst solunum yolu enfeksiyonlarında olası etken bakteriler ve incelenebilecek klinik örnekler **Tablo 1**'de özetlenmektedir.

Boğaz örnekleri

Boğaz sürüntü örnekleri öncelikle akut farenjit tanısı için değerlidir. Akut farenjit tanısında boğaz sürüntü örneklerinde boğaz kültürü, hızlı (direkt) antijen testleri ve NAAT kullanılabilir. Boğaz kültürü en sık kullanılan test yöntemidir. Hızlı antijen testleri tanı ve tedavi süresini kısaltması nedeniyle hasta başı testi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hızlı antijen testleri ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesi hastanın yaşına ve kliniğine göre değişir. Kullanılacak hızlı antijen testinde duyarlılık <%80 ise testin negatif bulunduğu çocuk hastalarda mutlaka boğaz kültürü veya NAAT ile sonuç doğrulanmalıdır. Bu şekilde iki aşamalı test uygulamasının gerekmesi olasılığına karşı çift eküvyon ile örnek alınması önerilir.

ASO titresinin **akut farenjit** tanısında yeri yoktur!

Geç komplikasyon tanısı için kullanılır.

A grubu beta hemolitik streptokok (AGBS) tanısında son yıllarda kullanıma giren moleküler testlerin duyarlılığı %88.6 ile %94.8 arasında değişmekte, özgüllük ise %97-98 olarak bildirilmektedir, ancak rutin kullanımda ülkemiz için henüz maliyet etkin değildir.

Örnek alınması, taşınması ve saklanması

Boğaz kültürü örneklerinin alınması, taşınması ve saklanmasına ilişkin bilgiler **Tablo 3**'te özetlenmektedir. Etkenin saptanabilmesi ve uygun tedavinin planlanabilmesi için örneğin doğru alınması çok önemlidir!

Boğaz kültürü ile hızlı antijen testi eş zamanlı çalışılacaksa mutlaka **çift eküvyon** kullanılmalıdır. Bu amaçla çift uçlu eküvyonlar da kullanılabilir (**Şekil 1**).

Tablo 3. Boğaz sürüntüsü örneklerinin alınması, taşınması ve saklanması

Örnek alma özellikleri	Etken*	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları**	Özel durumlar
Yeterli bir ışık kaynağı altında 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 yollarının tıkanmasına neden olacağı için örnek alınmaz!	A, C, G Grubu beta hemolitik streptokok	Eküvyon ile nemli olarak veya taşıyıcı besiyerinde ≤2 saat, OS	≤24 saat, OS	AGBS için kültür ve hızlı antijen testinin birlikte yapılacağı durumlarda çift eküvyon kullanılır.
	A. haemolyticum	Eküvyon ile nemli olarak veya taşıyıcı besiyerinde ≤2 saat, OS	≤24 saat, OS	Rutin boğaz kültürlerinde araştırılması önerilmez. Genç erişkinlerde ve bazen çocuklarda döküntü ile birlikte seyreden akut farenjitlerde etken olabilir.
	N. gonorrhoeae	Kömür tozlu taşıma besiyerinde ≤2 saat, OS	≤12 saat, OS (>21°C)	Rutin boğaz kültürlerinde araştırılması önerilmez. Cinsel aktif yaşta farenjit etkeni olabilir.
	F. necrophorum¥	Anaerop taşıma sisteminde ≤2 saat, OS	Anaerop taşıma sisteminde ≤24 saat, OS	Rutin boğaz kültürlerinde aranmaz. Tekrarlayan ve iyileşmeyen farenjitlerde, peritonsiller apsede akılda tutulmalıdır.

*Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7

**İzole edilmesi beklenen patojen bakteriler oda sıcaklığında 24 saate kadar kalıcı olabildiklerinden, zorunlu nedenlerle besiyerine ekim yapılmasının 2 saati geçtiği ya da buzdolabına erişim bulunmadığı durumlarda, tabloda belirtilen saklama koşulları geçerlidir. (*bkz.* Bölüm 2, Kaynaklar: Baron EJ. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. 2015, p. 279)

¥Anaerop kültür altyapısı bulunmayan laboratuvarların örnekleri bu olanaklara sahip laboratuvarlara göndermesi gerekir.

Şekil 1. Çift uçlu eküvyon ve taşıma besiyeri

Akut farenjit tanısında boğaz sürüntüsü örneklerinde **direkt mikroskobik incelemenin yeri yoktur**! Yalnız Vincent anjini şüphesi olduğunda Gram boyamada fuziform basillerin görülmesi tanı koydurucudur.

Boğaz sürüntüsü alırken…

Eküvyon tonsillere ve farinks arka duvarına kuvvetli bir şekilde bastırılır, bu sırada **dudak, yanak mukozası, uvula, dil** ve **dişetlerine** dokunul**ma**masına dikkat edilmelidir.

Boğaz sürüntüsü örneği almak **akut epiglottitli** hastalarda solunum yollarının tıkanmasına neden olacağı için **kontrendikedir**.

Membran varsa ve/veya membranöz tonsillit durumunda **difteri hastalığı** akla getirilmelidir (*bkz.* Bölüm 4).

Örneklerin işlenmesi

Boğaz kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin işlenmesi **Tablo 4**'te özetlenmektedir. En sık farenjit etkeni olan AGBS ile ilgili bazı bilgiler daha ayrıntılı bir şekilde aşağıda yer verilmektedir. Boğaz sürüntüsünde AGBS incelemesi için bir akış şeması da **Şekil 2**'de verilmiştir.

Tablo 4. Boğaz kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin kültür* için işlenmesi

Klinik durum	Etken	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme süresi	Önerilen asgari tanımlama düzeyi
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Boğaz ağrısı Farenjit Tonsillit	A, C ve G grubu beta hemolitik streptokoklar	KKA	35-37	Aerobik	24-48 saat	24. saatte üreme yoksa 48. saatte	Lancefield grubu düzeyinde¥
Özel durumlar							
Tonsillit, tedavide başarısızlık, döküntü	*A. haemolyticum*	KKA	35-37	%5 CO_2	40-48 saat	≥48. saatte†	Tür düzeyinde
Uzun süren boğaz ağrısı veya apse oluşumu	*F. necrophorum*	Nalidiksik asit ve vankomisinli anaerobik agar	35-37	Anaerobik	5-7 gün		Tür düzeyinde. Anaerobik izolasyon ve tanımlama alt yapısının bulunmadığı laboratuvarlarda örneklerin bu olanaklara sahip laboratuvarlara gönderilmesi gerekir.

* Boğaz kültürlerinden sadece Vincent anjini şüphesi olduğunda Gram boyalı mikroskobik inceleme yapılabilir.

¥ C ve G grubu beta hemolitik streptokok tanısı için sadece büyük (large) beta hemolitik koloni tiplerinden tanımlama yapılmalıdır (*bkz.* Bölüm 2, Kaynaklar: Miller JM, et all. IDSA Guidelines, 2018)

† 72 saate kadar uzatılabilir.

Anaerobik inkübasyonun izolasyonu arttırdığı bilinmekle beraber maliyet etkin değildir.

Standart inkübasyon süresi 18-24 saattir, 24 saat inkübasyon sonrası raporlama çoğunlukla uygundur. Bazı kaynaklarda üreme olmayan plakların inkübasyonunun 48 saate kadar uzatılması önerilmektedir.

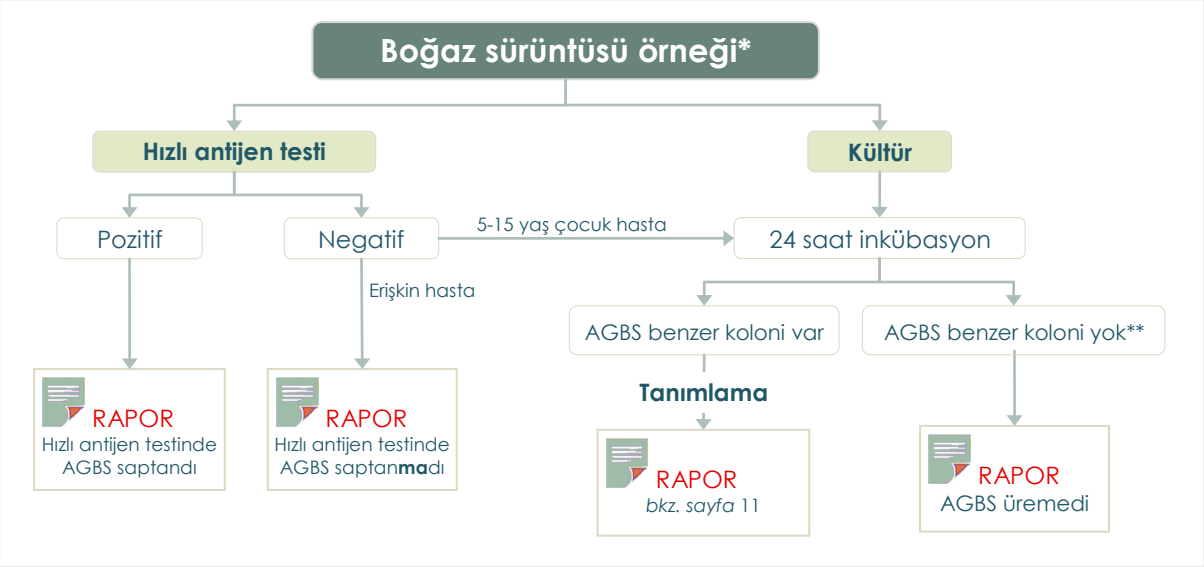
Hızlı antijen testleri

Hızlı antijen testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri testte kullanılan yönteme göre değişebilir; duyarlılıkları %70-90 arasında, özgüllükleri ise %95 olarak bildirilmektedir. Rutin laboratuvarlar duyarlılığı %80'in altında olan testleri kullan**ma**malıdır. Hızlı antijen testi ve boğaz kültürü birlikte yapılacaksa duyarlılığı korumak için her birine ayrı örnek alınmalıdır; bu amaçla tek seferde örnek almaya elverişli çift eküvyonlu taşıma besiyerleri kullanılabilir (**Şekil 1**).

Hızlı antijen test sonuçlarının değerlendirilmesi...

- **Yalancı pozitiflik nadir görülür!**
- **Pozitif** sonuçların boğaz kültürü ile doğrulanmasına gerek yoktur. 5-15 yaş arası çocuklar ve genç erişkinlerde **negatif** bulunan hızlı antijen test sonuçları boğaz kültürü ile **doğrulanmalıdır.**
- Erişkinlerde poststreptokoksik komplikasyon riskinin düşük olması nedeniyle negatif sonucun boğaz kültürü ile doğrulanmasına genellikle gerek yoktur; ancak, tanı duyarlılığını en yüksek düzeye çıkarmak için bu hastalarda da kültür ile doğrulama yapılması yeni rehberlerde önerilmektedir.

İş akış şeması



Şekil 2. Boğaz sürüntüsü örneklerinin incelenmesi ve raporlanmasında iş akışı

* Hızlı antijen testi ve kültür için aynı anda örnek alınır. Bu amaçla aynı anda iki örnek almayı sağlayan iki uçlu eküvyonların kullanılması önerilir.

** 24 saatlik inkübasyonda AGBS'ye benzer koloni yoksa gerektiğinde inkübasyon 48 saate kadar uzatılabilir.

Sonuçların raporlanması

Boğaz sürüntüsü incelemelerinin raporlanması

Etken	Kültür	
	Pozitif sonuç	**Negatif sonuç**
A, C ve G grubu streptokoklar*	AGBS üredi.€	AGBS izole üre**me**di.#
Özel istek durumunda bildirilecek mikroorganizmalar$		
A. haemolyticum	*A. haemolyticum* üredi.	*A. haemolyticum* üre**me**di.
F. necrophorum	*F. necrophorum* üredi.	*F. necrophorum* üre**me**di.

* Grup C ve G streptokoklar ancak bu mikroorganizmaların varlığına ilişkin bir şüphe olduğunda ve özellikle salgın durumlarında araştırılır.

€ Boğaz kültürlerindeki koloni sayısı ile klinik durum arasında sıklıkla bir bağlantı olmakla beraber koloni sayısının raporlanması ile ilgili olarak yeterli düzeyde kanıt bulunmamaktadır.

Hatalı negatiflik görülebileceği hatırlanmalıdır. Ağız flora bakterilerinin fazla miktarda üremesi AGBS'lerin üremesini inhibe edebilir. Beta hemolizin aerobik koşullarda *bazen* oluşmama olasılığı nedeniyle atlan**ma**ması için plaklara ekim sırasında batırma yönteminin de kullanılması unutul**ma**malıdır.

$ Vincent anjininde Gram boyalı inceleme sonucu rapor edilir. Rapor, "Vincent anjini düşündüren mikroorganizma görüldü/görülmedi" şeklinde verilir.

AGBS dışında farenjit etkeni olabilecek diğer bakteriler

C grubu beta hemolitik streptokok farenjitleri genç erişkin ve erişkinlerde endemik farenjit etkeni olabilir; okul ve toplu yaşam alanlarında salgınlara neden olabilir. Kontamine süt ürünlerinin tüketilmesine bağlı gıda kaynaklı farenjit epidemilerine neden olabilir.

G grubu beta hemolitik streptokoklar gıda kaynaklı epidemilerle beraber çocuklarda farenjit salgınlarına neden olabilir. Ancak akut endemik farenjitte etiyolojik rolü hala kesin değildir.

Arcanobacterium haemolyticum, adolesan ve genç erişkinlerde döküntüyle beraber, tedaviye yanıt vermeyen, tekrarlayan farenjitlerde düşünülmelidir. Rutin boğaz sürüntüsü incelemesinde yer almaz. Ülkemizde *A. haemolyticum* sıklığı %0.3-2 arasında bildirilmiştir.

AGBS'ler tedavide birinci seçenek olan penisilinlere karşı hala duyarlı olduklarından boğaz kültürlerinde **AGBS üremesi** durumunda **antibiyotik duyarlılık testi yapılmaz**.

Penisilin alerjisi durumunda tedavide eritromisin, kronik tonsillitte ise klindamisin kullanılır. Bu antibiyotiklere karşı direncin gösterilmesi gerektiğinde ADT yapılabilir.

Neisseria meningitidis'in invaziv meningokokkal hastalığı olanların yarısında boğaz sürüntüsü örneklerinden tespit edilebildiği bildirilmektedir. Taşıyıcılığın saptanmasında boğaz sürüntü örnekleri yararlı değildir.

Neisseria gonorrhoeae bazen cinsel aktif erişkinlerde farenjit etkeni olabilir.

Staphylococcus aureus sporadik olgularda peritonsiller apse nedeni olarak bildirilmiştir. Apseden irin aspire edilerek kültüre gönderilebilir. Ameliyat öncesi kardiyak hastalarda *S. aureus* taşıyıcılığının aranmasında da boğaz sürüntüsünden faydalanılabilir.

Francisella tularensis, ***Y. enterocolitica*** ve anaerobik bakteriler nadiren farenjite neden olabilirler. Yine ***T. pallidum***'un etken olabileceği farinks ülserlerinde ülserden alınan sürüntü örneğinde DFA yöntemi ile tanı konulabilir.

Fusobacterium necrophorum'a bağlı akut farenjit olguları ve tekrarlayan inatçı farenjit olgularından söz edilmekle beraber primer patojen olup olmadığı hâlen tartışmalıdır. Ancak neden olduğu akut ve acil antibiyotik tedavisi gerektiren Lemierre hastalığı nedeniyle akılda tutulması gereken bir mikroorganizmadır. Örnek, anaerop izolasyon ve tanımlama alt yapısı olan laboratuvarlara gönderilmelidir.

AGBS Ayırıcı Tanısında Konsültasyon Yaparken…

Tedavi sonrası kontrol kültürü yapmalı mıyım?	Tedavi sonrası rutin boğaz kültürü veya hızlı antijen testinin yapılması çok nadir durumların dışında önerilmez. Sadece akut romatizmal ateş yönünden ciddi risk altındaki kişiler ve tekrarlayan, klasik semptomların eşlik ettiği AGBS farenjitli olgular için önerilir.
Temaslılarda tanı ve tedavi gerekir mi?	Streptokoka bağlı **akut farenjiti olan** bir hasta ile aynı evde yaşayan asemptomatik temaslılar için tanı testlerinin yapılması ve/veya profilaktik antibiyotik tedavisi rutin olarak önerilmez.
Asemptomatik taşıyıcılık durumu için boğaz kültürü alınmalı mı?	Asemptomatik AGBS taşıyıcılarının tanısı ve tedavisi önerilmez.
Tekrarlayan farenjit atakları ve ısrarcı *(persistan)* ***taşıyıcılık ayırıcı tanısı***	Tekrarlayan farenjit ataklarında **mutlaka klinik semptom olmalıdır.** Semptom ol**ma**dığı durumda boğaz kültüründen AGBS izolasyonu "ısrarcı taşıyıcılığı" düşündürebilir. Ancak ideal olan, hastada farklı dönemlerde gelişen ataklar sırasında izole edilen suşları serotiplendirmek veya genotiplendirmektir. Tekrarlayan farenjit ataklarının olduğu bir ailede aile bireyleri arasında sürekli bir bulaş olduğu düşünülüyorsa (pingpong etkisi) o durumda tüm aile bireylerinden eş zamanlı alınan boğaz kültürlerinde AGBS aranabilir.

Nazofarinks örnekleri

Nazofaringeal sürüntü örneklerinin bakteriyel enfeksiyonlarda tanısal değeri sınırlıdır. Nazofarinks kültürleri boğmaca ve difteri gibi üst solunum yolunun bazı özellikli bakteriyel enfeksiyonları ile yine bazı etkenlerin taşıyıcılık araştırmasında kullanılır. Boğmaca ve difteri tanısına ilişkin detaylı bilgi Bölüm 4'te yer almaktadır.

N. meningitidis, S. *pneumoniae* ve *H. influenzae*'nin nazofarinks kültürlerinden araştırılmasının **klinik hastalık tanısında yeri yoktur**. Bu etkenler normal florada da bulundukları için rutin incelemede tek başına nazofarinksten saptanmaları etken oldukları anlamına gelmez; kolonizasyon olduğuna işaret eder. Meningokoksemi vakaları ile yakın temaslı olan kişilerde de profilaksi öncesi kültür yapılmasına gerek yoktur. Aynı şekilde asemptomatik kişilerde maya veya küf kolonizasyonu için de nazofarinks kültürlerinin yapılması önerilmez.

Örnek alınması, taşınması, saklanması

Nazofarinks örneklerinin alınması, taşınırken dikkate alınacak özellikler ve saklama koşulları **Tablo 5**'te özetlenmiştir.

Tablo 5. Nazofarinks örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve özel durumlar

Örnek türü	Örnek alma özellikleri	Etken	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları†	Özel durumlar*
Nazofaringeal **sürüntü** örneği	Gövdesi burgulu alüminyum şaftlı ve kolayca esneyebilir özellikte, rayon veya dacron uçlu eküvyonlar ile burundan nazofarinkse girilir; eküvyon 5 saniye kadar bekletilerek yavaşça çevrilir.	*S. pneumoniae*	≤6 saat STGG'de +4°C	≤48 saat kömürlü transport besiyerinde +4°C	Kültür için mümkünse antibiyotik tedavisi uygulanmadan önce örnek alınmalıdır.
		H. influenzae	Hasta başı ekim ≤15 dk	İzovitaleks veya Vitoks içeren besiyeri	
		M. catarrhalis	Hasta başı ekim veya ≤6 saat OS, kömürlü transport besiyerinde	Kömürlü transport besiyerinde <72 saat +4°C	
		*N. meningitidis***			
Nazofaringeal **aspirat** örneği	Hasta sırtüstü yatar pozisyonda iken boyun ekstansiyonda olmalıdır. Hasta nefesini tutarken burundan ince bir kateterle nazofarinkse ulaşılır; SF verilip aspire edilerek 2 mL örnek alınır.	Sürüntü örneği ile aynı etkenler için	≤2 saat, OS, 2-48 saat, +4°C	Moleküler çalışma için 70°C veya kuru buzda	Kültür ve PCR için daha yüksek duyarlılıkla sonuç veren örnek türüdür.

Kısaltmalar - STGG, skim milk-tryptone glucose-glycerin (yağsız süt-tripton glikoz-gliserin) taşıma ortamı

† Şehirlerarası örnek transportu gibi uzun süre gerektiren durumlar dâhil.

* *Bordetella* spp. ve *Corynebacterium* spp. için *bkz.* Bölüm 4.

** **Tanı amaçlı,** meningokokkal hastalık ön tanısı olan olgularda; **tarama amaçlı,** bir salgın durumunda olası (asemptomatik) taşıyıcıların saptanması ve/veya proflaksi başlanması için.

Nazofarinks örneklerinin tanısal öneminin olduğu klinik durumlar

- Difteri hastalığı ön tanısı
- Boğmaca hastalığı ön tanısı
- Virüs enfeksiyonları (nazofarinks sürüntü/aspirasyon): Rhinovirus, Coronavirus, Adenovirus, Parainfluenza virüsleri, İnfluenza virüsleri, CMV, EBV, HSV, RSV Coxsackievirus tip A ve diğer enterovirüsler, SARS CoV-2
- İmmün sistemi baskılanmış kişilerde
- İnvaziv hastalık şüphesi durumunda *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. tanısı
- 10 yaşından küçük, balgam çıkaramayan kistik fibrozisli çocuklarda öksürüğün uyarılması ile alınan sekresyon (derin faringeal/uyarılmış) kültürlerinde **sadece** *S. aureus, P. aeruginosa* ve *B. cepacia* izole edildiğinde bildirim yapılır. Mayalar, enterik bakteriler, *H. influenzae, S. pneumoniae* üremeleri dikkate alın**ma**malıdır.

Taşıyıcılığın saptanmasında nazofarinks örneklerinin yeri

- Aşı araştırmaları ve epidemiyolojik çalışmalarda **taşıyıcılığın saptanması** önemlidir.
- Toplumda aşı öncesi/sonrası dolaşan yaygın serotiplerin belirlenmesi önem taşır.
- Ülkemizde *S. pneumoniae* taşıyıcılığı ile ilgili çalışmalarda taşıyıcılık oranı %8.6 ile %37.2 arasında değişmektedir. Bu oran çalışmalarda yer alan olguların semptomatik ya da sağlıklı çocuk olma durumuna göre değişiklik göstermektedir.

Meningokok kültürleri

- Meningokok enfeksiyonu (meningokokkal hastalık) ön tanısı olan olgularda *veya*
- Bir salgın durumunda olası (asemptomatik) taşıyıcıların saptanması ve/veya profilaksi başlanması durumunda yapılmalıdır.

Kulak örnekleri

Orta kulak kültürlerinde *H. influenzae, M. catarrhalis, S. pneumoniae, A. otitis*'in izolasyonu bu etkenlere bağlı enfeksiyonu işaret eder. Kültürde üreme ol**ma**ması otitis mediayı **dışlamaz. Kronik** otitis media durumunda etken genellikle izole edilemez. Normal deri flora elemanlarından (KNS ve korinebakteriler) sadece tek bir türün baskın olarak ve fazla sayıda üremesi durumunda tür düzeyinde tanımlama yapılır.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Orta kulak sıvısı ve dış kulak yolu sürüntü örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, kabul ve ret ölçütleri **Tablo 6**'da özetlenmektedir.

Örnekler KBB uzmanı tarafından alınmalıdır.

Otitis media etkenini tanımlamada farinks, nazofarinks ve burun akıntısı örneklerinin **yeri yoktur.**

Nazofarinks kültürlerinin otitis media **tanısında yeri yoktur.**

Aspirasyon örneği mümkünse en az 1 mL olmalıdır.

Tablo 6. Kulak örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü*	Örnek alma özellikleri	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları†	Ret ölçütleri
Dış kulak yolu sürüntü örneği¥	Islatılmış bir eküvyon ile dış kulak yolunda birikmiş olan sekresyon ve kurutlar temizlenir. İkinci bir eküvyonla dış kulak yolu kanalından alınır. Gram boyama için ikinci bir eküvyon gereklidir.	Eküvyon; Amies transport besiyerinde ≤2 saat, OS	≤24 saat +4°C'de	Kuru eküvyon
Timpanosentez sıvısı	Sağlam kulak zarı; kulak kanalı sabunlu solüsyon ile temizlenir ve enjektörle aspirasyon yapılır. En az 1 mL örnek alınmalıdır. Miringotomi tüpü varlığında veya rüptüre kulak zarı durumunda; spekulum yolu ile esnek, ince tel saplı bir eküvyonla örnek alınır.	Steril tüp ≤2 saat, OS	≤24 saat OS**; Anaerop istem varsa anaerop taşıma sisteminde saklanmalıdır.	Yok

* Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7

† Şehirlerarası örnek transportu gibi uzun süre gerektiren durumlar dâhil.

¥ Özel istem durumunda anaerop mikroorganizmalar yönünden inceleme yapılır.

** İzole edilmesi beklenen patojen bakteriler oda sıcaklığında 24 saate kadar kalıcı olabildiklerinden, zorunlu nedenlerle besiyerine ekim yapılmasının 2 saati geçtiği ya da buzdolabına erişim bulunmadığı durumlarda, *burada* belirtilen saklama koşulları geçerlidir. (*bkz. Bölüm 2* Kaynaklar: Baron EJ. Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. 2015, p. 274)

Kulak örneklerinin işlenmesi

Kulak örneklerinin değerlendirilmesinde aranan mikroorganizmalara göre kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme ölçütleri **Tablo 7**'de özetlenmektedir.

Tablo 7. Kulak kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin işlenmesi

Örnek türü*	Mikroskobik inceleme	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Etken	Değerlendirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre			
Tüm sürüntü örnekleri (otitis mediada perfore kulak zarı veya dış kulak yolu sürüntü örnekleri)	Gram boyama mikroorganizma ve inflamatuvar hücre varlığı	Çikolata agar	35-37	%5-10 CO_2	40-48 saat	Günlük	*H. influenzae* *M. catarrhalis* *S. pneumoniae* Saf üreme gözlenen diğer mikroorganizmalar	Tür düzeyinde tanımlanır. *H. influenzae* için beta laktamaz testi yapılır.
		KKA		Aerobik	40-48 saat	Günlük	A grubu ve diğer beta hemolitik streptokoklar *S. aureus*	Beta hemolitik streptokoklar Lancefield grup düzeyinde tanımlanır. *S.aureus* için ADT yapılır.
		EMB veya MAC		Aerobik	16-24 saat	≥16 saat	*Enterobacterales* *Pseudomonas* spp.	Otitis eksternada genellikle etken tek olduğu için Gram-negatif basillerin karışık üremesi durumunda basit tanımlama yapılır.
Orta kulak efüzyonu	Gram boyama mikroorganizma ve inflamatuvar hücre varlığı	Çikolata agar	35-37	%5-10 CO_2	40-48 saat†	Günlük	Herhangi bir mikroorganizma	Kültürde; *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* üremesi bu mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonu gösterir.
	İsteğe bağlı olarak eklenebilecek besiyerleri							
		Anaerobik kanlı agar	35-37	Anaerobik	7-14 gün	≥40 saat	Anaeroplar	Orta kulak efüzyonunda özel istem olursa kültürü yapılır.
		%5 tavşan kanlı BHI agar, (geç/güç üreme)	35-37	%5 CO_2	7-14 gün	3 günden itibaren	*A. otitis*¥	

* Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7
† İnvaziv yöntemle alınan örneklerin inkübasyonu üreme olmazsa 4 güne kadar uzatılabilir.
¥ Yavaş ürer. İğne başı görünümünde, nemli, sarımsı koloniler yapar. Koloniler agara yapışıktır. Çikolata agarda üremez. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında izolasyonu ve tanımlanması zordur.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Kulak örneklerinden yapılan kültürlerin raporlanması*

Örnek türü	Üreyen mikroorganizma	Değerlendirme	Rapor
Tüm sürüntü örnekleri (otitis media da perfore kulak zarı veya dış kulak yolu sürüntü örnekleri)	*H. influenzae* *M. catarrhalis* *S. pneumoniae* A grubu ve diğer beta hemolitik streptokoklar *S. aureus* *Enterobacterales* *Pseudomonas* spp. Saf üreme gözlenen diğer mikroorganizmalar	Kültürde baskın/saf üreme var	"…….. üredi."**
	S.aureus, *Enterobacterales* (≥1 tür) ve Gram-pozitif kok, basil	Kültürde baskın üreme yok	"Deri florası elemanları üredi. Baskın mikroorganizma olmadığı için değerlendirmeye alınmadı. Enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa lütfen uygun koşullarda yeni örnek gönderiniz / laboratuvarla iletişime geçiniz."
Orta kulak efüzyonu	*H. influenzae* *M. catarrhalis* *S. pneumoniae* *A. otitis*	Aerop kültürde saf ya da baskın üreme	"…….. üredi."
	Fusobacterium spp. *Prevotella* spp. *Peptostreptococcus* spp. *Propionibacterium* spp.	Anaerop kültürde saf ya da baskın üreme	"…….. üredi." "Anaerop Gram-pozitif kok üredi"

* Mikroskobik inceleme sonucu rapora eklenir.
**Üreyen mikroorganizma *Vibrio* spp. ise ADT'de kolistin ve polimiksin B direnci bildirilir.

Otitis eksternada genellikle **tek etken sorumludur.**

KNS ve korineform bakteriler normal dış kulak yolunda bulunduklarından değerlendirmeye alınmaz. Etken olarak kabul edilecek mikroorganizmalar:

- *Pseudomonas aeruginosa* (Yüzücü kulağı; havuz)
- *Vibrio alginolyticus* (Yüzücü kulağı; okyanus)
- Diğer Gram-negatif basiller (baskın üreme)
- Beta hemolitik streptokoklar, *S. pyogenes, S. aureus*
- Mantarlar (*Aspergillus, Candida*), *Nocardia* ve mikobakteriler *kronik* enfeksiyona neden olabilirler.
- Anaerop bakterilerin; aerop patojen *tespit* edilemediği veya çoklu etkenin yol açtığı otitis eksterna olgularında %25 oranında saptanabildiği bildirilmektedir.
- Tek başına üreyen anaerobik mikroorganizmalar etken olarak düşünülebilir

Antibiyotik duyarlılık testleri baskın mikroorganizma için yapılır.

Sinüs aspirasyon/biyopsi örnekleri

Sinüs aspirasyonu ve biyopsi örnekleri sinüzit (rinosinüzit) tanısında kullanılması gereken örnek türleri olmakla beraber invaziv girişim gerektirmeleri nedeniyle laboratuvarların nadir karşılaştığı örnek türleridir.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Sinüs aspirasyon materyali ve biyopsi örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 8**'de özetlenmektedir.

Örnekler KBB uzmanı tarafından alınmalıdır.

Aspirasyon örneği mümkünse en az 1 mL olmalıdır.

Tablo 8. Sinüs örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü*	Örnek alma özellikleri	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar	Ret ölçütleri
Sinüs aspirasyon örneği	Maksiller sinüs aspirasyonu: • Maksiller sinüse bir iğne ile girilerek aspirasyon yapılır. Yeterli miktarda örnek gelmezse 2 mL SF ile irrigasyon yapılır. Endoskopi eşliğinde eküvyon ile örnek alımı: • Erişkin hasta: Maksiller sinüs girişine bitişik orta meatustaki drenaj ince bir eküvyon ile alınır. • Çocuk hasta: Bölge potansiyel patojenlerce kolonize olabileceğinden orta meatus drenaj kültürleri önerilmez.	Aspirasyon örneği: Steril kapta, oda sıcaklığında hızla taşınır. Eküvyon: Transport besiyerinde, ≤2 saat; OS Anaerop istem varsa, steril anaerobik taşıma sistemi ile hızla taşınır, OS	≤24 saat, OS Anaerop istem varsa anaerop taşıma sisteminde saklanmalıdır.	İdeal olarak en az 1 mL aspirasyon örneği alınmalıdır. Fungal invazyon şüphesi varsa burun sürüntüsü alınabilir.	Nazal yıkama ve/veya nazal aspirasyon sıvıları, nazal akıntı örnekleri, burun sürüntüsü örnekleri, nazofaringeal sürüntü, balgam ve tükürük örneklerinin **sinüzit tanısında** hiçbir **değeri yoktur.**
Sinüs biyopsi örneği	Steril şartlarda cerrahi girişimle alınır. Frontal, sfenoid ve etmoid sinüslerden örnek almak için gerek duyulur.	≤2 saat, OS; anaerop kültür örnekleri uygun anaerop sistem ile hızla taşınmalıdır.		Örnek mutlaka KBB uzmanı tarafından alınmalıdır.	Anaerobik etken tanısı istemlerinde uygun taşıma sistemi ile gelmeyen örnek

*Mantar incelemesi için ayrıca *bkz.* Bölüm 7

Sinüzit etkenlerini saptamada burun süründü veya akıntı örneği, nazofarinks süründü örneği, balgam veya tükürük örneklerinin **değeri yoktur.**

Erişkinlerde endoskopik yöntem ile orta meatustan direne olan sekresyondan alınan süründü örnekleri de uygun kabul edilmektedir.

Çocuk hastada bu bölge enfeksiyon etkeni olabilecek mikroorganizmalarla kolonize olabileceğinden **orta meatus drenaj örnekleri kültür için uygun değildir.**

Örneklerin işlenmesi

Sinüs örneklerinin değerlendirilmesinde aranan mikroorganizmalara göre kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme ölçütleri **Tablo 9**'da özetlenmektedir.

Tablo 9. Sinüs örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve aranan mikroorganizma[$,†]

Klinik durum	Mikroskobik inceleme	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Etken	Değerlendirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre			
Sinüzit	Gram boyama mikroorganizma ve inflamatuvar hücre varlığı	Çikolata agar	35-37	%5-10 CO_2	40-48 saat	Günlük	*S. pneumoniae* *H. influenzae,* *M. catarrhalis,* *S. pyogenes* Beta hemolitik streptokoklar *Pseudomonas* spp. *S. anginosus* grup	Kültürde *S. pyogenes, S. pneumoniae, H. influenzae* ve *M. catarrhalis* üremesi bu mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonu gösterir. Beta hemolitik streptokoklar Lancefield grubu düzeyinde tanımlanır. *H. influenzae* için beta laktamaz testi yapılır.
		KKA	35-37	Aerobik	16-24 saat*	Günlük	*S. aureus*	Kültürde baskın mikroorganizma olmadıkları sürece kontaminant olarak kabul edilmelidir. Sadece baskın mikroorganizma iseler tür düzeyinden tanımlanırlar. Kültürde izole edilmeleri bu mikroorganizmalardan kaynaklı bir enfeksiyonu her zaman işaret etmez.
		EMB veya MAC agar	35-37	Aerobik	16-24 saat	Günlük	*Enterobacterales*	
		Anaerobik kanlı agar**	35-37	Anaerobik	5-7 gün	48 saat	*Fusobacterium* spp. *Prevotella* spp. *Peptostreptococcus* *Propionibacterium*	Tür düzeyinde tanımlanır. Özellikle Gram-pozitif anaeropların daha çok etken olması beklenir.

Klinik durum	Mikroskobik inceleme	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlen-dirme sıklığı	Etken	Değerlendirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre			
Aşağıdaki durumlarda ek olarak kullanılabilecek besiyerleri, inkübasyon koşulları ve değerlendirme								
Kronik sinüzit / hastane-kaynaklı sinüzit	Mikroskobik değerlendir-mede birden fazla mikro-organizma-nın neden olduğu enfeksiyon düşünülürse	Anaerobik kanlı agar	35-37	Anaero-bik	5 gün	≥40 saat	*Fusobacterium* spp. *Prevotella* spp. *Peptostrepto-coccus* *Propionibacte-rium*	Tür düzeyinde
		EMB veya MAC agar	35-37	Aerobik	16-24 saat	≥16 saat	*Enterobacte-rales* *Pseudomonas* spp.	Tür düzeyinde

$ Endoskopi eşliğinde alınan sürüntü örnekleri ve sinüs aspirasyon örneklerinin hepsi için geçerlidir.
† Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7.
* 24 saatte üreme gözlenmeyen kanlı agar plaklarının inkübasyonu 48 saate uzatılır.
**Anaerop kültür istemi yapıldığında ve/veya kronik/hastane-kaynaklı sinüzit şüphesi olan olgulardan alınan örneklerde çalışılır. Örneğin anaerop kültür için uygun koşullarda alınmış olması ve anaerobik taşıma besiyeri/sistemi içinde laboratuvara ulaştırılması halinde işleme alınır.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Sinüs aspirasyon/biyopsi örnekleri kültürlerinin raporlanması*

Üreyen mikroorganizma	Değerlendirme	Rapor
S. pneumoniae *H. influenzae* *M. catarrhalis* *S. pyogenes* Beta hemolitik streptokok *Pseudomonas* spp. *S. anginosus* grup	Aerop kültürde saf ya da baskın üreme var.	"…….. üredi."
S. aureus *Enterobacterales*	Kültürde baskın/saf üreme var.	"…….. üredi."
S. aureus *Enterobacterales* (≥1 tür) ve Gram-pozitif kok, basil	Kültürde baskın üreme yok.	"Deri florası elemanları üredi. Baskın mikroorganizma olmadığı için değerlendirmeye alınmadı. Enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa lütfen uygun koşullarda yeni örnek gönderiniz/laboratuvarla iletişime geçiniz."
Fusobacterium spp. *Prevotella* spp. *Peptostreptococcus* spp. *Propionibacterium* spp.	Anaerop kültürde saf ya da baskın üreme var.	"…….. üredi." Anaerop Gram-pozitif kok üredi

* Mikroskobik inceleme sonucu rapora eklenir.

Sinüs aspirasyon/biyopsi örnekleri için;

- Kültürde *S. pyogenes, S. pneumoniae, H. influenzae* ve *M. catarrhalis* üremesi bu mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonu gösterir.
- Kültürde *S. aureus* ve Gram-negatif basiller baskın mikroorganizma olmadıkları sürece kontaminant olarak kabul edilir ve örneğin uygun alınmadığına işaret eder. Sadece mikroskobik incelemede enfeksiyon bulguları varsa klinik ile iletişime geçerek değerlendirmeye alınır.
- *S. aureus* ve Gram-negatif basillerin kültürde izole edilmeleri her zaman bu mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonu işaret etmez.
- Kültürde üreme ol**ma**ması sinüzit ön tanısını dışlamaz.

Burun örnekleri

Burun kültürleri hastane enfeksiyon kontrol programlarının bir parçası olarak önemlidir. En sık kullanıldığı durumlar;

- 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. diphteriae* tanısı (*bk*z. Bölüm 4)

***B. pertussis* tanısında burun kültürünün yeri yoktur.**

H. influenzae ile *S. pneumoniae*'nin etken olduğu düşünülen sinüzit tanısında burun kültürlerinin **yeri yoktur.**

Sadece sinüslere fungal invazyon şüphesinde burun örneği alınabilir (kronik sinüzit, hastane-kaynaklı sinüzit).

Burun örneklerinin işlenmesinde taşıyıcılık araştırması ve klinik etkenlerin araştırılması farklılık gösterdiğinden, istemde *mutlaka* **ön tanı bilgisi** kontrol edilmelidir.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Burun örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 10**'da özetlenmektedir.

Tablo 10. Burun sürüntüsü örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Durum/Etken	Örnek alma özellikleri	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar	Ret ölçütleri
MRSA taşıyıcılığı *S. pyogenes* taşıyıcılığı *Klebsiella ozaenae* *K. rhinoscleromatis*	Steril SF ile ıslatılmış eküvyonla burun deliklerine 1-2 cm girilir. Eküvyon nazal mukozaya değecek şekilde örnek alınır.	Eküvyon ile ≤2 saat, OS, Nemli veya taşıyıcı besiyerinde	≤24 saat, OS	***S. aureus* taşıyıcılığı dışında** tüm kültürler KBB uzmanı tarafından alınmalıdır. Burun sürüntüsü sinüzit tanısında **sadece** sinüslerde fungal invazyon şüphesinde alınabilir (kronik sinüzit, hastane-kaynaklı sinüzit)	Kuru eküvyon

Burun örneklerinin işlenmesi

Burun örneklerinin işlenmesi **Tablo 11**'de özetlenmektedir.

Tablo 11. Burun kültürlerinin değerlendirilmesinde klinik durum, mikroorganizma ve örneklerin işlenmesi

Klinik durum	Etken	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlen-dirme sıklığı	Değerlen-dirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
S. aureus taşıyıcılığı	*S. aureus*	KKA veya kromojenik besiyeri veya %1 mannitol salt agar*	35-37	Aerop	16-24 saat	≥16 saat	Tür düzeyinde†
A grubu beta hemolitik streptokok taşıyıcılığı	A grubu beta hemolitik streptokok	KKA				24 saate üreme gözlenmeyen kültür plakları 48. saatte tekrar değerlendirilir.	Lancefield grubu düzeyinde
Özel istek yapılması durumunda							
Primer atrofik rinit$	*K. ozaenae*	KKA, EMB veya MAC agar	35-37	Aerop	16-24 saat	≥16 saat	Tür düzeyinde
Rhinoskleroma$	*K. rhinosclero matis*					≥16 saat	Tür düzeyinde

* Mannitol salt agarın duyarlılığı kromojenik besiyerlerine göre daha düşüktür

† Kanlı agarda üreyen koloniler *S. aureus* olarak doğrulandıktan sonra geleneksel yöntem, oksasilin tuz agar veya PBP2a lateks kiti ile metisilin duyarlılıkları test edilmelidir.

$ Primer atrofik rinit ve rhinoskleroma için boyalı mikroskobik inceleme önerilir

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Burun kültürü sonuçlarının raporlanması

Etken	Kültür	
	Pozitif sonuç	Negatif sonuç
S. aureus	*S. aureus* üredi.*	*S. aureus* üre**me**di.
A grubu beta hemolitik streptokok	AGBS üredi.	AGBS üre**me**di.
K. ozaenae / K. rhinoscleromatis	*K. ozaenae / K. rhinoscleromatis* üredi.**	*K. ozaenae / K. rhinoscleromatis* üre**me**di.

* Metisilin duyarlılık test sonucu raporda bildirilmelidir.
**Mikroskopi sonucu rapora eklenmelidir.

Diğer ÜSY örnekleri

Gingivit, stomatit ve orofaringeal lezyonlar ile faringeal-peritonsiller apse gibi klinik durumlarda alınması gereken örnekler bu kategoriye girer.

Ağız boşluğu ve yanak mukozası örnekleri, stomatit, aftöz lezyonlar ve özellikle oral kandidiyozda başvurulacak örneklerdir. Polimikrobiyal bir enfeksiyon olup nadiren karşılaşılan Vincent anjininde de tanı ağız sürüntü örneklerinin Gram boyanmasında spiroket ve/veya fuziform basillerin görülmesi ile konur. Odontojenik enfeksiyonlar zaman zaman ciddi komplikasyonlara yol açarlar. Lemierre hastalığı bunlardan birisi olup septik juguler ven tromboflebitine, septik akciğer ve diğer organ embolilerinin eşlik ettiği mortalitesi yüksek bir tablodur.

Peritonsiller ve faringeal apseler genellikle endojen periodontal veya dişeti florasından kaynaklanırlar.

Bu örneklerde enfeksiyon etkeni olan bakteriler genellikle flora kaynaklı olduklarından örnek alınırken mukozal **flora ile kontaminasyondan kaçınılmalıdır.**

Gram boyama, anaerop kültür ekimleri ile birlikte **mutlaka** yapılmalıdır.

Rutin kültürler ile izole edilemeyen ve odontojenik enfeksiyonlarda genellikle rol oynayan spiroketler boyalı preparatlarda görülebilir.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Stomatit, gingivit, aftöz lezyonlar gibi diğer üst solunum yolları enfeksiyonları için örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 12**'de özetlenmektedir.

Tablo 12. Diğer ÜSY örneklerinin incelenmesinde kullanılan yöntemler ile örnek alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Klinik durum	Yöntem	Örnek türü*	Taşıma özellikleri	Saklama koşulları	Ret ölçütleri / Özel durumlar
Gingivit, stomatit, orofaringeal lezyon	Kültür (bakteriyolojik ve mikolojik)	Orofaringeal lezyondan sürüntü	Eküvyon ile ≤2 saat, OS; nemli veya taşıyıcı besiyerinde	24 saat, +4°C	Kuru eküvyon
		Steril SF ile ağız çalkantı suyu	Steril kap içinde		
Parotit	Kültür (bakteriyolojik)	Parotis bezinden steril olarak alınan aspirasyon sıvısı	≤ 2 saat, OS; anaerop taşıyıcı besiyerinde	≤ 2 saat, OS	Kuru eküvyon
Vincent anjini	Gram boyama veya Metilen mavisi ile boyama	Ülserli lezyonlardan biyopsi, yıkama veya aspirasyon sıvısı örneği	≤ 2 saat, OS; kültür yapılacaksa anaerop taşıyıcı besiyerinde	≤24 saat, OS tercihen bekletilmeden işleme alınır	Tanı Gram boyama ile konur. Kültür *genellikle* gerekli değildir. Eküvyon ile örnek alınması önerilmez.
Lemierre hastalığı (internal juguler trombofilebit)	Gram boyama	Ülserli lezyonlardan biyopsi, yıkama veya aspirasyon sıvısı örneği	En hızlı şekilde boyama yapılır.	≤2 saat, OS; tercihen bekletilmeden işleme alınır	Kuru eküvyon
	Kültür (aerop ve anaerop)		≤2 saat, OS; tercihen anaerop taşıyıcı besiyerinde	≤24 saat, OS; anaerop taşıyıcı besiyerinde, tercihen bekletilmeden işleme alınır	Kuru eküvyon
	Kan kültürü	Kan	≤2 saat, OS	≤2 saat, OS	En az 2 set alınmalıdır.
Faringeal, peritonsiller apse	Kültür (aerop ve anaerop)	Apse aspirasyon materyali	≤2 saat, OS Anaerop istem varsa anaerop taşıyıcı besiyerinde oda sıcaklığında hızla taşınmalıdır.	≤24 saat, OS Anaerop istem varsa anaerop taşıyıcı besiyerinde saklanmalıdır.	Oral kavitenin flora elemanları birden fazla etkenin birlikte bulunduğu (miks) enfeksiyona neden olur.

* Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7

Tablo 13. Diğer ÜSY örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve aranan etkenler

Klinik durum	Etken*	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Değerlendirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Gingivit, stomatit, (orofaringeal lezyon)	Stafilokoklar *S. pyogenes* Spiroketler *Prevotella* *Porphyromonas* *Actinobacillus*	KKA	35-37	Aerobik	16-24 saat	Günlük	Stafilokoklar tür düzeyinde tanımlanır. *S. pyogenes* Lancefield grup düzeyinde tanımlanır. Periodontal enfeksiyonlarda anaerop bakteriler sıklıkla etken olsa da oral sürüntü örnekleri anaerop ekim için uygun örnekler değildir. Anaerop ekim için sadece diş hekimleri tarafından özel yöntemle alınan örnekler uygundur.

Klinik durum	Etken*	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlen-dirme sıklığı	Değerlendirme
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Parotit	Stafilokoklar Viridans streptokoklar	KKA	35-37	Aerobik	16-24 saat	Günlük	Tür düzeyinde tanımlanır.
	Enterobacterales Diğer Gram-negatif basiller	EMB veya MAC agar			≥16 saat		Tür düzeyinde tanımlanır.
Faringeal peri-tonsiller apse	*H. influenzae*	Çikolata agar	35-37	%5-10 CO_2	40-48 saat	Günlük	Tür düzeyinde tanımlanır.
	S. pyogenes *S. aureus* *S. anginosus* grup *Streptococcus*	KKA		Aerobik	16-24 saat	Günlük	Tür düzeyinde tanımlanır.
	Anaeroplar; *Prevotella* *Porphyromonas* *Fusobacterium* *Peptostrepto-coccus*	Anaerop kanlı agar		Anaerobik	5 gün	≥40 saat	Tür düzeyinde tanımlanır.
Vincent anjini	Kültür endikasyonu yoktur. Tanı mikroskobik incelemede spiroket ve/veya fuziform basillerin görülmesi ile konur.						

* Mantar örnekleri için *bkz.* Bölüm 7.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Üst solunum yollarının diğer örneklerine ait kültürlerin raporlanması*

Örnek türü	Üreyen mikroorganizma	Değerlendirme	Rapor
Gingivit, stomatit, orofaringeal lezyon ve parotit için sürüntü örnekleri	*S. aureus* *Enterobacterales* Diğer Gram-negatif basiller Viridans streptokoklar ABGS ve diğer beta hemolitik streptokoklar Saf üreme gözlenen diğer mikroorganizmalar	Kültürde baskın/ saf üreme var	"…….. üredi."
	Baskın olmayan bir ya da iki enfeksiyon etkeni ve Gram-pozitif kok, basil	Kültürde baskın üreme yok	"Oral flora elemanları üredi. Kontaminasyon olarak değerlendirildi. Enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa lütfen uygun koşullarda yeni örnek gönderiniz / laboratuvarla iletişime geçiniz."
Vincent anjini	Kültür yapılması önerilmez. Tanı mikroskobik incelemede spiroket ve/veya fuziform basillerin görülmesi ile konur.		"Vincent anjini düşündüren mikroorganizma görül**me**di/görüldü."
Apse aspirasyon örneği	*H. influenzae* *S. pyogenes* *S. aureus* *S. anginosus* grup	Aerop kültürde saf ya da baskın üreme var	"…….. üredi."
	Anaeroplar (*Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium Peptostreptococcus*)	Anaerop kültürde saf ya da baskın üreme var	"…….. üredi." "Anaerop Gram-pozitif kok üredi."

*Mikroskobik inceleme sonucu rapora eklenir.

Kaynaklar

1. Bakır M, Yağcı A, Akbenlioğlu C, İlki A, Ülger N, Söyletir G. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* pharyngeal carriage among healthy Turkishs infants and children. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 165-6 .
2. Banerjee D, Michael J, Schmitt B, et al. Multicenter clinical evaluation of the Revogene Strep A molecular assay for detection of *Streptococcus pyogenes* from throat swab specimens. *J Clin Microbiol* 2020. 58:e01775-19. https://doi.org/10.1128/JCM.01775-19
3. Baron EJ. Specimen collection, transport, and processing: Bacteriology. *In:* Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. ASM press, Washington, DC. 2015, pp. 270-315.
4. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, Kaplan EL, Schwartz RH. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococccal pharyngitis. *Clin Infect Dis* 2002; 35:113–25.
5. Bourbeau PP. Role of the microbiology laboratory in diagnosis and management of pharyngitis. *J Clin Micobiol* 2003; 41:3467–3472.
6. Çifçi E, Doğru U, Aysev D, İnce E, Güriz H. Nasopharyngeal colonization with penicillin resistance *Streptococcus penumoniae* in Turkish children. *Pediatr Int* 2000; 42: 552-6.
7. Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Teker A, Özbakkaloğlu B. Antimicrobal susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. *Indian J Med Res* 2004; 120: 489-94.
8. Lappan R, Jamieson SE, Peacock CS. Reviewing the pathogenic potential of the otitis-associated bacteria *Alloiococcus otitidis* and *Turicella otitidis. Front Cell Infect Microbiol* 2020;10:51. (erişim t: 23.05.2022) https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00051
9. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. IDSA Guidline. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis* 2018; 67(6): e1–e94. (erişim t: 10.03.2022) https://www.idsociety.org/practice-guideline/laboratory-diagnosis-of-infectious-diseases/
10. Public Health England. Investigation of ear infections and associated specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 1 Issue 9, 2014. (erişim t: 10.03.2022) https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/343919/B_1i9.pdf
11. Public Health England. Investigation of nasal samples. UK Standards for Microbiology Investigations. B 5 Issue 7.1, 2015. (erişim t: 10.03.2022) https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/394716/B_5i7.1.pdf
12. Public Health England. Investigation of superficial mouth samples. UK Standards for Microbiology Investigations. B 4 Issue 7.1, 2015. (erişim t: 10.03.2022) https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/481582/B_4i7.1.pdf
13. Public Health England. Investigation of throat related specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 9 Issue 9, 2015. (erişim t: 10.03.2022) https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/423204/B_9i9.pdf
14. Shulman ST, Bisno AL, Clegg HW, et al. Clinical practice guideline or the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis: 2012 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2012; 55: e86–102.
15. Uhl JR, Adamson SC, Vetter EA et al. Comparison of LightCycler PCR, rapid antigen immunoassay, and culture for detection of group A streptoccoci from throat swabs. *J Clin Microbiol* 2003; 41:242-9.
16. Uzuner A, İlki A, Akman M, et al. Nasopharyngeal carriage of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in healthy children. *Turk J Pediatr* 2007; 49: 370-378.
17. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, Moser SA, Baselski V. Laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections. Cumitech 10A, ASM Press, Washington DC., 2006.
18. Woods CR. Croup: Clinical features, evaluation, and diagnosis. *In:* Redding G, Messner AH, Kaplan SL (Section eds.) UpToDate. https://www.uptodate.com/contents/croup-clinical-features-evaluation-and-diagnosis (erişim t: 06.07.2021)

BÖLÜM 3

ALT SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN BAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ

Balgam

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) en sık görülen enfeksiyon hastalıklarıdır. Bakterilerin etken olduğu pnömoni vakalarının çoğunda uygun şekilde alınmış balgam örneğinin incelenmesi etkeni tanımlamaya yardımcı olur. Balgam örneğinin Gram boyalı mikroskobik incelemesi; kültürün tanıdaki geçerliliğini arttırır, hızlı sonuç almayı sağlar ve maliyeti azaltır. Ayrıca uygun olmayan örneklerin reddedilerek gereksiz kültürlerin azaltılmasına, gereksiz tedavilerin ve bakterilerde gelişebilecek antimikrobiyal direncin önlenmesine yardımcı olur. ASYE'de klinik tablolar ile olası etkenler **Tablo 2**'de özetlenmektedir.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Ekspektore balgam, ağız steril su veya SF ile çalkalandıktan sonra derin bir öksürükle bir defada verilmelidir. Balgam örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 14**'te özetlenmektedir.

Tablo 14. Balgam örneklerinin alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Örnek alma özellikleri	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Ret ölçütleri* ve özel durumlar
Ekspektore balgam *Spontan balgam çıkaramayan hastadan **indüklenmiş** balgam örneği alınır. Örnek sulu olduğundan, tükürük sanılarak reddedil**me**mesi için indüklenmiş balgam olduğu belirtilmelidir.*	Steril kap ≤2 saat, OS	≤ 24 saat +2-8°C'de	Aynı gün içerisinde gönderilen ikinci örnek 24 saat toplanmış örnekler OS'de >2 saat, bekletilmiş örnekler Makroskobik olarak tükürük görünümündeki örnekler Makroskobik olarak kontamine olan örnekler

*Örnek kalitesinin değerlendirilmesinde mikroskobik ret ölçütleri için *bkz.* sayfa 29, *Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri*

Balgam örneği alınırken dikkat edilecek hususlar:

- Sabah ilk çıkarılan balgam örnekleri tercih edilmelidir.
- Hasta, varsa diş protezini çıkardıktan sonra örnek vermelidir.
- Balgam örneği antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır.
- Balgam örneği steril kapaklı kabın içerisine alınmalıdır.

Spontan balgam çıkaramayan hastadan **indüklenmiş balgam** örneği alınır.

- Hastaya steril, ılık, aerosolize hipertonik tuzlu su (%10 NaCl) nebulizatör yardımıyla 10 dakika solutulur.
- Derin bir öksürük ile çıkarılan balgam alınır. Örnek **en az 10 mL** olmalıdır.
- İndüklenmiş balgam sulu olduğundan tükürüğe benzetilerek reddedil**me**mesi için "indüklenmiş balgam" olduğu belirtilmelidir.

Balgam örneklerinin taşınması önemli…

Balgam örnekleri alındıktan sonra ≤2 saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu süre içinde laboratuvara ulaştırılamayan örnekler buzdolabında 2-8°C'de **en fazla** 24 saat bekletilebilir.

Balgam oda sıcaklığında 2 saatten fazla bekletilirse kolonize olmuş floranın aşırı üremesi nedeniyle *S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae* gibi enfeksiyon etkeni olabilecek bakterilerin izolasyon oranları düşer.

İnceleme için balgam örneklerinin **en pürülan kısmı** seçilir.

Balgamın makroskobik değerlendirmesi bazı mikroorganizmalar hakkında bilgi verebilir.

- 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, anaerop enfeksiyon

Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri

Balgam örneklerinde kültür değerlendirmesi balgamın boyalı mikroskobik incelemesi ile birlikte yapılır.

Mikroskobik inceleme

- Balgam örneklerinin direkt boyasız preparat ile yassı epitel ve PNL varlığı yönünden incelenmesi işlemi, biyogüvenlik gerekleri nedeniyle günümüzde kullanıl**ma**maktadır.
- Direkt mikroskobik inceleme yerine; makroskobik olarak tükürük görünümünde olan örnekler reddedilmekte, balgam örnekleri Gram boyalı mikroskobik inceleme ve kültür sonuçları birlikte değerlendirilerek raporlanmaktadır.

Boyalı mikroskobik inceleme

- Balgamın Gram boyalı mikroskobik incelemesinde yassı epitel ve PNL hücreleri; 10× objektifle en az 10 alan, bakteriler ise 100× objektifle en az 20-40 immersiyon alanı incelenerek değerlendirilir.
- Fazla sayıda yassı epitel hücresi varlığı üst solunum yolu florası ile kontaminasyonu gösterir.
- Örnek kalitesini değerlendirmek için Gram boyasının kullanıldığı çeşitli ölçütler vardır. Bu ölçütlerin birbirinden belirgin bir üstünlüğü yoktur. Laboratuvar uzmanı hangi ölçütü kullanacağına, hastanesinin hasta profili ve laboratuvarının işlem kapasitesini değerlendirerek karar verebilir. 10× objektifle alan başına ≥10 epitel hücresi görülmesini kültür için bir ret ölçütü olarak kullananlar olduğu gibi daha katı ölçütler uygulayanlar da vardır. Ancak PNL sayısı, epitel hücre sayısının 10 katıysa ve 3 ila 4+ tek tip morfolojide bakteri varsa örnek kültür için kabul edilir.
- Ölçütler arasında en fazla kabul göreni, Bartlett'in 1974 yılında ortaya koyduğu skorlama yöntemidir. Bartlett skorlama yöntemi **Tablo 15Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**'te özetlenmektedir.

Tablo 15. Bartlett skorlama yöntemi

Hücre tipi ve sayısı /10× objektif		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.

Boyalı mikroskobik inceleme:

Gram boyalı preparatta bol PNL varlığına karşın mikroorganizma görülmemesi;

M. pneumoniae, C. pneumoniae, Legionella spp. ve solunum yolu virüsleri gibi Gram yöntemi ile boyanmayan etkenleri düşündürür.

Balgamın **Gram boyalı incelemesinin duyarlılık** ve **özgüllüğü** hazırlanan yaymaya ve değerlendiren kişiye göre değişkenlik gösterir.

- Yaymalarda mikroorganizma dağılımı homojen olmayabilir.
- **Nötropenik** hastalarda Gram boyalı mikroskobik inceleme ile sınıflama yapılmaz.
- **KF** hastalarında *Legionella* spp. ve *Mycobacterium* spp. ile enfeksiyon şüphesi olduğunda Gram boyalı mikroskobik inceleme ile sınıflama yapılmaz!
- Örnek uygun olmadığı için reddedilmişse klinisyen bilgilendirilerek yeni bir örnek istenmelidir.
- Örnek iyi kalitede olsa dahi pnömoninin etkeni olan bakteri her zaman tespit edilemeyebilir.

Pnömoni tanısı klinik ve radyolojik bulgular ile konur.

Balgam örneklerinin mikrobiyolojik incelemesi, etkenin doğru tanımlanmasına, böylece uygun antimikrobiyal tedavinin başlanarak gereksiz ilaç kullanımının önlenmesine yardımcı olur!

Balgam kültürü

Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri **Tablo 16**'da özetlenmektedir. Kültür için balgam örneklerinin en pürülan kısmı seçilir.

Besiyeri

- Rutin kültürde; KKA, Çikolata agar ve MAC ya da EMB agar kullanılmalıdır.
- *Legionella* kültürü için BCYE ve seçici-BCYE agar besiyerleri kullanılmalıdır.
- *H. influenzae* izolasyonunu artırmak ve normal flora üyelerini baskılamak için basitrasin içeren çikolata besiyeri tercih edilebilir.

İnkübasyon

- Plaklar 18-24 saat 35°C'da %5-10 CO_2'li ortamda inkübe edilir. Üreme olmadıysa veya zayıf üreme varsa inkübasyon 48 saate uzatılır.
- Yavaş üreyen mikroorganizmalar (*örn., Nocardia* ve *Actinomyces* türleri) için inkübasyon 20 güne kadar uzatılır.
- *Legionella pneumophila* için BCYE agar inkübasyonu 5 güne uzatılır.

Tablo 16. Balgam örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri

Balgam kültüründe aranan primer patojenler*	Ön işlem	Gram boyama	Kültür özellikleri	İnkübasyon koşulları	Değerlendirme
S. pneumoniae *H. influenzae* *M. catarrhalis* *S.aureus* *S. pyogenes* *Enterobacterales* *P. aeruginosa*	En pürülan ve kanlı bölge seçilir.	10× objektifle her sahada ortalama <10 epitel hücresi, >25 PNL görülen örnekler **iyi** kalitededir. Yaymada 100× objektifle gözlenen bakterilerin morfolojisi de-ğerlendirilir.	KKA, *Çikolata* agar MAC veya EMB agar Örnekler **tek koloni tekniği** ile ekilir.** Üst solunum yolu florasını inhibe ederek *H. influenzae* tespitini kolaylaştırmak için çikolata agara 10Ü basitrasin diski konabilir. *H. influenzae* satellit etkisini göstermek için plağa nokta şeklinde *S. aureus* ATCC 25923 ekilebilir. *S. pneumoniae* tespiti için KKA'da ikinci kadrana optokin diski konabilir.	35-37°C'de %5 CO_2'de 24-48 saat	*Kültürdeki* üreme ile balgamın Gram boyalı yaymasında görülen bakteri morfolojisi birbiriyle uyumlu olmalıdır. Herhangi bir miktarda ürediğinde bildirilmesi gerekenler* dışındaki primer patojenler **anlamlı miktarda ürediğinde** değerlendirilmelidir. Primer patojenlerin anlamlı miktarda üremesi, *kültür plağının ikinci ya da daha sonraki kadranlarında zemindeki normal floradan daha fazla üremesi* olarak tanımlanır. Primer patojenler az sayıda dahi ürese, saf olarak üremişse ve Gram yaymada PNL'ler ile birlikte görülen bakteri morfolojisiyle uyumlu ise, klinik olarak anlamlı olabilir (*örn.*, normal floranın çok az ya da hiç üremememesi). Gram yaymada >25 PNL görül-mesine karşın plakta üreme görül-mezse; yavaş üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik kullanımı ya da anaerop etkenlerin varlığı akla gelmelidir.

* Bu bakteriler arasında *S. pyogenes* gibi her zaman bildirilecekler yanında az yoğunlukta ürediğinde normal flora olarak raporlanacak olan patojenler de vardır. Ayrıca *bkz.* **Tablo 20.**

**Tek koloni ekim tekniği (azaltma yöntemi) koloni morfolojilerinin incelenmesi ve tanımlama, antibiyogram çalışmalarının doğru yapılabilmesi için önemlidir.

Balgam kültürü, Gram boyama...

Balgam kültürü Gram boyama sonuçları ile **birlikte** değerlendirilmelidir!

Gram boyama ve kültür sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi; yöntem, örnek toplama, saklama, örneğin tanımlanması ve izlenmesinden kaynaklanan **hataların ortaya çıkarılmasını** da sağlar.

Balgam kültürünün **duyarlılık** ve **özgüllüğü** antimikrobiyal tedavi ve örneklerin taşınması sırasındaki muhtemel gecikmelerden **etkilenebilir.**

Gram boyamada >25 PNL görülmesine rağmen 48 saatte üreme görülmezse;

- **yavaş üreyen** mikroorganizmaların varlığı
- hastanın **antibiyotik** kullanımına bağlı olarak bakterinin üremediği
- rutin besiyerlerinde üreyemeyen etkenlerin veya **anaerop** etkenlerin varlığı

düşünülmelidir.

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi

Kalitatif kültür sonuçları incelenirken etken olarak düşünülen mikroorganizma, kültür plağında;

- sadece ilk kadranda üreme varsa 'az sayıda'
- ikinci kadranda da üreme varsa 'orta sayıda'
- üçüncü kadranda da varsa 'çok sayıda'

şeklinde **yarı kantitatif** olarak değerlendirilebilir.

Moleküler tanı yöntemleri

Hibridizasyon yöntemi

Kültürde üreyen mikroorganizmaların tanımlanması ya da hasta örneklerinde mikroorganizma saptanması için hibridizasyon yöntemi kullanılmaktadır.

Multipleks PCR

PCR tabanlı yöntemler özgüllükleri ile ilgili sorunlar olmakla birlikte genel olarak geleneksel tanı yöntemlerine göre daha duyarlı ve hızlı olup, ayrıca antimikrobiyal tedavi altındaki olgularda da etkenin tanımlanmasını sağlayabilmektedir. Moleküler ve serolojik tanı yöntemleri için örnekleri saklama koşulları **Tablo 17**'de özetlenmiştir.

Tablo 17. Moleküler ve serolojik tanı yöntemleri için örnekleri saklama koşulları

Mikroorganizma	Balgam	Serum	İdrar
M. pneumoniae	OS, 2 saat; +4°C, 2-48 saat	OS, 2 saat; +4°C, 2-48 saat	-
C. pneumoniae	OS, 2 saat; +4°C, 2-48 saat	OS, 2 saat; +4°C, 2-48 saat	-
S. pneumoniae	-	-	OS, 24 saat; +4°C, 14 gün
Legionella spp.	OS, 2 saat; +4°C, 2-24 saat	-	OS, 24 saat; +4°C, 14 gün

Gram boyamasına göre raporlanan bakteri morfolojisi sonuçlarıyla **olguların %90'ından fazlasında** uygun monoterapi seçilebilir.

Patojen sayısı fazlaysa hangisi ya da hangilerinin çalışılacağına Gram boyalı mikroskobik inceleme ile karar verilir.

Kültürdeki üreme ile Gram boyama sonucu **uyumlu değilse** üreyen bakterilere, sadece koloni morfolojisi ve Gram değerlendirme ile "basit tanımlama" yapılır.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Balgam örnekleri, makroskobik görünümüne göre reddedil**me**diyse, Gram boyalı mikroskobik inceleme ve kültür sonuçları birlikte değerlendirilir. Gram boyalı incelemede örneğin alt solunum yollarını temsil edip etmemesine, kültürde üremenin olup olmamasına, üremenin miktarına, üreyen mikroorganizma çeşitliliğine göre sonuçlar değerlendirilerek yorumlanır.

Raporlama olasılıkları aşağıda tablo halinde şematize edilmiştir.

Balgam örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Nötropenik hasta / Yoğun Bakım hastası	Gram boyalı mikroskobik inceleme *(ara rapor için)*	Gram boyalı mikroskobik incelemede 10× objektifle her alanda görülen PNL sayısı ile 100× objektifle görülen Gram-pozitif/negatif bakteriler ve bunların morfolojileri belirtilir. Sonuç **mutlaka** telefonla bildirilmelidir.
	Pozitif kültür / Raporlama	– Baskın olarak üreyen tek bir bakteri varsa belirtilir. Antimikrobiyal duyarlılık testi yapılır, sonuç raporlanır. – Baskın olarak üreyen iki bakteri varsa; *"…… ile …….. (orta/çok sayıda) üredi."* şeklinde belirtilir ve ADT yapılır, sonuç raporlanır.
Tüm hastalar	Gram boyalı mikroskobik inceleme *(ara rapor için)*	Gram boyalı mikroskobik incelemede 10× objektifle her alanda görülen ortalama PNL ve epitel hücresi sayısı ile 100× objektifle görülen Gram-pozitif/negatif bakteriler ve bunların morfolojileri belirtilir.
	Pozitif kültür / Raporlama	**Gram boyalı preparatta epitel hücresi 10-25/alan ise:** **Durum 1 –** Kültürde enfeksiyon etkeni olabilecek herhangi bir mikroorganizma baskın olarak üredi. Gram boyalı preparatta 10× objektifle her alanda <25 PNL ve 10-25 nazofaringeal epitel hücresi görüldü. **Rapor 1 –** "*Gram boyalı preparatta 10× objektifle her alanda <25 PNL ve 10-25 nazofaringeal epitel hücresi görüldü. …… baskın olarak üredi. ADT sonucu için lütfen laboratuvarla iletişime geçiniz.*" şeklinde raporlanır. **Durum 2 –** Kültürde birden fazla mikroorganizma üredi, baskın üreme yok, kolonizasyon/kontaminasyon olabilir. Basit tanımlama yapılır. **Rapor 2 –** "*Gram boyalı preparatta 10× objektifle her alanda <25 PNL ve 10-25 nazofaringeal epitel hücresi görüldü. Kültürde …….. ile …….. (az/orta/çok) üredi. Kültür sonuçları ile Gram boyalı preparat birlikte değerlendirildiğinde bu izolatlardan herhangi biri etken olarak tanımlanamadı. Kolonizasyon veya kontaminasyon olabileceği düşünüldü*" şeklinde raporlanır. **Gram boyalı preparatta epitel hücresi <10/alan ise** **Durum 3 –** Kültürde enfeksiyon etkeni olabilecek herhangi bir veya iki mikroorganizma baskın olarak üredi. Gram boyalı preparatta 10× objektifle her alanda <25 PNL ve <10 orofaringeal epitel hücresi görüldü. **Rapor 3 –** "*Gram boyalı preparatta 10× objektifle her alanda <25 PNL ve <10 nazofaringeal epitel hücresi görüldü. Kültürde (tek tip ise) ……. /(iki tip ise) …… ve …….. baskın olarak üredi*" şeklinde raporlanır. *Mikroskobik inceleme bulguları uygunsa, kültürde üreyen mikroorganizma(lar) Gram boyalı preparatta görülüyorsa, ADT yapılır, sonuç raporlanır.*
Tüm hastalar	Kültürde üreme olmaması durumunda	**Durum 4 –** Herhangi bir kültür plağında üreme olmadı. **Rapor 4 –** "*Potansiyel patojen etken veya normal üst solunum yolu florası elemanları üremedi. Uygunsuz/yetersiz örnek, enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa lütfen yeni örnek gönderiniz.*"
	Flora bakterileri üremesi	**Durum 5 –** Herhangi bir potansiyel patojen etken üremedi, üst solunum yolu flora bakterileri üredi. **Rapor 5 –** "*Solunum yolu flora bakterileri üredi.*"

Kistik fibroziste balgam incelemesi

Kistik fibrozis (KF) hastalarında ölümlerin %75-85'i kronik akciğer enfeksiyonu sonucu meydana gelmektedir.

Sıklıkla etken olan bazı mikroorganizmalar

P. aeruginosa

P. aeruginosa KF'de solunum yolu enfeksiyonu etkenleri arasında en önemli patojendir. İlk izole edilen *P. aeruginosa* izolatları mukoid değilken, zaman içerisinde mukoid tipte *P. aeruginosa* izolatları ile kronik enfeksiyon gelişir. Mukoid izolatların saptanması enfeksiyonun kronikleştiğinin en önemli göstergesidir.

Mukoid *P. aeruginosa* izolatları solunum yollarında bir tür ekzopolisakkarit olan aljinattan zengin biyofilmler oluşturur. Biyofilm içerisinde yaşayan *P. aeruginosa* izolatları hem antibiyotiklerden hem de akciğerdeki bağışık yanıttan korunur. KF hastalarında *P. aeruginosa* kolonizasyonunun önlenmesinde en önemli basamak mikroorganizmanın solunum yollarına ilk yerleştiğinde eradikasyonunun yapılmasıdır.

S. aureus

10 yaşını geçen KF olgularının yaklaşık %50'sinde *S. aureus* saptanır. *S. aureus*'a bağlı morbidite ve mortalite yüksek olmamakla birlikte solunum yollarında neden olduğu hasar *P. aeruginosa* ile kolonizasyonu artırır. Özellikle MRSA ile kolonizasyon pek çok KF olgusunun *P. aeruginosa, B. cepacia* kompleks ve diğer bakterilerle kolonizasyonuna/enfeksiyonuna yol açar.

H. influenzae, B. cepacia kompleks ve diğerleri

H. influenzae KF olgularında üçüncü sıklıkta rastlanan patojendir. KF olgularında izole edilen *H. influenzae* izolatlarının çoğu kapsülsüzdür. KF olgularında mukoid *P. aeruginosa* izolatları çoğunlukla *H. influenzae* kolonilerinin izolasyonunu güçleştirir. *B. cepacia* kompleks, *S. maltophilia* ve *A. xylosoxidans* daha çok hastalığın geç dönemlerinde izole edilir.

KF hastalarında solunum yollarında kolonizasyona ve enfeksiyona en sık yol açan bakteriler:

- Mukoid ve non-mukoid *P. aeruginosa*
- *S. aureus*
- *B. cepacia* kompleks
- *S. maltophilia*
- *H. influenzae*
- *S. pneumoniae*
- *Achromobacter* spp.

Mukoid *P. aeruginosa* izolatlarının saptanması enfeksiyonun kronikleştiğinin en önemli göstergesidir.

KF hastalarında *P. aeruginosa* kolonizasyonunun önlenmesinde en önemli basamak mikroorganizmanın solunum yollarına ilk yerleştiğinde eradikasyonunun sağlanmasıdır.

S. aureus'a bağlı morbidite ve mortalite yüksek olmamakla birlikte solunum yollarında neden olduğu hasar *P. aeruginosa* ile kolonizasyonu arttırır.

KF olgularında mukoid *P. aeruginosa* çoğunlukla *H. influenzae* kolonilerinin izolasyonunu güçleştirir.

KF olgularında;

Numunenin KF hastasından alındığı **belirtilmelidir.**

Balgamın **yoğun viskoz yapısı**, polimikrobiyal üreme ve bazı bakterilerin yavaş üreme hızı nedeniyle **kültürün değerlendirilmesi güçtür**! Bu nedenle **rutin besiyerlerine ek** olarak **seçici** besiyerleri de tercih edilmelidir.

KF olgularında; Gram boyalı mikroskobik inceleme ile sınıflama yapılmaz.

- Balgam ve BAL örnekleri dithiothreitol veya DNaz gibi mukolitik ajanlarla çözündürüldükten sonra sulandırılmalı ve kantitatif kültür yapılmalıdır.
- İzole edilen kolonilerin sayım sonuçları antimikrobiyal tedavi sonuçlarının izlenmesinde kullanılır.
- KF ortamında çoğu bakteri yavaş üreme fazına geçtiğinden, besiyerleri 48-96 saat inkübe edilmelidir.

ASY enfeksiyonlarının tanısında diğer testler

Kan kültürü

Duyarlılığı düşük fakat özgüllüğü yüksektir.

Hastane-kaynaklı pnömoni ve **ventilatör ilişkili pnömoni** olgularında her hastadan **en az iki set kan kültürü** alınması önerilir. Pnömoniye eşlik eden bakteriyemi gösterilirse komplikasyon olasılığı yüksektir. Kan kültürü **pozitifse** başka enfeksiyon olasılığı dışlanmalıdır.

Stafilokok enfeksiyonlarında kültürlerin negatif öngörü değeri yüksektir.

Toplum-kaynaklı pnömoni olgularında, etkene göre değişmekle birlikte, %30'a varan oranlarda kan kültür pozitifliği bulunmaktadır.

Çocuk hastalarda solunum yolu örneği ile birlikte **mutlaka kan kültürü** de alınmalıdır.

Balgam ile kan kültüründe **eş zamanlı üreme** tanıyı kesinleştirir.

Kan kültürü antimikrobiyal **tedavi başlamadan önce** alınmalıdır.

Üriner antijen testi

Legionella pneumophila ve *S. pneumoniae* için idrarda çözünür antijenleri saptama testleri bulunmaktadır. Bu testler IKT ve EIA yöntemleriyle (nadir olarak da radioimmunoassay, RIA ile), çalışılmaktadır.

İmmünokromatografik test (İKT)
(üriner antijen testi)

- *L. pneumophila* için duyarlılık %57-90, özgüllük >%90;
- *S. pneumoniae* için duyarlılık %44-78, özgüllük >%90 olarak bildirilmektedir.

İdrar örnekleri;

Steril kap içerisinde, oda sıcaklığında 24 saat; 2-8°C'de 1-14 gün saklanabilir.

S. pneumoniae üriner antijen testi

- Bakteriyemik olmayan pnömokoksik pnömonili hastalarda duyarlılık görece düşüktür; %44-78
- Bakteriyemik hastalarda; %77-89 arasında değişmektedir.
- Erişkinlerde özgüllük >%90'dır.
- KOAH hastalarında ve nazofarinkste pnömokok taşıyıcılığı olan sağlam çocuklarda %21-54 oranları arasında yalancı pozitiflik bildirilmektedir.

L. pneumophila üriner antijen testi

- *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.
- Testin duyarlılığı %57-90, özgüllüğü ise >%99 olarak bildirilmektedir.

Seroloji

Mycoplasma türleri, *C. pneumoniae, Legionella* türleri, *Coxiella* türleri gibi atipik etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların tanısında serolojik, immünolojik yöntemlerden yararlanılır.

IgM titresinde akut ve konvalesan fazlar arasında 4 kat titre artışı olması tanısaldır.

İndirekt floresan antikor testi (IFAT)

Floresan antikor testleri için uygun örnekler; nazal aspirat/nazal yıkama sıvısı veya nazofaringeal sürüntü örnekleridir.

L. pneumophila tanısında en standardize yöntem IFAT'dir.

C. pneumoniae tanısında en duyarlı olan ve CDC tarafından önerilen test mikroimmün floresan (MIF) testidir. *C. psittaci* tanısında da CDC'nin önerdiği test MIF'tir.

Nükleik asit amplifikasyon testi (NAAT)

Mycoplasma türleri, *C. pneumoniae*, *Legionella* türleri, *Coxiella* türleri gibi atipik etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların tanısında nazofaringeal sürüntü ve nazofaringeal aspirat örneklerinde NAAT önemli bir yer tutar.

Balgam dışı ASY örnekleri

Alt solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında gerektiğinde trakeal aspirat, BAL ve bronş yıkama sıvısı gibi balgam dışı ASY örnekleri de incelenir. Balgam dışı ASY örneklerinin alınması taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri **Tablo 18**'de özetlenmektedir. Örnek alımında kullanılan Luken ve Auger örnek alma kapları sırasıyla **Resim 1** ve **Resim 2**'de gösterilmektedir.

Tablo 18. Balgam dışı ASY örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü	Örnek alma özelliği	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Ret ölçütleri ve özel durumlar
Trakeal aspirat (tanıda duyarlılığı yüksek, özgüllüğü düşüktür.)	Trakeostomili ve entübe hastalardan alınır. Aspirasyonla alınan örnek steril, burgulu kapaklı balgam kabında gönderilir. Yeni doğanlar, süt çocukları ve küçük çocuklar için aspirat örneği üst solunum yolundan "auger" kullanılarak alınır.	Steril kap ≤2 saat, OS Taşıma sırasında örneğin kaptan sızarak kontamine olması/etmesi önlenmelidir.*	≤24 saat +2-8°C'de	Aynı gün içerisinde gönderilen ikinci örnekler, 24 saat toplanmış örnekler, makroskobik olarak tükürük görünümündeki örnekler, makroskobik olarak kontamine olan örnekler, burundan alınan aspirasyon ve sürüntü örnekleri ve boğaz sürüntü örnekleri reddedilir.
Mini-BAL	Metras kateter yardımı ile steril SF verilip-alınarak alt solunum yollarının örneklemesi yapılır. Bu yöntemle 1mL akciğer sekresyonu ile >1 milyon alveolün örneklemesi yapılabilir.			OS'de >2 saat bekletilmiş örnekler için durum raporda belirtilmelidir.
BAL, Bronş yıkama sıvısı	Akciğer segmenti fleksibl bronkoskop kullanılarak steril SF ile yıkanır ve örnek alınır. Bronş ve alveollerin distalinden lavajla ayrı ayrı BAL örnekleri alınır. Kantitatif yöntem için en az 40-80 mL sıvı gereklidir. İlk gelen sıvı dışarı atılarak kültür ve boyama için son kısmı gönderilmelidir. Örnek alınırken bölünen sıvılar ayrı steril kaplara konur ve ayrı ayrı numaralandırılır*			İnvaziv işlemlerle alındığı için asla reddedil**me**melidir. OS'de >2 saat bekletilmiş örnekler için durum raporda belirtilmelidir.
KFÖ	Fleksibl bronkoskopla örnek alınır. Kontaminasyonu önlemek için çift lümenli (iç ve dış) polietilen glikol ile kapatılan kateter kullanılır.	1mL steril SF içinde steril kapta ≤2 saat, OS Anaerop kültür için anaerop taşıyıcı besiyeri		İnvaziv işlemlerle alındığı için asla reddedil**me**melidir. OS'de >2 saat bekletilen örnekler için durum raporda belirtilmelidir. **Akciğer aspiratı** alınırken pnömotoraks ve/veya bronkokutanöz **fistül riski** mevcuttur. Trombositopeni /koagülopati durumunda **kontrendike**dir. Anaerop kültür yapılabilir.
Transbron-şiyal biyopsi	Bronkoskopun biyopsi kanalına yerleştirilen bir forseps yardımı ile bronkoskopi sırasında alınır.			
Akciğer aspiratları	Akciğerin periferinde yerleşen lezyonlar veya abse kavitelerinden alınır. Aspire edilen sıvı veya püy steril bir kaba aktarılır.	Steril kap içerisinde ≤2 saat, OS Anaerop kültür için anaerop taşıyıcı besiyeri		
Açık akciğer biyopsisi	Ameliyat sırasında alınır. Örnekler 0.5-1.0 cm^2 ve birkaç yerden alınabilir.			
Plevral sıvı	*bkz.* KLİMUD-Steril Vücut Sıvıları Rehberi			

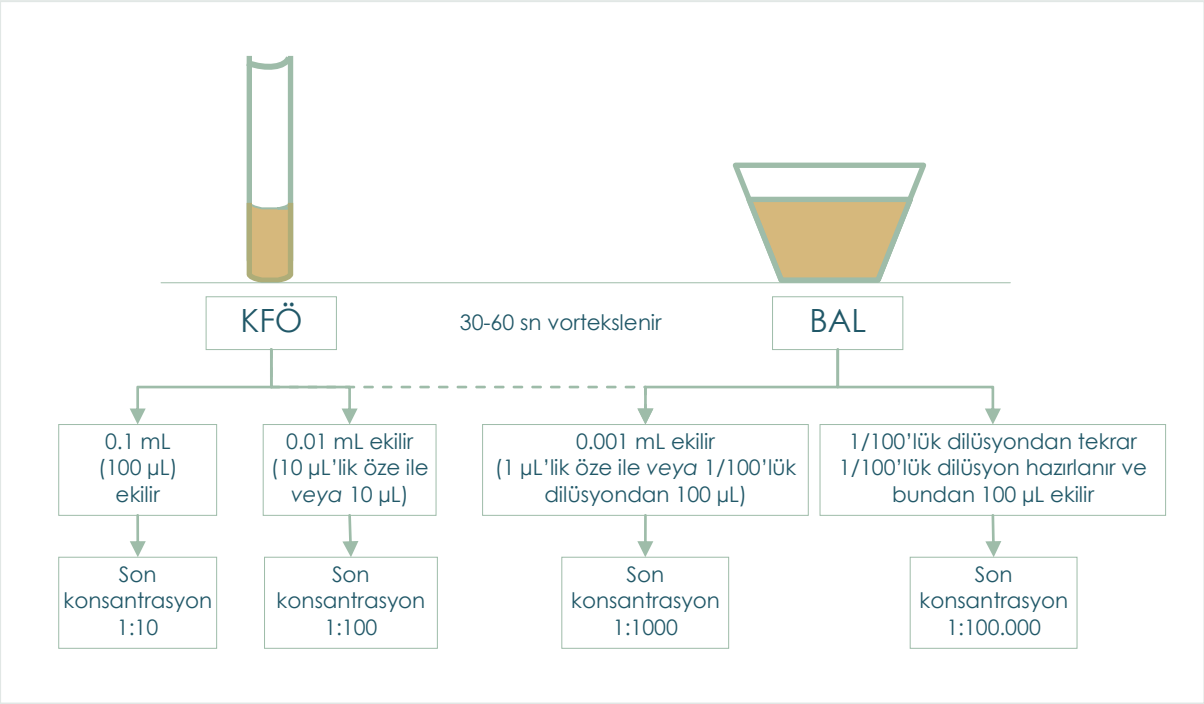
*Tüm kaplar taşıma sırasında oluşabilecek sızıntılara bağlı kontaminasyonu önlemek için *biyolojik tehlike çantalarında* taşınarak laboratuvara ulaştırılır.

Resim 1. Luken örnek alma kabı

Resim 2. Auger örnek alma kabı

Balgam dışı ASY örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri

Örneklerin işlenmesi ve kültür özellikleri **Tablo 19**'da özetlenmektedir. Alt solunum yolunun balgam dışındaki diğer örneklerinde kantitatif ekim **Şekil 3**'te gösterilmektedir.



Şekil 3. KFÖ ve BAL örneklerinin kantitatif ekimi

Tablo 19. Balgam dışı örneklerin işlenmesi ve kültür özellikleri

Örnek türü	Hedef bakteriler	Ön işlem	Gram boyama	Özel durumlar	Kültür özellikleri	İnkübasyon koşulları	Değerlendirme
Trakeal aspirat	*S. pneumoniae* *H. influenzae* *M. catarrhalis* *S.aureus* *Enterobacte-rales* *P. aeruginosa*	En pürülan ve kanlı bölge seçilir	*bkz.* Balgam örneği	Balgam gibi değerlendirilse de mikroskobik inceleme değerlendirme ölçütleri belirlenmemiştir.	KKA, Çikolata agar MAC veya EMB Üst solunum yolu florasını inhibe etmek için çikolata agara 10 Ü basitrasin diski konabilir.	35-37°C'de %5 CO_2'de 24-48 saat	*bkz.* Balgam örneği
mini-BAL sıvısı#		Gram boyama için sitosantrifüj (100 µL örnek 3000 rpm'de 5 dk santrifüj)	Kültür için rehber ola-rak kullanılır. Hücresel durum hak-kında bilgi verir (nötrofil varlığı, hâkim olan muhte-mel patojen bakteri, nötrofillerin içerisinde yer alan pato-jenler) *,**	Hastane-kaynaklı pnömoni, ventilatör ilişkili pnömoni, KF ve bronşiektazili hastalarda kantitatif ekim yapılması önerilir. Ekim için örnekler santrifüj edil**me**melidir.		35-37°C'de %5 CO_2'de 48-72 saat	Anlamlı sayıdaki mikroorganizma değerlendirilir.# (>10^4 cfu/mL)
BAL sıvısı, Bronş yıkama sıvısı#							
KFÖ							Anlamlı sayıdaki mikroorganizma değerlendirilir. (>10^3 cfu/mL)
Trans-bronşiyal biyopsi	Aerop, Fakültatif anaerop, Anaerop bakteriler	Doku homo-jenizasyonu gerekir. Ekimle birlikte zenginleştirici besiyerine alınır (*örn.*, TSB veya anaerop BHI)	Anaerop bakterilerin varlığına dikkat edilmelidir		KKA, Çikolata agar, MAC veya EMB, Fenil-etil alkol agar veya CNA, Anaerop besiyerleri	35-37°C'de %5 CO_2'de 48-72 saat 4 güne kadar bekletilir.	Plaklar ve sıvı besiyerleri her gün değerlen-dirilir.
Akciğer aspiratları							
Açık akciğer biyopsi örnekleri							
Plevral sıvı	*bkz.* KLİMUD-Steril Vücut Sıvıları Rehberi						

Kısaltmalar – TSB, tryptic soy broth (triptik soya buyyonu); CNA, kolistin nalidiksik asit agar

#Mini-BAL ve bronş yıkama sıvısı örnekleri yarı kantitatif/kantitatif yöntemle değerlendirilir. Ağır pnömonili yoğun bakım has-taları, özellikle ventilatör-ilişkili pnömonili hastalarda kantitatif kültür yapılmalıdır.

*BAL örneklerinin Gram boyamasında nötrofiller içerisindeki bakteri yoğunluğunun >%5 olması ventilatör-ilişkili pnömoni tanısı ile uyumludur.

**Gram boyamanın ventilatör-ilişkili pnömoni tanısındaki duyarlılık ve özgüllüğü değişken olmakla birlikte genellikle Gram-pozitif bakterilerde Gram-negatiflere göre daha yüksektir.

Balgam dışı ASY örnekleri için ara raporlar ve panik değer

Gram boyama ve kültür sonuçları 16-72 saatte raporlanmalıdır. Sonuçlanamıyorsa ön rapor düzenlenebilir.

Ön rapor: Mikroskopi sonucu, kültürde üreyen baskın bakterinin "basit tanımlamaları" (oksidaz pozitif, Gram-negatif basil, Gram-pozitif diplokok gibi) ve kantitatif ekilen örneklerde sayı raporlanır.

Panik değer: Yok

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

ASY'nin balgam dışı örneklerinin inceleme sonuçlarının yorumlanması ve raporlanması ile ilgili özellikler aşağıda görülebilir.

ASY'nin balgam dışı örneklerinin inceleme sonuçlarının raporlanması

Gram boyama	
Trakeal aspirat	*bkz.* Balgam
Diğer örnekler	Gram boyamada hücre (PNL ve epitel hücresi) ve bakteri varlığı raporlanır. Olası patojen bakteri görülmüş ise raporda bildirilir.
Kültür sonuçlarının yorumlanması	
Trakeal aspirat	*bkz.* Balgam
Kantitatif yöntemle ekilen örnekler (mini BAL, BAL, bronş yıkama sıvısı, KFÖ)	Plaktaki farklı morfolojideki koloniler ayrı ayrı sayılır. Dilüsyon hangi oranda ise onunla çarpılır (*örn.,* 30 koloni varsa 30 x 10^3 cfu/mL). Primer patojenler **Tablo 20** esas alınarak değerlendirilir.
Diğer örnekler (aspirat, biyopsi ve plevral sıvı)	Üreyen her bakteri değerlendirilir ve antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) çalışılır.
Kültür sonuçlarının raporlanması	
Trakeal aspirat	*bkz.* Balgam
Kantitatif yöntemle ekilen örnekler (mini BAL, BAL, bronş yıkama sıvısı, KFÖ)	*Üreme **yok**sa* Potansiyel patojen etken üremedi. Enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa lütfen yeni örnek gönderiniz.
	*Üreme **var**sa* Üreyen her potansiyel patojen etken koloni sayısı ile birlikte raporlanır. BAL sıvısında ≥10^4 cfu/mL ve KFÖ'de ≥10^3 cfu/mL sayısındaki üremeler ADT sonuçları ile birlikte raporlanır. BAL sıvısında <10^4 cfu/mL ve KFÖ'de <10^3 cfu/mL sayısındaki üremeler kontaminasyon olarak değerlendirilerek basit tanımlama yapılarak raporlanır.
Diğer örnekler (aspirat, biyopsi ve plevral sıvı)	Üreyen her bakteri ADT sonucu ile birlikte raporlanır.
NOT	Hastane kökenli pnömoni ve ventilatör ilişkili pnömoni hastalarından izole edilen bakteriler sık kullanılan antibiyotiklere yüksek oranda dirençlidir. Bu hasta örneklerinden izole edilen potansiyel patojen etken üremelerinde uygun tedaviyi yönlendirmek için ADT çalışılıp raporlanmalıdır.

ASY kültürlerinde primer patojenlerin değerlendirilmesi ve raporlanması da **Tablo 20**'de özetlenmektedir.

Tablo 20. Alt solunum yolu kültürlerinde primer patojenlerin değerlendirme ve raporlanması

Bakteri	**Üreme yoğunluğu** (yarı kantitatif)	**Sayı** (cfu/mL) (kantitatif KFÖ/BAL)*	**Önerilen**
Normal florada olabilenler dâhil			
S. pyogenes	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir sayıda üreme	Tanımla/ADT yapma
S. pneumoniae	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/ADT yap
S. aureus	Normal floradan az üreme	$<10^3$	MRSA değilse normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/ADT yap
M. catarrhalis	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/β-laktamaz negatif ise ADT yap
H. influenzae	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/Beta laktamaz ve ADT yap
N. meningitidis	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/β-laktamaz ve ADT yap
B, C ve G grubu streptokoklar	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Penisilin alerjisi olan hastalarda ADT yap
KNS, enterokok, diğer normal flora üyeleri	Uygulanmaz	$\geq10^3$-10^4	BAL ve KFÖ örneklerinde yalnızca saf kültür ve yoğun üremişse raporla, ADT yap
Anaeroplar	Uygulanmaz	10^3	Basit tanımlama yap
		$\geq10^3$-10^4	Raporla, ADT yap
Enterobacterales	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Yoğun bakım ya da immün yetmezlikli hasta değilse tanımlama/ADT yapma
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/ADT yap
P. aeruginosa	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Tanımla/ADT yap
Diğer nonfermentatifler (*S. maltophilia, Acinetobacter* spp., *B. cepacia,* vb.)	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımla/ADT yap
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/ADT yap
Karışık Gram-negatif çomaklar, 2 farklı morfoloji	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/ADT yapma
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Yoğun bakım ya da immün yetmezlikli hasta değilse tanımlama/ADT yapma
Gram-pozitif çomaklar			
Corynebacterium spp.	Normal floradan az üreme	$<10^3$	Tanımlama/Normal flora olarak raporla
	Orta/çok sayıda üreme ve normal floradan fazla üreme	$\geq10^3$-10^4	Tanımla/ADT yap
R. equi	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Tanımla/ADT yap
Aerobik aktinomiçesler			
Nocardia spp. *Streptomyces*	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Tanımla/ADT yap
Biyoterörizm ajanları			
Brucella spp. *F. tularensis* *B. anthracis* *Y. pestis*	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Biyogüvenlik önerilerine uygun olarak basit tanımlama yap.
Mayalar			
C. neoformans	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Tanımla
Küfler			
Aspergillus spp. *Mucor* spp. Sistemik mikoz etkenleri	Herhangi bir miktar üreme	Herhangi bir miktar üreme	Tanımla

*Anlamlı üreme; KFÖ için 10^3 cfu/mL, BAL örnekleri için 10^4 cfu/mL'dir.

Kaynaklar

1. Campbell S, Forbes BA. The clinical microbiology laboratory in the diagnosis of lower respiratory tract infections. *J Clin Micobiol* 2011;49:S30-33.
2. Carroll KC. Laboratory diagnosis of lower respiratory tract infections: Controversy and conundrums. *J Clin Microbiol* 2002;40:3115-3120.
3. Cunha BA. The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(suppl 3):12-24.
4. Davis KA, Eckert MJ, Reed RL, et al. Ventilator-associated pneumonia in injured patients: do you trust your Gram's stain? *J Trauma*. 2005;58(3):462-6;466-7.
5. Forbes B, Sahm DF, Weissfeld AS. Infections of the lower respiratory tract. *In:* Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed., Mosby Elsevier/ St. Louis, Missouri ABD. 2007; pp. 798-813
6. Freymuth F, Leven M, Wallet F. Lower respiratory tract infections. *In:* Cornaglia G, Coucol R, Herrmann JL, Kahlmeter G, Peigue-Lafeuille H, Vila J (eds). European Manual of Clinical Microbiology. ESCMID, SFM. 1st Ed. 2012.
7. Fujitani S, Yu VL. Quantitative cultures for diagnosing ventilator-associated pneumonia: a critique. *Clin Infect Dis* 2006;43:S106-13
8. Gram Stain. *In:* Leber AM (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4rd Ed., ASM Press, Washington, DC., 2016; p. 3.2.1.20
9. Gülay Z. Toplum kökenli pnömoni tanısında mikrobiyolojik incelemelerin yeri ve önemi. *İç Hastalıkları Derg* 2007; 14:195-205.
10. Public Health England (2019). Investigation of bronchoalveolar lavage, sputum and associated specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 57 Issue 3.5. https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-andconsistency-in-clinical-laboratories.
11. Health Protection Agency. Screening for meningococci. UK Standards for Microbiology Investigations. B 51 Issue 1.2, 2012. http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf.
12. Kistik Fibroziste mikrobiyoloji. Türk Toraks Derneği Kistik Fibrozis Tanı ve Tedavi Rehberi, 2011;13-21.
13. Kurutepe S, Ecemiş T, Özgen A ve ark. Toplum kökenli pnömonisi olan erişkin hastalarda konvansiyonel ve multipleks PCR yöntemleriyle bakteriyel etiyolojinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2012;46:523-531.
14. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44:S27-72. https://academic.oup.com/cid/article/44/Supplement_2/S27/372079?login=true (erişim t: 01.09 2021)
15. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis* 2018;67(6):e1–e94. https://academic.oup.com/cid/article/67/6/e1/5046039?login=true
16. Özlü T, Bülbül Y, Alataş F ve ark. Türk Toraks Derneği erişkinlerde toplumda gelişen pnömoni tanı ve tedavi uzlaşı raporu. *Türk Toraks Derg* 2009;10(Ek 9):1-18.
17. Torres A, El-Ebiary M, Fábregas N, et al. Value of intracellular bacteria detection in the diagnosis of ventilator associated pneumonia. *Thorax* 1996;51(4):378-84.
18. Tristram D. Laryngitis, tracheitis, epiglottitis, and bronchiolitis. *In:* Domachowske J (eds). Introduction to Clinical Infectious Diseases. Springer, *Cham.* 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91080-2_7

BÖLÜM 4

ÖZEL ENFEKSİYONLARDA ÖRNEKLERİN İNCELENMESİ

Tanı süreçleri

Önceki bölümlerde yeri geldikçe değinilmiş olsa da solunum yollarında yerleşerek enfeksiyona neden olan **difteri, boğmaca** ve **Lejyoner hastalığı** etkenlerinin laboratuvar tanısı bu bölümde biraz daha ayrıntılı ele alınacaktır. Bu patojenlerin incelenmesinde önem taşıyan belli başlı hususlar **Tablo 21** ve **Tablo 22**'de özetlenmektedir.

Tablo 21. Solunum yolu enfeksiyonlarında özel patojenlerin incelenmesi: Kültür

Hastalığın adı	Etken	Standart besiyeri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı	Önerilen minimum düzeyde tanımlama
			Sıcaklık (°C)	Ortam	Süre		
Difteri*	Toksijenik kökenler: *C. diphtheriae* *C. ulcerans* *C. pseudotuberculosis*	CTBA** ve KKA Tinsdale agar**	35-37	Aerobik	5-7 gün	≥24 saat, günlük	Tür düzeyinde tanımlanmalıdır; İzolattan **acil toksijenite testi yapılması gerekir**.
Boğmaca	*Bordetella pertussis* *B. parapertussis* *B. holmesii* *B. bronchiseptica*	C-BGA ve BGA	35-37	Aerobik, nemli ortam	7-10 gün	≥24 saat, günlük	Tür düzeyinde
Lejyoner hastalığı	*L. pneumophila* diğer *Legionella* türleri	BCYE agar ve antibiyotik içeren seçici-BCYE'ler	35-37	Aerobik, nemli ortam	5-7 gün	≥24 saat, günlük	Tür düzeyinde

Kısaltmalar – CTBA, sistin tellürit kanlı agar; BGA, Bordet-Gengou agar; C-BGA, sefaleksinli BGA

* Örneklerin **direkt mikroskobik incelemesi** yoluyla difteri tanısı; yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranlarının yüksek olması nedeniyle kesinlikle **önerilmez.**

** Taşıyıcılardan, temaslılardan ve nekâhet dönemi hastalardan alınan örnekler az sayıda *C.diphtheriae* içerebileceğinden ve seçici olmayan vasatlarda diğer bakterilerin aşırı üremesi ile *C.diphtheriae* baskılanabileceğinden dolayı; **seçici besiyeri kullanımı özellikle önem taşımaktadır**. Bu nedenle Loeffler besiyeri primer izolasyonda kesinlikle öneril**me**mektedir.

Tablo 22. Solunum yolu enfeksiyonlarında özel patojenlerin incelenmesi: İKT, DFA, PCR ve seroloji

Hastalığın adı	Etken	İKT	DFA	PCR	Serolojik inceleme
Difteri	Toksijenik kökenler: *C. diphtheriae* *C. ulcerans* *C. pseudotuberculosis*	Uygulanmaz	Uygulanmaz	PCR ile difteri *toxA* ve *toxB* genlerinin varlığı araştırılır. Gen bölgesinin varlığının gösterilmesi toksinin *eksprese ediliyor olduğu* anlamına gelmemektedir.	Serolojik incelemenin **tanı değeri yoktur**; ancak hastanın difteriye karşı koruyucu antikorlarının olup olmadığı veya düzeyi hakkında fikir verir. Seroloji daha ziyade aşılama etkinliğinin değerlendirilmesi vb. (seroepidemiyolojik sürveyans) amaçlar için kullanılır.
Boğmaca	*Bordetella pertussis* *B. parapertussis* *B. holmesii* *B. bronchiseptica*		Kültürde üreme yokken DFA pozitifliği, klinik ve epidemiyolojik ölçütler ve diğer laboratuvar testleriyle birlikte değerlendirilmelidir.	IS481 ve pertussis toksin promoter bölge genlerinin varlığı araştırılır. Sonuçların epidemiyolojik bilgiler ve klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmesi gerekir.	Çift serum örneğinde serokonversiyonun gösterilmesinin tanı değeri vardır. Tek serum örneğinde anti-PT IgG seviyesinin >100 IU/mL olması da akut enfeksiyon veya son zamanlarda geçirilmiş enfeksiyon lehine kabul edilir.
Lejyoner Hastalığı	*L. pneumophila* Diğer *Legionella* türleri	*L. pneumophila* SG1'e özgü antijenlerin **idrarda** saptanması için üriner antijen testi mevcuttur.	*Legionella* türlerinin diğer Gram-negatif bakterilerle **çapraz reaksiyon** vermesi nedeniyle, **pozitif DFA sonucu ile kesin tanı konamaz.** Diğer testlerle doğrulama gerekir.	*Lmip* ve *Leg* genlerinin varlığı araştırılır. Standardizasyona ilişkin sorunlar vardır.	*L. pneumophila* SG1 için çift serum örneğinde 4 kat titre artışının gösterilmesinin tanı değeri vardır. Diğer serogruplar ve türler için standardizasyona ilişkin sorunlar devam etmektedir.

Kısaltmalar – PT, pertussis toksin; SG, serogrup

Difteri

Difteri hastalığı, aerobik, Gram-pozitif bakteri *C. diphtheriae*'nin **toksijenik** gravis, mitis veya intermedius biyotiplerinden biri ile ortaya çıkabilmektedir. Diğer bazı *Corynebacterium* türlerinin (*C. ulcerans, C. pseudotuberculosis*) de **toksin üretebildiği** ve difteri kliniğinden sorumlu olabildiği bilinmektedir.

Difteri **bildirimi zorunlu** bir hastalıktır. Laboratuvardan bildirilen etkenler/hastalıklar listesinde değilse de duyarlı popülasyonda hızla yayılma olasılığı bulunması nedeniyle laboratuvarın etkeni izole etme/tanımlama olasılığının olduğu durumlar için tetikte olması ve ilgili birimleri hızla haberdar etmesi önemlidir. Vakaların bildirimi için, Sağlık Bakanlığının bilgilendirici kaynak dokümanı, Yönetmelik ve Genelge mevcuttur.[1]

Difteri bildirimi zorunlu bir hastalıktır.

Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayınlamış olduğu ilgili dokümana bakınız.[1]

Bir olgudan **toksijenik *C. diphtheriae*** izole edildiğinde, o bölgede potansiyel duyarlı bir popülasyonun varlığı göz önüne alınarak başka vakaların da olabileceği düşünülmeli ve **taşıyıcılık durumu araştırılmalıdır.**

1 "Difteri Saha Rehberi - 2003"
"Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Genelgesi (2015/18)"
"Bulaşıcı Hastalıkların Sürveyansı ve Kontrol Esasları Yönetmeliği (RG 22/04/2020 - 31107)"

Difteri vaka araştırmasında çok sayıda ve çeşitli örnek alınması bakterinin izole edilme olasılığını artırır.

Temaslı veya taşıyıcılık araştırmasında boğaz sürüntüsü ile birlikte **mutlaka** burun sürüntüsü de alınmalıdır. **Deri lezyonu** olup olmadığına bakılmalı ve varsa deri lezyon örnekleri de alınıp laboratuvara gönderilmelidir.

Salgın durumunda temaslıların serum örnekleri de gönderilmelidir.

Difteri kültürü çalışması **mutlaka** Sınıf IIA **biyogüvenlik kabini** içinde

Toksijenik *Corynebacterium* spp. ile çalışan **laboratuvar personelinin bağışıklık düzeyleri** ölçülmeli; antikor titresi <0.1IU/mL ise aşı uygulanmalıdır.

Difteri araştırmasında örneklerin direkt mikroskobik incelemesinin **tanı değeri yoktur**.

Tanıda "**altın standart**" **kültür** yöntemidir.

Örneklerin alınması, taşınması ve işlenmesi

Difteri hastalığının tanısında tutulum gösteren anatomik bölge dikkate alınarak solunum yolu örnekleri (burun, boğaz, nazofarinks sürüntüsü, nazofaringeal aspirat, psödomembran, otopsi materyali), konjonktiva, deri, vajen veya serum örnekleri alınır. Solunum yolu difterisinin tanısında mümkün olan **en fazla çeşit örneğin** (boğaz, burun, nazofarinks sürüntüsü, psödomembran…) alınıp gönderilmesi tanı şansını artırmaktadır. Örnekler önceki bölümlerde anlatıldığı gibi alınıp gönderilebilir.

Örnek alınması ve gönderilmesi ile ilgili daha detaylı bilgi için "UMS2014, Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi"nin "Difteri" başlığına bakılması önerilir.

Difteri tanısında örneklerin bakteriyolojik incelemesi **Tablo 21** ve **Tablo 22**'de özetlenmiştir. Kültürlerden izolasyonu ve tanımlanmasına ilişkin -besiyerlerinin hazırlanması dâhil- ayrıntılı çalışma prosedürleri de "UMS2014, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi, Cilt 1"in "Difteri" başlığı altında yer almaktadır (*bkz.* Bölüm 4, Kaynaklar).

Ara raporlar ve panik değerler

- Kültürde *C. diphtheriae, C. ulcerans* veya *C. pseudotuberculosis* üremesi
- Kültürde üreyen *C. diphtheriae, C ulcerans veya C. pseudotuberculosis* türlerinden birinin toksijenik olduğunun gösterilmesi
- Difteri şüpheli olgunun klinik örneklerinden herhangi bir izolasyon gerçekleştirile**me**diği durumda, yakın temaslılarından toksijenik *Corynebacterium* spp. izole edilmesi vaka yönetimi açısından anlamlıdır.

Difteri şüpheli olgulardan alınan klinik örneklerin **kültüründe *C. diphtheriae, C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* üretilmesi anlamlıdır.** Üreyen suşların **toksijenik** olup olmadıkları **mutlaka tespit edilmelidir**.

İzolasyonu gerçekleştiren laboratuvarın **toksijenite testleri** ve moleküler epidemiyolojik analiz yapılması için hızla HSGM, Ulusal Difteri Referans Laboratuvarı ile bağlantı kurması gerekir.

Difteri araştırmasında klinik örneklerden **PCR** ile elde edilen pozitif sonuç, vakada toksijenik kökenlerin kolonizasyonuna dair fikir verir. Klinik bulgularla birlikte tanıya yardımcıdır.

Nadir de olsa toksin geni bulunduğu halde toksin üretmeyen (PCR+, Elek test-) izolatlar olabildiğinden, **her iki yöntemin birlikte kullanılması**na dikkat edilmelidir.

Difterinin laboratuvar tanısında **serolojik** incelemenin **değeri sınırlıdır**!

Serolojik olarak tanı konabilmesi için *en az* 2 hafta ara ile -antitoksin tedavisi veya toksoid aşı uygulamasından önce- alınmış çift serum örneğinde 4 kat titre artışı aranmalıdır. Serolojik inceleme, daha çok seroepidemiyolojik sürveyans amacıyla yapılır.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Difteri tanısında kültür, PCR ve serolojik inceleme sonuçlarının raporlanması

Yöntem	Pozitif sonuç	Negatif sonuç
Kültür	Toksijenik *C. diphtheriae* varyant gravis / mitis / intermedius üredi. Toksijenik *C. ulcerans* / *C. pseudotuberculosis* üredi.	*Corynebacterium* spp. türleri üre**me**di. Toksijenik *C. diphtheriae*/ *C. ulcerans* / *C. pseudotuberculosis* üre**me**di.
PCR	Difteri toksin A+B gen bölgesi saptandı. Difteri toksin A gen bölgesi saptandı.	Toksijenik *Corynebacterium* spp. spesifik gen bölgesi saptan**ma**dı.
Serolojik inceleme	Ölçülen antikor (antitoksin) düzeyi; – >1.0 IU/mL; uzun süreli korunma – 0.1 IU/mL; tam korunma – 0.01-0.09 IU/mL; kısmi korunma – 0.01 IU/mL kısmi korunma sağlayan en düşük antitoksin titresi	Ölçülen antikor (antitoksin) düzeyi <0.01 IU/mL; kişi enfeksiyona duyarlı

Boğmaca

Boğmaca etkeni *Bordetella pertussis*, yalnızca insanlar için patojenik olan, aerobik, zor üreyen, Gram-negatif kokobasil yapısında bir mikroorganizmadır. *B. parapertussis, B. holmesii* ve *B. bronchiseptica* boğmaca ve boğmaca benzeri hastalık araştırmasında etken olarak aranan diğer türlerdir.

Hastalığın **atak hızı** değişik topluluklarda %5 ile %91 arasında değişebilmektedir. Bir yaşın altında atak hızları daha yüksek olarak bildirilmektedir.

Solunum yolunun özel enfeksiyonları arasındaki boğmaca bir diğer **bildirimi zorunlu** hastalıktır. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının düzenleyici dokümanına başvurulmalıdır.[1] *Olası* veya *kesin* bir vakanın saptanması; hemen her zaman yakınında başka vakaların olabileceğini de akla getirmeli, yakın temaslıları ve yüksek riskli temaslıları kapsayan aktif sürveyans çalışmaları başlatılmalıdır.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Boğmaca hastalığının tanısında örneklerin alınması, taşınması, saklanması için gereklilikler ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 23**'te özetlenmektedir. Daha ayrıntılı bilgi için "UMS2014, Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi" de incelenebilir (*bkz.* Bölüm 4, Kaynaklar).

Bakterinin hastalığın kataral ve **erken paroksismal** evresinde izole edilme şansı yüksektir. 4. haftadan sonra klinik örneklerde bakteri nadiren bulunur.

Mümkünse hastaya özgül **antibiyotik tedavisi başlanmadan önce** kültür için örnek alınmalıdır.

Boğmaca tanısında burun ve boğaz sürüntü örneklerinin ve **öksürtme plaklarının yeri yoktur.**

Serum akut ve konvalesan olmak üzere en az **2 hafta ara ile 2 kez** alınmalı, gönderilmelidir. Bu mümkün olmadığında tek serum örneği de gönderilebilir.

Boğmacanın laboratuvar tanısında **altın standart kültür yöntemi**dir.

Nazofarinks örneklerinin boğmaca ve boğmaca benzeri hastalık etkenleri yönünden incelenmesinde moleküler yöntemler önemlidir.

B. pertussis'e özgü **pertussis toksin promoter** gen bölgesinin PCR ile saptanması **kesin tanı** koydurur.

Klinik belirti ve bulguların eşliğinde IS481 gen bölgesinin varlığı da *Bordetella* spp. ile enfeksiyona işaret eder. **Pozitif PCR sonucu**; boğmaca ile **uyumlu klinik tablo**nun varlığı, **tedaviye yanıt** ve özellikle **hastanın yaşı**nın yer aldığı epidemiyolojik ölçütler göz önüne alınarak ve diğer laboratuvar sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmektedir.

Kültürü negatif olan veya kültür yapılmamış bir vakada eğer akut faz serum örneğinde yüksek antikor titreleri saptanmış ise PCR pozitifliği güçlü bir şekilde boğmaca lehine yorumlanır.

1 "Boğmaca Saha Rehberi - 2003"
"Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Genelgesi (2015/18)"
"Bulaşıcı Hastalıkların Sürveyansı ve Kontrol Esasları Yönetmeliği (RG 22/04/2020 - 31107)"

Tablo 23. Boğmaca hastalığı tanısında örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Etken(ler)	Örnek türü	Örnek alma özelliği	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar	Ret ölçütleri
Bordetella pertussis *B. parapertussis* *B. holmesii* *B.bronchiseptica*	Nazofaringeal sürüntü#	Steril, gövdesi ince burgulu alüminyum şaftlı ve kolay esneyebilir özellikte, dacron veya rayon uçlu eküvyonlar ile burundan nazofarinkse girilir, eküvyon 5 sn kadar bekletilerek yavaşça çevrilir.	Hasta başı direkt ekim, ≤15 dk, OS; Eküvyon ile casamino asit solüsyonu içinde ≤2 saat, OS; kömürlü transport besiyerinde ≤48 saat +4°C	Kültür için, örnek, 48 sa içinde laboratuvara ulaşmalıdır. Bu mümkün değilse örnek %1'lik casamino asit içinde ≤-70°C'ye kaldırılmalı, kuru buz içinde taşınmalıdır. Bu örnekler PCR için daha uygundur.	**Kültür için** hastalığın kataral ve erken paroksismal evresinde, mümkünse antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. **Moleküler çalışmalar için** dacron uçlu eküvyon kullanılmalıdır.	Boğaz, burun sürüntüleri*, pamuk eküvyon** ile alınmış örnekler ve öksürtme plakları reddedilir.
	Nazofaringeal aspirat	Hasta sırtüstü yatar pozisyonda iken boyun ekstansiyonda olmalıdır. Nefesini tutan hastanın burnundan ince bir kateterle nazofarinkse ulaşılır. SF verilip aspire edilerek 2mL örnek alınır.	≤2 saat oda ısısı; ≤48 saat +4°C	>48 saat kuru buz içinde veya kömürlü transport besiyerinde +4°C'de	Örnek, klinisyen tarafından alınmalıdır. Kuru buz içindeki örnekler moleküler çalışma için uygundur.	Genel ret ölçütleri
	Serum	Antikoagülansız, jelli vakumlu serum tüpüne 5 mL kan alınır; 5-6 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırılır. 15 dk bekledikten sonra santrifüj edilir ve laboratuvara gönderilir.	>48 saat ise (ya da jel içermeyen kan tüpü kullanılmış ise) serum kısmı santrifüj sonrası hemen steril bir tüpe ayrılmalıdır.	4°C'de 5 gün, -20°C veya -70°C'de daha uzun süre	Serolojik inceleme için akut ve konvalesan faz için olmak üzere 4-6 hafta ara ile 2 kez serum örneği gönderilmelidir.	

Posterior nazofarinkse ulaşılması, bu anatomik bölgedeki klinik materyalin en kısa sürede en fazla oranda absorbsiyonunun sağlanması açısından özel eküvyonların kullanılması son derece önemlidir.

* Boğmaca etkeni orofarinks, nazal kavite gibi anatomik bölgelere yerleşmediğinden bu örneklerde bakteri gösterilemez.

**Pamuk, *Bordetella* spp. için toksik etkiye sahiptir. Bu nedenle pamuk uçlu eküvyonla alınan örnekler kabul edilmez.

Örneklerin işlenmesi

Boğmaca tanısında örneklerin mikrobiyolojik incelemesi **Tablo 21** ve **Tablo 22**'de özetlenmiştir. Kültürlerden izolasyonu ve tanımlanmasına ilişkin -besiyerlerinin hazırlanması dâhil- ayrıntılı çalışma prosedürleri için de "UMS2014, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi, Cilt 1"in "Boğmaca" bölümüne başvurulmalıdır (*bkz.* Bölüm 4, Kaynaklar).

Kısaca bahsetmek gerekirse, boğmacanın laboratuvar tanısında **altın standart kültür yöntemi**dir. Nazofaringeal örneklerin boğmaca ve boğmaca benzeri hastalığa neden olan etkenler yönünden incelenmesinde moleküler yöntemler de önemlidir. Klinik belirti ve bulguların eşliğinde IS481 gen bölgesinin varlığı *B. pertussis, B. parapertussis, B. holmesii* veya *B. bronchiseptica* türleri ile enfeksiyona işaret eder. *B. parapertussis* enfeksiyonlarında IS1001 gen bölgesinin, *B. holmeseii*'de de hIS1001 gen bölgesinin tespit edilmesi tanı koydurucudur.

Pozitif PCR sonucu; boğmaca ile uyumlu klinik tablonun varlığı, tedaviye yanıt ve özellikle hastanın yaşının yer aldığı epidemiyolojik ölçütler göz önüne alınarak ve diğer laboratuvar sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmektedir.

Semptomatik ergen ve erişkinlerde akut ve konvalesan faz örneklerinde **4 kat titre artışı**nın gösterilmesi serolojik tanıda önemlidir. Ancak çift serum örneği alınamadığı durumlarda, tek **serum örneğinde anti-PT IgG antikor seviyesinin >100 IU/mL** olması akut enfeksiyon veya son zamanlarda geçirilmiş enfeksiyon lehine kabul edilir.

Nazofaringeal örneklerde DFA yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça düşüktür. Kültürde üreme saptanmamasına rağmen DFA ile alınan pozitif sonucun hastanın klinik/epidemiyolojik bilgileri ve diğer laboratuvar test sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi gerekir.

Ara raporlar ve panik değerler

- Kültürde *B. pertussis* üremesi
- Klinik bulguları olan hastada PCR ile IS481 ve pertussis toksin promoter gen bölgelerinin saptanması
- Semptomatik hastada tek serum örneğinde anti-PT IgG antikor seviyesinin ≥100 IU/mL saptanması
- Bir salgın olasılığının değerlendirilebilmesi için laboratuvarca kesin tanısı konan boğmaca vakasının ardından, yakın temaslı bireylerde semptomların gelişip gelişmediği izlenmeli; semptomatik temaslılardan alınan örnekler de laboratuvara gönderilmelidir.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Boğmaca incelemesinde sonuçlarının raporlanması [#]

Yöntem	Pozitif sonuç	Negatif sonuç
Kültür	*Bordetella pertussis* üredi.	*Bordetella pertussis* üre**me**di.
PCR	Pertussis toksin promoter gen bölgesi saptandı. IS481 gen bölgesi saptandı.	*Bordetella pertussis* spesifik gen bölgeleri saptan**ma**dı.
Serolojik inceleme	Çift serum örneğinde anti-PT IgG antikorlarında ≥4 kat titre artışı saptandı. Tek serum örneğinde anti-PT IgG antikorları ≥100 IU/mL saptandı.	Çift serum örneğinde anti-PT IgG antikorlarında ≥4 kat titre artışı saptan**ma**dı.

Lejyoner Hastalığı

Lejyoner hastalığı, *Legionella pneumophila* ve daha az sıklıkla diğer *Legionella* türü bakterilerin yol açtığı ağır seyirli sistemik bir enfeksiyondur. Etkenin **çevresel bir kaynaktan yayılarak salgın yapma olasılığı** olduğu için Lejyoner hastalığı halk sağlığı açısından da özellikle önemlidir.

Altta yatan hastalığa veya bağışıklık sisteminin durumuna göre fatalite hızı değişmekle birlikte, *toplum-kaynaklı* vakaların %10-20'si, *hastane-kaynaklı* vakaların ise %10-40'ı ölümle sonuçlanabilmektedir. Özellikle seyahat-ilişkili ve hastane-kaynaklı Lejyoner hastalığı formları dünyanın pek çok ülkesinde sürveyans sistemlerince izlenir. Ülkemizde de Lejyoner hastalığı **bildirimi zorunlu** hastalıklar arasında yer almakta olup hastalığın kontrolü amacıyla özel bir program yürütülmektedir.[1]

Bir **vaka tanısı konduğunda** hızla epidemiyolojik araştırmaların başlatılması ve kaynak olduğundan şüphelenilen su sisteminden alınan su örneklerinin *Legionella* varlığı açısından incelenmesi büyük önem taşır.

Lejyoner hastalığı **bildirimi zorunlu** bir hastalıktır. Vaka araştırması, çevresel sürveyans ve bildirim için Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu Yönetmeliğe[1], Rehbere[1] ve "Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Genelgesi (2015/18)"ne bakınız!

Örneklerin alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Lejyoner hastalığının tanısında solunum yolu örnekleri (balgam, BAL sıvısı, endotrakeal aspirat, akciğer biyopsi ve otopsi örnekleri) ile idrar ve serum alınır. Örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 24**'te özetlenmektedir. Daha ayrıntılı bilgi için "UMS2014, Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi"ne de başvurulabilir (*bkz.* Bölüm 4, Kaynaklar).

Örneklerin işlenmesi

Lejyoner hastalığının tanısı için klinik örneklere uygulanabilecek yöntemler **Tablo 21** ve **Tablo 22**'de; yöntemlerin avantajları ve dezavantajları ise **Tablo 25**'te özetlenmektedir.

Etkenin kültürlerden izolasyonu ve tanımlanması için -laboratuvarda besiyerlerinin hazırlanması dâhil- ayrıntılı çalışma prosedürleri de "UMS2014, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi, Cilt 1"in "Lejyoner Hastalığı" başlığı altında yer almaktadır (*bkz.* Bölüm 4, Kaynaklar).

Ara raporlar ve panik değerler

- Kültürde *Legionella* spp. üremesi
- Üriner antijen testi ile idrarda *L. pneumophila* serogrup 1 spesifik antijen saptanması
- ELISA veya IFA ile *L. pneumophila* serogrup 1 için çift serum örneğinde 4 kat titre artışının gösterilmesi.

1 "Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik (RG 13/05/2015-29354)", "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi-2015"

Tablo 24. Lejyoner hastalığı tanısında örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Etken	Örnek türü	Örnek alma özelliği	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar	Ret ölçütleri
L. pneumophila ve diğer *Legionella* türleri	Balgam	Mümkünse hasta oral florayı uzaklaştırmak için ağzını çalkalamalı veya gargara yapmalıdır. Derin bir inspirium ve ardından öksürük ile çıkarılmış, en az 3 mL balgam, uygun örnek kabına toplanır ve gönderilir.	≤2 saat OS; ≤48 saat +4°C	>48 saat, kuru buzda -70°C'de	*Legionella* üremesinde başarı için balgam kalitesi önemlidir. **Ancak** diğer pnömoniler için kalitesiz kabul edilen balgam örneklerinden de *Legionella* izole edilebildiği için, balgam, niteliği nasıl olursa olsun, laboratuvara gönderilir.	24 saat biriktirilmiş balgam örnekleri
	BAL sıvısı, ETA	Bronkoskopi ile en az 3 mL örnek uygun örnek kabına alınır. Örnek yıkayarak ya da aspire edilerek toplanır. Fırça 2-3 mL **distile su** içeren steril bir taşıyıcı tüpe konur.			Örneği klinisyen almalıdır. **Sodyum** *Legionella* üremesine **inhibitör etki yaptığı için** SF kesinlikle kullanılmaz. Bu nedenle örnek alınırken mutlaka distile su kullanılır.	SF kullanılarak alınan örnekler
	Akciğer biyopsi-otopsi örneği	Dokulardan 2-3 gr örnek alınmalı; steril, sızdırmaz kapaklı kaplara ayrı ayrı konmalıdır. Kurumayı önlemek için üzerine 1-2 mL **steril distile su** eklenir.	≤24 saat, OS		Örneği klinisyen almalıdır. **Sodyum** *Legionella* üremesine **inhibitör etki yaptığı için** SF kesinlikle kullanılmaz! Mikrobiyolojik inceleme için örnek, kesinlikle formalin içermemelidir.	Üzerine SF eklenmiş otopsi / biyopsi örnekleri ile formalin içeren örnekler
L. pneumophila SG1	İdrar	Steril şartlarda 3-5 mL idrar alınır. Steril, ağzı vida kapaklı bir tüpe konur ve gönderilir.	≤1 saat, OS	≤48 saat +4°C'de	İdrar hastalığın herhangi bir döneminde alınabilir. Yalnızca *L. pneumophila* SG1'i saptar. Duyarlılığı ve özgüllüğü %95'in üzerinde olan **referans kit**in kullanılması önemlidir.	Genel ret ölçütleri
L. pneumophila ve diğer *Legionella* türleri	Serum	Antikoagülansız, jelli vakumlu serum tüpüne 5 mL kan alınır; 5-6 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırılır. 15 dk bekledikten sonra santrifüj edilir ve laboratuvara gönderilir.	>48 saat (ya da jelsiz kan tüpüne alınmış ise) **serum kısmı** santrifüj sonrası hemen steril bir tüpe ayrılmalıdır.	4°C'de 5 gün, -20°C veya -70°C'de daha uzun süre	Serolojik inceleme için akut ve konvalesan faz için olmak üzere 4-6 hafta ara ile 2 kez serum örneği gönderilmelidir.	

Tablo 25. Lejyoner hastalığının tanısında uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi

Yöntem	Avantaj	Dezavantaj
Kültür[1]	Canlı bakteriyi saptar. %100 özgül Vakadan ve çevresel örneklerden elde edilen izolatlar karşılaştırılabilir.	Teknik olarak güç, duyarlılığı teknik yeteneğe bağlı Zaman alıcı Antibiyotik tedavisinden etkilenir.
Üriner antijen[2]	%100 özgül Hızlı sonuç verir.	Sadece *L. pneumophila* SG1'i saptar (vakaların %80'i) Çevresel izolatlar ile karşılaştırma şansı yok.
Serolojik inceleme[3]	%80-90 duyarlı %99 özgül	Çift serum örneği gerekli: akut ve konvalesan
DFA[4]	Patolojik örneklere uygulanabilir %95 özgül	%25-75 duyarlı
PCR[5]	Hızlı	Standardizasyon güçlüğü var. Onaylı test henüz yok.

[1] Kültürde *Legionella* spp. üremesi "**kesin tanı**" bulgusudur.
[2] İdrarda *Legionella* üriner antijen aranmasında **yalnızca** *L. pneumophila* SG1 için **referans kit** ile elde edilen pozitif sonuç "**kesin tanı**" bulgusu olarak kabul edilmektedir.
[3] *L. pneumophila* serogrup 1 için çift serum örneğinde 4 kat titre artışı "**kesin tanı**" bulgusudur.
[4] DFA pozitif bulunan vakaların **mutlaka** diğer testlerle doğrulanması gereklidir.
[5] *Legionella* spp. için pozitif PCR sonucu "**olası tanı**" bulgusudur. Vakanın başka testlerle doğrulanması gerekir.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Lejyoner hastalığı incelemesinde sonuçların raporlanması

Yöntem	Pozitif sonuç	Negatif sonuç	Olası pozitif sonuç
Kültür	*L. pneumophila* SG1 üredi. *L. pneumophila* SG2-14 üredi. *Legionella* spp. üredi. *L. micdadei/bozemanii/anisa/longbeach*… üredi.	*Legionella pneumophila* ya da diğer *Legionella* türleri üremedi	-
Üriner antijen testi (IKT)	İdrarda *L. pneumophila* SG1 antijeni saptandı.	İdrarda *L. pneumophila* SG1 antijeni saptanmadı	-
PCR	-	-	*Lmip* ve *Leg* gen bölgeleri saptandı.
Serolojik inceleme	*L. pneumophila* SG1 için çift serum örneğinde ≥4 kat titre artışı saptandı.	-	*L. pneumophila* SG1 **haricindeki** serogruplar ve diğer *Legionella* türleri için çift serum örneğinde ≥4 kat titre artışı saptandı. Tüm türler veya serogruplar için tek serum örneğinde antikor titresi ≥1/256 olarak saptandı.

Kaynaklar

1. Aşı ile Önlenebilir İnvaziv Bakteriyel Hastalıklar Sürveyansı Genelgesi (2016/23). Sağlık Bakanlığı, 2016, Ankara. http://www.hsgm.saglik.gov.tr/dosya/mevzuat/genelge/Asi_Ile_Onlenebilir_invaziv_Bakteriyel_Hastaliklar_Ustyazi_ful.pdf (erişim t: 11.10.2021).
2. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği (RG 30/5/2007-26537). Sağlık Bakanlığı, 2007, Ankara. https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=11347&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5 (erişim t: 11.10.2021).
3. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (RG 02/04/2011-27893). Sağlık Bakanlığı, 2011, Ankara. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm (erişim t: 11.10.2021)
4. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (RG 04/05/2019-30764). Sağlık Bakanlığı, 2019, Ankara. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/05/20190504-1.htm (erişim t: 11.10.2021)
5. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (RG 22/04/2020 – 31107). Sağlık Bakanlığı, 2020, Ankara. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/04/20200422-7.htm (erişim t: 11.10.2021)
6. Bulaşıcı Hastalıkların İhbar ve Bildirim Sistemi Genelgesi (2015/18). Sağlık Bakanlığı 2015, Ankara. http://www.hsgm.saglik.gov.tr/dosya/mevzuat/genelge/2015_18.pdf (erişim t: 11.10.2021).
7. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Sağlık Bakanlığı 2005, Ankara. https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/1442,bhastaliktedavipdf.pdf?0 (erişim t: 11.10.2021).
8. Difteri Saha Rehberi. Sağlık Bakanlığı, 2003, Ankara.
9. Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi (2009/17). Sağlık Bakanlığı, 2009, Ankara. https://www.saglik.gov.tr/TR,11137/genisletilmis-bagisiklama-programi-genelgesi-2009.html (erişim t: 11.10.2021).
10. Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, ISBN 978-975-590-610-2. 2016, Ankara. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/Lejyoner_Hastaligi_Rehberi.pdf (erişim t: 11.10.2021).
11. Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik (RG 13/05/2015-29354). Sağlık Bakanlığı, 2015, Ankara. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/05/20150513-4.htm (erişim t: 11.10.2021).
12. Seyahat-İlişkili Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Genelgesi (2001/34). Sağlık Bakanlığı, 2001, Ankara. http://www.hsgm.saglik.gov.tr/dosya/mevzuat/genelge/Seyehat_Ikili_Lejyoner_Hastal_Kontrol_Program_Genelgesi.pdf (erişim t: 11.10.2021).
13. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, ISBN 978-975-590-489-4. 2014, Ankara. (erişim t: 02.04.2022) https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/UMS_LabTaniRehberi_Cilt_1.pdf (Bildirimi zorunlu bakteriyel enfeksiyonların izolasyonu ve tanımlanması)
14. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 964, ISBN 978-975-590-511-2. 2014, Ankara. (erişim t: 02.04.2022) https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/sahada_calisan_hekim_lab_rehberi.pdf

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 5

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN MİKOBAKTERİYOLOJİK İNCELEMESİ

TB tanısında laboratuvarın düzenlenmesi

Tüberküloz tanısı sıklıkla klinik, epidemiyolojik, mikrobiyolojik ve histolojik verilerin bir arada yorumlanması ile konulmaktadır. Bu yüzden farklı disiplinler arasındaki iletişim ve koordinasyonun en üst düzeyde olması son derece önemlidir.

Biyogüvenliğe özel düzenlemeler

Tüberküloz şüphesi ile gelen **tüm örneklerin** çalışılması sırasında önlük ve eldiven giyilmeli, **solunum maskesi** (N95, ffp2 veya ffp3 maske) takılmalıdır.

Etkenin aerosol yoldan yayılma özelliği nedeniyle tüberküloz laboratuvarları uygulanan işlemler potansiyel aerosol oluşturma riskinin büyüklüğüne uygun olarak pratikte üç farklı düzeyde değerlendirilir ve alınması gereken önlemler de bu risk düzeylerine göre belirlenir. Düzey I, II ve III tüberküloz laboratuvarlarının fiziki koşulları ve gerekli donanımları "Tüberküloz Laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Tebliğ"de (RG 25/10/2015 – 29513) yer almaktadır.

Düzey I tüberküloz laboratuvarları

- *Direkt* klinik örnekten mikroskopi ya da moleküler test yapan **düşük riskli** laboratuvarlardır.
- Biyogüvenlik Kabini (BGK) tercihen kullanılabilir, ancak zorunlu değildir.
- Eldiven, önlük ve önü kapalı laboratuvar terliği/ayakkabısı veya galoş kullanılmalıdır. Ayrıca biyogüvenliği arttırmak için örnek işleme sırasında solunum maskesi (N95, ffp2 veya ffp3 maske) kullanılması önerilir.

Düzey II tüberküloz laboratuvarları

- Mikroskopi, kültür ve/veya moleküler test için klinik örneği işleyen (dekontaminasyon, homojenizasyon ve konsantrasyon uygulayan) **orta riskli** laboratuvarlardır.
- Sınıf IIA BGK bulunmalı, aerosol oluşumu potansiyeli olan tüm işlemler BGK'de yapılmalıdır.
- Eldiven, önlük ve önü kapalı laboratuvar terliği/ayakkabısı veya galoş kullanılmalıdır. Ayrıca biyogüvenliği arttırmak için örnek işleme sırasında solunum maskesi (N95, ffp2 veya ffp3 maske) kullanılması önerilir.

Düzey III tüberküloz laboratuvarı

- Tür ayrımı, ilaç duyarlılık testleri ve/veya moleküler test için üremiş kültürden işlem yapan **yüksek riskli** laboratuvarlardır.
- Sınıf IIB veya dış ortama bağlantılı sınıf IIA BGK bulunmalı, tüm işlemler BGK'de yapılmalıdır.
- Eldiven, önü kapalı önlük/tulum, solunum maskesi (N95, ffp2 veya ffp3 maske) ve önü kapalı laboratuvar terliği/ ayakkabısı kullanılmalıdır.
- Ayrıca bronkoskopi, açlık mide suyu (AMS) ve indüklenmiş balgam gibi örneği alacak sağlık personeli eldiven, önlük ve solunum maskesi (N95, ffp2 veya ffp3 maske) kullanmalıdır.

TB tanısında örnek yönetimi

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Akciğer tüberkülozunun tanısında kullanılan klinik örnekler ile bu örneklerin alınması, taşınması ve saklanmasına ilişkin bilgiler **Tablo 26**'da özetlenmektedir.

Örneklerin işlenmesi

Akciğer tüberkülozunun tanısı bakteriyolojiktir. Her hastadan en az iki, ideali üç, akciğer örneğinin alınması ve bunlara mikroskopi ve kültür yapılması esastır (*bkz.* Tüberküloz Laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Tebliğ; RG 25/10/2015 – 29513). Mikobakteriyel etkenlerin bakteriyolojik incelemesinden önce normal flora ile kontamine klinik örnek; örnekteki diğer bakterilerin elimine edilmesi (dekontaminasyon), balgam veya akciğer örneğinde ise mukusun eritilmesi (homojenizasyon) ve örneğin santrifüj ile yoğunlaştırılması (konsantrasyon) işlemlerine alınır (**Tablo 27**).

Dekontaminasyon-Homojenizasyon-Konsantrasyon (DHK) işleminin doğruluğu laboratuvarın kültürdeki kontaminasyon oranı ile takip edilebilir.

Balgam nasıl çıkarılır?

Hastadan balgam örneklerini ev veya hastane içi gibi kapalı alanda değil, balkon veya bahçe gibi açık alanda vermesi istenir.

Hastaya **3 adet steril örnek kabı** verilir (hastaya bir kap verip ertesi gün örneği getirdiğinde yeni kabı vermek daha uygun olabilir). Hastaya aşağıdaki adımlar tarif edilmelidir:

1. *Sabah aç karnına önce dişlerinizi fırçalayın veya ağzınızı iyice çalkalayın.*
2. *Bir bardak ılık su için.*
3. *Örnek kabının ağzını dikkatli bir şekilde açın, kapağı uygun, temiz bir yere koyun.*
4. *Derin bir nefes alıp bir süre nefesinizi tutuktan sonra derin ve kuvvetlice öksürerek balgamınızı doğrudan kabın içine çıkarın.* Bu işlemi açık havada yapmanız önerilir.*
5. *Örnek kabının kapağını dikkatli bir şekilde sıkıca kapatın.*
6. *Bu şekilde, 3 gün üst üste her sabah ayrı bir örnek kabına balgam çıkarın.*
7. *Her kabı aynı gün mümkün olan en kısa sürede laboratuvara getirin.*

* ***Balgam** ve **tükürük farkını** tam olarak bilmeyen hastalar yanlışlıkla balgam çıkarmadan kaba tükürmesinler diye, hastaya "balgamını kaba tükür" den**me**melidir.*

Tanıda **kültür altın standart**tır. Tüberküloz basilinin üreme şansını artırmak amacıyla en az bir sıvı bir de katı besiyerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Tanıda ayrıca moleküler testlerden ve *M. tuberculosis* kompleks'e (MTBC) karşı oluşan bağışıklık yanıtını değerlendiren immünolojik testlerden de faydalanılır. Akciğer TB tanısında kullanılan testler, avantaj-dezavantajları, yöntem çeşitleri ve değerlendirme sırasında dikkat edilecek hususlar **Tablo 28**'de özetlenmiştir. Mikobakteri laboratuvarına gönderilen örneklerin tanı akış şeması da **Şekil 4**'te görülebilir.

Tablo 26. Akciğer TB tanısında kullanılan klinik örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Örnek türü	Örnek alma özellikleri	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Özel durumlar	Ret ölçütleri	Not
Balgam	Tercihen üç ardışık günde aç karnına en az 3 mL alt solunum yollarından gelen sabah ilk balgam örneği	Tek kullanımlık, steril vidalı kapaklı, sızdırmaz tüpte, 2 saat, OS	2 saat OS; 24 saat +4°C'de		Tükürük örnekleri 24 saat biriktirilen balgam örnekleri	Hastadan tekrar balgam almanın olanaksız olduğu durumlarda, miktar ve kalite açısından uygun olmayan klinik örnek kabul edilip işleme alınmalı, ancak sonuç negatif bulunduğunda bu durum "yetersiz/uygun olmayan klinik örnek" şeklinde raporda belirtilmelidir.
İndüklenmiş balgam	Nebülizatör yardımı ile %3-10 hipertonik tuzlu su 15-30 dk boyunca hastaya solutulduktan sonra, derin ve kuvvetli öksürük ile gelen yaklaşık 10 mL balgam örneği	Tek kullanımlık, steril vidalı kapaklı, sızdırmaz tüpte, 2 saat, OS	2 saat OS; 24 saat +4°C'de	Balgam çıkaramayan ayaktan hastalara uygulanır.		İndüklenmiş balgam, görünüm açısından tükürüğe benzediğinden numunenin tükürük zannedilerek reddedilmemesi için örnek türünün "indüklenmiş balgam" olduğu belirtilmelidir.
Açlık mide suyu	Üç ardışık günde, sabah 8-10 saatlik açlığı takiben, hasta yatağından kalkmadan, gastrik tüp ile 25-50 mL steril su veya SF verilip aspire edilen en az 5 mL, en fazla 15 mL örnek	Tek kullanımlık, steril vidalı kapaklı, sızdırmaz tüpte, mümkün olan **en kısa süre** içerisinde, OS	1 saat OS; >1 saat ise 100 mg sodyum karbonat veya %4 lük NaOH ile nötralize edilerek OS	Senil (nörolojik hastalık, koma hali vs. nedenlerle uyum gösteremeyen, öksüremeyen, kooperasyonu bozuk, düşkün hastalar) yatan hastalar, 3 yaşından küçük çocuklar, indüklenmiş balgam alınamayan hastalar için uygulanır.	Nötralize edilmeden 3 saatten fazla bekletilen örnek	Mide sıvısındaki asidik pH, bakterilere zarar verebileceğinden 5-10 mL klinik örnek başına yaklaşık 100 mg sodyum karbonat ile karıştırılması önerilir.
Bronş lavajı örneği, BAL sıvısı, fırçalama veya yıkama örneği, ETA, TA	Bronkoskopi eşliğinde alınan en az 3 mL yıkama örneği veya 3 mL SF içerisine alınan fırçalama örneği	Tek kullanımlık, steril vidalı kapaklı, sızdırmaz tüpte, 2 saat, OS	2 saat OS; 24 saat +4°C'de	Özellikle immündisfonksiyonu ve TDM şüphesi olan hastalar için uygulanır.		
Doku biyopsi örneği	Aseptik şartlarda 2-3 mL steril SF içerisine alınan en az 1g akciğer biyopsi veya ince iğne aspirasyon örneği	Tek kullanımlık, steril vidalı kapaklı, sızdırmaz tüpte, mümkün olan **en kısa süre** içerisinde, OS	2 saat OS; 24 saat +4°C'de		Fiksatif (alkol, formol, vb.) içerisinde gelen örnekler, Parafin kaplı örnekler	Sürüntü örneğinin yollandığı durumlarda klinisyen negatif sonucun yetersiz örnekten kaynaklanabileceği hususunda uyarılmalıdır.

Tablo 27. Akciğer TB tanısında kullanılan klinik örneklerin işlenmesi

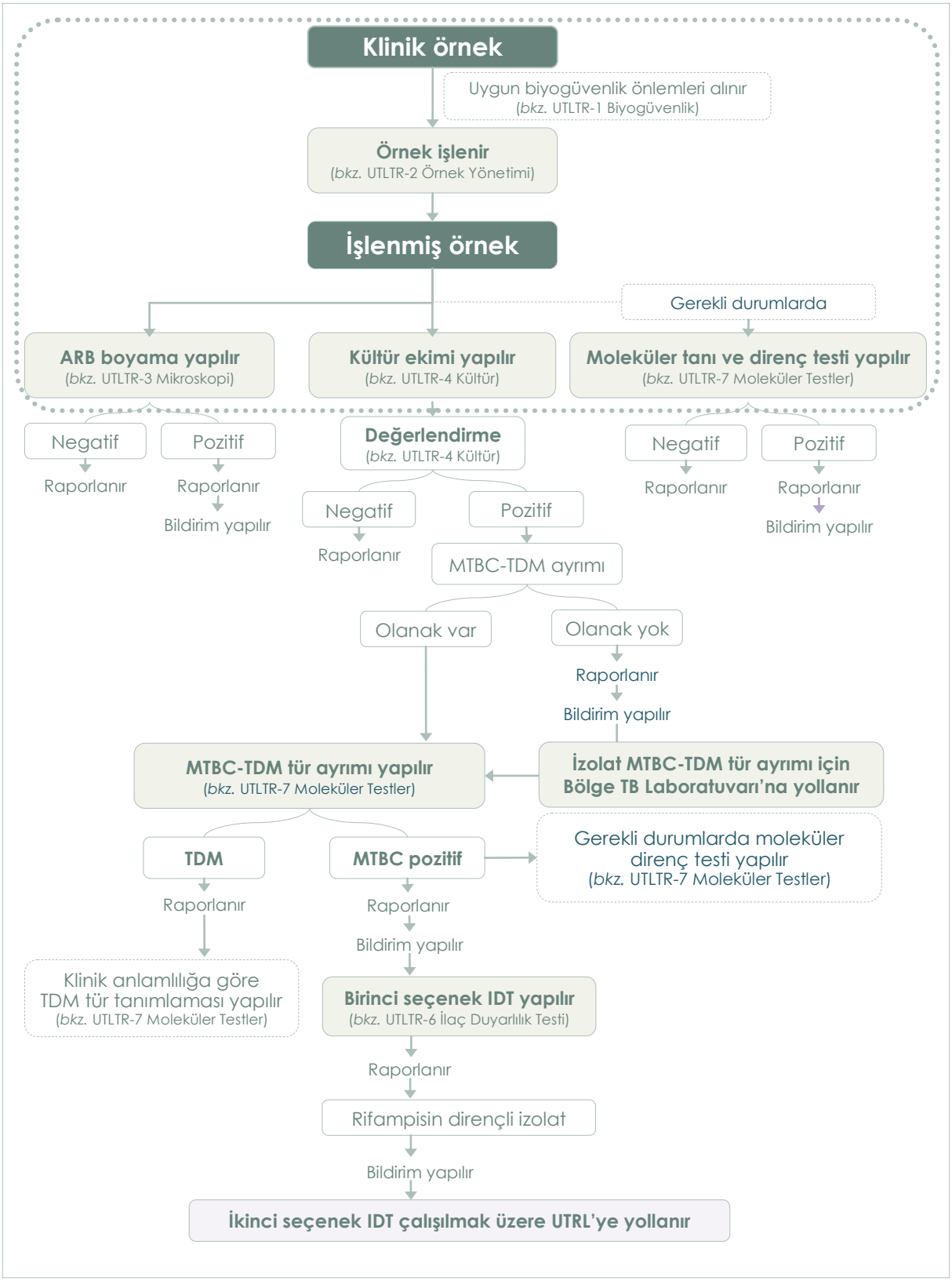
Örnek türü	Örnek işleme	Örnek işleme yöntemleri
Flora ile kontamine örnek Balgam İndüklenmiş balgam Açlık mide suyu Bronkoskopi eşliğinde alınan örnekler	Dekontaminasyon/ homojenizasyon / konsantrasyon (DHK)	N-asetil-L-sistein (NALC)-NaOH, NaOH, modifiye Petrof, Oksalik asit yöntemi
Steril örnek Doku biyopsi örneği	Steril havanda parçalanıp santrifüjleme ile konsantre edilir	-

Tablo 28. Akciğer TB tanısında kullanılan testler, yöntemler ve değerlendirme

Test	Avantaj - Dezavantaj	Örnek türü	Yöntem çeşitleri	Yönteme göre avantaj - dezavantaj	Değerlendirme
Mikroskopi*	Kolay Hızlı Ucuz Duyarlılık %25-80 Canlı-ölü basil ayrımı yapmaz *M. tuberculosis* kompleks – TDM tür ayrımı yapmaz	Klinik örnek İşlenmiş örnek	EZN	Isıtma gerektiğinden daha zahmetli	Mavi zeminde kırmızı pembe basiller aranır. Mümkünse aynı gün, en geç 24 saat içerisinde raporlanmalıdır. Pozitif olan örneklerin bildirimi yapılır.
			Kinyoun	Isıtma gerekmiyor, ancak duyarlılığı EZN'ye göre düşük	
			Florokrom boyama	25'lik objektifle daha hızlı arama Yalancı pozitiflik olasılığı nedeniyle pozitif örneklerin EZN veya Kinyoun boyama yöntemi ile doğrulanması gerekir.	Siyah zeminde floresan veren basiller aranır. Mümkünse aynı gün, en geç 24 saat içerisinde raporlanmalıdır. Pozitif olan örnekler EZN veya Kinyoun boyama yöntemi ile doğrulandıktan sonra bildirimi yapılır.
Kültür	**Altın standart** Zahmetli Yavaş Pahalı Canlı basiller saptanır Üreyen bakterilerden *M. tuberculosis* kompleks – TDM tür ayrımı yapılır Üreyen bakterilerden ilaç duyarlılık testi çalışılır	İşlenmiş örnek	Yumurta bazlı besiyerleri: Löwenstein Jensen Ogawa	Ucuz, raf ömrü 6 ay Besiyerini hazırlamak zahmetli Çoğu mikobakterilerin üremesi için uygun Üreme olmayanları raporlamak için 8 hafta beklenmelidir.	• Kültürdeki üremeler ARB boyama ile doğrulanmalı, ardından *M. tuberculosis* kompleks - TDM tür ayrımı yapılarak hemen raporlanmalı ve bildirimi yapılmalıdır. • ARB negatif görülen örnekler kanlı agara ekilip kontaminasyon kontrolü yapılmalıdır. • Kültür negatif sonuçlar yumurta bazlı besiyerleri için 8 haftada, otomatize sistemler için 6 haftada verilmelidir.
			Agar bazlı besiyerleri: Middlebrook 7H10 Middlebrook 7H11	Plaklarda bakteriyi değerlendirmek kolay Besiyerini hazırlamak ve idamesi zahmetli Üreme olmayanları raporlamak için 6 hafta beklenmelidir.	
			Otomatize sistemler	Pahalı Üremede %4-6 artış sağlar Üreme olmayanları raporlamak için 6 hafta beklenmelidir.	
MTBC-TDM tür ayrımı	*M. tuberculosis* kompleks'in tanımlanması uygun tedavi kararını belirlediği için hasta yönetiminde önemli bir basamak oluşturmaktadır.	Kültür izolatı	Fenotipik (biyokimyasal) testler	Zahmetli ve geç sonuç verir	Üreyen kültür izolatı aynı gün *M. tuberculosis* kompleks - TDM tür ayrımı yapılarak raporlanmalıdır
			IKT testleri	Hızlı ve ucuz	
			Genotipik testler	Hızlı ama pahalı	
Tür tanımlama	*M. tuberculosis* kompleks ve TDM türleri belirlenir	Kültür izolatı	Fenotipik (biyokimyasal) testler	Zahmetli, geç sonuç verir	
			HPLC	Zahmetli, donanım pahalı	
			Genotipik testler	Hızlı, pahalı	
Moleküler tanı*	Hızlı Pahalı Canlı-ölü basil ayrımı yapmaz	Klinik örnek İşlenmiş örnek Kültür izolatı	Real-time PCR sistemleri	Duyarlılık ve özgüllük oldukça yüksek	72 saat içerisinde raporlanmalıdır.*
İGST	Latent tüberküloz enfeksiyonu ile aktif hastalık ayırımı yapmaz	Özel tüplere alınan kan örneği	ELISA tabanlı testler	Özel tüp gerektirir Zahmetli, pahalı	Latent tüberküloz enfeksiyonu ile aktif hastalık ayırımı yapmaz. Pozitif sonuç tüberküloz olarak yorumlan**ma**malıdır.
		EDTA'lı tüpe alınan kan örneği	ELISPOT tabanlı testler	Özel tüp gerektirmez Zahmetli, pahalı	

Kısaltmalar – HPLC, high performance liquid chromatography (yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
* Bütün örneklerin kültürü de yapılmalıdır. Sonuçlar mutlaka kültür ile doğrulanmalıdır.

TB tanısında iş akış şeması



Şekil 4. Mikobakteri laboratuvarına gönderilen örneklerin tanı akış şeması: UMS2014, Tüberküloz Tanı Rehberinden (UTLTR) alınmıştır.

Ara raporlar ve panik değerler

Tüberküloz tanısında her test, testlerin sonuçlanma süreleri çok farklı olduğundan kendi başına raporlanmalıdır. Laboratuvar **Tablo 29**'da listelenmiş olan test sonuçlarını elde ettiği durumda bunları "Panik değer" olarak kabul etmeli, klinisyene ve il sağlık müdürlüğüne bilginin ulaştığından emin olmalıdır.

Tablo 29. Akciğer TB tanısında kullanılan testler için panik değerler

Yöntem	Panik değer
Mikroskopi	ARB pozitif basil görülmesi
Kültür	ARB pozitif basil üremesi
MTBC-TDM tür ayrımı	Kültürdeki üremenin *Mycobacterium tuberculosis* kompleks olarak tanımlanması
Moleküler tanı testleri	*Mycobacterium tuberculosis* kompleks DNA'sının saptanması
İlaç duyarlılık testi	*Mycobacterium tuberculosis* kompleks için rifampisine direnç saptanması

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Mikroskobik incelemede en az 300 saha taranır, sonra sonuç raporlanır. Mikroskopinin nasıl değerlendirileceği ve raporlanacağı aşağıda "Mikroskopi sonuçlarının raporlanması" başlığı altında verilmiştir. Bu değerlendirme sırasında hatalı sonuçların olabileceği akılda tutulmalıdır.

Kültür değerlendirilirken üremenin MTBC, TDM ve kontaminant bakteriler tarafından oluşma olasılığına karşın üreme öncelikle ARB boyama ile teyit edilmeli, ARB pozitifliğinin saptanması durumunda MTBC-TDM tür ayrımı da yapılarak raporlanmalıdır. TDM olarak tanımlanan izolatlar her zaman klinik açıdan anlamlı olmayabilir. TDM'ler raporlanırken klinik anlamlılık göz önünde bulundurulmalıdır. Her hastaya ait MTBC olarak saptanan ilk izolat ilaç duyarlılık testine (İDT) alınmalıdır. Laboratuvarın MTBC-TDM tür ayrımı ya da İDT yapma kapasitesi yoksa izolatları üst merkeze göndermelidir. Laboratuvar, raporunda, testi hangi yöntemle çalıştığını belirtmelidir.

Mikroskopi sonuçlarının raporlanması

Mikroskobik değerlendirme	Raporlama	Yorum
300 alanda hiç basil görülmemesi	Aside dirençli basil görülmedi.	Mikroskopinin duyarlılığı %25-85 arasında değişmektedir. Negatif sonuç hastanın tüberküloz olmadığı anlamına gelmez. Tüm örneklerin kültürü yapılmalıdır.
300 alanda 1-2 basil görülmesi	-	Aynı örnekten yeni preparat hazırlanarak değerlendirilir. İkinci sonuç da aynı ise gerekirse yeni örnek gönderilmesi önerilir.
100 alanda 3-9 basil görülmesi	1(+) pozitif aside dirençli basil görüldü.	ARB pozitifliği *M. tuberculosis* komplekse özgül değildir. TDM ve bazı bakterilerin de ARB(+) basil görüntüsü verebileceği akılda tutulmalıdır.
10 alanda 1-9 basil görülmesi	2 (++) pozitif aside dirençli basil görüldü.	
Her alanda 1-9 basil görülmesi	3 (+++) pozitif aside dirençli basil görüldü.	
Her alanda 9'dan fazla basil görülmesi	4 (++++) pozitif aside dirençli basil görüldü.	

Mikroskobik değerlendirmede **yanlış pozitiflik nedenleri**

Boyama sırasında yaymaların birbirine temas etmesi - Boyama tezgâhı kullanın ve lamları temas ettirmeyin.

Yemek artıkları - Yeni örnek isteyin, örnek ağız iyice çalkalandıktan sonra verilsin.

Boya artıkları - Taze boya hazırlayın, her kullanımda boyaları süzün.

Mikroskop objektifinin kirlenmesi - Her yayma incelemesinden sonra objektifi temizleyin.

Musluk suyunda bulunabilecek saprofit TDM'ler - İndüklenmiş balgam alırken hazırlanan tuzlu suda, nebulizatörün dezenfeksiyonunda, bronkoskopi sırasında ya da boyamaların hazırlanması ve yaymaların yıkanması için çeşme suyu kullanmayın.

Örneğe bağlı durumlar - AMS örneklerinde saprofit TDM'lerin bulunabileceğini unutmayın.

Çalışma bankosu, BGK, distile su cihazının kontaminasyonu - Düzenli olarak çalışma ortamını ve donanımı dekontamine edin.

Mikroskobik değerlendirmede **yanlış negatiflik nedenleri**

Çok ince hazırlanmış yayma - Klinik örneğin DHK işlemini dikkatle yapın ve yaymayı uygun kalınlıkta hazırlayın.

Yayma alanının çok geniş olması - Yaymayı 1× 2 cm^2 olarak hazırlayın.

Boyanmamış veya zayıf boyanmış basiller - Florokrom boyama yapılıyorsa yaymaları UV veya güneş ışığından uzak tutun.

Slayt ısıtıcı sıcaklığının yanlış olması, fiksasyonun hatalı yapılması – Isıtıcıyı 65-75°C'de tutun, haftalık kontrol edin.

Yanlış okuma - Yaymaların %20'si deneyimli ikinci bir göz tarafından değerlendirilmelidir.

Boyaların son kullanma tarihlerinin geçmesi, yanlış saklama koşulları - Stok takibi yapın, saklama koşullarını gözden geçirin.

Tüberküloz dışı mikobakterilerin (TDM) klinik anlamlılığı

Hastanın klinik durumu	• TDM için altta yatan hastalık, immün sistemi baskılayan bir hastalığın varlığı ve hastalarda deri bütünlüğünü bozan aletlerin bulunması risk faktörüdür.
Tespit edilen mikroorganizmanın hastalandırıcılık potansiyeli	• Bazı türler (*M. gordonae, M. xenopi, M. fortuitum, M. mucogenicum, M. terrae* kompleks, vb.) sıklıkla çevresel patojendir. • Ancak bunların varlığı diğer maddeler ile birlikte değerlendirilmelidir.
Klinik örneğin türü ve kontamine olma olasılığı	• Sıklıkla çevresel patojen olan bir etkenin (örnek; *M. mucogenicum*) balgamda tespit edilmesi kontaminasyonu düşündürürken, venöz kateterli bir hastanın kanında tespit edilmesi sepsisle ilişkili olabilir.
ARB pozitiflik derecesi	• Balgamda ARB pozitifliğinin yüksek olması anlamlı olarak kabul edilirken diğer örnek türleri için böyle bir özellik aran**ma**malıdır.
Kültürdeki üreme sayısı	• Balgam için birden fazla örnekte kültürde üreme olması • Steril alanlardan alınan örneklerde tek bir kültürde üreme olması anlamlıdır.

Aşağıda sırasıyla kültür sonuçlarının raporlanması ile *M. tuberculosis* kompleks tanısında kültür dışında kullanılan moleküler testlerin ve IGST'nin raporlanması özetlenmektedir.

Mikobakteri kültür sonuçlarının raporlanması

Kültür sonucu	Doğrulama*	Tür tanımlaması sonucu	Raporlama	Yorum
Üreme yok	ARB Negatif	Yok	Üreme olmadı.	
Üreme var	ARB Negatif	Kanlı agarda veya Gram boyamada mikobakteri dışında bir bakteri tespit edilmesi	Kontaminant bakteri üredi. Yeni örnek gönderilmesi uygundur.	Klinik örnekten veya kültürdeki üremeden tekrar DHK yapılmasına rağmen kontaminant bakteri üremesi durumunda raporlanmalıdır.
Üreme var	ARB Pozitif	MTBC -TDM tür ayrımı yapan testler ile üreyen bakterinin *M. tuberculosis* kompleks olduğunun belirlenmesi	*Mycobacterium tuberculosis* kompleks üredi.	
Üreme var	ARB Pozitif	MTBC -TDM tür ayrımı yapan testler ile üreyen bakterinin *M. tuberculosis* kompleks ol**ma**dığının belirlenmesi	Tüberküloz dışı mikobakteri üredi.	TDM tespit edilmesi durumunda raporlamadan önce klinik anlamlılık değerlendirilmelidir.
Üreme var	ARB Pozitif	Tüberküloz dışı mikobakterinin ileri tanımlama testleri ile türünün belirlenmesi	*Mycobacterium* ….. (tür adı) üredi.	

* Birlikte değerlendirilen mikroskopi sonucu ile doğrulama

Moleküler tanı testlerinin raporlanması

Moleküler tanı	Sonuç	Raporlama	Yorum
PCR testleri	Pozitif	*M. tuberculosis* kompleks DNA'sı saptandı.	Moleküler tanı testleri tüberküloz hastalığının ilk tanısında kullanılır, hastalığın tedavi takibinde kullanılmamalıdır. Pozitif sonuç canlı basili göstermez. Kültür ile doğrulanmalıdır.
	Negatif	*M. tuberculosis* kompleks DNA'sı saptanmadı.	Negatif sonuç mikobakteriyi dışlamaz. Kültür ile doğrulanmalıdır.

İnterferon gama salınım testlerinin (IGST) raporlanması

İGST sonucu	Raporlama	Yorum
Pozitif	İnterferon gama salınım testi pozitif saptandı.	Kişinin *M. tuberculosis* ile karşılaştığını gösterir. Latent tüberküloz enfeksiyonu ile akut hastalık ayrımını yapmaz.
Belirsiz*	İnterferon gama salınım testi belirsiz değer saptandı.	Testin sonucunun belirsiz olduğunu gösterir (bireyin bağışıklık sisteminin baskı altında olmasına bağlı olabilir). Yeni kan örneği ile tekrar edilebilir.
Negatif	İnterferon gama salınım testi negatif saptandı.	Negatif sonuç tüberküloz enfeksiyonunu ekarte ettirmez. Akciğer tüberkülozunda altın standart tanı testi kültürdür.

** indeterminate result*

Kaynaklar

1. ATS. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(4 Pt 1): 1376-95.
2. CLSI. Laboratory Detection and Identification *Mycobacteria*; Approved Guideline. CLSI document M48-A, Vol. 28, No. 17, Pennsylvania, USA.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on TB laboratory diagnostic methods in the European Union. Stockholm, ECDC. 2016.
4. Gürol Y, Çelik G. Indeterminate quantiferon TB Gold in Tube results from Turkey, *Tuberk Toraks* 2016;64(2):182-3, doi: 10.5578/tt.9884.
5. Kent PT, Kubica GP. Division of laboratory training and consultation laboratory program Office. Public health mycobacteriology, a guide for the level III laboratory, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia. 1985.
6. Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control Technical Report, 2011.
7. *Mycobacteria.* Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby, Texas. 2002.
8. Tuberculosis – Information or Health Care Providers. 4th ed., Ontario Lung Association. 2009.
9. Tüberküloz Laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Tebliğ (RG 25/10/2015-29513).
10. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Ulusal Tüberküloz Laboratuvar Tanı Rehberi (UTTR). Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Ankara – 2014. (erişim t: 11.10.2021) https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/TuberkulozRehberi.pdf
11. World Health Organization. Services in tuberculosis control. Part II. Microscopy. Geneva: WHO; 1998.
12. World Health Organization. Services in tuberculosis control. Part III. Culture. Geneva: WHO; 1998.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.

BÖLÜM 6

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN VİROLOJİK İNCELEMESİ

Genel özellikler

Solunum virüsleri damlacık enfeksiyonu ile bulaşıp hücreden hücreye geçerek alt solunum yoluna yayılırlar. Dolayısıyla, solunum yolu enfeksiyonlarında tüm solunum yolu örnekleri kullanılabilir. Ancak, nükleik asit testlerinde özellikle alt solunum yolu enfeksiyonlarında etkenin saptanma olasılığı, orofarinks sürüntü örneklerinde (%54.2) nazofarinks sürüntüsü (%73.3) veya nazofarinks yıkama sıvısına (%84.9) göre daha az bulunmuştur.

Sürüntü örneklerinin viral etkenler açısından incelenmesi için mutlaka dacron eküvyon ve viral transport besiyeri kullanılmalıdır. Tahta çubuklu pamuk eküvyonlar virüslerin replikasyonunu olumsuz yönde etkiledikleri için kesinlikle kullanılmamalıdır.

Tablo 30. Virolojik incelemeler için solunum yolu örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü	Örnek alma özelliği	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Viroloji laboratuvarı örnek ret ölçütleri
Nazofarinks sürüntüsü Burun ve boğaz sürüntüsü	Klinik örneklerin alınmasında dacron eküvyon kullanılır. Eküvyon, örnek alınan bölgeye bastırılarak 360 derece döndürülür ve mümkün olduğu kadar epitel hücresi toplamaya özen gösterilir.	Sürüntü örnekleri VTM içinde soğuk zincir kurallarına uyularak en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılır.	Örnekler en fazla 1 saat oda ısında kalabilir ve 2 gün boyunca +4°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa -80°C'ye kaldırılmalıdır. Zarflı virüsler tahrip olacağı için örnekler kesinlikle -20°C'ye konul**ma**malıdır. Özellikle; örneklere kültür işlemi uygulanacaksa örneğin birçok kez dondurup çözdürülmesi, testi olumsuz yönde etkilemektedir.	1. Dacron eküvyon ve VTM ile gelmeyen ve soğuk zincir kuralları uygulanmayan örnekler, 2. Formaldehit ile muamele edilmiş patolojik kesitler (viral etkenler olumsuz etkilendiği için), 3. Mukus, püy veya kan içeren sürüntü örnekleri (testlerin çalışmasını olumsuz yönde etkilediği için), kabul edilmez.
Nazofaringeal yıkama ve aspirasyon sıvısı Boğaz çalkantı suyu Nazal yıkama ve aspirasyon sıvısı Balgam, TA, BAL	Usulüne uygun olarak alınır.	Steril boş tüp/kap içinde soğuk zincir kurallarına uyularak en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılır.		
Doku ve biyopsi örnekleri		Biyopsi ve doku örnekleri steril SF veya VTM içinde gönderilebilir.		

Tablo 31. Etkene göre örneğin alınma yeri ve zamanı*

Örnek	Etken	Örnek alma zamanı
Nazofaringeal sürüntü, nazofaringeal yıkama ve aspirasyon sıvısı, burun ve boğaz sürüntüsü, nazal yıkama ve aspirasyon sıvısı, balgam, TA, BAL, doku ve biyopsi örnekleri	İnfluenza virüs tip A & B	Semptomların ilk 3 günü**
	RSV	Semptomların ilk 3 günü
	Adenovirus	Semptomatik hastalık sırasında
	Parainfluenza virüsleri tip 1-4	Semptomların ilk 3 günü
	Human metapneumovirus	Semptomların ilk 3 günü
	Rhinovirus	Semptomların ilk 2 günü
	Coronavirus	Semptomların ilk 3 günü
	Human Bocavirus	Semptomatik hastalık sırasında
	SARS-CoV-2	Semptomların ilk 7 günü***

* Hastalarda klinik semptomlar geliştikten sonra örneğin semptomların kaçıncı gününde alındığı, örnekte bulunan etken DNA veya RNA miktarını belirlediği için hem hücre kültürü hem de NAAT duyarlılığı açısından önemlidir.

** Salgın dönemlerinde örnekler klinik **semptomların başlangıcından hemen sonra** alınmalıdır. Çocuklarda önerilen günden daha uzun sürede virüs saptanabilir. İnfluenza A virüsünün alt tipine göre bu süre değişiklik gösterebilir; *örn.*, H5N1 enfeksiyonlarında süre 7 güne uzayabilir.

***Salgın dönemlerinde 2. haftadan itibaren nazofaringeal sürüntü örneklerinde negatifleştiği için alt solunum yolu örneklerinde saptanabilir.

Tablo 32. Klinik tanıya göre en uygun örnekler

Klinik tanı	Seçilecek örnekler	Diğer örnekler
Bronşit/Bronşiolit	Nazofaringeal sürüntü, yıkama veya aspirasyon sıvısı	BAL, balgam, boğaz sürüntüsü
Soğuk algınlığı, ÜSYE, Krup		Boğaz veya burun sürüntüsü
Grip	Nazofaringeal sürüntü, yıkama veya aspirasyon sıvısı, balgam	Boğaz veya burun sürüntüsü / yıkama sıvısı
Farenjit	Nazofaringeal sürüntü, yıkama veya aspirasyon sıvısı, boğaz sürüntüsü veya yıkama sıvısı	
Pnömoni, ASYE	TA veya trakeal yıkama sıvısı, BAL sıvısı	Nazofarinks veya boğaz sürüntüsü

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Solunum yolu örneklerinden viral etkenlerin incelenmesine yönelik örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul /ret ölçütleri **Tablo 30**'da; etkenlere göre örneğin alınma yeri ve zamanı **Tablo 31**'de özetlenmiştir. Ek olarak klinik tanıya göre en uygun örnekler **Tablo 32**'de yer almaktadır.

Mutlaka dacron eküvyon kullanılmalıdır. *Pamuk uçlu* eküvyon virüs replikasyonunu olumsuz yönde etkilediğinden *kesinlikle* kullanıl**ma**malıdır.

Örneklere uygulanan testler ve özellikleri

Virüslerin saptanmasında klinik örneklere uygulanan testler ve özellikleri **Tablo 33**'te özetlenmiştir. Solunum virüslerinin saptanmasında kullanılan direkt antijen testleri (DFA, EIA), hücre kültürü yöntemleri veya nükleik asit testlerinin avantaj ve dezavantajları **Tablo 34**'te verilmektedir.

Tablo 33. Virüslerin saptanmasında klinik örneklere uygulanan testler ve özellikleri

Test	Etken virüsler	Testlerin özellikleri	Test süreleri	Sonuçların raporlanması	Ara raporlar ve panik değerler
DFA	RSV İnfluenza virus tip tip A,B Adenovirus Parainfluenza virus tip 1-3 Human metapneumovirus	Poliklonal FITC ile işaretlenmiş antikor testi (influenza virüs tip A ve B, RSV, parainfluenza virüs tip 1-3, adenovirus) ile tümü aynı anda saptanır. Daha sonra tiplendirme yapılır. FITC ile işaretli özgül monoklonal antikorlar ile hedef virüslerin tümü tek tek saptanabilir.	1-2 saat	Sonuçlar "pozitif" veya "negatif" şeklinde raporlanır. Floresan mikroskobunda üç veya daha fazla floresan veren hücre görünümü pozitif olarak kabul edilir. Örnek yeterli miktarda epitel hücresi içermiyorsa test yeni bir örnekle tekrar edilir. Birden fazla solunum virüsü pozitif olabilir ve hepsi etken kabul edilir.	Damlacık yolu ile bulaşan viruslar (Influenza, Adenovirus, RSV, rhinovirus, coronaviruslar, metapneumovirus) önemli **hastane enfeksiyonlarına** yol açabileceklerinden dolayı **yatan hasta** söz konusu olduğunda **damlacık izolasyonu uygulanması** için **panik değerler kategorisinde** hemen bildirilmelidir (hem ilgili klinik, hem de Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi bilgilendirilir).
EIA	RSV İnfluenza virus tip A,B Human metapneumovirus	Sınırlı sayıda solunum virüsüne yönelik ticari kit mevcuttur.	3-4 saat	Testin *cut off* değerine göre "pozitif" veya "negatif" şeklinde sonuç verilir.	
Hücre kültürü	RSV İnfluenza virus tip A,B Adenovirus Parainfluenza virus tip 1-3 Human metapneumovirus Rhinovirus* Coronavirus*	Tüp kültürü **altın standart** Shell vial hücre kültürü (duyarlılık %95-97, özgüllük %97-99) En fazla tercih edilen hücre dizileri: – RSV – HEp-2 – İnfluenza virüs A,B – MDCK – Adenovirüs – A-549 – Parainfluenza virüsleri – Maymun böbrek – Human metapneumovirus – HEp-2, maymun böbrek Rhinovirus ve coronavirus hücre kültüründe geç ve güç üredikleri ve ek işlemler gerektiği için rutin viroloji lablarında hücre kültürü testi uygulanmaz	Tüp kültürü 10-14 gün Shell vial hücre kültürü 24-48 saat	Sonuçlar "pozitif" veya "negatif" şeklinde raporlanır. Bir veya daha fazla floresan veren hücre görünümü pozitif kabul edilir. Birden fazla solunum virüsü pozitif olabilir ve hepsi etken kabul edilir.	
PCR Multipleks PCR Hızlı moleküler PCR	RSV tip A,B İnfluenza virus tip A,B Adenovirus Parainfluenza virus tip 1-4 Human metapneumovirus Rhinovirus (A, B, C) Coronavirus (229E, NL63, OC43, HKU1, MERS-CoV, SARS-CoV-2) Human Bocavirus (1-4) Enterovirus	Solunum virüslerinin tümüne yönelik tek tek veya tümünü aynı anda saptayabilen NAAT'larda, etkene yönelik seçilen primer-prob hedef bölgeleri ve PCR ürününü saptama yöntemleri farklılıklar göstermektedir.	1-4 saat	NAAT'ın saptama özellikleri doğrultusunda sonuçlar "pozitif" veya "negatif" şeklinde rapor edilir. Solunum virüslerinin tümü alt tipleri ile birlikte saptanabilir. Birden fazla virüs pozitif olabilir (çoklu etken enfeksiyonu) ve tümü etken olarak kabul edilir.	

Kısaltmalar – FITC, fluorescein isothiocyanate; MERS, Middle East respiratory syndrome (Orta Doğu solunum sendromu)

Tablo 34. Virüslerin saptanmasında kullanılan testlerin avantaj ve dezavantajları

Test	Etken virüs	Duyarlılık ve Özgüllük	Avantaj	Dezavantaj
DFA	Poliklonal antikor çoklu tarama testi (SV, influenza tip A, B, adenovirüs, parainfluenza virüs tip 1-3)	D %57-93 Ö %98-100	Taşınma sırasındaki sıcaklık farklılıklarından etkilenmez. Sitospinlenmiş preparatlarda testin duyarlılık ve özgüllüğü artar (%65, %100). Klinik örneğin kalitesi değerlendirilir.	Duyarlılığı ve özgüllüğü hücre kültürü ve PCR'a göre daha düşüktür. Preparatta 100× büyütmede her alanda en az 25 ve üzerinde epitel hücresi olmalıdır. Aksi takdirde, örnek DFA testi ile değerlendirilemez. Test değerlendirmesi uzmanlık gerektirir.
	İnfluenza virus tip A, B RSV	D %75-92 Ö %98-100		
	Parainfluenza virus tip 1-3 Adenovirus İnfluenza virus tip B	D %55-65 Ö %98-100		
	Human metapneumovirus	D %85.4 Ö %99.4		
EIA	RSV İnfluenza virüs tip A,B	D %40-75 Ö %73-90	Taşınma sırasındaki sıcaklık farklılıklarından etkilenmez. Çok sayıda örnek aynı anda çalışılabilir. Değerlendirme DFA ve hücre kültüründen daha kolaydır. Özel uzmanlık gerektirmez.	Klinik örneğin kalitesi (epitel hücresi içerip içermediği) gözlenemez. Sadece tek bir patojen saptanabilir. DFA gibi havuzlanmış antikorları mevcut değildir. Yalancı pozitiflik oranı yüksektir (%8-38).
Hızlı antijen tayini	İnfluenza virus tip A,B	D %10-85 Ö %76–99	Hızlıdır. RSV ve influenza enfeksiyonları için **çocuklarda akut dönemde** yüksek virüs atılımı nedeni ile antijen tayini daha duyarlıdır.	Kullanılan ticari kitin duyarlılık ve özgüllüğü çok önemlidir. DSÖ tarafından testin duyarlılık ve özgüllüğünün onaylanıp onaylanmadığı kontrol edilmelidir. Antijen negatif örneklerin PCR testi ile doğrulanması önerilir.
	RSV	D %83- 93 Ö %90-97		
Hücre kültürü	RSV İnfluenza virus tip A, B Adenovirus Parainfluenza virüs tip 1-3 Human metapneumovirus Rhinovirus Coronavirus	Altın standart	Altın standart	Transport sırasında sıcaklık farklılıklarından olumsuz yönde etkilenir. Soğuk zincir kurallarına uyulması koşuldur. Virüs mutlaka canlı olmalıdır. Test süresi uzundur. Değerlendirmede uzmanlık gerektirir.
PCR Multipleks PCR	RSV tip A ve B İnfluenza virus tip A, B Adenovirus Parainfluenza virus tip 1-4 Human metapneumovirus Rhinovirus (A, B, C) Coronavirus (229E, NL63, OC43, HKU1) Human bocavirus (1-4) Enterovirus	D %60-100* Ö %87-94	Test süresi kısadır. Birden fazla solunum virüsü aynı anda saptanabilir. Bazı solunum virüsleri sadece NAAT ile saptanabilir.	Primer-probun gen bölgeleri, oranları ve testin saptama yöntemlerine göre duyarlılık ve özgüllükleri olumsuz yönde etkilenir. Örneklerdeki inhibitör maddeler yanlış negatif sonuçlara neden olabilir.
Hızlı moleküler PCR	RSV tip A ve B İnfluenza A (Human H1, H3, H1pdm09) ve B Adenovirus Parainfluenza virus tip 1-4 Human metapneumovirus Rhinovirus (A, B, C) Coronavirus (229E, NL63, OC43, HKU1, MERS-CoV, SARS-CoV-2) Human bocavirus (1-4) Enterovirus Bazı bakteriler**	D %90-99 Ö %97-99	Kullanılan örnek miktarı azdır. Birden fazla patojen** aynı anda saptanabilir. Yaklaşık 1 saat içinde sonuçlanır. Duyarlılık ve özgüllükleri yüksektir. Bazı solunum virüsleri sadece NAAT ile saptanabilir. Laboratuvar iş akışı diğer testlere göre daha basittir. Kullanılan cihaz sayısı azdır.	Maliyeti oldukça yüksektir.

* Bazı kaynaklarda **altın standart** test olarak kabul edilir. Ancak, primer-probun gen bölgesi özellikleri, tek veya çoklu etken saptama yöntemlerine göre duyarlılık ve özgüllükleri değişiklik gösterir.

**Aynı anda bakteriler (*B. pertussis/parapertussis, C. pneumoniae, M. pneumoniae, L. pneumophila*) de saptanabilir.

Ara raporlar ve panik değer

Solunum virüslerinin mevsimsel döngülerle seyrettiği ve salgına neden olma olasılıklarının olduğu her zaman akılda tutulmalıdır. Ara raporlar ve panik değerler **Tablo 33**'te verilmiştir.

DFA ve shell-vial hücre kültürü testlerinin duyarlılıkları virüs tipine (veya viral kökene) bağlı olarak **%80'den fazla** (RSV DFA, influenza virüs tip A kültürü) veya **%50'den az** (adenovirus DFA ve RSV hücre kültürü) olabilir.

Taşıma sırasında soğuk zincir koşullarına uyulmadığı öngörülüyorsa DFA ve hücre kültürü testleri birlikte kullanılmalıdır.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Uygulanan testler sonucunda saptanan virüslerin tümü etkendir. Raporlama örnekleri aşağıda özetlenmiştir.

Viral testlerin yorumlanması raporlanması

Tanı testi	Sonuç	Raporlama	Yorum
FA testi (havuzlanmış)	Pozitif	Rapor 1: Solunum virüsleri DFA testi pozitif bulundu. Tiplendirme yapılacaktır. Rapor 2: Parainfluenza tip 3 pozitif bulundu.	
	Negatif	Solunum virüsleri negatif bulundu.	DFA testinin duyarlılığı virüs ipine göre %50-90 arasında değişmektedir. Hücre kültürü veya PCR ile testin tekrarlanması uygundur.
DFA testi (spesifik monoklonal antikor)	Pozitif	Adenovirüs pozitif bulundu.	
	Negatif	Adenovirüs negatif bulundu.	DFA testinin duyarlılığı adenovirüs saptanmasında yaklaşık %50'dir. Hücre kültürü veya PCR ile testin tekrarlanması uygundur.
Hücre kültürü	Pozitif	Rapor 1: Solunum virüsleri pozitif bulundu. Rapor 2: RSV ve influenza A virüsü pozitif bulundu.	Klinik örnekte ikili etken saptandı.
	Negatif	Solunum virüsleri negatif bulundu.	
PCR testleri (tek etken)	Pozitif	Coronavirus OC43 pozitif bulundu.	
	Negatif	Coronavirus (OC43, HKU1, 229E, NL63) negatif bulundu.	Örnekte inhibitör madde saptandı. Testin yeni bir örnek ile tekrarlanması uygundur.
Multipleks PCR	Pozitif	RSV, Rhinovirus, Human metapneumovirus, Human bocavirus pozitif bulundu.	Klinik örnekte 4 farklı etken saptanmıştır.
	Negatif	Solunum virüsleri negatif bulundu.	

İnfluenza virüsleri

İnfluenza virüslerinde kullanılan tanı yöntemleri ve testlerin özellikleri **Tablo 35**'te verilmektedir.

Duyarlılık ve özgüllükleri düşük olduğu için **hızlı influenza tanı testleri**nin **pozitif** ve **negatif prediktif** (öngörü) **değerleri** toplumda **influenza** prevalansının görülme sıklığına göre değişir.

Hızlı influenza antijen testleri salgın durumlarında çok dikkatli kullanılmalıdır.

- Bu testler, Kuzey yarımkürede sezonun başlangıç dönemi olan 40. haftadan itibaren henüz prevalans düşük olduğu için **'yanlış pozitif'**, ilerleyen haftalarda ve salgın döneminde ise olgu sayısı arttığında **'yanlış negatif'** sonuçlara neden olabilir.
- Bu nedenle sezon başlangıcında pozitif sonuçların, salgın dönemlerinde ise negatif sonuçların **PCR ile doğrulanması** gerekir.

Tablo 35. İnfluenza virüslerinin tanı yöntemleri ve testlerin özellikleri

Yöntem*	Tipler	Örnekler	Test süresi	Test duyarlılık ve özgüllükleri
Klasik viral tüp kültürü	A ve B**	Nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, nazofaringeal veya bronşiyal yıkama, nazal veya endotrakeal aspirasyon sıvısı, balgam	3-10 gün	**Altın standart** Ayrıca, salgın durumlarında, şüpheli ve klinikle uyumsuz yanlış pozitif ve yanlış negatif RT-PCR sonuçlarının ve solunum sistemi dışındaki (miyokard, BOS, vb.) influenza enfeksiyonlarında pozitif RT-PCR sonuçlarının doğrulanmasında kullanılır.
Hızlı hücre kültürü (shell vial)	A ve B**		1-3 gün	
İmmünfloresan direkt (DFA) veya indirekt (IFA) antikor boyama	A ve B**	Nazofaringeal sürüntü veya yıkama sıvısı, bronşiyal yıkama, nazal veya endotrakeal aspirasyonu sıvısı	1-4 saat	Duyarlılık; influenza tip A'da %70-90, influenza tip B'de %50-65 Özgüllük her ikisinde de %98-100
RT-PCR# (tekli ve çoklu; real-time ve diğer RNA bazlı testler) ve diğer moleküler yöntemler	A ve B**	Nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, nazofaringeal veya bronşiyal yıkama sıvısı, nazal veya endotrakeal aspirasyon sıvısı, balgam	Değişken (genellikle 1-6 saat)	Salgın durumlarında tek altın standart Antiviral etkinlik için 48 saatten önce sonuç vermek önemli
Hızlı influenza tanı testleri€	**A ve B**	Nazofaringeal sürüntü, (boğaz sürüntüsü)€, nazal yıkama veya aspirasyon sıvısı	**<30 dk**	Klinik duyarlılık %20-90 Laboratuvar duyarlılık %10-85 **Özgüllük %76–99**

*Serolojik (antikor saptayan) testler rutin tanıda öneril**me**mektedir.

**Belirli alt tiplerin saptanabilmesi için adapte edilebilir.

FDA (ABD Gıda ve İlaç Dairesi) onaylı NAAT. https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/table-nucleic-acid-detection.html (erişim t. 05.11.2020)

€ İmmünokromotografik lateral akışlı ve membran bazlı immün testler. *Parantez bilgisi:* Bu testlerin çoğunda boğaz sürüntü örnekleri kabul edilmez.

SARS-CoV-2

COVID-19'un akut enfeksiyon tanısı ülkemizde ve dünyada NAAT ile yapılmaktadır. Testin doğru sonuçlanabilmesi için solunum yolu örneklerinin doğru bir şekilde ve doğru zamanda alınması gerekmektedir. Enfeksiyonun erken ve hızlı tanısında, nazofarinks sürüntü örnekleri ile orofarinks ve burun sürüntü örneklerinin birlikte alınması önerilmektedir. Örnek alındıktan sonra, soğuk zincir kurallarına uyularak en kısa zamanda viral taşıma besiyeri içinde laboratuvara gönderilmelidir. Hastanın klinik durumuna göre alt solunum yolu örneklerinde de (balgam, BAL sıvısı, vb.) SARS-CoV-2 saptanabilir. Her örnek tipinde etkenin saptanması semptomların başlama tarihine, hastalığın klinik durumuna göre değişkenlik gösterebilir. Nazofarinks örneklerinde ikinci haftadan sonra virüsün saptanma olasılığı düşer ve tanıda alt solunum yolu örneğinin kullanılması önerilir. Solunum yolu örneğinin işlenmesi ve nükleik asit ekstraksiyonu KKD kullanılarak sınıf II BGK'de yapılmalıdır. SARS-CoV-2'de kullanılan tanı yöntemleri ve testlerin özellikleri **Tablo 36**'da özetlenmektedir.

Pandemi sırasında, yani etkenin pik yaptığı, prevalansın çok yüksek olduğu dönemlerde uygulanan testlerde **yanlış negatif** sonuçlar alınması olasıdır.

Klinik olarak COVID-19 olduğu düşünülen hastalarda testler tekrar edilmelidir.

Tablo 36. SARS-CoV-2 tanısında kullanılan yöntemler ve testlerin özellikleri

Yöntem*	Örnekler	Test süresi	Özellikler, test duyarlılık ve özgüllükleri
Hücre kültürü	Nazofaringeal sürüntü, boğaz sürüntüsü, nazofaringeal veya bronşiyal yıkama, nazal sıvı veya ETA, balgam	5-10 gün	**Altın standart** Sınıf III BGK'de çalışılır* Sık kullanılan hücre dizileri (Vero E6, Vero CCl-81, HUH7, MDCK, A549, Hep-G2 ve EFKB3)
RT-qPCR**	Nazofaringeal sürüntü, boğaz ve burun sürüntüsü, tükürük, nazofaringeal veya bronşiyal yıkama sıvısı, BAL sıvısı, nazal veya endotrakeal aspirat, balgam,	Değişken (genellikle 2-6 saat)	Salgın ile hızlı bir şekilde validasyonları ve laboratuvarlarda verifikasyonları yapılmadan kullanımları başlamıştır. Yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranları yüksektir. Duyarlılıklarının %50-70 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Virüs alınımının 5. ve 7. günlerinde testin saptama düzeyi (10^4-10^7 kopya/mL) en yüksektir. Klinik ve radyolojik bulguları olan hastalarda test mümkünse 48 saat sonra alt solunum yolu örneği ile tekrarlanmalıdır. Salgının yayılımının önlenmesi için ilk 24 saatte sonuç vermek önemlidir.
Hızlı antijen tanı testleri€	Nazofaringeal sürüntü, boğaz ve burun sürüntüsü, nazal yıkama veya aspirasyon sıvısı	<30 dk	Sınıf II BGK'de çalışılır Duyarlılık ve özgüllükleri nükleik asit tabanlı testlere göre daha düşük olduğu için enfekte kişide viral yükün en yüksek olduğu enfeksiyonun **ilk 5-7 gününde** uygulanması önerilmektedir.
Antikor testleri	Serum (LF€, ELISA, CLIA, CMIA, vb. yöntemleri)	1-2 saat	Sınıf II BGK'de çalışılır. IgA, IgM, IgG ve total antikorlar saptanır. Akut enfeksiyon tanısında **önerilmez**#. Seroepidemiyolojik çalışmalar ve konvalesan plazma vericilerinin saptanmasında **önerilir.** LF testlerin duyarlılıkları düşüktür. Seroepidemiyolojik araştırmalar; Spike proteinine karşı antikor saptanması, duyarlılığı >%95 ve özgüllüğü ≥%98 olan testlerin (ELISA, CLIA,CMIA, vb.) kullanılması önerilmektedir.

* Salgın süresince Sınıf III BGK önerilmektedir.

**Bio-Speedy SARS-CoV-2 RT-qPCR, Diagnovital HS SARS-CoV-2 real-time PCR ve Coronex Covid-19 qPCR testleri ülkemizde üretilmekte ve salgın süresince T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından tüm yetkili laboratuvarlara gönderilmektedir.

€ LF (Lateral flow): immünokromotografik lateral akışlı ve membran bazlı immün testler

#RT-qPCR negatif ve BT pozitif olguların tanısı için, hastalığın geç döneminde (>3-4. hf) retrospektif kullanılabilir, (https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html), 07.11.2020

Kaynaklar

1. Atmar RL, Lindstrom SE. Influenza viruses. *In:* Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. ASM press, Washington, DC. 2015, pp. 1470-86.
2. Babady NE, Tang Y. Respiratory syncytial virus and human metapneumovirus, *In:* Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. ASM press, Washington, DC. 2015, pp. 1498-1518.
3. Balada-Llasat JM, LaRue H, Kelly C, et al. Evaluation of commercial ResPleex II v2.0, MultiCode®-PLx, and xTAG® respiratory viral panels for the diagnosis of respiratory viral infections in adults. *J Clin Virol* 2011; 50: 42-45.
4. Bird BR, Forrester FT. Basic Laboratory Techniques in Cell Culture. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, Atlanta, Ga. 1981.
5. Cell Culture Techniques: serial propagation and maintenance of monolayer cell cultures. *In:* Isenberg HD (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3rd Ed, 10.3. Viruses and *Chlamydiae*, 2013.
6. Çiçek C, Bilgiç A, Bacakoğlu F, Alpaydın AB, Bıyıklı O. Alt solunum yolu enfeksiyonlu yoğun bakım hastalarında viral etkenlerin hızlı tanısı. *Klinik Lab Derg* 2003;2:1-5.
7. Çiçek C, Gülen F, Karataş E ve ark. Comparison of the "PRODECT BCS RV CHIP" assay with the combination of shell vial cell culture and immunofluorescence antibody test for the detection of respiratory viruses. *J Virol Methods* 2007;143:161-168.
8. Çiçek C, Pullukçu H, Saz EU ve ark. Distribution of respiratory viruses in influenza cases during pandemic H1N1 2009. *Near East Medical Journal* 2012;2(2):42-49.
9. Çiçek C, Şanlıdağ T, Akçalı S ve ark. Klinik örneklerden izole edilen adenovirusların PCR ve DNA dizi analizi yöntemiyle tiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(4):607-613.
10. Coppenraet B, Swanink C, Zwet AA, et al. Comparison of two commercial molecular assays for simultaneous detection of respiratory viruses in clinical samples using two automatic electrophoresis detection systems. *J Virol Methods* 2010;169:188–192.
11. Edwards MS, Redding G, Torchia MM. Respiratory syncytial virus infection: Clinical features and diagnosis, *UpToDate,* Jul 01, 2021.
12. Gökalp C, Gökahmetoğlu S, Deniz ES ve ark. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda solunum sinsityal virüs varlığının üç farklı yöntemle araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2009;43:433-438.
13. Gökmen AA, Çiçek C, Saz EU, Özananar Y. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan pediatrik hastalarda insan metapnömovirus prevalansının saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(4):614-623.
14. Grip (İnfluenza). Çiçek C (ed). Ege Üniversitesi, Ayın kitabı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 2011
15. Gülen F, Çiçek C, Kurugöl Z ve ark. Parainfluenza type 3 outbreaks in İzmir children, Turkey. *Trop Doct* 2007;37: 252-254.
16. Janssen K, Floré K, Piete A, et al. Implementation of real-time T-PCR for detection of human metapneumovirus and its comparison with enzyme immunoassay. *Arch Virol* 2010;155:207–215.
17. Kim SR, Ki CS, Lee NY. Rapid detection and identification of respiratory viruses using a dual priming 103 oligonucleotide system-based multipx PCR assay. *J Virol Methods* 2009;156:111–116.
18. Landry ML, Caliendo AM, Ginocchio CC, Tang Y, Valsamakis A. Algorithms for detection and identification of viruses. *In:* Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 11th Ed, ASM press, Washington, DC. 2015, pp: 1432-5.
19. Lassaunièrea R, Kresfeldera T, Ventera M. A novel multiplex real-time T-PCR assay with FRET hybridization probes for the detection and quantitation of respiratory viruses. *J Virol Methods* 2010;165:254–260.
20. Özdemirkıran F, Pullukçu H, Çiçek C ve ark. Assessment of haematology patients with confirmed H1N1 positivity. *Turk J Med Sci* 2012;42(Supp. 2):1538-1541.
21. Sağlık İ, Mutlu D, Öngüt G ve ark. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda adenovirusların araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2013;47(2):282-294.
22. Sharp SE, Robinson A, Saubolle M, Santa Cruz M, Carroll K, Baselski V. Lower respiratory tract infections. Cumitech 7B, ASM press, Washington DC. 2004.
23. Siegel JD, Rhineart E, Jackson M, et al. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in health care settings. *Am J Infect Control* 2007:35:565.
24. Vinh DC, Newby D, Charest H, et al. Evaluation of an commercial direct fluorescent-antibody ay for human metapneumovirus in respiratory specimens. *J Clin Microbiol* 2008;46:1840–1841.
25. Wang W, Ren P, Sheng J, et al. Simultaneous detection of respiratory viruses in children with acute respiratory infection using two different multiplex reverse transcription-PCR assays. *J Virol Methods* 2009;162:40-45.
26. Weisman LE, Abrams SA, Edwards MS, Armsby C. Nosocomial viral infections in the neonatal intensive care unit. *UpToDate,* Mar 10, 2021.
27. Wiedbrauk DL, Johnston, SLG. Manuel of Clinical Virology, Raven Press, NewYork. 1993.

BÖLÜM 7

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN MİKOLOJİK İNCELEMESİ

Giriş

Solunum sisteminin mantar tutulumları genellikle dış kulak yolunun, diş etlerinin, sinüslerin kronik enfeksiyonları ve akciğerlerin bazen de plevral boşluğun invazyonu şeklinde görülebilmektedir (*bkz.* **Tablo 1** ve **Tablo 2**). Bağışıklık sistemi normal konaklarda mantarlar en sık kronik sinüzitte görülür. *Aspergillus fumigatus* KF hastalarında en yaygın tanımlanan mantardır ki daha ziyade alerjik bronkopulmoner hastalık ile ilişkilidir. Benzer bir sendroma *Scedosporium apiospermum* da neden olabilir. *Exophiala dermatitidis*'in KF olgularının solunum yollarında kronik kolonizasyona neden olduğunu rapor edenler vardır.

Örnek alınması, taşınması, işlenmesi ve kültür özellikleri

Tanıda kullanılan örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 37**'de, etkenlerin tanısında kullanılan kültür dışı testler ve özellikleri **Tablo 38**'de özetlenmektedir. Mantar örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri **Tablo 39**'da özetlenmektedir.

Solunum sistemi örneklerinde mantarların tanısında akla ilk sitolojik analiz veya histopatoloji gelse de histopatolojinin tek başına tanıda yeterince duyarlı olmadığı ve immün boyama, kültür ve mümkünse NAAT yapmak gerektiği kabul edilmektedir.

İnkübasyon süresi için genel öneri (minimum) 4 haftadır. Değerlendirme, ilk hafta her gün, sonraki haftalar, haftada en az 2 gün yapılır. *H. capsulatum* ve *B. derma*titidis gibi endemik mikoz etkeni termal dimorfik mantar enfeksiyonu şüphesi varsa, kültürlerin 6-8 hafta inkübe edilmesi gerekebilir.

Olası *Candida* enfeksiyonu şüphesi ile gelen mukozal örneklerin 7 gün inkübe edilmesi yeterli olur. Değerlendirme her gün yapılır.

Örneğin taşınma süresinin **72 saati geçmiş** olması, mantarlar için genel **ret** ölçütüdür. Bekleyen örneklerden *A. fumigatus, R. arrhizus, H. capsulatum, C. immitis ve B. dermatitidis* türlerinin izolasyonunda sorun olabilir. Özellikle bu mantarlardan biri olası etken olduğunda örnekler **hiç bekletilmeden** hemen işleme alınmalıdır.

Ancak dimorfik mantar izolasyonunda **BGD3 laboratuvar şartlarını**n gerekliliği unutul**ma**malıdır.

Serolojik testlerin, invaziv ve fırsatçı mantar enfeksiyonları tanısında, geleneksel tanı yöntemleri ile beraber kullanılması önerilir. Tek başlarına kullanılmaları önerilmez. Serolojik testlerin kullanımı, bazı olgularda erken tanı ve dolayısıyla erken tedavi şansı sağlayabilir.

Tablo 37. Mantar örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü	Alım özelliği	Taşınma özellikleri*	Saklama koşulları	Ret ölçütleri**
Orofaringeal lezyon	Eküvyon ile lezyondan süründü	Sıvı transport besiyeri içinde	2-8°C'de	Kuru eküvyon
	Steril SF ile ağız çalkantı suyu	Steril kap içinde	2-8°C'de	Kurumuş örnek
Sinüs aspiratı	Antral aspirasyon (maksiller sinüzit)	Sinüs sekresyon kolektörü (vakum aspiratör)	2-8°C'de	Süründü örneği
Sinüs aspiratı / dokusu	Ameliyat materyali (aspirat ya da doku)	Steril aerop taşıma kabı ile en az 1 mL steril SF içinde, OS, **hemen**	2-8°C'de	Süründü örneği Formalin içinde doku örneği
Dış kulak yolu	Eküvyon ile süründü	Sıvı transport besiyeri içinde	2-8°C'de	Kurumuş örnek ya da raf ömrü dolmuş besiyeri
Balgam (ekspektore/ indüklenmiş)	Ekspektore balgam: Sabah, ağız çalkalama veya diş fırçalama sonrası, kuvvetli öksürük ile alınır. 3 sabah alınan balgam örneği incelenir.	Steril vidalı kapaklı kapta, OS ≤2 saat	2 saati aşacak durumlarda 2-8°C'de 24 saate kadar€	Tükürük, nazal sekresyon/süründü örneği, 24 saat toplanmış örnek
Endotrakeal aspirat		Steril vidalı kapaklı kapta, OS ≤2 saat		
BAL sıvısı	Bronkoskopik	Steril vidalı kapaklı kapta, 5-10 mL miktarda, ≤2 saat, OS		Süründü örneği
Bronşiyal fırça	Bronkoskopik	Steril vidalı kapaklı kapta, en az 1 mL steril SF içinde, OS ≤2 saat		Karbon transport besiyeri içinde gelirse
Akciğer biyopsisi	Cerrahi	Steril vidalı kapaklı kapta, az miktar SF içinde, OS ≤2 saat	2 saati aşacak durumlarda 35-37°C'de	Formalin içinde gelirse
Plevral sıvı	Aseptik aspirasyon ile, en az 2 mL	Steril vidalı kapaklı kapta, OS ≤2 saat		Süründü örneği

*A. *fumigatus, R. arrhizus, H. capsulatum, C. immitis* ve *B. dermatitidis*'in bekleyen örneklerden izolasyonunda sorun olabilir. Özellikle bu mantarlardan birinin *olası etken* olduğu örnekler hiç bekletilmeden hemen işleme alınmalıdır.

**Örneğin transfer süresinin 72 saati geçmiş olması, mantarlar için genel ret ölçütüdür.

€ Balgam ve BAL örnekleri *P. jirovecii* immün-floresan boyama için +4°C'de 7 güne kadar saklanabilir.

Tablo 38. Solunum yolu enfeksiyonlarında mantarların tanısında kullanılan kültür dışı testler ve özellikleri

Örnek türü	Aranan mantar	Serolojik test	Duyarlılık ve özgüllük	Not/Yorum
Serum	*Aspergillus*	Galaktomannan antijen testi (EIA)	D %41-65 Ö %65-95	Serumda galaktomannan tespiti için kabul edilmiş olan eşik eğer 0.5'tir. Test performansı, nötropeni varlığı ve küf etkili antifungal ilaç kullanımı gibi birçok faktörden etkilenir.
Serum (yaygın enfeksiyon)	*Cryptococcus neoformans*	*Cryptococcus* kapsül antijen testi (Lateks aglütinasyon)	D %62-95 Ö %93-100	
Serum	*Cryptococcus* ve *Mucorales* takımı dışındaki mantarlar (panfungal test)	Beta-1,3-D-glukan testi (EIA benzeri)	D %50-100 Ö 45-100	Serumda Beta-1,3-D-glukan testi için genelde kullanılan eşik değer 80 pg/mL dir. Optimal eşik değer kullanılan ticari kite göre değişebilir.
BAL sıvısı	*Aspergillus*	Galaktomannan antijen testi (EIA)		BAL sıvısında galaktomannan çalışmaları henüz şekillenmektedir. ECIL tarafından BAL sıvısında galaktomannan tespiti için önerilen güncel eşik değer 1'dir.

Kısaltmalar – ECIL, European Conference on Infections in Leukemia

Tablo 39. Mantar örneklerinin işlenmesi ve kültür özellikleri

Örnek türü	Mikroskobik inceleme	Kültür*			
		Örneğin hazırlanması / Ekim özel durumlar**	Besiyeri	Sıcaklık (°C)	Ortam
Eküvyon ile oral lezyondan süründü	KOH (%10-30) veya KOH-DMSO veya KOH-kalkoflor beyazı (Kalkoflor beyazı içeren inceleme tercih edilir; kalkoflor beyazı kullanılmışsa floresan mikroskop ile inceleme yapılır.) Gram boyama	Süründü/2 mL'den az ağız çalkantı suyu: Direkt ekim yapılır. Ağız çalkantı suyu: 2 mL'den fazla ise konsantre edildikten (10 dk, 1500-2000 *g*'de) sonra ekim yapılır.	Sabouraud dekstroz agar (SDA): Ekim için kullanılan birincil besiyeridir. Bakteriyel kontaminasyon olasılığı varsa, SDA'ya antibiyotik (kloramfenikol, penisilin, streptomisin, gentamisin, vb.) eklenebilir. BHI agar (kloramfenikol ve gentamisin eklenir, ek olarak %5-10 koyun kanı da ilave edilebilir): Endemik mikoz etkeni şüphesi durumunda SDA'ya ilave olarak kullanılması önerilir.	30°C ve 35°C	Aerobik
Sinüs aspiratı / biyopsi materyali		Aspirasyon materyalinden direkt ekim yapılır. Çok mukoid ya da yoğun olan örnekler, ekim öncesi mukolitik ajan (N-asetil-L-sistein/sputolizin) ile muamele edilebilir. Doku örneği birkaç kaç damla steril distile su içeren steril Petri kutusunun içinde kıymalaştırıldıktan sonra, direkt ekim yapılır. *Mucorales* takımında bulunan mantarların hiflerinin zarar görmemesi için homojenizasyondan kaçınılır.			
Dış kulak yolundan süründü		Eküvyondan besiyeri üzerine direkt ekim yapılır ya da eküvyon içeriği az miktarda steril su içine aktarılır ve steril sudan ekim yapılır.			
Balgam (ekspektore / indüklenmiş)		Özellikle küf mantarı enfeksiyonu şüphesinde en son tercih edilmesi gereken örnektir. Balgamın kanlı ya da püy içeren kısımları direkt ekilir. Çok mukoid olan örnekler ekim öncesi mukolitik ajan (N-asetil-L-sistein / sputolizin) ile muamele edilebilir. Duyarlılığı artırmak amacıyla aynı hastadan alınan birden fazla örnekten ekim önerilebilir (*örn.* invaziv aspergilloz için optimal 3 balgam örneği incelenmesi önerilir.)			
Balgam (indüklenmiş)	İmmünfloresan boyama / Giemsa (*P. jirovecii* için) en az iki farklı yöntemle inceleme yapılması önerilir.	*P. jirovecii* için incelenecek balgam mukolitik ajan (N-asetil-L-sistein/sputolizin) ile muamele edilir ve santrifüj yapılır.			
BAL sıvısı					
ETA	KOH (%10-30) veya KOH-DMSO veya KOH-kalkoflor beyazı (Kalkoflor beyazı içeren inceleme tercih edilir; kalkoflor beyazı kullanılmışsa floresan mikroskop ile inceleme yapılır.) Gram boyası	Kanlı ya da püy içeren kısımlar direkt ekilir. Örnek 2 mL'den fazla ise santrifüj edildikten (10 dk, 1500-2000 *g*) sonra ekim yapılır. Çok mukoid olan örnekler, ekim öncesi mukolitik ajan ile muamele edilebilir.			
Bronşiyal fırça		Fırça az miktarda steril distile su/SF içinde vortekslendikten sonra her besiyerine 3-5 damla ekim yapılır. Fırça (seçici) besiyeri üzerine yerleştirilir.			
Akciğer biyopsisi materyali		Özellikle küf mantarına bağlı enfeksiyon şüphesinde ilk tercih edilmesi gereken örnektir. Doku örneği kıymalaştırıldıktan sonra direkt ekilir (*Histoplasma* şüphesi varsa homojenizasyon da yapıldıktan sonra direkt ekim yapılır.) Kıymalaştırma, birkaç damla steril distile su içeren steril Petri kutusunun içinde gerçekleştirilir. *Mucorales* takımında bulunan mantarların hiflerinin zarar görmemesi için homojenizasyondan kaçınılır ve mümkün olduğunca az bölünmüş doku parçalarından kültür yapılır.			
Plevral sıvı		Örnek 2 mL'den fazla ise santrifüj edildikten (10 dk, 1500-2000 *g*) sonra her besiyerine en çok 0.5 mL olacak şekilde ekim yapılır.			

* İnkübasyon süresi için genel öneri (minimum) 4 haftadır. Değerlendirme, ilk hafta her gün, sonraki haftalar, haftada en az 2 gün yapılır. Olası *Candida* enfeksiyonu şüphesi ile mukozadan alınan örneklerin, 7 gün süre ile inkübe edilmesi yeterli olur. Değerlendirme her gün yapılır. *H. capsulatum, B. dermatitidis* gibi endemik mikoz etkeni termal dimorfik mantar enfeksiyonu şüphesi varsa kültürlerin 6-8 hafta inkübe edilmesi gerekebilir.

**Özellikle küf mantarlarının etken olma olasılığı durumunda klinik örneğin besiyerine ekimi için tek koloni ekim yöntemi dışında bazı özel ekim teknikleri (X ekimi, C ekimi, orta nokta ekimi vb.) de kullanılabilir. Bu teknikler; bir küf mantarı üremesi gözlendiğinde, bu üremenin bir kontaminasyona bağlı olma olasılığının dışlanmasında yararlı olabilir.

Ara raporlar ve panik değer

- Biyopsi, plevral sıvı gibi **steril örnekler**in mikroskobik incelemesinde **herhangi bir** mantar elemanı görülmesi, mantarlara bağlı enfeksiyonun **kesin** göstergesidir ve acilen bildirilmelidir.
- **Bağışıklığı baskılanmış** konaktan alınan balgam, BAL gibi örneklerin **mikroskobik incelemesinde** "hif" görüldüğünde acilen bildirilmelidir. Bu bulgu, invaziv küf enfeksiyonu işareti olabilir.
- **Bağışıklığı baskılanmış** konaktan alınan örneklerde küf mantarı ürediğinde de, *tanımlama testlerinin devam ettiği* ibaresi ile birlikte bu üreme, ön rapor olarak acilen bildirilmelidir; *örn.*, "*Mucorales* takımından bir küf mantarı üredi, tanımlama işlemleri devam ediyor." gibi.
- **Solunum yolu örnekleri**nde "maya/psödohif" görülmesi, genellikle **orofaringeal** kandidozu işaret eder (**pulmoner** kandidoz **nadir** görülen bir klinik tablodur). Bu örneklerin kültüründe *Candida* üremesi saptandığında sonuç laboratuvar tarafından raporlanır. Ancak, raporlanmış olması *Candida*nın mutlak etken olduğu anlamına gelmez. Sonuç olgunun tüm klinik ve laboratuvar bulgularını izleyen hekim tarafından *bir bütün olarak* değerlendirilmelidir.

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Mantar incelemesi sonuçlarının raporlanması

Tanı testi	Sonuç	Raporlama
Mikroskobik inceleme	Pozitif	• (Tomurcuklanan) maya hücreleri görüldü. • (Tomurcuklanan) maya hücreleri ve psödohif görüldü. • Kapsüllü maya hücreleri görüldü. • Hif görüldü (Septum varlığı ve açılanma yönünden yorum yapılamadı). • Septalı, dikotom dallanma gösteren, düzgün yapıda hifler görüldü. • Septasız/nadir septalı, 45-90° açılarla dallanan, düzensiz yapıda hifler görüldü.
	Negatif	Mantar görülmedi.
İmmünfloresan boyama	Pozitif	*P. jirovecii* görüldü.
	Negatif	*P. jirovecii* görül**me**di.
Kültür değerlendirme	• Özellikle steril olmayan örneklerde, mantarlar için kontaminasyon-kolonizasyon-enfeksiyon ayırımlarını yapmaya yardımcı olabilecek eşik koloni sayıları ya da genelde kabul görmüş ve kesinleşmiş ölçütler mevcut değildir. Bu nedenle, üreyen koloni sayısı ne olursa olsun izole edilen mantarın klinik açıdan önemli olabileceği dikkate alınmalıdır. • *Aynı* olgudan alınan birden fazla örnekte *aynı* mantarın üremesi ya da birden fazla besiyerinde üreme saptanması, izole edilen mantarın klinik açıdan önemli olabileceği olasılığını güçlendirebilir. • Uzamış nötropenisi olan semptomatik olgularda balgam kültüründe küf üremesi, olası fungal pnömoni işareti olarak kabul edilir. Kesin tanı için kültür sonucunun, direkt mikroskopi, klinik bulgular ve histopatolojik verilerle beraber değerlendirilmesi gerekir. • Ekim çizgisi dışındaki bir üreme, muhtemel bir kontaminasyonun işaretidir. Kontaminasyon; örneğin alınması, transferi ya da laboratuvardaki işlemler sırasında olasıdır. Kontaminasyonun olası olduğu durumlarda üreyen mantar, "kontaminasyon ekarte edilemedi" ya da "olası kontaminant" ibaresi ile beraber raporlanır. Gerekli görüldüğünde kültür için aynı hastadan tekrar örnek istenir. • Steril örneklerden izole edilen mantarlar, genellikle enfeksiyonun etkenini yansıtır. • **Tanımlama, mayalar için mutlaka**, **küfler için ise mümkün olan izolatlarda tür düzeyinde** yapılır. Ön rapor, cins ya da takım düzeyinde olabilir. Mantarlarda antifungal duyarlılık profilleri türe göre değişebileceğinden, son rapor için üretilen her bir izolatta mümkün olduğunca tür düzeyinde tanımlama hedeflenmelidir.	

Kaynaklar

1. Arendrup MC, Bille J, Dannaoui E, Ruhnke M, Heussel CP, Kibbler C. ECIL-3 classical diagnostic procedures for the diagnosis of invasive fungal diseases in patients with leukemia – Special Report. *Bone Marrow Transplantation* 2012;47:1030-45.
2. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect* 2018;(Suppl. 1):e1-38.
3. CLSI. Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens-Direct Examination and Culture; Approved Guideline. CLSI Document M54-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
4. Marchetti, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S. European Conference on Infections in Leukemia (ECIL) Laboratory Working Groups. ECIL recommendations or the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic T recipients. *Bone Marrow Transplantation* 2012;47(6):846-54.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır

BÖLÜM 8

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNİN PARAZİTOLOJİK İNCELEMESİ

Giriş

Solunum sisteminin paraziter hastalıklarının tanısı klinik ve radyolojik bulgular nonspesifik olduğu için nispeten zordur. Bu nedenle teşhis için paraziter etkenlerin öncelikle seyahat öyküsü ve kişisel hijyenle ilgili anamnez vb. göstergelerin eşliğinde akla getirilmesi çok önemlidir.

Solunum yolu örneklerinin doğrudan mikroskobik incelemesinde amipler, helmint yumurtaları (*Paragonimus westermani*), *Echinococcus* türlerine ait membran, protoskoleks veya çengeller ile nematod larvalarından *Ascaris*, kancalı kurtlar (*Anycylostoma duodenale, Necator americanus*) ve *Strongyloides* larvaları görülebilir.

Örnek alınması, taşınması, saklanması, kabul/ret ölçütleri

Solunum yolu örneklerinin parazitolojik açıdan incelenmesine yönelik örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri **Tablo 40**'ta, solunum örnekleri dışında tanıda kullanılan diğer örnekler ve yöntemler **Tablo 41**'de özetlenmektedir.

Tablo 40. Parazit örneklerinin alınması, taşınması, saklanması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek türü	Örnek alma özelliği	Taşınma özellikleri	Saklama koşulları	Ret ölçütleri
Orofaringeal lezyon	Steril SF ile ağız çalkantı suyu	Steril, vidalı, kapaklı kapta, ≤2 saat, OS	≤24 saat, 2-8°C'de	Kurumuş örnek
Balgam (ekspektore/ indüklenmiş)	Ekspektore balgam: Sabah, ağız çalkalama veya diş fırçalama sonrası, kuvvetli öksürük ile alınır. Üç sabah alınan balgam örneği incelenir.			Tükürük/Nazal sekresyon/ Sürüntü örneği/24 saat toplanmış örnek
Endotrakeal aspirat	Bronkoskopik			2 mL'den az örnek
BAL				
Akciğer biyopsisi materyali	Cerrahi			Üzerinde iğne bulunan enjektör içindeki örnekler, Formalin içindeki örnekler, 2 mL'den az örnekler.
Plevral sıvı	Aseptik aspirasyon ile			

Tablo 41. Solunum yolu enfeksiyonlarında etken olabilecek parazitlerin tanısında kullanılan mikroskopi dışı testler ve özellikleri

Örnek türü	Aranan parazit	Serolojik / Moleküler test	Duyarlılık ve özgüllük	Not/Yorum
EDTA'lı kan	Sıtma	Sıtma antijen testi (Hızlı test)	D %75-95 Ö %90-95	Hızlı tanı testlerinin duyarlılığı kanda <100 parazit/µL olduğu zaman oldukça düşer.
Serum	*Echinococcus* spp. *Toxocara* spp. *S. stercoralis* *Trichinella* spp. *E. histolytica* *T. gondii* *Leishmania* spp. *Schistosoma* spp.	Antikor araştırılması (Western blot yöntemi, EIA, IHA, IFA)		Sadece akciğer yerleşimli ekinokokkozda, kist rüptüre olmamış ise serolojik testlerin duyarlılığı düşüktür (~%50). Aktif barsak amibiyazında duyarlılık ~%70 iken, karaciğer dışı amibiyazda duyarlılık %95'e yükselir. *S. stercoralis* enfeksiyonlarında EIA yöntemiyle duyarlılık %95 civarındadır, özgüllük filaryal parazitler ile çapraz reaksiyon nedeniyle düşüktür.
Solunum yolları, kültür, dışkı	*E. histolytica*	Antijen arama (EIA, hızlı tanı testi)	D %90-100 Ö %90-95	Antijen araştıran testler patojen olan ve olmayan *Entamoeba* türlerini ayırmada yardımcı olabilir.
Solunum yolları, kültür, dışkı	*E. histolytica* *Cryptosporidium* spp. *Microsporidia* *T. gondii* *S. stercoralis*	PCR		Daha çok araştırma amaçlı uygulanırlar. Rutin tanıda sınırlı sayıda laboratuvarda uygulanmaktadır.

Örneklerin işlenmesi ve iş akışı

Mikroskobik incelemeler

- Parazitolojik açıdan ilk mikroskobik inceleme hiçbir işlemden geçirilmeden, doğrudan örnekten yapılabilir. Bununla birlikte her örnek için santrifüj ile yoğunlaştırma yapılarak elde edilen örneğin incelenmesi esastır.
- Santrifüj öncesi balgam veya diğer solunum örneklerindeki mukusun eritilmesi gerekebilir.
- Helmint yumurta veya larvalarının araştırılması için doğrudan (boyasız) en az iki inceleme örneği hazırlanır ve 10× büyütmede tüm lamel alanı incelenir.

Moleküler incelemeler

- Solunum yolu örneklerinde, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmışlarda olmak üzere PCR tabanlı yöntemlerle protozoon etkenler (*E. histolytica, Cryptosporidium* spp., *T. gondii, Microsporidium* spp.) ve *Strongyloides* araştırılabilir.
- Bu incelemeler Türkiye'de sınırlı sayıda merkezde yapılabilmekte veya araştırma amaçlı uygulanmaktadır.

Serolojik incelemeler

- Serolojik tanıda *E. histolytica, T. gondii, P. falciparum, Leishmania* spp., *Echinococcus* spp., *T. canis, S. strongyloides, Schistosoma* spp. parazitlerine karşı oluşmuş antikorlar araştırılabilir.
- Serolojik tanıda genelde 5 mL düz kandan elde edilecek serum kullanılır. *P. falciparum* antijenini yakalayacak hızlı tanı testi uygulanacak ise doğrudan 10 µL tam (kapiller) kan örneği uygulama yerine konulur veya antikoagülanlı (heparin, EDTA, sitrat) venöz kan örneği kullanılır.

Parazit larvaları (kancalı kurtlar, *A. lumbricoides*, *S. stercoralis*) bağırsaklara doğru göç ettikleri sırada akciğerde hasara yol açarak ateş, öksürük, astım, deride kızarıklıklar, eozinofili ve radyolojik pulmoner infiltrasyonlara yol açarak "Löffler sendromu" veya pnömonisine neden olabilirler.

İnvaziv amibiyaz hastalarının yaklaşık %2'sinde pulmoner amibiyaz gelişir ve genellikle karaciğer amip apsesi ile ilişkilidir.

Amibiyaz tanısında mikroskobik incelemenin yanı sıra antijen araştırılması, PCR ve serolojik yöntemler de kullanılır.

Solunum yolu örneklerinde ***Toxocara* spp.** larvalarına rastlanılması **beklenmez**. İnsanda erişkin hale gelemedikleri için dışkıda yumurtalarını saptayarak tanı konulamaz. Bu nedenle tanıda temel olarak serolojik yöntemlerden yararlanılır.

Toksokariyaz tanısında ikinci evre larvalardan elde edilen çıkartı-salgı antijenlerinin kullanıldığı ELISA testlerinin duyarlılığı %75, özgüllüğü %90'dır. Western blot yöntemindeki düşük moleküler ağırlıktaki bantlar tanıda özgüllüğü arttırır.

Lenflerde yaşayan filaryal parazitlerin (*Brugia malayi* ve *Wuchereria bancrofti*) mikrofilaryalarına karşı gelişen bağışıklık yanıtı nedeniyle tropikal pulmoner eozinofili (TPE) gelişebilir.

Hastalık Güney, Güneydoğu Asya'da endemiktir. Endemik olmayan bölgelerden seyahat edenlerde hastalığın gelişme risk daha fazladır. BAL sıvısında bol miktarda eozinofili saptanır.

Şistozomiyaz tanısı idrar veya dışkıda parazit yumurtalarının görülmesi ile konulur. Serolojik yöntemlerden de tanıda yararlanılır.

Ara raporlar ve panik değer

Bağışıklığı baskılanmış konaktan alınan balgam, BAL sıvısı, vb. örneklerin mikroskobik incelemesinde *Strongyloides stercoralis* larvaları görüldüğü takdirde **acilen bildirilmelidir.**

Sonuçların yorumlanması ve raporlanması

Solunum yolu örneklerinin parazitolojik tanısında sonuçların raporlanması ile ilgili olası durumlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Dokularda eozinofillerin yıkım ürünü olan Charchot-Leyden kristalleri görüldüğü takdirde "*Solunum yolu örneğinde Charchot-Leyden kristalleri görüldü*" şeklinde raporlanmalıdır.

Parazit incelemesi sonuçlarının raporlanması

Tanı testi	Sonuç	Raporlama
Makroskobik ve mikroskobik inceleme	Pozitif	• *Echinococcus* türlerine ait membran, protoskoleks ve çengeller görüldü. • *Echinococcus* türlerine ait canlı protoskoleks görüldü. • Balgamda *Paragonimus* türlerine ait yumurtalar görüldü.
	Negatif	• *Echinococcus* türlerine ait membran, protoskoleks veya çengeller görül**me**di. • (Löffler pnömonisi ön tanısıyla gönderilen örnekte) parazit larvaları görül**me**di.
Serolojik inceleme	Pozitif	• Çift serum örneğinde anti-*Toxoplasma* IgG antikorlarında ≥4 kat titre artışı saptandı. • Toksoplazmoz açısından; düşük avidite indeksi ve IgM pozitifliği akut toksoplazmozu desteklemektedir. • Serolojik sonuçlar ekinokokkoz ile uyumludur ve testlerin üst limitlerindedir, daha ileri seyreltmelerde de pozitiflik saptanabilir. Lütfen 6 ay sonra serolojik testleri tekrar ediniz. (Not: Ayırıcı tanıda *Echinococcus multilocularis*'in etken olduğu alveolar ekinokokkoz düşünülüyorsa lütfen Western yöntemiyle ayrımını isteyiniz).
	Negatif	• Çift serum örneğinde anti-*Toxoplasma* IgG antikorlarında ≥4 kat titre artışı saptanmadı. • Serolojik sonuçlar (Yüksek IgG Avidite indeksi) 16 haftadan önce, herhangi bir dönemde, edinilmiş *Toxoplasma* enfeksiyonunu desteklemektedir. Sonuçlar bağışıklık sistemi sağlam kişilerde kronik inaktif toksoplazmoz lehinde değerlendirilebilir. • Kistik ekinokokkozda karaciğer dışı yerleşimlerde yalancı negatifliğin görülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

1. Khemasuwan D, Farver C, Mehta AC. Parasitic diseases of the lung. *In:* Mehta A, Jain P, Gildea T (eds). Diseases of the Central Airways. Respiratory Medicine. Humana Press, *Cham*, 2016; pp. 231-253. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29830-6_11
2. Korkmaz M, Ok UZ. Parazitolojide laboratuvar. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 23, Meta Basım, İzmir, 2011.
3. Princess I, Vadala R. Pleuropulmonary parasitic infections of present times-A brief review. *J Microbil Infect Dis* 2018; 08(04):165-179.

BÖLÜM 9

BİLDİRİMİ ZORUNLU SOLUNUM SİSTEMİ ENFEKSİYONLARI

Bulaşıcı hastalıkların önlenmesi ve kontrolünün sağlanmasında; bildirime esas bulaşıcı hastalıkların belirlenmesi, vaka tanımlarının yapılması, ihbar ve bildirim sisteminin oluşturulması son derece önemlidir. Nitekim ülkemizde ilk olarak 2004 yılında bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıklar listesi güncellenerek bu hastalıklar için standart vaka tanımları yapıldı. İzleyen süreçte, Sağlık Bakanlığı tarafından "Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği" (RG 30/5/2007-26537) yayımlandı. Yönetmelik -2011, 2019 ve 2020 yıllarında yapılan güncellemeler ile- bugün itibariyle ülkemizde bildirimi zorunlu olan 81 hastalık/etken/sendromu içermektedir.

Sürveyans sistemi kapsamında bildirimi yapılacak bulaşıcı hastalıkların belirlenmesinde temel alınan birtakım ölçütler vardır. Bunlar Yönetmelik gereğince;

- Ülke genelinde önemli halk sağlığı sorunu olan veya olma potansiyeli bulunan hastalıklar,
- Hastalığın özelliğinden dolayı önlenmesinin, koordinasyon için bölgesel veya küresel bir yaklaşımı gerektirdiği durumlar,
- Ülke genelinde veya bölgesel düzeyde özel program yürütülen hastalıklar,
- Yerel düzeyde gözden kaçabilecek, ancak verilerin bölgesel/ulusal düzeyde bir havuz sistemi içinde toplanması ile daha geniş bir veri tabanından hipotez üretmenin mümkün olacağı ve erken uyarı sağlayacak hastalıklar,
- Etkili koruyucu önlemleri bulunan hastalıklar,
- Uluslararası kuruluşlar ve Topluluk ağı ile bilgi paylaşımı sonucu bir karşılaştırma yapıldığı zaman elde edilen sonuçların ulusal veya uluslararası programların değerlendirilmesine katkı sağlayacak hastalıklar,

şeklinde sıralanabilir.

Günümüzde bildirim **standart vaka tanımlarına** göre yapılmakta, bildirimi zorunlu hastalıkların **kesin tanı**sı için laboratuvar doğrulaması esas alınmaktadır. Laboratuvarlar şu anda A, B ve C grubu hastalıkların kesin tanısında *dolaylı* rol üstlenirken, *sadece* D grubu hastalıkların bildirimini *doğrudan* yapmaktadırlar. Ülkemizde laboratuvara dayalı sürveyansın geliştirilmesi ve yakın gelecekte laboratuvarın tanı koyabildiği tüm hastalıkların bildirimini *doğrudan* yapabileceği bir sistem oluşturulması hedeflenmektedir. Bildirim sistemindeki bu gelişmeler ile doğru, güvenilir ve zamanında tanı konması; dolayısıyla da tanıda laboratuvarlar arası standardizasyonun sağlanması için standart vaka tanımlarının kullanılması ve **standart prosedürlerin uygulanması** büyük önem kazanmıştır.

Bildirimi zorunlu solunum sistemi enfeksiyonları ve bildirim esaslarını belirleyen gruplandırma isimleri **Tablo 42**'de özetlenmektedir.

Tablo 42. Bildirimi zorunlu solunum sistemi enfeksiyonları*

No	Hastalık/etken adı	Grubu[1]	Konuya göre ait olduğu grup[2]	Açıklama
1	Ağır akut solunum yetmezliği sendromu (SARS)	B	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	Uluslararası bildirimi zorunlu bir sendromdur.
2	Avian influenza (insanlarda – A/H5, A/H7 ve A/H9)	C	Gıda ve su kaynaklı hastalıklar ve zoonozlar	Ülkemizde bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
3	Boğmaca	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Boğmaca, ülkemizde Genişletilmiş Bağışıklama Programı (GBP) kapsamında izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu "Boğmaca Saha Rehberi (2003)"ne, Genelge ve Yönetmeliğe bakınız.
4	Çiçek	B	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Uluslararası bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
5	Difteri	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Difteri, ülkemizde GBP kapsamında izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu "Difteri Saha Rehberi (2003)"ne, Genelge ve Yönetmeliğe bakınız.
6	İnfluenza	C	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
7	İnvaziv *H. influenzae* hastalıkları	C	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıklardır. Vakaların kayıt ve bildirimi ile ilgili detaylar için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu "Aşı ile Önlenebilir İnvaziv Bakteriyel Hastalıklar Sürveyansı Genelgesi (2016/23)'ne bakınız.
8	İnvaziv meningokokal hastalık	A	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	
9	İnvaziv pnömokokal hastalıklar	C	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	
10	Kabakulak	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
11	Kızamık	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Kızamık ülkemizde GBP kapsamında rutin olarak izlenen, bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Sağlık Bakanlığı tarafından hastalığın **eliminasyonu** için **özel program** yürütülmektedir. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu Genelge ve Yönetmeliğin yanı sıra "Kızamık, Kızamıkçık ve Konjenital Kızamıkçık Sendromu Sürveyansı, Daimî Genelgesi (2010/20)"ne bakınız.
12	Kızamıkçık (Rubella)	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Kızamık hastalığı ile aynı yol izlenmektedir.
13	Lejyoner hastalığı	C	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	Lejyoner hastalığı ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu "Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik: 2015/29354" ile "Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi (2016)"ne bakınız.
14	MERS (Coronavirus)	C	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
15	Q-ateşi *(Coxiella burnetii)*	C	Gıda ve su kaynaklı hastalıklar ve zoonozlar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır.
16	Suçiçeği	A	Aşı ile önlenebilir hastalıklar	Ülkemizde bildirimi zorunlu bir hastalıktır.

No	Hastalık/etken adı	Grubu[1]	Konuya göre ait olduğu grup[2]	Açıklama
17	Şarbon	A	Gıda ve su kaynaklı hastalıklar ve zoonozlar	Şarbon ülkemizde **ihbarı zorunlu** bir hastalıktır.
18	Tularemi	C	Gıda ve su kaynaklı hastalıklar ve zoonozlar	Vaka ve salgın incelemeleri ile vakaların kayıt ve bildirimi için, Sağlık Bakanlığının yayımlamış olduğu Genelgeye, Yönetmeliğe ve "Tularemi Hastalığının Kontrolü için Saha Rehberi (2011)"ne bakınız.
19	Tüberküloz	A	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Tüberküloz için Sağlık Bakanlığı tarafından **özel program** yürütülmektedir. Vakaların kayıt ve bildirimi için, Genelgeye ve Yönetmeliğe bakınız.
20	Veba	C	Gıda ve su kaynaklı hastalıklar ve zoonozlar	Veba ülkemizde **ihbarı zorunlu** bir hastalıktır. Vaka ve salgın incelemeleri ile vakaların kayıt ve bildirimi için, Genelgeye ve Yönetmeliğe bakınız.
21	COVID-19 (Yeni Coronavirus hastalığı)	C	Solunum yolu ile bulaşan hastalıklar	Ülkemizde rutin olarak izlenen bildirimi zorunlu bir hastalıktır. Vaka incelemesi, vaka kayıt ve bildirimi için Yönetmeliğe ve "Covid-19 Rehberi"ne bakınız.

* Tabloda geçen Yönetmelik ifadesi ile *-özel olarak ayrıca belirtilmedikçe-* Bulaşıcı Hastalıkların Sürveyansı ve Kontrol Esasları Yönetmeliği (RG 30/5/2007-26537 ve değişiklikler RG 02/04/2011-27893, RG 04/05/2019-30764, RG 22/04/2020-31107); Genelge ifadesi ile de Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Genelgesi (2015/18) kastedilmektedir.

[1] Genelgede tanımlanmıştır; mevcut bildirim sisteminde hastalıklar bildirim özelliğine göre A, B, C veya D grubuna girer.

[2] Yönetmelikte bildirimi zorunlu hastalıkları kategorize eden başlık, anlamındadır.

www.klimud.org

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLIMUD)
Meşrutiyet Cad. Kültür Apt. No: 38/15 Kat: 7 Kızılay-Ankara/Türkiye
Tel: +90 312 230 78 18 • +90 530 693 86 67
info@klimud.org • klimud@gmail.com