

Akciğer Hastalığı Olan Hastalarda *Pneumocystis jirovecii* Kolonizasyonunun Araştırılması

Investigation of *Pneumocystis jirovecii* Colonization in Patients with Pulmonary Diseases

Soykan Özkoç¹, Songül Bayram Delibaş¹, Ahmet Emin Erbaycu², Ceren Ergüden¹, Çiler Akisü¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Pnömoni semptom ve bulguları bulunmayan kişilerin klinik örneklerinde *Pneumocystis jirovecii* (*P. jirovecii*)'nin veya DNA'sının gösterilmesi kolonizasyon olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde pulmoner semptomları ve/veya allta yatan akciğer hastalıklarının tanısı için bronkoskopi yapılan hastalarda *P. jirovecii* kolonizasyon prevalansının araştırmayı hedefledik.

Yöntemler: Hastaların bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı örnekleri, *P. jirovecii* ribosomal RNA geniş alt ünitesini kodlayan mitokondriyal geni (mt-LSUrRNA) çoğaltan nested-PCR (nPCR) yöntemi ile değerlendirildi. Ek olarak bütün örnekler giemsa, Gomori'nin metenamin gümüş (GMG) ve indirekt floresan antikor (IFA) boyama yöntemleri uygulandı.

Bulgular: nPCR testi sonucunda 30 BAL örneğinin 21 (%70)'inde *P. jirovecii* DNA'sı saptandı. Bununla birlikte nPCR ile pozitif saptanan 21 hastanın sadece bir tanesinde giemsa ve GMG boyası ile *P. jirovecii* kistleri saptandı. IFA boyama yöntemi ile 6 hasta pozitif olarak değerlendirilirken bunların sadece 4'ü nPCR ile pozitif olarak bulundu.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları özellikle kronik akciğer hastalığı olan hastalarda yüksek *P. jirovecii* kolonizasyon prevalanslarının saptanabileceğini ve *P. jirovecii* kolonizasyonunun saptanmasında nPCR'in iyi bir yöntem olduğunu göstermiştir. (*Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 214-9)

Anahtar Sözcükler: *P. jirovecii*, kolonizasyon, akciğer hastalığı

Geliş Tarihi: 11.03.2014

Kabul Tarihi: 11.06.2014

ABSTRACT

Objective: The detection of *Pneumocystis jirovecii* or its DNA in respiratory samples from individuals who do not have signs or symptoms of pneumonia has been defined as colonization. In this study, we aimed to investigate the prevalence of *P. jirovecii* colonization in patients with various lung diseases.

Methods: Thirty patients who were followed-up and who had undergone bronchoscopy for diagnosis of different underlying diseases or pulmonary signs were included in the study. Bronchoalveolar lavage (BAL) fluids of these patients were analyzed with nPCR amplification of the mt-LSUrRNA gene of *P. jirovecii*. In addition to nPCR, giemsa, Gomori's methenamine silver (GMS), and indirect fluorescence antibody (IFA) staining assays were applied to all samples.

Results: *P. jirovecii* DNA was detected in 21 of 30 (70%) BAL samples by nPCR. However, *P. jirovecii* cysts were found in 1 of 21 nPCR-positive samples by giemsa and GMS. IFA assay showed six samples to be positive, but only four of them were found to be positive by nPCR.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Soykan Özkoç, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Tel: +90 232 412 45 46 E-posta: soykan.ozkoc@deu.edu.tr

DOI:10.5152/tpd.2014.3611

©Telif hakkı 2014 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2014 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

Conclusion: Result of our study showed that prevalence of *P. jirovecii* colonization is particularly high in patients with chronic pulmonary diseases, and nPCR was a good assay for evaluation of the colonization of *P. jirovecii*. (*Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 214-9)

Keywords: *P. jirovecii*, colonization, pulmonary disease

Received: 11.03.2014

Accepted: 11.06.2014

GİRİŞ

İnsana özelleşmiş bir tür olan *Pneumocystis jirovecii* (*P. jirovecii*), ökaryotik yapıda tek hücreli bir mikroorganizma olup immün istemin baskılandığı durumlarda ölümcül pnömonilere neden olabilmektedir (1). *P. jirovecii* kültürde üretilemediğinden tanıdaki altın standart kist ve/veya trofozoitlerinin mikroskopik olarak gösterilmesidir. Giemsa ve Gomori'nin metenamin gümüş (GMG) boyaları yanında direkt veya indirekt immunfloresan boyama (IFA) yöntemleri rutinde en sık kullanılan konvansiyonel tanı yöntemleridir (1). BAL sıvısı örnekleri etkenin tanısı için ilk tercih olsa da oral yıkama sıvısı, nasofarengeal aspirasyon (NFA) sıvısı ve indüklenmiş balgam gibi kolay elde edilebilir hasta örnekleri tanıda sıkça kullanılmaktadır (1, 2). Diğer taraftan klinik örneklerde *P. jirovecii*'nin saptanması mutlaka enfeksiyon anlamına gelmemektedir. Klinik olarak semptom vermeyen kişilerde organizmanın veya DNA'sının tespit edilmesi "kolonizasyon" olarak tanımlanmıştır (2, 3). Kolonizasyonun saptanmasında nPCR gibi moleküler yöntemler sıklıkla tercih edilmekte, düşük parazit yükü nedeniyle giemsa ve GMG gibi konvansiyonel boyama yöntemlerinin çoğu zaman yetersiz kaldığı bildirilmektedir (4, 5).

P. jirovecii kolonizasyonunun epidemiyolojik ve klinik önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak kolonizasyon saptanan kişilerin, etkenin topluma yayılmasında rezervuar rolü oynadığı ayrıca bu kişilerin duyarlı hale gelmeleri durumunda mevcut kolonizasyondan *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi (PCP) gelişim riski taşıdıkları belirtilmektedir (2). Ayrıca kolonizasyon sonucu oluşan immün yanıtın neden olduğu kronik doku hasarı kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA), bronşiolit ve astım gibi çeşitli akciğer hastalıklarının gelişimi tetikleyebilmekte veya mevcut hastalıkların progresyonlarını hızlandırabilmektedir (6). Son yıllardaki çalışmalar iyatrojenik olarak immün baskılanma gelişen hastalar yanısıra çeşitli kronik akciğer hastalıklarında da *P. jirovecii* kolonizasyonunun saptanabileceğini göstermektedir (2, 6, 7). Ülkemizde ise bu konuda yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda alta yatan akciğer hastalığı veya pulmoner semptomlar nedeniyle izlenen ve tanısal amaçla bronkoskopi yapılan hastalardaki *P. jirovecii* kolonizasyon prevalansını ortaya koymayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde takip edilen ve 2009 Haziran-2010 Ocak tarihleri arasında tanısal amaçla BAL sıvısı örnekleri alınan 30 hasta dahil edildi. Hastaların BAL sıvısı örnekleri patolojik ve mikrobiyolojik açıdan aynı hastanede incelenirken örneklerin 10 mL'si *P. jirovecii* yönünden değerlendirilmek üzere aynı gün içerisinde, kuru buz üzerinde Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldı. Her bir hastadan elde edilen BAL sıvısı örnekleri boyama yöntemleri (giemsa, GMG ve IFA boyama) ve DNA ekstraksiyonu için iki kısma ayrıldı. BAL örneklerinin kullanımı için hastaların yazılı onamları alındı. (DEÜTFi Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı etik kurul onayı: 12.09.2008/322)

Boyalı preparatların hazırlanması ve mikroskopik değerlendirme

Boyamalar için ayrılan BAL sıvısı örneklerine 1500 rpm'de ön santrifüj uygulanarak 1 mL pellet elde edildi. Elde edilen pelletin 3-5 damlası sitosantrifüj aparatına yerleştirildikten sonra 5000 rpm'de sitosantrifüj yapılarak her bir boyama yöntemi için iki adet preparat hazırlandı. Lamlar havada kurutulduktan ve metanol ile 5 dk. fikse edildikten sonra boyama prosedürleri uygulandı. Kistleri saptamaya yönelik uygulanan *P. jirovecii* IFA boyama (BioRad, kat no: 32515) ve GMG boyama (Bio-optica, kat no: 04-043822) yöntemleri kitlerin üretici firma prosedürlerine göre çalışıldı. Giemsa ve GMG boyalı preparatlar x1000 büyütmede immersiyon yağı kullanılarak incelenirken IFA boyalı preparatlar immunfloresan mikroskopta değerlendirildi.

DNA ekstraksiyonu

Ekstraksiyon için ayrılan BAL sıvısı 5000 rpm'de 10 dk. santrifüje edildikten sonra elde edilen pelletin 200 µL'si DNA ekstraksiyonu için kullanıldı. DNA ekstraksiyon kiti (Mo Bio, kat no:12334-50) ile üretici firma prosedürlerine göre elde edilen DNA örnekleri amplifikasyon işlemi yapıncaya kadar -20°C'de saklandı. Negatif kontrol olarak distile su kullanılırken pozitif kontrol olarak daha önce PCP olarak değerlendirilmiş hastanın örnekleri kullanıldı (8).

nPCR yöntemi

nPCR yönteminde *P. jirovecii* mtLSUrRNA gen bölgesi hedeflendi. Birinci PCR döngüsünde pAZ102-E (5'-GATGGCTGTTCCAA-GCCCA-3') ve pAZ102-H (5'-GTGTACGTTGCAAAGTACTC-3') primerleri, ikinci PCR döngüsünde ise pAZ102-X (5'-GTGAAATACAAAT- CGGACTAGG-3') ve pAZ102-Y (5'-TCACTTAATATTAATTGGG- GAGC-3) primerleri kullanıldı (5). Her bir reaksiyon için 2,5 µL 10x reaksiyon buffer, 2,5 µL MgCl₂ (25 mM stok), 2,5 µL dNTP (2 mM stok), 1 µL Taq DNA polimeraz (1 Ü/µL stok), 0,75 µL primer (10 µM stok) ve 1 µL DNA örneği eklendikten sonra steril distile su ile son hacim 25 µL'ye tamamlandı. Amplifikasyon, 94°C'de 5 dakikalık ön denatürasyonun ardından 40 döngü; 94°C'de 1 dakika, 56°C'de 1 dakika, 72°C'de 1,5 dakika ve son uzama basamağı için 72°C'de 5 dakika olacak şekilde düzenlendi (5). Her iki döngü için aynı reaksiyon içeriği ve süreleri uygulandı. Hedef DNA'nın amplifikasyonunu konfirme etmek amacıyla tüplerden alınan 0,5 µL reaksiyon karışımı, %1,5 'lük agaroz jelde 100 volt altında 40 dk. elektroforeze tabi tutulduktan sonra 1 µg/mL etidiyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülendi. nPCR sonucunda da 267 bp uzunlukta amplikon saptanması durumunda örnekler pozitif olarak değerlendirildi (5).

İstatistiksel analiz

P. jirovecii kolonizasyonu saptanan hastalarda kullanılan yöntemlere göre farklılıklar χ^2 McNemar testi ile, kolonizasyon ile hastaların demografik verileri arasındaki ilişkiler Mann Whitney U ve Fisher's exact testi ile değerlendirildi. p<0,001 değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 30 hastanın yaş aralığı 19-70 olup yaş ortalaması 56,1 idi. Olguların 10 (%33,3)'u kadın 20 (%66,7)'si erkek hastay-

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri ile *P. jirovecii* kolonizasyon pozitifliği arasındaki ilişki

Hasta özellikleri	<i>P. jirovecii</i> kolonizasyonu saptanan (n=21)	<i>P. jirovecii</i> kolonizasyonu saptanmayan (n=9)	p değeri
Yaş ortalaması (aralığı)	56,5 (41-70)	55,3 (19-70)	0,54 ^a
Cinsiyet (E/K)	14/7	7/2	0,68 ^b
Sigara içme, sayı (%)	10 (47,6)	6 (66,7)	0,44 ^b

^aMann Whitney U, ^bFisher's exact test

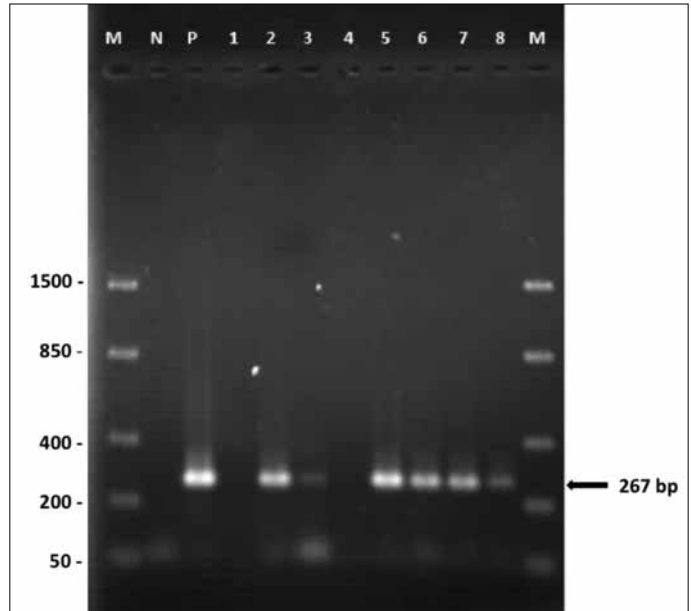
Tablo 2. Farklı gruplarda yer alan hasta sayıları ve her bir gruptaki nPCR sonuçları

Hasta grupları	Hasta sayıları	nPCR pozitifliği
Akciğer kanseri	14	8 (%57,1)
KOAH	4	3 (%75)
İnterstisyel Akciğer hastalığı	4	3 (%75)
Pnömoni	4	3 (%75)
Diğer:	4	3 (%75)
Sarkoidoz	1	1
Tbc	1	1
Vaskülit	2	1
TOPLAM	30	21 (%70)

di. Otuz hastanın 16 (%53,3)'sı en az 10 paket/yıl sigara kullanıyordu. Kolonizasyon pozitifliği ile hastaların yaş grupları, cinsiyet ve sigara içme durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı (Tablo 1). BAL sıvısı alınan hastalar tanı amacıyla bronkoskopi yapılan hastalardan seçildi. Tanısal süreç sonucunda olguların 14'ü akciğer kanseri, 4'ü KOAH, 4'ü interstisyel akciğer hastalığı (İAH), 4'ü pnömoni tanısı aldı. Dört hasta ise diğer akciğer hastalıkları (sarkoidoz, tüberküloz, vaskülit) başlığı altında değerlendirildi. Pnömoni tanısı alan dört hasta BAL sıvılarının direkt bakısında veya kültürlerinde bakteri ve/veya mantar elemanlarının saptanması ve radyolojik olarak interstisyel pnömoni odaklarının (buzlu cam manzarası) saptanmaması nedeniyle PCP olarak değerlendirilmedi. Hastalar işlemin yapıldığı dönemde her hangi bir kemoterapik ajan veya immunsupresif ilaç kullanılmıyordu.

nPCR ile *P. jirovecii* mtLSU-rRNA gen bölgesine ait 267 bp uzunluktaki bölge pozitif kontrol ve 21 (%70) hastada başarıyla çoğaltıldı. Negatif kontrollerde herhangi bir pozitiflik gözlenmedi (Resim 1). Her bir hasta grubu için saptanan kolonizasyon oranları tablo 2' de gösterilmiştir (Tablo 2).

Giemsa ve GMG boyamalar sonucunda bir hasta dışında pozitiflik gözlenmedi (Şekil 2). nPCR ile de pozitif saptanan bu akciğer kanseri hastası klinik ve radyolojik değerlendirme sonucu PCP olarak değerlendirilmedi ve kolonizasyon olduğuna karar verildi. IFA boyama sonucunda ise 6 hasta pozitif olarak değerlendirildi. Bu hastaların dördü nPCR ile de pozitif olarak saptanırken ikisi nPCR ile negatif olarak saptandı. nPCR'da negatif saptanan bu

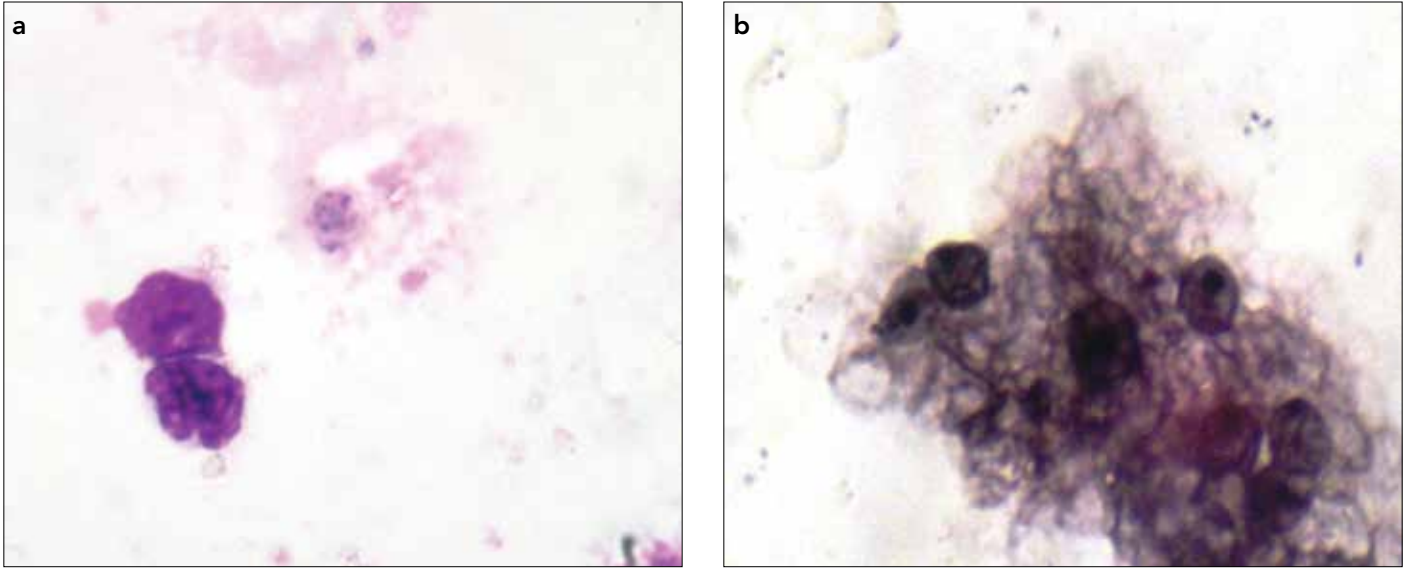
**Resim 1.** nPCR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü. M: (50-200-400-850-1500 bp DNA marker); N: negatif kontrol; P: *P. jirovecii* pozitif kontrol; 1, 4: negatif hastalar; 2, 3, 5-8: pozitif hastalar

iki olgunun IFA boyama kiti ile yalnızca pozitif olarak saptanmış olabileceği düşünüldü. Kolonizasyonu saptamada nPCR yöntemi diğer boyama yöntemlerine göre istatistiksel olarak üstün bulundu ($p < 0,001$)

TARTIŞMA

Kronik akciğer hastalıkları *P. jirovecii* kolonizasyonunun en sık gözlemlendiği hasta grupları arasında yer almaktadır (2, 7). Bir taraftan bu tür hastaların kolonizasyon için zemin oluşturduğu belirtilmekte diğer taraftan da kolonizasyonun uyardığı IL-8, TNF- α ve IFN- β gibi proinflatuar sitokin yanıtların KOAH, astım, bronşiolit gibi birçok akciğer hastalığının gelişimini tetikleyebileceği veya mevcut hastalık progresyonlarını hızlandırabileceği ifade edilmektedir (2, 6, 9).

Yapılan çalışmalar akut ve kronik birçok akciğer hastalığında %2,6-55 arasında *P. jirovecii* kolonizasyonu saptandığını ortaya koymaktadır (2, 7, 9-13). Probst ve ark. KOAH, kistik fibroz ve akciğer kanseri olgularından oluşan toplam 141 hastada %21 oranında kolonizasyon prevalansı saptamışlar en yüksek prevalansı KOAH'lı hastalarda (%41) tespit etmişlerdir (11). Başka bir çalışmada Calderon ve ark. KOAH'lı hastalarda sağlıklı gruba göre anlamlı bir şekilde kolonizasyon fazlalığı saptarken pozitiflik oranının hastalığın şiddetiyle paralel olarak artış gösterdiğini belirtmişlerdir (9). Öte yandan interstisyel akciğer hastalığı olan olgularda %30-34 arasında kolonizasyon saptandığı bildirilmiştir (12). Akciğer kanseri vakalarının değerlendirildiği bir otopsi çalışmasında ise küçük hücreli akciğer kanserinden ölen 20 kişinin akciğer doku örneklerinin tümünde kolonizasyon saptanmıştır (13). Biz de çoğunluğu kronik akciğer hastalarından oluşan çalışmamızda %70 gibi oldukça yüksek bir oranda *P. jirovecii* pozitifliği saptadık. Bu oran akciğer kanserli hastaların oluşturduğu grupta %57,1 iken hasta sayısı daha az olan KOAH, İAH, pnömoni ve diğer akciğer hastalıkları gruplarında %75 olarak



Resim 2. a, b. (a) Giemsa boyasında *P. jirovecii* kisti (x 1000) (b) GMG boyasında *P. jirovecii* kistleri (x 1000)

bulundu. Klinik ve radyolojik olarak PCP tanısı almayan bu olgular *P. jirovecii* kolonizasyonu olarak değerlendirildi.

P. jirovecii insana özelleşmiş bir tür olup, aktif PCP enfeksiyonu geçiren hastalar bulaş için önemli rezervuar konumundadır (14). PCP hastalarıyla temas halindeki hastane çalışanlarında yüksek kolonizasyon oranlarının gösterilmesi enfeksiyon bulaşındaki nazokomiyal özelliği ön plana çıkarmaktadır (15, 16). Bununla birlikte kolonize hastaların da rezervuar rolü oynadığı yönündeki görüşler son zamanlarda artış göstermektedir. Örneğin Rivero ve ark. yaptıkları çalışmada kolonizasyon saptanan kişilerdeki *P. jirovecii* suşlarıyla bu kişilerin yeni doğan bebeklerinde saptanan *P. jirovecii* suşlarının aynı genotipte olduğunu rapor etmişlerdir (17). Çalışmamıza dahil edilen hastalar akciğer semptomları nedeniyle Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde yatan veya izlemleri için hastanede zaman geçiren hastalar idi. Hastalar kolonizasyon için risk grubunda olmalarının yanı sıra diğer risk grubundaki hastalarla hatta olası PCP hastalarıyla yakın ilişki içerisinde olan hastalardı. Bu durumun saptadığımız yüksek *P. jirovecii* pozitifliğinin nedenlerinden biri olduğu düşünülebilir.

Kolonize hastalardaki parazit yoğunluğu çoğu zaman düşük seviyede kalmakta ve bu kişilerin saptanmasında konvansiyonel boyama yöntemleri yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle kolonizasyon prevalans çalışmalarında PCR tabanlı moleküler yöntemlerin tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir. (2, 4). Çalışmalarda invaziv işlem gerektirmeyen oral yıkama sıvısı, nasofaringeal aspirat veya indüklenmiş balgam örnekleri sıkça kullanılmakta ancak BAL sıvısı ve akciğer doku örnekleri en değerli klinik örnekler olarak değerlendirilmektedir (2). Biz de çalışmamızda klinik örnek olarak hastaların BAL sıvısı örneklerini kullandık. Çok kopyalı bir gen olan mt-LSUrRNA genini nPCR yöntemiyle çoğaltarak %70 gibi oldukça yüksek oranda *P. jirovecii* pozitifliği elde edildi. Buna karşın konvansiyonel boyalardan giemsa ve GMG boyalarıyla sadece bir örnekte pozitiflik saptandı. Subjektif değerlendirme gerektiren IFA boyama yönteminin ise kolonizasyonu saptamada nPCR yöntemine göre oldukça yetersiz kaldığı görüldü. Bu sonuçlar *P. jirovecii* kolonizasyonunun belirlenmesinde

nPCR yönteminin kullanılmasının yerinde olacağını düşündürmektedir.

Çalışmada elde ettiğimiz *P. jirovecii* kolonizasyon prevalansı ülkemizdeki daha önce elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur. *P. jirovecii* ile ilgili ülkemizde yapılmış çalışmalar genellikle tanı yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmeye yönelik olup kolonizasyon ile ilgili dolaylı bilgi vermektedir. Özellikle uzun süreli immünyüpresif kullanan, farklı gruplardaki hastaların incelendiği bu çalışmalarda mt-LSUrRNA, internal transcribed spacer (ITS) veya major surface glikoprotein (MSG) geni gibi farklı bölgeler nPCR yöntemleriyle çoğaltılmış ve hastalarda %8-24 arasında *P. jirovecii* pozitiflikleri saptanmıştır (18-22). Sonuçlar arasındaki bu farklılıklar hasta gruplarından çalışılan yöntemlerden veya coğrafik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Örneğin Tosun ve arkadaşları farklı gen bölgelerini çoğaltarak 50 hastanın 11 (%22)'inde *P. jirovecii* pozitifliği rapor etmişler ancak mt-LSUrRNA genini hedefledikleri nPCR ile sadece iki örnekte pozitiflik saptayabilmişlerdir (19). Oysa ki bu gen bölgesi kolonizasyon çalışmalarında en sık önerilen ve bu nedenle çalışmamızda kullandığımız gen bölgesidir.

İmmünyüpresif ilaçların kullanımı PCP enfeksiyonlarında olduğu gibi kolonizasyon için de en önemli risk faktörü olarak belirtilmiştir (2, 3, 23-25). Diğer taraftan cinsiyet ve sigara kullanımının kolonizasyon gelişiminde etkili olup olmadığına ilişkin veriler çelişkilidir. Fritzsche ve arkadaşları sigara içme ile *P. jirovecii* kolonizasyonu arasında herhangi bir ilişki saptamazken Vidal ve arkadaşları kolonizasyon saptanan İAH'lı hastalardaki sigara içme oranını anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (12, 23). Calderon ve arkadaşları da kolonizasyon saptanan KOAH'lı hastalarda benzer sonuçlar rapor etmişlerdir (9). Öte yandan Mekinian ve arkadaşları önceki çalışmaların aksine sigara içmeyen kişilerde kolonizasyon oranını istatistiksel olarak daha yüksek saptamışlardır (3). Araştırmacılar ayrıca bu çalışmalarında erkek hastalardaki kolonizasyon oranının da daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (3). Çalışmamıza dahil edilen hastalar incelendiğinde ise bronkoskobinin yapıldığı tanı aşamasında olguların hiçbirisinin herhangi bir

kemoterapik ajan veya immunsupresif ilaç kullanmadıkları görüldü. Kolonizasyon saptanan ve saptanmayan hastalar yaş, cinsiyet ve sigara içme özelliklerine göre karşılaştırıldığında ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı.

SONUÇ

Çalışmamız belli bir risk grubundaki hastalarda kolonizasyon prevalansını belirlemeye yönelik ülkemizdeki yapılan ilk çalışmadır. Ancak toplulumuzdaki genel durumun yansıtılabilmesi için farklı gruplardan daha fazla sayıda kişinin dahil edileceği çalışmalarla ihtiyaç bulunmaktadır. Riskli hastalardaki *P. jirovecii* kolonizasyonlarının saptanması; hastaların klinik izlemi, profilaksisi ve gelişecek olası PCP enfeksiyonlarının tedavisi için önemli olacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı DEÜTFİ Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı etik kurul onayı alınmıştır (12.09.2008/322).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız

Yazar Katkıları: Fikir - S.Ö., S.B.D.; Tasarım - S.Ö., S.B.D.; Denetleme - Ç.A.; Kaynaklar - S.Ö., S.B.D.; Malzemeler - S.Ö., A.E.E., C.E.; Veri Toplanması ve/veya işlenmesi - S.Ö., S.B.D., A.E.E.; Analiz ve/veya Yorum - S.Ö., S.B.D.; Literatür taraması - S.Ö., C.E.; Yazıyı Yazan - S.Ö.; Eleştirel İnceleme - Ç.A., S.B.D., A.E.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Commite Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of DEÜTFİ Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı (12.09.2008/322).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - S.Ö., S.B.D.; Design - S.Ö., S.B.D.; Supervision - Ç.A.; Funding - S.Ö., S.B.D.; Materials - S.Ö., A.E.E., C.E.; Data Collection and/or Processing - S.Ö., S.B.D., A.E.E.; Analysis and/or Interpretation - S.Ö., S.B.D.; Literature Review - S.Ö., C.E.; Writer - S.Ö.; Critical Review - Ç.A., S.B.D., A.E.E.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

- Krajcicka BJ, Limpera AH, Thomas CF. Advances in the biology, pathogenesis and identification of Pneumocystis pneumonia. Curr Opin Pulm Med 2008; 14: 228-34. [CrossRef]
- Morris A, Wei K, Afshar K, Huang L. Epidemiology and clinical significance of pneumocystis colonization. J Infect Dis 2008; 197: 10-7. [CrossRef]
- Mekinian A, Durand-Joly I, Hatron PY, Moranne O, Denis G, Dei-Cas E, et al. Pneumocystis jirovecii colonization in patients with systemic autoimmune diseases: prevalence, risk factors of colonization and outcome. Rheumatology (Oxford) 2011; 50: 569-77. [CrossRef]
- Tasaka S, Tokuda H. Recent advances in the diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia in HIV-infected adults. Expert Opin Med Diagn 2013; 7: 85-97. [CrossRef]
- Tia T, Putaporntip C, Kosuwir R, Kongpolprom N, Kawkitinarong K, Jongwutiwes S. A highly sensitive novel PCR assay for detection of *P. jirovecii* DNA in bronchoalveolar lavage specimens from immunocompromised patients. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 598-603. [CrossRef]
- Norris KA, Morris A. Pneumocystis infection and the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Immunol Res 2011; 50: 175-80. [CrossRef]
- Gutiérrez S, Respaldiza N, Campano E, Martínez-Risquez MT, Calderón EJ, De La Horra C. Pneumocystis jirovecii colonization in chronic pulmonary disease. Parasite 2011; 18: 121-26. [CrossRef]
- Özkoç S, İnceboz T, Sifil A, Tuncay S, Akisü Ç. Pneumocystis pneumonia in a renal transplant recipient]. Türkiye Parazitoloj Derg 2010; 34: 186-89. [CrossRef]
- Calderón EJ, Rivero L, Respaldiza N, Morilla R, Montes-Cano MA, Friaza V, et al. Systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease who are colonized with Pneumocystis jirovecii. Clin Infect Dis 2007; 45: 17-9. [CrossRef]
- Pederiva MA, Wissmann G, Friaza V, Morilla R, de La Horra C, Montes-Cano MA, et al. High prevalence of Pneumocystis jirovecii colonization in Brazilian cystic fibrosis patients. Med Mycol 2012; 50: 556-60. [CrossRef]
- Probst M, Ries H, Schmidt-Wieland T, Serr A. Detection of Pneumocystis carinii DNA in patients with chronic lung diseases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 644-5. [CrossRef]
- Vidal S, de la Horra C, Martín J, Montes-Cano MA, Rodríguez E, Respaldiza N, et al. Pneumocystis jirovecii colonisation in patients with interstitial lung disease. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 231-5. [CrossRef]
- de la Horra C, Varela JM, Fernández-Alonso J, Medrano FJ, Respaldiza N, Montes-Cano MA, et al. Association between human-Pneumocystis infection and small-cell lung carcinoma. Eur J Clin Invest 2004; 34: 229-35. [CrossRef]
- Calderón EJ. Pneumocystis infection: seeing beyond the tip of the iceberg. Clin Infect Dis 2010; 50: 354-6. [CrossRef]
- Miller RF, Ambrose HE, Wakefield AE. Pneumocystis carinii f. sp. hominis DNA in immunocompetent health care workers in contact with patients with *P. carinii* pneumonia. J Clin Microbiol 2001; 39: 3877-82. [CrossRef]
- Vargas SL, Ponce CA, Gigliotti F, Ulloa AV, Prieto S, Mu-oz MP, et al. Transmission of Pneumocystis carinii DNA from a patient with *P. carinii* pneumonia to immunocompetent contact health care workers. J Clin Microbiol 2000; 38: 1536-8.
- Rivero L, de la Horra C, Montes-Cano MA, Rodríguez-Herrera A, Respaldiza N, Friaza V, et al. Pneumocystis jirovecii transmission from immunocompetent carriers to infant. Emerg Infect Dis 2008; 14: 1116-8. [CrossRef]
- Tekinşen FF, Koç AN. Investigation of Pneumocystis jirovecii in Clinical Specimens by Different Methods. Mikrobiyol Bul 2013; 47: 658-67. [CrossRef]
- Tosun I, Buruk K, Dede R, Kaklıkaya N. Investigation of Pneumocystis jirovecii in Respiratory Samples of Immunocompromised Patients with PCR, IFA and Giemsa Staining Methods. Mikrobiyol Bul 2013; 47: 195-7. [CrossRef]

20. Güneş I, Kalkancı A, Kuştimur S, Ergüven S, Özet G, Ekim N. Comparison of the methenamine silver staining, direct fluorescent antibody and nested-polymerase chain reaction methods in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38: 105-12.
21. Döskaya M, Caner A, Degirmenci A, Wengenack NL, Yolasıgımaz A, Turgay N, et al. Degree and frequency of inhibition in a routine real-time PCR detecting *Pneumocystis jirovecii* for the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in Turkey. *J Med Microbiol* 2011; 60: 937-44. [\[CrossRef\]](#)
22. Özmen A, Mıstık R, Alver O, Coşkun F, Ursavaş A, Uzaslan E. "The *Pneumocystis jirovecii* colonization in bronchoalveolar lavage (BAL) and bronchial washing and the comparison of methods which are used in diagnosis". *Tuberk Toraks* 2013; 61: 303-11. [\[CrossRef\]](#)
23. Fritzsche C, Riebold D, Munk-Hartig A, Klammt S, Neeck G, Reisinger E. High prevalence of *Pneumocystis jirovecii* colonization among patients with autoimmune inflammatory diseases and corticosteroid therapy. *Scand J Rheumatol* 2012; 41: 208-13. [\[CrossRef\]](#)
24. Mori S, Cho I, Sugimoto M. A followup study of asymptomatic carriers of *Pneumocystis jirovecii* during immunosuppressive therapy for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009; 36: 1600-5. [\[CrossRef\]](#)
25. Maskell NA, Waine DJ, Lindley A, Pepperell JC, Wakefield AE, Miller RF, et al. Asymptomatic carriage of *Pneumocystis jirovecii* in subjects undergoing bronchoscopy: a prospective study. *Thorax* 2003; 58: 594-7. [\[CrossRef\]](#)