

Hastanede Yatan Çocuklarda Toplumda Edinilmiş Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarında *Mycoplasma pneumoniae* ve *Legionella pneumophila*: Gerçek Zamanlı PZR ile Tanı

MYCOPLASMA PNEUMONIAE AND LEGIONELLA PNEUMOPHILA IN COMMUNITY-ACQUIRED LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS AMONG HOSPITALIZED CHILDREN: DIAGNOSIS BY REAL TIME PCR

Helen C. MALTEZOU,^{a,b} Bernard LA-SCOLA,^b Helen ASTRA,^a Ioanna CONSTANTOPOULOU,^a Vasiliki VLAHOU,^a Dimitris A. KAFETZIS,^a Andreas G. CONSTANTOPOULOS^a and Didier RAOULT^b

From the ^aUniversity of Athens Second Department of Paediatrics, P. & A. Kyriakou Children's Hospital, Athens, 11527 Greece, and ^bUnité des Rickettsies, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, CNRS UMR 6020, IFR 48, 27 Boulevard Jean Moulin, 13385, Marseille, Cedex 05, FRANCE

© Maltezou HC, La-Scola B, Astra H, Constantopoulou I, Vlahou V, Kafetzis DA, Constantopoulos AG, Raoult D. *Mycoplasma pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in Community-Acquired Lower Respiratory Tract Infections Among Hospitalized Children: Diagnosis by Real Time PCR. *Scand J Infect Dis* 2004; 36:639-42.

Özet

Mycoplasma pneumoniae ve *Legionella pneumophila*, giderek artan oranda, toplumda edinilmiş alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE)'nin etkeni olarak tanımlanmaktadır. *M. pneumoniae* ayrıca, hastane enfeksiyonlarında da etkindir. Bu çalışmanın amacı, toplumda edinilmiş ASYE nedeniyle hastanede yatan çocuklarda, bu enfeksiyonların hızlı tanısında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'nin yerini araştırmaktır. Bu çalışmada, 2001 yılı içinde, 65 çocuk ileriye dönük olarak incelenmiştir. Mikrobiyolojik incelemelerde, indüklenmiş balgam veya boğaz sürüntüsü örneklerinde *M. pneumoniae* ve *L. pneumophila* için LightCycler ile kapiller PZR yöntemi ve eşleştirilmiş serum örneklerinde *M. pneumoniae* için IgM enzimli immün deney, *L. pneumophila* içinse immünofloresans testleri uygulanmıştır. Serolojik incelemeler, 18 hastada (%27.5) akut *M. pneumoniae* enfeksiyonu, 1 olguda da (%1.5) *L. pneumophila* enfeksiyonu olduğunu ortaya koymuştur. *M. pneumoniae* ayrıca, serolojik tanı almış olguların 9 (%50)'unda, kapiller PZR ile balgam örneklerinde de gösterilmiştir; bu olgulara, akut evrede tanı koydurucu düzeyde olmayan IgM'lere sahip 4 (%22) hasta da dahildir. Kapiller PZR ve IgM enzimli immün deney, birlikte, akut evredeki 15 (%83) *M. pneumoniae* olgusunun tanımlanmasını sağlamıştır. Sonuç olarak, *M. pneumoniae*'nin, Yunanistan'daki çocuklarda, hastanede yatmayı gerektirecek kadar önemli bir ASYE etkeni olduğu söylenebilir. Balgam örneğinde kapiller PZR, akut dönemde, *M. pneumoniae*'ye bağlı ASYE tanısının koyulmasını ve tedavinin ve hastaların izolasyonunun yönlendirilmesini sağlayabilir.

Abstract

Mycoplasma pneumoniae and *Legionella pneumophila* are increasingly recognized as important agents of community-acquired lower respiratory tract infections (LRTI). *M. pneumoniae* has been also recognized as a cause of nosocomial infections. The aim of this study was to investigate the role of real time polymerase chain reaction (PCR) for the rapid diagnosis of these infections among hospitalized children with community-acquired LRTI. During 2001, 65 children were prospectively studied. Microbiological investigation consisted of capillary PCR with a LightCycler for *M. pneumoniae* and *L. Pneumophila* in induced sputum or throat swab specimens, IgM enzyme immunoassay for *M. pneumoniae* and immunofluorescence for *L. pneumophila* in paired sera. Serology testing showed acute *M. pneumoniae* infection in 18 (27.5%) patients and *L. pneumophila* in 1 (1.5%). *M. pneumoniae* was also detected in sputum specimen by capillary PCR in 9 (50%) serologically diagnosed cases, including 4 (22%) with non-diagnostic IgM levels in the acute phase. Capillary PCR and IgM enzyme-immunoassay diagnosed together 15 (83%) *M. pneumoniae* cases in the acute phase. It is concluded that *M. pneumoniae* is an important cause of LRTI necessitating hospitalization among children in Greece. Capillary PCR in sputum may diagnose *M. pneumoniae* LRTI in the acute setting and direct therapy and isolation of patients.

Türkiye Klinikleri J Microbiol-Infec 2004, 3:91-96

Yazışma Adresi/Correspondence: H. C. MALTEZOU
University of Athens Second Department of Paediatrics,
P. & A. Kyriakou Children's Hospital, Athens, 11527
GREECE
helen-maltezou@ath.forthnet.gr

Son 10 yıl içinde, atipik bakterilere ilişkin bilgilerimizde önemli bir artış olmuştur.¹⁻³ *Mycoplasma pneumoniae*'nin, okul çağındaki ço-

cuklarda, toplumda edinilmiş alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE)'nda, önemli bir etken olduğu bilinmektedir.⁴⁻⁹ Son yıllarda yapılmış olan çalışmalar, bu patojen ile gelişen enfeksiyonlara, daha küçük çocuklarda da sık rastlandığını ve bu enfeksiyonların, duyarlı hastalarda, astım alevlenmesini ve persistan öksürüğü tetikleyebildiğini ortaya koymaktadır.^{1,2} Hastane ortamında, *M. pneumoniae* enfeksiyonu olan hastaların hızla tanımlanması, bakterinin hastanede yayılımını önleyebilmek amacıyla hastaların hemen izole edilebilmesi açısından önemlidir.^{10,11} *Legionella pneumophila*, erişkinlerde, toplumda edinilmiş ASYE'lerin etkeni olarak giderek önem kazanmaktaysa da^{12,13} bu hastalığın çocuklardaki görünümüne ilişkin bilgiler henüz yeterli değildir.^{14,15} Sunulan bu çalışma, toplumda edinilmiş ASYE nedeniyle hastanede yatan çocuklarda *M. pneumoniae* ve *L. pneumophila*'nın hızlı tanısı için, yeni geliştirilmiş, LightCycler kullanılarak yürütülen kapiller polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testinin rolünü belirlemek amacıyla, ileriye dönük olarak gerçekleştirilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Hastalar

P. & A. Kyriakou Çocuk Hastanesi, Atina, Yunanistan'da bulunan üçüncü basamak bir çocuk hastanesidir. Çalışma grubu, Ocak-Aralık 2001 tarihleri arasında, ASYE nedeniyle Atina Üniversitesi İkinci Pediatri Bölümü'ne birbiri ardı sıra başvuran 6 ay-14 yaş arasındaki çocuklardan oluşmaktadır. ASYE, pnömoni (ateş >38.0°C ve/veya akut solunum yolu belirti ve bulguları ve akciğer grafisinde infiltrasyonlar), enfeksiyona bağlı olduğu düşünülen astım alevlenmesi (dinleme ile ekspiratuvar solunum yolu obstrüksiyonu ve solunum yolu enfeksiyonuna ilişkin belirti ve bulgular) veya persistan öksürük (>3 haftadan beri süren öksürük) şeklinde tanımlanmıştır.

Çalışma protokolü, P. & A. Kyriakou Çocuk Hastanesi'nin etik komitesi tarafından onaylanmış ve Helsinki Deklarasyonu uyarınca yürütülmüştür. Tüm hastaların ebeveynlerinden veya vasilerinden bilgilendirilmiş onay alınmıştır.

Mikrobiyolojik örneklerin toplanması

Serum ve indüklenmiş balgam örnekleri, hastaneye başvurudan sonraki 24 saat içinde (akut evre) toplanmıştır. Bundan 4 hafta sonra, ikinci bir serum örneği alınmıştır. İndüklenmiş balgam, 4 mL %3'lük NaCl'nin nebulizör aracılığıyla solunması ile elde edilmiştir. Hastalardan, kuvvetlice öksürüp, balgam çıkarmaları istenmiştir. Dört yaşından küçük hastalardan balgam örneği kolay alınamadığından, bu hastalardan, NaCl inhalasyonunun ardından, boğaz sürüntüleri alınmıştır. Balgam ve boğaz sürüntüleri, steril kaplar içine alınmış ve virüs taşıma besiyerlerinin içine koyulmuştur. Tüm örnekler, laboratuvara ulaştırılıncaya kadar -70°C'de bekletilmiştir. Sadece, örnek seti tamamlanabilen hastalar incelemeye dahil edilmiştir.

Mikrobiyolojik inceleme

Mikrobiyolojik testlerin tümü, Fransız Ulusal Referans Merkezi (French National Reference Center)'nde ve Dünya Sağlık Örgütü'nün, Rickettsiya Hastalıkları İşbirliği Merkezi (Unite des Rickettsies, Universite de la Mediterranee, Marsilya, Fransa)'nde yapılmıştır. *M. pneumoniae*'ye karşı IgM antikoları, antijen olarak saflaştırılmış *M. pneumoniae* membran proteinleri ile önceden kaplanmış mikrotitrasyon plakları ile çalışılan, ticari bir enzimli immun deney (EİA) kiti (DiaSorin, İsrail) kullanılarak araştırılmıştır. Örneklerin optik dansite (OD) değerleri, otomatik bir ELİSA okuyucu ile 450/620 nm'de ölçülmüştür; bu değerler, kalibrasyon eğrisi ile hesaplandığı üzere [y eksen: ODler, x eksen: IgM antikolarının, serumun mL'sinde bulunan bağlanma birimleri (BB)], IgM düzeylerine tekabül etmektedir. IgM düzeylerinin >40 BB/mL olması halinde, akut enfeksiyon tanısı koyulmuştur. Bu testin çalışılması, 3 saat sürmektedir.

L. pneumophila serogrup 1-4 ve 5-6 için serolojik testler, ticari olmayan dolaylı immunfloresans yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Serumlar, 1:32 sulandırımında incelenmiştir. Olumlu bulunan örnekler, 2 kat artan seri sulandırımları hazırlanarak yeniden incelenmiştir. Akut *L. pneumophila* enfeksiyonu, $\geq 1:64$ titre veya çift serum örneğinde 4 kat artış görülmesi ile tanımlanmıştır.

lanmıştır. Eşleştirilmiş serum örnekleri aynı anda çalışılmıştır. Tüm okumalarda, olumlu ve olumsuz kontrol serumları kullanılmıştır.

DNA'lar, 200 µl balgam veya boğaz örneklerinden, QIAmp doku kiti (QIAGEN, Almanya) kullanılarak elde edilmiştir. DNA ekstraksiyonu, aşağıdaki PZR testlerinde kalıp olarak kullanılmıştır: 1) P1 sitadhezin genini hedefleyen, (İ) (5' AAC CAA AAA AAC TGC CTT 3') ve (G) primerler (5' GGC GGG TGT AGC TAA AT 3') kullanılarak *M. pneumoniae* PZR ve 2) RNA polimeraz B genini hedefleyen, İ (5' ACC AAC CTT GCG TTC AGA AAA 3') ve G primerleri (5' CCT GAA TCA GAT GCA ACA TTC TT 3') kullanılarak *L. pneumophila* PZR. Bu primerler kullanılarak amplifiye edilen hedefler, bilgisayar ortamında sanal özgüllüğü sağlamak amacıyla, Blast yazılımı (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) kullanılarak, Genbank veri tabanı ile karşılaştırılmıştır. Genbank veri tabanında bulunan herhangi bir başka cinsin herhangi bir dizilimi için sanal hedef dizilimi benzerliğinin sabit sınır değeri <20'dir. DNA amplifikasyonu, Light Cycler'da, üreticinin talimatlarına göre yapılmıştır (Roche Diagnostics, Almanya). Her kapiller için 20 µl reaksiyon karışımı hazırlanmıştır; bu karışımda, 11.6 µl steril su, 2.4 µL 25 mM MgCl₂, her test için 10 µM'lik İ ve G primerlerinin her birinden 1'er µL, 2 µL FastStrat SYBR Green karışımı (FastStart SYBR Green kiti, Roche Diagnostics, Almanya, içinde mevcuttur) ve 2 µL DNA ekstresi bulunmaktadır. FastStart Green karışımı, Taq DNA polimeraz, DNA deoksitribozül trifosfatlar (deoksitimidin trifosfat yerine deoksiüridin trifosfatı kullanılır), SYBR Green boyası, reaksiyon tamponu ve MgCl₂ içeren, kullanıma hazır bir karışımdır. İnhibitörlerin etkilerinden kaçınmak için, 1:10 sulandırımında DNA ekstresinden oluşan ek bir kapiller karışım da ayrıca incelenmiştir. *M. pneumoniae* veya *L. pneumophila*'dan elde edilmiş 2 µL'lik DNA'nın 5 seri sulandırımı, eşit sayıda reaksiyon karışımına eklenmiş ve olumlu kontrol olarak kullanılmıştır. Her testte bir de (DNA ekstresi yerine) steril sudan oluşan olumsuz kontrol örneği kullanılmıştır. Kırk amplifikasyon döngüsü, aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

95°C'de denatürasyon (30 saniye), *M. pneumoniae* için 50°C (3 saniye)'de, *L. pneumophila* içinse 58°C (2 saniye)'de primerlerin yapışması ve 72°C'de bu polimerizasyon (6 saniye). Test sonuçlandıktan sonra, erime eğrisi çizilmiş ve incelenmiştir. Floresansın derecesi, amplifiye edilmiş DNA ürünlerinin miktarına tekabül etmektedir. Floresan sinyaller, LightCycler ile ölçülmüş ve bunların erime ısıları (T_m), olumlu kontrollerinkiyle karşılaştırılmıştır (*M. pneumoniae* ve *L. pneumophila* için T_m sırasıyla 50°C ve 58°C). LightCycler kullanılarak kapiller PZR, 1 saatten az bir süre içinde tamamlanabilir. Kontaminasyonu önlemek için, DNA elde edilmesi, reaksiyon karışımının hazırlanması, DNA ekstresinin eklenmesi ve amplifikasyon işlemleri, ayrı odalarda gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Hastaların özellikleri

Çalışmaya 65 çocuk dahil edilmiştir. Çocukların ortalama yaşı 6 yıldır (10 ay-13 yaş). Bu çocukların 24 (%37)'ü 5 yaşından küçük, 31 (%48)'i 5-9 yaşında ve 10 (%15)'u da 10-14 yaşındadır. Klinik tanıları aşağıdaki gibidir: Pnömoni (60 hasta, %92), astım alevlenmesi (4 hasta, %6) ve persistan öksürük (1 hasta, %2). Çocukların 15 (%23)'i, hastaneye başvurmadan önce ağızdan antibiyotik ile tedavi edilmiştir (10 çocukta β-laktam antibiyotik ve 5 çocukta makrolit antibiyotik). Örnekler, belirtilerin ortaya çıkmasından sonra ortalama 7.3 günde (1-30 gün) toplanmıştır.

Mikrobiyolojik ve epidemiyolojik sonuçlar

Hastaların 19'unda (%29) akut enfeksiyon tanısı koyulmuştur: 5 yaşından küçük çocukların 4 (%16.5)'ü, 5-9 yaşındakilerin 9 (%29)'u ve 10-14 yaşındakilerin 6 (%60)'sı. Biri hariç tüm enfeksiyonlardan *M. pneumoniae* sorumlu bulunmuştur. Altı yaşındaki pnömonili bir (%1.5) çocukta, *L. pneumophila* serogrup 1-4 ile akut enfeksiyon tanısı koyulmuştur (konvalesans titresi 1:256).

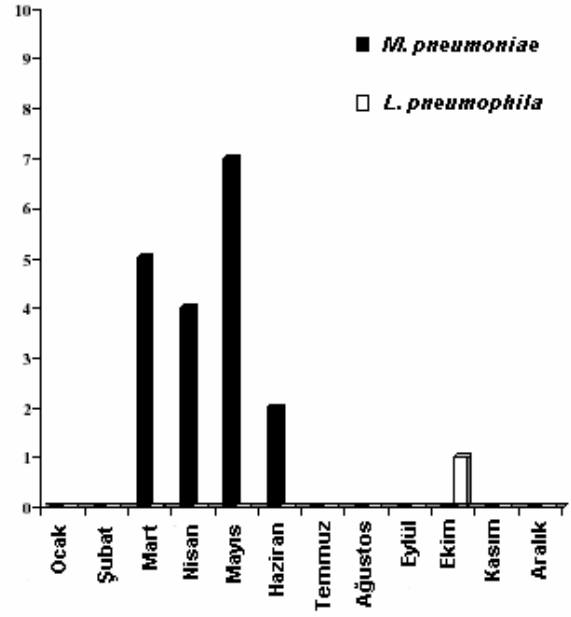
On sekiz (%27.5) hastada (17 pnömonili, 1 astım alevlenmesi olan), IgM EİA ile akut *M. pneumoniae* enfeksiyonu tanımlanmıştır. Bu olguların 11 (%61)'inde, tanı akut evrede koyulmuştur. Serolojik olarak *M. pneumoniae* tanısı almış 18

olgunun 9 (%50)'unda, solunum yolu örneklerinde *M. pneumoniae* DNA'sı saptanmıştır; bu olgulara, akut evrede tanı koydurucu düzeyde IgM antikorları bulunmayan 4 (%22) hasta da dahildir. Akut *M. pneumoniae* enfeksiyonu olan 18 çocuktan, balgam örneği alınabilen 16'sının 9 (%56)'unda PZR olumlu bulunurken, boğaz sürüntüsü alınan 2 çocukta PZR olumsuz sonuç vermiştir (%0). PZR olumsuz bulunan 3 hastada, konvalesans döneminde serokonversiyon ile *M. pneumoniae* enfeksiyonu tanısı koyulmuştur. Tüm grup ele alındığında, 15 olguda (%83), akut ortamda tanı koyulmuştur: 6 olguda IgM serolojisi, 4 olguda PZR ve 5 olguda hem IgM serolojisi hem de PZR ile. *M. pneumoniae* DNA'sı ayrıca, serolojik açıdan enfeksiyon kanıtı bulunmayan pnömonili bir çocuğun balgamında da saptanmıştır. *M. pneumoniae* ile ilişkili ASYE'lerin, indüklenmiş balgam örneklerinde kapiller PZR ile tanımlanması, IgM EİA ile karşılaştırıldığında, %50 özgüllük ve %98 duyarlılığa sahiptir.

M. pneumoniae ile ilişkili ASYE'si olan hastaların ortalama yaşının, 7.2 (10 ay-13 yaş) olduğu belirlenmiştir. İnsidansın, 10-14 yaş arasındaki çocuklarda en yüksek (%60) olduğu görülmüştür. Ancak, tanımlanan olguların çoğu (%44.5), 5-9 yaş arası hastalardır; olguların %22'si ise 5 yaşından küçüktür. En küçük hasta, ateş, öksürük ve solunum sıkıntısı ile başvuran, dinlemekle vizing ve akciğer grafisinde çift taraflı infiltrasyonlar saptanan 10 aylık bir bebektir; bu hastada tanı serokonversiyon ile koyulmuştur. Mevsimsel dağılım incelendiğinde, tüm *M. pneumoniae* olgularının, ilkbahar veya erken yaz döneminde ortaya çıktığı saptanmıştır (Şekil 1).

Tartışma

Bu çalışma, *M. pneumoniae*'nin, Yunanistan'daki çocuklarda, hastanede yatmayı gerektirecek kadar şiddetli ASYE'nin önemli bir etkeni olduğunu ve hastaların %27.5'inde görüldüğünü ortaya koymuştur. Başka ülkelerde yapılmış benzer çalışmalarda, %2-39 arasında değişen enfeksiyon oranları bildirilmiştir.⁴⁻⁹ Ancak, bu çalışmaların bazılarında tanı, sadece PZR sonucunun olumlu bulunmasına dayanmaktadır ki bu durum, geçiril-



Şekil 1. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan olguların başvurdukları aylara göre dağılımı

miş enfeksiyonu veya taşıyıcılığı da temsil edebilir. Sunulan bu çalışmada, *M. pneumoniae* ile ilişkili morbiditenin, 4 aylık bir dönem ile sınırlı olması, olasılıkla toplumda bir salgına işaret etmektedir. Çalışmamızda, *M. pneumoniae*'nin, 5 yaşından küçük olanlar da dahil olmak üzere, her yaşta çocukta enfeksiyona neden olduğu saptanmıştır. Başka çalışmalarda da bildirildiği gibi, enfeksiyonun prevalansında, yaşa bağlı bir artış gözlenmiştir.⁴ *L. pneumophila* yalnızca 1 hastada saptanmıştır. Seroepidemiolojik çalışmalar, çocukların, *L. pneumophila* ile sık karşılaştığını, ancak enfeksiyonun genellikle belirtisiz olduğunu veya hafif belirtilerle seyrettiğini ve kendi kendini sınırladığını göstermektedir.^{14,15}

Makrolitler, *M. pneumoniae* ile ilişkili ASYE'lerde, belirtilerin süresini kısaltır ve erken dönemde verildikleri takdirde, bulaşmayı önlerler.^{1-3,16} Bu özellik, *M. pneumoniae*'nin hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanmasının önemini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada, çocuklarda *M. pneumoniae* ile ilişkili ASYE'nin hızlı tanısında, Light Cycler kullanılarak gerçekleştirilen gerçek zamanlı PZR testi değerlendirilmiştir. Bu yöntemde, hızlı ısı iletimi amacıyla cam kapiller tüplerin kullanılma-

sının yanı sıra, gerçek zamanda floresan sinyallerin belirlenmesi sayesinde, zaman alıcı jel elektroforezi işlemi ortadan kalkmış ve amplifiye edilmiş PZR ürünlerinin, 1 saatten az bir sürede saptanması sağlanmıştır.^{2,16} Alt solunum yolundan gelen solunum yolu salgılarını, hastaların rahatını bozmadan toplayabilmek için, balgamın indüksiyonla toplanması tercih edilmiştir. Çocuklarda *M. pneumoniae* enfeksiyonunun tanısında standart serolojik yöntem olan IgM EİA,^{2,16-18} referans yöntem olarak kullanılmıştır. Kapiller PZR'nin, EİA ile karşılaştırıldığında, daha düşük özgüllüğe (%50) sahip olduğu görülmüştür. Bu durum, çocuklardan uygun örnek toplamanın güçlüğüne atfedilebileceği gibi, *M. pneumoniae*'nin seyri sırasında balgam üretiminin nadir olmasına da bağlı olabilir. Kullandığımız işlemde inhibitör kontrol testi yapılmadığından, inhibitörlerin konsantrasyonunu azaltmak için 1:10 sulandırımın yetersiz olması da muhtemeldir. Ancak, akut evrede saptanabilir düzeyde IgM antikoru bulunmayan, ancak konvalesans döneminde serolojik tanı alan çocukların %22'sinde PZR olumlu bulunmuştur. Akut evrede, her iki yöntemle de, olguların yarısında tanı atlanmış olsa da, iki test, 5 olgudan 4'ünün tanımlanmasını sağlayarak, birbirlerini tamamlayıcı bir duyarlılık sergilemiştir. *M. pneumoniae* pnömonisinin kapiller PZR ile tanımlanmasını değerlendiren bir başka çalışmada, 197 hastadan elde edilen boğaz sürüntüsü, balgam ve bronkoalveoler lavaj örnekleri incelenmiş ve sırasıyla %28.6, %14.2 ve %21.5 oranında olumlu bulunmuştur.¹⁹ Bu çalışmada, kapiller PZR'nin, serolojik olarak doğrulanmış *M. pneumoniae* pnömonisi olan 31 hastanın 25 (%80.6)'inde olumlu olduğu saptanmıştır. Klinik uygulamada, kapiller PZR'nin başlıca avantajı, bu yöntemin, birkaç saat içinde sonuç vermesi ve dolayısıyla, özgül tedaviye başlanmasına ve enfekte hastaların izolasyonuna olanak tanınmasıdır. Elde ettiğimiz veriler, toplumda edinilmiş ASYE nedeniyle hastanede yatan tüm çocuklardan, yaşa bakılmaksızın, *M. pneumoniae* araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, *M. pneumoniae*'nin, Yunanistan'daki çocuklarda, hastanede yatmayı gerektire-

cek kadar önemli ve sık görülen bir ASYE etkeni olduğu söylenebilir. İndüklenmiş balgam ve boğaz sürüntüsü örneklerinde kapiller PZR'nin, IgM EİA ile birlikte kullanılması, ASYE'si olan çocuklarda *M. pneumoniae* enfeksiyonlarının hızlı tanısında kolaylık ve yüksek duyarlılık sağlamaktadır.^{2,16} Gerçek zamanlı PZR'nin kullanımı, uygun antimikrobiyal tedaviye erken dönemde başlanmasına ve bu etkenin hastane aracılı bulaşmasını önlemek açısından, hastaların hemen izolasyonuna olanak tanıyacaktır.

KAYNAKLAR

1. Principi N, Esposito S. Emerging role of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in paediatric respiratory-tract infections. *Lancet Infect Dis* 2001;1:334-44.
2. Hammerschlag MR. Mycoplasma pneumoniae infections. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14:181-6.
3. Hammerschlag MR. Atypical pneumonias in children. *Adv Pediatr Infect Dis* 1995;10:1-39.
4. Principi N, Esposito S, Blasi F, Allegra L, and the Mowgli Study Group. Role of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in children with community-acquired lower respiratory tract infections. *Clin Infect Dis* 2001;32:1281-9.
5. Juven T, Mertsola J, Waris M, Leinonen M, Meurman O, Roivainen M, et al. Aetiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:293-8.
6. Drummond P, Clark J, Wheeler A, Galloway A, Freeman R, Cant A. Community acquired pneumonia: a prospective UK study. *Arch Dis Child* 2000;83:408-12.
7. Wubbel L, Muniz L, Ahmed A, Trujillo M, Carubelli C, McCoig C, et al. Aetiology and treatment of communityacquired pneumonia in ambulatory children. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:98-104.
8. Vuori-Holopainen E, Salo E, Saxen H, Hedman K, Hyypia T, Lahdenpera R, et al. Aetiological diagnosis of childhood pneumonia by use of transthoracic needle aspiration and modern microbiological methods. *Clin Infect Dis* 2002;34:583-90.
9. Esposito S, Blasi F, Bellini F, Allegra L, Principi N, and the Mowgli Study Group. Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae infections in children with pneumonia. *Eur Respir J* 2001;17:241-5.
10. Casalta JP, Piquet P, Alazia M, Guidon-Attali C, Drancourt M, Raoult D. Mycoplasma pneumoniae pneumonia following assisted ventilation. *Am J Med* 1996;101:165-9.
11. Goldwater PN, Martin AJ, Ryan B, Morris S, Thompson J, Kok TW, Burrell CJ. A survey of nosocomial respiratory viral infections in a children's hospital: occult respiratory infection in patients admitted during an epidemic season. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991;12:231-8.

12. Sopena N, Sabria-Leal M, Pedro-Botet ML, Padilla E, Dominguez J, Morera J, Tudela P. Comparative study of the clinical presentation of Legionella pneumonia and other community acquired pneumonias. Chest 1998;113:1195-200.
13. Ewig S, Bauer T, Hasper E, Marklein G, Kubini R, Luderitz B. Value of routine microbial investigation in community-acquired pneumonia treated in a tertiary care centre. Respiration 1996;63:164-9.
14. Muldoon RL, Jaecker DL, Kiefer HK. Legionnaires' disease in children. Pediatr 1981;67:329-32.
15. Andersen RD, Lauer BA, Fraser DW, Hayes PS, McIntosh K. Infections with Legionella pneumophila in children. J Infect Dis 1981;143:386-90.
16. Ferwenta A, Moll HA, de Groot R. Respiratory tract infections by Mycoplasma pneumoniae in children: a review of diagnostic and therapeutic measures. Eur J Pediatr 2001;160:483-91.
17. Waris ME, Toikka P, Saarinen T, Nikkari S, Meurman O, Vainionpaa R, et al. Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children. J Clin Microbiol 1998;36:3155-9.
18. Petitjean J, Vabret A, Gouarin S, Freymuth F. Evaluation of 4 commercial immunoglobulin G (IgG)- and IgM-specific enzyme immunoassays for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections. J Clin Microbiol 2002;40:165-71.
19. Honda J, Yano T, Kusaba M, Yonemitsu J, Kitajima H, Masuoka M, et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose Mycoplasma pneumonia. J Clin Microbiol 2000;38:1382-4.

Orijinal İngilizce şeklinden Türkiye Klinikleri tarafından tercüme edilmiştir. Türkçeye tercümesinin doğruluğundan Türkiye Klinikleri sorumludur, Taylor&Francis sorumluluk kabul etmemektedir. Translated by Türkiye Klinikleri Publishing House from the original English language version. Responsibility for the accuracy of the translation in the Turkish language rests solely with Türkiye Klinikleri Publishing House and is not the responsibility of Taylor&Francis.