

# VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ TANISINDA ENDOTRAKEAL ASPİRAT KÜLTÜRLERİ: 2004-2006 YILLARI SONUÇLARI

**Birol ŞAFAK, İhsan Hakkı ÇİFTÇİ, Nilay KIYILDI, Orhan Cem AKTEPE, Zafer ÇETİNKAYA, Mustafa ALTINDİŞ**

Afyon Kocatepe Üniversitesi, ANS Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

## ÖZET

Çalışmaya Yoğun Bakım Ünitelerinde mekanik ventilasyon uygulanan olgulardan gönderilen örnekler alınmıştır. Çalışmaya alınan 455 örnekten 216 (% 47) bakteri izole edilmiştir. 2004 yılında yapılan kalitatif endotrakeal aspirat kültürlerinde mikroorganizmaların yoğun üreme göstermesi, sonraki yıllardaki kantitatif kültürlerde  $10^5$  cfu/ml üreme tanısıl sınır değeri olarak alınmıştır.

Ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) patojenleri arasında en sık rastlanan ilk 4 etken metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* olmuştur. Gram negatif bakteriler çoğunlukla imipenem, amikasin ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur. Metisiline dirençli *S.aureus* oranının % 86 bulunmasına rağmen glikopeptid direnci görülmemiştir. İstatiksel anlamlı fark gözlenmemekle birlikte kantitatif kültür çalışmalarıyla izole edilen etken oranı azalmıştır.

Sonuç olarak, kalitatif kültür kolonizasyon-patojen etken ayırımında güvenilir olmayabilir. Bundan dolayı VİP tanısında kantitatif kültür tercih edilmelidir.

**Anahtar sözcükler:** endotrakeal aspirat, kantitatif kültür, ventilatör ilişkili pnömoni

## SUMMARY

### Cultures of Endotracheal Aspirates in the Diagnosis of Ventilator-Associated Pneumonia: Results of 2004-2006 Years

Patients received mechanical ventilation in the intensive care unit were enrolled in this study. A total of 455 samples processed and 216 bacterial strains (47 %) were isolated. The diagnostic thresholds of quantitative culture for endotracheal aspirates were taken as  $10^5$  cfu/ml and thresholds of qualitative culture were taken intense reproduction.

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* were the first four most frequent agents among the ventilator-associated pneumonia (VAP) pathogens. Most of the Gram-negative bacteria were susceptible to imipenem, amikacin and ciprofloxacin. Although methicillin resistant *S.aureus* rate was found 86 %, glicopeptid resistance was not found. Pathogen isolation rate was decreased by quantitative method, but there is no statistically significant difference.

In conclusion qualitative cultures may not reliably separate true pathogens from colonizers. Hence, quantitative cultures should be preferred for the diagnosis of VAP.

**Keywords:** endotracheal aspirates, quantitative culture, ventilator-associated pneumonia

## GİRİŞ

Özellikle Yoğun Bakım Ünitesine (YBÜ) yatan, pnömoni hikayesi bulunmayan ve entübasyonu takip eden 48-72 saat sonra gelişen alt

solunum yolu infeksiyonları ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) olarak tanımlanmaktadır<sup>(3,14)</sup>. İnfeksiyonun sıklıkla mikroaspirasyon, aerosol inhalasyonu ve nadiren de başka bir odaktan hematojen yolla geliştiği bildirilmektedir<sup>(15)</sup>.

**Yazışma adresi:** Birol Şafak, Afyon Kocatepe Üniversitesi, ANS Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir Yolu, 03100 AFYONKARAHİSAR

Tel.: (0505) 797 78 00

e-posta: birolsafak@mynet.com

Alındığı tarih: 20.03.2007, revizyon kabulü: 11.05.2007

Hastanın yattığı kliniğe göre değişmekle birlikte, dünyanın çeşitli bölgelerinden yapılan çalışmalarda hastane kaynaklı pnömonilerin tüm hastane infeksiyonlarının ortalama % 15'ini, ülkemizde yapılan çalışmalarda ise % 11-30'unu oluşturduğu bildirilmektedir. Araştırma sonuçları ventilatör uygulanan hastaların % 28-85'inde VİP gelişme riskinin bulunduğunu vurgulamaktadır<sup>(14)</sup>. Ayrıca tüm nozokomiyal infeksiyonlar göz önüne alındığında en yüksek mortalite oranının VİP'ye (% 24-71) ait olduğu, özellikle bazı etkenlerin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.) neden olduğu VİP'lerde uygunsuz tedavi ile birlikte bu oranın % 91'e kadar ulaşabileceği de bildirilmektedir<sup>(6)</sup>.

Yoğun bakım hastalarının akciğer grafilerinde pulmoner ödem, tromboemboli, atelektazi gibi pnömoniyi taklit eden opasitelerin görülmesi olağandır. Değişik nedenlere bağlı olarak yüksek ateş ve lökositöz görülebilir. Hastaların büyük çoğunluğunda pnömoni olsun ya da olmasın trakeobronşiyal alanda başta Gram negatif çomaklar olmak üzere bakteri kolonizasyonu bulunmaktadır. Klinik, radyolojik ve mikrobiyolojik tanıdaki güçlükler nedeniyle yoğun bakım hastalarında nozokomiyal pnömoni tanısı oldukça zordur<sup>(10)</sup>.

Gerçek parankimal infeksiyon hastalarını trakeobronşiyal havayolu kolonizasyonu olanlardan ayırt etmek gerekmektedir<sup>(3)</sup>. Bu amaçla solunum yolu sekresyonlarının kantitatif kültürü yapılmaktadır. Korumalı fırça örneklerinde  $>10^3$  cfu/ml, bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde  $>10^4$  cfu/ml, endotrakeal aspirat (ETA) örneklerinde  $>10^5$  cfu/ml düzeyinde üreme anlamlı kabul edilmektedir<sup>(3,4,6,11)</sup>. Bunun altındaki değerler kolonizasyon olarak düşünülmektedir.

Çalışmamızda ETA örnekleri ile üç yıl boyunca gerçekleştirilen kantitatif ve kantitatif kültür çalışmalarının karşılaştırılması ve üreyen patojenlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2004-Aralık 2006 arasında YBÜ'de yatan ve mekanik ventilasyon desteği

uygulanan hastalardan gelen 455 ETA örneği alınmıştır. Örnekler hastalardan Lukens kültür toplama kabı ile alınmış ve laboratuvara ulaştırılmıştır. Gönderilen alt solunum yolu örnekleri pnömoni ön tanısı olarak kabul edilmiştir. İlk aşamada 2004 yılı boyunca boyalı mikroskopik inceleme ile % 5 koyun kanlı agar, eosin methylene blue (EMB) agar, çikolatamsı agar ve Sabouraud dekstroz agar (SDA) besiyerleri kullanılarak kantitatif kültür çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada 2005-2006 yılı boyunca gelen, kantitatif kültür çalışmaları için likefiye edilen örneklerden homojenizasyon sonrası steril % 0.9 NaCl ile seri dilüsyonlar ( $10^{-2}$ - $10^{-3}$ ) elde edilmiştir<sup>(11,14)</sup>. Bu dilüsyonlardan % 5 koyun kanlı agar, EMB agar, çikolatamsı agar ve SDA'ya 10'ar µl ekim yapılmıştır. Tüm ekimlere 37°C'de SDA için 5 gün, diğer besiyerleri için 24-48 saat inkübasyon uygulanmıştır. Kantitatif çalışmalar için  $>10^5$  cfu/ml üreme anlamlı kabul edilerek işleme alınmıştır<sup>(3,4,6,11)</sup>.

Konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra mini-API (bioMerieux, France) ve Phoenix (Becton Dickinson, MD) otomatize sistemleri kullanılarak identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Konvansiyonel olarak antibiyotik duyarlılık testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine uygun olarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Çalışma kapsamında incelenen 455 hastanın 285'i erkek (% 63), 170'i kadın (% 37) olup, yaşları 0-77 arasında değişmiştir. Hastaların kliniklere göre dağılımı sırasıyla Anestezi YBÜ (% 47), Pediatri YBÜ (% 18), Göğüs Hastalıkları YBÜ (% 13), Dahiliye YBÜ (% 7) ve diğer (% 15) olarak tespit edilmiştir. Gelen örneklerin 216'sında (% 47) patojen bakteri, 28'inde (% 6) patojen mantar, 61'inde (% 14) kolonizasyon, 150'sinde (% 33) ise üreme olmadığı saptanmıştır. Yıllara göre cinsiyet, klinik ve üreme tiplerinin dağılımı tablo 1'de gösterilmiştir. İzole edilen mantarların türlere göre dağılımı ise *Candida albicans* 25 (% 89), *albicans*-dışı *Can-*

**Tablo 1:** Yıllara göre cinsiyet, klinik ve üreme tiplerinin dağılımı [n (%)].

	2004	2005	2006	Toplam
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek	86 (69)	107 (56)	92 (66)	285 (63)
Kadın	38 (31)	85 (44)	47 (34)	170 (37)
<b>Klinik</b>				
Anestezi	40 (32)	112 (58)	64 (46)	216 (47)
Pediyatri	16 (13)	40 (21)	26 (19)	82 (18)
Göğüs	23 (19)	21 (11)	14 (10)	58 (13)
Dahiliye	16 (13)	6 (3)	9 (6)	31 (7)
Diğer	29 (23)	13 (7)	26 (19)	68 (15)
<b>İzole edilen</b>				
Patojen bakteri	65 (52)	82 (43)	69 (49)	216 (47)
Patojen mantar	12 (10)	8 (4)	8 (6)	28 (6)
Kolonizasyon	15 (12)	28 (15)	18 (13)	61 (14)
Üreme yok	32 (26)	74 (38)	44 (32)	150 (33)

did 3 (% 11) olarak bulunmuştur.

Gram negatif etkenlerden en sık *Pseudomonas aeruginosa*, Gram pozitif etkenlerden ise *Staphylococcus aureus* izole edilmiştir. Gram pozitiflere en etkili antibiyotiklerin glikopeptidler ve fusidik asit, Gram negatiflere ise en etkili antibiyotiklerin imipenem ve siprofloksasin olduğu görülmüştür. Gram pozitif ve Gram negatif etkenlerin yıllara göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları tablo 2 ve tablo 3'de sunulmuştur.

**Tablo 2:** Yıllara göre izole edilen Gram pozitif etkenler ve antibiyotik duyarlılıkları (%)<sup>x</sup>.

Yıl	Etken (n)	Levofloksasin	Penisilin
2004	MSSA <sup>xx</sup> (4)	75	0
	MRSA <sup>xxx</sup> (13)	0	0
	MRKNS <sup>xxxx</sup> (1)	0	0
	Pnömonokok (3)	100	67
2005	MSSA (2)	100	0
	MRSA (21)	0	0
	MRKNS (2)	0	0
2006	MSSA (3)	100	0
	MRSA (22)	0	0
	MRKNS (2)	0	0
	Pnömonokok (1)	100	100

<sup>x</sup> Tablodaki suşların tamamı vankomisin, teikoplanin ve fusidik aside duyarlı bulunmuştur.

<sup>xx</sup> MSSA: Metisiline duyarlı *S.aureus*,

<sup>xxx</sup> MRSA: Metisiline dirençli *S.aureus*,

<sup>xxxx</sup> MRKNS: Metisiline dirençli koagulaz negatif stafilokok.

**Tablo 3:** Yıllara göre izole edilen Gram negatif etkenler ve antibiyotik duyarlılıkları (%).

Yıl	Etken (n)	AMC	CIP	CN	AK	SXT	IPM	CAZ
2004	<i>P.aeruginosa</i> (19)	0	68	53	79	5	84	84
	<i>A.baumannii</i> (6)	33	33	16	33	33	83	33
	<i>S.maltophilia</i> (4)	0	75	0	0	100	0	0
	<i>E.coli</i> (6)	50	33	83	100	50	100	50
	<i>K.pneumoniae</i> (6)	50	75	50	50	16	100	50
	<i>Enterobacter spp.</i> (3)	33	33	33	67	33	100	33
2005	<i>P.aeruginosa</i> (22)	0	100	64	77	18	91	82
	<i>A.baumannii</i> (12)	6	58	25	42	25	83	8
	<i>S.maltophilia</i> (5)	0	80	0	0	100	0	0
	<i>E.coli</i> (6)	16	0	50	83	16	100	16
	<i>K.pneumoniae</i> (11)	27	91	54	64	54	91	27
	<i>Enterobacter spp.</i> (1)	0	100	0	0	0	100	0
2006	<i>P.aeruginosa</i> (11)	0	73	82	91	18	73	73
	<i>A.baumannii</i> (8)	25	100	75	100	13	100	13
	<i>S.maltophilia</i> (5)	0	100	0	0	100	0	0
	<i>E.coli</i> (5)	80	100	100	100	60	100	80
	<i>K.pneumoniae</i> (9)	22	89	67	78	67	100	44
	<i>Enterobacter spp.</i> (3)	67	67	33	33	33	100	33

AMC: Amoksisilin/klavulanik asit, CIP: Siprofloksasin, CN: Gentamisin, AK: Amikasin, SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol, IPM: İmipenem, CAZ: Seftazidim.

## TARTIŞMA

Klinik semptomlarla hastane kaynaklı pnömonilerin tanısı zor olup, şüpheli olgular için yeni bulguların varlığının açıklanması ve pnömoninin etyolojik ajanının tanımlanması gibi iki farklı amaç için tanısal testler gerçekleştirilir<sup>(2,12)</sup>. Etiyolojik tanıda genellikle alt solunum yolu kültürleri olmakla birlikte nadiren de olsa kan ve plevral sıvı kültürleri de kullanılır. Ancak VİP bulunduğu bile kan kültürü duyarlılığının % 25'in altında kaldığı unutulmamalıdır<sup>(7)</sup>.

Solunum yolu kültürleri ETA, BAL veya korunmuş fırça yöntemi örneklerinden yapılır. VİP olgularının hemen hemen hepsinde pnömoninin nedeni trakeada kolonize olan bakterilerdir. Bundan dolayı pozitif kültür ile kolonizasyon-etken patojen mikroorganizma ayrımı her zaman yapılamaz<sup>(7)</sup>. Ayrıca tüm çalışmalarda major problem hastane kaynaklı pnömoni tanısında karşılaştırma yapılacak altın standartın olmayışındır<sup>(2,6)</sup>. Korunmalı fırça örnekleriyle post-mortem akciğer histopatolojisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada korunmalı fırça örnekleri altın

standart olarak vurgulanmıştır. Bir başka çalışmada ise histolojik tanı ve akciğer biyopsi kültürleri referans yöntem olarak vurgulanmıştır<sup>(10)</sup>.

Pnömoni ve etyolojik ajanın gösterilmesi için bakteriyolojik yaklaşım, alt solunum yolu sekresyonlarının (ETA, BAL veya korunmuş fırça yöntemi) kantitatif kültürüdür. Bu yöntemle eşik değer üzerinde koloni sayısının tespiti VİP tanısı için etken mikroorganizma olabileceğini, eşik değer altında koloni sayısında ise kolonizasyon veya kontaminasyon ihtimalinin düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu bakteriyolojik yaklaşım kullanılarak sorumlu patojene etkili antibiyotik tedavisi uygulanabilir<sup>(2)</sup>.

VİP mikrobiyolojik tanısında korunmuş fırça yöntemi, BAL gibi invaziv tanı yöntemlerinin kullanılması gerektiğini savunanlar olduğu gibi, ETA kantitatif kültürlerinin yeterli olduğunu savunanlar da bulunmaktadır<sup>(4,6)</sup>. Duyarlılık (% 68-100) ve özgüllüğünün (% 64-84) yüksek olması, noninvaziv olması, ucuz olması ETA örneklerinin tercih sebepleri arasında gösterilmektedir<sup>(1,4,5,16,17)</sup>.

Bu çalışmada 2004 yılında kalitatif kültür uygulanırken, 2005 yılının başından itibaren kantitatif kültür uygulanmaya başlanmıştır. Kantitatif kültür uygulanmaya başlandıktan sonra patojen etken olarak verilen sonuçlar % 52'den % 45'lere gerilemiştir. Anlamli bir fark olmasa da kantitatif kültürle kolonizasyon-patojen etken ayrımı daha güvenilir bir şekilde yapılmıştır. Değişik çalışmalarda bu oran % 55-27 arasında bildirilmiştir<sup>(4,9)</sup>.

VİP etkenlerinin dağılımı diğer nozokomial infeksiyonlarda olduğu gibi bölgelere göre değişmekle birlikte sıklıkla *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *K.pneumoniae* gibi Gram negatif bakteriler izole edilmektedir. Ancak son yıllarda *S.aureus* başta olmak üzere Gram pozitif etkenlerin sıklığının da giderek arttığı görülmektedir<sup>(3,4,5,8,9,13,14)</sup>. Bu çalışmada kantitatif ve kalitatif kültürlerde Gram negatif etkenlerin ilk sırada olduğu görülmüştür. Sırasıyla % 65 ve % 68 oranında Gram negatif etken izole edilmiştir. En sık izole edilen etkenlerin kalitatif kültürlerde *P.aeruginosa* (% 29) ve MRSA (% 20) olduğu görülmüştür. Kantitatif kültürlerde ise en sık *S.aureus* (% 28) ve *P.aeruginosa* (% 22) izole edil-

miştir. Son yıllarda vurgulanan VİP infeksiyonlarında Gram pozitif etkenlerdeki artış çalışmamızda da gözlenmiştir. Ancak Gram negatif etkenlerin toplamda ilk sıradaki yeri değişmemiştir.

İzole edilen Gram negatif etkenlerde en etkin antibiyotik imipenem, amikasin ve siprofloksasin olduğu görülmüştür. Gram pozitif etkenlerde ise pnömokoklar dışında penisiline duyarlı etkene rastlanmazken, glikopeptid direnci de saptanmamıştır. Elde edilen bulguların önceki çalışmalarda sunulan antibiyotik duyarlılıkları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir<sup>(4)</sup>. Yıllara göre antibiyotik duyarlılığına bakıldığında Gram pozitif etkenler için anlamlı fark izlenmemiştir. Gram negatif etkenlerde ise 2006 yılında duyarlılık oranlarında artış gözlenmiştir. Bunun nedeni 2006 yılında dışarıdan hasta sevkinin azalması nedeniyle daha izole bir hasta grubuna sağlık hizmeti verilmiş olması olarak düşünülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında değerlendirilen trakeal aspirat örneklerinde halen en sık izole edilen patojenlerin Gram negatifler olduğu görülmüştür. Ancak Gram pozitif patojenlerin önemli düzeyde arttığı saptanmıştır. Kantitatif ve kalitatif kültür sonuçları arasında anlamlı fark izlenmese de kantitatif kültürle kolonizasyon-patojen etken ayrımı daha güvenilir bir şekilde yapılmıştır. Benzer şekilde ETA örneklerinin kantitatif kültürünün tanıda uygun yöntem olduğunu vurgulayan çalışmalar bildirilmiştir<sup>(4,6)</sup>. Sonuç olarak her ünite kendi etkenlerini ve antibiyotik direnç oranlarını izleyerek tedavi ve kontrol seçeneklerini bu bilgiler üzerine oturtmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Albert S, Kirchner J, Thomas H, Behne M, Schur J, Brade V: Role of quantitative cultures and microscopic examinations of endotracheal aspirates in the diagnosis of pulmonary infections in ventilated patients, J Hosp Infect 1997;37(1):25-37.
2. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia, Am J Respir Crit Care Med 2005;171(4):388-416.

3. Çelik D, Yıldız TŞ, Ilgazlı A ve ark: Ventilator ilişkili pnömoni tanısında bronkoskopik ve bronkoskopik olmayan yöntemlerin tanısal etkinliklerinin karşılaştırılması, *Solunum* 2006;8(3):95-101.
4. Demirdağ K, Cihangiroğlu M, Yüce P, Özden M, Kalkan A: Mekanik ventilasyon desteği alan hastaların trakeal aspirat örneklerinde izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları, *Klimik Derg* 2003;16(2):68-72.
5. Gürdoğan K, Arslan H, Nazlıer S: Ventilatorle ilişkili pnömoniler, *Klimik Derg* 1999;12(2):58-9.
6. Karaca S, Çırak K, Halilçolar H: Ventilatorle ilişkili pnömoni tanısında derin trakeal aspirat ve bronkoalveoler lavaj örneklerinin kantitatif kültürlerinin sonuçları ve karşılaştırılması, *Solunum* 2005;7(1):13-7.
7. Luna CM, Videla A, Mattera J et al: Blood cultures have limited value in predicting severity of illness and as a diagnostic tool in ventilator-associated pneumonia, *Chest* 1999;116(4):1075-84.
8. Mardganieva EA, Mironov PI, Rudnov VA: Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia in children, *Anesteziol Reanimatol* 2006;1:34-8.
9. Michel F, Franceschini B, Berger P et al: Early antibiotic treatment for BAL-confirmed ventilator-associated pneumonia: a role for routine endotracheal aspirate cultures, *Chest* 2005;127(2):589-97.
10. Özinel MA, Işıkgöz Taşbakan M: Korunmuş endotrakeal aspirasyon örneklerinin nozokomiyal pnömonide tanı değeri, *Hastane Enfeksiyon Derg* 2002;6(2):82-6.
11. Rajasekhar T, Anuradha K, Suhasini T, Lakshmi V: The role of quantitative cultures of non-bronchoscopic samples in ventilator associated pneumonia, *Indian J Med Microbiol* 2006;24(2):107-13.
12. Schleupner CJ, Cobb DK: A study of the etiology and treatment of nosocomial pneumonia in a community-based teaching hospital, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13(9):515-25.
13. Svediene S, Ivaskevicius J: Actualities of adults ventilator-associated pneumonia, *Medicina (Kau-nas)* 2006;42(2):91-7.
14. Toraks Derneği: Erişkinlerde Hastane Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi, Ankara (2002).
15. Ulusoy S: Hastane kaynaklı pnömoniler, *Toraks Bült* 1998;3(1)(Ek1):15-25.
16. Wermert D, Marquette CH, Copin MC et al: Influence of pulmonary bacteriology and histology on the yield of diagnostic procedures in ventilator-acquired pneumonia, *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(1):139-47.
17. Wu CL, Yang DE, Wang NY, Kuo HT, Chen PZ: Quantitative culture of endotracheal aspirates in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia in patients with treatment failure, *Chest* 2002;122(2):662-8.