

KİSTİK FİBROZİSTE AKCİĞER ENFEKSİYONU TANISI İÇİN ÖRNEK ALINMASI

ÖNEMLİ NOKTALAR

- BAL, balgamında mikroorganizma saptanmayan ve ampirik antibiyotik tedavisine rağmen klinik durumu düzelmeyen seçilmiş hastalarda ve balgam çıkaramayan küçük çocuklarda alt solunum yollarından örnek almak için daha uygun bir tekniktir.
- BAL örneklerinde enfeksiyonun mikrobiyolojik tanımı konvansiyonel olarak 105 CFU/ml olarak ifade edilmektedir.
- 8 yaş üzerindeki balgam çıkartabilen KF'li çocuklardan elde edilen nitelikli balgam örnekleri alt solunum yollarındaki etken mikroorganizmaların gösterilmesi için değerlidir.
- İndükte balgam yöntemi her yaş grubundaki KF'li çocuklarda indüklemeye; enfeksiyon ve inflamasyonun doğru bir göstergesi olarak basit, invaziv olmayan ve tekrar edilebilir bir tanısal yöntem olarak kabul edilmektedir.
- KF'li hastalarda orofaringeal yolla alınan kültürlerde üreme olması alt solunum yolunda patojen varlığını kesin olarak göstermez; ancak negatif orofaringeal kültürler alt solunum yolu enfeksiyonunun dışlanmasında yardımcıdır.
- Boğaz kültüründe üreme olmayan semptomatik hastalarda nazofaringeal aspirasyonla kültür alınabilir.
- PA'ya karşı oluşan antikor (ekzotoksin A, fosfolipaz C antikorları, elastaz, alkalın proteaz antikor) titreleri akut enfeksiyon sırasında yükselme eğilimi gösterir.
- Serolojinin aralıklı izlemi hastalığın gidişi hakkında bilgi verir ve PA enfeksiyonunun izlemi için yararlıdır.
- Erken enfeksiyon dönemindeki hastaların çoğunda kültür pozitif olmadan aylar öncesinde artmış antikor yanıtları görülebilir.
- Serolojik test yöntemleri özellikle de kültür pozitif olmayan semptomatik hastalarda veya pozitif orofaringeal kültürü olan semptomatik olmayan hastalarda kültür ile birlikte yararlı olabilir.
- PCR tekniği KF'li hastaların balgam veya orofaringeal örneklerinde PA'nın erken dönemde saptanmasını sağlar ve PA kolonizasyonu için yüksek duyarlılığa sahiptir. Ancak teknik ekipman ve yanlış pozitifliği önlemek açısından kontrollü laboratuvar koşullarına ihtiyaç vardır.
- Kronik kolonizasyon sıklıkla kültür ile kolaylıkla saptanabilirken, serolojik ve moleküler teknikler özellikle erken ve intermittan kolonizasyonu göstermede yararlıdır.

Kistik fibroziste (KF) solunum yolu enfeksiyonlarının yoğun tedavisi yaşam süresinin iyileştirilmesindeki en önemli faktörlerden biri olduğundan, enfeksiyonların tanısını koymada güvenilir metodların kullanılması hastaların klinik izleminde oldukça önemlidir [1]. Enfeksiyonlardan sorumlu olan organizmaların mikrobiyolojik tanısını koymak çok sayıda fayda sağlar. Patojenlerin tanımlanması; uygun antibiyotik tedavisinin verilmesine, bakteriyel eradikasyonun ve klinik yanıtın iyileştirilmesine ve direnç gelişiminin azaltılmasına olanak sağlar [2]. Alt solunum yolu sekresyonlarından alınan kültürler KF'e bağlı akciğer hastalığında antibiyotik tedavisini yönlendirmede ideal örneklerdir [3]. Balgam örnekleri ilerlemiş hastalığı olan büyük hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonunu teşhis etmede kullanılmaktadır. Çok sayıda çalışma balgam bakteriyolojisinin alt solunum yolları patojen spektrumunu yansıttığını göstermektedir [4]. Bununla birlikte hafif hastalar veya balgam çıkaramayan küçük çocuklarda enfeksiyon tanısı farklı tekniklerle elde edilen bakteriyolojik örneklerle dayanılarak konulmaktadır [5]. İndükte balgam, orofaringeal sürüntü, nazofaringeal sekresyon ve bronkoalveoler lavaj örnekleri KF'li çocuklarda balgam dışında alınabilecek bakteriyolojik örnekleri oluşturmaktadır.

Bronkoalveoler lavaj

Bronkoalveoler lavaj (BAL) KF'li küçük çocukların alt solunum yolu enfeksiyonları hakkında veri edinilmesini sağlayan günümüzdeki en güvenilir yöntemdir [6]. Her ne kadar BAL KF'li hastalarda alt solunum yolundan örnek almak için standart teknik olarak gözükse de pahalı, zaman alıcı ve sedasyon gerektiren invaziv bir yöntem olması nedeni ile rutin klinik kullanım için uygun değildir [3]. BAL, balgamında organizma saptanmayan ve ampirik antibiyotik tedavisine rağmen klinik durumu düzelmeyen seçilmiş hastalarda; balgam çıkaramayan küçük çocuklarda alt solunum yollarından örnek almak için daha uygun bir tekniktir [6,7].

Avrupa Solunum Derneğini'nin BAL'ın KF'li küçük çocuklarda mikrobiyolojik tanıdaki standardizasyonu için önerileri şu şekildedir [8]:

1. Tercihan genel anestezi eşliğinde, anestezi izleminin ve müdahalenin eksiksiz yapılabileceği durumlarda gerçekleştirilmelidir.

2. BAL vücut ısısına getirilen 1ml/kg normal serum fizyolojik (SF) ile yapılmalıdır. Bir seferde maksimum 20 ml kullanılmalıdır.
3. BAL rutin olarak iki lobdan gerçekleştirilmelidir. Yukarıda anlatıldığı miktarlarda kullanılan üç ayrı SF örneği sağ orta loba, ayrıca tek bir SF örneği lingula veya en fazla etkilenen loba verilmelidir.
4. Sağ orta lobdan ve diğer yerden alınan ilk örnekler mikrobiyolojiye gönderilmelidir. Bu örnekler mikrobiyoloji laboratuvarında ayrı ayrı işleme alınmalıdır.
5. İkinci ve üçüncü örnekler mümkünse buzla hızlıca inflamatuvar çalışmalar için laboratuvara gönderilmelidir.
6. Genel olarak hücre sayımları yapılır ve çeşitli inflamatuvar mediatörlere bakılır.
7. Hücre sayımları minimum 300 hücre sayılarak yapılır (Epitel hücreleri not edilmeli ancak hücre sayımına dahil edilmemelidir).
8. İşlem sırasında öksürmenin önlenmesi için mümkün olan en düşük konsantrasyonda lokal anestetik madde kullanılmalıdır. %1'lik lidokain KF'li hastalarda lokal anestetik olarak kullanılabilir.

Enfeksiyonun mikrobiyolojik tanımı konvansiyonel olarak 10^5 koloni oluşturuca ünite (CFU)/ml olarak ifade edilmektedir. Bronkoalveoler lavaj sıvı kültürü için aşağıdaki tanımlamalar sıklıkla kullanılmaktadır [9]:

- Enfeksiyon: $\geq 10^5$ CFU/ml
- İzole koloniler: Baskın bir organizmanın 10^2 - 10^4 CFU/ml üremesi
- Üreme yok: $< 10^2$ CFU/ml
- Karışık oral flora: Baskın organizma olmaksızın çok sayıda koloni

Avrupa Solunum Derneği sponsorluğunda düzenlenen çalıştay uzlaşma raporu KF'teki inflamasyonun izlemi hakkında aşağıdakilerin rapor edilmesini önermiştir [8]:

- Verilen sıvı hacminin % kaçının geri alındığının belirtilmesi
- Toplam hücre sayısının BAL hücre sayısı/ml olarak verilmesi
- Hücre sayımlarının (nötrofil, lenfosit vs) BAL'ın mililitresindeki hücre sayısı olarak rapor edilmesi
- Sitokinler, inflamatuvar belirteçler, nötrofil elastaz ve miyeloperoksidaz gibi hücre dışı içeriklerin BAL'ın mililitresindeki konsantrasyonlarının verilmesi

Bronkoscopi ve BAL'ın hipoksi, hiperkapni, ateş, öksürük, enfeksiyon gibi bilinen yan etkileri KF'li çocuklarda da görülebilir [8,10]. Trombosit sayısı $>50.000/mm^3$ ise kanama riski azdır [11]. KF'li hastalarda BAL'ın değerlendirildiği bir çalışmada 174 işlemde 180 minör yan etki kaydedilmiştir. Bronkoalveoler lavaj sıvısının düşük oranda geri alınması ve fokal bronşit klinik olarak anlamlı bozulma ile ilişkili bulunmuştur. Bronkoalveoler lavajda *S. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* üremesi, solunum bulguları ve fokal bronşit bronkoscopi sonrası görülen $38.5^\circ C$ ve üzeri ateş için bağımsız risk faktörleri olarak saptanmıştır [12].

Balgam

KF'li hastalarda akut pulmoner alevlenme dönemleri dışında da, belli aralıklarla solunum yolu kültürlerinin alınması önerilmektedir [13]. Günümüzde çoğu merkez her klinik muayenede rutin olarak kültür alınmasını önermektedir (KF'li hastalar çoğu merkezde yılda en az dört kez görülmekte, dolayısı ile yılda dört kez solunum yolu kültürü alınmaktadır) [7]. Bu yaklaşımla geçici bakteriyel kolonizasyon kaçırılabilirliğinden, bazı merkezler ise hastalarını aylık aralıklarla kültür alarak izlemektedir [14]. Balgam çıkarabilen 8 yaş ve üzerindeki KF'li hastalarda balgam kültürlerinin alt solunum yolu mikroorganizmalarını doğru olarak yansıttığı kabul edilebilmektedir [15,16]. Balgam örneği nitelikli (mikroskopik incelemede $100\times$ büyütmede her sahada 25'den fazla lökosit ve 10'dan az epitel hücresi bulunması) olmalı ve iki saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır [17].

Radhakrishnan ve arkadaşları 6-18 yaşları arasındaki 183 KF'li hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında hastaların %45'inin balgam çıkaramadığını saptamışlardır. Küçük yaşta hastalar, pankreas yetmezliği olmayan ve solunum fonksiyon testleri daha iyi olan hastalar daha az oranda balgam çıkarmaktadırlar. Bu sonuçlar daha hafif hastalığı olan çocukların daha az oranda balgam çıkardığını göstermektedir [18].

İndükte balgam

Balgam indüksiyonu hipertonic salin solüsyonu ile yapılmaktadır. İnhal hipertonic salin verilmesi havayolu na suyun çekilmesini ve sekresyonları sulandırarak daha kolay çıkarılmasını sağlar. İnhal hipertonic salin KF'li hastalarda havayolu sekresyonlarındaki iyonik bağları değiştirerek, prostoglandin E salinimini artırarak ve bilinmeyen bazı mekanizmalar ile siliyer atımları stimule eder ve mukosilyer klirensi artırır [19,20].

Balgam çıkarabilen çocuklarda, erişkinlerde ve balgam çıkartamayan küçük çocuklarda hipertonic salin inhalasyonu ile balgam indüklemeye; enfeksiyon ve inflamasyonun doğru bir göstergesi olarak basit, invaziv olmayan ve tekrar edilebilir bir tanısal yöntem olarak kabul edilir [21-23]. İndükte balgam KF'li hastalarda alt solunum yolu etkenlerinin saptanma oranlarını da arttırmaktadır [3].

Hipertonic salinin havayollarındaki mast hücrelerini uyarak ve duyu sinir aktivasyonuna sebep olarak bronko-konstriksiyon yaptığı düşünülmektedir [24]. Önerilen salin solüsyonu konsantrasyonu %0.9-7 arasında değişmektedir. Bazı çalışmalarda artan konsantrasyonlarda (%3, %4, %5) salin uygulaması önerilmektedir. Bronkospazm riski yüksek olan hastalarda izotonik salin solüsyonunun kullanılmasının daha güvenli olabileceği de bildirilmiştir [25]. Bu nedenle, işlem esnasında gelişebilecek aşırı bir bronko-konstrüksiyonun önlenmesi için her hastaya standart olarak işlem öncesinde kısa etkili beta 2 agonistler uygulanır [26]. Bronkodilatör olarak sıklıkla inhaled salbutamol 200-400 μg dozda, nebulize salbutamol 2.5-5 mg dozda veya eşdeğerinin kullanılması önerilmektedir

Balgam indüksiyonunun güvenli yapılabilmesi ve işlem esnasında gelişebilecek bronkokonstriksiyonun erken dönemde anlaşılabilmesi için solunum fonksiyonlarının monitorizasyonu gereklidir [31]. Bunun için henüz standart bir protokol bulunmamaktadır. Bazı çalışmalar işlem süresince 5-10 dakikada bir ve semptom olduğunda solunum fonksiyonlarının spirometre ile ölçülmesini önermektedir. Hastalara işlem öncesinde bazal solunum testi uygulanmalı, işlem esnasında FEV₁'de %20'den fazla düşme olması durumunda 200-400 µg salbutamol inhalasyonu veya 2.5-5 mg nebulize salbutamol uygulanmalıdır. Hastalar bronkodilatatör uygulaması sonrasında değerleri bazal düzeylere dönene kadar gözlem altında tutulmalıdır.

Balgam alındıktan hemen sonra incelenmelidir. Bu mümkün değilse buzdolabında en fazla 2 saat saklanabilir.

Balgam indüksiyonunda işlem basamakları aşağıdaki gibi olmalıdır:

- Hastaya işlem hakkında ayrıntılı bilgi verilir, yazılı aydınlatılmış onam alınır.
- Bazal FEV₁ ölçümü yapılır ve sonrasında 200-400 µg salbutamol inhale ettirilir.
- 3-20 dakika sonra solunum fonksiyon testi tekrarlanır; FEV₁ beklenenin > %60 veya >1L ise işleme devam edilir.
- Sabit bir salin konsantrasyonu veya giderek artırılan konsantrasyonlarda salin inhale ettirilir.
- Yeniden FEV₁ ölçümü yapılır.
- FEV₁'de >%20 düşüş olması veya belirgin solunum sıkıntısı bulguları gelişmesi durumunda işleme son verilir. Eğer yoksa, indüksiyon 20 dakika süre ile her 5 dakikada bir tekrarlanabilir.
- Ağız ve boğaz çalkalanır, burun temizlenir.
- 5., 10., 15., ve 20. dakikalarda öksürtülerek balgam çıkarılması sağlanır.
- Yeterli balgam elde edilene kadar veya indüksiyon süresi 20-30 dakika olana kadar işlem tekrarlanır.

Orofaringeal sürüntü

Balgam çıkaramayan küçük hastalarda solunum sekresyonlarından kültür göndermede başlıca invaziv olmayan yöntem orofarinks sürüntü kültürüdür [27]. Uyumlu çocuklarda ağız açılır ya da dil basacağı yardımı ile ağız açılır. Dil basacağı ile dilin arka yarısına basarak dilin posterior farinksten uzaklaşması sağlanır. Pamuk uçlu ekivyon posterior farinkse yerleştirilir ve tonsil plikaları ve posterior faringeal duvardan eş zamanlı sürüntü örneği alınır [5].

Alt solunum yolu patojenlerini saptamada orofaringeal kültürlerin doğruluğu tartışmalıdır. Ramsey ve arkadaşları orofaringeal kültürlerin enfeksiyonu göstermede oldukça belirleyici olduğunu, ancak kültürde üreme olmasının alt solunum yolunda patojen varlığını dışlatmadığını öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada orofaringeal kültürlerin pozitif prediktif değeri %83, negatif prediktif değeri %70 bulunmuştur [27]. Armstrong ve arkadaşları ise yaşları 1-52 ay arasında olan 150 KF'li çocukta BAL ile eş zamanlı aldıkları orofaringeal sürüntü kültürlerinin, alt solunum yolundaki bakteriyel patojenlerin varlığını güven-

nilir şekilde göstermediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada *P. aeruginosa* için orofaringeal kültürlerin pozitif prediktif değeri %57, negatif prediktif değeri %96 bulunmuştur. Araştırmacılar bu çalışmaya göre pozitif orofaringeal kültürlerin alt solunum yolunda patojen varlığını kesin olarak göstermediğini, ancak negatif orofaringeal kültürlerin alt solunum yolu enfeksiyonunu daha iyi bir şekilde dışlama-ya yardımcı olduğunu belirtmişlerdir [28]. Rosenfeld ve arkadaşları 5 yaş altı 141 KF'li hastada orofaringeal ve eş zamanlı BAL kültürlerini almışlar ve *P. aeruginosa* için orofaringeal kültürlerin özgünlüğü ve negatif prediktif değerinin yüksek ancak duyarlılığı ve pozitif prediktif değerinin düşük olduğunu saptamışlardır. Dolayısı ile bu yaş grubunda negatif bir boğaz kültürünün alt solunum yolu enfeksiyonunu ekarte etmede yardımcı olduğunu, ancak pozitif kültürün *P. aeruginosa* varlığını kesin olarak göstermediğini belirtmişlerdir [29].

Posterior farinkse pamuk uçlu ekivyonun yerleştirilerek posterior faringeal duvara değdirilmeden öksürtülerek alınan kültürlerde üreme olmasının alt solunum yolu enfeksiyonunun güçlü bir belirleyicisi olduğu, kültürde üreme olmamasının enfeksiyonu dışlatmadığı saptanmıştır [30]. Bir çalışmada, balgam çıkaramayan KF'li çocuklarda hipertonic salin inhalasyonu sonrası bu yöntemle alınan balgam örneğinin ek mikrobiyolojik bilgi sağladığı gösterilmiştir [26].

Nazofaringeal aspirat

Bu yöntemde enjektöre takılan nazogastrik sonda burun deliğinden geçirilerek inferior turbinat yolu ile nazofarinkse indirilir. Öksürme refleksi uyarılan çocuktan enjektör yardımı ile örnek alınarak mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilir.

Taylor ve arkadaşları 6 ay-10 yaş arasındaki 47 KF'li çocuktan hem boğaz kültürü hem de nazofaringeal aspirat kültürü olarak karşılaştırmışlardır. Nazofaringeal kültürün boğaz kültürüne üstünlüğünün olmadığını ve nazofaringeal aspirasyonun rutin olarak yapılmasının gerekmediğini belirtmişlerdir. Boğaz kültürü daha az invaziv, hızlı ve hasta için daha kabul edilebilir bir yöntemdir [5].

Pseudomonas antikorları

Pseudomonas aeruginosa (PA) ile kronik enfekte olan KF'li hastaların büyük bir kısmı balgam çıkarabilir ve rutin mikrobiyolojik metodlarla bu örneklerden etken mikroorganizma elde edilebilir. Ancak aktif balgam çıkaramayan küçük yaşta KF'li hastalarda (1-5 yaş) boğaz sürüntüsü örneklerinde PA tanısı yanlış negatiflikle sonuçlanabilir. Bazen KF'li hastalardan BAL örneklerinin akciğerlerin sadece bir lobu veya segmentinden alınması da yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Bu nedenlerle, balgam alınamayan KF'li hastalarda PA serum antikorları ilgi odağı olmuştur. PA'ya karşı oluşan antikorlar kültür pozitifleşmeden aylar öncesinden ortaya çıkabilir, PA ile kolonize olan hastalarda antimikrobial tedavi ile titrelerin değişmesi nedeniyle yararlı bir enfeksiyon takip parametresi olabileceği belirtilmiştir [31,32].

PA'ya karşı oluşan antikorlar akut pulmoner alevlenme sırasında farklı yükselme eğilimleri gösterir. Enfeksiyon sırasında ilk yükselenler ekzotoksin A ve fosfolipaz C antikorları iken; elastaz ve alkalın proteaz antikor titrelerinin yükselmesi için daha uzun zaman gerekmektedir [33]. Antikor oluşumunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Mukoid PA türleri, mukoid olmayan PA türlerine göre daha belirgin antikor yanıtı sağlar [34]. *S. aureus* ile birlikte ikili kolonizasyon olması durumunda ekzotoksin A ve elastaz antikor titrelerinin daha düşük; fosfolipaz C antikor titrelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir [34].

Kappler ve arkadaşları 183 KF hastasında üç pseudomonas antijenine (alkalin proteaz, elastaz, ekzotoksin A) karşı geliştirilen serum antikorlarını değerlendirmişlerdir. Üç antikorun bir arada bakılması ile duyarlılık %86, özgüllük %96 ve pozitif belirleyicilik %97 oranlarla iyi sonuçlar vermiştir. Tanısal pozitif belirleyicilik, aralıklı enfekte hastalarda yüksek (%83), enfeksiyonsuz hastalarda düşük (%33); tanısal negatif belirleyicilik enfeksiyonsuz hastalarda yüksek (%78), aralıklı enfekte hastalarda düşük (%58) bulunmuştur. Sonuçta PA ile aralıklı enfekte olan ya da hiç enfekte olmayan hastalarda düzenli olarak serum antikorlarına bakılmasının faydalı olabileceği belirtilmiştir [35]. PA mikrobiyolojik olarak gösterilmeden de antikor titrelerinde artış görüldüğünde, olası bir enfeksiyon düşünülerek eradikasyon tedavisinin başlatılabileceği bildirilmiştir. Antikor titrelerinde aktif enfeksiyon periyotları esnasında artma, antimikrobiyal tedavi ile düşme olduğu gösterilmiştir [36].

PA ile akciğer enfeksiyonu olan hastaların çoğunda erken antikor yanıtı görülmektedir. Burns ve arkadaşlarının çalışmasında; çalışma grubundaki hastalarda ekzotoksin A'ya karşı tüm hücre proteini immunoblot yöntemi ile ilk antikor yanıtının saptanma zamanının, kültür ile PA'nın saptanma zamanından çok daha erken olduğunu göstermişlerdir. Hastalarda her iki serolojik yöntem kullanıldığında %97.5'inde PA enfeksiyonu saptanmış. Sadece kültür ile ilk 3 yaşına kadar olan hastaların %72.5'inde PA enfeksiyonu gösterilebilmiştir [37]. Küçük çocuklarda solunum yollarından alınan kültürlerde PA saptanmadan 6-12 ay önce anti-PA antikorlarında artış olduğu belirtilmiştir.

Ratjen ve arkadaşlarının solunum yolu mikrobiyolojisi bilinen 375 KF'li hastadan alınan 1791 serum örneğinde alkalın proteaz, elastaz ve ekzotoksin A'ya karşı gelişen PA antikorlarının titrelerinin değerlendirildiği çalışmada; %97.5 özgüllükte alkalın proteaza karşı gelişen antikorların duyarlılığı en yüksek bulunmuştur (%85.4); bunu elastazın (%76.2) ve ekzotoksin A'nın duyarlılığı (%72) izlemiştir. Bu antikor titreleri PA ile kronik enfekte kişilerde kültür negatif olanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Her üç antikorun bir aradaki pozitifliğinin duyarlılığı, tek tek bakılanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu üç antijenden en az birine karşı pozitif serum antikor titresini yeni ortaya çıkan PA enfeksiyonlu kişilerin %43'ünde saptanmıştır [38]. PA enfeksiyonu düzelen

hastalarda alkalın proteaz ve ekzotoksin A titrelerinde anlamlı azalma olduğu; antibiyotik tedavisinin PA'yı eradike edemediği durumlarda ise titrelerin yükseldiği gösterilmiştir. Bu konudaki çalışmalar KF'li hastaların solunum kültürlerinde PA varlığının gösterilmesinde alkalın proteaz, elastaz ve ekzotoksin A'ya karşı geliştirilen antikor testlerinin yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermişlerdir [38]. Her ne kadar serum antikor titreleri solunum yollarında ilk PA saptanması sırasında düşük olsa da, bu antikorlar tedaviye yanıtı izlemede faydalı olabilirler. Bununla birlikte tedavi kararları sadece bu antikor düzeyleri temel alınarak verilmemelidir.

Moleküler Teknikler

Balgamda PA'nın saptanması için kullanılan Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminin duyarlılığı yüksektir. Balgamda PA'nın varlığını göstermede PCR yönteminin duyarlılığı %93-100 olarak bulunmuştur [39-41]. Kültürü negatif ve PCR sonucu pozitif olan 10 KF hastasının 5 tanesinde ortalama 4.5 ay sonra kültür pozitifleşmiştir. Başka bir çalışmada da PCR'ı pozitif kültürü negatif olan olgular bildirilmiştir [41]. PA'nın moleküler tekniklerle saptanması halen yaygın olarak kullanılmamaktadır.

Seksen yedi KF'li hastada PA saptanmasına yönelik balgam veya orofaringeal sürüntü örneklerinden mikrobiyolojik kültürleri, PA'nın algD GDP mannoz dehidrogenaz genine yönelik PCR ve üç PA antijenine (elastaz, alkalın proteaz, ekzotoksin A) yönelik serum antikorlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada; PA kültür, PCR ve seroloji pozitiflik oranları sırasıyla %48.2, %60.9 ve %43.6 bulunmuştur ve üç metod arasında enfeksiyonu saptamada anlamlı farklılık bulunmamıştır [42]. Bakılan antikorlar arasında elastaza karşı olan antikor pozitifliği %37.9 ile en yüksektir. PCR- seroloji birlikteliği, tek başına bakılan her bir metoddan, PCR-kültür ve kültür-seroloji birlikteliğinden daha üstün bulunmuştur. Sonuçta, PCR'in kültür ve serolojiye göre daha fazla sayıda hastayı saptamaya yardımcı olduğu ve PCR'in PA gösterilmesinde kullanılabilecek başlıca ek metodlardan biri olabileceği belirtilmiştir [42]. PCR'in diğer bir faydası da çapraz enfeksiyonları göstermesidir. PA'nın tesbitinde Floresan in situ hibridizasyon diğer bir tekniktir fakat tekniğin duyarlılığı balgamdaki bakteri yoğunluğu ile ilişkili olduğundan yöntemin diğer yöntemlere üstünlüğü yoktur.

KAYNAKLAR

1. Ratjen F. Changes in strategies for optimal antibacterial therapy in cystic fibrosis. Int J Antimicrob Agents 2001;17: 93-6.
2. Garau J. Why do we need to eradicate pathogens in respiratory tract infections? Int J Infect Dis 2003;7: S5-12.
3. De Boeck K, Alifler M, Vandeputte S. Sputum induction in young cystic fibrosis patients. Eur Respir J 2000;16:91-4.
4. Jung A, Kleinau I, Schönian G, et al. Sequential genotyping of Pseudomonas aeruginosa from upper and lower airways of cystic fibrosis patients. Eur Respir J 2002;20:1457-63.
5. Taylor L, Corey M, Matlow A, et al.. Comparison of throat swabs and nasopharyngeal suction specimens in non-

- sputum-producing patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41: 839-43.
6. Baughman RP, Keeton DA, Perez C, Wilmott RW. Use of bronchoalveolar lavage semiquantitative cultures in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 286-91.
 7. Ratjen F. Diagnosing and managing infection in CF. *Paediatr Respir Rev* 2006; 7 Suppl 1: S151-3.
 8. de Blic J, Midulla F, Barbato A, et al. Bronchoalveolar lavage in children. ERS Task Force on bronchoalveolar lavage in children. European Respiratory Society. *Eur Respir J* 2000; 15: 217-31.
 9. Brennan S, Gangell C, Wainwright C, Sly PD. Disease surveillance using bronchoalveolar lavage. *Paediatr Respir Rev* 2008; 9: 151-9.
 10. de Blic J, Marchac V, Scheinmann P. Complications of flexible bronchoscopy in children: prospective study of 1,328 procedures. *Eur Respir J* 2002; 20: 1271-6.
 11. Connett GJ. Bronchoalveolar lavage. *Paediatr Respir Rev* 2000; 1: 52-6.
 12. Wainwright CE, Grimwood K, Carlin JB, et al. Safety of bronchoalveolar lavage in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2008; 43: 965-72.
 13. Cystic Fibrosis Foundation Committee for Clinical Practice Guidelines. Clinical practice guidelines for cystic fibrosis. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation; 1997. p11.
 14. Frederiksen B, Lannig S, Koch C, Høiby N. Improved survival in the Danish center-treated cystic fibrosis patients: results of aggressive treatment. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21: 153-8.
 15. Iacocca VF, Sibinga M, Barbero GJ. Respiratory tract bacteriology in cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1963; 106: 315-24.
 16. Medline Plus [Internet] Bethesda (MD). National Library of Medicine (US); [updated 2005 August 12]. Gastric culture [updated 16/6/05; reviewed 6/3/07; cited 2007 March 26]. www.nlm.nih.gov/medlineplus
 17. May ML, Robson J. Microbiological diagnostic procedures in respiratory infections: suppurative lung disease. *Paediatr Respir Rev* 2007; 8: 185-93.
 18. Radhakrishnan DK, Corey M, Dell SD. Realities of expectorated sputum collection in the pediatric cystic fibrosis clinic. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007; 161: 603-6.
 19. Riedler J, Reade T, Button B, Robertson CF. Inhaled hypertonic saline increases sputum expectoration in cystic fibrosis. *J Paediatr Child Health* 1996; 32: 48-50.
 20. Robinson M, Hemming AL, Regnis JA, et al Effect of increasing doses of hypertonic saline on mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997; 52: 900-3.
 21. Sagel SD, Sontag MK, Wagener JS, et al. Induced sputum inflammatory measures correlate with lung function in children with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2002; 141: 811-7.
 22. Gershman NH, Liu H, Wong HH, Liu JT, Fahy JV. Fractional analysis of sequential induced sputum samples during sputum induction: evidence that different lung compartments are sampled at different time points. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 322-8.
 23. Mussaffi H, Fireman EM, Mei-Zahav M, et al Induced sputum in the very young: a new key to infection and inflammation. *Chest* 2008; 133: 176-82.
 24. Makker HK, Holgate ST. The contribution of neurogenic reflexes to hypertonic saline-induced bronchoconstriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 82-8.
 25. Pizzichini E, Pizzichini MM, Leigh R, Djukanović R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20: 9-18.
 26. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O et al. Sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20: 3-8.
 27. Ramsey BW, Wentz KR, Smith AL, et al. Predictive value of oropharyngeal cultures for identifying lower airway bacteria in cystic fibrosis patients. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 331-7.
 28. Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, et al. Bronchoalveolar lavage or oropharyngeal cultures to identify lower respiratory pathogens in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21: 267-75.
 29. Rosenfeld M, Emerson J, Accurso F, et al. Diagnostic accuracy of oropharyngeal cultures in infants and young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 321-8.
 30. Equi AC, Pike SE, Davies J, Bush A. Use of cough swabs in a cystic fibrosis clinic. *Arch Dis Child* 2001; 85: 438-9.
 31. Trammer-Stranders GA, van der Ent CK, Wolfs TF. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *J Cystic Fibrosis* 2005; 4: 37-43.
 32. Ratjen F, Walter H, Haug M, Meisner C, Grasemann H, Döring G. Diagnostic value of serum antibodies in early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42: 249-55.
 33. West SE, Zeng L, Lee BL, et al. Respiratory infections with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis: early detection by serology and assessment of risk factors. *JAMA* 2002; 287: 2958-67.
 34. Li Z, Kosorok MR, Farrel PM, et al. Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. *JAMA* 2005; 293: 581-8.
 35. Kappler M, Kraxner A, Reinhardt D, et al. Diagnostic and prognostic value of serum antibodies against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61: 684-8.
 36. Johansen HK, Nørregaard L, Gøtzsche PC, Pressler T, Koch C, Høiby N. Antibody response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients: a marker of therapeutic success? A 30-year cohort study of survival in Danish CF patients after onset of chronic *P. aeruginosa* lung infection. *Pediatr Pulmonol* 2004; 37: 427-32.
 37. Burns JL, Gibson RL, McNamara S, et al Longitudinal assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 2001; 183: 444-52.
 38. Ratjen F, Walter H, Haug M, Meisner C, Grasemann H, Döring G. Diagnostic value of serum antibodies in early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42: 249-55.
 39. Karpati F, Jonasson J. Polymerase chain reaction for detection of *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* in sputum of patients with cystic fibrosis. *Mol Cell Probes* 1996; 10: 397-403.
 40. Xu J, Moore JE, Murphy PG, et al. Early detection of *Pseudomonas aeruginosa* comparison of conventional versus molecular (PCR) detection directly from adult patients with cystic fibrosis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3: 21.
 41. Spilker T, Coenye T, Vandamme P, LiPuma JJ. PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2074-9.
 42. da Silva Filho LV, Tateno AF, Martins KM, et al. The combination of PCR and serology increases the diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* colonization/infection in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42: 938-44.