

**Atipik Pnömoni Etkenlerinin İndirekt İmmüno Floresan
Antikor Yöntemi İle Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Müge PELTEK
Kasım 2009**

ÖZET

ATİPİK PNÖMONİ ETKENLERİNİN İNDİREKT İMMÜNO FLORESAN ANTİKOR TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

PELTEK Müge

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Kasım 2009, 49 sayfa

Toplum kökenli pnömoniler (TKP), bildirim zorunlu hastalıklar grubunda olmaması ve geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmaların yapılmaması nedeniyle günümüzde hala en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak yerini almaktadır. İndirekt immünofloresan antikor yöntemi (IFA) ile yapılan pnömoni çalışmaları sınırlı sayıda kalmış ancak bu çalışmalarda verimli sonuçlar elde edilmiştir. IFA diğer birçok yöntemden daha pratik ve güvenilir olduğundan günümüzde özellikle bu yöntem tercih edilmektedir. Bu çalışmada TKP ön tanılı hastalarda atipik etkenler belirlenmiştir ve etken sıklığı, etkenlerin yaşa ve cinsiyete göre dağılımı tespit edilmiştir. 31 (%15.9)'i kadın, 64 (%32.8)'ü erkek, 96 (%49.2)'si çocuk ve 4 (%2)'ü yenidoğan olmak üzere toplam 195 hasta ile çalışılmıştır. Pnömoni ön tanılı hastaların serum örneklerinden IFA ile IgM türünde antikor tayini yapılmıştır ve atipik pnömoni etkenleri aranmıştır. 106 (%54,4) hastada çeşitli bakteriyel ve viral etkenler tespit edilmiş, 89 (%45,6) hastada hiçbir etken tespit edilememiştir. Tespit edilen etkenler arasında en fazla belirlenen bakteriyel etken *Klebsiella pneumoniae*, en fazla belirlenen viral etken ise *Adenovirüs*'dür. Etkenlerin tümüne en fazla kış ve sonbahar aylarında rastlanılmış ve en sık 1-10 yaşları arasındaki küçük çocuklarda ve 50-60 yaşları arasındaki yaşlılarda tespit edilmiştir. Kullanılan yöntemin etken tespitinde büyük ölçüde kullanışlı ve yararlı olduğu görülmüştür. IFA'nın hızlı, pratik, maliyeti düşük, tanılabilirliği yüksek ve sensitivitesi yüksek bir yöntem olup, pnömoni etkenlerini belirlemede en uygun yöntem olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Toplum Kökenli Pnömoni, IFA, Atipik Pnömoni.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA BY INDIRECT IMMUNOFLUORESCENT ANTIBODY ASSAY

PELTEK Müge

M. Sc.In Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

November 2009, 49 pages

Nowadays community-acquired pneumonia is still the most important cause of morbidity and mortality owing to not being in the group of obligatory notification diseases and not doing overall epidemiologic workings. The studies about indirect immunofluorescent antibody assay (IFA) have been limited number but the method always has given efficient results. IFA is especially preferred today because of being more practical and reliable than many other methods. In this study, atypical agents, agent frequency, and agent's distribution have been determined in patients with initial diagnosis due to age and gender. It has been studied with total 195 patients including 31 women, 64 men, 96 children and 4 neonates. IgM type antibody have been determined by indirect immunofluorescent antibody assay. In 106 patients, bacterial and viral agents have been determined and no agents have been determined in 89 patients. *Klebsiella pneumoniae* was the most determined bacterial agent and Adenovirus was the most determined viral agent. All of agents have been determined in winter and autumn and the most range of age was 1-10 ages and 50-60 ages intervals. It was seen that the method was useful and advantageous. It was determined that IFA is quick, practical, low cost, high seropositivity and sensitivity and most appropriate method at determination for pneumonia agents.

Key words: Community-acquired pneumonia, indirect immunofluorescent antibody assay, atypical pneumonia.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar LİSTESİ.....	IV
GRAFİK LİSTESİ.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
BÖLÜM 1: GİRİŞ.....	1
1.1.Pnömoni Patogenezi.....	6
1.2. Pnömonide Epidemiyoloji.....	6
1.3. Pnömonide Etyoloji.....	9
1.3.1.Bakteriyel Pnömoniler.....	11
1.3.2.Viral Pnömoniler.....	12
BÖLÜM 2: KAYNAK ÖZETLERİ.....	14
BÖLÜM 3. MATERYAL-METOD.....	20
3.1. İndirekt İmmunofloresan Antikor Testi.....	20
BÖLÜM 4:BULGULAR.....	25
BÖLÜM 5. TARTIŞMA.....	34
KAYNAKLAR.....	40

TABLolar LİSTESİ	Sayfa
TABLO 1. Etkenlerin Mevsimlere Göre Dağılımı.....	26
TABLO 2. Etkenlerin Yaşa Göre Dağılımı.....	27
TABLO 3. Etkenlerin Cinsiyete Göre Dağılımı.....	29
TABLO 4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Aylara ve Yaşa Göre Dağılımı.....	30
TABLO 5. <i>Adenovirüs</i> 'ün Hastaların Yaşı ve Aylara Göre Görülme Sıklığı.....	31
ŞEKİL 1. IFA'da İnkübasyon Tepsisi ve Substrat Pozisyon Şeması.....	22
ŞEKİL 2. Biochip Slaytlara Kaplı Antijen Bölgeleri ve Oranları.....	24

GRAFİK LİSTESİ	Sayfa
GRAFİK 1. Etkenlerin Mevsimlere Göre Dağılımı.....	26
GRAFİK 2. Etkenlerin Yaşa Göre Dağılımı.....	28
GRAFİK 3. Etkenlerin Cinsiyete Göre Dağılımı.....	29
GRAFİK 4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Aylara ve Yaşa Göre Dağılımı.....	30
GRAFİK 5. <i>Adenovirus</i> 'ün Hastaların Yaşı ve Aylara Göre Görülme Sıklığı.....	32

TEŞEKKÜR

Tezimde yürüttüğüm çalışmalar ve araştırmalar sırasında her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, tüm kalbiyle bana inanıp bana güç veren değerli sayın hocam ve danışmanım Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a;

Çalışma sırasında bana her türlü yardımda bulunan, tanısal değerlendirmeleri gerçekleştiren ve desteğini her zaman arkamda hissettiğim sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Yasemin ZER'e;

Tezimin araştırma, yürütme ve oluşturmada bana büyük katkıları olan ve tezin hazırlanışında büyük destek sağlayan sevgili hocam Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a;

Tezimin geliştirme ve yürütülmesi sırasında bana büyük yardımları bulunan sevgili hocam Uzman Bio. Işık Didem KARAGÖZ'e;

Tezimin yürütülmesi sırasında büyük yardımları dokunan Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi tekniker kadrosuna;

Çalışmalarım sırasında desteğini hep arkamda hissettiğim ve her zaman yanımda olduğunu, olacağını bildiğim canım anneme ve sevgili aileme;

Teşekkürlerimi sunarım.

MÜGE PELTEK

1. GİRİŞ

Pnömoni, her yaş grubunda ve her toplumda sık rastlanan bir enfeksiyon hastalığıdır. Son yıllarda görülme sıklığının artması, önemli ölçüde morbidite ve mortalite sebebi olması, yıllık insidans oranlarının fazla olması ve tedavi maliyetlerinin yüksek oluşu pnömoniyi son derece önemli bir sağlık sorunu haline getirmiştir [1]. Etken yelpazesinin sürekli değişimi pulmoner enfeksiyon sıklığını arttırmıştır. Ayrıca yanlış ve geç tedavi sonucu artan antibiyotik dirençliliği, alkolizm, organ transplantasyonları ve immüsupresyona (bağışıklık baskılama) yol açan sitostatik tedaviler (kanser tedavileri) gibi nedenlerle ağır, tanı ve tedavide ciddi sorunlara yol açan pnömonilere sebep olmaktadır [75]. Tanı ve tedavideki gelişmelere ve tıptaki teknolojik ilerlemelere karşın pnömoniler önemli bir sağlık sorunu olmayı sürdürmekte ve yaşamı büyük ölçüde tehdit etmektedir.

Pnömoni akciğerdeki küçük hava keselerine yani alveollere solunum, damlacık ya da enjeksiyon yoluyla ulaşan mikroorganizmaların birikmesi ve kan damarlarından gelen serumun bu bölgeye dolması sonucu oluşan önemli bir alt solunum yolu hastalığıdır [1]. Pnömoni akciğerin bir veya iki lobunda görülebilirken birkaç lob ya da loblar arası bölgede (interstisyel) görülen önemli bir akut enfeksiyon hastalığıdır. Pnömoni; hastalık başlangıcındaki klinik tablo ve bu tabloya bağlı uygulanan tedaviler farklı olduğundan, yakın zamana kadar tipik ve atipik pnömoni olarak iki farklı kısımda inceleniyordu. Ancak tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişmesi ve dolayısıyla bu yaklaşımın yetersiz kalması sebebiyle yeni bir sınıflandırma yapılmıştır. Buna göre pnömoni;

- 1) Toplum Kökenli Pnömoniler (TKP)
 - 2) Hastane Kökenli Pnömoniler
 - 3) Bağışıklığı Baskılanmış Pnömoniler
- olarak 3'e ayrılmıştır.

Toplum kökenli pnömoni (TKP) bilinen belli bir bağışıklık problemi olmayan kişilerde günlük yaşam sırasında yani hastane dışında gelişen pnömonidir. TKP tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen hala dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedenidir. TKP'de fizik muayene bulguları doğrultusunda akciğer grafisinde görülen yama şeklindeki görünüm (İnfiltrat, loblarda biriken ödem) tanı için yeterlidir. Pnömoni tanısı konulan hastada, sorumlu mikroorganizmanın tespit edilmesi gerekir. Mikroorganizmanın belirlenmesi için mikroskopik inceleme, kültür hazırlama (kan ve balgam kültürü), mikrobiyolojik ve serolojik testler yapılır. Hemagglütinasyon testi, kompleman fiksasyon testi (CF), Partikül Agglütinasyon (PA), Bronkoalveolar Lavaj (BAL), ELISA, direkt floresan antikor testi (DFA) ve indirekt immüno floresan antikor testi (IFA) serolojik testlerden bazılarıdır [1,5,6,47,48,49]. Özellikle viral pnömoni etkenlerinin tanısını koymak oldukça güçtür. Bu solunum virüslerinin tanısında yaygın olarak hücre kültürü yöntemi uygulanmaktaydı. Ancak bu yöntem çok zaman aldığı ve ileri laboratuvar teknikleri gerektirdiği için günümüzde ancak referans laboratuvarlarda uygulanabilmektedir. Bu etkenlere yönelik tanı daha çok serolojik yöntemlerle konulabilmektedir. Bu yöntemlerin başında IFA ve ELISA gelmektedir. Özellikle IFA ile hızlı tanı koymak mümkündür.

IFA; hasta serumundaki antijene bağlanan antikorun floresan kaplı başka bir antikora yani immüno globuline (anti-antikor) bağlanması sonucu floresan mikroskop altında parlamasıyla, aranan etkenin tespit edilmesine dayanan bir histokimyasal laboratuvar boyama tekniğidir. Bu yöntemde iki çeşit antikor kullanılır. Biri primer antikor da denilen aranan antijene karşı kullanılan antikor, diğeri sekonder (indirekt) antikor da denilen primer antikoru tanıyan floresan kaplı anti-antikordur. Sekonder antikor kompleman sistemin bir üyesi olan ve akut dönemde en yüksek değerine ulaşan immüno globulin M (IgM)'dir. IFA, ELISA köken alınarak ve antijen-antikor birleşmesine dayanılarak geliştirilmiş bir yöntemdir. Antijen-antikor birleşmesi spesifik bir olaydır. Fakat birbirine benzeyen gruplar arasında da birleşme olabilir. Buna **çapraz reaksiyon** adı verilir. Kimyasal bir olay olup, bu birleşmede kovalent olmayan bağlar rol oynar. Antijen ve antikor molekülü tam olarak reaksiyona girer

ve birleşen moleküller parçalanmazlar. Reversibl bir olaydır. Bu yöntem birçok hastalığın tanısında kullanılmaktadır. Bunların arasında pnömoni, HIV ve SARS gibi önemli hastalıklar bulunmaktadır.

İmmünofloresan tekniği gerçek anlamda 1941 yılında Albert Hewett Coons ve kolej arkadaşları tarafından keşfedilmiştir. Ancak Coons bu tekniği geliştirdiğinde bu teknikle ilgili 300 kadar yapılmış çalışma vardı. 1930-36 yılları boyunca Reiner (1930), Bronnfenbrenner (1931) Marrack (1934) ve Eagle (1936) gibi araştırmacılar antikor proteinlerini antijenle reaksiyona girme kapasitesine zarar vermeden basit kimyasal yapılarla birleştirmeyi başardılar. 1942 yılında Coons ve arkadaşları antikoru floresan izosiyanat ile birleştirebilen ve bu bileşimi spesifik bir histokimyasal boya olarak kullanan bir metod geliştirdiler. Yine 1942’de Coons ve arkadaşları bu yeni metodu ilk defa fare dokularındaki pönomokokların yerini belirlemek için kullandılar. 1954 yılında Weller ve Coons virüslerin floresan boyanmasında bir metot geliştirdiler. Bu metoda göre; antiserumu enfekte dokuya direk uygulamak yerine, önce antijenle insan immünoglobulini birleştirdiler, daha sonra bu komplekse işaretlenmiş bir anti insan gama globulini eklediler. Böylece antijen immün kompleksin alt katmanı, işaretlenmemiş antikor orta katman ve floresan antikor üst katmanı oluşturdu. Bu teknik floresan boyamada indirekt metot olarak kabul edildi. 1958 yılında Carter ve Leise tarafından bakteriyel boyama için uyarlandı [11]. 1963’de lupus eritematozus lezyonlarında ilk defa IgG ve C3 tanımlanmıştır. 1964 yılında Beutner ve Jordon indirekt immünofloresan tekniğini pemfigus (bir çeşit deri hastalığı) hastalarının serumunda antikorları göstermek için kullandılar [60].

İmmünofloresan tekniklerde kullanılan floresan boyalara fluorokrom adı verilir. Fluorokromun antikorlara bağlanması işaretlenmiş antikor yönteminin temelidir. Şimdiye kadar en yaygın kullanılan iki fluorokrom; floresin izotiyosiyanat (FITC) ve rodamin izotiyosiyanat (TRITC)dır. Floresin sarımsı yeşil bir ışınımına sahiptir. Rodamin ise kırmızımsı turuncu renktedir. Bu fluorokromlar diğer fluorokromlara

göre daha parlak ve verimli olduklarından tercih edilmiştir. Ayrıca floresin rodamine göre daha avantajlıdır. Bunun sebebi; floresin ve rodaminin aynı parlaklığa sahip olmalarına rağmen gözün kırmızımsı turuncudan çok elma yeşiline daha duyarlı olması ve kırmızı otofloresansın (otofloresans: herhangi bir boya verilmeksizin gözdeki yapılardan floresan ışık yayılımı) doğada yeşil otofloresansdan daha yaygın olmasıdır [21].

Daha sonraki yıllarda immünofloresan teknik geliştirilmiş ve farklı yöntemler denemiştir. Bunlardan birkaç immünolojik reaksiyon dizisinden yarar sağlanmıştır. Bu yöntemler:

1. Coons'un orijinal prosedürüne göre; floresan kaplı antikor çözeltisi antijen içeren preparata muamele edilir. Antijen antikor kompleksi oluşur. Bu prosedür direkt immünofloresan (DFA) teknik olarak adlandırılır.
2. Antijen içeren preparat önce işaretlenmemiş spesifik antiserumla muamele edilir. Sonuçta oluşan antijen-antikor kompleksi floresan kaplı spesifik antikorla muamele edilerek floresan ışık altında görünür hale gelir. Bu prosedür IFA tekniği olarak adlandırıldı. 1954 yılında Weller ve Coons bu prosedürü ilk defa tanımladılar. Watson ise ilk defa bu yöntemi Coons'un laboratuvarında uyguladı. IFA tek bir konjugat kullanarak verilen örneği farklı antiserumlarla çalışmayı mümkün kılar. Bu prosedür DFA yönteminden daha duyarlı ve kolay kontrol edilebilir bir yöntemdir. IFA floresan antikor yöntemleri içinde en fazla yararlanılan yöntemidir.
3. Diğer bir yöntem olan kompleman boyama yöntemi Goldwasser ve Shepard tarafından bulundu. Bu tekniğe göre; 56 °C' de 30 dakika ısıtılarak kompleman aktivasyonu yıkılan bir serum, kompleman yönünden zengin ve genelde serolojik reaksiyonlarda kompleman kaynağı olarak kullanılan kobay serumu ile karıştırılır ve daha sonra antijenle birleşmesi sağlanır. Antijen, antikor ve kompleman kompleksi kobay serumundaki floresan kaplı antikor sayesinde slayt üzerinde görünür hale gelir. Goldwasser ve Shepard bu

reaksiyonun IFA'dan daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu yöntem çok fazla işlem içerdiği için lüzumsuz bulunmuştur.

IFA pnömonide ilk kez 1944 yılında Eaton ve arkadaşları tarafından primer atipik pnömonide etyolojik ajanların gösterilmesi için kullanılmıştır [17]. 1955 ve sonrasında Liu ve Eaton, Liu ve Liu ve Heyl yaptıkları çalışmalarla viral pnömoni antijenlerini IFA ile gösterdiler [47-49]. Ayrıca Liu, Eaton ve Heyl yaptıkları çalışmada pnömoni için yapılan soğuk aglünütasyon testi ile IFA'yı karşılaştırmışlar ve sonuçta IFA'nın daha duyarlı, özgül ve güvenilir bir test olduğunu göstermişlerdir [48]. 1957 ve daha sonrasında ise yapılan çalışmalarla IFA'nın bakteriler için de spesifik bir yöntem olduğu ortaya konmuştur.

Zamanla IFA yöntemi geliştirilmiş ve yaygın bir biçimde kullanılmaya başlanmıştır. Birçok hastalığın tanısında önemli sensitivite (duyarlık) ve spesifite (özgüllük) gösterdiği özellikle bazı bakteri ve virüsler için özgül bir metod olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmış ve sonuçta IFA günümüzde önemli bir yöntem haline gelmiştir. 1968 yılında McQuillin ve Gardner tarafından RSV için en hızlı ve duyarlı yöntem kabul edilen IFA'yı, *Legionella pneumophila* ve *Chlamydia pneumoniae* için de özgül yöntem olarak kullandılar [45].

IFA yönteminin en önemli özelliği özgüllüğünün yüksek oluşudur. Yüksek özgüllüğe sahip olan IFA, eğer düşük özgüllük gösterirse bunun iki nedeni vardır. Bunlardan birincisi konjugata boyanın bağlanamaması, ikincisi ise antiserum içindeki immünolojik çapraz reaksiyon (İki farklı antijen tarafından antijenik belirteçlerin paylaşılması) düşük özgüllüğe neden olur. En düşük sensitivite sınırı 1958 yılında Pressman tarafından hesaplanmış ve radyootografik teknikten 20 000 kat daha duyarlı bulunmuştur [11]. Sonuç olarak bazı dezavantajlarına rağmen IFA medikal ve biyolojik araştırmalarda yeni ve ilginç olanaklar sunabilen güçlü bir yöntemdir.

1.1. Pnömoni Patogenezi:

Normalde steril olan ve akciğer savunma sistemi tarafından korunan akciğer dokusu solunum, damlacık ve kan yoluyla ulaşan ve konak defansını aşan virülan mikroorganizmalarla enfekte olur ve pnömoni gelişir.

TKP patojenik olarak sınıflandırılırsa 3'e ayrılır:

1. Lober Pnömoni (Alveolar Pnömoni): Akciğerin bütün bir lobunda görülür. Pnömonokoklar sebep olur.
2. Lobüler Pnömoni (Bronkopnömoni): Mikroorganizmalar yer yer odaklar halindedir ve bronşları da tutmuşlardır. Genelde çocuk ve yaşlılarda görülür. Boğmaca, grip, difteri, kızıl, tifo gibi hastalıkların sonrasında meydana gelir.
3. İntertisyel Pnömoni (Viral Pnömoni): Alveollar arasındaki interstisyel bağ dokusunu tutulumudur. Akciğer grafisinde buzlu cam görünümündedir.

TKP'de kuluçka süresi etkene göre değişmektedir. Bakteriyel pnömonilerde 36-72 saat iken, viral pnömonilerde 4-5 gün hatta bir hafta sürebilir [78,80].

1.2. Pnömonide Epidemiyoloji:

TKP'nin tek etkeni enfekte insanlardır. Pnömoni etkenleri hava yoluyla (aspirasyon) yayılabildiği gibi damlacık yoluyla (inhalasyon) ve kan yoluyla da (hematojen) yayılabilir. Özellikle askeri kışla, okul, toplu taşıma araçları ve bakımevleri gibi insanların yoğun olarak bulunduğu kapalı ortamlarda kolaylıkla yayılabilmekte ve salgınlar oluşturabilmektedir. Yılın her mevsiminde görülebilir, özellikle sonbahar ve kış aylarında yakalanma riski ve görülme sıklığı artar. Bunun en önemli sebebi; kapalı ve kalabalık ortamların inhalasyon yoluyla enfeksiyonun doğrudan geçişi arttırmasıdır. Çünkü kış aylarında soğuk hava sebebiyle kapalı ortamlarda bulunma oranı ve dolayısıyla kalabalık artmaktadır. Ancak kış aylarında daha sık görülmesine rağmen yılın her mevsimi görülebilen tek enfeksiyon hastalığı olma özelliğine

sahiptir. Yaşamı tehdit eden ölümcül bir hastalık olup, tedaviyi maliyeti korkunç boyutlara ulaşabilir. Amerika'da tüm ölüm nedenleri arasında altıncı sırayı, enfeksiyonlara bağlı ölümler arasında ise ilk sırayı almaktadır [1]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün verilerine göre dünyada her yıl her 1000 kişiden 10-15'i pnömoniye yakalanmaktadır. ABD'de yılda 5.6 milyon kişide TKP oluştuğu ve bunların 1.1 milyonunun hastanede tedavi gerektirdiği hesaplanmaktadır [5]. Türkiye'de her yıl Sağlık Bakanlığı istatistiklerine göre yaklaşık 90 000 pnömoni vakası görülmekte ve 2500 civarında kişi hayatını kaybetmektedir. Ancak Türkiye için gerçek rakamın çok daha yüksek olduğu bilinmekte ve yaklaşık 500 000 kişinin her yıl pnömoniye yakalandığı bildirilmektedir [1].

Altta yatan hastalıklar TKP riskini arttıran önemli etkenlerdir. Örneğin; KOAH (kronik obstruktif akciğer hastalığı), malignite, diabetes mellitus, böbrek yetmezliği, konjestif kalp yetmezliği, kronik akciğer hastalığı, kistik fibröz, bronşektazi, karaciğer hastalığı, serebrovasküler hastalık, böbrek hastalığı gibi hastalıklar pnömoni oluşumuna zemin hazırlar ve yakalanma riskini arttırır. Ayrıca splenektomi, alkolizm, malnütrisyon, huzurevinde yaşama gibi etkenler de hastalık riskini arttırır ve hastalığın daha ağır seyretmesine sebep olur [12].

TKP özellikle küçük çocuklarda, yaşlılarda ve hamilelerde büyük bir risk faktörüdür. Yaşlılarda ve çocuklarda yıllık insidans (görülme sıklığı) ve iyileşme dönemi erişkinlere göre çok daha fazla olup yakalanma riski de yetişkinlere göre oldukça yüksektir. Çocuklarda genelde 2-5 yaş arası ve yaşlılarda 50- 60 yaş arası daha sık görülmekte ve hastalık daha ağır seyretmektedir [40].

Pnömoni yaşlılarda hastane dışı gelişen enfeksiyonların en tehlikelisi ve ölümcül olanıdır. Yaşlılarda çevre koşulları, beslenme bozuklukları, sigara, antidepresan ilaçlar, yaşlanmaya bağlı fizyolojik değişiklikler ve toplu yaşam enfeksiyona zemin hazırlayan önemli nedenlerdendir. TKP en sık yalnız yaşayan yaşlılardan çok huzurevleri veya bakımevlerinde yaşayanlarda daha sık görülür. Huzurevlerinde

yaşayan yaşlılarda Klebsiella suşları ilk sırada hastalık etkenidir [15]. Yaşlılarda mortalite hızı genç hastalara göre iki kat fazladır. Özellikle 65 yaş ve üzeri kişilerde ölüm oranı genç erişkin ve çocuklarda daha yüksek olduğu yapılan birçok çalışma sonucu tespit edilmiştir. Yaşlı pnömonisinde mikrobiyolojik tanı gençlere göre daha düşüktür. Yaşlılarda en sık görülen pnömoni etkeni *H. influenza* en sık viral etken ise *Influenza* virüsüdür [15]. Yaşlı popülasyonda pnömoni görülme sıklığı, yaşlılardaki farinks ve orofarinkste kolonize olmuş, gereksiz antibiyotik kullanımı yüzünden direnç kazanmış virülan ya da virülan olamayan bakteri florasının bulunması, bağışıklık sisteminin zayıflaması, altta yatan hastalıkların bulunması ve fiziksel aktivitenin azalması gibi nedenlerle yüksektir [43]. İmmün sistemin zayıflamasıyla IgM yanıtı azalan yaşlılarda en çok T lenfositleri nicelik ve nitelik yönünden etkilenir [15]. B lenfositlerinden daha çok zayıflayan T lenfositlerinin yanı sıra alveolar makrofajlarda da fonksiyon kaybı olabilir. Ancak konak defansındaki bu zayıflamanın pnömoni insidansı ve mortalitesini arttığı yönünde bir bulgu yoktur.

Pnömoni çocuklarda görülen enfeksiyon hastalıkları içinde en ölümcül olanıdır. Özellikle 5 yaş altı çocuklarda büyük risk oluşturur. Anneden çocuklarına geçen IgG sınıfı antikolar birçok bakteri ve virüse karşı korunma sağlarken, IgM antikoları geçmediği için yenidoğan bazı mikroorganizmalara karşı savunmasızdır. Bu yüzden ilk üç ayda pnömoni görülme olasılığı yüksektir. Günümüzde gelişen tanı ve tedavi yöntemleri sayesinde çocuklarda pnömoni savaşı kolay, önlenbilir ve kolay tedavi edilebilir bir enfeksiyon hastalığı haline gelmiştir. 2001 yılında 5 yaş altı çocuk ölümleri yılda 5 milyon iken 2009 yılında bu oran 2 milyona gerilemiştir [4,82]. Bu oran düşük ekonomik ve toplumsal durumdan kaynaklanmaktadır. Çocukluk pnömonilerinde çocukların %20-60'ında etken saptanamamaktadır. 5 yaş altı çocuklarda en sık viral etkenler görülürken, daha büyük çocuklarda *Mycoplasma pneumoniae*'ye sık rastlanır[16].

TKP olgularında; tanı ve tedavi rehberlerinin büyük katkısı olmaktadır. Bir çok olguda erken tanı yapılamadığı için tanı ve tedavide bu rehberlerden yararlanılmaktadır ve bu yolla mortalite riski ve oranı düşmektedir. Bu yüzden

pnömonili hasta için tanı ve tedavi rehberlerinden yararlanmak ve tanı konana kadar uygun tedavi yöntemi bu rehberler aracılığıyla belirlemek hasta için çok yararlı bir yaklaşım olur. ABD, Kanada, Latin Amerika, İngiltere, İspanya ve daha birçok Avrupa ülkesinde kendi geliştirdikleri ve kullandıkları tanı ve tedavi rehberleri bulunmaktadır [5,9,52,53,54,58,62,63]. Ülkemizde de faydalanılmakta olan hazırlanmış rehberler mevcuttur. Bu çalışma; elde edilen sonuçların ve belirlenen etken görülme sıklığının, oluşma süresinin, yaşa göre dağılımının ve etken çeşitliliğinin tanı ve tedavi rehberlerine bir kaynak oluşturması açısından faydalı olabileceği ve rehberlere zemin hazırlayabileceği görüşüyle yola çıkılarak hazırlanmıştır.

1.3. Pnömonide Etiyoloji:

TKP olgularında birçok bakteriyel, viral, fungal ve protozoal patojen pnömoniye sebep olabilir. En fazla görülen bakteriyel etken *Streptococcus pneumoniae* olup, atipik etkenler araştırıldığından bu çalışmada yer verilmemiştir. *S. pneumoniae*'den sonra en sık görülen bakteriyel etken *Haemophilus influenza*'dır. Bunu *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* ve *Legionella pneumophila* izler. En sık görülen viral etken ise *Respiratuar Sinsisyal Virüs (RSV)*'dür. Özellikle bebeklik döneminde viral pnömoninin en sık nedeni RSV'dir. Hastalığın şiddeti çocuğun yaşı, immün durumu, çevresel faktörler (kalabalık ortam) ve mevsim (kış mevsiminde siktir) gibi faktörler tarafından etkilenir [30]. Diğer viral etkenler *Influenza A* ve *B*, *Adenovirüs* ve *Parainfluenza* virüsleridir. Bazı olgularda birkaç bakteri etkeninin ya da birkaç virüs patojeninin ya da hem virüs hem de bakteri etkenlerinin birlikte bulunduğu ve sık karşılaşılan miks patojenlerde görülebilir. Genelde tek virüs etkidir. Ancak %5-20 oranında birden fazla virüs izole edebilir. Birden fazla etken (miks enfeksiyon) görülme sıklığı %8-30 gibi bir orandır. Genellikle viral ve bakteriyel enfeksiyon birliği görülmekle beraber son yıllarda ikili bakteri enfeksiyonu (*S. pneumoniae* ve *M. pneumoniae* gibi) görülme oranı artmıştır. Tanı yöntemlerinin yetersiz olması ya da uygun tanı yöntemlerinin seçilememesi tedaviyi

geciktirmekte, morbidite ve mortaliteyi arttırmaktadır. Etyoloji ve prevalansı yıldan yıla ve coğrafik özelliklere göre değişir.

Günümüzde ileri tanı olanaklarına karşın TKP’de etkenlerin tümünü saptamak mümkün olmamaktadır. TKP olgularının % 50’den fazlasında spesifik etken tespit edilememektedir. Oysa, TKP olgularında, mümkün olan en kısa sürede tanı koymak ve sonrasında en az ilk dört ve sekiz saatte doğru tedaviye başlamak mortaliteyi azaltmaktadır [66]. Yaşlı popülasyonda sık görülmesi, birçok hastada eşlik eden önemli hastalıklar olması, yanlış tedavi sonucu antibiyotik direncinin artması ve immünoşüprese (bağışıklığı baskılanmış) hastaların çoğalması etyolojik etkenlerin sıklığında ve türünde değişikliklere yol açmıştır [1]. Ayrıca respiratuvar virüsler farklı yollarla bulaştığı için (temas, küçük veya büyük damlacık) tanılarının kısa sürede konmasıyla nozokomiyal enfeksiyonların da önüne geçilmiş olacaktır. Ancak tanı yöntemlerini uygulamak için gereken süre (antikor oluşumu) tanı ve dolayısıyla tedaviyi geciktirdiği için ciddi morbidite ve mortalite sorunları yaşanmaktadır. Bunu önlemek için başlangıç olarak empirik tedavi uygulanmakta, ancak bu tedavi yanlış antibiyotik seçimi yüzünden tedaviye yanıtın gecikmesine ve mikroorganizmaların direnç kazanmasına neden olmaktadır [80]. Bu yüzden erken tanı için en pratik ve en hızlı tanı yönteminin belirlenmesi çok önemlidir. IFA’nın yapılan birçok çalışmada [7,12,13,24,31,43,68] pnömoni tanı yöntemleri arasında en hızlı, pratik, özgül, duyarlı ve güvenilir bir test olduğu kanıtlanmıştır.

Pnömoni etyolojisi için kanıta dayalı bir yaklaşım çok zordur. 100’den fazla pnömoni etkeni vardır ve bunların hemen hemen hepsi en azından ilk seferinde pulmoner dokudan izole edilmiştir. Ancak buradaki en büyük sorun her seferinde akciğer dokusu elde edilemeyeceğidir. Bu yüzden etyolojik bir teşhis yapmak için kan, balgam, ve plevral sıvı kültürlerine ve serolojik test sonuçları uygulanmıştır. Kan kültürü pnömonili hastaların sadece %6-10’nda pozitif sonuç verir ve plevral sıvı sadece ağır plevral efüzyon bildirimili hastalardan elde edilir. Balgam kültürü için balgam hastaların sadece üçte birinden elde edilir ve balgam ağız boşluğundaki

kolonize mikroorganizmalar arasından geçerken, en iyi ihtimalle pn6moni etkeni olarak tahmin edilen bir patojen balgamdan ayrılıp, izole olabilir [22].

TKP'de t6m tanısıl olanakların kullanılmasına rağmen %50'ye yakın olguda etken izole edilebilmektedir. Bunun nedeni t6m potansiyel patojenleri değerlendirebilen bir tanı testi olmaması ve her testin bazı eksiklerinin bulunmasıdır.

Ancak bu çalışmada kullanılan IFA y6ntemi aynı anda birçok etkeni tespit edebilmekte ve etkenleri b6y6k bir oranda saptayabilmektedir. Erken ve etkili tanıda birçok y6nteme g6re daha pratik bir y6ntem olarak pn6moni için etkili bir tanı y6ntemi olarak yer almaktadır. 6zellikle viral ajanların hızlı tanımlamada potansiyel değere sahip olduğu yaygın bir şekilde d6ř6n6lmesine rağmen hala rutin tanı aracı olarak kullanılmamaktadır [24].

Etyolojik olarak pn6monliler ikiye ayrılır:

1.3.1. Bakteriyel pn6moniler

TKP'de çok çeşitli mikroorganizmalar g6rev almaktadır. Bunların başında bakteriler gelir. Bakteriyel pn6moni çok vir6lan bakteriler tarafından gelişebileceği gibi sağlıklı bireylerin orofarinksinde kolonize olmuş normal boğaz florasındaki patojenlikleri d6ř6k bakteriler tarafından da gelişebilir.

Bağışıklığı baskılayıcı tedaviler ya da ilaçlar sebebiyle imm6ns6prese hastalarda, bağışıklığı tam gelişmemiş çocuklarda ve bağışıklığı zayıflamış yaşlılarda kolay gelişir. Bu y6zden en sık yaşlılarda ve çocuklarda g6r6l6r. Bakteriyel pn6moni g6r6len çocuklarda genelde 6nceden geçirilmiş viral enfeksiyon 6yk6s6 bulunur. Viral ajan akciğer savunma mekanizmalarını zayıflatarak bakteriyel pn6moni gelişimine zemin hazırlamıştır. Pn6moni her zaman konak savunmasının kusurlu olmasından dolayı ortaya çıkmaz, epidemiler ve pandemiler sonucu da pn6moni

gelişebilir. Ancak pnömonilerde akciğer bağışıklık sistemlerinin biri bozuktur. Bazı durumlarda belli bir konak savunması kusuru, özgül bir pnömoni çeşidine neden olabilir. Kuluçka süresi 3-4 gündür. Bazen 21 güne kadar uzayabilir [78,80].

En sık görülen bakteriyel pnömoni etkenleri *S. pneumoniae*, *H. influenza*, *K. pneumoniae* ve atipik etkenler olarak bilinen *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* ve *L. pneumophilla*'dır.

1.3.2. Viral Pnömoniler

Viral pnömoni etkenlerinin çoğu RNA virüsleri olup en sık çocuklarda görülür. RSV bebeklerde en sık görülen viral pnömonidir. Viral pnömoniler genellikle yoğun bir şekilde kış aylarında görülür. Erişkinlerde hastaneye yatış sebebi iken çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda ölümcül olabilir. Kuluçka süresi viral ajana ve hastaya göre değişir. Genelde 18-72 saat gibi kısa bir sürede gelişir [78,80].

Son zamanlarda toplumda görülen viral pnömoni sıklığı giderek artmaktadır. Bunun sebebi bağışıklığı baskılanmış hastaların artması, bağışıklığı baskılayan hastalıkların artması (HIV, Hepatit B, kanser gibi), ekonomik yetersizlikler yüzünden yaşam kalitesinin düşmesi gibi nedenlerden bir veya birkaçı olabilir. TKP'de viral etkenler hastaların % 8'inden sorumludur. Viral ve bakteriyel ajanların birlikte bulunduğu hastaların oranı ise % 51 civarındadır [45,55].

Viral pnömoni etkenleri genelde damlacık yoluyla yayılmakta ve önce üst solunum yoluna yerleşmektedir. Silyalı hücrelerde çoğalan viral ajanlar komşuluk yoluyla alt solunum yoluna geçerek pnömoniye neden olur. Viral pnömoni sonrasında akciğer dokusunda meydana gelen hasar ve immün sistemdeki zayıflama sonucu bakterilerin o bölgeye yerleşmesi ve çoğalması kolaylaşır. Bu yüzden sıklıkla viral pnömoni sırasında ya da sonrasında bakteriyel pnömoni geliştiği görülür. Viral pnömoniyi bakteriyel pnömoniden ayırt etmek zordur. Ancak viral pnömoniler daha yoğun

olarak epidemilere yol açtığından bu gibi durumlarda viral ajan varlığı düşünölmelidir. En sık karşılaşılan pnömoni etkeni virüsler; *RSV*, *Influenza A*, *Adenovirüs*, *Parainfluenza 1-3*, *Influenza B* virüsleridir [34,35,37]. Virüslerin görölme sıklığı yaşa ve mevsime göre değişmektedir. Özellikle 5 yaş altı çocuklarda sık rastlanan viral pnömoni etkenleri mevsim olarak en sık bahar ve kış aylarında görölür [4,8,16].

Viral pnömoni tanısında költür yöntemi zor, zahmetli ve fazla zaman aldığından genelde serolojik testler tercih edilmektedir. Yaygın kullanılan ELISA ve IFA yöntemleri ile 2-3 saat içinde kesin tanı koymak mümkündür. Güvenilir, pratik ve hızlı bir yöntem olması sayesinde IFA yöntemi viral çalışmalarda geniş çaplı kullanıma sahiptir. Viral pnömoniler için rutin bir test olarak uygulanacak düzeyde olup duyarlılığı oldukça yüksektir. IFA duyarlılığı *RSV* ve *Influenza B* için %87-93, *Adenovirüs* ve *Parainfluenza* virüs için %51-67 olarak bildirilmektedir [24].

Bu çalışma TKP ön tanılı hastalarda etkenlerden bazılarını belirleyerek hem lokal epidemiyolojik bir veri oluşturmak ve hem de kolay uygulanabilen bazı testlerle etkenlerin çoğunun saptanabileceğine vurgu yapmak amacı ile yapıldı.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Atipik pnömoni etkenlerinin laboratuvar tanısı Yılmaz tarafından derlenmiştir [83]. Pnömoni tanısı için günümüze kadar birçok tanı yöntemi uygulanmıştır. Bunların en başında kültür yöntemi gelmektedir. Kültür yöntemi özellikle viral enfeksiyonların tanısında altın standart olarak uygulanmaktadır. 1980'li yıllarda antijen tayin yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerden en sık kullanılanlar IFA ve ELISA'dır.

Bozkurt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kan kültürü, balgam kültürü ve IFA yöntemini karşılaştırılmış ve sonuçta 50 hastada etkenlerin izole edilme oranları %52 IFA, %38 kan kültürü ve % 36 balgam kültürü olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışma IFA'nın pnömoni etkenlerini belirlemede kan ve balgam kültürüne göre daha duyarlı ve güvenilir bir test olduğu için daha avantajlı olduğunu göstermektedir [12]. Hirai ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada IFA ile CF ve PA (Partikül Aglutinasyonu) karşılaştırılmıştır. Hastalarda *M. pneumoniae* etkenine karşı antikor aranmış ve sonuçta IFA ile %85,7 oranında pozitiflik saptanmıştır [31]. ELISA, DFA ve IFA ile *L. pneumophila* tanısına yönelik yapılan bir diğer araştırma da Elder ve ark.ları ELISA IgM sensitivitesini %70 ve IFA IgM sensitivitesini %38 olarak belirlemişlerdir. Ancak bu çalışmada ELISA için örnek alımı IFA için örnek alımının 4-8 hafta sonrasında gerçekleştirilmiştir [19]. Martinez ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışma yine IFA yönteminin tanı için daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada PCR ve IFA ile *M. pneumoniae* pozitifliği araştırılmıştır, elde edilen bulgular sonucunda %9 oranında *M. pneumoniae* bulunmuştur ve PCR ile 23 hastada pozitiflik saptanırken 27 hastada IFA ile pozitiflik saptanmıştır [56]. Amerika Colorado'da IFA ve kültür yöntemi ile RSV araştırılmış ve 154 hastada IFA pozitifliği saptanırken sadece 8 hastada kültür yöntemi ile ajan tespit edilmiştir. Böylece IFA duyarlılığı %95,1, özgüllüğü %86,5 ve tahmini pozitif değer %88,5 oranında saptanmıştır [45].

K. pneumoniae enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler sonucunda bu bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç yüksek oranda artmıştır. Gdkoğlu ve ark.larının Van'da; çeşitli kliniklerden alınan örnekler sonucu; 1999 yılında bir yılda 210 *K. pneumoniae* olgusuna rastlanırken, 2001 yılında bu oran 247'ye yükselmiştir [26]. 2007 yılında yapılan bir çalışmada ise *K. pneumoniae*'nin antibiyotik direnci %96 gibi yüksek bir oran bulunmuştur [2]. Kullanılan antibiyotikler direnç gelişimine sebep olmuş ve *Klebsiella* olgularında artış gözlenmiştir. *K. pneumoniae* görülme sıklığının altta yatan hastalıklar dışında sigara ve alkol kullanımının da arttırdığı bilinmektedir. 2004 yılında Tayvan'da yapılan bir çalışmada TKP hastalarında alkol ve sigara kullanan *K. pneumoniae*'li hastaların oranları araştırılmıştır. 28 alkolik hastayla yapılan çalışmada 26 TKP hastası sigara kullanmaktaydı. 11'inde yani %39,3 *K. pneumoniae* tespit edilmiş ve 11'inde de mortalite gözlenmiştir [40]. Yee Huang Ku ve arkadaşlarının 2007 yılında Tayvan'da yaptıkları bir çalışmada *K. pneumoniae* görülme sıklığının nedeni olarak altta yatan bir hastalık olduğunu tespit etmişlerdir. Çalıştıkları olgularda en sık diabetes mellitus altta yatan hastalık olarak kendini göstermektedir. Ayrıca PCR ile *K. pneumoniae*'nin en yaygın virülans faktörleri araştırılmış ve en yaygın faktör saptanmıştır. Bu çalışma için üç yıl içinde 18 *K. pneumoniae* hastası tespit edilmiştir [41]. *K. pneumoniae*, çocuklarda en sık etken olarak görülmesi çalışmada yer alan hastaların altta yatan başka bir hastalığı olduğuna ya da önceden geçirilmiş viral enfeksiyon öyküsü bulunduğuna işaret etmiştir.

Adenovirus çalışmamızda en sık saptanan (%11,3) viral etken olup, tüm etkenler arasında ikinci sıklıkta saptanmıştır. Farklı bölgelerde farklı oranlarda görülen Adenovirüs yurdisinde Tayvan'da %40,7 [23], özellikle bağışıklığı tam gelişmemiş bebeklerde ve küçük çocuklarda ağır solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Şiddetli *Adenovirus* enfeksiyonları önemli ölçüde morbidite ve mortalite nedenidir [28]. *Adenovirus* mevsimsel dağılım göstermez yıl boyu görülebilir.

Adenovirus birçok klinikte görülebilir yaygın bir mikroorganizmadır. Klinger ve arkadaşları İzlanda'da bir psikiyatrik bakım merkezinde *Adenovirus* salgını sırasında

gelişen 18 pnömoni hastasını incelemişlerdir. BAL ve DFA yöntemleri kullanılarak 5 hastada *Adenovirus* tespit edilmiş diğer hastalar için 6 kat titre artışı gerekmiştir [39].

Influenza A eskiden beri yaygın epidemiy ve pandemilere yol açan önemli bir morbidite ve mortalite özelliği gösteren viral patojendir. Daha çok yaşlılarda görülen bu patojen, genellikle kış aylarında epidemiler yapar. Yaklaşık 40 milyon kişinin ölümünden sorumlu olan 1918-1919 İspanya gribi, 86000 kişinin ölümünden sorumlu 1957-1958 Asya gribi ve 56300 kişinin ölümünden sorumlu 1968-1969 Hong Kong gribi gibi yüksek mortalite ve işgücü ve mali kayıpların yaşandığı önemli salgınlara yol açmıştır [8]. Eduardo ve arkadaşları Washington'da yaptıkları bir çalışmada; 139 hastadan 17 tanesinde yani %12,2 oranında *Influenza A* pnömonisi tespit etmişlerdir [18]. *Influenza A* tek başına önemli bir enfeksiyon hastalığı oluştururken genellikle bir ya da birkaç bakteri ile birlik yapıp daha ciddi yaşamı tehdit eden pnömonilere sebep olmaktadır. Bu son 120 yıl içerisinde meydana gelen 4 pandemi hakkında yayınlanan verilere rağmen hala influenza pandemileri ile ilgili ölümlerin neden hakkında çok fazla bilgi mevcut değildir. 1918-1919 İspanya gribi olarak adlandırılan influenza pandemisinde ölüm nedenlerini araştıran Morens ve arkadaşları otopsi yapılan hastalarda üzerinde çalışmışlardır. Kan ve plevral sıvı kültürleri sonucunda grip ölümlerinin en sık bakteriyel pnömoniye yol açan üst solunum yolu bakterilerinin sebep olduğu anlaşılmıştır [61].

RSV dünya çapında ve Türkiye'de en sık görülen viral enfeksiyon hastalık etkenidir. Bebeklerde, küçük çocuklarda ve yaşlılarda alt solunum yolu enfeksiyon hastalığının en önemli sebebidir. 3 yaşına kadar hemen bütün çocuklar *RSV* ile enfekte olur. Amerika'da pnömoni sebebiyle yılda 687.000 yaşlı hastada hastaneye yatış ve 74.000 yaşlıda ölüm gerçekleşmektedir ve bunların yaklaşık %2-9'u *RSV* kaynaklıdır. *RSV* hastaları için yılda 11.000\$ ve her *RSV* hastası başına 150-160\$ harcanmaktadır [29]. Hatipoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları *RSV* enfeksiyonu sıklığının araştırıldığı bir çalışmada ELISA yöntemi uygulanmış ve sonuçta 80 olgudan 28'inde

yani %35'inde RSV saptanmıştır [30]. Sadece bebekler üzerinde yapılan bir çalışmada; 3 yılda 420 bebek üzerinde hücre kültürü, ELISA ve DFA yöntemleri uygulanmış ve 206 (%49) hastada RSV pozitifliği saptanmıştır. Dublin'de yapılan bu çalışmada 3 yıl boyunca RSV'nin pik yaptığı dönemlerde örnek toplanmıştır. O yüzden RSV oranı oldukça yüksektir [64].

TKP'lerin yaklaşık %10-20'sini oluşturan *C. pneumoniae* tüm dünyada yaygın bir enfeksiyon nedenidir ve seroprevalansı Amerika ve diğer birçok ülkede gençler arasında %50 civarındadır [22]. Japonya'da 1991 yılında yapılan bir çalışmada *C. pneumoniae*'nin endemik rolü araştırılmıştır. Microimmünofloresan (MIF) yöntemle *C. pneumoniae* olduğu tahmin edilen hastalar üzerinde yapılan testlerle yıllık insidans oranı %44 oranında 4-7 yaş arası çocuklarda %50 oranında yaşlı hastalarda tespit edilmiştir [38]. Macaristan'da 1992'de yapılan başka bir çalışmada *C. pneumoniae* antikorları IFA yöntemiyle 120 hasta üzerinde araştırılmış ve %4,2'lik bir oranda bulunmuştur. Ayrıca kırsal kesimlerde prevalans daha düşük bulunmuş ve Budapeşte endemik olarak değerlendirilmiştir [53]. İsrail'de 1994'de bir çalışmada ise tüm akut solunum yolu enfeksiyonlu hastalar arasında *C. pneumoniae* antikor pozitifliği prevalansı %51,3 olarak bulunmuştur [10]. Kore'de 1997'de yapılan bir çalışmada *C. pneumoniae* oranı çalışmamıza (%2,1) göre oldukça yüksek bulunmuş ve bu sonuca göre Kore endemik olarak değerlendirilmiştir. MIF yöntemiyle yapılan çalışmada %52 oranında *C. pneumoniae* IgM antikor tespit edilmiştir [14]. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada *C. pneumoniae* ve *M. pneumoniae* prevalansı MIF ve ELISA testleriyle araştırılmıştır. *C. pneumoniae*'nin 10-20 yaş arası çocuklarda oranı %70 olarak tespit edilmiştir. *C. pneumoniae* yaşlılarda prevalansı %75 bulunmuştur [79]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise yine benzer sonuçlar bulunmuş ve yine en yüksek prevalans 10-20 yaş arası çocuklarda (%77) saptanmıştır. İzmir'de 1998'de yapılan çalışmada MIF test kullanılmış ve yetişkinlerde %64,3 oranında ve küçük çocuklarda %18,7 oranında *C. pneumoniae* tespit edilmiştir [25].

L. pneumophila TKP'lerin %2-8'inden sorumludur [44]. Lejyoner hastalığı keşfedildiğinden beri IFA *L. pneumophila*'ya karşı antikor tespitinde kullanılmaktadır. IFA artık neredeyse *L. pneumophila* için rutin bir test haline gelmiş serolojik testtir. Atlanta'da altı *L. pneumophila* ve dört pnömoni salgını IFA ile test edilmiş ve sonuçta *L. pneumophila* için IFA'da %78-91 sensitivite ve yaklaşık %99 spesivite tespit edilmiştir [81]. Latonio ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 95 hastada IFA ile atipik pnömoni etkenleri araştırılmış ve sonuçta hastaların % 31,1'inde *L. pneumophila* tespit etmiştir [46]. Gülçin Babaoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pnömoni olgularından *Legionella pneumophila*'nın direkt ve indirekt mikrobiyolojik yöntemlerle araştırılması yapılmış ve sonuçta bazı hastalarda balgam ve kan kültürleri, BAL (bronkoalveolar lavaj) ve TTA (Transtrakeal aspirat)'da *L. pneumophila* negatif olduğu halde, IFA' da pozitiflik saptanmıştır [7]. Ayrıca yine bu çalışmada bazı örneklerde DFA'da *L. pneumophila* negatif çıkmasına rağmen IFA' da pozitiflik saptanmıştır. Bu yüzden IFA'nın *L. pneumophila* için rutin bir test olarak uygulanması pnömoni olgularındaki tedavi gecikmelerini önleyebileceği gibi kesin tanıda önemli ölçüde kolaylık sağlar. Hollanda'da Bram ve arkadaşları *L. pneumophila* tespitinde IFA ve ELISA yöntemlerini karşılaştırmışlardır. IgM IFA için sensitivite %76,4 ve spesivite %96,6, IgM ELISA için sensitivite %92,3 ve spesivite %100 olarak bulunmuştur [13]. Hemen hemen yakın sonuçlar bulunmasına karşın daha pratik ve daha çabuk yapılan IFA yöntemi *L. pneumophila* için daha yaygın olarak kullanılmaktadır. 1979'da, Houston, Teksas'da kanser hastası bir kadın bilateral pnömoni sonucu hayatını kaybetmiş ve bunun nedeni anlaşılamamıştır. Kültür ve serolojik testlerle etken saptanmaya çalışılmıştır. Kültür sonucu bilinmeyen bakterinin gram negatif olduğu anlaşılmıştır. ELISA testi istenilen duyarlılıkta sonuç vermemiştir. IFA yöntemiyle yapılan testler sonucunda etkenin *Legionella pneumophila* olduğu tespit edilmiştir [32]. İlk defa 1976 yılında görülen bu patojen yeni bir bakteri türü olduğundan tanısı da zor olmuştur. Ancak IFA sayesinde uzun zamandan beri pnömoni etkenleri çok basit, pratik ve güvenilir bir şekilde tespit edilmektedir. IFA ile dört kat titre artışı dikkate alındığında testin

sensitivitesi %60-75 ve spesifitesi ise %95-99 olarak bildirilmektedir. *C. pneumoniae* için immünofloresan tekniğinin sensitivitesi %50-90 olarak bildirilmektedir [67].

İspanya'da Ruiz ve arkadaşları 395 hastayla yaptıkları çalışmada 182 hastada (%46) mikrobiyal ajan tespit etmişlerdir. 41 hastada (%10) miks enfeksiyon saptanmış, bunların %9'u iki patojen, %1'i üç patojenden oluşmuştur [72]. Erelel ve arkadaşları ELISA ve IFA ile bir salgında oluşan atipik pnömoni etkenlerini araştırmışlardır. Olguların %70,6 oranında *M. pneumoniae*, %17,6 *C. pneumoniae* ve %11,8 olguda *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* miks enfeksiyonu saptanmıştır. Hiçbir olguda *L. pneumophila* saptanamamıştır [20].

3. MATERYAL-METOD

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'ne pnömoni ön tanısıyla gelen 31 (%15.9)'i kadın, 64 (%32.8)'ü erkek, 96 (%49.2)'sı çocuk ve 4 (%2)'ü yenidoğan olmak üzere toplam 195 hastadan kan örnekleri alınmıştır.

Çalışmaya alınan örnekler ağustos 2008 - mayıs 2009 tarihleri arasında toplanmıştır. Pnömoni etkenlerinin özellikle yaygın olduğu sonbahar başlangıcından ilkbahar ortasına kadar olan dönem en uygun örnek toplama dönemi olarak belirlenmiştir.

Çalışmada her hastadan 10'ar ml düz kan alınmıştır. Kan örnekleri +4°C'de muhafaza edilmiştir. Laboratuarda santrifüj edilip serumlarına ayrıldıktan sonra tüplere alınarak çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.1. İndirekt İmmunofloresan Antikor Testi

Hasta serumlarından alınan örneklerle Respiratory Tract Profile seti kullanılarak kanda IgM antikorlarının varlığı araştırılmıştır.

İçerik

Fosfat buffer solüsyonu (PBS)

Tween 20 solüsyonu

Eurosoorb solüsyonu

İnkübasyon Tepsileri

Konjugatlar

İnkübasyon Tepsileri (Slaytlar): Slaytlar oda sıcaklığına geldiğinde koruyucu tabaka kaldırılır. Keçeli kalemle işaretlenir ve asla dokunulmamalıdır. Koruyucu tabaka kaldırıldıktan sonra 15 dakika içinde inkübe edilmelidir.

Konjugatlar (Floresan Kaplı ikincil antikor (FITC)): Kullanılmadan önce pipetaj yapılarak karışması sağlanır. Konjugat ışığa duyarlıdır ve güneş ışığından korunmalıdır.

PBS-Tween (Fosfat Tampon Tuzu): 1 lt distile su içine 2 ml Tween 20 eklenir ve karıştırılır. Böylece PBS-Tween elde edilmiş olur. PBS-Tween 1 hafta +2 °C - +8°C'de saklanabilir.

Gliserol: Son aşamada antijen-antikor kompleksini slayta tespit etmek için kullanılan maddedir.

Çalışma

Öncelikle PBS hazırlanmıştır. Toz halinde bulunan PBS 1000 ml suda çözdürülmüştür. Üzerine Tween 20 eklenerek karıştırılmıştır.

Tüpteki serum örnekleri vortekslenip, Euroorb solüsyonu ile 1/10 oranında dilüe edilmiştir. Her serum örneğinden 20µl, 180µl Euroorb alınıp ve 1/10 oranında 200µl Euroorb solüsyonu hazırlanmıştır. Elde edilen karışım vortekslenmiştir.

Bu karışımdan yine 20µl alınmış ve 180µl Euroorb bulunan ayrı tüplerde karıştırılarak 1/100 oranında bir karışım daha elde edilmiştir. Bu karışım da vortekslenmiştir.

15dk oda sıcaklığında (18-25 °C) inkübasyona bırakılmıştır.

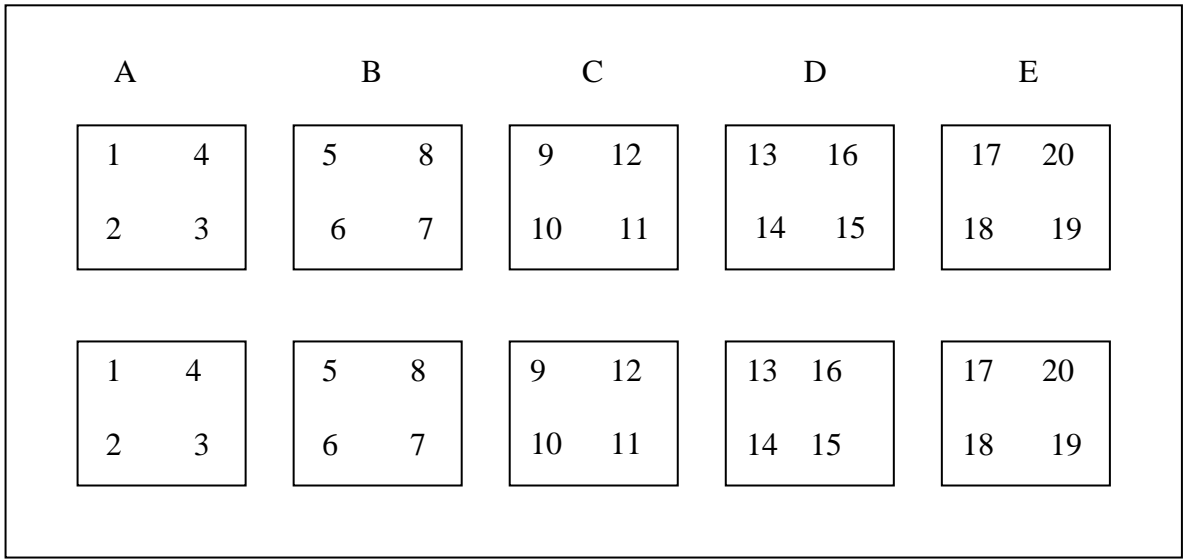
Tüpler 2000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir.

Elde edilen süpernatant kısım kullanılmıştır.

Örneklerin her birinden 25 µl alınmış ve slaytlara pipetlenmiştir. Slaytlarda her bir örnek için 5 alan mevcuttur. İlk 4 bölge 1/10'lük dilüsyon, 5. bölge 1/100'lük

dilüsyon için kullanılmıştır. Örnekler slaytlara pipetlenmeden önce her bir slayt numaralandırılmıştır.

Şekil 1. IFA'da İnkübasyon Tepsisi ve Substrat Pozisyon Şeması



30 dakika oda sıcaklığında (18-25°C) inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılmış ve PBS ile yıkanarak PBS dolu tanklarda 5 dk bekletilmiştir. Çıkarılıp tekrar PBS ile yıkanan slaytlar tekrar tanklara yerleştirilip 5 dk daha beklenilmiştir.

PBS'den çıkarılan slaytlar hafif dik duracak şekilde yerleştirilmiş ve sıvısı akması için birkaç saniye bekletilmiştir.

Bu yıkama işlemi örnekte antikor dışında başka bir madde kalmasını önlemek için yapılmıştır.

Daha sonra her bölgeye 25µl konjugat (floresin kaplı anti-insan globulini) eklenmiştir. Konjugat örneklerin floresan ışık yaymasını sağlamak için eklenir. Artık slaytları direk güneş ışığından korumak gerekir.

30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. (18-25°C)

Her bir slayt PBS-Tween ile dolu tankalara yerleştirilip ve 5dk bekletilmiştir. Tanklardan çıkarılan slaytlar PBS-Tween ile yıkanmış ve sadece alt tarafları kurulanmıştır. Bu işlemde yine iki kere tekrarlanmıştır

Son olarak lamlara, slaytlara karşılık gelecek şekilde, gliserol damlatılıp, PBS-Tween ile yıkanan slaytlar alt tarafları kurularak gliserollerin üzerine kapatılmıştır. Bu işlem antikor-antijen kompleksinin lama fiksasyonunu sağlar.

Artık örnekler floresan mikroskopta incelenmek için hazır hale gelmiştir. İncelemede floresan ışık yayan bir mikroskop kullanılır. Objektif 40x olmalı, uyarı filtresi: 488nm, renk ayırıcı:510 nm, bloke filtresi: 520 nm'dir.

Pnömoni tanılı hastaların hasta serumlarında, immun floresan yöntemiyle Pneumo Slide (Euroimmun Biochip Slides) Anti-IgM immunoglobulin kiti ile; *Legionella pneumophila* serogrup 1, *Legionella pneumophila* serogrup 2, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Adenovirus*, *Respiratory Syncyrial Virus* (RSV), *Influenza A*, *Influenza B*, *Parainfluenza serotip* 1, 2, 3, 4, *Klebsiella pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Coxsackie virus* serotip B1, A7, *Echo virus* serotip 7 gibi pnömoni etkenlerine ve ayrıca *Bordetella pertusis*, *Bordetella parapertusis*'e karşı antikor varlığı araştırılmıştır.

IFA hız, güvenilirlik, pratiklik ve maliyet yönünden oldukça avantajlı olduğu için tercih edilmiş ve uygulanmıştır. Diğer testlere göre daha net sonuçlar vermesi, bir anda birçok hasta serumu çalışma imkanı, uygulamada pratiklik, çok kısa bir sürede kesin sonuçlar vermesi, yanılma payının düşük olması, hızlı tanımlama, düşük maliyet ve çalışmada büyük kolaylık sağladığı için bu çalışmada kullanılmıştır.

Şekil 2. Biochip Slaytlara Kaplı Antijen Bölgeleri ve Oranları

	İsim/No	Solunum Yolu Profili	IgM
A Bölgesi	1	<i>RSV</i>	1:10
	2	<i>Adenovirüs Tip 3</i>	
	3	<i>İnfluenza virüs Tip A (H1N1)</i>	
	4	<i>İnfluenza virüs Tip A (H3N2)</i>	
B Bölgesi	5	<i>İnfluenza virüs Tip B</i>	1:10
	6	<i>Parainfluenza virüs Tip 1</i>	
	7	<i>Parainfluenza virüs Tip 2</i>	
	8	<i>Parainfluenza virüs Tip 3</i>	
C Bölgesi	9	<i>Parainfluenza virüs Tip 4</i>	1:10
	10	<i>Bordetella pertusis</i>	
	11	<i>Bordetella parapertusis</i>	
	12	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
D Bölgesi	13	<i>Coxsackie virüs Tip B1</i>	1:100
	14	<i>Coxsackie virüs Tip A7</i>	
	15	<i>Echo virüs Tip 7</i>	
	16	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	
E Bölgesi	17	<i>Haemophilus influenza</i>	1:100
	18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	19	<i>Legionella Pneumophila serotip 1</i>	
	20	<i>Legionella Pneumophila serotip 2</i>	

4. BULGULAR

Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma Hastanesi'ne gelen, yaş ortalaması 27, 31 (% 15.9)'i kadın, 64 (% 32.8)'ü erkek, 96 (% 49.2)'sı çocuk ve 4 (% 2)'ü yenidoğan olmak üzere toplam 195 hastadan alınan kan örneklerinde pnömoni antikorları aranmıştır. 60 yaş ve üzeri 42 hasta mevcuttur.

Çalışmaya alınan olgular fizik muayene sonucu klinik bulgularla pnömoni ön tanısı konmuş hastalar olup, demografik özellikleri (altta yatan hastalık, alkol, sigara kullanımı) bilinmemektedir.

Çalışma sonunda olguların % 54,4'ünde yani 106 hastada etken tespit edilmiştir. Bu 106 hastadan; 32 (%16,4) hastada *Klebsiella pneumoniae*, 22 (%11,3) hastada *Adenovirus*, 18 (%9,2) hastada *Mycoplasma pneumoniae*, 17 (%8,7) hastada *Influenza A*, 12 (%6,2) hastada *RSV*, 12 (%6,2) hastada *Haemophilus influenza*, 10 (%5,1) hastada *Parainfluenza*, 7 (%3,6) hastada *Coxsackievirus*, 4 (%2,1) hastada *Chlamydia pneumoniae*, 3 (%1,5) hastada *Legionella pneumophila*, 1 (%0,5) hastada *Echovirus*, 1 (%0,5) hastada *Bordetella pertussis*, 1 (%0,5) hastada *Bordetella parapertussis* saptanmıştır. Bunlardan 71'i (%36,4) bakteriyel pnömoni etkeni ve 69 (%65) tanesi viral pnömoni etkeni olarak tespit edilmiştir. 89 (%45,6) hastada hiçbir etken saptanamamıştır (negatif).

TKP'li 195 hastadan 21'inde (%10,8) atipik bakteriyel pnömoni etkenleri (*M. pneumoniae*, *K. pneumoniae* ve *C. pneumoniae*) için IgM pozitifliği saptandı. Atipik pnömoni (virüslerle birlikte) toplam 90 hastada görülmüştür. Böylece atipik oranı %46,2'dir. Kadın hastaların %71,9'unda, erkek hastaların %55,1'inde etken saptanmıştır.

Bazı olgularda mik s pozitiflikler saptanmıştır. 75 (%38,5) hastada tek etken saptanırken, 28 (%14,4) hastada iki etken saptanmış ve 3 (%1,5) hastada üç etken saptanmıştır. Bunların dökümü aşağıdaki gibidir:

- H. influenza-M. pneumoniae* pozitifliği 1 (%0,9)
- H. influenza-K. pneumoniae* pozitifliği 4 (%3,8)
- H. influenza-Adenovirüs* pozitifliği 2 (%1,9)
- M. pneumoniae- Adenovirüs* pozitifliği 2 (%1,9)
- M. pneumoniae-Influenza A* pozitifliği 2 (%1,9)
- M. pneumoniae-Parainfluenza* pozitifliği 1 (%0,9)
- M. pneumoniae-RSV* pozitifliği 1 (%0,9)
- M. pneumoniae-K. pneumoniae* pozitifliği 1 (%0,9)
- K. pneumoniae-Adenovirüs* pozitifliği 2 (%1,9)
- K. pneumoniae-Influenza A* pozitifliği 6 (%5,7)
- K. pneumoniae-Parainfluenza* pozitifliği 2 (%1,9)
- K. pneumoniae-RSV* pozitifliği 2 (%1,9)
- K. pneumoniae-Coxsackievirüs* pozitifliği 1 (%0,9)
- Influenza A-B. parapertusis* pozitifliği 1 (%0,9)
- K. pneumoniae- M. pneumoniae- Adenovirüs* pozitifliği 2 (%1,9)
- K. pneumoniae- Adenovirüs- Coxsackievirüs* pozitifliği 1 (%0,9)

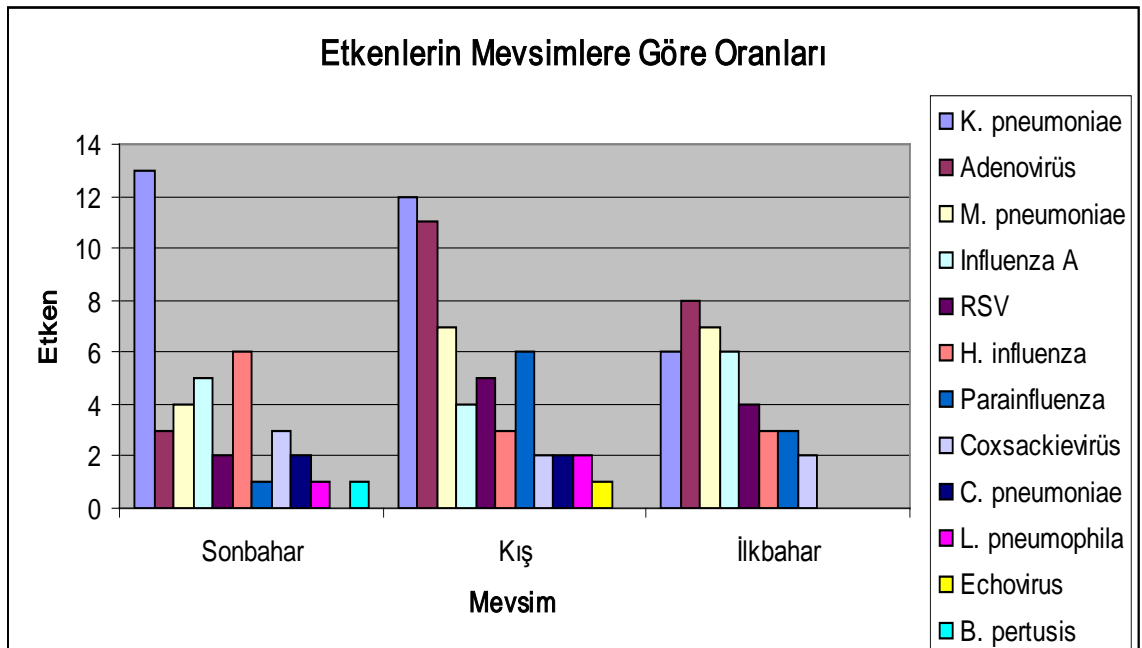
Bu grupların içinde en sık görülenleri %80,6'lık bir oranla bakteri-virüs mik s gruplarıdır.

Hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımları, etkenlerin yaş, cinsiyet ve mevsimlere göre dağılımlarını gösteren tablo ve grafikler aşağıdaki gibidir:

TABLO 1. Etkenlerin Mevsimlere Göre Dağılımı

Etken/Mevsim	Sonbahar	Kış	İlkbahar
<i>K. pneumoniae</i>	13	12	6
<i>Adenovirüs</i>	3	11	8
<i>M. pneumoniae</i>	4	7	7
<i>Influenza A</i>	5	4	6
<i>RSV</i>	2	5	4
<i>H. influenza</i>	6	3	3
<i>Parainfluenza</i>	1	6	3
<i>Coxsackievirüs</i>	3	2	2
<i>C. pneumoniae</i>	2	2	-
<i>L. pneumophila</i>	1	2	-
<i>Echovirus</i>	-	1	-
<i>B. pertusis</i>	1	-	-
<i>B. parapertusis</i>	-	-	-

GRAFİK 1. Etkenlerin Mevsimlere Göre Dağılımı

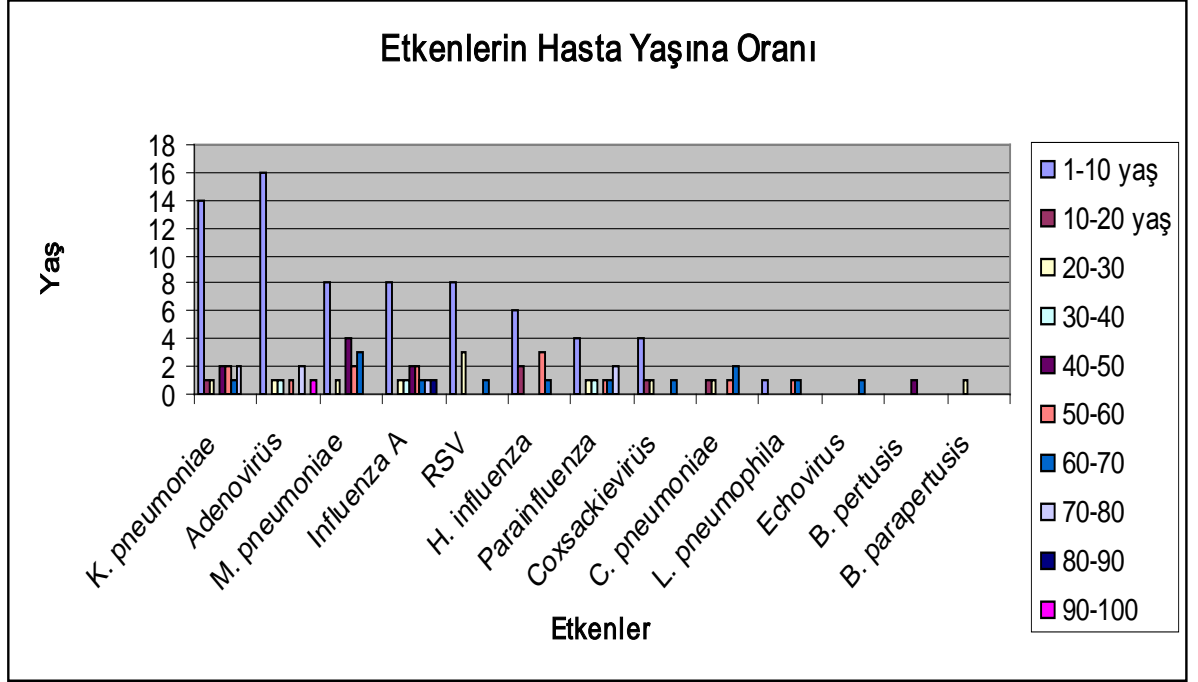


Pnömoni genelde sonbahar, kış ve kışın bitiş dönemi olan ilkbaharda etkili olmakta ve etkenler en çok bu dönemlerde salgınlar yapmaktadır. Bu çalışmada tabloda ve grafikte görüldüğü gibi en çok sonbahar ve kış aylarında pnömonili hasta ile karşılaşmıştır. Bu aylarda en çok viral pnömoni etkenleri görülmüştür. *K. pneumoniae* ise yıl içinde en fazla görülen patojen olmuştur.

TABLO 2. Etkenlerin Yaşa Göre Dağılımı

Etken/Yaş	1-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
<i>K. pneumoniae</i>	14	1	1	-	2	2	1	2	-	-
<i>Adenovirüs</i>	16	-	1	1	-	1	-	2	-	1
<i>M. pneumoniae</i>	8	-	1	-	4	2	3	-	-	-
<i>Influenza A</i>	8	-	1	1	2	2	1	1	1	-
<i>RSV</i>	8	-	3	-	-	-	1	-	-	-
<i>H. influenza</i>	6	2	-	-	-	3	1	-	-	-
<i>Parainfluenza</i>	4	-	1	1	-	1	1	2	-	-
<i>Coxsackievirüs</i>	4	1	1	-	-	-	1	-	-	-
<i>C. pneumoniae</i>	-	1	1	-	-	1	2	-	-	-
<i>L. pneumophila</i>	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-
<i>Echovirus</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>B. pertusis</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>B. parapertusis</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	69	5	11	3	9	13	13	7	1	1

GRAFİK 2. Etkenlerin Yaşa Göre Dağılımı

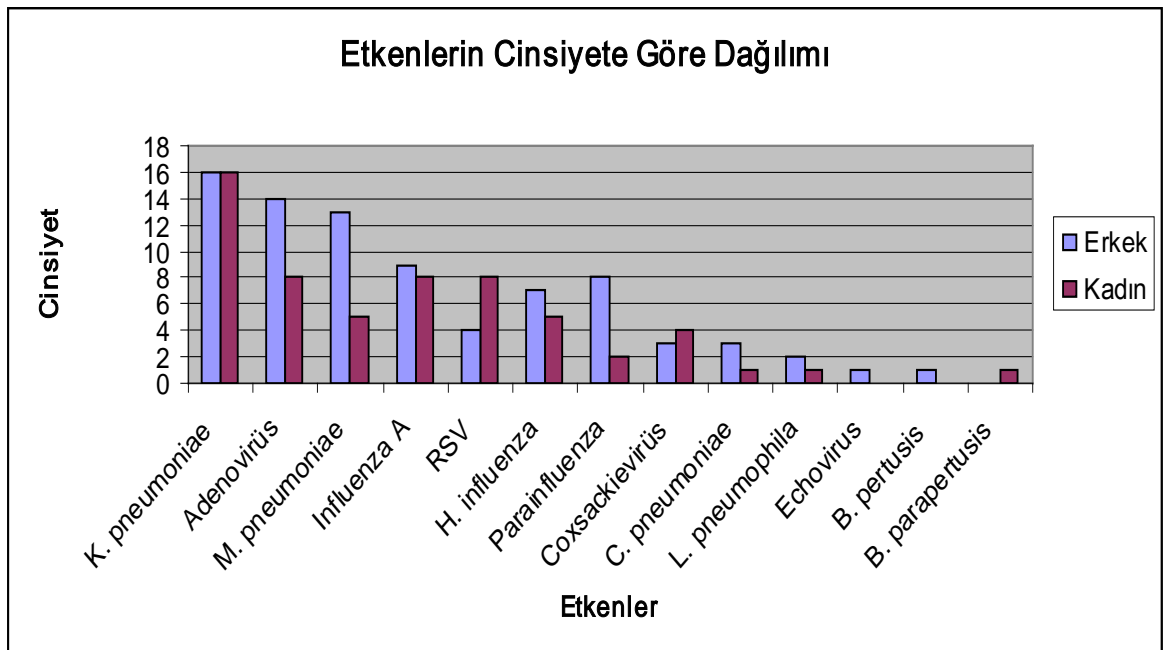


Pnömoni etkenleri en çok küçük çocuklarda ve yaşlılarda hastalık oluşturmuştur. Tablo 2’de görüldüğü gibi bu çalışmada en çok 1-10 yaş arası küçük çocuklarda pnömonili hasta vardır. Bu yaş grubunda en fazla tespit edilen etken ise *Adenovirüs* olmuştur.

TABLO 3. Etkenlerin Cinsiyete Göre Dağılımı

Etken/Cinsiyet	Erkek (N=147)	Kadın (N=82)
<i>K. pneumoniae</i>	16	16
<i>Adenovirüs</i>	14	8
<i>M. pneumoniae</i>	13	5
<i>Influenza A</i>	9	8
<i>RSV</i>	4	8
<i>H. influenza</i>	7	5
<i>Parainfluenza</i>	8	2
<i>Coxsackievirüs</i>	3	4
<i>C. pneumoniae</i>	3	1
<i>L. pneumophila</i>	2	1
<i>Echovirus</i>	1	-
<i>B. pertusis</i>	1	-
<i>B. parapertusis</i>	-	1
Toplam	81	59

GRAFİK 3. Etkenlerin Cinsiyete Göre Dağılımı

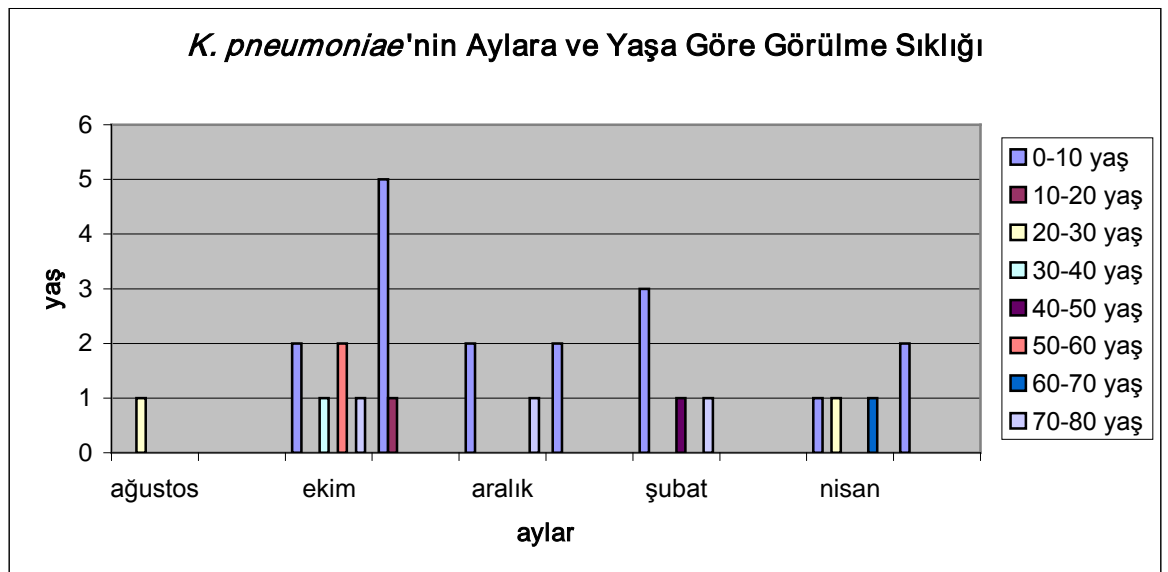


TKP etkenleri bu çalışmada daha çok erkeklerde tespit edilmiştir. Özellikle *M. pneumoniae*'de hasta erkek sayısı kadınlara göre oldukça fazladır. Sadece *Coxsackievirüs*'de ve *RSV*'de kadın sayısı fazladır ve *K. pneumoniae*'de erkek ve kadın hasta sayısı eşittir.

TABLO 4. *Klebsiella pneumoniae*'nin Aylara ve Yaşa Göre Dağılımı

<i>K.pneumoniae</i>										
Yaş / Ay	ağustos	eylül	ekim	kasım	aralık	ocak	şubat	mart	nisan	mayıs
0-10 yaş	-	-	2	5	2	2	3	-	1	2
10-20 yaş	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
20-30 yaş	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
30-40 yaş	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
40-50 yaş	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
50-60 yaş	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
60-70 yaş	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
70-80 yaş	-	-	1	-	1	-	1	-	-	-
Toplam	1	-	6	6	3	2	5	-	3	2

GRAFİK 4. *Klebsiella pneumoniae*'nin Aylara ve Yaşa Göre Dağılımı

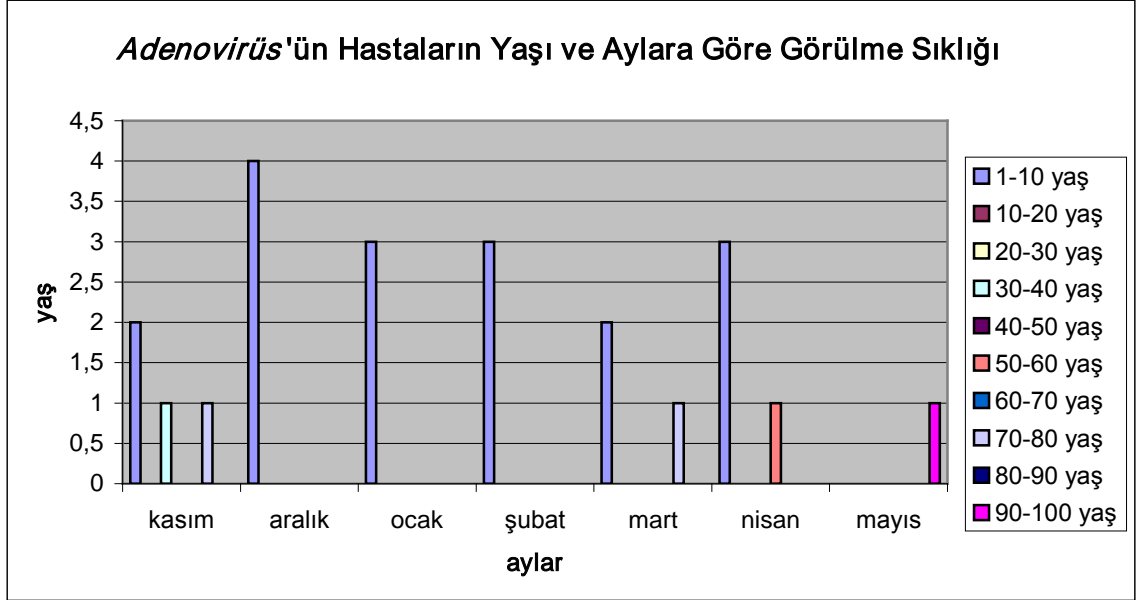


Klebsiella pneumoniae, bu çalışmada; bakteriyel ve viral etkenler arasında en fazla tespit edilen patojendir. Elde edilen bulgulara göre en sık ekim ve aralık aylarında tespit edilmiştir. 0-10 yaş grubu küçük çocuklarda çok yoğun olarak görülmüş ve en çok 70-80 yaş aralığındaki yaşlılarda tespit edilmiştir.

TABLO 5. *Adenovirüs*'ün Hastaların Yaşı ve Aylara Göre Görülme Sıklığı

<i>Adenovirüs</i>							
Yaş / Ay	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs
1-10 Yaş	2	4	3	3	2	3	-
10-20 Yaş	-	-	-	-	-	-	-
20-30 Yaş	-	-	-	-	-	-	-
30-40 Yaş	1	-	-	-	-	-	-
40-50 Yaş	-	-	-	-	-	-	-
50-60 Yaş	-	-	-	-	-	1	-
60-70 Yaş	-	-	-	-	-	-	-
70-80 Yaş	1	-	-	-	1	-	-
80-90 Yaş	-	-	-	-	-	-	-
90-100 Yaş	-	-	-	-	-	-	1
Toplam	4	4	3	3	3	4	1

GRAFİK 5. *Adenovirüs*'ün Hastaların Yaşı ve Aylara Göre Görülme Sıklığı



Adenovirüs bu çalışmada en çok saptanan viral etken olmuştur. En çok kasım aralık ve nisan aylarında görülmüş olup, bahar aylarında da sık görülen bir etken olduğu saptanmıştır. En sık 0-10 yaş arası küçük çocuklarda görülmüştür. Yaşlılarda ve özellikle ileri yaşlardaki hastalarda sık tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Pnömoni ilk kez 1881 yılında *Streptococcus pneumoniae*'nin izole edilmesiyle ortaya çıkan bir hastalıktır. 1918 *Influenza* salgını ve sonrasında gelişen pnömoni ile geniş çaplı ve yaşamı tehdit eden bir hastalık olduğu anlaşılmış ve üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün verilerine göre pnömoni tüm dünyada en fazla Güney Afrika'da ve özellikle Mali, Nijerya, Sudan, Angola gibi geri kalmış ülkelerde görülmektedir. Ayrıca tüm dünya ülkelerinde en yoğun görülen enfeksiyon hastalığıdır. Tüm enfeksiyon hastalıkları içinde ilk sırada yer alır ve görülme oranları Amerika'da %12, Afrika'da %21, Avrupa'da %12, Asya'da %19 ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde %21 oranındadır [62].

Günümüzde hala ciddi bir sağlık sorunu olan pnömoni, gelişmiş ülkelerde bile günlük yaşamı etkileyen ve epidemilere yol açan bir sorun ve önemli morbidite nedenidir [1]. Pnömoniden ölüm oranı 50 yıl öncesine kadar çok yüksek rakamlara ulaşmaktaydı [6]. Amerika ve Avrupa'da geliştirilen teknikler ve yeni antibiyotiklerin keşfi ile mortalite hızla azalmıştır. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada mortalite oranlarının düşük olmasına rağmen yoğun bakım ünitesindeki hastalarda ya da eşlik eden ağır hastalığı olanlarda sıklıkla ölüm ile sonuçlanmaktadır. Pnömoni bildirimi zorunlu hastalıklar arasında yer almadığından gerçek morbidite ve mortalite oranları tespit edilmesinde güçlük çekilmektedir. WHO'nun verilerine göre dünya çapında yılda 156 milyon yeni vaka görülmekte, bunun 151 milyonu gelişmekte olan ülkelerde olduğu tahmin edilmektedir. Vakaların en çok görüldüğü yer Hindistan (43 milyon) olup, bu ülkeyi Çin (21 milyon), ve Pakistan (10 milyon) izlemekte, bunlara ek olarak Bangladeş, Endonezya ve Nijerya (her biri 6 milyon) bulunmaktadır. Tüm toplumlarda görülen vakaların %7-13'ü yaşamı tehdit eden ve hastaneye yatış gerektiren vakalardır [71].

TKP'de tanı klinik ve radyolojik verilerle konulmaktadır. Ancak kesin tanı için bakteri-virüs izolasyonu veya serolojik testlerle antikorların gösterilmesi gereklidir. Bu yöntemlerle aynı örnekten birden fazla etken saptanamadığı için, günümüzde

birçok etkeni aynı anda araştıran çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. IFA ile de aynı anda çok sayıda, sık rastlanılan pnömoni etkenlerini araştıran ticari testler mevcuttur. Bozkurt ve ark'larının Van'da yaptıkları çalışmada kan kültürü, balgam kültürü ve IFA yöntemi karşılaştırılmıştır. En fazla IFA ile etken tespit edilmiştir (%52 IFA, %38 kan kültürü ve % 36 balgam kültürü). Bozkurt bu çalışmasında IFA'nın pnömoni etkenlerini belirlemede kan ve balgam kültürüne göre daha duyarlı ve güvenilir bir test olduğu için daha avantajlı olduğunu göstermektedir [12]. Hirai ve ark.larının Japonya'da IFA ile CF ve PA (Partikül Aglütinasyonu) yöntemlerini karşılaştıran araştırmalarında etken saptamada en fazla özgüllüğün IFA yöntemi olduğunu belirlenmiştir [31]. ELISA, DFA ve IFA ile *L. pneumophila* tanısına yönelik yapılan bir diğer araştırma da Elder ve ark.ları ELISA IgM sensitivitesini %70 ve IFA IgM sensitivitesini %38 olarak belirlemişlerdir. Ancak bu çalışmada ELISA için örnek alımı IFA için örnek alınımının 4-8 hafta sonrasında gerçekleştirilmiştir [19]. Martinez ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışma yine IFA yönteminin tanı için daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada PCR ve IFA ile *M. pneumoniae* pozitifliği araştırılmıştır, elde edilen bulgular *M. pneumoniae* açısından çalışmamız ile benzer sonuçlar içermektedir. Hatta PCR ile 23 hastada pozitiflik saptanırken 27 hastada IFA ile pozitiflik saptanmıştır [52]. Amerika Colorado'da IFA ve kültür yöntemi ile RSV araştırılmış ve 154 hastada IFA pozitifliği saptanırken sadece 8 hastada kültür yöntemi ile ajan tespit edilmiştir. Böylece IFA duyarlılığı %95,1, özgüllüğü %86,5 ve tahmini pozitif değer %88,5 oranında saptanmıştır [45]. Bu yöntem özellikle solunum virüsleri için daha duyarlı ve özgül sonuçlar vermektedir. Bu yüzden bu yöntemin virüslerde rutin bir test olması kesin tanıda büyük kolaylıklar sağladığı için gereklidir.

Pnömoni etkeni olarak bakterilerin görülme sıklığı; dünya çapında ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. İspanya Barselona'da %71,1, Kanada'da %20, Hollanda'da %44, Yeni Zelanda'da %48, Nijerya'da %83 oranlarında, İspanya'da %33 ve Arjantin'de %33, Danimarka'da %16, Finlandiya'da %60, Japonya'da %44, Amerika'da %78,6, Türkiye'de %88,7 oranında; ülkemizde ise

Ankara'da %65,5, İzmir'de %35 olarak rapor edilmiştir [3,27,35,37,51,55,59,65,67,69,70,75,77,83]. Çalışmamızda ise %36,4 oranında saptanmıştır (Bunların %10,8'ini *M. pneumoniae*, *L. pneumophila* ve *C. pneumoniae* oluşturmaktadır.).

Pnömoni etkeni olarak virüslerin görülme sıklığı; yurtdışında yapılan çalışmalarda İspanya'da %28,9, Kanada'da %35, Kanada'da 2008 yılında %15, İspanya 2006 %13, Hollanda'da 50, Yeni Zelanda'da %30, Finlandiya'da %45, ülkemizde Elazığ'da %70,5 oranında bildirilmiştir [3,24,34,35,37,55,59,77]. Çalışmamızda %65 oranında saptanmıştır.

Atipik bakteriyel etkenlerin (*M. pneumoniae*, *L. pneumophila* ve *C. pneumoniae*) görülme sıklığı; Kore'de %21, Finlandiya'da %23, İstanbul'da %32, Ankara'da %91,9 oranında, Trabzon'da %26,6, Adana'da %15 oranında bildirilmiştir [7,27,46,59,67,73]. Çalışmamızda ise %10,8 oranında görülmüştür.

Pnömoni olgularının %8-30'unda miks enfeksiyon görülmektedir. Genellikle viral ve bakteriyel enfeksiyon birlikteliği görülmesine karşın son yıllarda ikili bakteriyel enfeksiyonlar sık görülmeye başlamıştır. İspanya'da 94 hastada tek patojen , 10 hastada iki patojen saptanmıştır [3]. Ankara'da Güneş ve ark. %65,5 oranında tek patojen %24,1 iki patojen ve %4,6 oranında üç patojen miks enfeksiyon saptamışlardır [27]. Kanada'da %8, İspanya'da %10, Hollanda'da %27, Yeni Zelanda'da %16, Danimarka'da %0,8, Finlandiya'da %23, Nijerya'da %46, Türkiye'de %11,2 oranında miks patojen saptanmıştır [35,37,55,59,65,69,76,77]. Çalışmamızda %16 oranında miks patojen saptanmıştır.

Bakteriyel pnömoni etkenleri görülme sıklığına göre ülkemizde Ankara'da , *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *L. pneumophila*, Trabzon'da *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, Van'da *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, *H. influenza*, *K. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, yurtdışında İspanya'da *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *L.*

pneumophila, *H. influenza*, Hollanda'da , *H. influenza*, *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, Kanada'da *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* *H. influenza*, *L. pneumophila* saptanmıştır [3,12,24,27,67,77]. Çalışmamızda *K. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *H. influenza*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* saptanmıştır

Viral pnömoni etkenlerinin görülme sıklığı sırasıyla Elazığ'da İlhan ve ark. *RSV*, *Adenovirus*, *Influenza A* ve *B*, Kanada'da *RSV*, *Influenza A*, *Parainfluenza*, yine Kanada'da 2008 yılında yapılan bir çalışmada sırasıyla; *Influenza A*, *RSV* ve *Adenovirüs*, Yeni Zelanda'da sırasıyla *Influenza A*, *RSV* ve *Adenovirüs*, İspanya'da *Influenza A*, *RSV* ve *Adenovirüs*, *Parainfluenza*, Hollanda'da *Influenza A*, *RSV* ve *Adenovirüs* saptanmıştır [3,24,34,35,37,77]. Çalışmamızda ise *Adenovirus*, *Influenza*, *RSV* ve *Parainfluenza* virüsleri saptanmış olup, bulgularımız birçok çalışma ile farklılık göstermektedir.

K. pneumoniae toplum kökenli pnömoniler arasında lobar pnömoninin önemli nedenlerinden biridir. TKP'lerin %1-5'ini oluşturmaktadır [33]. Amerika'da *K. pneumoniae* görülme oranı %22, Nijerya'da %38, Japonya'da %7, Arjantin'de %1,2, Van'da %4'dür [12,51,65,69,83]. Çalışmamızda en fazla tespit edilen patojendir (%16,4). Bunun sebepleri arasında antibiyotik dirençliliği, altta yatan hastalıklar, önceden geçirilmiş viral enfeksiyon öyküsü, sigara ve alkol kullanımı, bakımevlerinde yaşam, bağışıklık sisteminin baskılanması (HIV, kanser tedavisi), kronik hastalık, diyabetli hastalar ve daha birçok sebep gösterilebilir. Son yirmi yılda toplum kökenli pnömonilerde invazif bir patojen halini alan *K. pneumoniae* oldukça geniş bir yayılma göstermektedir.

En fazla sıklıkta tespit edilen patojen *K. pneumoniae* olurken, ülkemizdeki diğer çalışmalarda; Ankara'da en sık *M. pneumoniae*, İstanbul'da *H. influenza*, Adana'da *M. pneumoniae*, Van'da *L. pneumophila* ve *M. pneumoniae*, Diyarbakır'da *H. influenza*, diğer ülkelerdeki çalışmalarda; Arjantin'de *M. pneumoniae*, Finlandiya'da *M. pneumoniae*, İspanya'da *C. pneumoniae*, Danimarka'da *H. influenza*, Hollanda'da

H. influenza, Yeni Zelanda'da *Influenza A*, Japonya'da *K. pneumoniae*, Nijerya'da *K. pneumoniae*, Amerika'da *K. pneumoniae*, Kanada'da *Influenza* tespit edilmiştir [7,12,27,35,37,51,55,59,65,70,73,74,76,77,83].

Adenovirus farklı bölgelerde farklı oranlarda görülürken, yurtdışında Tayvan'da %40,7, Finlandiya'da %10, Kanada'da %3, Arjantin'de %2,6, İspanya'da %2,1 oranlarında görülmektedir [3,23,37,51,59]. *Adenovirus* çalışmamızda en sık saptanan (%11,3) viral etken olup, tüm etkenler arasında ikinci sıklıkta saptanmıştır.

Gelişmekte olan ülkelerde ve Türkiye'de pnömoniden ölümlerin fazla olmasının sebebi; sosyoekonomik düzeyin düşük oluşu, kişi başına düşen milli gelirin az olması, karbonhidrattan zengin proteinden fakir beslenme, nüfus ve aile planlamasının yetersiz olması gibi nedenlerdir. Ayrıca sağlık yönünden az gelişen bu ülkelerde, toplumun tedavi maliyetlerinin karşılanmasında güçlükler yaşanması ve enfeksiyon hastalıkları hakkında yetersiz ve yanlış bilgiye sahip olmanın doğurduğu sonuçlar (bilinçsiz antibiyotik kullanımı gibi) yüzünden pnömoni her geçen gün artan ve büyük oranda ölümlere yol açan enfeksiyon hastalıklarının en tehlikesi olarak yerini korumaktadır.

Bu çalışmada 90 hastada hiçbir etken saptanamadı. Pnömoni yöntemlerinin hiçbirinin %100 duyarlı olmaması nedeniyle negatif sonuçların olması hastalığın olmadığını göstermez. Pnömoni ön tanısıyla gelen hastaların büyük bir kısmı kış ve bahar aylarında gelmiştir. Bu hastaların arasında 100 yaşın üstünde yaşlı hastalar olduğu gibi yeni doğmuş bebeklerde bulunmaktadır. Yaş aralığının bu kadar geniş olması her yaştan pnömonili hasta çalışma olanağı vermiş ve yaşa göre pnömoni görülme sıklığını belirleme olanağı sunmuştur. Ancak yaşlılarda altta yatan hastalık bulunması ve bebeklerde her türlü enfeksiyona karşı immün cevabın geç olması nedeniyle birçok hastada etken tespit edilememiştir.

Bu tez çalışması güneydoğuda yapılan ender çalışmalardan biridir. Genelde yapılan çalışmaların aksine en çok tespit edilen *S. pneumoniae* yanında diğer patojenler üzerinde durulmuştur. Bu çalışma geniş çaplı bir araştırma olup, 195 hasta kullanılmıştır. Aynı anda birçok etkeni tespit etme olanağı sunan IFA yöntemi kullanılmış ve diğer yöntemlere göre daha belirgin bulgular elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, bölgesel olarak saptanmış bir veri olduğu kadar, bundan sonra yapılacak birçok çalışmaya ve tanı ve tedavi rehberlerine katkıda bulunacağını düşünmekteyiz. Bu bölgede yapılan çalışmalar içinde geniş çaplı olması, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bir yöntem seçilmiş olması bu çalışmayı farklı kılmıştır. Bizim bu çalışmada saptamış olduğumuz en önemli özellik; 2-3 saatlik bir laboratuvar çalışması ile 20 farklı pnömoni etkeninin çok az miktarda serum örneği kullanılarak saptanabilmesidir. Bu durum hastalara kullanılması gereken antibiyotiklerin belirlenebilmesi açısından önemli olup, pnömomiye bağlı mortalite, morbidite ve tedavi maliyetini önemli ölçüde azaltacaktır.

Ayrıca; rutin laboratuvarlarda da tanı amacıyla çalışmamızda kullanmış olduğumuz yöntemlerin kullanılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Acar A. Oral Ö. Toplum Kökenli Pnömoniler. *Klimik Dergisi*, 2007; **1**(20): 3-16
2. Aladağ MO. Durak Y. Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae*'lerin Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2007; **4**(2): 40-49.
3. Almirall J. Bolibar I. Vidal J. Sauca G. Coll P. Niklasson B. Bartolome M. Balanzo X. Epidemiology of Community-Acquired Pneumonia in Adults: A Population-Based Study. *European Respiratory Journal*, 2000; **15**: 757-763.
4. Arısoy E. S. Çocuklarda Toplum Kaynaklı Pnömoni. *Çocuk Enfeksiyonları Dergisi*, 2009; **3**(1):54-60.
5. Arseven O. Özlü T. Aydın G. Baytemur M. Bozkurt F. Doğanay M. Ekim N. Eraksoy H. Gür D. Hatipoğlu ON. Leblebicioğlu H. Mülazımoğlu L. Özinel MA. Savaş İ. Uçku R. Ünal S. Yenen OŞ. Toraks Derneği Erişkinlerde Toplum Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi*. 2002; **3**(3): 3-15.
6. Aydın MD. Yılmaz G. Türkoğlu S. Oğuz F. Arseven O. Anđ Ö. Ağırbaşı H. Karalar S. Sıdal M. Badur S. Atipik Pnömonili Hastalarda *Mycoplasma pneumoniae* İnfeksiyonunun Kültür, Seroloji ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması. *Klimik Dergisi*, 1996; **9**(3): 127-130.
7. Babaoğlu G. Aydın D. Arseven O. Berkiten R. Atipik Pnömoni Olgularında *Legionella pneumophila*'nın Direkt ve İndirekt Mikrobiyolojik Yöntemlerle Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2003; **33**: 35-38.
8. Badur S. İnfluenza Enfeksiyonlarının Epidemiyolojik Özellikleri. *Çocuk Enfeksiyonları Dergisi*, 2007; **1**(1): 56-60.

9. Bartlett JG. Dowell SF. Mandell LA. Musher DM. Fine MJ. Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Clinical Infectious Diseases*, 2000; **31**: 347-382.
10. Ben-Yaakov M. Lazorovich Z. Beer S. Levin A. Shoham I. Boldur I. Prevalence of Chlamydia pneumoniae Patients with Acute Respiratory Infections in Israel. *Journal of Clinical Pathology*, 1994; **47**: 232-235.
11. Borek F. The Fluorescent Antibody Method in Medical and Biological Research. Bull Org. Mond. Sante. *Bulletin of the World Health Organization*, 1961; **24**: 249-256.
12. Bozkurt H. Çiftçi İH. Güdücüoğlu H. Özbay B. Andiç Ş. Berktaş M. Pnömoni Tanılı Erişkin Hastalarda Kültür ve Floresan Antikor Yöntemleriyle Etkenlerin Araştırılması. *Van Tıp Dergisi*, 2007; **14**(2): 41-45.
13. Bram M. Diederer W. Jan A.J.W. Kluytmans, Peeters MF. Evaluation of Vircell Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Indirect Immunofluorescence Assay for Detection of Antibodies Against Legionella pneumophila. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2006; **13**(3): 361-364.
14. Choi TY. Kim DA. Kim SK. Kang JO. Park SS. Jung SR. Prevalence of Specific Antibodies to Chlamydia pneumoniae in Korea. *Journal of Clinical Microbiology*, 1998; **36**(11): 3426-3428.
15. Çalangu S. Yaşlılarda İnfeksiyon Hastalıklarına Genel Bakış. 1991, *Klinik Dergisi*; **4**(2): 51-53.
16. Durmuş U. Adak F. A. Öncel S. Çocuklarda Pnömoni. *Çocuk Enfeksiyonları Dergisi* 2008; **2**: 167-174.
17. Eaton, M. C. MeikelJohn G. ve Van Herick W. Studies on the Etiology of Primary Atypical Pneumonia, a Filterable Agent Transmissible to Cotton Rats, Hamsters and Chick Embryos. *Journal of Experimental Medicine*, 1944; **79**: 649-668.
18. Eduardo C. Oliveira, Paul E. Marik ve Gene Colice. Influenza Pneumonia: A Descriptive Study. *CHEST*, 2001; **119**: 1717-1723.

19. Elder E. M. Brown A. Remington J. S. Shonnard J. Naot Y. Microenzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin G and Immunoglobulin M Antibodies to *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1983; **17**(1): 112-121.
20. Erelel M. Aydın D. Kıyan E. Çuhadaroğlu Ç. Arseven O. Tabak L. Atipik Pnömoni ve Dual Etiyoloji. *Klimik Dergisi*, 2000; **13**(2): 46-49.
21. Ernst H. B. Immunofluorescent Staining: The Fluorescent Antibody Method. *Bacteriological Reviews*. 1961; **25**(1): 49-76.
22. Ewig S. Torres A. Is *Chlamydia pneumoniae* an Important Pathogen in Patients with Community-Acquired pneumonia? *European Respiratory Journal*, 2003; **21**: 741-742.
23. Farnig KT. Wu KG. Lee YS. Lin YH. Hwang BT. Comparison of Clinical Characteristics of Adenovirus and Non-Adenovirus Pneumonia in Children. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 2002; **35**: 37-41.
24. Fulton R. E. Middleton P. J. Comparison of Immunofluorescence and Isolation Techniques in the Diagnosis of Respiratory Viral Infections of Children. *Infection and Immunity*, 1974; **10**(1): 92-101.
25. Gencay M. Dereli D. Erdem E. Serter D. Puolakkainen M. Saikku P. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* Specific Antibodies in Different Clinical Situations and Healthy Subjects in İzmir, Turkey. *European Journal of Epidemiology*, 1998; **14**: 505-509.
26. Güdücüoğlu H. Bozkurt H. Kurtoğlu MG. Yaman G. Andiç Ş. Berktaş M. 1999 ve 2001 Yıllarında İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması. *Van Tıp Dergisi*, 2005; **12**(2): 156-159.
27. Güneş R. K. Deniz Ö. Gümüş S. Tozkoporan E. Şenses Z. Özkan M. Bilgiç H. Ekiz K. Toplum Kökenli Pnömonilerde Atipik Ajanların Seropozitiflik Oranı. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 2007; **6**(4): 279-284.
28. Hakim FA. Tleyjeh IM. Severe Adenovirus Pneumonia in Immunocompetent Adults: A Case Report and Review of the Literature.

- European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2008; **27**: 153-158.
29. Han LL., Alexander JP., Anderson LJ. Respiratory Syncytial Virus Pneumonia Among the Elderly: An Assessment of Disease Burden. *Journal of Infectious Diseases*, 1999; **179**: 25-30.
30. Hatipoğlu S. Arıca S. Çelik Y. Öztora S. Şevketoğlu E. Erkum T. Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu Tanısıyla Hastanemize Yatırılan Olgularda RSV enfeksiyonu Sıklığı ve Klinik Özellikleri. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2009; **11**: 38-44.
31. Hirai Y. Shiode J. Masayoshi T. Kanemasa Y. Application of an Indirect Immunofluorescence Test for Detection of *Mycoplasma pneumonia* in Respiratory Exudates. *Journal of Clinical Microbiology*. 1991; **29**(9): 2007-2012.
32. Hopfer R. L. Mills K. Fainstein V. Fischer H. E. Luna M. P. Pneumonia Caused by a Previously Undescribed Bacterium. *Journal of Clinical Microbiology*, 1982; **16**(3): 536-541.
33. Işııkay S. Ertekin V. Klebsiella pneumoniae Pnömonisi: Bir Vaka Sunumu, *Journal of Pediatric Infectious Diseases*, 2008; **2**: 27-29.
34. İlhan F. Özdemir G. Bulut V. Son Altı Ay İçinde laboratuvarımızda Saptanan Solunum Yolu Virüslerinin Seropozitivitesi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilgileri Dergisi* 2005; **19**(4): 249-251.
35. Jennings LC., Anderson TP., Beynon KA., Chua A., Laing RTR., Werno AM., Young SA., Chambers ST., Murdoch DR. Incidence and Characteristics of Viral Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Thorax*, 2008; **63**: 42-48.
36. Jong GM. Hsiue TR. Chen CR. Chang HG. Chen CW. Rapidly Fatal Outcome of Bacteremic Klebsiella pneumoniae in Alcoholics. *CHEST*, 1995; **107**: 214-217.
37. Jonstone J., Majumdar SR., Fox JD., Marrie TJ. Viral Infections in Adults Hospitalized with Community-Acquired Pneumonia. *CHEST*, 2008; **134**: 1141-1148.

38. Kanamoto Y., Ouchi K., Mizui M., Oshio M., Usui T. Prevalence of Antibody to Chlamydia pneumoniae TWAR in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 1991; **29**(4): 816-818.
39. Klinger JR. Sanchez MP. Curtin LA. Durkin M. Matyas B. Multiple Cases of Life-threatening Adenovirus Pneumonia in a Mental Health Care Center. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1998; **157**: 645-649.
40. Kocabaş E. Yalçın E. Akın L. Cengiz A. B. Göçmen A. Gür D. Kanra G. Uyan A. P. Toraks Derneği Çocukluk Çağında Toplum Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi* 2002; **3**(3): 19-27.
41. Ku YH. Chuang YC. Yu WL. Clinical Spectrum and Molecular Characteristics of Klebsiella pneumoniae Causing Community-Acquired Extrahepatic Abscess. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2008; **41**: 311-317.
42. Kuzer FP. Çırak K. Yanıkoğlu SD. Halilçolar H. Legionella Pnömonisi (İki Olgu Nedeniyle). *Akciğer Arşivi*, 2006; **7**: 128-131.
43. Küçükardalı Y. Öncül O. Nalbant S. Çankır Z. Top C. Ağdaş Ş. Şilt E. Danacı M. Yaşlı Popülasyonda Toplum Kökenli Pnömoni Olguları. *Geriatrı*, 2001; **4**(2): 59-62.
44. Latonia AA. M.D. M. Sc. D.T.M. H. Legionnaire's Disease Among Filipinos with Atypical Pneumonia. Filipinos. *Journal Microbiology Infectious Disease*, 1993; **22**(1): 1-4.
45. Lauer BA. Comparision of Virus Culturing and Immunofluorescence for Rapid Detection of Respiratory Syncytial Virus in Nasopharyngeal Secretions: Sensitivity and Specifity. *Journal of Clinical Microbiology*, 1982; **16**(2): 411-412.
46. Lee SJ. Lee MG. Jeon MJ. Jung KS. Lee HK. Kishimoto T. Atypical Pathogens in Adult Patients Admitted with Community Acquired Pneumonia in Korea. *Japan Journal Infectious Diseaes*, 2002; **55**: 157-159.

47. Liu C. Studies on Primary Atypical Pneumonia. I. Localization, Isolation and Cultivation of a Virus in Chick Embryos. *Journal of Experimental Medicine*, 1957; **106**: 455-466.
48. Liu C. ve Eaton MD. Study and Isolation of Primary Atypical Pneumonia Virus in Chick Embryos by Means of Flurescein-labelled Antibody. *Bacterial Proc*, 1955; **61**.
49. Liu C. ve Heyl JT. Serological Study of Primary Atypical Pneumonia. *Federation Proc*, 1957; **16**: 423.
50. Liu C., Eaton MD. ve Heyl JT. Studies on Primary Atypical Pneumonia. II. Observations Concerning the Development and Immunological Characteristic of Antibody in Patients. *Journal of Experimental Medicine*, 1959; **109**: 545-556.
51. Luna MC., Famiglietti A., Absi R., Videla AJ., Nogueira FJ., Fuenzalida AD., Gene RJ. Community-Acquired Pneumonia Etiology, Epidemiology and Outcome at a Teaching Hospital in Argentina. *CHEST*, 2000; **118**: 1344-1354.
52. Mandell LA. Canadian Guidelines for the Initial Management of Community Acquired Pneumonia: An Evidence-Based Update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Throacic Society. *Clinical Infectious Diseas*, 2000; **31**: 383-421,
53. Mandell LA. Bartlett JG. Dowell SF. File TM. Jr. Musher DM. Whitney C. Update of Practive Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompotent Adults. *Clinical Infectious Diseases*. 2003; **37**: 1405-1433.
54. Mandell LA. Wunderinck RG. Anzueto A. Bartlett JG. Campbell GD. Dean NC. Dowell SF. File TM. Musher DM. Niederman MS. Torres A. Whitney CG. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Clinical Infectious Diseases*. 2007; **44**: 27-72.
55. Marcos MA., Camps M., Pumarola T., Martinez AJ., Martinez E., Mensa J., Garcia E., Dambrava P., Casas I, Anta MT., Torres A. The Role of Viruses

- in the Aetiology of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Antivir Ther*, 2006; **11**: 351-359.
56. Martinez MA. Ruiz M Zunino E. Luchsinger H. Avendano LF. Detection of Mycoplasma pneumonia in Adult Community Acquired Pneumonia by PCR and Serology. *Journal of Medical Microbiology*, 2008; **57**: 1491-1495.
57. Marton A. Karolyi A. Szalka A. Prevalence of Chlamydia pneumoniae Antibodies in Hungary. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1992; **11**(2): 139-142.
58. Menendez R. Guidelines for the Treatment of Community Acquired Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2005; **172**: 757-762.
59. Michelow IC. Olsen K. Lazono J, Rollins NK. Duffy LB. Ziegler T. Kauppila J. Leinonen M. McCracken GH. Epidemiology and Clinical Characteristics of Community-Acquired Pneumonia in Hospitalized Children. *Pediatrics*, 2004; **113**: 701-707.
60. Mohan KH. Pai S. Rao R. Sripathi H. Prabhu S. Techniques of Immunofluorescence and their significance. *Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology*, 2008; **74**(4): 415-419.
61. Morens DM. Jeffery K. Taubenberger ve Fauci AS. Predominant Role of Bacterial Pneumonia as a Cause of Death in Pandemic Influenza: Implications for Pandemic Influenza Preparedness. *Journal of Infectious Diseases*, 2008; **198**: 962-970.
62. Niederman MS. Guidelines for the Management of Adults with Community-acquired Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001; **163**: 1730-1754.
63. Niederman MS. Bass JB. Campbell GD. Fein AL. Grossman RF. Mandell LA. Marrie TJ. Sarosi GA. Torres A. Yu VL. Guidelines for the initial management of adults with community-acquired pneumonia: Diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1993; **148**: 1418-1426,

64. O'Kelly EA. Hillary IB. Epidemiology of Respiratory Syncytial Virus Infection Among Infants Over Three Winter Seasons. *Irish Journal of Medical Science*, 1991; **160**(1): 12-16.
65. Okesola AO. Ige OM. Trends in Bacterial Pathogens of Lower Respiratory Infections. *The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences*, 2008; **50**: 269-272.
66. Özlü T. Bülbül Y. Özsu S. Ulusal Verilerle Toplum Kökenli Pnömoniler. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2007; **55**(2): 191-212.
67. Özlü T. Toplum Kökenli Pnömoni Olgularımızda *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* ve *L. pneumophila* Sıklığı. *Solunum Hastalıkları Dergisi* 2000; **11**: 135-139.
68. Özol D., Bacakoğlu F., Öktem S., Cirit M., Özhan M. Ciddi Toplum Kökenli Pnömonilerin Prognozunda Klinik Parameterelerin Rolü. *Toraks Dergisi*, 2000; **1**(3): 8-13.
69. Özyılmaz E., Akan AÖ., Gülhan M., Ahmed K., Nagatake T. Major Bacteria of Community-Acquired Respiratory Tract Infectios in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2005; **58**: 50-52.
70. Paganin F., Lilienthal F., Bourdin A., Lugagne N., Tixier F., Genin R., Yvin J-l. Severe Community-Acquired Pneumonia: Assessment of Microbial Aetiology as Mortality Factor. *European Respiratory Journal*, 2004; **24**: 779-785.
71. Rudan I. Boschi-Pinto C. Biloglav Z. Muholland K. Campbell H. Epidemiology and Etiology of Childhood Pneumonia. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; **86**: 408-416.
72. Ruiz M. Ewig S. Marcos MA. Martinez JA. Arancibia F. Mensa J. Torres A. Etiology of Community-Acquired PNeumonia: Impact of Age, Comorbidity and Severity. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1999; **160**: 397-405

73. Saltoğlu N., Taşova Y., Yılmaz G., Mıdıklı D., Köksal F., Aksu HS., Dündar İH. Toplumda Edinilmiş Pnömoni: Etyoloji Prognoz ve Tedavi. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 1999; **4**(4): 245-252.
74. şenyiğit A., Asan E., Kırbaş G., Uçmak H., Coşkunsel M. Alt Solunum Yolu İnfeksiyonlarında Ampisilin/Sulbaktam Etkinliği. *Göztepe Tıp Dergisi* 2000;**15**(3):136-139
75. Sevinç C. Uçan E. S. Yaşamı Tehdit Eden Pnömoniler. *Toraks Dergisi*, 2000; **2**: 50-57.
76. Stralin K., Törnqvist E., Kaltoft MS., Olcen P., Holmberg H. Etiological Diagnosis of Adult Bacterial Pneumonia by Culture and PCR Applied to Respiratory Tract Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006; **44**(2): 643-645.
77. Templeton KE., Scheltinga SA., Van Den Eeden WC.Graffelman AW., Van Den Broek PJ., Claas EJC. Improved diagnosis of the Etiology of Community-Acquired Pneumonia with Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Clinical Infectious Diseases*, 2005; **41**: 345-351.
78. Topçuoğlu Willke A, S yletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. sayfa 1577-1578.
79. Tuuminen T. Varjo S. Ingman H. Weber T. Oksi J. Viljanen M. Prevalence of Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae Immunoglobulin G and A Antibodies in A Healthy Finnish Population as Analyzed by Quantitative Enzyme Immunoassays. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2000; **7**(5): 734-738.
80. Ustaçelebi ř. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. G neş Kitabevi. 1999.
81. Wilkinson HW. Cruce DD. Broome CV. Validation of Legionella pneumophila Indirect Immunofluorescence Assay with Epidemic Sera. *Journal of Clinical Microbiology*, 1981; **13**(1): 139-146.
82. Yalçın E. Kiper N. Çocukluk Çağı Pn monileri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2001; **32**(2): 108-113.

83. Yılmaz G. Atipik Pnömoni Etkeni Virüslerin Laboratuar Tanısı. *Klinik Dergisi*, 1994; **7**(3): 126-128.
84. Yoshimoto A. Nakamura H. Fujimura M. Nakao S. Severe Community-Acquired Pneumonia in an Intensive Care Unit: Risk Factors for Mortality. *Internal Medicine Journal*, 2005; **44**: 710-716.