



Geç Dönemde Hastanede Gelişen Pnömoni Etkenlerinin Hızlı Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Saptanması

The Detection of Causative Agents With Rapid Molecular Biological Methods in Late Onset Hospital Acquired Pneumonia

Ahmet UYSAL¹([iD](#)), Mehmet Sezai TAŞBAKAN²([iD](#)), Şöhret AYDEMİR³([iD](#)), Hüsnü PULLUKÇU⁴([iD](#)), Feriha ÇİLLİ³([iD](#)), Feza BACAĞOĞLU²([iD](#))

¹ Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, Edirne, Türkiye

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makale atfı: Uysal A, Taşbakan MS, Aydemir Ş, Pullukçu H, Çilli F, Bacakoğlu F. Geç dönemde hastanede gelişen pnömoni etkenlerinin hızlı moleküler biyolojik yöntemlerle saptanması. FLORA 2021;26(1):78-87.

ÖZ

Giriş: Hastaneye yatışı takip eden beşinci günden sonra ortaya çıkan geç dönemde hastanede gelişen pnömonilere (HGP) genellikle çok ilaca dirençli bakteriler neden olmaktadır. Etkenlerin geç saptanması, uygun antibiyotiğin zamanında başlanamaması HGP prognozunu olumsuz olarak etkilemektedir. Son yıllarda infeksiyon etkeni mikroorganizmaların hızlı moleküler yöntemlerle kısa sürede izole edilmesi, tedavinin daha erken ve etkin olarak başlanmasını sağlamaktadır. Bu çalışmada, HGP'de etkenlerin hızlı moleküler yöntemlerle saptanması ve sonuçların konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Ocak 2014 ile Ocak 2016 tarihleri arasında göğüs hastalıkları ile anestezi ve reanimasyon yoğun bakım ünitelerinde izlenen ve 2005 yılında yayımlanan ATS-IDSA kriterlerine göre HGP tanısı alan altmış iki hasta çalışmaya alınmıştır. HGP tanısı düşüldüğü anda hastalardan bronkoskopik (BAL, BASP) ve nonbronkoskopik (mini-BAL) yöntemlerle alt solunum yolu örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler hem konvansiyonel yöntemler ve hem de hızlı moleküler yöntemlerle bakteriyolojik etkenler açısından incelenmiştir.

Bulgular: Hastanede gelişen pnömoni tanısı alan altmış iki hasta (kırk iki erkek, yaş ortalaması 69.7 ± 15.6) alınmıştır. Hastaların %95.2'sinde ek hastalık olup, otuz üç hastaya invaziv mekanik ventilasyon (İMV), 28 hastaya İMV + non-invaziv mekanik ventilasyon (NİV) uygulanmıştır. Konvansiyonel yöntem ile altmış iki hastanın kırkında (%64.5) bakteriyel etken saptanırken, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile altmış iki hastanın elli yedisinde (%91.9) bakteriyel etken izole edilmiştir. Etken saptanması açısından konvansiyonel yöntem ile PZR yönteminin birbiriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir (κ : 0.797). Ayrıca, PZR ile etken saptanma oranının anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p= 0.0004$). Her iki yöntem ile en sık *Acinetobacter baumannii* saptanmıştır. İzlemede altmış iki hastanın kırk beşinde (%72.6) mortalite izlenmiştir.

Sonuç: Geç dönemde ortaya çıkan HGP etkenlerinin saptanmasında konvansiyonel yöntemler ile PZR arasında uyumun iyi olduğu ve PZR ile daha fazla hastada etken saptanabileceği bu çalışmada gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hastanede gelişen pnömoni; Bakteriyel etkenler; Hızlı moleküler yöntemler; Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

ABSTRACT

The Detection of Causative Agents With Rapid Molecular Biological Methods in Late Onset Hospital Acquired PneumoniaAhmet UYSAL¹, Mehmet Sezai TAŞBAKAN², Şöhret AYDEMİR³, Hüsnü PULLUKÇU⁴, Feriha ÇİLLİ³, Feza BACAĞOĞLU²¹ Clinic of Chest Diseases, Trakya University, Faculty of Medicine Hospital, Edirne, Turkey² Department of Chest Diseases, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey³ Department of Medical Microbiology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey⁴ Department of Infectious Diseases and Clinic Microbiology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey

Introduction: Late-onset hospital-acquired pneumonia (HAP) developing after the fifth day following admission to the hospital is usually caused by multi-drug resistant bacteria. Late detection of the agents and failure in starting the appropriate antibiotic treatment timely negatively affect HAP prognosis. Isolating infectious microorganisms in a short time by fast molecular methods in the last years has ensured that treatment can be started earlier and more effectively, which is thought to affect prognosis positively. In this study, it was aimed to determine the factors in HAP with rapid molecular methods and to compare the results with conventional methods.

Materials and Methods: A total of 62 patients diagnosed with HAP according to the criteria of ATS/IDSA published in 2005 and followed-up in the intensive care units of Anesthesia and Reanimation Department and Chest Disease Departments between January 2014 and January 2016 were included into the study. Lower respiratory tract samples were obtained from patients after HAP diagnosis with bronchoscopic (bronchoalveolar lavage (BAL), bronchoscopic aspiration (BASP) and non-bronchoscopic (mini-BAL) methods. The samples were examined in terms of bacteriological agents with conventional methods and fast molecular methods.

Results: Sixty-two patients (42 males, mean age: 69.7 ± 15.6) diagnosed with hospital-acquired pneumonia were included. Ninety-five point two percent of the patients had a comorbid disease. Invasive mechanical ventilation (IMV) was applied to 33 patients and non-invasive mechanical ventilation (NIV) was applied to 28 patients. In a total of 62 patients conventional methods and polymerase chain reaction (PCR) were used to detect in 40 (64.5%) and in 57 (91.9%) patients, respectively. It was observed that the conventional method and the PCR method were compatible with each other in terms of detecting the agent (kappa: 0.797). Besides, PCR was found to have a significantly higher rate of agent detection (p= 0.0004). *Acinetobacter baumannii* was detected most frequently with both methods. In the follow-up, mortality was observed in 45 (72.6%) of the 62 patients.

Conclusion: As a result, it was shown in this study that there is a good agreement between conventional methods and PCR in the detection of late-onset HAP agents and that agents can be detected by PCR in more patients.

Key Words: Hospital-acquired pneumonia; Bacterial agents; Rapid molecular methods; Polymerase chain reaction (PCR)

GİRİŞ

Hastanede Gelişen Pnömoni (HGP); hastaneye yatıktan 48 saat sonra gelişen ve hastanın yatışında inkübasyon döneminde olmadığı bilinen pnömoni olguları ile, hastaneden taburcu olduktan sonraki 48 saat içinde ortaya çıkan pnömoni olarak tanımlanır^[1]. HGP, tüm hastane kökenli infeksiyonlar içerisinde %22 oranında görülmekte olup hastanede gelişen infeksiyonlar arasında en sık mortaliteyi oluşturmaktadır^[2]. Gelişme süresine göre HGP, erken ve geç dönem HGP olarak ikiye ayrılır. Geç dönemde hastanede gelişen pnömoni, hastaneye yatıktan sonra beşinci ve daha sonraki günlerde gelişen pnömonidir. Geç dönemde HGP'lerde, *Acinetobacter baumannii*,

Pseudomonas aeruginosa, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve diğer *Enterobacteriaceae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gibi dirençli bakteriler etyolojide yer almaktadır^[1]. Otuz günlük mortalite oranı HGP için %29.9 iken, erken başlangıçlı HGP için %19.2, geç dönemde HGP için mortalite oranı %31.4'e yükselmektedir^[3].

Hastanede gelişen pnömoni tanısını koymak zor olduğu gibi etkenlerin de saptanması her zaman mümkün olamamaktadır. Tanı zorluğu, gereksiz antibiyotik kullanımına ve bunun sonucunda da antibiyotiklere dirençli bakteri infeksiyonu riski, toksisite ve tedavi maliyetinde artışa neden olmaktadır^[1].

Hastanede gelişen pnömoni veya ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) tanısını koymada altın standart bir yöntem yoktur. Tanı genellikle klinik olarak süphelenme sonucunda koyulmaktadır. Yapılan çalışmalarda klinik olarak VİP tanısı konulan hastaların %50'sinde VİP bulunmazken, buna karşın VİP'i olan hastaların yaklaşık olarak 1/3'üne tanı konulmadığı görülmüştür^[4]. Özellikle VİP düşünülen hastalarda klinik pulmoner infeksiyon skorunun (CPIS) kullanımı tanı koymada özgüllüğü ve duyarlılığı düşük olsa da tedavi izleminde ve tedaviyi sonlandırmada yol gösterici olmaktadır^[1].

Son yıllarda bakteriyel etkenlerin 2-6 saat içinde antibiyotik duyarlılık paternleri ile birlikte belirlenmesine olanak sağlayan hızlı moleküler yöntemlerin kullanımları gündeme gelmiştir^[5]. Ancak, bu moleküler yöntemlerin bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında ve trakeal aspirasyon örneklerinde kullanımı ile ilgili henüz yeterli kanıt bulunmamaktadır. Son yıllarda BAL sıvısı ve kanda bazı biyobelirteçlerin tanısal değerleri araştırılmaktadır. Özellikle prokalsitoninin ise VİP tanısı alan hastaların antibiyotik tedavi sürelerinin belirlenmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür^[6].

Geç dönemde ortaya çıkan HGP'nin mortalitesinin ve tedavi maliyetinin yüksek olması nedeniyle etiolojide yer alan etkenlerin saptanmasına yönelik yöntemlerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. HGP etkenlerinin hızlı moleküler yöntemlerle saptanması iletkene yönelik tedavinin kısa sürede başlanabilmesi ve olumlu klinik yanıtın erken alınması mümkün olacaktır. Bu çalışmada, geç dönemde ortaya çıkan HGP etkenlerinin saptanmasında hızlı moleküler yöntemler ile konvansiyonel yöntemlerin uyumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Ocak 2014-Aralık 2016 tarihleri arasında göğüs hastalıkları ile anestezi ve reanimasyon yoğun bakım ünitesinde izlenen ve 2005 yılında yayımlanan ATS/IDSA kriterlerine göre HGP tanısı alan altmış iki hasta çalışmaya alınmıştır.

Çalışmaya Alınma Ölçütleri

a. Hastaneye yatışından veya entübasyondan 48 saat sonra gelişen, akciğer grafisinde yeni ya da ilerleyici infiltrasyon saptanan hastalarda, >38°C ates, lökositoz (>12000 hücre/mm³) ya da lökopeni (<4000 hücre/mm³), pürülan sek-

resyon, oksijenizasyonda azalma kriterlerinden iki veya daha fazlasının olması^[7],

b. 18 yaşından büyük olmak,

c. Bilgilendirilmiş gönüllü onam almak (Hasta veremiyorsa yakınından),

d. Hastadan alt solunum yolu örneği (BAL, mini-BAL) almaya engel bir durumun olmaması.

Örneklerin Toplanması

BAL işleminde, entübasyon tüpü yoluyla fleksibl bronkoskop (Olympus CLE-10 USA) kullanılarak bronkoskopun aspirasyon kanalı yoluyla, %0.9 NaCl 20 mL fraksiyonlar halinde enjektörle verilmiş ve yine aynı enjektörle verilen sıvı aspire edilmiştir. Verilen toplam 120-150 cc sıvının %60'ın geri alınması hedeflenmiştir.

Bronkoskopik aspirasyon (BASP) işleminde, entübasyon tüpü yoluyla fleksibl bronkoskop (Olympus CLE-10 USA) kullanılarak; radyolojik bulgularına göre pnömoni düşünülen akciğer anatomik birimine bronkoskop ileletilip, bu alana bronkoskop aracılığı ile 50 mL %0.9 NaCl verilmiş ve verilen sıvı bronkoskopun aspirasyon sisteminden geri alınmıştır.

Mini-BAL işleminde, lavaj kateteri (combicath TM; plastimed, Saint-Leu-La Forçt, Fransa) entübasyon tüpü yoluyla alt hava yollarına iletilmiştir. İlerletme işlemi tamamlandıktan sonra kateter ucundaki koruyucu kılıf çıkarılıp kateterin bronş ağacı içerisinde biraz daha ilerlemesi sağlanmıştır. Son olarak 20 cc %0.9 NaCl kateter yolu ile verilip tekrar aynı enjektör ile aspire edilmiştir.

Mikrobiyolojik İnceleme

Alınan örnekler hem konvansiyonel yöntemlerle hem de hızlı moleküler yöntemlerle incelenmiştir. Konvansiyonel yöntemler için ayrılan örnekler aynı gün incelemeye alınırken; hızlı moleküler yöntemler için alınanlar ise toplu olarak çalışılmak üzere çalışma gününe kadar -80°C'de saklanmıştır. Konvansiyonel incelemede, kantitatif kültür yöntemleri kullanılıp BAL için 10⁴ CFU/mL, BASP ve mini-BAL için 10⁵ CFU/mL üreme anlamlı olarak kabul edilmiştir. Bakteriyel etkenlerin identifikasyonu için Maldit-TOF MS (VITEK MS, BioMerieux, Fransa) ve antibiyotik duyarlılık testleri için otomatik sistem (VITEK2, BioMerieux, Fransa) kullanılmıştır.

Moleküler incelemede, dört temel bakteriyi (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*) saptamak amacıyla Real Time polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kiti geliştirilmiştir. Her bir kökenden elde edilen DNA'lar 1/10 dilüsyonlar yapılarak PZR etkinlik değerleri ve ideal PZR sıcaklık döngü koşulları tespit edilmiştir (Tüm patojenler için PZR etkinlik değerleri E: 1.85-2.1 arasında bulunmuştur). Belirtilen gen bölgeleri hedef alınarak primer probe setleri hazırlanmıştır.

Saklanan örneklerden (-80°C'de) "GenAll DNA/RNA Extraction Kit" (GenAll, Güney Kore) kullanılarak kit içeriğinde önerildiği şekilde DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 200 µL nükleik asit solüsyonunun 5 µL'si amplifikasyona alınmıştır. Amplifikasyon için, 2 X Realtime Multiplex Mix with UDG (Genmark Sağlık Ürünleri, Türkiye) kullanılmış, amplifikasyon, saptama ve veri analizi Realtime PZR cihazında (CFX96-IVD Biorad, ABD) çalışılmıştır.

Örnekte floresan sinyali alınmış ise, internal kontrolde "melting peak" gözlenmiş ise ve ekstraksiyon ve amplifikasyon için pozitif kontroller pozitif, negatif kontroller negatif sonuçlanmış ise test sonucu pozitif kabul edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

HGP saptamak üzere PZR yöntemi ve konvansiyonel yöntemin karşılaştırılması amacıyla yapılan araştırmada sürekli verilerin analizinde normal dağılıma uygunluk Kolmogrov-Smirnov analizi ile incelenmiş normal dağılan veriler ortalama ± standart sapma ile sunulmuştur. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında t testi, bağımlı gruplarda kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise McNemar testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı kabul edilmiştir. İki yöntemin uyumu kapa testi ile değerlendirilmiş, $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Araştırma etik ve bilimsel araştırma proje izinleri için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 26.06.2014 tarih, 14-5.1/10 sayı ile onay alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı kliniği ile Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Yoğun Bakım Ünitesi'nde takip edilen toplam 62 (42 erkek, ortalama yaş 69.7 ± 15.6) hasta alınmıştır. Hastaların kırk altısı (%74) göğüs hastalıkları kliniğinde izlenirken, on altısı (%26) anestezi ve reanimasyon kliniğinde izlenmiştir. Tablo 1'de hastaların başvuru anındaki tanımlayıcı özellikleri yer almaktadır.

Hastaneye yatışlarının 48. saatinden sonraki izleminde hastanede gelişen pnömoni tanısı alan hastalar çalışmaya alınmıştır. Hastanede gelişen pnömoni tanısı düşünüldüğü anda bakteriyolojik inceleme için elli bir hastadan mini-BAL, yedi hastadan BAL ve dört hastadan BASP alınmıştır.

Pnömoni tanı anındaki infeksiyon belirteçleri ile radyolojik bulgular Tablo 2'de belirtilmiştir.

Konvansiyonel yöntem ile altmış iki hastanın kırkında (%64.5), PZR ile altmış iki hastanın elli yedisinde (%91.9) bakteriyel etken saptanmıştır. Etken saptama oranının PZR ile anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.001$) (Şekil 1). Her iki yöntemle saptanan bakteriyel etkenler beraber değerlendirildiğinde, etken saptanması açısından konvansiyonel yöntem ile PZR yönteminin birbiri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (kappa: 0.797). PZR yönteminin konvansiyonel yöntemle göre duyarlılığı %97.5 iken özgüllüğü %18 olarak bulunmuştur. Pozitif prediktif değer ise %68.4 olarak hesaplanmıştır.

Hastalardan alınan solunum örneklerinin konvansiyonel yöntemle incelenmesi sonucunda otuz üç (%53.2) hastada tek bakteriyel etken izole edilirken, yedi (%11.3) hastada birden fazla etken izole edilmiştir. Yirmi iki (%35.5) hastada konvansiyonel yöntem ile etken saptanamamıştır. Konvansiyonel yöntem ile; yirmi dört hastada sadece *A. baumannii*, iki hastada *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*, bir hastada *A. baumannii* ve *K. pneumonia*, bir hastada *A. baumannii* ve *Corynebacterium striatum*, altı hastada sadece *P. aeruginosa*, bir hastada *P. aeruginosa* ve *K. pneumonia*, bir hastada *P. aeruginosa* ve *C. striatum*, bir hastada *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia*, bir hastada sadece *S. maltophilia*, bir hastada sadece *S. aureus*, bir hastada ise sadece *K. pneumonia* izole edilmiştir.

Solunum örneklerinin PZR ile değerlendirilmesi sonucunda otuz altı (%58.1) hastada tek bakteri-

Tablo 1. Hastaların başvuru anındaki demografik özellikleri, yatış tanıları, ek hastalıkları ve laboratuvar bulguları

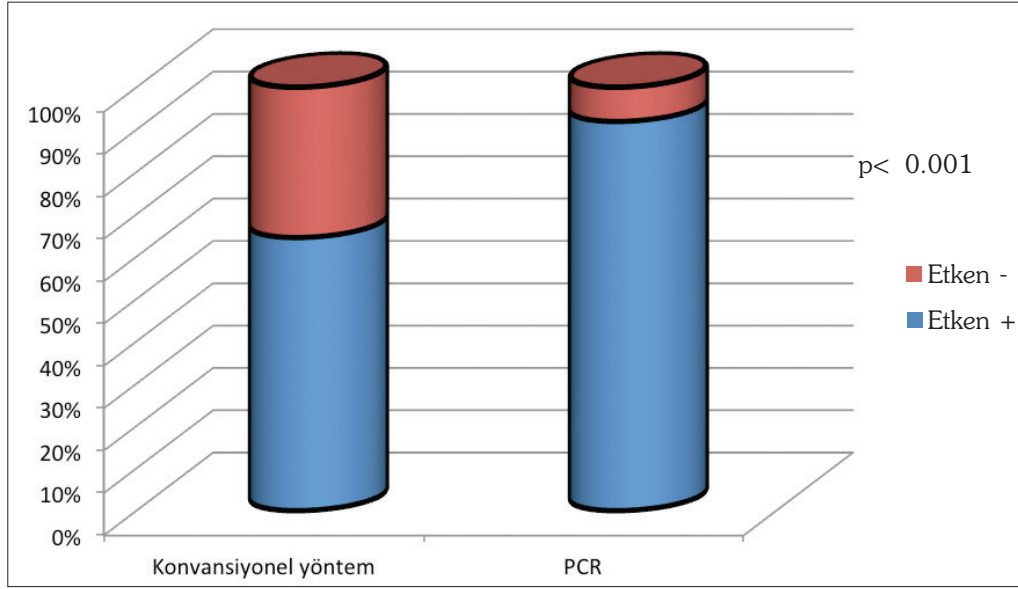
Yaş (ortalama ± sd)	69.7 ± 15.6
Cinsiyet (K/E)	20/42
Yatış tanıları (n,%)	
Pnömoni	42 (67.8)
KOAH	8 (13)
PTE	1 (1.6)
OUAS	1 (1.6)
Diğer	10 (16)
Ek hastalıklar (n,%)	
KOAH	16 (13.8)
HT	16 (13.8)
DM	15 (12.9)
Santral sinir sistemi hastalıkları	14 (12.0)
Malignite	13 (11.2)
Diğer hastalıklar	39 (33.6)
Ek hastalığı olmayan	3 (2.6)
İmmün yetmezlik durumu (n,%)	
Yok	51 (82.3)
Var	11 (17.7)
İmmünyetmezlik nedenleri (n,%)	
Kortikosteroid kullanımı	5 (46)
Kemoterapi	4 (36)
Hematolojik malignite	2 (18)
Solunum yetmezliği tedavisi (n,%)	
İMV	33 (53)
İMV+NİV	28 (45)
Oksijen inhalasyonu	1 (2)
Başvuru PaO ₂ /FiO ₂ (ortalama ± sd)	233 ± 93.14
Başvuru CRP (ortalama ± sd)	12.5 mg/dL (± 10 mg/dL)
Başvuru PCT (ortalama ± sd)	0.71 mg/dL (0.05 mg/dL)
Başvuru Lökosit (min-max)	12770/mm ³ (200-32150/mm ³)

Tablo 2. Hastanede gelişen pnömoni tanısında infeksiyon belirteçleri ve radyolojik bulguları

CRP (mg/dL) (ortalama ± sd)	13.8 ± 8.5
PCT (µg/L) min-max)	1.28 (0.08-100)
CPIS (ortalama ± sd)	5.0 ± 1.8
Lökosit (hücre/mm ³) (min-max)	13030 (1870-66660)
Radyoloji (n,%)	
Tek taraflı infiltrasyon	39 (63.0)
Çift taraflı infiltrasyon	20 (32.0)
Plevral efüzyon + tek taraflı infiltrasyon	3 (5.0)

yel etken saptanırken, yirmi bir (%33.9) hastada birden fazla etken saptanmıştır. Bu yöntem ile sadece beş (%8.1) hastada etken saptanamamıştır. Etken saptama yöntemi olarak PZR kullanıldığında; yirmi sekiz hastada sadece *A. baumannii*,

on dört hastada *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*, üç hastada *A. baumannii* ve *S. maltophilia*, bir hastada *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia*; yedi hastada sadece *P. aeruginosa*, bir hastada *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia*, iki hasta



Şekil 1. Konvansiyonel yöntem ve PCR ile etkenlerin saptanma oranları.

P. aeruginosa ve *S. aureus*, bir hastada sadece *S. maltophilia* saptanmıştır.

Konvansiyonel yöntem ile altmış iki hastanın yirmi sekizinde (%45.2) bakteriyel etken olarak *A. baumannii* saptanırken, PZR ile altmış iki hastanın kırk altısında (%74.2) bakteriyel etken olarak *A. baumannii* saptanmıştır. Etken olarak PZR ile *A. baumannii* saptanma oranının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.0001$). *A. baumannii* saptanan 28 örneğin 27'sinde PZR ile de *A. baumannii* saptandığı izlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilmeyen on dokuz hastada PZR ile *A. baumannii* saptanmıştır.

Konvansiyonel yöntem ile altmış iki hastanın on birinde (%17.7) bakteriyel etken olarak *P. aeruginosa* saptanırken, PZR ile altmış iki hastanın yirmi beşinde (%40.3) bakteriyel etken olarak *P. aeruginosa* saptanmıştır. Etken olarak PZR ile *P. aeruginosa* saptama oranının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.0001$). *P. aeruginosa* saptanan 11 örneğin 10'unda PZR ile

P. aeruginosa saptandığı izlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilmeyen on beş hastada PZR ile *P. aeruginosa* saptanmıştır.

Konvansiyonel yöntemler ile altmış iki hastanın ikisinde (%3.2) etken olarak *S. maltophilia* üretilmiştir. Altı hastada PZR ile (%9.7) etken olarak *S. maltophilia* saptanmıştır.

S. aureus, konvansiyonel yöntemler ile 1 örnekte pozitif olarak saptanırken, PZR ile 2 örnekte pozitif olarak saptanmıştır.

S. aureus ve *S. maltophilia*, izole edilen hasta sayısının az olması nedeniyle uyum açısından değerlendirilememiştir.

Konvansiyonel yöntemler ile üretilen *K. pneumoniae* ve *C. striatum* etkenleri PZR kitlerinde bulunmadığı için PZR ile bu etkenler saptanamayacağından değerlendirmeye alınamamıştır.

Tablo 3'te ortalama hastanede ve yoğun bakım ünitelerindeki yatış süreleri belirtilmiştir. Tablo 4'te PZR yöntem ile konvansiyonel yöntemin

Tablo 3. Hastanede ve YBÜ'de ve hastanede yatış süresi, antibiyotik süresi

	Ortalama ± sd
YBÜ yatış süresi	37.0 ± 44.8 gün
Hastanede yatış süresi	41.7 ± 43.7 gün
Ortalama antibiyotik süresi	26.0 ± 17.7 gün
Etkene yönelik antibiyotik süresi	13.5 ± 17.6 gün

Tablo 4. PCR ile etken saptanıp konvansiyonel yöntemlerle etken saptanan ve saptanmayan hastaların karşılaştırılması

	PCR +		p
	Konvansiyonel + n= 39	Konvansiyonel - n= 18	
Cinsiyet (n,%)			
Kadın	13 (33.3)	5 (27.7)	0.461
Erkek	26 (66.7)	13 (72.3)	
Yaş (yıl)	70.8 ± 15.2	69.1 ± 15.7	0.693
Sigara kullanımı (n,%)	14 (77.7)	5 (45)	0.085
İmmünsüpresyon (n,%)			
Var	7 (18)	2 (11)	0.408
Yok	32 (82)	16 (89)	
Mortalite (n,%)	30 (77)	13 (72)	0.471
CPIS*	5.6 ± 1.6	4.1 ± 1.7	0.009
Lökosit (/mm ³)*	16100 ± 12828	14700 ± 4705	0.668
CRP (mg/dL)*	15.2 ± 9.4	11.8 ± 6.5	0.180
PCT (µg/L)*	10.7 ± 19.1	5.0 ± 12.3	0.257

*HGP tanı anında.

Tablo 5. Klinik özelliklerin ve örnek alındığı günlük laboratuvar bulgularının mortalite ile ilişkisi

	Mortalite (-) n= 17	Mortalite (+) n= 45	p
Cinsiyet (n,%)			
Kadın	7 (41)	13 (29)	0.265
Erkek	10 (59)	32 (71)	
Sigara kullanımı (n,%)	7 (70)	16 (69.5)	0.657
İmmünsüpresyon (n,%)	1 (5)	10 (22)	0.127
Entübasyon (n,%)	14 (82)	44 (98)	0.059
Yaş (yıl)	61.41 ± 16.7	72.84 ± 14.2	0.009
CPIS	4.1 ± 1.7	5.3 ± 1.7	0.048
PaO ₂ /FiO ₂	286.85 ± 96	224.95 ± 91.8	0.042
Lökosit (/mm ³)	14347 ± 3929	15676 ± 12188	0.52
CRP (mg/dL)	10.42 ± 5.4	15.04 ± 9.1	0.018
PCT (µg/L)	2.74 ± 7.0	10.75 ± 19.2	0.022
Hastane yatış günü	58.9 ± 60.9	35.1 ± 33.7	0.055
YBÜ yatış günü	51.8 ± 63.8	31.4 ± 34.4	0.109

karşılaştırılması yapılmıştır. Hem hızlı moleküler yöntemler hem de konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilen hastalar ile sadece hızlı moleküler yöntemlerle etken saptanan hastalar arasında mortalite ve laboratuvar değerleri açısından fark saptanmamıştır.

Altmış iki hastanın kırk beşinde (% 72.6) mortalite izlenmiştir. Mortalite izlenen hastalarda ör-

nek alınma anında yaş ortalamasının (p= 0.009), CPIS skorunun (p= 0.048), CRP (p= 0.018) ve PCT (p: 0.022) değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek, PaO₂/FiO₂ oranının (p= 0.042) anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 5).

TARTIŞMA

Yatış gerektiren toplumda gelişen pnömonilerde mortalite %5.7-14 arasında iken hastanede gelişen

pnömonide bu oran %50'ye kadar çıkmaktadır^[8]. Hastanede gelişen pnömoniden şüphelenildiğinde kültürler alındıktan sonra antimikrobiyal tedavinin bir an önce başlanması önemlidir. Tedavinin geciktirilmesi veya etken patojene yönelik tedavi verilememesi durumunda mortalite artar. Geç dönemde gelişen pnömonilerde dirençli bakteriler etken olarak saptanmaktadır^[1]. Pnömonide etken mikroorganizmalarının hızlı bir şekilde saptanması ve uygun antibiyotik tedavisinin hızlı bir şekilde başlanması prognozu olumlu yönde etkileyecek en önemli yaklaşımlardır.

Geç dönemde ortaya çıkan HGP'lerde gram-negatif basiller en sık izole edilen etkenlerdir. Herkel ve arkadaşlarının HGP epidemiyolojisi üzerine yaptığı çok merkezli bir çalışmada 201 HGP hastasının 175'inde yüz yetmiş besinde (%81.8) geç dönem HGP saptanmış olup en sık izole edilen etkenler sırası ile *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *E. coli*'dir^[3]. Ülkemizde 279 VIP epizodunun değerlendirildiği bir çalışmada VIP etkeni olarak en sık *A. baumannii* (%37), MRSA (%27.8) ve *P. aeruginosa* (%23.2) izole edilmiştir^[9]. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan ve YBÜ'nde infeksiyon etkenlerini değerlendiren çalışmada; *P. aeruginosa* %31.4, *A. baumannii* %19.6, MRSA %15.7, *S. maltophilia* %9.8 oranlarında etken olarak belirlenmiştir^[10]. Bizim çalışmamızda konvansiyonel yöntem ile 28 (%45.2) hastada *A. baumannii*, 11 (%17.7) hastada *P. aeruginosa* izole edilmiştir.

Son yıllarda bakteriyel infeksiyonlarda etken mikroorganizmaların saptanmasında hızlı moleküler yöntemlerin değerlendirildiği çalışmaların sayısında artış gözlenmektedir. Alt solunum yolu infeksiyonları patojenlerinin saptanmasında PZR ve konvansiyonel yöntemlerin kıyaslandığı Aydemir ve arkadaşlarının çalışmasında; toplumda gelişen pnömoni, KOAH ve bronşektazi alevlenmesi ve akut alt solunum yolu infeksiyonu olan toplam 197 hasta değerlendirilmiştir. Balgam, nazofaringeal sürüntü, BAL örneklerinde konvansiyonel yöntemle ve PZR ile bakteriyel etkenler izole edilmiştir. Kültür ile 62 (%31.5) hastada en az bir bakteri izole edilirken, PZR ile 125 (%63.5) hastada (%32 *S. pneumoniae*, %31 *H. influenzae*) etken saptanmıştır. Sadece bir hastada PZR ve konvansiyonel yöntemlerde farklı mikroorganizma

saptanmıştır. Kültür yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde, PZR yönteminin duyarlılığı %96, pozitif prediktif değeri %95 olarak bulunmuştur. Çoklu etken saptamada kültür ve PZR arasında anlamlı fark olup ($p < 0.005$), konvansiyonel yöntem ile iki hastada, PZR ile 47 hastada çoklu etken izole edilmiştir^[11]. Bizim çalışmamızda, PZR yönteminin konvansiyonel yöntemle göre duyarlılığı %97.5, özgüllüğü %18 ve pozitif prediktif değeri ise %68.4 olarak bulunmuştur. Konvansiyonel yöntemler ile elde edilen etken patojenler ile PZR ile elde edilen etken patojenlerin uyumlu olması nedeniyle duyarlılık değeri yüksek saptanmıştır.

Ege Üniversitesinde yapılan başka bir klinik çalışmada, 55 toplumda gelişen pnömoni olgusunun solunum örnekleri konvansiyonel yöntemler ve PZR yöntemi ile değerlendirilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle hastaların %60'ında bakteriyel etken saptanırken, PZR ile hastaların %94'ünde etken saptanmıştır ve PZR ile etken saptama oranlarının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle 12 hastada, PZR ile 24 hastada *S. pneumoniae* saptanırken; *H. influenzae* konvansiyonel yöntemlerle 11 hastada, PZR ile 17 hastada saptanmıştır^[12].

Bizim çalışmamızda ise konvansiyonel yöntem ile 62 hastanın 40'ında (%64.5) bakteriyel etken saptanırken, PZR ile 62 hastanın 57'sinde (%91.9) bakteriyel etken saptanmıştır. Konvansiyonel yöntemlerle *A. baumannii* saptanan 28 örneğin 27'sinde PZR ile de *A. baumannii* saptandığı izlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilmeyen 19 hastada PZR ile *A. baumannii* saptanmıştır. Buna karşın konvansiyonel yöntemlerle *P. aeruginosa* saptanan 11 örneğin 10'unda PZR ile de *P. aeruginosa* saptandığı izlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilmeyen 15 hastada PZR ile *P. aeruginosa* saptanmıştır. Her iki yöntemle saptanan bakteriyel etkenler beraber değerlendirildiğinde, etken saptanması açısından konvansiyonel yöntem ile PZR yönteminin birbiri ile önemli derecede uyumlu olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda konvansiyonel yöntemler ile yedi (%17.5) hastada, PZR ile 20 (%35.1) hastada birden fazla etken saptanmıştır.

Çalışmamızda 39 hastada hem konvansiyonel hem PZR ile etken saptanmış, 18 hastada konvansiyonel yöntemlerle etken saptanmayıp sadece

PZR ile etken saptanmıştır. Herhangi bir yöntemle etken izole edilebilirliği öngörecek parametreleri belirlemek için her iki grup karşılaştırıldığında; konvansiyonel ve PZR yöntemlerle etken saptanan 39 hastada, sadece PZR ile etken saptanan gruba göre, örnek alınma gününde CPIS değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (5.6'ya karşın 4.0, $p= 0.68$). Buna karşın, her iki grup arasında, demografik veriler ve örnek alım günündeki klinik, laboratuvar verileri, radyolojik yaygınlık ve mortalite açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda, 62 hastanın 45'inde (%72.3) mortalite izlenmiştir. Hastaların hepsinin geç dönemde gelişen HGP olması, çoğunun VİP olması, ek hastalık sayılarının fazla olması ve yaş ortalamalarının yüksek olması, mortalite oranının fazla olmasının nedeni olarak düşünülmüştür. Hastanede gelişen pnömoni olgularında bakteremi gelişimi, uygunsuz antibiyotik kullanımı, HGP'nin VİP olması, septik şok, yüksek APACHE II veya SAPS II skoru ve ileri yaş (>60 yaş) ile mortalite oranı artmaktadır^[1]. Etken olarak izole edilen mikroorganizmalar da HGP'de mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Sevinç ve arkadaşları, en yüksek mortalite oranının *K. pneumoniae* izole edilen olgularda olduğunu saptamışlardır^[13]. Bir başka çalışmada *A. baumannii*'nin neden olduğu HGP'lerde mortalite oranı daha yüksek bulunmuştur^[14]. Şengül ve arkadaşlarının çalışmasında; *A. baumannii*'ye bağlı VİP olgularında, erkek cinsiyet, yüksek APACHE II skoru, böbrek yetmezliği ve düşük trombosit sayısı mortalite ile ilişkili bulunmuştur^[21].

Bizim çalışmamızda PZR için alınan örnekler -80°C'de biriktirilerek toplu olarak çalışıldığı için antibiyotik değişikliği yapılamamış, klinik yansımaları değerlendirilememiştir. Ancak hasta grubumuzda PZR ile elde edilen mikroorganizmalar ve PZR sonuçlarının konvansiyonel yöntemlerle uyumu dikkate alındığı zaman, yakın gelecekte PZR yöntemlerinin HGP hastalarında rutin kullanıma girmesiyle tedavi sonuçlarının olumlu yönde etkilenebileceği düşünülmüştür.

Toplumda gelişen pnömoni etkenlerinin hızlı moleküler yöntemler ile saptanması ile ilgili yeterli sayıda çalışma olmasına rağmen, HGP ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Literatürdeki sınırlı sayıda çalışma göz önünde bulundurulduğunda, çok yüksek olmasa da hasta sayımız çalışmamızın güç-

lü yanını yansıtmaktadır. Alınan örneklerin PZR için -80°C'de saklanarak toplu olarak çalışılması, sonuçların kliniğe yansımalarının değerlendirilemesi önemli bir kısıtlılık nedenidir.

SONUÇ

Geç dönemde HGP'den sorumlu etkenin izole edilmesinde, hızlı moleküler yöntemler ile konvansiyonel yöntemler arasında iyi derecede bir uyum saptanmıştır. Hızlı moleküler yöntemler ile konvansiyonel yöntemlere göre daha fazla sayıda etken patojen izole edilmiştir. Bu durumun tedavi ve klinik sonuçlara yansımalarının daha iyi değerlendirilebilmesi için özellikle infeksiyon ve kolonizasyonun da iyi bir şekilde değerlendirildiği daha fazla sayıda çalışmaya gerek olduğu düşünülmüştür.

Hızlı moleküler yöntemler ve konvansiyonel yöntemlerle etken izole edilen hastalarla sadece hızlı moleküler yöntemler ile etken izole edilen hastalar arasında prognoz açısından fark saptanmamıştır.

Hızlı moleküler yöntemlerin daha yaygın kullanımının; özellikle HGP için hızlı, uygun ve etkin antibiyotik tedavisi sağlayarak tedavi başarısızlığının ve antibiyotik direncinin azaltılmasına yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olan PZR yöntemi ile çalışılacak örneklerin toplu çalışılmak üzere bekletilmesi, üstün olan yöntemin erken dönemde kullanılmamasına yol açıp, mortalite ile ilgili kazanımların elde edilememesine yol açmış olabilir.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı (Karar no: 14-5.1/10 Tarih: 26.06.2014).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: All of authors

Analiz/Yorum: AU, MST, ŞA

Veri Sağlama: AU, MST, ŞA

Yazım: AU, MST, ŞA, HP

Gözden Geçirme ve Düzeltme: All of authors

Onaylama: All of authors

KAYNAKLAR

1. Türk Toraks Derneği: Erişkinlerde Hastanede Gelişen Pnömoni Tanı ve Tedavi Uzlaşısı Raporu 2018.
2. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016;63(5):61-111.
3. Herkel T, Uvizla R, Doubravskaa L, Adamusa M, Gabrhelík T, Sedlakovaet M-H, et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2016;160(3):448-55.
4. Michael Klompas. Does this patient have ventilator-associated pneumonia? *JAMA* 2007;297:1583-93.
5. Endimiani A, Hujer KM, Hujer AM, Kurz S, Jacobs MR, Perlin DS. Are we ready for novel detection methods to treat respiratory pathogens in hospital-acquired pneumonia? *Clin Infect Dis* 2011;52:373-83.
6. Barbier F, Andremonet A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Curr Opin Pulm Med* 2013;19:216-28.
7. American Thoracic Society. Hospital-acquired, Ventilator-associated and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
8. Şen N, Özhan MH (eds). Pnömoni. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği 2017. TÜSAD Eğitim Kitapları Serisi.
9. Erdem I, Ozgultekin A, Inan AS, Dincer E, Turan G, Ceran N. Incidence, etiology, and antibiotic resistance patterns of gram-negative microorganisms isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in a medical-surgical intensive care unit of a teaching hospital in Istanbul, Turkey (2004-2006). *Jpn J Infect Dis* 2008;61(5):339-42.
10. Yılmaz G, Çaylan R, Ulusoy H, Aydın K, Erciyes N, Köksal İ. Yoğun bakım ünitesinde izlenen ventilatörle ilişkili pnömonilerin değerlendirilmesi. *Yoğun Bakım Dergisi* 2004;4(2):131-7.
11. Aydemir O, Aydemir Y, Ozdemir M. The role of multiplex PCR test in identification of bacterial pathogens in lower respiratory tract infections. *Pak J Med Sci* 2014;30(5):1011-6.
12. Serin DÇ, Pullukçu H, Çiçek C, Sipahi OR, Taşbakan S, Atalay S. Pneumonia Study Group (Yamazhan T, Taşbakan M, Arda B, Aydemir Ş, Ulusoy S). Bacterial and viral etiology in hospitalized community acquired pneumonia with molecular methods and clinical evaluation. *J Infect Dev Ctries* 2014;8(6):510-8.
13. Sevinç C, Şahbaz S, Uysal Ü, Kılınc O, Ellidokuz H, İtil O ve ark. Hastane kökenli pnömoni olgularında etken dağılımı ve prognoza etkili faktörler. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2007;55(2):153-9.
14. Bergogne-Berezin E. Importance of *Acinetobacter* spp. In: Bergogne-Berezin E (ed). *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. Springer, France 2008;s:1-85.
15. Şengül A, Şengül E, Barış SA, Hayırlıoğlu N. Factors associated with mortality in ventilator associated pneumonia of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur Respiratory J* 2013;42:P2747.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Ahmet UYSAL

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi,

Göğüs Hastalıkları Kliniği,

Edirne-Türkiye

E-posta: ahmet-bh@hotmail.com