

Ağır Pnömoni Tanılı Hastaların Endotrakeal Aspirat Örneğinde Pnömoni Etkenlerinin Kültür ve Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması

Investigation of Microbial Etiology in Endotracheal Aspirate Samples of Severe Pneumonia Patients by Multiplex PCR and Culture Method

Taliha Karakök¹, Salih Cesur², Esra Kaya-Kılıç², Melih Gaffar Gözükara⁵, Ayşe Esra Karakoç⁴, Hülya Başar³, Sami Kınıklı²

¹Fatsa Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ordu, Türkiye; ²Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye; ³Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği, Ankara, Türkiye; ⁴Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye; ⁵T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara İl Sağlık Müdürlüğü, Sincan İlçe Sağlık Müdürlüğü, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Son yıllarda kullanıma giren moleküler yöntemlerle birlikte viral ve diğer atipik pnömoni etkenlerinin saptanma olasılıkları artmıştır. Bu çalışmada, ventilatöre bağlı olarak takip edilen ağır toplum kökenli pnömoni (TKP), hastane kökenli pnömoni (HKP) ve ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) tanılı hastaların endotrakeal aspirasyon örneğinde (ETA) pnömoni etkenlerinin kültür ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (m-PCR) yöntemiyle araştırılması amaçlandı.

Yöntemler: Prospektif olarak tasarlanan ve Aralık 2019-Ekim 2020 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışmaya; hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde takip edilen, ventilatöre bağlı, 18 yaş ve üzeri pnömoni tanısı alan hastalar dahil edildi. COVID-19 tanısı alan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastalar; TKP, HKP ve VİP olarak gruplandı. Pnömoni tanısının ilk 48 saatinde entübe olan hastalardan iki adet ETA örneği alındı. Örneklerde viral-bakteriyel m-PCR yöntemi ve bakteri kültürü yöntemi ile solunum yolu patojenleri araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya toplam 74 hasta dahil edildi. Sonuçlar, hastaların %87.8'inde m-PCR yöntemiyle, %58.1'inde ETA kültürüyle tespit edildi. Multipleks -PCR ile hem TKP hem HKP hastalarında en sık *Streptococcus pneumoniae*; VİP hastalarında ise *Klebsiella* spp. saptandı. Hastaların ETA kültüründe üreyen bakteriyel etkenler karşılaştırıldığında en sık olarak; TKP ve HKP hastalarında *Staphylococcus aureus*, VİP hastalarında ise *Klebsiella* spp. üredi. Hastaların tamamının %14.9'unda atipik pnömoni etkenleri vardı; TKP hastalarında bu oran %28.5 iken HKP hastalarında %23.1 olarak belirlendi. HKP hastalarında saptanan atipik etkenlerin tamamını virüsler oluşturmaktaydı. VİP tanılı hastalarda hiç atipik pnömoni etkeni saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamıza dahil edilen pnömonili hastaların ETA örneklerinde en sık olarak m-PCR yöntemi ile *S. pneumoniae*; ETA örneğinin bakteriyolojik kültüründe ise *Klebsiella* spp. ve *S. aureus* saptandı. Bu veriler doğrultusunda; ağır seyirli TKP ve HKP olgularının tanısında, alt solunum yolu örneklerinde moleküler yöntemler kullanılarak etkenin belirlenmesinin tedavi açısından yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: pnömoni, endotrakeal aspirat, konvansiyonel yöntemler, multipleks PCR

ABSTRACT

Objectives: The probability of detecting viral and atypical agents in pneumonia patients has increased with the molecular methods used in recent years. We aimed to investigate pneumonia pathogens in endotracheal aspiration samples (ETA) of patients with severe community-acquired (CAP), hospital-acquired pneumonia (HAP), and ventilator-associated pneumonia (VAP) by multiplex polymerase chain reaction (m-PCR) and culture method.

Methods: A prospective study was performed between December 2019 and October 2020. Patients 18 years and older with pneumonia followed in ICU on the mechanical ventilator were included. COVID-19 patients were excluded. Patients were grouped as CAP, HAP, and VAP. Two ETA samples were obtained from patients within 48 hours of the pneumonia diagnosis. Respiratory pathogens were investigated in samples by viral-bacterial m-PCR and bacterial culture methods.

Results: 74 patients were included in the study. m-PCR of ETA samples achieved pathogen detection in 87.8% of patients compared with 58.1% with culture methods. The most common pathogen detected by m-PCR was *Streptococcus pneumoniae* in both CAP and HAP patients and *Klebsiella* spp. in VAP patients. The most common pathogen isolated by culture was *Staphylococcus aureus* in both CAP and HAP patients and *Klebsiella* spp. in VAP patients. Atypical pneumonia pathogens were positive for 14.9% of the patients. Atypical pathogens were recovered from 28.5% of CAP patients and 23.1% of HAP patients. Viruses constituted all of the atypical pathogens recovered from HAP patients. No atypical pathogen was found in VAP patients.

Conclusion: In this study, *S. pneumoniae* was the most common pathogen detected with m-PCR, and *S. aureus* and *Klebsiella* spp. were the most common pathogens detected with culture. Determination of microbial etiology of lower respiratory tract samples by molecular methods for diagnosing severe CAP and HAP may be beneficial in terms of treatment.

Keywords: pneumonia, multiplex PCR, endotracheal aspirate, conventional methods

Cite this article as: Karakök T, Cesur S, Kaya-Kılıç E, et al. [Investigation of microbial etiology in endotracheal aspirate samples of severe pneumonia patients by multiplex PCR and culture method]. Klimik Derg. 2022;35(3):179-85. Turkish. **Sorumlu Yazar / Correspondence:** Taliha Karakök, E-posta / E-mail: talihapala@hotmail.com, **Gelis / Received:** 03 Eylül / September 2021, **Kabul / Accepted:** 04 Mayıs / May 2022, **Yayın Tarihi / Published Date:** 28 Eylül / September 2022, **DOI:** 10.36519/kd.2022.4004



GİRİŞ

Pnömoniler, tüm dünyada ciddi bir morbidite ve mortalite sebebidir. Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisi gibi dünya genelinde meydana gelen salgınlar, pnömoni patogenezi anlamının, tedavinin ve önlem protokolleri oluşturmanın önemini ortaya koymaktadır. Aşılama programları ile birçok gelişmiş ülkede toplum kökenli pnömokok ve *Haemophilus influenzae* tip b pnömonisi oranlarında düşüş kaydedilmekle birlikte özellikle dirençli Gram-negatif bakterilere bağlı hastane kaynaklı pnömonilerin artması ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (1). Pnömoni etkenlerinin dağılımları ülkeler arasında ve bir ülkenin farklı bölgelerinde aynı olmayabilir. Son yıllarda kullanıma giren moleküler yöntemlerle; viral ve diğer atipik pnömoni etkenlerinin (bakteri, mantarlar) saptanma olasılıkları artmıştır. Bu testlerin rutin kullanıma girmesi; hastaların tanı ve tedavi süreçlerine destek olmanın yanı sıra gerekli olmayan durumlarda antibiyotik kullanımının önüne de geçerek antibiyotik direncinin azalmasına katkı sağlayabilir (2).

Klinik pratikte pnömoni hastalarında etyolojiyi belirlemeye yönelik testlerin çoğunlukla uygulanmaması ve uygulanan testlerin de birkaç gün içinde sonuçlanması nedeniyle tedavi çoğu kez ampirik olarak başlatılmaktadır. Hastalarda uygun olmayan ampirik antibiyotik tedavisi; antibiyotik direncine ve istenmeyen yan etkilere neden olabilmektedir. Atipik pnömoni etkeni olan bakterilerin (*Mycoplasma pneumoniae*, vb.) beta-laktam antibiyotiklerden etkilenmemesi ve viral pnömonilerde etkili olabilecek bazı antivirallerin kullanılmaması tedavi başarısızlıklarına neden olmaktadır.

Son yıllarda geliştirilen moleküler yöntemlerle birlikte virusların pnömonideki rolü ön plana çıkmıştır. Birçok virus sadece toplum kökenli pnömoni (TKP) ile değil hastane kökenli pnömoni (HKP) ve ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) ile de ilişkili bulunmuştur (3, 4). Moleküler yöntemler çoğunlukla nazofarenks örneklerinden çalışılmaktadır; birçok çalışma nazofarenks örneklerinin alt solunum yolu infeksiyonu etkenlerini saptama açısından yanlış negatiflik ve yanlış pozitiflik ile sonuçlanabileceğini göstermiştir (5, 6).

Ülkemizde, mekanik ventilatör altında takip edilen pnömoni hastalarında, etkenleri endotrakeal aspirasyon örneğinde (ETA) multipleks-PCR (m-PCR) ile saptamaya yönelik olarak yapılmış sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda; TKP, HKP ve VİP hastalarında pnömoni etkenlerinin ETA örneklerinde m-PCR yöntemi ve konvansiyonel yöntemlerden biri olan bakteriyolojik kültür yöntemiyle eş zamanlı araştırılması amaçlandı.

YÖNTEMLER

Çalışma, hastanemizin Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım, Beyin ve Sinir Cerrahi Yoğun Bakım, Kalp ve Damar Cerrahi Yoğun Bakım, Nöroloji Yoğun Bakım, Genel Dahiliye Yoğun Bakım ve Acil Yoğun Bakım ünitelerinde 10 Aralık 2019 – 02 Kasım 2020 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Yoğun bakım ünitelerinde yatan 18 yaş ve üzeri TKP ve HKP tanısı alan ve ağır pnömoni olarak değerlendirilen hastalar çalışmaya dahil edildi. Ağır pnömoni kriteri, hastaların mekanik ventilatöre bağlı olmasıydı.

TKP tanısı; Amerikan İnfeksiyon Hastalıkları Derneği (“Infectious Disease Society of America – IDSA”) ve Amerikan Toraks Derneği (“American Thoracic Society – ATS”)’nin Toplum Kökenli Pnömoni Yönetimi 2007 Yılı Rehberi; HKP tanısı IDSA-ATS Hastane Kaynaklı Pnömoni Yönetimi 2016 Yılı Rehberi; VİP tanısı ise ADB Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (“Centers for Disease Control and Prevention – CDC”) kriterlerine uygun olarak koyuldu.

Olguların çalışma dışı bırakılma kriterleri aşağıdaki gibi belirlendi:

- 18 yaş altı olan hastalar,
- Akciğer malignitesi tanısı alan hastalar,

- Solid organ transplantasyonu yapılanlar ve hematopoetik kök hücre alıcıları,
- HIV pozitif olan hastalar,
- Şiddetli akut solunum sendromu koronavirus 2 (SARS-Cov2) PCR testi pozitif olan hastalar,
- SARS-Cov2 PCR testi negatif olmasına karşın akciğer tomografisinde COVID-19 pnömonisi ile uyumlu görünüm olan hastalar,
- Pnömoniye yönelik olarak başlatılan tedavinin 48. saatini doldurmuş olan hastalar,
- Tedavinin 48. saatinden sonra entübe olan hastalar.

Çalışmaya alınacak hastalara günlük yoğun bakım viziti yapıldı. Pnömoni öncesinde ya da tanının ilk 48 saatinde entübe olan hastalardan hem rutin mikrobiyolojik kültür hem de PCR testi çalışılması için iki ETA örneği alındı. Alınan örneklere homojen olması açısından alt solunum yolu örneği olarak bronkoalveolar lavaj (BAL) ve benzeri örnekler dahil edilmedi.

Hastaların diğer verileri hastane bilgi yönetim sistemi kayıtlarından elde edildi. Pnömoni tedavileri, hastayı ilk değerlendiren infeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji hekimi tarafından hastanın özelliklerine uygun bir şekilde ampirik olarak başlatıldı. Kültür ve m-PCR sonuçlarına göre tedavi tekrar değerlendirildi.

Hastaların; demografik verileri, altta yatan hastalıkları, pnömoni tanısı aldığı ilk 48 saat içindeki laboratuvar ve mikrobiyolojik verileri kayıt altına alındı. Tedavi başlangıcından 48 saat sonra gönderilen kültür ve m-PCR örnekleri verilere dahil edilmedi.

Hastalar; TKP, HKP ve VİP olmak üzere üç grupta incelendi. VİP olguları etken farklılığı gösterebileceğinden HKP grubuna dahil edilmeyip ayrı grup olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda; *M. pneumoniae*, *Legionella pneumophila* ve *Pneumocystis jirovecii* atipik pnömoni etkenleri olarak tanımlandı.

Hastalardan alınan ETA örnekleri, önce steril serum fizyolojik ile eşit hacimde bire bir sulandırıldı ve koyun kanlı agar, “eozin-metilen blue” (EMB) agar, çikolata agar besiyerlerine kantitatif kültür yöntemi ile ekimi yapıldı. Kanlı agar ve EMB agar aerobik ortamda ve çikolata agar mikroaerofilik ortamda olmak üzere etüvde, 37 °C’de 24-48 saat inkübe edildikten sonra üreme olup olmadığı değerlendirildi. ETA örneği için kantitatif ekimde eşik değer olan $\geq 10^5$ CFU/ml üreme elde edilen ve etken olduğu düşünülen koloniler, VITEK 2 otomatize sistemi (bioMérieux, Marcy l’Etoile, Fransa) ile tiplendirildi. Primer örnekten ekimle eş zamanlı preparat hazırlanıp Gram boyama yapıldı ve etken/kontaminant ayrımında Gram boyama sonucu da değerlendirildi.

Magnesia® 16 otomatik izolasyon sistemi (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji A.Ş., Türkiye)’nde 202 viral panel kiti ve 502 bakteriyel DNA izolasyon kiti (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji A.Ş., Türkiye) kullanılarak primer örneklerden nükleik asit izolasyonu yapıldı. Daha sonra elde edilen eluatlar; Montania® 4896 gerçek zamanlı (“real-time – RT”) PCR cihazı (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji A.Ş.) ile Bosphore® solunum yolu patojenleri panel kiti V4 (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji A.Ş.) kullanılarak bakteriyel ve viral patojenler yönünden araştırıldı. RT PCR yöntemi ile araştırılan patojenler; influenza B, *M. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, parainfluenza 2, parainfluenza 4, parainfluenza 1, metapnömovirus, enterovirus, influenza A, parainfluenza 3, respiratuar sinsityal virüsü (RSV) A/B, bocavirus, rhinovirus, koronavirus 229E, pandemik H1N1 influenza A, mevsimsel H1N1 influenza A, *Salmonella enterica*, adenovirus, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *H. influenzae* tip B, parechovirus,

Staphylococcus aureus, *P. jirovecii*, *Streptococcus pneumoniae*, *L. pneumophila*, koronavirus OC43 ve koronavirus NL63 idi. Bosphore® solunum yolu patojenleri panel kiti V4 (Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji A.Ş.) *Chlamydia pneumoniae*'i içermediği için bu etken araştırılmadı.

Çalışmada hastaların beyaz kan hücresi sayısı (WBC), C-reaktif protein (CRP) değeri, nötrofil-lenfosit oranı (NLO), prokalsitonin (PCT), kreatinin sonuçları da değerlendirildi. CRP değeri, Cobas® 6000 analizör serisi (Roche Diagnostics, ABD) kullanılarak immünotürbidimetrik metotla ölçüldü. PCT ise Cobas® 400 plus otoanalizör sistemi ile elektrokemilüminesans immünolojik metotla çalışıldı. CRP için <5 mg/Lt PCT için <0.5 µl ve kreatinin <1.2 mg/dl değerleri normal olarak değerlendirildi.

Çalışma için, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 20 Şubat 2020 tarih ve 218 karar numarasıyla onay alındı. Ayrıca, hastalar veya yakınlarından bilgilendirilmiş onam formu alındı.

İstatistiksel Analiz

Örneklem büyüklüğü G* Power programı (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Almanya) kullanılarak hesaplandı. Tip 1 hata 0.05, tip 2 hata 0.95 olarak belirlenerek en az 120 kişiye ulaşmak hedeflendi.

İstatistiksel analizler, SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences") versiyon 15.0 programı (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelendi. Tüm değişkenlerin, normal dağılmayan değişkenler (non-parametrik) olduğu gözlemlendi. Kategorik değişkenlerin değerlendirmesinde Pearson ki-kare testi ve Fisher kesin testi uygulandı. İki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi; üç grubun ortalamalarının karşılaştırılmasında bağımsız değişkenler için Kruskal-Wallis testi uygulandı. İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlar, Bonferroni düzeltmesi uygulanarak ve gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapılarak belirlendi. Sonuçlar %95 güven aralığında ve istatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmaya %41'i kadın ve %59'u erkek olmak üzere toplam 74 hasta alındı; yaş ortancası 67.5 yaş (19-93). VİP hastalarının sayısı 33 (%44.6), TKP hastalarının sayısı 28 (%37.8) ve HKP hastalarının sayısı 13 (%17.6)'tı.

Hastaların; 29 (%36)'unun hipertansiyon (HT), 23(%32)'ünün intrakranial kanama (İKK), 24 (%32)'ünün koroner arter hastalığı (KAH), 21(%28)'inin diabetes mellitus (DM), 15 (%21.3)'inin kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), 16 (%21.3)'sında kanama dışı serebrovasküler olay (SVO), 8 (%10.7)'inin konjestif kalp yetmezliği (KKY) ve 4 (%5.3)'ünün kronik böbrek hastalığı (KBH) tanısı mevcuttu.

m-PCR ile 74 hastanın 65 (%87.8)'inde etken saptandı. ETA örneği kültürü ile hastaların 43 (%58.1)'ünde üreme oldu. ETA örneklerinde, hastaların 28 (%37.8)'inde PCR testi polimikrobiyal olarak sonuçlandı. PCR ile hem TKP hem HKP hastalarında en sık *S. pneumoniae* saptanırken VİP hastalarında en sık *Klebsiella* spp. saptandı. Hastaların ETA kültür sonuçlarına bakıldığında; TKP ve HKP hastalarında en sık *S. aureus*, VİP hastalarında en sık *Klebsiella* spp. ürettiği görüldü. Hastaların; ETA örneğinin m-PCR sonuçları Tablo 1'de, ETA örneği kültür sonuçları Tablo 2'de, kan kültür sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Toplam hasta sayısının 11 (%14.9)'inde atipik pnömoni etkeni saptanırken TKP hastalarının 8 (%28.5)'inde ve HKP hastalarının 3 (%23)'ünde aynı

Tablo 1. Hastaların ETA Örneğinin Multipleks PCR Sonuçları

	n (%)*	Toplam Hasta Sayısı
TKP'de Saptanan Etkenler (PCR)**		
<i>S. pneumoniae</i>	20 (71.4)	28
<i>S. aureus</i>	7 (25)	
İnfluenza H1N1	3 (10.7)	
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (7.1)	
Negatif	2 (7.1)	
RSV-A+RSV-B	2 (7.1)	
<i>M. catarrhalis</i>	2 (7.1)	
<i>Rhinovirus</i>	1 (3.5)	
<i>P. jirovecii</i>	1 (3.5)	
<i>L. pneumophila</i>	1 (3.5)	
HKP'de Saptanan Etkenler (PCR)**		
<i>S. pneumoniae</i>	7 (53.8)	13
<i>S. aureus</i>	4 (30.8)	
Negatif	3 (23.1)	
İnfluenza H1N1	2 (15.4)	
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (15.4)	
Metapnömovirus	1 (7.7)	
VİP'te Saptanan Etkenler (PCR)**		
<i>Klebsiella</i> spp.	18 (54.5)	33
<i>S. pneumoniae</i>	14 (42.2)	
<i>S. aureus</i>	10 (30.3)	
Negatif	4 (12.1)	

*Sütun yüzdesi verilmiştir. **Bir hastada birden fazla etken vardır.

TKP: Toplum kökenli pnömoni, HKP: Hastane kökenli pnömoni, VİP: Ventilator ilişkili pnömoni, PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu, RSV: Respiratuar sinsityal virüsü.

etken saptandı. HKP hastalarında saptanan 3 atipik etkenin 2'si influenza virusuydu. m-PCR yöntemiyle ETA örneklerinde viral etken saptanan hastaların %44.4'üne bakteriyel etkenler de eşlik etmekteydi. VİP tanılı hastaların hiçbirinde atipik etken saptanmadı. Atipik etken saptanan tüm hastaların mikrobiyolojik verileri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Atipik etkenlerin %81.8'inden virusların sorumlu olduğu görüldü. Saptanan viral etkenlerin %55.5'inden de influenza A sorumluuydu. İnfluenza saptanan hastaların %40'ünün hem kan hem ETA örneği kültüründe *S. aureus* üremesi mevcuttu.

Atipik pnömoni hastalarının yaş ortanca değeri 58, tipik pnömoni hastalarının yaş ortanca değeri ise 69'du; iki grup arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptanmadı (p=0.15).

Hastalar TKP, HKP ve VİP olarak gruplanarak karşılaştırıldığında; yaş, WBC, NLO, PCT ve kreatinin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadı (p>0.05).

Tablo 2. Hastaların ETA Örneği Kültür Sonuçları

	n (%)*	Toplam Hasta Sayısı
TKP'de Saptanan Etkenler (Kültür)**		
Kontaminasyon	8 (28.6)	28
Üreme yok	8 (28.6)	
<i>S. aureus</i>	5 (17.9)	
<i>Klebsiella</i> spp.	3 (10.7)	
<i>S. pneumoniae</i>	1 (3.6)	
<i>K. oxytoca</i>	1 (3.6)	
<i>S. pyogenes</i>	1 (3.6)	
<i>C. striatum</i>	1 (3.6)	
<i>P. aeruginosa</i>	1 (3.6)	
HKP'de Saptanan Etkenler (Kültür)**		
Üreme	4 (30.8)	13
<i>S. aureus</i>	3 (23.1)	
Kontaminasyon	3 (23.1)	
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (15.4)	
<i>E. coli</i>	1 (7.7)	
<i>Serratia</i> spp.	1 (7.7)	
VİP'te Saptanan Etkenler (Kültür)**		
<i>Klebsiella</i> spp.	11 (33.3)	33
Üreme yok	8 (24.2)	
<i>Acinetobacter</i> spp.	5 (15.1)	
Kontaminasyon	3 (9.1)	
<i>S. aureus</i>	2 (6.1)	
<i>P. aeruginosa</i>	2 (6.1)	
<i>E. coli</i>	1 (3.0)	
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (3.0)	
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (3.0)	

*Sütun yüzdesi verilmiştir. **Bir hastada birden fazla etken vardır.
TKP: Toplum kökenli pnömoni, **HKP:** Hastane kökenli pnömoni,
VİP: Ventilatör ilişkili pnömoni.

CRP değeri ortancaları; TKP olan hastaların 91.0 mg/dl (11-376), HKP olan hastaların 137.0 mg/dl (17.0-354) ve VİP olan hastaların 190.0 mg/dl (28.0-454.0) olarak bulundu ($p=0.036$). Yapılan ikili testlerde istatistiksel farkın TKP ile VİP hastaları arasında olduğu tespit edildi.

Hastalar tipik-atipik pnömoni etkenlerine göre gruplandırılarak karşılaştırıldığında; yaş, WBC, NLO, CRP, sedimantasyon, kreatinin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark saptanmadı ($p>0.05$). PCT değerleri karşılaştırıldığında tipik pnömonili hastaların ortanca değeri 0.7 (0.07-100) iken atipik pnömonili hastaların ortanca değeri 12.9 (0.40-58.0) olarak bulundu ($p=0.002$).

Hastaların; Alzheimer, DM, KAH, HT, SVO, İKK, KOAH ve KBH gibi komorbiditeleri ile pnömoni etken tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadı ($p>0.05$). HKP veya VİP olan hastaların

Tablo 3. Hastaların Kan Kültürü Sonuçları

	n (%)*	Toplam
TKP'de Saptanan Etkenler **		
Üreme yok	16 (59.3)	27
Kontaminasyon	5 (18.5)	
MRKNS	2 (7.4)	
<i>S. aureus</i>	1 (3.7)	
<i>S. pneumoniae</i>	1 (3.7)	
<i>Serratia</i> spp.	1 (3.7)	
<i>K. oxytoca</i>	1 (3.7)	
HKP'de Saptanan Etkenler		
Üreme yok	7 (53.8)	13
Kontaminasyon	2 (15.4)	
<i>S. aureus</i>	1 (7.7)	
<i>K. pneumoniae</i>	1 (7.7)	
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (7.7)	
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 (7.7)	
VİP'te Saptanan Etkenler		
MRKNS	10 (33.3)	30
Üreme yok	7 (23.3)	
Kontaminasyon	3 (10)	
<i>Enterococcus</i> spp.	3 (10)	
<i>K. pneumoniae</i>	2 (6.7)	
<i>S. pneumoniae</i>	1 (6.7)	
<i>S. aureus</i>	1 (3.3)	
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 (3.3)	
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (3.3)	
<i>Sphingomonas</i> spp.	1 (3.3)	

*Sütun yüzdesi verilmiştir. **Bir hastada birden fazla etken vardır.

TKP: Toplum kökenli pnömoni, **HKP:** Hastane kökenli pnömoni

VİP: Ventilatör ilişkili pnömoni, **MRKNS:** Metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokok

%6.5'inde atipik etken bulunurken, TKP hastalarının %28.5'inde atipik etken saptandı ($p=0.016$).

İRDELEME

Pnömoni hastalarında mikrobiyal etyolojiye yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, pnömoni etyolojisine yönelik HKP ve VİP hastalarının dahil edildiği ve kültür ile moleküler yöntemlerin birlikte kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda, ETA örneklerinde, m-PCR ile hastaların 65 (%87.8)'inde, kültür ile 43 (%58)'ünde en az bir etken pozitif saptandı. Gadsby ve arkadaşlarının (7) yaptıkları bir çalışmada, TKP hastalarının alt solunum yolu örnekleri m-PCR ve kültür ile değerlendirilmiş ve PCR ile hastaların %87'sinde, kültür ile %39'unda patojen tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki

Tablo 4. Atipik Etken Pozitif Saptanan Hastaların Mikrobiyolojik Verileri

Hasta No	Yaş	Pnömoni Türü	PCR ile Saptanan Atipik Etken	PCR ile Saptanan İkinci Etken	ETA Kültür	Kan Kültür
1	74	HKP	İnfluenza A	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
2	46	TKP	İnfluenza A	Yok	Üreme yok	Üreme yok
3	48	TKP	İnfluenza A	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
4	74	TKP	Rhinovirus	Yok	Flora elemanları ile kontaminasyon	Üreme yok
5	64	HKP	İnfluenza A	Yok	Üreme yok	Flora elemanları ile kontaminasyon
6	30	TKP	İnfluenza A	Yok	Üreme yok	Üreme yok
7	81	TKP	<i>P. jirovecii</i>	<i>S. aureus</i> + <i>S. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	-
8	86	HKP	Metapnömovirus	Yok	<i>K. pneumoniae</i>	Üreme yok
9	58	TKP	RSV-A+ RSV-B	<i>S. aureus</i>	-	Flora elemanları ile kontaminasyon
10	39	TKP	<i>L. pneumophila</i>	Yok	Üreme yok	Üreme yok
11	21	TKP	RSV-A+ RSV-B	<i>S. pneumoniae</i>	Üreme yok	Üreme yok

TKP: Toplum kökenli pnömoni, **HKP:** Hastane kökenli pnömoni, **VİP:** Ventilator ilişkili pnömoni, **PCR:** Polimeraz zincir reaksiyonu, **RSV:** Respiratuar sinsiyal virüsü.

veriler PCR ve kültür ile etken saptama oranları açısından literatürle uyumluydu.

TKP hastalarının %71.4'ünde *S. pneumoniae* PCR ile pozitif saptanırken, sadece bir hastanın ETA örneği kültüründe ve bir hastanın kan kültüründe *S. pneumoniae* üredi. Dünyada toplum kökenli pnömonilerin yaklaşık %5-%48'inden *S. pneumoniae* sorumludur (8, 9). Alt solunum yolu örneklerinde PCR yöntemiyle *S. pneumoniae* pozitif saptanma oranı kullanılan yöntemle göre %6-%80 arasında değişmektedir (10-12). *S. pneumoniae* insanda özellikle nazofarenkste kolonize olabilen bir patojen olduğu için PCR pozitifliği olan bireylerde kolonizasyon-infeksiyon ayrımı yapmak oldukça güçtür. Çalışmamızda, pnömoni etkenlerini belirlemek amacıyla ventilatöre bağlı hastaların tamamında solunum yolu örneği olarak ETA örneği alındı. Birçok çalışma nazofarenksten alınan örneklerin alt solunum yolu infeksiyonları için yalancı negatiflik ve yalancı pozitiflik ile sonuçlanabileceğini göstermiştir (13-15). Literatürde, kolonizasyon/infeksiyon ayrımı için kantitatif PCR metotları daha spesifik bulunmuştur (16). Çalışmamızda yöntem olarak kantitatif PCR kullanılmaması nedeni ile *S. pneumoniae*'nin yüksek oranda saptandığı düşünüldü. Ayrıca kullanılan PCR metoduna göre diğer streptokok türleri ile çapraz reaksiyon göstererek yalancı pozitif sonuçlar da görülebilmektedir (17). Bu nedenle sağlıklı kişilerde kolonize olabilen mikroorganizmalar için tanıda daha spesifik olan moleküler yöntemler kullanılması gerekebilir.

TKP hastalarında; *S. aureus* kültürde %17.9 oranı ile en sık saptanan etken olup PCR'da %25 oranı ile ikinci sırada saptandı. Literatürde toplum kökenli pnömoni etyolojisinde *S. aureus* olguların %1.6-%10.2'ünü oluşturmaktadır (8, 18). *S. aureus* pnömonisinin ağır nekrotizan pnömoni şeklinde seyretme riski yüksektir; hastaların yaklaşık %49-%74'ü mekanik ventilasyon ihtiyacı göstermektedir (19, 20).

HKP hastalarının %53.8'inde *S. pneumoniae* PCR testi pozitif saptanırken hastaların hiçbirinin kan ve ETA örneği kültüründe *S. pneumoniae* üremesi saptanmadı. Literatürde HKP etyolojisinde genellikle Gram-negatif enterik basiller ön planda bildirilmekle birlikte bu çalışmalar VİP hastalarını da içermektedir. Çalışmamızda, VİP hastaları etken farklılıklarını saptayabilmek için HKP hasta grubuna dahil edilmedi. Yoğun bakım dışında takip edilen HKP olgularında yapılan

bir araştırmada çalışmamızla benzer şekilde *S. pneumoniae* pnömoni etkeni olarak ilk sırada yer almıştır (21).

VİP hastalarının ETA örneklerinde PCR ile en sık saptadığımız etkenler sırasıyla; %54.5 oranında *K. pneumoniae* ve %42.4 oranında *S. pneumoniae*'dir. Hastaların ETA örneği kültürlerinde ise %33.3 oranında *Klebsiella* spp. ve %15.1 oranında *Acinetobacter* spp. üredi. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, VİP etkeni olarak; *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Enterobacter cloacae* gibi Gram-negatif bakterilerin ön planda olduğu, Gram-pozitif bakterilerde ise en sık *S. aureus*'un izole edildiği bildirilmiştir (22-24).

Literatürde TKP hastalarının ortalama %20-%28.6'sında atipik etken bildirilmiştir. Sunduğumuz çalışmada da benzer olarak TKP hastalarının %28.5'inde atipik etken saptandı (25, 26). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, atipik pnömoni verileri çalışmaların yeri ve zamanına göre değişmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalardan farklı olarak hiçbir hastada *M. pneumoniae* saptamadık. Bunun nedeni, sadece ventilatöre bağlı hastaları çalışmaya dahil etmemiz olabilir. Nitekim *M. pneumoniae*'nin neden olduğu pnömoni tablosunun diğer etkenlere kıyasla daha hafif seyrettiği bilinmektedir (27).

HKP olgularının %23'ünde atipik pnömoni etkeni saptadık; bunların tümünü viral etkenler oluşturmaktaydı. Moleküler yöntemlerin klinik kullanıma girmesi ile birlikte yapılan çalışmalarda HKP olgularında viral etkenlerin saptanma oranı %5.9- %24.4 olarak bildirilmiştir (28, 29). HKP'lerde viral pnömoni etkenlerini saptama oranımız literatürle uyumluydu.

Çalışmamızda, m-PCR yöntemi ile ETA örneklerinde viral etken saptanan hastaların %44.4'üne bakteriyel bir etken de eşlik ediyordu. Literatürde, moleküler çalışmalarla saptanan virus-bakteri birlikteliği oranı %5.3-%81.6 arasında geniş bir dağılım göstermektedir (3, 30). Çalışmalar arasındaki bu farklılık, araştırılan virus sayısı, mevsimsel özellikler ve kullanılan PCR yönteminden kaynaklanabilir.

HKP olgularının ikisinde influenza virüsü saptandı. Bu nedenle, özellikle antibiyotik tedavisine yanıt alınmayan HKP olgularında pnömoni etkeni olarak influenza virüsü akılda tutulmalıdır.

VİP hastalarının hiçbirinde atipik pnömoni etkeni tespit edilmedi. Başta *L. pneumophila* olmak üzere *M. pneumoniae*, herpes simpleks virüsü (HSV) ve sitomegalovirus (CMV) gibi bazı virusların VİP'te etken olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (28, 31, 32). Ancak kullandığımız m-PCR kitinin söz konusu virusları kapsamaması ve hasta sayımızın az olması bu etkenleri saptayamamış olmamızın nedeni olabilir.

İncelediğimiz laboratuvar parametrelerinden; WBC, PCT ve NLO değerlerinin pnömoni alt türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermediğini tespit ettik. CRP değeri VİP hastalarında TKP hastalarına göre anlamlı derece yüksek bulundu. VİP grubunda hiçbir hastada viral etken saptanmaması da CRP'nin diğer hasta gruplarına göre daha yüksek çıkmasını açıklayabilir. Ayrıca CRP'nin Gram-negatif etkene bağlı gelişen nozokomiyal bakteriyemik olgularda Gram-pozitif etkene bağlı gelişen bakteriyemik olgulara göre daha yüksek seyrettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (33). Bu durum Gram-negatif patojenlerin daha sık saptandığı VİP hasta grubunda, eşlik eden bakteriyemi nedeni ile CRP değerlerinin diğer pnömoni gruplarına göre daha yüksek seyretmesini açıklayabilir.

Tipik pnömoni etkenleri ve atipik pnömoni etkenleri saptanan hastaların PCT değerleri karşılaştırıldığında; tipik etkenlerle infekte hastaların ortalama değeri 0.7 (0.07-100) iken atipik etkenle infekte hastalarda bu değer 12.9 (0.40-58.0) olarak bulundu ($p=0.002$). Literatürde atipik pnömonilerde tipik pnömonilere göre daha düşük PCT değerleri bildirilmiştir (34). Atipik etkenlerin viral etkenleri de kapsadığı düşünülerek çalışmamızda bu beklenmeyen yüksek değerlerin nedeninin başta influenza tanısı olan hastalar olmak üzere atipik etken saptanan hastalardaki bakteriyel ko-infeksiyona bağlı olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda atipik pnömoni etkenlerinin saptandığı hastaların yaş ortanca değeri 58 yaş, tipik pnömoni hastaların yaş ortanca değeri ise 69 yaştı. İki grup arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık saptanmamakla birlikte atipik pnömoni grubunun daha genç yaşta olduğu görüldü ($p=0.15$). Atipik pnömoni etkenlerinin, genç yaşlarda daha sık görüldüğü bildirilmesine rağmen, özellikle ileri yaş grubunda da atipik pnömoni etkenlerinin sık görülebileceği rapor edilmiştir (35).

Ventilatör desteği gerektiren ağır seyirli pnömonili hastaların değerlendirildiği çalışmamızda, genç yaş grubunda mekanik ventilasyon gerektirecek ağır klinik tabloyla karşılaşılması durumunda, özellikle *L. pneumophila* ve influenza başta olmak üzere atipik pnömoni etkenlerin araştırılmasının yararlı olacağı görüşündeyiz.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı pandemi nedeni ile istenilen hasta sayısına ulaşamamış olmasıdır. Çalışılan m-PCR kitinde *Chlamydia* türlerinin bulunmaması etken oranlarımızı değiştirmiş olabilir. Kullanılan yöntemin kantitatif olmaması nedeniyle özellikle *S. pneumoniae* için kolonizasyon/infeksiyon ayrımı yapmamız mümkün olmadı. ETA örneklerinin tümü antibiyotik tedavisi öncesi alınmadığı için PCR ve kültür ile etken belirleme oranlarının kıyaslanması doğru sonuçlar vermemiş olabilir. Bununla birlikte, çalışmamız ağır seyirli pnömoni hastalarının ETA örneklerinde m-PCR yöntemi ile atipik etkenlerin araştırıldığı az sayıdaki çalışmadan biri olması yönüyle önemlidir.

Sonuç olarak; pnömoni hastalarının solunum örneklerinde konvansiyonel yöntemler dışında moleküler yöntemlerle de etkenlerin belirlenmesi pnömoni tedavi protokollerine önemli katkı sağlayacaktır.

Hasta Onamı

Hastalar veya yakınlarından bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Etik Kurul Kararı

Çalışma için, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 20 Şubat 2020 tarih ve 218 karar numarasıyla onayı alındı. Ayrıca, hastalar veya yakınlarından bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram – T.K., S.C., E.K.K., A.E.K.; Tasarım – T.K., S.C., E.K.K., M.G.G.; Denetleme – T.K., S.C., S.K., H.B., A.E.K.; Kaynak ve Fon Sağlama – H.B., S.K., A.E.K.; Malzemeler/Hastalar – H.B., A.E.K., T.K.; Veri Toplama ve/veya İşleme – T.K., M.G.G.; Analiz ve/veya Yorum – T.K., M.G.G., E.K.K., S.C.; Literatür Taraması – T.K., S.C.; Makale Yazımı – T.K., E.K.K., S.C.; Eleştirel İnceleme – E.K.K., S.C., S.K.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemiştir.

Sunulan Bilimsel Etkinlik

26-30 Mayıs 2021 tarihleri arasında Antalya'da düzenlenen XXI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Grijalva CG, Nuorti JP, Arbogast PG, Martin SW, Edwards KM, Griffin MR. Decline in pneumonia admissions after routine childhood immunisation with pneumococcal conjugate vaccine in the USA: a time-series analysis. *Lancet*. 2007;369(9568):1179-86. [CrossRef]
- Rogers BB, Shankar P, Jerriss RC, et al. Impact of a rapid respiratory panel test on patient outcomes. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(5):636-41. [CrossRef]
- Shorr AF, Zilberberg MD, Micek ST, Kollef MH. Viruses are prevalent in non-ventilated hospital-acquired pneumonia. *Respir Med*. 2017;122:76-80. [CrossRef]
- Barbier F, Andreumont A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19(3):216-28. [CrossRef]
- Karhu J, Ala-Kokko TI, Vuorinen T, Ohtonen P, Syrjälä H. Lower respiratory tract virus findings in mechanically ventilated patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2014;59(1):62-70. [CrossRef]
- Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*. 2020;323(18):1843-4. [CrossRef]
- Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP, et al. Comprehensive molecular testing for respiratory pathogens in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2016;62(7):817-23. [CrossRef]
- Microbial etiology of community-acquired pneumonia [Internet]. UpToDate. [erişim 03 Eylül 2021] https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=ID%2F63248&topicKey=ID%2F6990&search=community%20acquired&source=outline_link&selectedTitle=9~150&sp=0
- Lim WS, Macfarlane JT, Boswell TC, et al. Study of community acquired pneumonia aetiology (SCAPA) in adults admitted to hospital: implications for management guidelines. *Thorax*. 2001;56(4):296-301. [CrossRef]
- Sircar M, Ranjan P, Gupta R, et al. Impact of bronchoalveolar lavage multiplex polymerase chain reaction on microbiological yield and therapeutic decisions in severe pneumonia in intensive care unit. *J Crit Care*. 2016;31(1):227-32. [CrossRef]

11. Murdoch DR, Anderson TP, Beynon KA, et al. Evaluation of a PCR assay for detection of *Streptococcus pneumoniae* in respiratory and nonrespiratory samples from adults with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol.* 2003;41(1):63-6. [[CrossRef](#)]
12. Strålin K, Törnqvist E, Kaltoft MS, Olcén P, Holmberg H. Etiologic diagnosis of adult bacterial pneumonia by culture and PCR applied to respiratory tract samples. *J Clin Microbiol.* 2006;44(2):643-5. [[CrossRef](#)]
13. Man WH, van Houten MA, Mérelle ME, et al. Bacterial and viral respiratory tract microbiota and host characteristics in children with lower respiratory tract infections: a matched case-control study. *Lancet Respir Med.* 2019;7(5):417-26. [[CrossRef](#)]
14. Karhu J, Ala-Kokko TI, Vuorinen T, Ohtonen P, Syrjälä H. Lower respiratory tract virus findings in mechanically ventilated patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2014;59(1):62-70. [[CrossRef](#)]
15. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-4. [[CrossRef](#)]
16. Abdeldaim GM, Strålin K, Korsgaard J, Blomberg J, Welinder-Olsson C, Herrmann B. Multiplex quantitative PCR for detection of lower respiratory tract infection and meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis*. *BMC Microbiol.* 2010;10:310. [[CrossRef](#)]
17. Blaschke AJ. Interpreting assays for the detection of *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 2011;52 Suppl 4(Suppl 4):S331-7. [[CrossRef](#)]
18. Self WH, Wunderink RG, Williams DJ, et al. *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia: Prevalence, clinical characteristics, and outcomes. *Clin Infect Dis.* 2016;63(3):300-9. [[CrossRef](#)]
19. Gillet Y, Vanhems P, Lina G, et al. Factors predicting mortality in necrotizing community-acquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis.* 2007;45(3):315-21. [[CrossRef](#)]
20. Kallen AJ, Brunkard J, Moore Z, et al. *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Ann Emerg Med.* 2009;53(3):358-65. [[CrossRef](#)]
21. Sopena N, Sabrià M; Neunos 2000 Study Group. Multicenter study of hospital-acquired pneumonia in non-ICU patients. *Chest.* 2005;127(1):213-9. [[CrossRef](#)]
22. Palabıyık O, Öğütlü, Toptaş Y. [Ventilator-associated pneumonia and causative microorganisms in intensive care unit: A two-year retrospective analysis]. *J Turk Soc Intens Care.* 2016;14:80-5. Turkish. [[CrossRef](#)]
23. Tomak Y, Ertürk A, Şen A, Erdivanlı B, Kurt A. [Ventilator-associated pneumonia rate and causative microorganisms in an anesthesia intensive care unit]. *Med Bull Etfal Hosp.* 2012;46(3):115-9. Turkish.
24. Aybar M, Topeli A. [Epidemiology of ventilator associated pneumonia in a medical intensive care unit]. *Yoğun Bakım Dergisi.* 2001;1(1):41-6. Turkish.
25. Arnold FW, Summersgill JT, Ramirez JA. Role of atypical pathogens in the etiology of community-acquired pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016;37(6):819-28. [[CrossRef](#)]
26. Lui G, Ip M, Lee N, et al. Role of 'atypical pathogens' among adult hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *Respirology.* 2009;14(8):1098-105. [[CrossRef](#)]
27. Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(4):697-728. [[CrossRef](#)]
28. Micek ST, Chew B, Hampton N, Kollef MH. A case-control study assessing the impact of nonventilated hospital-acquired pneumonia on patient outcomes. *Chest.* 2016;150(5):1008-14. [[CrossRef](#)]
29. Chalmers JD, Taylor JK, Singanayagam A, et al. Epidemiology, antibiotic therapy, and clinical outcomes in health care-associated pneumonia: a UK cohort study. *Clin Infect Dis.* 2011;53(2):107-13. [[CrossRef](#)]
30. Top 20 Pneumonia Facts-2019 [Internet]. New York: American Thoracic Society. [erişim 3 Eylül 2021] <https://www.thoracic.org/patients/patient-resources/resources/top-pneumonia-facts.pdf>
31. Papazian L, Fraise A, Garbe L, et al. Cytomegalovirus. An unexpected cause of ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology.* 1996;84(2):280-7. [[CrossRef](#)]
32. Park DR. The microbiology of ventilator-associated pneumonia. *Respir Care.* 2005;50(6):742-63.
33. Abe R, Oda S, Sadahiro T, et al. Gram-negative bacteremia induces greater magnitude of inflammatory response than Gram-positive bacteremia. *Crit Care.* 2010;14(2):R27. [[CrossRef](#)]
34. Jereb M, Kotar T. Usefulness of procalcitonin to differentiate typical from atypical community-acquired pneumonia. *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118(5-6):170-4. [[CrossRef](#)]
35. Gutiérrez F, Masiá M, Mirete C, et al. The influence of age and gender on the population-based incidence of community-acquired pneumonia caused by different microbial pathogens. *J Infect.* 2006;53(3):166-74. [[CrossRef](#)]