

İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanının Laboratuvar Measisi: Basit Yöntemler, Hızlı Çözümler

Mehtap Aydın

KLİMİK Derneği Aylık Bilimsel Toplantısı

24 Nisan 2018

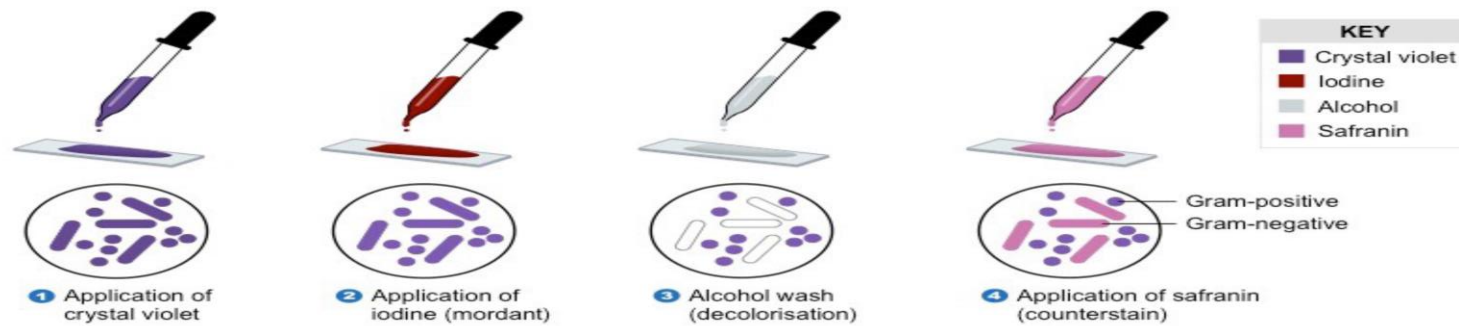
Solunum Yolu Örneklerinin Gram
Boyamasıyla İncelenmesi: Ne kadar
Yol Gösteriyor

Gram Boyaması

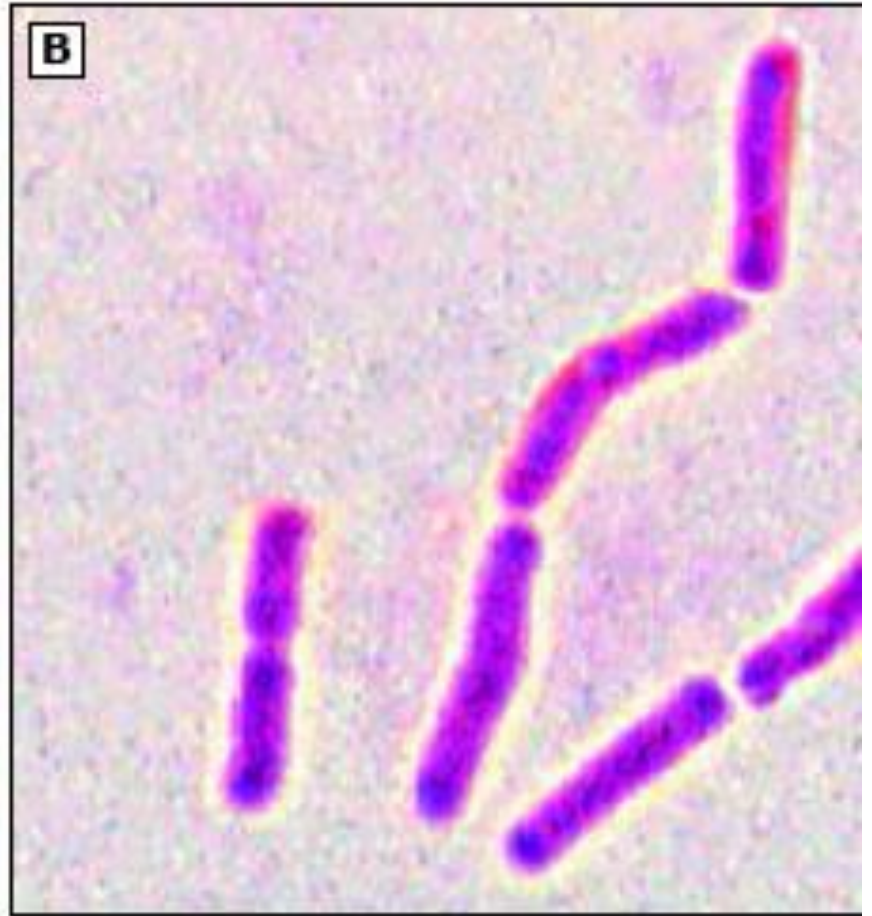
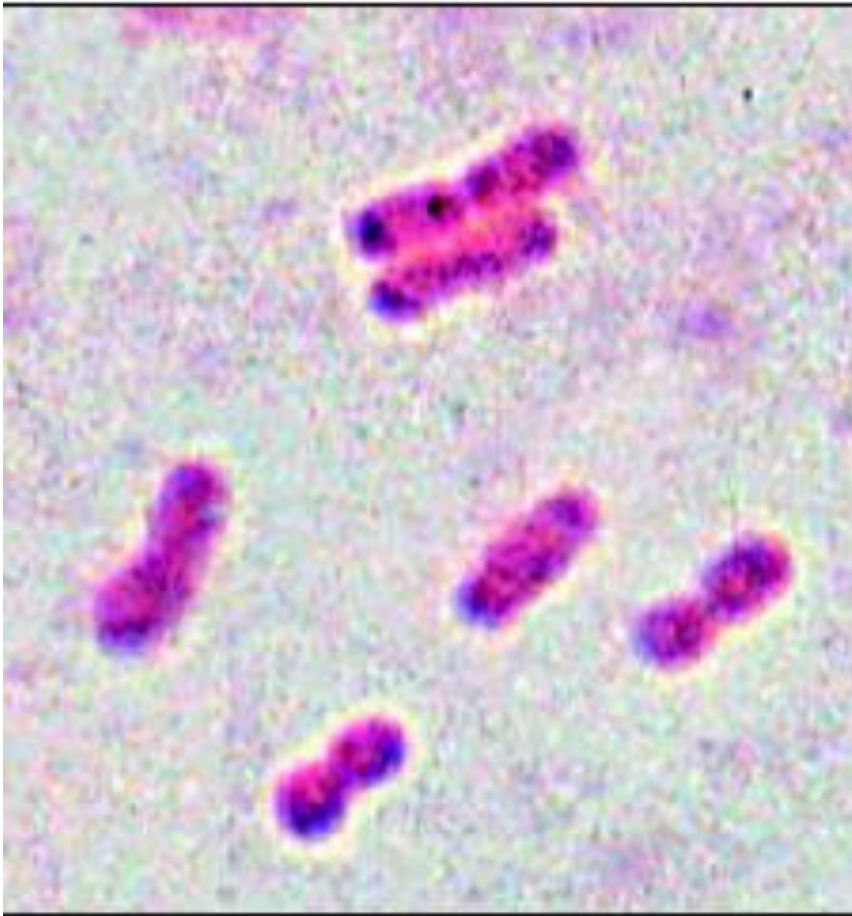


- Hans Christian Joachim Gram
- 1884 yılında iki büyük bakteri grubunu ayırt etmek için bir yöntem geliştirdi
“Gram Boyaması”
- Klinik mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları alanında en önemli ve en yaygın kullanılan test
 - Kültür sonuçlarından daha hızlı sonuçlanıyor
 - Ampirik tedavi seçimine yön veriyor

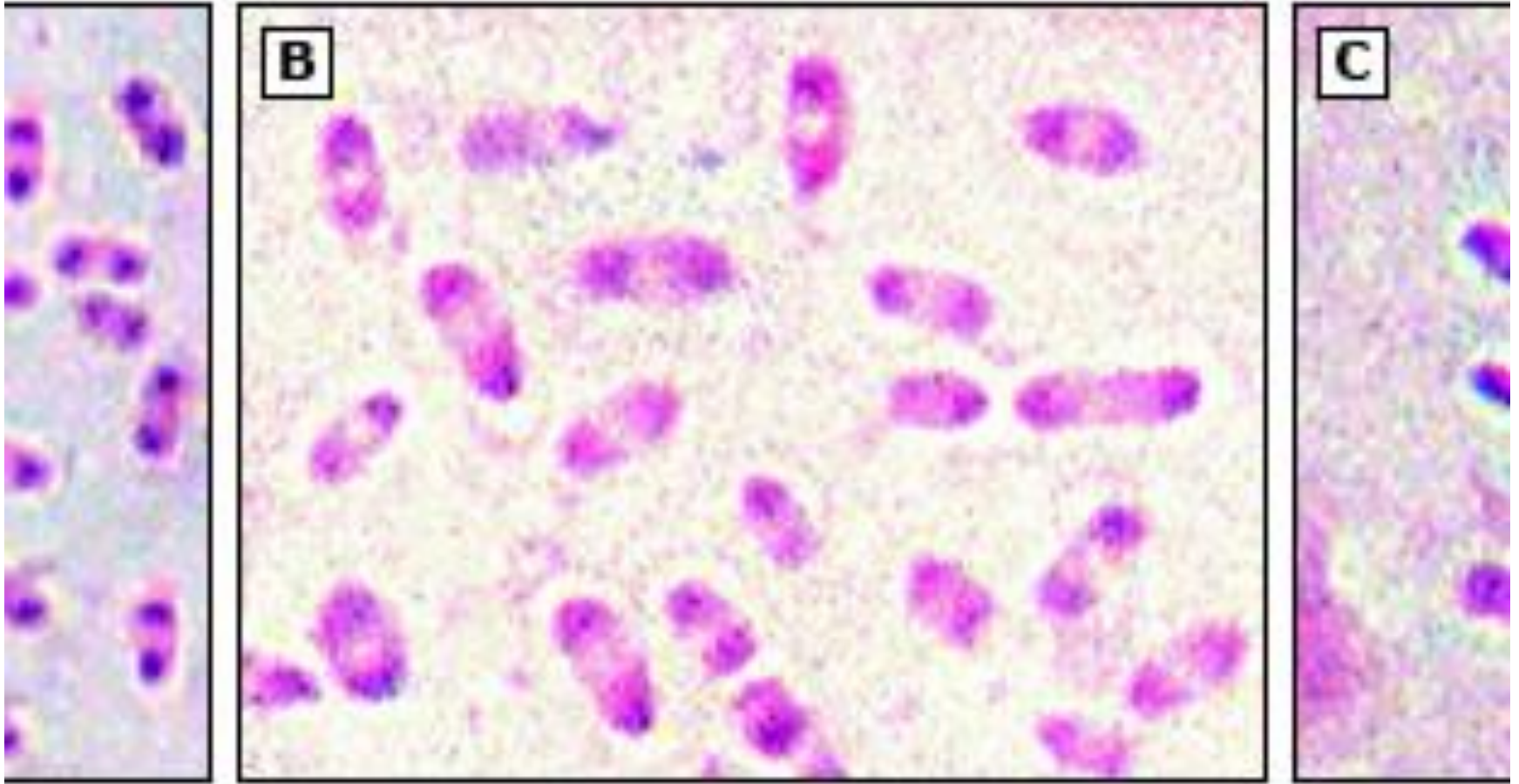
Gram Boyaması



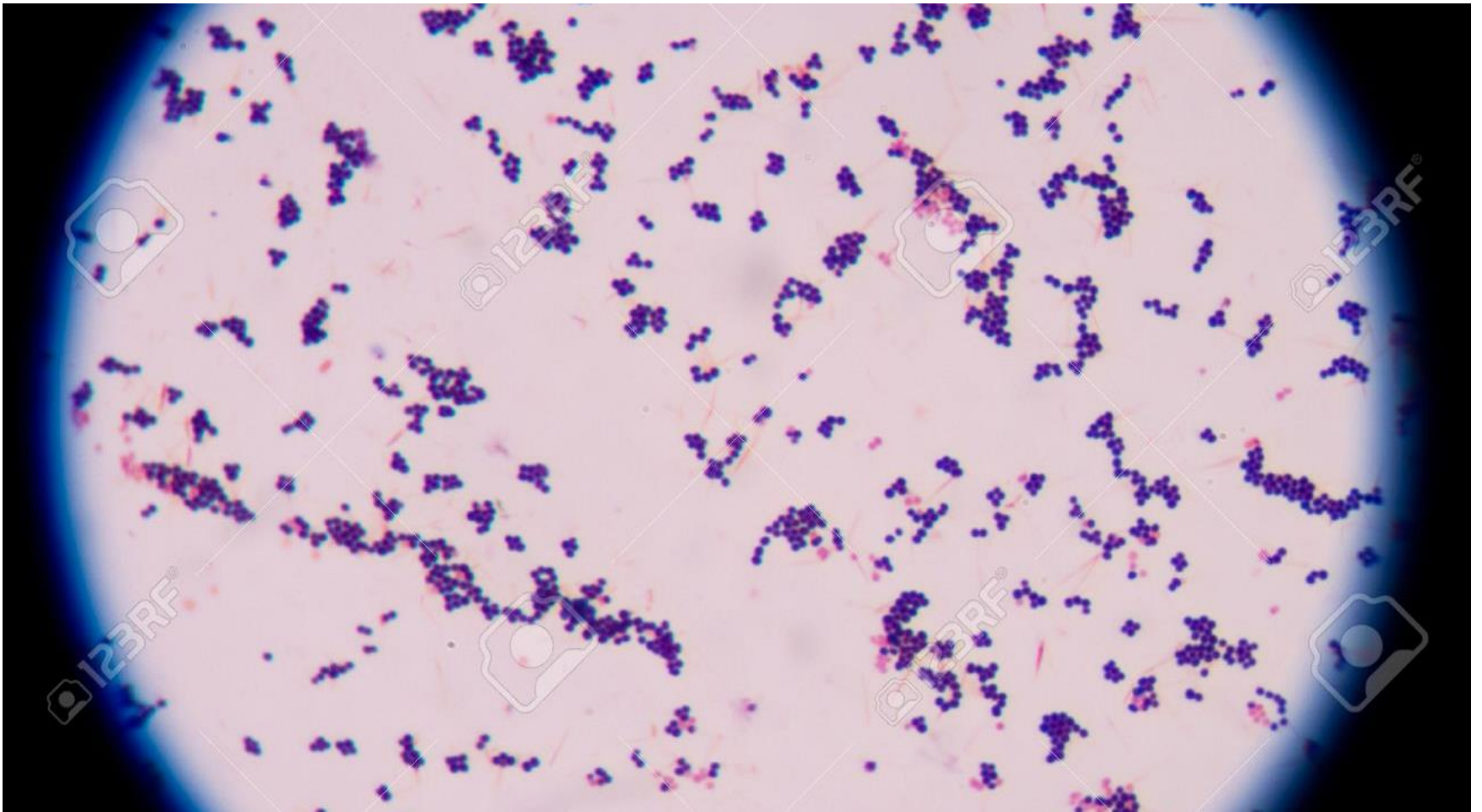
Gram - basil



Gram - basil



Gram + koklar



Olgu

- 42 yaşında erkek
- Ateş, göğüs ağrısı, balgam
- Özgeçmişinde özellik yok
- FM: Raller var
- O₂ saturasyonu %94
- Lökositoz, CRP yüksekliği



Balgam / Mikrobiyoloji

- Uygun alınması
- Hızlı taşınması
- Laboratuvarda örneklemenin doğru yapılması (pürülan kısım)
- Boyamanın iyi yapılması ve iyi yorumlanması

Balgam / Mikrobiyoloji Uygun örnek alınması

- Örnek vermeden önce 1-2 saat yemek yememeli
- SF/ Su ile ağız çalkalanmalı
- Derin nefes alıp öksürerek balgam çıkarmalı
- Derhal laboratuvara ulaştırılmalı

Balgam / Mikrobiyoloji Uygun örnek alınması

- **İndüklenmiş balgam**

- Balgam çıkaramayan hastalarda
- %3-5 NaCl nebulizatörle aerosol olarak 4 kez 5'er dakika solutulur

Balgam incelemesi

- Renk
- Miktar
- Kıvam
- Koku
- Mukopürülan balgam: bakteriyel pnömoni, bronşit
 - Mycoplasma ve adenovirüs pnömonisi olan hastaların 1/2-1/3'ü aynı karakterde olabilir

Balgam incelemesi

- Yetersiz veya sulu balgam: atipik pnömonilerde
- Passlı balgam: alveolar tutulum, pnömokokal pnömonide
- Koyu kırmızı, mukoid balgam: *Klebsiella pneumoniae* pnömonisinde
- Kötü koku: karışık, anerobik mikroorganizma, aspirasyon pnömonisi

Balgam incelemesi

- Balgam incelemesinin faydasını artırmak için orofarengeal kontaminasyonun en az olan örnekler incelemeye alınmalıdır
 - > 25 epitel, <10 lökosit incelenmemelidir
- Görülen bakterilerin boyanma özellikleri ve morfolojileri tanımlanmalıdır
- Bakteriyel baskınlık yoksa bildirilmelidir

Balgamın Gram ile İncelemesi

- Bartlet 1974
- Murray ve Washington 1975
- Geckler 1977

Bartlet Skorlama

	Hücre	Skor
X100 Lökosit	< 10	0
	10-25	+1
	>25	+2
		+3
	Mukus	
X100 Squamöz Epitel hücresi	10-25	-1
	>25	-2

20-30 alan incelenir, ≤ 0 skoru inflamasyon yok / kontaminasyon olarak değerlendirilir

Balgam İncelemesinin Zorlukları

- Pnömonili hastaların %40-60'ı balgam çıkaramıyor/uygun zamanda çıkaramıyor
- Örneklerin %40-60'ı orofarengeal kontaminasyonu nedeniyle yetersiz numune
- Antibiyotik başlanmış olması
- Birçok mikroorganizma Gram ile boyanmıyor (*Legionella spp*, *Mycoplasma spp*)

Taniya faydasını oldukça düşürüyor

Solunum yolu örnekleri

- Endotrakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj, transtorasik iğne aspirat kültürleri daha verimli
- Antibiyotik sonrası alınması akılcı değil
- Maliyet etkinliğinde uygun örnek toplanması ve işlem süreci önemli
 - Uygun endikasyon
 - Ciddi toplum kökenli pnömoni en iyi endikasyon

Endotrakeal aspirat örnekleri

- Gram boyaması ve kültürü ciddi toplum kökenli pnömoni nedeniyle entübe olan hastalarda öneriliyor
 - Hasta kooperasyonu gerektirmiyor
 - Alt solunum yolu örneği alınıyor
 - Orofarengeal kolonizasyonu yok
 - Nozokomiyal trakeal kolonizasyon entübasyondan hemen sonra alınmışsa sorun olmuyor



Balgam Gram Boyaması

Balgam kültürlerinin verimi tüm süreçten etkilenir

- Örnek toplama, taşıma, hızlı işlem, sitolojik kriterlerin uygunluğu, antibiyotik kullanımı ve yorumlama becerisi

Balgam Gram Boyaması

Gram boyamasının yararı

- Yaygın olmayanları kapsayacak ampirik tedavi seçimi (*S. aureus*, Gram -)
- Kültür sonucunun doğrulanması

Balgam Gram Boyaması

- Antibiyotik kullananlar (>24 saat) dışlandığında pnömokok
 - Gram boyaması ile %63
 - Balgam kültürü ile 86%
- Antibiyotik hiç kullanmayanlarda pnömokok
 - Gram boyaması ile %80
 - Balgam kültürü ile %93

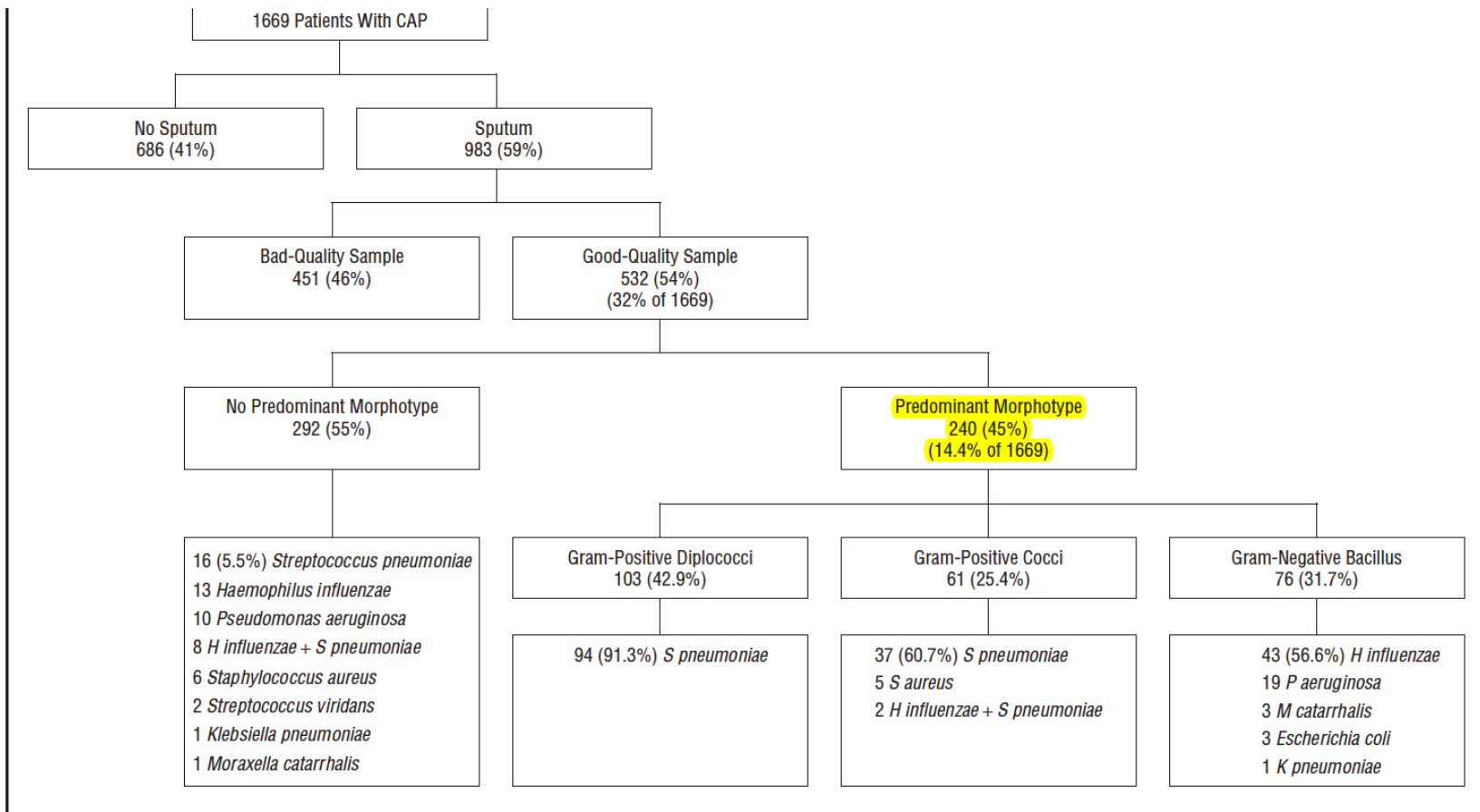
Balgam Gram Boyaması

- Pnömonokok %10-50 oranında sağlıklı nozofarengeal mikrobiyatasında bulunabilir
- Sıklıkla alt solunum yollarında (kronik bronşit) kolonize olabilirler
- Kolonizan bakterilerin Gram boyamasında görülebilmesi için çok miktarda olması gereklidir.
 - Taşıyıcılarda beklenmez
- *H. influenza* için sensitivitesi *S. pneumoniae*'den daha düşüktür (%40-80)

Balgam Gram Boyaması

Toplum kökenli pnömoni nedeniyle hastanede yatan 1669 hastada

- 983 (%59) örnek toplanmış
- 532 (%54) örnek kalitesi iyi
- 240 (%45) Gram boyamada baskın morfoloji
- 207 (%86) kültürde mikroorganizma tespit



In a study of 1669 patients with community-acquired pneumonia (CAP), bacterial pathogens could be identified in only 264 cultured sputum samples.

Bunların sadece %16'sının toplum kökenli pnömoni tanısına yol gösterici

Comparison between pathogen directed antibiotic treatment and empirical broad spectrum antibiotic treatment in patients with community acquired pneumonia: a prospective randomised study

M M van der Eerden, F Vlassembler, C S de Graaff, T Groot, W Bronsveld, H M Jansen, W G Boersma

Thorax 2005;60:672–678. doi: 10.1136/thx.2004.030411

See end of article for authors' affiliations

Correspondence to: Dr W G Boersma, Department of Pulmonary Diseases, Medical Centre Alkmaar, Wilhelminalaan 12, 1815 JD, Alkmaar, the Netherlands; w.boersma@mca.nl

Received 21 June 2004
Accepted 21 April 2005

Background: There is much controversy about the ideal approach to the management of community acquired pneumonia (CAP). Recommendations differ from a pathogen directed approach to an empirical strategy with broad spectrum antibiotics.

Methods: In a prospective randomised open study performed between 1998 and 2000, a pathogen directed treatment (PDT) approach was compared with an empirical broad spectrum antibiotic treatment (EAT) strategy according to the ATS guidelines of 1993 in 262 hospitalised patients with CAP. Clinical efficacy was primarily determined by the length of hospital stay (LOS). Secondary outcome parameters for clinical efficacy were assessment of therapeutic failure on antibiotics, 30 day mortality, duration of antibiotic treatment, resolution of fever, side effects, and quality of life.

Results: Three hundred and three patients were enrolled in the study; 41 were excluded, leaving 262 with results available for analysis. No significant differences were found between the two treatment groups in LOS, 30 day mortality, clinical failure, or resolution of fever. Side effects, although they did not have a significant influence on the outcome parameters, occurred more frequently in patients in the EAT group than in those in the PDT group (60% v 17%, 95% CI –0.5 to –0.3; $p<0.001$).

Conclusions: An EAT strategy with broad spectrum antibiotics for the management of hospitalised patients with CAP has comparable clinical efficacy to a PDT approach.

Toplum kökenli pnömonide tanısal yaklaşımı araştıran randomize kontrollü çalışmada

- Patojene yönelik veya ampirik tedavi arasında mortalite oranlarında ve hastanede yatış süresinde anlamlı farklılık bulunmamış
- YBU yatışı olanlarda patojene yönelik tedavi grubunda mortalite anlamlı düşük bulunmuş

Balgam Gram Boyaması

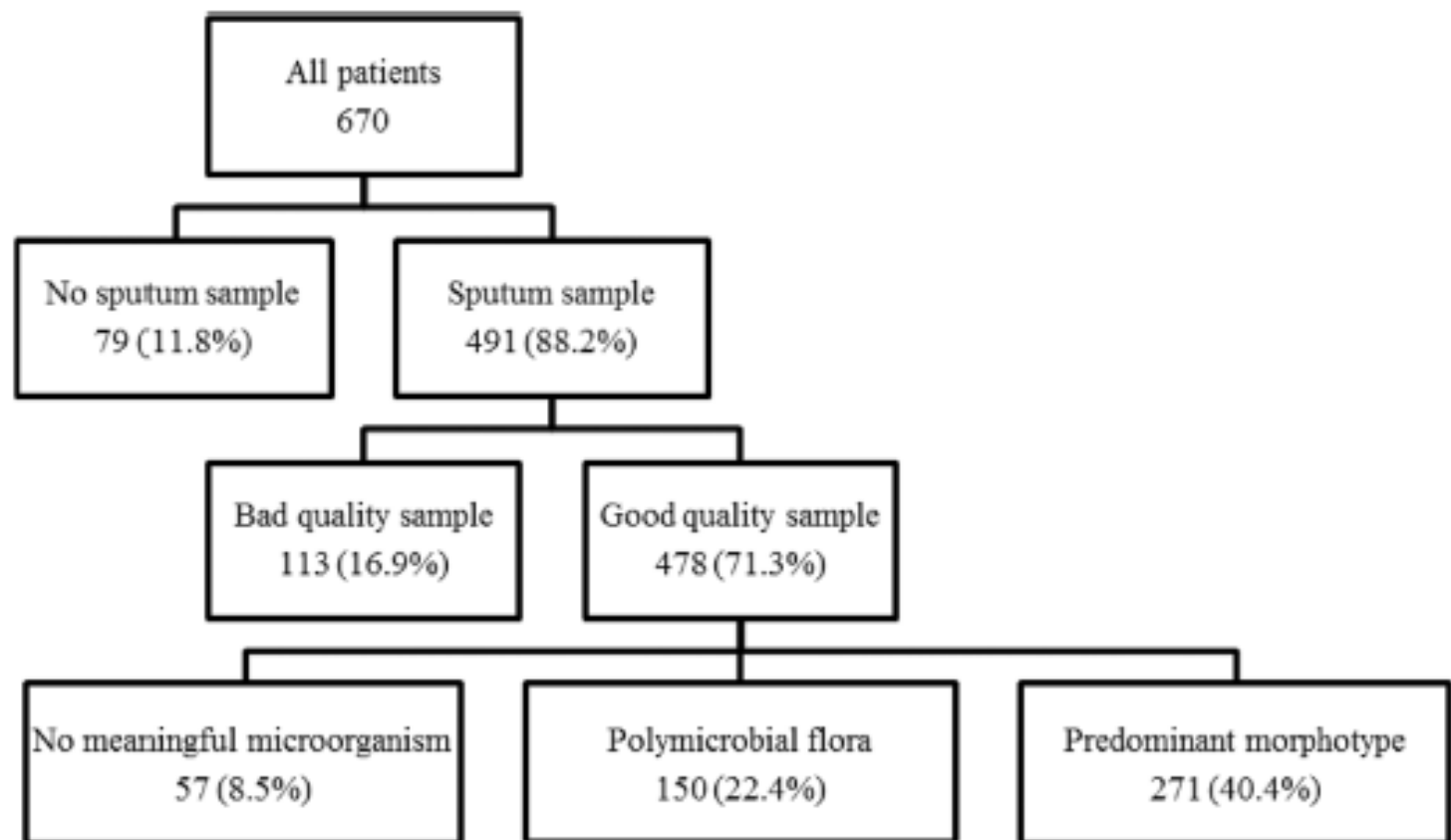
- 17 340 hastanede yatan pnömonili hastada sadece %7,6 mikrobiyal teşhis yapılmış
- Randomize çalışmada, örnek alımı için 4 saatlik gecikme, mortalitede anlamlı artışa neden olmuş

Balgam Gram Boyaması

Sağlık bakımı ilişkili pnömoni hastalarda:
prospektif gözlemsel çalışmada

Balgam Gram boyamanın sensitivite and spesifitesi

- *Streptococcus pneumoniae* %62 ve %91.5
- *Haemophilus influenzae* %60.9 ve %95.1
- *Moraxella catarrhalis* %68.2 ve %96.1
- *Klebsiella pneumoniae* %39.5 ve %98.2
- *Pseudomonas aeruginosa* %22.2 ve %99.8
- *Staphylococcus aureus* %9.1 ve %100



Results of sputum Gram stain in patients with CAP and HCAP.

Appropriateness of expectorated sputum cultures in the hospital setting



Caroline E. Sloan ^a, Shaina Bernard ^b, Irving Nachamkin ^{a,c,*}

^a Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

^b Pharmacy, Hospital of the University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

^c Department of Pathology and Laboratory Medicine, Clinical Microbiology Laboratory, Hospital of the University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 November 2014

Received in revised form 29 April 2015

Accepted 16 May 2015

Available online 21 May 2015

ABSTRACT

We assessed whether expectorated sputum samples are ordered according to national guidelines and the impact of culture results on patient management. Overall, guidelines for ordering sputum samples were followed for 23% (18/78) of patients. Results affected treatment in 18% (14/79) of cases. **Reducing inappropriate sputum cultures may have significant economic savings in the hospital system.**

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

122 balgam örneğinin 94 (%23)'ü ATS/IDSA kriterlerini karşılıyor

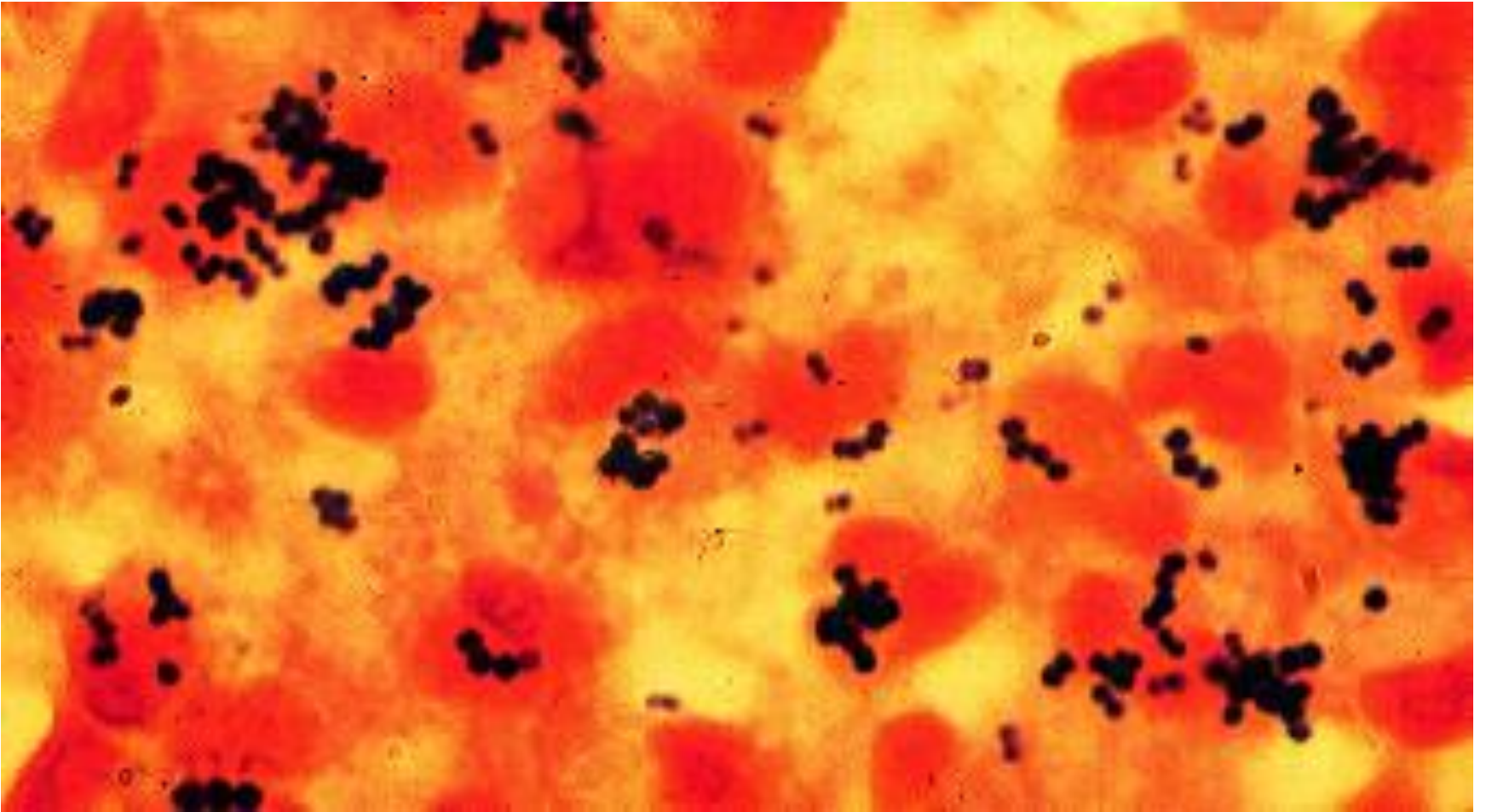
- Hastaların yarısında pnömoni ayırıcı tanıda
- Sıklıkla 'pan-culture'
- >24 saat antibiyotik kullanan hastalar

Uygun olmaya balgam örneklerini azaltmak ekonomik kazanç sağlar

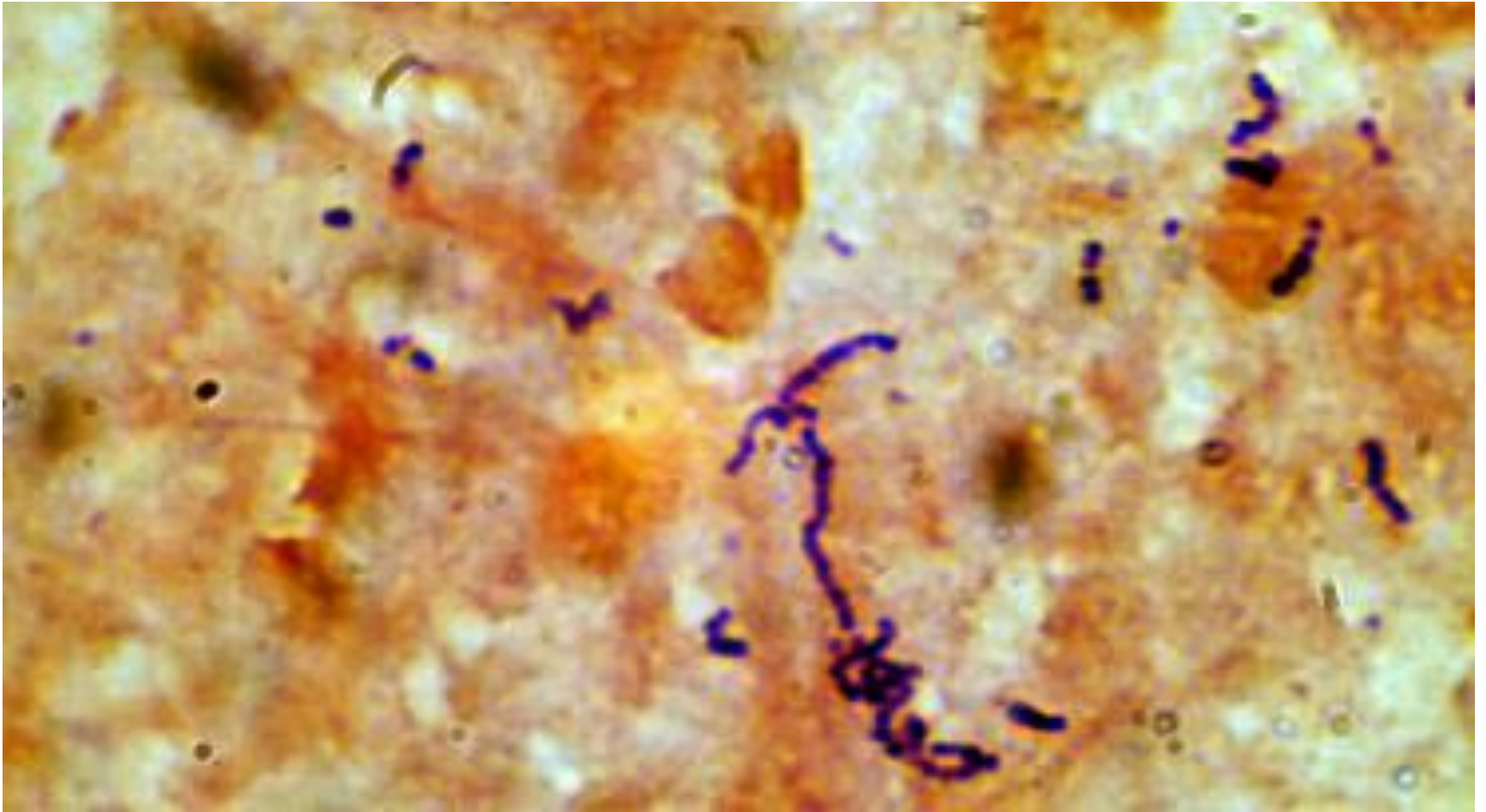
Balgam Kültürü?

- Balgam kültürü de Gram boyaması gibi tartışmalı
- Bakteriyemisi olan pnömokokal pnömonili hastaların balgam kültürü pozitiflik oranları (%24-94)
- H. influenza pnömonisi için (% 35-73)

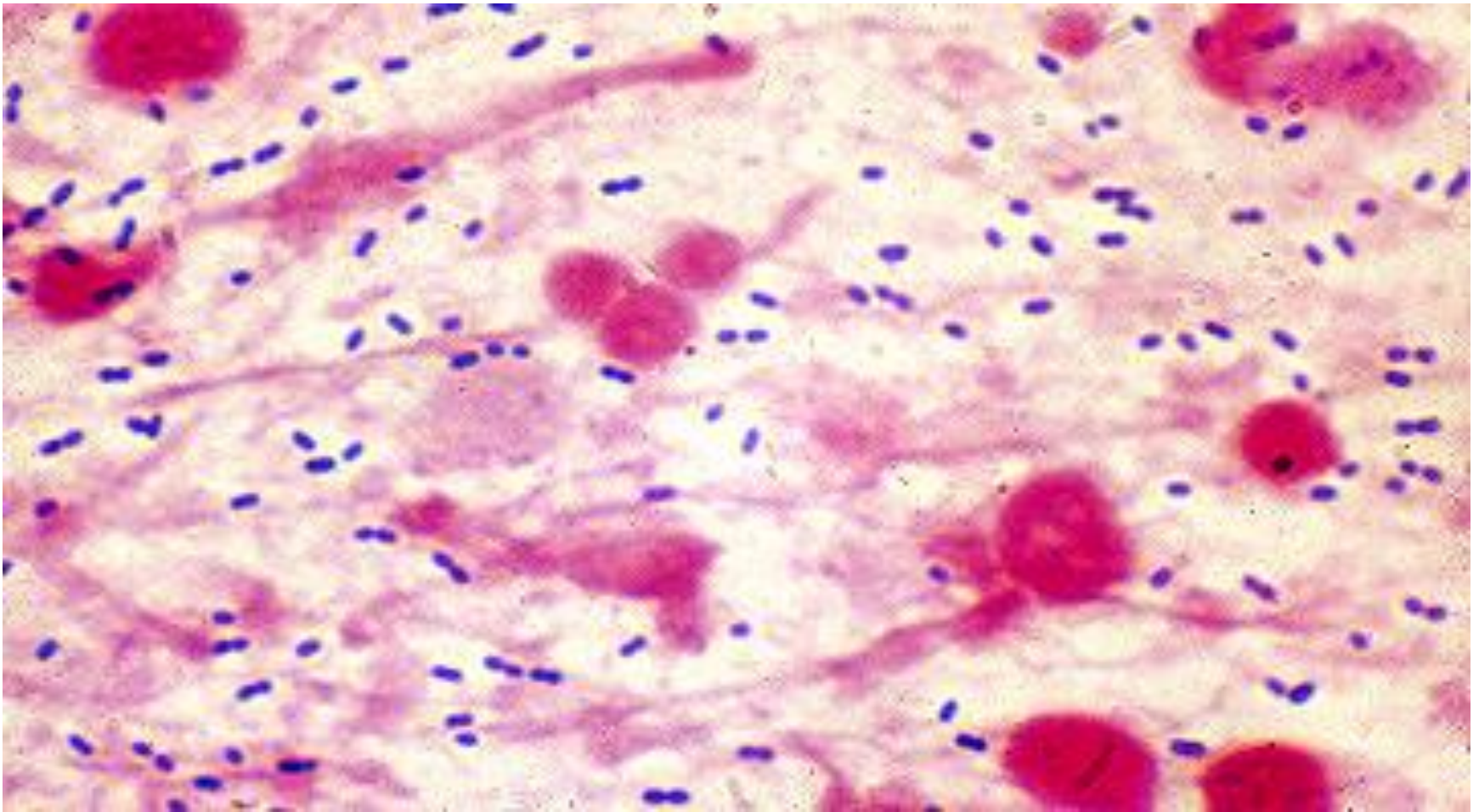
Gram + kok kümeleri



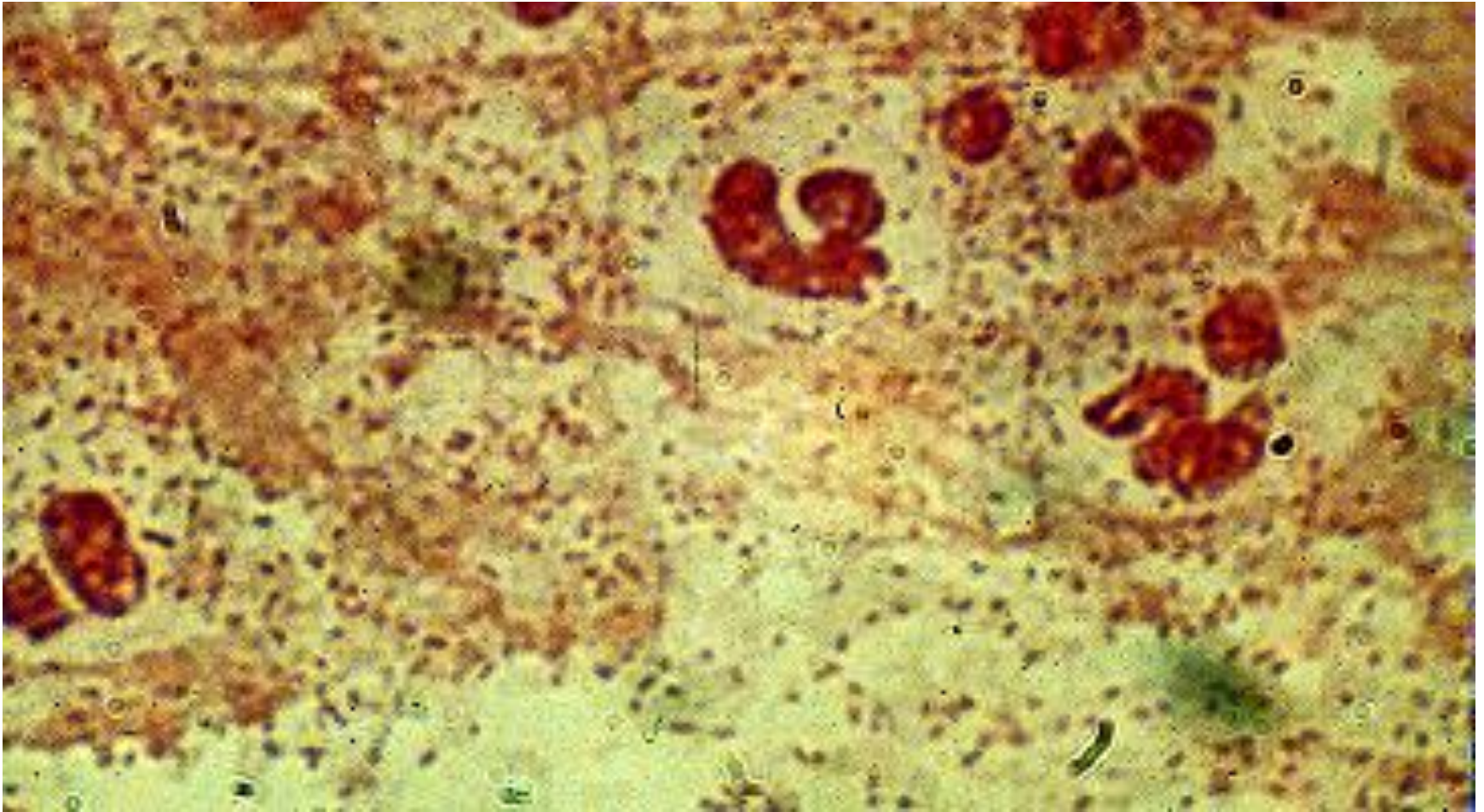
Gram + zincir yapan koklar



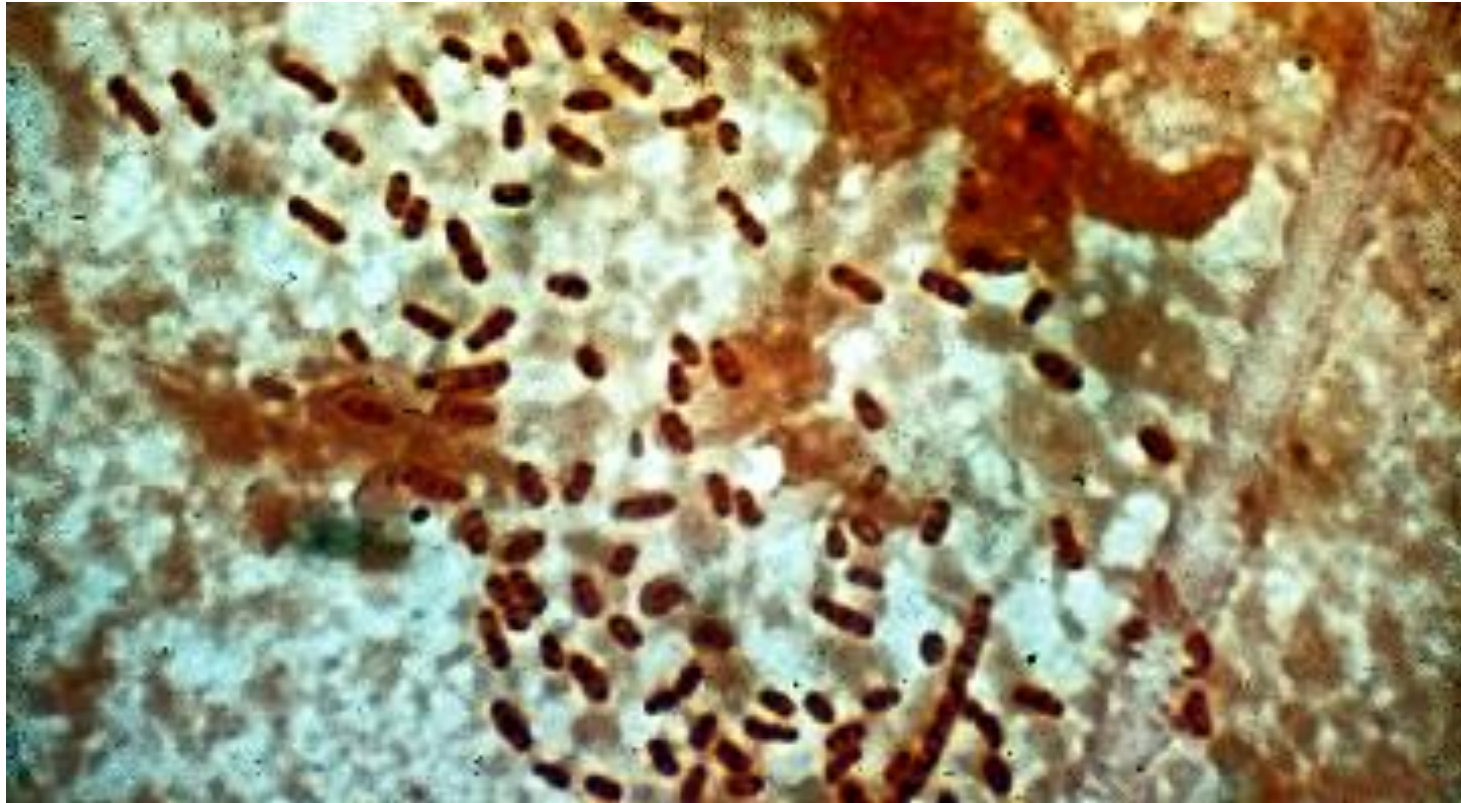
Gram + diplokoklar

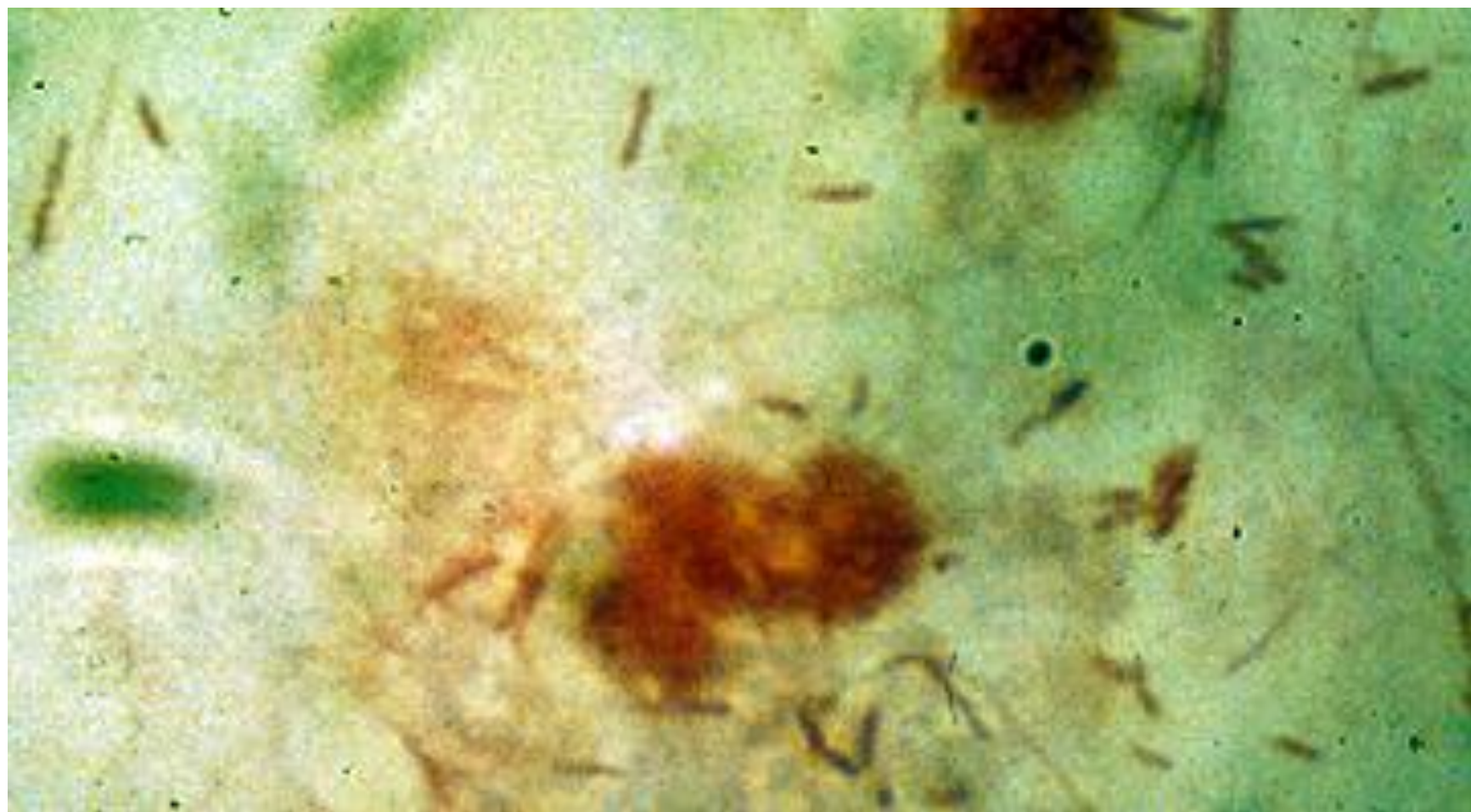


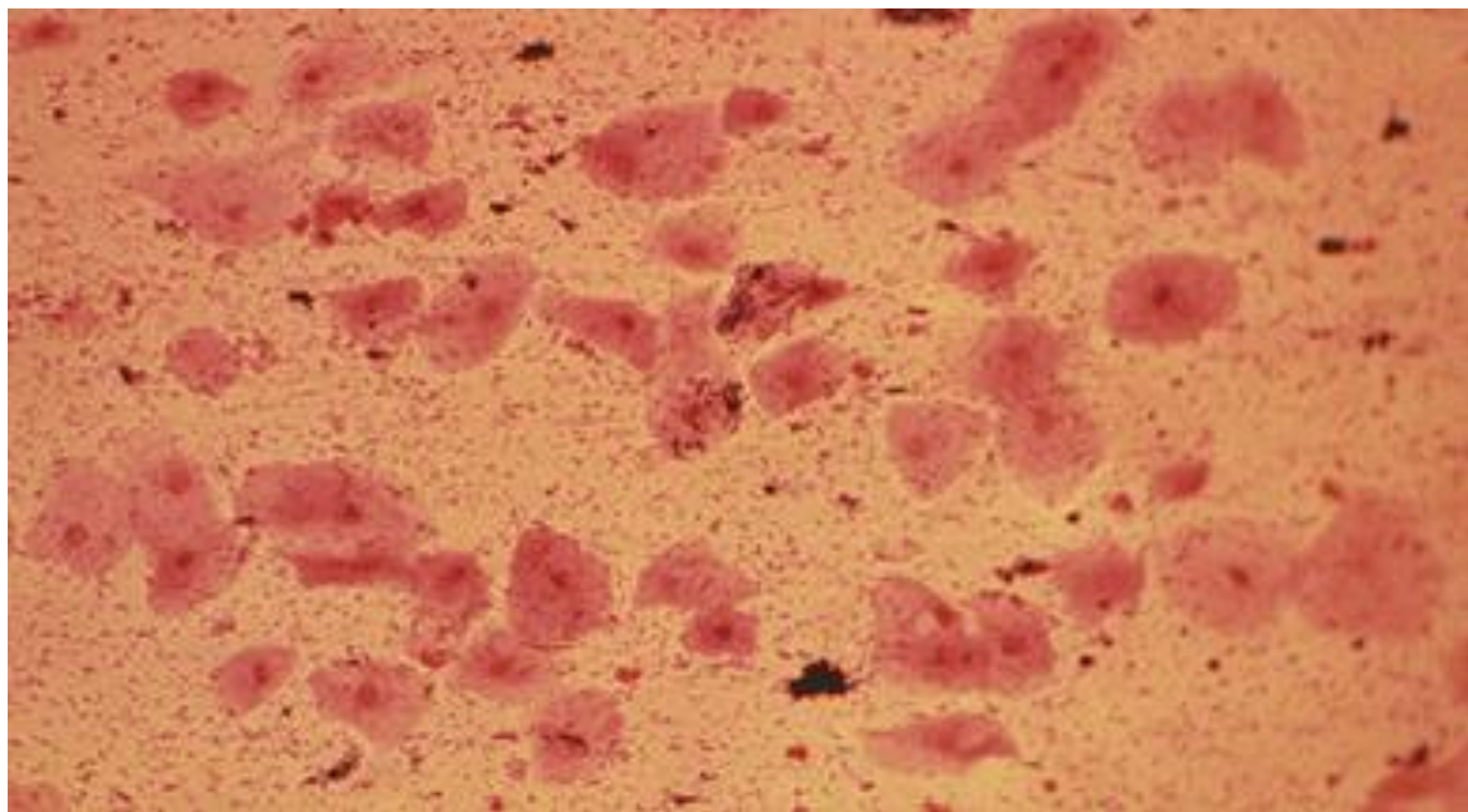
Zayıf gram - basiller



Gram - basil







The significance of bacterial engulfment in Gram-stained sputum in patients with respiratory infections

Masafumi Shimoda, MD^a, Takeshi Saraya, MD, PhD^{a,*}, Shota Yonetani, PhD^b, Koji Araki^b, Hajime Takizawa, MD, PhD^a

Abstract

In general, physicians believe that the presence of bacterial engulfment in white blood cells (WBCs) on Gram-stained sputum is a hallmark of lower respiratory infection. However, no studies have described the significance or diagnostic accuracy of engulfment in lower respiratory tract infections.

We prospectively studied sputum samples by Gram staining (Favor method) for their quality and engulfment score obtained from patients with respiratory symptoms at inpatient and outpatient settings at Kyorin University Hospital from December 2012 and April 2015.

- 163 kaliteli balgam örneği
- İnfeksiyonu olanlar (n:93)
 - Pnömoni (%65)
 - Bronşit (%26)
 - Aspirasyon pnömonisi (%5)
 - İnfluenza (%4)
- İnfeksiyonu olmayanlar (n:70)

The significance of bacterial engulfment in Gram-stained sputum in patients with respiratory infections

Masafumi Shimoda, MD^a, Takeshi Saraya, MD, PhD^{a,*}, Shota Yonetani, PhD^b, Koji Araki^b, Hajime Takizawa, MD, PhD^a

Abstract

In general, physicians believe that the presence of bacterial engulfment in white blood cells (WBCs) on Gram-stained sputum is a hallmark of lower respiratory infection. However, no studies have described the significance or diagnostic accuracy of engulfment in lower respiratory tract infections.

We prospectively studied sputum samples by Gram staining (Favor method) for their quality and engulfment score obtained from patients with respiratory symptoms at inpatient and outpatient settings at Kyorin University Hospital from December 2012 and April 2015.

Balgamın kalitesi iyi olsa da “engulfment” her zaman infeksiyonu göstermiyor

İnfeksiyonu olmayan hastalarda nötrofiller içinde bakteriyel “engulfment” olabilir

The significance of bacterial engulfment in Gram-stained sputum in patients with respiratory infections

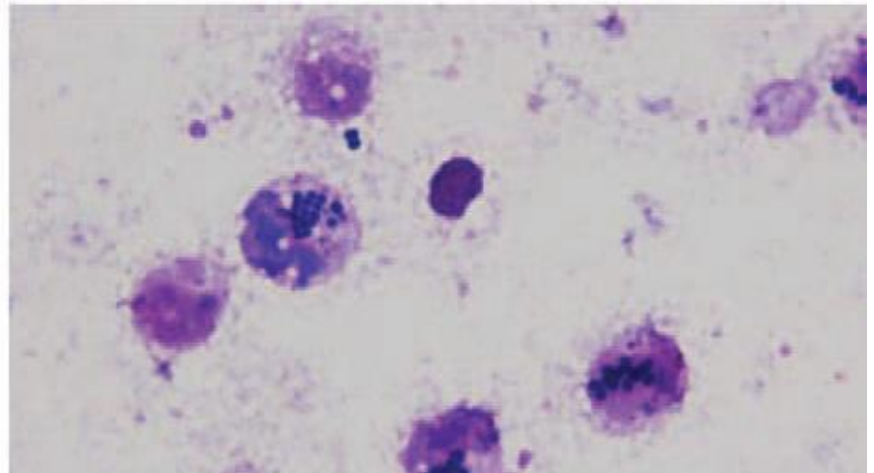
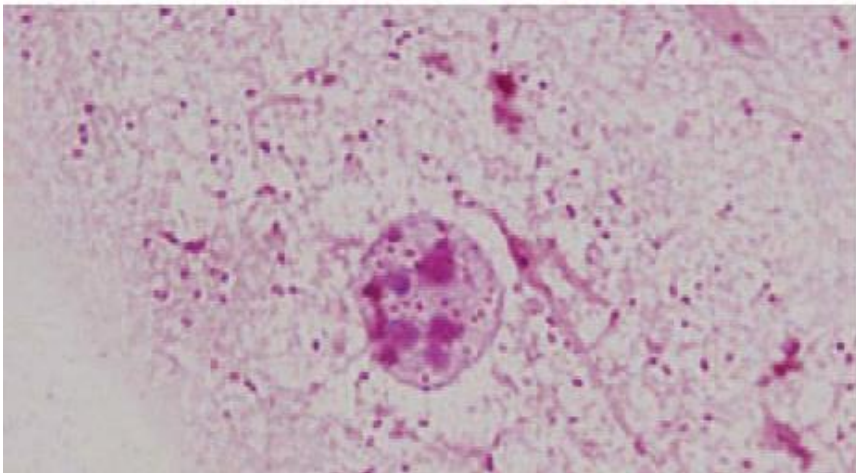
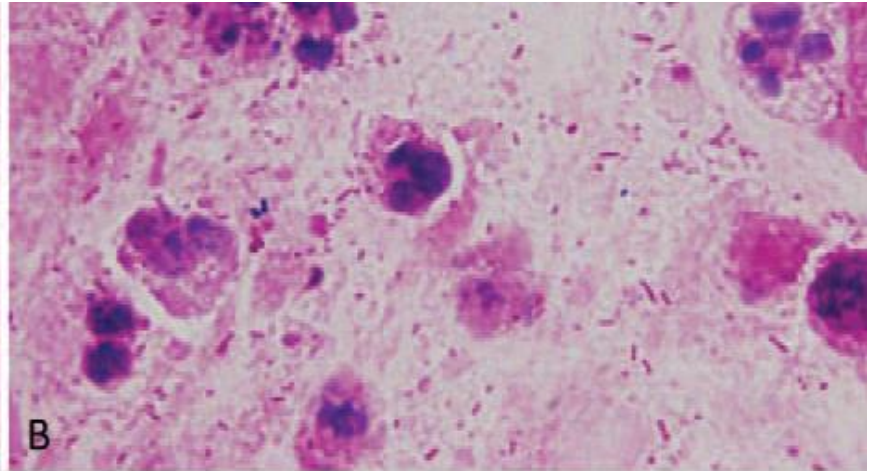
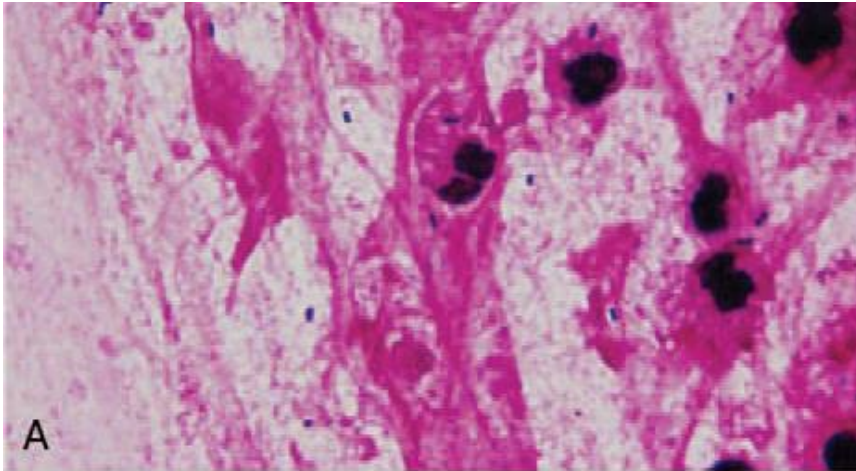
Masafumi Shimoda, MD^a, Takeshi Saraya, MD, PhD^{a,*}, Shota Yonetani, PhD^b, Koji Araki^b, Hajime Takizawa, MD, PhD^a

Abstract

In general, physicians believe that the presence of bacterial engulfment in white blood cells (WBCs) on Gram-stained sputum is a hallmark of lower respiratory infection. However, no studies have described the significance or diagnostic accuracy of engulfment in lower respiratory tract infections.

We prospectively studied sputum samples by Gram staining (Favor method) for their quality and engulfment score obtained from patients with respiratory symptoms at inpatient and outpatient settings at Kyorin University Hospital from December 2012 and April 2015.

- Bakteriye göre sonuçlar değişir
- Non-streptokokların “engulfment” skoru enfeksiyon olan grupta fazla
- *S. pneumoniae* “engulfment” skoru enfeksiyonu olan ve olmayanlarda aynı
 - Kapsülü nötrofil aracılı immüniteye etkisi
 - Opsofagozitozu inhibisyonu?



X1000, WBC içindeki

A: *S. pneumoniae*, B: *H. influenza*, C: *Moraxella catarrhalis* D: *S. aureus*

Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults

Lionel A. Mandell,^{1,a} Richard G. Wunderink,^{2,a} Antonio Anzueto,^{3,4} John G. Bartlett,⁷ G. Douglas Campbell,⁸ Nathan C. Dean,^{9,10} Scott F. Dowell,¹¹ Thomas M. File, Jr.,^{12,13} Daniel M. Musher,^{5,6} Michael S. Niederman,^{14,15} Antonio Torres,¹⁶ and Cynthia G. Whitney¹¹

¹McMaster University Medical School, Hamilton, Ontario, Canada; ²Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, Illinois;

³University of Texas Health Science Center and ⁴South Texas Veterans Health Care System, San Antonio, and ⁵Michael E. DeBakey Veterans Affairs Medical Center and ⁶Baylor College of Medicine, Houston, Texas; ⁷Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland;

⁸Division of Pulmonary, Critical Care, and Sleep Medicine, University of Mississippi School of Medicine, Jackson; ⁹Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, LDS Hospital, and ¹⁰University of Utah, Salt Lake City, Utah; ¹¹Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia; ¹²Northeastern Ohio Universities College of Medicine, Rootstown, and ¹³Summa Health System, Akron, Ohio; ¹⁴State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, and ¹⁵Department of Medicine, Winthrop University Hospital, Mineola, New York; and ¹⁶Cap de Servei de Pneumologia i Allèrgia Respiratòria, Institut Clínic del Tòrax, Hospital Clínic de Barcelona, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, CIBER CB06/06/0028, Barcelona, Spain.

Toplum Kökenli Pnömonide Tanısal Testler

- Spesifik patojen şüphesi varsa öneriliyor (MR;Level III)
 - Ampirik tedavi başarısız olabilir (Tularemi vs)
- Ayaktan hastalara rutinde isteğe bağlı (MR;Level I)
 - Ampirik tedaviye iyi yanıt veriyor
 - Ancak epidemiyolojik önemi olan patojenler, (*spesifik tedavileri, kemoprofilaksi, biyoterörizm, salgın zamanları*) hariç

Toplum Kökenli Pnömonide Tanısal Testler

- Hastaneye yatırılan hastalarda bazı **endikasyonlar** varsa öneriliyor, yoksa isteğe bağlı (MR;Level I)
- Sadece balgamın **kalitesi iyi** ise (MR;Level II)
 - Toplanma, taşınma, işlem
- **Ciddi** toplum kökenli pnömoni (MR;Level II)
 - Kan kültürü, üriner antijen testi (*S. aureus*, *Legionella pneumophilia*, *P. aeruginosa*, Gram negatifler)
 - Endotrakeal aspirat

Tedavi öncesi balgam gram yayması yapılması önerilen endikasyonlar

Hastaneye yatırılan hastalarda

- Yoğun bakım ünitesinde yatış
- Antibiyotiğe yanıtı olmayan ayaktan hasta
- Kaviter infiltrasyon
- Lökopeni
- Aktif alkol kullanımı
- Ciddi karaciğer hastalığı
- Ciddi obstruktif/yapısal akciğer hastalığı
- Aspleni
- Seyahat (son 2 hafta içinde)
- Pozitif üriner antijen testi (Lejyonella, pnömokok)
- Plevral efüzyon

Sonuç

- Balgam çıkaran, kaliteli örnek veren ve antibiyotik kullanmayan hastalarda balgam Gram boyaması %80 oranında pnömoni tanısına faydalı bulunmuştur
- İnvaziv olmayan, ucuz
- Ampirik tedavi seçimine oldukça faydalıdır
- Sensitivitesi ve spesifitesi tartışmalı olsa da balgamın mikroskopik incelemesi pnömoni tanısının asıl yol göstericisidir

A photograph of a pond with several lily pads. The water is green and murky, with some small white flowers and debris floating on the surface. A dragonfly larva is visible on one of the lily pads. The text "Teşekkürler" is written in a cursive font across the center of the image.

Teşekkürler