



**T.C.**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ**  
**A.D.**

**HÜCRE İÇİ YERLEŞİM YAPAN BAKTERİ**  
**ENFEKSİYONLARINDA PROKALSİTONİN DEĞERLERİ**

**Dr. Çiğdem KARABIÇAK**

**UZMANLIK TEZİ**

**2013-KIRIKKALE**



**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
A.D.**

**HÜCRE İÇİ YERLEŞİM YAPAN BAKTERİ  
ENFEKSİYONLARINDA PROKALSİTONİN DEĞERLERİ**

**Dr. Çiğdem KARABIÇAK**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Ergin AYAŞLIOĞLU**

**2013-KIRIKKALE**

Uzmanlık öğrencisinin adı: *Dr. ÇiğdemKARABIÇAK*

Çalışmanın Başlığı:Hücre İçi Yerleşim Yapan Bakteri Enfeksiyonlarında Prokalsitonin Değerleri

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesinde “Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi” çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:24/06/ 2013

Prof. Dr.Dilek Kılıç

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

Prof. Dr.ErginAyaşlıoğlu

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Yrd. Doç. Dr. Serdar Gül

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİLLER.....	vi
TABLolar .....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1.Prokalsitonin. ....	3
2.2. C-Reaktif Protein ve Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR). ....	6
2.3. Tüberküloz. ....	7
2.4. Tularemi. ....	15
2.5.Bruselloz. ....	17
2.6.Sepsis. ....	28
2.7.Pnömoni. ....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
3.1.Etik Kurul Onayı.....	34
3.2. Çalışma Grubunun Seçimi. ....	34
3.3. Laboratuvar Analizleri. ....	36
3.4. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA .....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
7. KAYNAKLAR .....	53

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca üstün bilgi, beceri ve tecrübelerini aktararak, yetişmemde emeği olan, her türlü yardımı esirgemeyen saygıdeğer hocam, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Dilek Kılıç'a teşekkür ederim.

Klinik eğitimimde bilgi ve becerimin artmasında katkıları ve desteği olan, tez çalışmam boyunca beni yönlendiren, her türlü yardım ve bilimsel desteği esirgemeyen değerli tez hocam, Sayın Prof. Dr. Ergin Ayaşlıoğlu'na teşekkür ederim.

Klinikte bulunduğum süre boyunca engin tecrübe ve katkılarından yararlandığım Sayın Prof. Dr. Canan Ağalar, Sayın Prof. Dr. Sedat Kaygusuz ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Serdar Gül'e teşekkür ederim.

Uyumlu bir çalışma ve yardımlaşma içerisinde bulunduğum tüm Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji asistanlarına, ELİSA personeline teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca her türlü desteğini ve yardımlarını esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili eşime, hayatım boyunca beni destekleyen ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme teşekkür ederim.

## KISALTMALAR

AM	:	Alveolermakrofajlar
AM	:	Alveolermakrofajlar
TKP	:	Toplumdan edinilmiş pnömonide
CMI	:	Hücre-aracılı bağışıklık
CRP	:	C reaktif protein
CT	:	Kalsitonin
DC	:	Dendritik hücreler
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ESR	:	Sedimentasyon
FDA	:	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
HD	:	Hücre dışı
Hİ	:	Hücre içi
IFN	:	İnterferon
IL	:	İnterlökin
LPS	:	Lipopolisakkaritler
LVS	:	Latentvarisellazoster
Maks	:	Maksimum
Med	:	Medyan
Min	:	Minimum
NK	:	Doğal öldürücü (natural killer)
NO	:	Nitrikoksit
Ort	:	Ortalama
PCT	:	Prokalsitonin
PLT	:	Trombosit

PSI	:	Pnömoni şiddet indeksi
PTB	:	Pulmoner tüberküloz
RES	:	Retikuloendotelyal sistem
RNI	:	Reaktif nitrojen ara ürünleri
ROI	:	Reaktif oksijen ara ürünleri
SIRS	:	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SS	:	Standart sapma
TB	:	Tüberküloz
TGF- $\beta$	:	Dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$
TNF- $\alpha$	:	Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
WBC	:	Beyaz küre
YBÜ	:	Yoğun bakım ünitesi

## ŞEKİLLER

- Şekil 4.1.** Hücreiçi yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarındaki dağılımı.
- Şekil 4.2.** Hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının dağılımı.
- Şekil 4.3.** Hİ ve HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarında PCT, CRP, WBC ve ESR değerlerine ait çubuk grafikleri.
- Şekil 4.4.** HD ve Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan olgularda; PCT, CRP, WBC ve ESR değerleri için elde edilen ROC eğrileri.



## TABLÖLAR

- Tablo 4.1.** HD ve Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları.
- Tablo 4.2.** Hİ ve HDyerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarında PCT, CRP, WBC ve ESR değerlerine ait karşılaştırmalar.
- Tablo 4.3.** Sepsis, pnömoni ve yara yeri enfeksiyonu gruplarının PCT, CRP, WBC ve ESR değerlerine ait karşılaştırmalar.
- Tablo 4.4.** Tüberküloz, tularemi ve bruselloz gruplarının PCT, CRP, WBC, PLT, ESR ve CRP değerlerine ait karşılaştırmalar.

## ÖZET

**Çiğdem, K. Hücre İçi Yerleşim Yapan Bakteri Enfeksiyonlarında Prokalsitonin Değerleri. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2013.**

Hücre dışı (HD) ve hücre içi (Hİ) yerleşimli mikroorganizmalara karşı harekete geçen immünopatogenetik mekanizmalar birbirinden farklıdır. HD mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda prokalsitonin (PCT) düzeylerinin yükseldiğine dair çok sayıda kanıt bulunmasına karşın, Hİ mikroorganizmaların PCT düzeyi üzerine etkisini değerlendiren çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmanın amacı, Hİ yerleşimli mikroorganizma enfeksiyonlarındaki serum PCT ile HD yerleşimli mikroorganizma enfeksiyonlarındaki PCT düzeylerini karşılaştırmaktır.

Bu çalışmaya, HD mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar olarak sepsis [n=26], pnömoni [n=13], yumuşak doku enfeksiyonu [n=8] ve Hİ mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar olarak tüberküloz [n=14], bruselloz [n=30], tularemi [n=28] olguları dahil edildi. Bu olgulara ait serum örneklerinde PCT, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve lökosit düzeyleri ölçüldü.

Hİ grubunun PCT ( $p < 0.001$ ), CRP ( $p < 0.001$ ) ve lökosit ( $p < 0.001$ ) düzeyleri, HD grubunun düzeylerinden anlamlı düzeyde düşüktü. İki grubun ESR düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ( $p = 0.107$ ). HD ve Hİ mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlarda PCT için  $0.07 \text{ ng/m}^3$  lik kesme noktası alındığında duyarlılık % 87.2 ve özgüllük % 86.1 idi.

Sonuçlarımız, PCT belirteci düzeyinin Hİ mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlarda HD mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlardakinden daha düşük olduğunu gösterdi. Ek olarak, Hİ ile HD mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların ayırt edilmesinde PCT'nin yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu görüldü.

**Anahtar Sözcükler:** Prokalsitonin, akut faz reaktanları, hücre içi yerleşim yapan enfeksiyonlar.

## ABSTRACT

**Çiğdem, K. Procalcitonin Values in Intracellular Bacterial Infections. Kırıkkale University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Thesis of Speciality, Kırıkkale, 2013.**

Immunopathogenetic mechanisms which activated against intracellular (IC) and extracellular (EC) microorganisms are different. Although there are a great number of evidences showing that procalcitonin (PCT) increase in infections with EC microorganisms, there is a limited number of studies examining the effect of IC microorganisms on PCT levels. Aim of the study was to compare the serum levels of PCT in infection of IC microorganisms with PCT levels in infection of EC microorganisms.

Cases of infection with EC microorganisms (sepsis [n=26], pnömoni [n=13], soft tissue infection [n=8]) and cases of infection with IC microorganisms (tuberculosis [n=14], brucellosis [n=30], tularemia [n=28]) were enrolled in the study. PCT, C-reactive protein (CRP), white blood cell (WBC) and eritrosit sedimentation rate (ESR) were measured in the serum samples of the cases.

PCT ( $p<0.001$ ), CRP ( $p<0.001$ ) and WBC ( $p<0.001$ ) levels of IC group were significantly lower than those of EC group. There is no significant difference between the groups in terms of ESR levels. Ininfection of IC and EC microorganisms, sensitivity and specificity of PCT were 87.2% and 86.1% for 0.007 ng/ml cut-off level.

Our results showed that the serum levels of PCT in infection with IC microorganisms were lower than the levels in infection with EC microorganisms. Additionally, it was observed that the sensitivity and specificity of PCT was accomplished to distinguish between the infection of IC and EC microorganisms.

**KeyWords:** Procalcitonin. acute phase reactants, intracellular bacterial infection.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

PCT, kalsitonin (CT) hormonunun öncülüdür (1, 2). Preprokalsiton, 116-amino asitten oluşan bir prohormon olan PCT'ye dönüşmektedir. PCT daha sonra enzimatik olarak daha küçük peptitlere bölünmekte ve sonuçta 32-aminoasitten oluşan matür CT molekülü ve katakalsin molekülü oluşmaktadır (3).

PCT serum düzeyi, enfeksiyonlar ve diğer inflamatuvar durumlar sırasında yükselmektedir (4, 5). PCT, büyük bir bakteri yükü veya aşırı inflamatuvar yanıtı ayırt edilebilen önemli bir serum belirteci gibi görünmektedir. Gerçekte, PCT, yaygın enfeksiyonun ayırt edilmesinde avantajlı bir biyobelirteç olarak bilinmektedir (6). PCT bakteriyel yük (7) ve enfeksiyonun şiddeti ile güçlü bir ilişki göstermektedir (8). Schuetz ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçları, PCT'in, kan kültürü kontaminasyonunu kan yoluyla yayılan enfeksiyonlardan ayırt edilebileceğini düşündürmektedir (9). PCT'in bu üstün tanısal performansının, sepsis (10, 11), menenjit (4, 12), enfeksiyöz endokardit (13), idrar yolları enfeksiyonu (14) ve pnömoni (8, 15) gibi diğer enfeksiyon tabloları için de geçerli olduğu gösterilmiştir.

Hİ ile HD yerleşimli enfeksiyonların immünopatogenezi açısından farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Hİ yerleşimli enfeksiyonlarda, T hücreleri tarafından geliştirilen hücresel immün yanıt etkili olmaktadır. Yardımcı hücreleri tarafından interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) başta olmak üzere bazı sitokinler salgılanarak makrofaj aktive edilmekte ve makrofaj içerisinde yerleşmiş olan mikroorganizmanın yok edilmesi sağlanmaktadır (16, 17). HD'da ise, B lenfositler tarafından oluşturulan ve antijeni spesifik olarak tanıyıp ortadan kaldırılmasını sağlayan antikorlar (humoral immünite) rol oynar. B lenfositler antijenik uyarıyı takiben plazma hücrelerine dönüşmekte ve antikor üretmektedirler. Antikorlar, başta nötrofiller ile bakteri fagositozunun kolaylaştırılması olmak üzere değişik mekanizmalar kullanarak HD'da bulunan mikroorganizmaların yok edilmesini sağlamaktadır (18).

"*Mycobacteria*"ların çoğalma hızı düşüktür (19). *Brucella*, cinsi bakteriler de göreceli yavaş çoğalan bir mikroorganizmalardır (20). *Francisella tularensis*, yavaş çoğalan diğer bir mikroorganizmadır (21). *Brucella* spp.'nin bakteremi oluşturma olasılığı göreceli olarak düşüktür (22, 23). *Francisella tularensis* ile oluşan

bakteremi oldukça nadirdir (24, 25). *M. tuberculosis*, hem human immune deficiency virus (HIV) enfeksiyonu saptanan hastalarda hem de daha nadir olmak üzere HIV-negatif olan hastalarda bakteremiye neden olmaktadır (26-28).

PCT' in, yaygın enfeksiyonun ayırt edilmesindeki önemi (6) ve bakteriyel yük (7) ve enfeksiyonun şiddeti (8) ile güçlü bir ilişki gösterdiği dikkate alındığında, Hİ mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda PCT'in dolaşımdaki düzeyinin yükselmemesi beklenebilir. Bu bağlamda, Hİ mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda PCT'in yukarıda sözü edilen Hİ mikroorganizmaların insandaki enfeksiyonunda, HD mikroorganizmalardan farklı bir immünopatogenetik yolu aktive etmeleri yanında, mikroorganizmaların çoğalma hızının düşüklüğü ve bakteremi potansiyelinin yetersizliği nedeniyle sistemik bir yanıt oluşturma olasılığının da azalması akla uygundur. Bu nedenle, Hİ mikroorganizmaların HD mikroorganizmalardan farklı bir biyobelirteç düzey profili göstermeleri ve bu bağlamda PCT' in de Hİ bakteriyel enfeksiyonlarda artmaması beklenen bir durum olabilir.

Bu çalışmanın amacı, HD mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlardaki PCT, CRP, ESR gibi akut faz belirteçlerinin Hİ enfeksiyonlara bağlı mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar ile karşılaştırmak; ve bu parametrelerin HD ve Hİ enfeksiyonlarındaki ayırt edici performansını belirlemektir. HD mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlardaki PCT, CRP ve ESR gibi akut faz belirteçlerinin, Hİ enfeksiyonlara bağlı mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlardaki düzeylerden yüksek olabileceği ve iki durumu ayırt edebileceği hipotez edilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Prokalsitonin

PCT, CT hormonunun bir öncülüdür ve tıbbi literatürde ilk defa 1975 yılında ve daha sonra 1981 yılında yer almıştır (1, 2). Preprokalsitonin, CALC-1 geninden transkripsiyonu ve kalsitonin-mRNA'dan translasyonundan sonra, 116-amino asitten oluşan bir prohomon olan PCT'ye dönüşmektedir. PCT, daha sonra enzimatik olarak daha küçük peptitlere bölünmekte ve sonuçta 32-amino asitten oluşan matür CT molekülü ve kateksin molekülü ortaya çıkmaktadır (3). Matür kalsitoninin geçici bir hipokalsemik etkisi vardır ve başlangıçta sadece tiroid bezinin nöroendokrin C hücreleri tarafından üretildiği düşünülmüştür.

PCT ile ilgili ilk yayından yaklaşık 20 yıl sonra, araştırmacılar PCT'nin serum düzeylerinin ve diğer CT öncü moleküllerinin enfeksiyonlar ve diğer inflamatuvar durumlar sırasında yükseldiğini fark etmişlerdir (4, 5). Klasik nöroendokrin paradigmasına göre, fizyolojik durumlarda CALC-1 gen transkripsiyonu, tiroid bezi ve akciğerdeki nöroendokrin hücrelerle sınırlıdır. PCT, sonuç olarak golgi aygıtında işlenmekte ve saklanmaktadır. Bu nedenle, sağlıklı bireylerin serumunda sadece düşük düzeyde PCT saptanabilmektedir (29). Öte yandan, enfeksiyon ve özellikle sepsis gibi sistemik enfeksiyonlar sırasında, CALC-I geninin ekspresyonu upregüle olmakta ve temel olarak vücuttaki neredeyse tüm dokulardan ve hücre tiplerinden PCT salıverilmektedir (30). Bu bağlamda, bütün vücut bir "endokrin bezi" olarak değerlendirilebilir ve PCT, "hormokin" bir inflamatuvar mediyatör olarak tanımlanabilir. PCT ile birlikte incelenen inflamatuvar sitokinler arasında, interlökin-1 $\beta$ 'nin, CT-mRNA ekspresyonu ve PCT sentezi için potent bir stimulan olduğu bulunmuştur. Ancak, tümör nekrozis faktör (TNF)- $\alpha$  ve interlökin (IL) -6 tek orta dereceli uyarıcılardır (29, 30). Bakteriyel enfeksiyonlar, mikrobiyal ürünlerin kombinasyonu (örneğin, lipopolisakkaritler [LPS]) ve proinflamatuvar sitokinlerin bir arada bulunmaları, CT-mRNA'nın upregülasyonu ve bunu takip eden PCT salgılanması ile sonuçlanmaktadır. Ancak, araştırmacılar, beyaz kan hücrelerinde (WBC) çok düşük düzeyde ve geçici PCT ekspresyonu saptamışlardır (30). Daha da önemlisi, sepsis tanısı kanıtlanmış hastalardan alınan WBC'lerde CT-mRNA upregülasyonu gösterilememiştir ve alınan bu WBC'lerin *in vitro* LPS uyarımı PCT

salgılanması ile sonuçlanmamıştır. Ayrıca, PCT indüksiyonunun, interferon- $\gamma$  gibi viral enfeksiyonlar sırasında açığa çıkan sitokinler tarafından geriletilebilir olması da önemli bir bulgudur (29). IFN- $\gamma$ 'nın de dahil olduğu interferonlar, erken antiviral konakçı savunmasında önemli rol oynamaktadır. Yine de CT-mRNA'da belirgin bir upregülasyona neden olmamaktadır. Serum PCT düzeyi, bakteriyel enfeksiyonların viral enfeksiyonlardan ayrılmasında kullanılabilir (15).

### 2.1.1. Prokalsitonin Ölçümü

PCT ölçümünde farklı testler ve analizörler kullanılmaktadır. Araştırma veya ticari amaçlı PCT testleri, 116-amino asitten oluşan PCT peptidini saptamakta yararlıdır. Çoğu test, PCT'in belli bölümlerini ve CT ile kalsitonin-karboksil peptid-1'e bitişik segmentini belirlemektedir.

PCT için çok duyarlı bir (araştırma) testi kullanarak, araştırmacılar, enfekte olmayan insanlarda normal PCT seviyelerinin  $0.033 \pm 0.003$  ng/ mL olduğunu belirlemişlerdir (31). Halen yaygın olarak kullanılan ilk testlerden biri, immünoluminometrik PCT testidir (LUMItest PCT Kit<sup>®</sup>, Brahms Diagnostica<sup>®</sup>, Henningsdorf, Germany). Bu test, bir saptama sınırıyla (analitik test duyarlılığı), 0.5 ng/mL fonksiyonel hassasiyete sahiptir. Tutarsızlık profili kullanılarak yapılan hesaplamada 0.08 ng/mL değerine ulaşılmıştır. Bu manuel test, çok yüksek PCT düzeylerini saptayabilse de, enfeksiyonun erken safhalarında hafif veya orta derecede yükselmiş PCT seviyelerini saptamadaki duyarlılığı çok yetersiz kalabilir. Bu nedenle, PCT'in klinik yararlılığının LUMItest<sup>®</sup> kullanılarak test edilmesini inceleyen çalışmalar, bir hatanın söz konusu olabileceğini göstermektedir; çünkü 0.5 ng/mL olarak bildirilen PCT seviyeleri, 0.5 ng/mL'lik fonksiyonel duyarlılığın ortalama normal değerini 10 katın üzerinde aştığı göz önünde bulundurulduğunda, ölçümler halen bir miktar belirsizlik taşımaktadır.

Yeni nesil ticari PCT kitleri, zamanla çözünen güçlendirilmiş kriptomat emisyon (TRACE) teknolojisine (KRYPTOR<sup>®</sup>, Brahms Diagnostica<sup>®</sup>) dayanmaktadır. Bu özel testte, koyun poliklonal anti-kalsitonin antikoru ve monoklonal anti-katakalsin antikoru kullanılmaktadır. Bunun vasıtasıyla PCT molekülleri bu iki antikora bağlanmaktadır. Antikorlar, floresan "tracer"ları, öropyum kriptomat (donör) ve XL665

(alıcı) ile işaretlenmiştir. PCT-antikör kompleksinin oluşumu, iki "tracer" arasında - amplifikasyonun eşlik ettiği- bir enerji transferine neden olmaktadır. Bu özel KRYPTOR® PCT testinin, fonksiyonel test duyarlılığı 0.06 ng/mL ve analitik duyarlılığı 0.019 ng/mL'dir. KRYPTOR® PCT testi, C terminali ve katakalsin sekanslarının orta bölgesine özgü iki monoklonal antikör kullanan BRAHMS PCT lüminesans immünoteste karşıt bir biçimde kalibre edilmiştir. Antikatakalsin antikörü, kaplı tüpün yüzeyinde hareketsizken, bağlanmamış anti-kalsitonin antikörü, lüminesan akrinin "tracer"la işaretlenmiştir. Böylece, PCT molekülü her iki antikora bağlanmaktadır. Burada sözü edilen iki BRAHMS testinde de, yüksek konsantrasyonlardaki insan kalsitonin ve katakalsin düzeylerinde bile etkisizdir. İkterik, hemolize veya hiperlipemik örneklerde, PCT sonuçları hatalı olabilir. Ticarî kullanıma uygun diğer PCT testleri, LIAISON BRAHMS PCT-immünotest (DiaSorin, Saluggia, İtalya) ve VIDAS- enzim- bağlantılı floresan immünotesttir (bioMérieux, Durham, NC, ABD). Bu iki testin PCT için fonksiyonel duyarlılıkları sırasıyla 0.1 ve 0.09 ng/mL'dir (32).

ABD'de Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmamış olmasına karşın, PCT®-Q (BRAHMS) testinin avantajı hastanın yanında uygulanıyor olması ve dolaşımdaki PCT seviyelerini her hangi bir karmaşık analizör veya kalibrasyon gereksiz 30 dakikada saptayabilmesidir. Bu immüno-kromatografik test, hastaya serum veya plazma vererek, kolloidal altınla (tracer) birleşmiş monoklonal fare antikatakalsin antikörü ve poliklonal koyun anti-kalsitonin antikörü (katı faz) kullanarak, PCT'yi yarı nicel olarak saptamaktadır. PCT- "tracer" kompleksi, sonuçta test odasında kılcal akış prensibiyle anti-kalsitonin antikörüne (katı-faz) bağlanarak bir sandviç kompleksi oluşturmaktadır. Bu sandviç kompleksinin renk yoğunluğuna dayanarak, PCT konsantrasyonu, önerilen aralıklarda yarı nicel olarak değerlendirilmektedir:  $<0.5$ ,  $\geq 0.5$ ,  $\geq 2$ , ve  $\geq 10$  ng/mL (33).

Daha önce söz edildiği üzere, tam boy PCT 116 amino asitten oluşmaktadır ve kesilmesiyle çeşitli amino-terminal PCT varyantları oluşabilmektedir. Mevcut PCT testlerinin çoğu, PCT'nin içsel epitoplarına özgü antikörler kullanılmaktadır. Bu testler, bu amino-terminal PCT varyantlarını saptayamamaktadırlar. Yakın zamanda, Struck ve arkadaşları (2009), PCT1-116 ve PCT3-116'yı gibi varyantları selektif olarak ölçen testler geliştirmişlerdir (34).



## 2.2. C-Reaktif Protein ve Eritrosit Sedimentasyon Hızı

CRP, 120 kDa ağırlığında, non-kovalent bağlı, beş özdeş alt birimden meydana gelen, "pentraxin" ailesinden, prototip bir "akut faz proteini"dir. Bu yapısal düzen, serum amiloid A gibi diğer akut faz proteinlerindeki ile benzerlik göstermektedir (35). Akut faz yanıtında hızlıca yükselmesi, 24-48 saat içinde binlerce kat artabilmesi, hızlıca eski seviyelerine inmesi, diüurnal varyasyon göstermemesi, yaş ve cinsiyet farkı göstermemesi önemli biyolojik özelliklerindedir (36-39).

İlgili gen, kromozom 1 üzerinde bulunmakta olup; farklı CRP düzeylerine sahip üç adet polimorfizm tanımlanmıştır (40-42). Henüz tanımlanmamış olsa da, genotip spesifik risk gruplamasının, gelecekte kardiyovasküler risk taşıyan kişilerin saptanmasında kullanılabileceği düşünülmektedir (43).

Bir enfeksiyon ya da inflamasyon belirticiliğinin yanı sıra, çok geniş spektrumda biyolojik özelliğe ve işleve sahiptir. Biyolojik özellikleri, onun bağlanma kapasitesi ve farklılığından kaynaklanmaktadır (44). Bir çok mikroorganizmanın kapsül polisakkaridi ve çoğubiyolojik zarrın yapısal bileşeni olan fosfokolin (PCh) ile kalsiyum aracılı bağlanma kapasitesine sahiptir (45, 46). Kalsiyum aracılı bağlanma ile "CRP-Ca-PCh" kompleksi oluşur. Ligand bağlı CRP kompleksinin C1q tarafından tanınması, C3 konvertaz oluşumuna sağlar ve böylece klasik kompleman yolu aktive edilir (47, 48). CRP'nin patojenleri tanınması, onların klasik kompleman yolu ve fagositik hücreler ile etkisiz hale getirilmesini sağlaması, doğalkonak savunmasının ilk hattını oluşturur (49).

ESR (50, 51) ve CRP (52), enfeksiyon hastalıklarına tanı konulmasında yararlı olduğu düşünülen testlerdir. CRP'nin normal sınırlardaki serum konsantrasyonu <0.3 mg/dl'dir. Ağır enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında, CRP'nin 50 mg/dl'nin üzerine çıkması beklenen bir durumdur (53). Yüksek ESR ve CRP düzeylerinin pnömoni için önemli bir yol gösterici olduğu bildirilmiştir (54). Yara yeri enfeksiyonu olgularında CRP (55) ve ESR (56) düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Tüberkülozda akut faz reaktanlarından ESR ve CRP'de artma saptanır. Brusellozda laboratuvar bulguları; beyaz küre normal veya düşük, sedimentasyon ve CRP düzeyi değişkendir (57). Bir çalışmada, bruselloz olgularının CRP ve ESR düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (58). Tularemi de, CRP ve ESR değerleri yüksek bulunabilmektedir (59).

### 2.3. Tüberküloz

Tüberküloz, tanı ve tedavisindeki bilimsel ilerlemelere karşın, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, halk sağlığını önemli ölçüde tehdit etmeye devam etmektedir. Dünya nüfusunun üçte birinde, latent *M. tuberculosis* enfeksiyonunun bulunduğu düşünülmektedir (60). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporlarına göre, 2010 yılında dünya çapında ölümlerin 1.4 milyonu tüberküloz (TB) ile ilişkili bulunmuştur (61). Dünya üzerinde 2010 yılındaki TB insidansı, 8.8 milyon (128:100.000) olarak saptanmıştır ve bu olguların % 59'u Asya'da, % 26'sı ise Afrika'dadır (62).

*M. tuberculosis* ile oluşan primer enfeksiyonların, enfekte olanların yaklaşık % 10'unda aktif hastalığa sebep olduğu genel kabul görmektedir (63). Enfekte bireylerin çoğunda, *M. tuberculosis* latent durumda akciğerlerde, granuloma adı verilen yapılarla sınırlı olarak bulunmaktadır. Bu bağlamda, konakçı immün mekanizmaları, hastalığın ilerlemesini önlemede rol oynamaktadır ve immün yetmezliği olan bireylerde hastalığın reaktif olma olasılığı daha yüksektir (63, 64).

#### 2.3.1. Patogenez

Deneysel modellere dayanarak, pulmoner TB'nin patogenezinde dört aşama tanımlanmıştır (65, 66):

**(A) *M. tuberculosis*'nin İnhalasyonu:** *M. tuberculosis*'nin inhalasyonunu takip eden ilk olaylar, basillerin alveoler makrofajlar tarafından yutulması ve sıklıkla reaktif nitrojen ara ürünlerinin (RNI) ve reaktif oksijen ara ürünlerinin (ROI) üretilmesini de içeren farklı makrofaj bakterisidal mekanizmaları tarafından hemen öldürülmesini kapsamaktadır. Bu mekanizmaların etkinliği, alveoler makrofajların intrinsik mikrobisidal kapasitesine, inhale edilen MTB suşunun patojenik karakteristiklerine ve enfeksiyon bölgesindeki inflamatuvar mikroçevreye bağlıdır (67).

**(B) İnflamatuvar Hücrelerin Toplanması:** Hayatta kalan basiller, alveoler makrofajlar ve dendritik hücreler (DC) içinde logaritmik olarak çoğalırlar. Basiller; makrofajların bakterileri erken evrede öldürmelerini indüklemek için makrofajları

etkinleştiren TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12p80, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi immün araçların üretimini artırır (63, 68). IFN- $\gamma$ ; alveoler makrofajlar ve DC'lerden salıverilen IL -12 ve IL-18'e yanıt olarak, CD4+ ve CD8+ T hücreleri ve aktivedoğal öldürücü (natural killer=NK) hücreleri tarafından üretilen bir proinflatuar sitokindir (67, 69-71). MTB'nin proliferasyonu ile indüklenen bir lokal akciğer inflamasyonu tablosunda; monositlerin, nötrofillerin ve DC'lerin dahil olduğu periferik inflamatuvar hücreler, akciğerde toplanırlar (72, 73). DC'ler, TLR (toll-like receptors) sinyal yolağı ile etkinleşirler; monositler, TNF- $\alpha$ 'nın da dahil olduğu mikrobisidal maddeler üreten efektör makrofajlara farklılaşırlar ve sözü edilen bu süreçler MTB büyümesinin kontrolüne ve granuloma formasyonuna katkıda bulunmaktadırlar (74).

**(C) *Mycobacteria* Proliferasyonunun Kontrolü:** Bu faz, etkin bir hücre-hücre etkileşimi ve bir granulomun oluşmasını takiben MTB proliferasyonu ile inhibisyonu ile karakterizedir. Kronik sitokin uyarımının bir sonucu olarak, makrofajlar epitelooid hücrelere farklılaşırlar ve kaynaşarak dev hücreler oluştururlar (75). Granulomun mimarisi, T hücrelerinin ve MTB'yi içlerinde barındırarak yayılmasını engelleyen enfekte makrofajların agregasyonu ile karakterizedir (75-77). Proinflatuar sitokinlerin (örn. IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-17, ve IL-23) granulomun oluşması ve stabilitesindeki önemli rollerine ek olarak; granulomları oluşturmak amacıyla inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlamak üzere CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, ve CXCL10 gibi kemokinlerin ortamdaki varlığı da çok önemlidir (75, 78-80). Bu mekanizmalar, sonuçta stabil (latent olarak da bilinen) bir enfeksiyon haline gelen, lokalize bir birincil TB enfeksiyonunun gelişmesini sağlar. Latent enfeksiyonların % 90'ından fazlasında, canlı *M. tuberculosis* içeren merkezi kazeöz enfeksiyöz odaklar, granuloma duvarları ile sınırlanmıştır. Hücresel aktivasyon ve supresyonun aktif döngüsü *M. tuberculosis*'nin çoğalma ve yayılmasını önlemektedir (63, 81).

**(D) Post-Primer Tüberküloz:** İmmün sistem yetersizliği ile ilişkili *Mycobacterium*'un persistansının bir sonucu olarak, latent hastalık yeniden aktifleşebilir; aktifleşen hastalık bronş yakınındaki hasarı artırır ve *M. tuberculosis*'nin akciğerin diğer bölgelerine yayılmasına neden olabilir (82).

### 2.3.2. Tüberkülozda Tanı

Dünya Sağlık Örgütü dünyada her yıl 8-10 milyon kişide tüberküloz geliştiğini ve 3-5 milyon kişinin ise tüberküloz nedeniyle hayatını kaybettiğini bildirmektedir. 15 yaşından daha küçük çocuklarda yılda 1.3 milyon yeni tüberküloz vakası saptanmakta ve 400.000 çocuk tüberküloz nedeniyle ölmektedir (83).

Tüberküloz tanısında hastanın öyküsü, fizik muayene bulguları, radyolojik değerlendirme, tüberkülin cilt testi ve laboratuvar testleri ile hastalıktan şüphelenilir ve bakteriyolojik ya da histopatolojik değerlendirme ile tanı kesinleştirilir.

#### 2.3.2.1. Tüberkülin Cilt Testi

Tüberkülin cilt testinde (TCT) reaksiyonun esası, gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtına bağlı hücresel immün yanıttır. Daha önceki enfeksiyon ile duyarlanan T hücreleri, testin yapıldığı yere doğru ilerlemekte ve ortama lenfokinler salmaktadır. Bu lenfokinler, vazodilatasyona, ödeme, fibrin birikimine ve diğer inflamatuvar hücrelerin enfeksiyon bölgesine toplanmasına yol açmakta ve böylece endurasyon (kabartı-sertlik) oluşumu gerçekleştirmektedir. Reaksiyon 5-6 saatte başlar ve 48-72 saatte maksimuma ulaşır. Kişi daha önce BCG ile aşılanmışsa ya da tüberküloz basili ile karşılaşmışsa, 2-3 gün içinde test yerinde hiperemi (kızarıklık) ve endurasyon (kabartı) oluşur (84).

Amerika Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC)'nin TCT ile ilgili uygulama önerisi intradermal veya Mantoux metodudur. Sol ön kol 2/3 üst kısmında iç ya da dış kısmına cilt içine PPD'nin 5 TÜ'nden 0.1 ml yapılır. Yapılacak alanda cilt lezyonu olmaması ve venlerden uzak olması önerilir. TCT 1 ml lik diziyem ayarlı tek kullanımlık 27 gauge kalınlığında iğnesi olan enjektörle yapılır. İğnenin oblik uç kısmı yukarı gelecek şekilde yapılır. Enjeksiyondan sonra 6-10 mm çaplı bir kabarcık oluşturulmalıdır. Bu şekilde uygun yapılmamışsa hemen ikinci bir test dozu, birkaç cm uzak bir alana uygulanır ve kaydedilir. Oluşan endurasyon çapı kalem ucu tekniği ile 48-72 saat sonra ölçülür. Eritem değil endurasyonun çapı ölçülür. Yatay çap kaydedilir (84-87). ilk 24 saatte ortaya çıkan reaksiyonlar genellikle PPD içindeki bileşenlere ya da tüberküline karşı oluşan aşırı duyarlılık yanıtıdır ve geç tip

duyarlılık yanıtı ile karıştırılmamalıdır. Bu reaksiyon genelde 24-48 saat içinde düzelir (87).

**Booster fenomeni:** Uzun süre tüberküloz antijeniyle karşılaşmayan hafıza hücreleri antijeni tanımayabilir. Yapılan ilk TCT antijeni hatırlatır. Bir hafta sonra yapılan TCT gerçek reaksiyonun oluşmasına neden olur. Bu durum konversiyon olarak kabul edilmemelidir (84, 88).

**Cilt testi konversiyonu:** Negatif tüberkülin cilt testine sahip kişilerde test tekrarına gidildiğinde 2 yıl içinde reaksiyon 10 mm ve üzerine çıktığında cilt testi konversiyonu yani yeni *M. tuberculosis* enfeksiyonu olarak değerlendirilmelidir (84, 88).

PPD yanıtının 7 güne kadar değişmediğine dair çalışmalar vardır. Eğer 72 saat içinde test okunamamışsa ve yanıt 10 mm üzerinde ise pozitif olarak kabul etmek gerekir ve eğer sonuç 10 mm altında ise testin tekrar edilmesi gerekir (87). Multiple puncture deri testi günümüzde çocuklara ve yüksek riskli kişilere hata oranının yüksek olması nedeniyle önerilmemektedir (88).

Tüberkülin cilt testinin özgüllüğü ve duyarlılığı %100 değildir ancak henüz tüberküloz enfeksiyonunu saptamada daha iyi test yoktur (88). PPD'nin duyarlılığı TB 'lu hastalarda % 80-96 arasında saptanmıştır (87). PPD solüsyonu içinde 200'den fazla mikobakterium tüberküloza ait antijen vardır. Bu antijenler *M. bovis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. kansasii* gibi nontüberküloz mikobakteri antijenleri ile çapraz reaksiyonlar verirler. Nontüberküloz mikobakteriyel enfeksiyonlarda ve önceden BCG ile aşılanmış kişilerde bu antijenlere karşı duyarlanma oluşur ve TCT'de yalancı pozitifliğe yol açar. Non tüberküloz miko-bakterilere karşı oluşan bu yalancı pozitif reaksiyonlar genellikle 10 mm'den küçüktür (87).

Zayıf yanları olmasına rağmen TCT, latent olarak enfekte kişilerde aktif hastalık riskini öngörebilmesi nedeniyle, bugün için hâlâ önemini korumaktadır. TCT sonuçlarına göre tanı almış latent tüberküloz enfeksiyonlu olguların korunmaya alınması, aktif hastalık riskini % 90 oranında azaltmaktadır (89).

### 2.3.2.2. Aside Dirençli Basilin (ARB) Gösterilmesi

Tüberküloz tanısında hızlı, basit ve ucuz bir yöntemdir. Tüberküloz basilinin ikiye bölünme süresi ortalama 18 saat olduğundan, kültür ile üretilerek izole edilmesi uzun zaman almaktadır. Bu nedenle de tüberküloz için mikroskopik tanı günümüze kadar önemini korumuştur. Hasta örneklerinden hazırlanan preparatlara, değişik boyama yöntemleri uygulanmakta ve mikroskop ile değerlendirilmektedir. En yaygın kullanılan boyama yöntemi asit fast boya yöntemi olan Erlich-Ziehl Neelsen (EZN) boyama yöntemidir. Diğer bir boyama yöntemi florokrom boya (Auramin) yöntemidir. Örneklerde daha az bakteri olsa bile Auramin boyama yöntemi ile gösterilebilir (90, 91).

Çocuklarda balgamdan yapılan yaymalarda ARB pozitifliği %10-15'ten daha az olarak bildirilmektedir (92, 93).

#### **Kültür**

Klinik örneklerden yapılan kültür ile hem kesin tanı konulur hem de ilaç duyarlılık testleri yapılabilir. Ancak çocuklarda sabah alınan mide lavaj sıvısında kültürde üreme oranları %40'ın altında bulunmuştur. Extrapulmoner tüberkülozu olan hastalarda bu oran daha da düşüktür (94-96).

Konvansiyonel olarak mikobakteri izolasyonu amacıyla kullanılan besiyerleri özelliklerine göre sıvı ve katı besiyerleri olarak ayrılabilir. Sıvı besiyerlerine, Middlebrook 7H9 ve Dubos Tween albumin sıvı besiyeri örnek verilebilir. Katı özellikteki besiyerleri de, yumurta bazlı ve agar bazlı besiyerleri olmak üzere ikiye ayrılabilir. Yumurta bazlı besiyerlerine, Löwenstein-Jensen besi-yeri, Petragnani besiyeri ve American Trudeau Society besiyeri, agar bazlı besiyerlerine ise Middlebrook 7H10 ve Middlebrook 7H11 örnek olarak verilebilir.

Günümüzde; tüberküloz basilinin daha hızlı üremesini ve üremenin erken dönemde tespit edilmesini sağlamayı amaçlayan, 'hızlı sonuç veren kültür sistemleri' mikobakteri laboratuvarlarının rutinleri arasına girmiştir. Ülkemizde kullanım alanı bulmuş olan bu hızlı kültür sistemleri; BACTEC 460 TB Sistemi (radyometrik esaslı sistem), BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) 960 Sistemi (floresan esaslı sistem), BACTEC 9000 MB Sistemi (flouresans esaslı sistem),

BacT/ALERT MB (MB/BacT) Sistemi (kolorimetrik esaslı sistem), Dio-TK Scan Kültür Sistemi (katı özellikte kolorimetrik esaslı sistem)'dir (97).

Geleneksel kültür yöntemlerinde bakteri üremesi 4-6 hafta da olur ve antibiyotik duyarlılık testleri için ise 2-4 hafta daha beklemek gerekir. Hızlı sonuç veren kültür yöntemlerinde ortalama 17 günde üreme olmaktadır (98).

#### 2.2.3.4. İmmünolojik Temele Dayalı Yeni Tanı Testleri

Tüberkülozda basilin gösterilmesi ve üretilmesi oldukça zor ve basilin yapısı gereği her zaman mümkün olmadığından, hastalığın immünolojik temeline dayalı yeni tanı testleri bu konuda gelecek vaad etmektedir. Son yıllarda *Mycobacterium bovis*, BCG suşları ve birçok NTM'de bulunmayan, sadece MTB genomunda yer alan 'region of difference V (RD1) gen segmentinin saptanması ve bu gen segmenti ürünlerine özgün immun yanıtların ölçülebilir olması, tüberküloz enfeksiyonunun saptanmasında yeni bir testin geliştirilebileceğini fikrini doğurmuştur (99). İn vitro T-hücrelerinde IFN- $\gamma$  araştırmasına dayalı testler, tüberküloz antijenleri ile duyarlı hale getirilmiş kişilerin T hücrelerinin miko-bakteriyel antijenlerle yeniden karşılaştıklarında IFN- $\gamma$  üretmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu nedenle, yüksek IFN- $\gamma$  üretim düzeyi tüberküloz enfeksiyonu için bir gösterge olarak kabul edilir (85).

İlk klinik kullanıma giren testlerde stimulan antijen olarak PPD kullanılmışsa da, daha yeni testler *M. tuberculosis*'a özgül antijenler olan Erken Sekretuar Antijenik Hedef 6 (ESAT-6) ve Kültür Filtrat Protein 10 (CFP-10) ve antijen 7.7 (RV2645)'i kullanmaktadır (99, 100). *M. tuberculosis* genomunun RD1 bölgesinde lokalize genler tarafından kodlanan bu proteinler, anlamlı olarak PPD'ye kıyasla *M. tuberculosis*'e daha özgüldürler. Çünkü bu antijenler BCG alt zinciri ile veya *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum* ve *Mycobacterium szulgai* hariç diğer NTM türleri ile paylaşılmamaktadırlar (100, 101). Son 10 yılda yapılan araştırmalarla dört ticari IFN- $\gamma$  araştırmasına dayanan test geliştirilmiştir;

1. QuantiFERON-TB assay (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia)
2. T SPOT-TB assay (Oxford Immunotec, Oxford, UK)
3. QuantiFERON-TB Gold (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia)

#### 4. QuantiFERON-TB Gold (In-Tube metod).

Her dört test de, tüberküloz antijenlerine yanıt olarak T hücrelerinden salınan IFN- $\gamma$ 'yı ölçerek hücre aracılı bağışıklığı değerlendirmektedir. Bu testlerde, ELISA ve enzime-bağı immunospot assay (ELISPOT) yöntemleri kullanılmaktadır (99, 102).

Tüm IFN- $\gamma$  araştırmasına dayanan testler, IFN- $\gamma$  yanıtını ölçen hücre-temelli testler olsa da, bu testlerin çalışma özellikleri oldukça değişkendir. IFN- $\gamma$  araştırmasına dayanan testlerin TCT'e kıyasla pek çok avantajı vardır.

Latent tüberküloz eğilimi olan topluluklarda IFN- $\gamma$  araştırmasına dayalı testlerin duyarlılığının değerlendirildiği çalışmalarda, PPD'ye ve RD1 antijenlerine dayalı testlerde % 80'den fazla duyarlılık bildirilmiştir (103).

Her ne kadar IFN- $\gamma$  temelli testlerin TCT'e göre birçok üstünlükleri olsa da, bu testler daha pahalıdır. Ayrıca, IFN- $\gamma$  temelli testler latent ve aktif tüberkülozu ayıramamaktadır. Bu ayırım klinik bulgulara ve akciğer grafisine dayandırılarak yapılmalıdır. Oysaki, TCT'nin yorumu hasta popülasyonunun riskine bağlıdır. Ancak IFN- $\gamma$  temelli testler için böyle bir ayırım yoktur. Sonuçlar pozitif, negatif ve belirsiz yanıt olarak yorumlanır. Bir belirsiz yanıt TB enfeksiyonunun tanısında yarırsızdır. Bu durum mito-jenlere yanıt yokluğu olan anerjiyi düşündürebilir (104, 105).

#### 2.2.3.5. Nükleik Asit Amplifikasyon Yöntemleri

Tüberküloz toplum sağlığı açısından önemli bir sorun olmaya devam ettiği için tanısının hızlı konulmasını sağlayacak testlere ihtiyaç vardır. Nükleik asit amplifikasyon metodları ile 2-7 saatte tanı konulabilmektedir ve balgam yaymalarında ARB aranmasından daha sensitif bir testtir (106). Nükleik asit amplifikasyon metodlarının farklı testleri mevcuttur (106, 107).



### 2.2.3.6. Genetik Tanılama Yöntemleri (108)

- PCR restriksiyon enzim analizi (PRA)
- DNA probları
- Genetic sequencing

### 2.2.3.7. Konvansiyonel Olmayan Fenotipik Tanı Yöntemleri (108)

- Faj bazlı metod
- Mikrokoloni metodu
- Mikroskopik ilaç duyarlılık gözlem test (MODS)
- Hücre duvarı mikolik asit analizi

### 2.2.4. Tüberküloz ve Prokalsitonin

CT in öncü molekülü PCT, bir sistemik inflamatuvar protein olarak bilinmektedir. Serum PCT'nin, toplum kökenli pnömoni(TKP)'nin şiddetinin tahmin edilmesi ve TKP tanısı konmasında kullanışlı bir biyobelirteç olduğunu bildiren çok sayıda çalışma vardır (109, 110). TKP'ye eşlik eden yüksek serum PCT düzeyi, özellikle, yüksek mortalite oranlarıyla ilişkilendirilmektedir (111-115). TKP'nin aksine, pulmoner tüberkülozdaki (PTB) PCT düzeyleri hakkında kısıtlı veriler vardır. Yirmi yedi PTB hastası (116), 30 PTB hastası (117) ve 34 HIV pozitif PTB hastası (118) ile yapılan küçük ölçekli çalışmaların sonuçları, PTB'de serum PCT düzeylerinin yükselmediğini göstermiştir.

## 2.4. Tularemi

*Francisella* cinsi, iki türü kapsamaktadır: *Francisella tularensis* ve *F. philomiragia*. *F. tularensis*, ayrıca dört alt türe ayrılmaktadır: *F. tularensis* alttür *tularensis* (type A), *F. Tularensis* alt tür *holarctica* (type B), *F. tularensis* alt tür *novicida* ve *F. tularensis* alt tür *mediasiatica*(119). Tip A ve B, insanda görülen

hastalığın başlıca nedenleridir. *F. novicida* ise, farelerde virulan iken insanlarda avirulandır (120). Yabani kemirgenler, *F. tularensis* için doğal konakçıdırlar ve bu bakteri, kenelerde ve taze su amiplerinde de hayatta kalabilmektedir (121, 122). İnsan, bu bakteri için ara konakçıdır; bu nedenle, insanlardaki bildirimler genellikle sporadiktir. Kutanöz tularemi, hastalığın en yaygın formudur ve nadiren fatal seyrederek (123). Hastalığın tifoidal ve solunum formları, kontamine suyun içilmesi ve enfekte hayvan karkasları ile temas yoluyla edinilmekte, antibiyotikle tedavi edilmediğinde >% 30 oranda mortalite ile sonuçlanmaktadır (123).

#### 2.4.1. Hümmoral Bağışıklık

Çeşitli çalışmalar, antikorların, pulmoner tularemi de dahil olmak üzere *F. tularensis*'e karşı korumada önemli bir rol oynadıklarını(62); *Salmonella* ve *Ehrlichia*'nın (124) yanı sıra grip virüsü (125) gibi intrasellüler patojenlere bağlı enfeksiyonlara karşı gelişen savunmada etkin olduklarını ve hastalığın iyileşmesine katkıda bulunabileceklerini göstermiştir.

#### 2.4.2. Hüccresel Bağışıklık

*F. tularensis*'in intrasellüler doğası nedeniyle, CMI'nın bu bakteriye karşı korumada önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Artan kanıtlar, gerçekten de T hücrelerinin, *F. tularensis*'in tip A suşlarına karşı bağışıklık için önemli olduğunu düşündürmektedir (126, 127). Makrofajlar, *F. tularensis* enfeksiyonu için birincil konakçı hücreler olarak kabul edilmektedirler (120, 123, 128, 129). Ancak, enfeksiyonun intranazal bir modelinde lipozomal klodronat kullanılarak alveoler makrofajların (AM) tüketilmesi, hastalığın ilerlemesini durduramamıştır (130).

Makrofajların *F. tularensis*'e karşı koruyucu bağışıklığa katkılarının kesin bir biçimde belirlenmesi, makrofaj eksik hayvan modellerinin görece azlığı nedeniyle güçtür. Makrofajlar, normal farelerin alveollerinde baskın hücre tipi olduklarından, pulmoner bakteri enfeksiyonlarına karşı doğal immünitede kritik bir rol oynamaları olasıdır. Bu yüzden, *F. tularensis*'in hayatta kalmak adına makrofaj yanıtlarını bozacak yollar bulmuş olması da beklenen bir durumdur (129, 131). Ancak,

sitokinler ve antikorlardan oluşan bir adaptif bağışıklık, bu modülasyonu tersine çevirebilir ve makrofajların bakterilerin temizlenmesinde etkili hale gelmelerine olanak sağlayabilir. Makrofajların LVS'ye karşı antikor-aracılı korumada anahtar bir rol oynadıkları gösterilmiştir; çünkü, bu hücrelerin tüketilmesi, pasif antikor-aracılı korumanın ortadan kalkması ile sonuçlanmaktadır (130).

Bir başka antijen sunucu hücre olarak kabul edilen DC'ler, fagositoz yapabilmekte ve bakterinin yok edilmesine yardım edebilmektedir. Bu hücreler, fagositoz üzerine, IL-12 gibi sitokinler salgılamakta ve adaptif immün yanıtların başlamasına yardım eden CD80 ve CD86 gibi çeşitli moleküllerin ekspresyonunu upregüle etmektedir (132). LVS'ler, DC'lere girmekte ve bu hücrelerin içinde çoğalabilmektedir. Daha sonra CD40, CD80 ve CD86 ekspresyonu upregüle olmakta, fakat sitokin üretilmeyen anormal bir DC aktivasyonu gözlenmektedir (133, 134). *F. tularensis*'in tip A suşunda DC yanıtı, enfeksiyonu takiben tamamıyla inhibe olmaktadır (133).

### **2.4.3. Tularemi Tanı**

Tulareminin klinik tanısı, özgül olmayan belirtilerden oluşan bir tablo ile nadir olarak karşılaşılan bir enfeksiyon olması nedeniyle güçtür. Endemik olmayan bölgelerde çalışan doktorlar, bu hastalığı farketmeyebilirler. *F. tularensis* direk kültürü nadiren uygulanmaktadır ve hızlı tanı konulmasını sağlayacak bir tanısal yöntem henüz yoktur. Kültüre edilmesinde, zengin besi yeri ve biyogüvenlik düzey üç (Biosafety Level-3=BSL3) koşullarını sağlayan laboratuvar gerekmektedir.

## **2.5. Bruselloz**

Bruselloz, *Brucella* türlerinin neden olduğu çoklu sistem tutulumu ile seyreden bir hastalıktır. Bulaştan sonraki 2 hafta-3 ay içinde özgül olmayan semptomlar ortaya çıkar. *Brucella* türleri intrasellüler olarak özellikle retikuloendotelyal sistemde (RES) yerleşmektedir. Brusellozun klinik görünümü, sık görülmeyen prezentasyonları nedeniyle yanlış değerlendirilebilir. Atipik lezyonları

olan nadir olgular yayınlarda bildirilmektedir ve bu durum tanının laboratuvar testleri ile desteklenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Hastadan alınacak detaylı öykü ve bakterinin üretilmesi tanıda halen standart olan yöntemdir (135).

*Brucella* türleri insanlarda ve hayvanlarda kronik hastalığa neden olan, nötrofiller tarafından öldürülmeye dirençli, fakültatif intrasellüler patojenlerdir. Makrofajların ve fagositlerin içinde çoğalırlar ve konakçı hücrelerle uzun süreli bir etkileşim sürdürürler. İnsanlarda, *Brucella* enfeksiyonu, genelde enfekte makrofajların vücudun içinde belirli dokularda (dalak, beyin, kalp, kemikler) fiksasyonu ile sonuçlanan ondulan ateşle karakterize bir hastalıktır. *Brucella*; endokardit, artrit, menenjit ve osteomyelitte (136) neden olmakta ve bazı olgularda fatal seyredebilmektedir. Evcil hayvanlardaki (inekler, koyunlar, domuzlar, develer) enfeksiyon, esas olarak dişilerde abortusa, erkeklerde ise orşite neden olmaktadır (137). Doğadaki fareler enfekte olmazlar ve laboratuvar ortamında enfekte edilen fareler geçici bir bakteriyemi tablosu sergilerler; bakteriler, enfeksiyonun başlangıcından bir kaç hafta sonra yavaşça yok edilmektedir (138). Bu gözlemler, *Brucella*'nın farklı konakçıların immün sistemleriyle türe özel bir etkileşime girdiğini düşündürmektedir.

### 2.5.1. *Brucella* ve İmmünite

Makrofaj bir bakteriyi içine aldığı anda, bakterinin ölümünü neden olan bir süreç başlamaktadır. Ancak, patojenik bakteriler, fagositin saldırısından korunmayı sağlayan moleküler mekanizmalar geliştirmiştir (139). Patojenik bakterilerin saldırısı başarısız olduğunda, intramakrofajik bakteriyel çoğalmayı engellemek amacıyla makrofaj kendi apoptozunu indükleyebilir (140-143).

*Brucella* türleri, monositik/makrofajik hücreleri tercih eden ve bu hücrelerin içinde gelişen intrasellüler patojenlerdir. *B. suis* enfeksiyonunun insan monositlerinde spontan olarak meydana gelen apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir (144). Monosit apoptozunun önlenmesi, *Brucella* lipopolisakkariti aracılık etmemektedir ve enfekte hücrelerin içinde bakterilerin hayatta kalmasını gerektirir. Etkilenen ve etkilenmeyen hücrelerin korunmasında, enfeksiyon sırasında salıverilen çözünür aracı moleküllerin rol aldığına dair kanıtlar vardır. *B. suis* ile enfekte monositlerin

analizi, hematopoetik hücrelerin hayatta kalması görevini yürüten *bcl-2* familyasının bir üyesi olan A1 geninin aşırı eksprese olduğunu göstermiştir. *B. suis* enfeksiyonu; aynı zamanda makrofaj benzeri hücreleri, Fas liganđı veya -interferon ile indüklenen apoptoza karşı dirençli hale getirmektedir. Bu durum, *B. suis*'in monosit/makrofaj apoptotik yanıtını, konakçı hücrelerin yok edilmesini engelleyerek patojen lehinde modüle ettiğini göstermektedir. Bu fenomen, *B. abortus* ile enfekte edilen farelerde de gözlemlenmiştir (145).

### **2.5.2. *Brucella*'ya Karşı İmmün Yanıtla İlişkili Mekanizmalar**

Makrofajların bakteriyel enfeksiyonundan edinilen veriler, TNF- $\alpha$ 'nın fagositlerin antimikrobiyal aktivitesini doğrudan arttırdığını görüşünü desteklemektedir (146). Ayrıca, bağışıklığın özgül olmadığı erken evrede, NK hücreleri, makrofaj mikrobisidal aktivitesinin güçlü bir aktivatörü olan IFN- $\gamma$ 'yi üretmek üzere TNF- $\alpha$  tarafından etkinleştirilmektedir (16, 17). TNF- $\alpha$ , bu nedenle makrofaj mikrobisidal aktivitesinin erken uyarımı için bir ikincil habercidir.

Farelerdeki TNF- $\alpha$ ; IL-12 ve IFN- $\gamma$ 'nin erken indüklenmesinde ve sonuçta *Brucella* enfeksiyonuna karşı Th1 özgül bağışıklık korumasında anahtar bir rol üstlenmektedir (147, 148). İnsanlardaki TNF-  $\alpha$  üretimi üzerinde Omp25 tarafından indüklenen etki, bakterilerin bütün antimikrobiyal savunmalardan kurtulmasına yardım ediyor olabilir ve enfekte monositlerin içinde bakterinin hayatta kalmasına neden olabilir. Farklı gözlemler de bu görüşleri desteklemektedir:

-*In vitro* insan makrofaj enfeksiyonunda, dışarıdan verilen TNF- $\alpha$ , *Brucella*'nın konakçı hücrelerdeki çoğalma yetilerini dramatik olarak azaltmaktadır (149),

-Akut brusellozlu hastalarda NK hücre fonksiyonlarının inhibe olduğu gösterilmiştir (150),

-Bu hastalarda, INF- $\gamma$  üretimi ve T hücre yanıtlarında bozukluk gözlenmiştir (151, 152),

-Küçük bir alanla sınırlı bruselloz, Th2 diferensiasyonuyla ilişkilendirilmektedir (153).

### 2.5.3. *Brucella* ile Enfekte Makrofajlar ve TNF- $\alpha$ Üretimi

Enfeksiyöz süreç sırasında, *B. suis* 503 ile enfekte THP-1 hücreleri, önemli miktarlarda IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar sitokinler üretmekte, ama şaşırtıcı bir biçimde TNF- $\alpha$  üretmemektedirler. Aynı çalışmada, *E. coli*'ye verilen yanıt bağlamında, bu hücreler bu sitokini üretebilmektedir. TNF- $\alpha$ , *B. suis* ile enfekte hücrelerde, duyarlı bir biyolojik yöntemle bile tespit edilememektedir. Hücrelerin fagositoz sürecinde etkinleştiklerini ve TNF- $\alpha$ 'nın yokluğunun *Brucella* LPS'sinin zayıf uyarıcı aktivitesi ile açıklanamayacağını gösterecek biçimde, bu hücreler başka sitokinleri üretmektedir. Ayrıca, ısı ile öldürülen *B. suis* 503, THP-1 hücrelerinden IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  sitokin salıverilmesini tetikleyebilmektedir. Bu nedenle, aktif bir bakteriyel mekanizma, TNF- $\alpha$  ağına çıkması ile sonuçlanan uyarımda önemli bir basamağı veya basamakları özellikle bloke ediyor gibi görünmektedir (149). *E. coli* K12 veya ısıyla öldürülmüş *Brucella* ile enfekte hücrelerde, enfeksiyonun başlamasından 1.5-3 saat sonra TNF- $\alpha$  mRNA ekspresyonu doğrudan ulaşırken, *Brucella* ile enfekte hücrelerde TNF- $\alpha$ 'yı kodlayan herhangi bir mRNA ekspresyonu olmaması, bu mekanizmanın transkripsiyon aşamasında etki gösterdiğini düşündürmektedir. *Brucella* veya ısı ile öldürülmüş *Brucella* enfeksiyonunda, IL-10 veya IL-1RA mRNA'ları fagositozu takip eden 3 saat içinde indüklenmez ve istirahatteki hücrelerde yapısal olarak eksprese edilen dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$  (transforming growth factor=TGF- $\beta$ ) mRNA'lar aşırı eksprese olmaz veya modüle edilmez. Bu bulgular, IL-10, IL-1RA veya aktif TGF- $\beta$ 'ye karşı nötralize edici antikörlerin varlığında gerçekleştirilen *Brucella* enfeksiyonlarının herhangi bir TNF- $\alpha$  üretimini indüklemediğini düşündürmektedir. Bu nedenle, *Brucella* ile enfekte hücrelerin TNF- $\alpha$  üretememeleri, TNF- $\alpha$  sentezi ile sonuçlanan hücre sinyal yolağını doğrudan bozabilen bakteriyel etkinlikten kaynaklanmaktadır (149).

İnsanlardan veya evcil hayvanlardan farklı olarak, fareler doğal ortamlarında *Brucella* ile enfekte olmazlar ve laboratuarda indüklenen enfeksiyonda, bakteri bir kaç hafta sonra yok edilmektedir. Farenin iyileşmesini sağlayan immün mekanizmalar, görece iyi belgelenmiştir (147, 154). Bu nedenle, farelerdeki ve

insanlardaki immün yanıtların karşılaştırılması, TNF- $\alpha$  inhibisyonunun sonuçlarının analizi açısından önemlidir. Farede, IFN- $\gamma$ 'ya önemli bir rol atfedilmektedir (155), ama hızlı bir biçimde üretilen ve IFN- $\gamma$ 'nin etkilerini vüretimini modüle eden sitokinlerin de dikkate alınması gerekli gibi görünmektedir. Fare makrofajlarının pek çok farklı *Brucella* suşları tarafından enfekte edildiği *in vitro* modellerde (146, 156, 157), belirgin düzeyde inflamatuvar sitokin salıverilmesi gözlemlenmiştir. İnsan enfeksiyonunda olanın tersine, fagositozdan 6-7 saat sonra doruğa ulaşan hızlı ve belirgin bir TNF- $\alpha$  üretimi saptanmaktadır (146, 156). IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  üretimi, Balb/c farelerin *in vivo* deneysel enfeksiyonlarında da ortaya çıkmaktadır ve üretilen ilk sitokin TNF- $\alpha$ 'dır. Ayrıca, J774.A1 hücreleri *E. coli* LPS ile uyarıldığında, Omp25 proteinini eksprese eden *Brucella* süpernatantlarının varlığı, TNF- $\alpha$ 'nın üretimi üzerine etkide bulunmamaktadır. Bu durum, TNF- $\alpha$  üretiminde Omp25 tarafından indüklenen etkinin gerçekten de, insan makrofajlarında gerçekleşen ama fare hücrelerinde ortaya çıkmayan insana özgü bir etki olduğunu göstermektedir (158).

TNF- $\alpha$ , makrofaj fonksiyonlarının otokrin stimülasyonu için önemlidir (155). TNF- $\alpha$ 'nın fare makrofaj kültürlerine doğrudan eklenmesi, bakterinin hayatta kalma ve büyümesini etkilememektedir (159). Bununla birlikte, *B. abortus* ile enfekte farelerde; TNF- $\alpha$ , makrofajik anti-*Brucella* aktivitelerinin ortaya çıkması için gereklidir (147, 148, 154, 159):

-Enfeksiyonun erken safhalarında, *Brucella*'nın gelişmesi TNF- $\alpha$  reseptör genleri eksik olan farelerde dramatik bir artış göstermektedir,

-Çeşitli intrasellüler patojenlere karşı özgül bağışıklığın tetiklenmesinde önemli bir rol oynayan TNF- $\alpha$ , *Brucella* ile enfekte olan farelerde IL-12 ve IFN- $\gamma$ 'nın erken üretimini artırmaktadır.

#### **2.5.4. Brusellozda Tanı**

Bruselloz tanısında iki önemli kriter vardır:

1. *Brucella* türlerinin izolasyonu;

2. Klinik bulgular eşliğinde kanda *Brucella*'ya özgül yüksek titrede antikor varlığı (Standart tüp aglütinasyon testinde  $\geq 1/160$ , Coombs' testinde  $\geq 1/320$  titreler). Serokonversiyonun gösterilmesi de tanıda önemli olan bir diğer kriterdir(160).

ESR düzeyinin bruselloz tanısındaki değeri azdır. Sıklıkla görülen hematolojik bulgular arasında lökopeni, anemi ve trombositopeni sayılabilir. Diğer vücut materyalleri, örneğin beyin omurilik sıvısı (BOS), merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları olduğu zaman değerlendirilebilir. Karaciğer ve lenf nodu biyopsileri gibi kemik iliği biyopsileri de tipik olarak kazeöz olmayan granülomlar gösterir (135).

Bruselloza ait semptom ve bulguları iki aydan kısa süren olgular akut, 2 ay-1 yıl süren olgular subakut, 1 yıldan uzun süren olgular ise kronik olarak tanımlanmaktadır (161). Relaps, tedavi sonrasında hastalık semptom ve bulgularının yeniden ortaya çıkması ve/veya kan kültür pozitifliği olarak kabul edilmektedir. Relapsların çoğu tedavi sonrası 3-6 ay arasında meydana gelir. Fokal hastalığın tanımı ise, enfeksiyon semptom ve bulgularının en az bir anatomik bölgede yedi günden uzun süre devam etmesidir (162).

#### **2.5.4.1. Bruselloz Tanısında Kültür Yöntemi**

Brusellozun kesin tanısı kan, kemik iliği, doku biyopsisi ve BOS gibi örneklerden bakterinin izole edilmesi ile konulur (160). Kan ve kemik iliği kültürleri sıklıkla akut fazda pozitifdir (135). Kan kültürünün duyarlılığı laboratuvar pratiğine, kullanılan yonteme, kanda dolaşan bakteri miktarına ve bakteri türüne göre değişmekle birlikte pozitiflik oranı % 15-70 aralığındadır(160). Duyarlılık, lizis santrifügasyon yönteminin kullanılması ile artmaktadır (20). Kemik iliği kültürü, bakteri özellikle RES'de yüksek konsantrasyonda olduğu için altın standart yöntemdir ve pozitiflik zamanı (4.2 gün) kan kültürüne (5.8 gün) göre daha erkendir (160, 163). Buna karşılık, invazif ve ağırlı bir girişim olması nedeniyle sık tercih edilen bir yöntem değildir. Otomatize kan kültür sistemleri *Brucella* izolasyonunda güvenle kullanılabilir (164). Organizma oldukça yavaş üremektedir, bu nedenle inkübasyonu 4-6 haftaya uzatılmalıdır. BACTEC kan kültür sistemi ile bakteri, ilk yedi gün içerisinde, yaklaşık % 90 oranında izole edilmektedir (165). Negatif sonuç alınan kültürlerde 2-3 hafta sonrasında mutlaka pasajların yapılması önerilmektedir



(166). Laboratuvar çalışanlarına aerosol yolu ile bulaşabileceği için tüm çalışmalar biyolojik güvenlik kabininde yapılmalıdır.

Tanımlama: *Brucella* türleri, sporsuz, zayıf boyanan, Gram negatif minik kokobasillerdir. % 5 kanlı, çikolata ve BCYE (buffered-charcoal-yeast extract agar) besiyerlerinde ürer, MacConkey ve EMB agarda üremezler. Aerop olması nedeniyle üremesi için ortamda oksijen varlığı gereklidir. Oksidaz, katalaz, üreaz testleri pozitifdir. *Brucella* türleri, fuksin ve tiyoinin boyalarının farklı konsantrasyonlarında üreme, safranin inhibisyonu, H<sub>2</sub>S üretimi, üreaz testinin pozitiflik zamanı, CO<sub>2</sub>'li ortamda üreme, Tiblisi ve Weybridge faj lizisi özelliklerine göre alt türlere (*B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*, *B.canis*, *B.ovis*, *B.neotomae*, *B.pinnipediae* ve *B.cetaceae*) ve biovarlara (*B.melitensis* 1-3; *B.abortus* 1-6, 9; *B.suis* 1-5) ayrılmaktadır (160).

#### 2.5.4.2. Bruselloz Tanısında Serolojik Testler

Lipopolisakkaritlere karşı oluşan IgM antikoru, enfeksiyonun ilk haftasında, IgG antikoru ise en erken ikinci haftada yükselir. Her iki antikor tipi de dördüncü haftada pik yapar ve antibiyotik tedavisi ile düzeyleri azalır (160). Tedavi sonrasında IgG düzeyleri IgM'ye göre daha hızlı düşüş gösterir. IgG'nin hızlı düşüşü başarılı bir tedavinin göstergesi iken, düşme olmaması veya sonrasında tekrar yükselme olması durumunda klinik olarak relaps varlığından bahsedilebilir (167). Kronik hastalıkta IgG, IgA ile birlikte altı aydan uzun süre yüksek kalabilir (160). Ancak bu kriterler kesin değildir; antikor profili her zaman klinik ile uyumlu olmayabilir ve titreler uzun süre yüksek düzeylerde kalabilir.

*Rose-Bengal testi*: Bu yöntem, duyarlılığı yüksek, hızlı sonuç veren, uygulaması kolay, maliyeti oldukça düşük olan bir plak aglütinasyon testidir. *B.abortus'un* asit tampondaki süspansiyonu kullanılmaktadır. Aglütinan olan ve olmayan antikoru tespit etmektedir. Rose-Bengal testi, hastalık döneminden bağımsız olarak duyarlılığı yüksek olan bir yöntemdir. Ayrıca hızlı sonuç vermesi ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle insan brusellozunun tanısında tarama testi olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Testin özgüllüğü % 75-91 aralığında değişmektedir (168). Brusellozun endemik olduğu bölgelerde, hastalıkla tekrar karşılaşma

durumunda veya yeni geçirilmiş enfeksiyon hikayesi olan bireylerde tanıda tek başına kullanılması uygun değildir (168). *Brucella'nın* LPS yapısına bakıldığında, bu patojenin sepsis, şok ve disemine intravasküler koagülasyon yapma kapasitesi oldukça düşüktür, bu yüzden tedavideki birkaç günlük gecikme prognozu etkilememektedir. Kesin tanı için diğer serolojik testlerin sonucu beklenmelidir.

*Standart tüp aglütinasyon testi (STA, Wright):* İlk kez Wright ve arkadaşları tarafından 1897 yılında bruselloz tanısında kullanılan STA testinin diğer yöntemlere göre daha standart olduğu ifade edilmiştir (167). Tüm dünyada bruselloz tanısı için kullanılan en yaygın yöntemdir. 1/10-1/2560 aralığında dilüsyonları hazırlanan serum örneğinin üzerine *B.abortus* antijeni eklenir. 37°C'de 24 saat sonunda aglütinasyon varlığı değerlendirilir (169). Aglütinasyonun derecesi; 0=aglütinasyon yok, 1+ = % 25, 2+ = % 50, 3+ = % 75, 4+ = % 100 şeklinde skorlanır (167). En son aglütinasyonun tespit edildiği serum dilüsyonu (>%50, skor >2+) pozitif titre olarak değerlendirilir (169). STA testi ile bakterinin yüzeyindeki özellikle S-LPS'ye karşı oluşan total antikorlar tespit edilmektedir. IgG, IgM ve IgA antikorları bu yöntemle belirlenirken, özellikle IgM antikorları daha belirgindir (167). STA testinin dezavantajı, çok fazla sayıdaki serum örneklerinin taranmasındaki zorluktur. Ayrıca, diğer Gram negatif bakterilerle gösterdiği çapraz reaksiyonlar nedeniyle yorumlanması bazen sıkıntı yaratmaktadır. STA ile negatiflik saptandığında; ya enfeksiyonun çok erken dönemi, ya blokan (non-agglutinating, incomplete) antikorların varlığı veya prezon fenomeni söz konusu olabilir. Bu durum, kompleman birleşmesi testi, 2-merkaptoetanol (2-ME) testi veya Coombs' testi (anti-insan globulini ile muamele) uygulanarak giderilebilir (160).

*Prezon fenomeni:* Bu olay, hasta serumunda antikor fazlalığı nedeniyle düşük sulandırılarda aglütinasyonun görülmemesi olarak tanımlanır. Young ve arkadaşlarının (167) çalışmasında (1991), pozitif serumların % 6'sında prezon fenomeninin oluştuğu, sıklıkla düşük titrede (1:20), nadiren de >1:80 dilüsyonlarda rastlanabileceği bildirilmiştir.

*Blokan antikorlar:* Brusellozda iki tür antikor oluşmaktadır: a) Akut brusellozda oluşan IgG, IgM ve IgA yapısındaki aglütinan antikorlar; b) Daha çok kronik olgularda rastlanan IgG ve IgA yapısındaki blokan ya da eksik (non-agglutinating, incomplete) antikorlar (Şekil 1). Bu olayın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. *Brucella* eksik antikorları ile antijenin sensitize parçası spontan

olarak bağlanmakta, ancak aglütinasyon görülmemektedir (170). Yüksek devirde santrifüj sonrasında ve anti-insan globulin IgG muamelesi ile blokan antikorların bağlanması sağlanmaktadır. Serum örneğinde blokan antikorların varlığının saptanması için kullanılan yöntem şu şekilde uygulanmaktadır: 1) İlk tüpe 0.8 mL dilüent ve 0.2 mL hasta serumu konur ve 0.25 mL seri dilüsyonu yapılır; 2) Üzerine antijen eklendikten sonra, karıştırılır ve 37°C'de 48 saat su banyosunda inkübe edilir; 3) Blokan antikor yokluğunda, bütün tüplerde 4+ aglütinasyon meydana gelirken blokan antikor varlığında prezonu takiben tüplerde aglütinasyon görülür (167).

*Coombs' (anti-insan globulin) testi:* Blokan antikorları ve prezon fenomenini ortadan kaldırarak aglütinasyon testinin duyarlılığını artıran bir yöntemdir. STA testindeki tüplerin yüksek devirde santrifüj edilmesi sonrasında üzerlerine anti-insan IgG (Coombs' serumu) damlatılmaktadır. Bu yöntem iki farklı şekilde uygulanabilir:

a) STA testindeki tüpler 2000 xg'de 15 dakika santrifüj edilir, süpernatant atılır ve kalan antijen PBS (phosphate-buffered saline) (pH: 7.2) ile karıştırılır. Santrifüj ve yıkama işlemi 3 kez tekrar edilir. Son yıkamadan sonra 0.9 mL PBS ve 0.1 mL anti-insan IgG eklenir. 37°C'de 24 saat inkübe edilir. STA Coombs' serumu eklendikten sonraki titreler kaydedilir (167).

b) Yukarıdaki işlemler aynı şekilde uygulanır. Santrifüj işlemi 3000 xg'de 20 dakika yapılır. En son yıkamadan sonra süpernatant atılır ve üzerine 1 µl Coombs' serumu eklenir. 37°C'de 30 dakika inkübasyon sonunda sonuçlar değerlendirilir (169).

*Merkaptan testleri:* 2-ME ve dithiothreitol (DTT) kullanılarak yapılan bu yöntemde, IgM antikorlarının disülfid bağları indirgenmektedir. Serum örneğinin bu maddelerle muamele edilmesi sonrasında IgM yapısındaki antikorlar aktivitesini kaybederken, IgG yapısındaki antikorlar etkilenmemektedir (167). STA'ya göre bir tüp azalma anlamlı kabul edilir. STA testi ile total antikor düzeyi belirlenirken, 2-ME ve DTT testleri ile IgG antikorları tespit edilmektedir. 2-ME testi inaktif formun aktif kronik enfeksiyondan ayırt edilmesinde kullanılabilir. Relaps gelişen olgularda IgG ve IgA yüksekliği, bu yöntemle Coombs' ve ELISA yöntemine göre daha iyi tespit edilmektedir (171). Dikkat edilmesi gereken nokta, kalan titrenin sadece IgG'yi değil, IgA varlığını da ifade ettiğidir (162).

*"Dipstick" testi: Brucella'ya özgül IgM'nin tespiti akut brusellozun kronik olgulardan ayırt edilmesini sağlar. Bu yöntem, kolorometrik bir yöntem olup, hızlı sonuç verir ve kolay uygulanabilir. 5µL hasta serumu ile 250 µL reaktif karıştırılır. Antijen kaplı strip ile üç saat inkübe edilir. Kırmızı boyanmış antijen bandının görülmesi testin pozitifliğini göstermektedir (Şekil 2). Boyanmanın şiddetine göre 1+'den 4+'e kadar derecelendirilir. Smiths ve arkadaşlarının (172) (1999)yapmış oldukları çalışmada, testin özgülüğü % 98.6; duyarlılığı ise hastalığın ilk iki aylık dönemi için % 89, 2-4 ay için % 83.1, 4-6 ay için % 32.6 ve >6 ay süre için % 29.8 olarak bulunmuştur. Hastalık öyküsü kısa olan akut bruselloz olgularının tanısında kullanılabilir. Hastalık öyküsü uzun olan olgularda özgül IgM yanıtı azalacağı için, dipstick testi negatif sonuç verebilir. Test sonucu negatif olan serum örnekleri diğer yöntemlerle (Coombs' veya kültür yöntemi gibi) doğrulanmalıdır. Özel eğitilmiş personel gerektirmeyen bu testin reaktiflerinin uzun süreli oda ısısında saklanabilmesi de avantajları arasındadır (173).*

*Akım yöntemi (Flow Assay): Brucella'ya özgül IgG ve IgM antikorlarını tespit eden immünokromatografik bir yöntemdir. Bu yöntemin STA ve 2-ME'e göre daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (174). Yapılan çalışmalarda testin duyarlılığı % 96 ve % 100, özgülüğü % 96 ve % 99 olarak bildirilmiştir (175, 176). Hızlı, kolay uygulanabilir ve ekipmana ihtiyaç göstermeyen bu yöntemde, bir damla serum örneği kullanılarak 10-15 dakika içinde sonuç alınabilmektedir (Şekil 3). Akut, persistan ve kronik olguların takibinde kullanılabilir. Akut veya subakut olgularda IgM flow assay orta düzeyden (2+) çok güçlüye (4+) kadar boyanma gösterirken, IgG zayıf boyanmadan (1 +) orta düzeye (2+) kadar boyanma gösterir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde IgG 2+ iken, IgM 1+ boyanma gösterir.*

*Enzim immün yöntemi (ELISA): Bu yöntem IgG, IgM ve IgA düzeylerinin belirlenmesine olanak sağlar. Klinik yorumu daha iyidir. Çalışmalarda duyarlılık ve özgülüğü STA'ya göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo I). Nörobruselloz tanısında üstündür (177). Yapılan çalışmalarda farklı bakteriyel antijenlere (örn. korpusküler antijen, S-LPS veya protein antijenleri) karşı gelişen antikorların saptanabildiği belirtilmektedir (161, 162, 167, 178).*

ELISA yöntemi, diğer aglütinasyon yöntemlerine göre daha çok pozitiflik, daha yüksek titreler ve farklı sınıf antikorları tespit etme avantajına sahiptir; ancak katı fazın ve anti-globulinin yapısına bağlı olarak farklı sonuçlar alınabilmektedir. Bu

durum yöntemin duyarlılığını, özgüllüğünü ve uygulanabilirliğini etkilemektedir (161). Ayrıca, antikor profili her zaman klinikle uyumlu olmayabilir ve titreler uzun süre pozitif kalabilir. ELISA testleri, aglütinasyon yöntemlerine göre daha pahalı, donanım ve deneyim gerektiren testlerdir. Araj ve arkadaşlarının (179) yaptığı karşılaştırmalı bir çalışmada, RB ve STA yönteminin basit, güvenilir ve ucuz oldukları için akut bruselloz olgularında kullanılabileceği, kronik ve komplike olgularda bu yöntemlerin olguların % 7'sini kaçırabileceği ve dolayısıyla bu hastalarda ELISA yönteminin tercih edilebileceği vurgulanmıştır.

*Brucellacapt testi:* Son yıllarda geliştirilmiş olan bir hemaglütinasyon yöntemidir. Kuyucuklar insan kaynaklı IgG, IgM ve IgA antikorlarına karşı antikorlarla (Coombs' antikorları) kaplıdır. Kuyucuklarda sulandırılan hasta serumu üzerine boyalı *B.abortus* antijeni damlatılır ve 24 saat 37°C'de inkübasyon sonrasında reaksiyon değerlendirilir. *Brucella*'ya karşı oluşan her üç antikorunu ve blokan antikorları da tespit ettiği için saptadığı titreler STA ve Coombs yöntemine göre daha yüksek, duyarlılık ve özgüllüğü de bu yöntemlere göre daha fazladır (180). Bu yöntemde tüm *Brucella*'ya karşı oluşan (özellikle S-LPS) antikorlar bulunmaktadır. Orduna ve arkadaşları (180) Brucellacapt ve Coombs' testlerinin duyarlılığını, eşik titresini 1/160 olarak alındığında sırasıyla % 95.1 ve % 91.4, özgüllüğünü ise % 81.5 ve % 96.2 olarak bildirmiş; eşik titresini 1/320 olarak alındığında duyarlılığın sırasıyla % 91.5 ve % 82.9, özgüllüğün ise % 97.4 ve % 100 olduğunu ifade etmişlerdir. Ardıç ve arkadaşları (181) (2005) Coombs' testini referans test, eşik titresini ise 1/160 olarak kabul ettiklerinde, duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerinin Brucellacapt testi için sırasıyla, % 55.6, % 90 ve % 83.3 olarak bulmuşlardır. Bu araştırmacılar eşik titresini 1/320 olarak aldıklarında bu değerlerin sırasıyla, % 100, % 59.1, % 88.6 ve % 100 olduğunu vurgulamışlardır (181).

Diğer serolojik testler arasında yer alan kompleman birleşmesi, radioimmünassay ve floresan antikor yöntemleri ise kompleks, zaman alıcı, radyasyon zararlı, zor ve okunması subjektif olan testler olup, rutin laboratuvarlarda bruselloz serolojisinde tercih edilen yöntemler değildirler.

## 2.6. Sepsis

Sepsis, morbidite ve mortalite ile yakından ilişkili önemli bir tıbbi sorundur (182, 183). Her yıl, sadece ABD'de, yaklaşık 750.000 hastada, sepsis ve/veya mortalite oranı % 60'a kadar yükselen ağır sepsis gelişmektedir (182, 184, 185). Sepsis ve septik şok, ABD'de, ölüm nedenleri arasında 11. sırada dır (186). Bununla birlikte, sepsis ve sepsise bağlı komplikasyonlar, ABD'de hasta ve hastaneler için önemli düzeyde ekonomik yük oluşturmaktadır (182). Yakın zamanda yayınlanan kılavuzlarda, sepsis ve septik şoka neden olan organizmaların hızlı bir biçimde saptanmasının ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine hemen başlanmasının önemi vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, sepsisin etiyoloji ve fizyolojisinin anlaşılması da önemlidir (187). Sepsis; bir hastalık değil, çeşitli patojenler tarafından tetiklenen fizyolojik konakçı yanıtlarıyla karakterize heterojen bir sendromdur. Yaygın olarak, sistemik inflamatuar yanıt sendromu (SIRS) olarak bilinmektedir (188-190). Sepsis Konsensus Konferansı, SIRS'ı 4 klinik ve laboratuvar kriteri kullanarak tanımlamıştır: Kalp atım hızı, vücut ısısı, solunum sayısı ve White blood cells (WBC) (187). SIRS'la birlikte, pozitif kan kültürüyle doğrulanmış enfeksiyon, sepsis olarak kabul edilmektedir. Şiddetli sepsis, eşlik eden organ disfonksiyonu ve hipoperfüzyon olarak tanımlanmaktadır. Yeterli hidrasyona karşın hipotansif olan şiddetli sepsis hastalarının septik şokta oldukları kabul edilmektedir. Sepsisin başlangıç klinik belirtileri, örneğin ateş, yükselen WBC, tanı konmasına yardımcı olması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir çok çalışma, bu belirtilerin yeterince belirgin olmadıklarını ve bu nedenle sepsisin tekil veya kombine göstergeleri olarak yararlarının sınırlı olduğunu göstermiştir (191-195). Hipotansiyon ve yüksek laktat gibi klinik ve laboratuvar bulguları, sepsisin ileri aşamalarında ortaya çıkmaktadır ve genellikle şiddetli sepsis ve organ disfonksiyonunun göstergesi olarak kabul edilmektedirler. Sonuç olarak klinisyenler, sepsisli hastalar için daha doğru bir tanısal aracı sağlayacak bulgu ve belirteç arayışındadırlar (196-198).

### 2.6.1. Sepsis ve Prokalsitonin

PCT, sepsis tanısı konması sırasında günlük yaşanan hasta grubunda da yararlı bir biyobelirteçtir. PCT, çok gençlerde olduğu gibi yaşlılarda da bakteriyemi

tanısı için duyarlı bir belirteçtir (199, 200). Ayrıca, PCT bakteriyel yük (7) ve enfeksiyonun şiddeti ile güçlü bir ilişki göstermektedir (8). Schuetz ve arkadaşları (2007) tarafından yapılan bu çalışmanın sonuçları, PCT'nin, kan kültürü kontaminasyonunu kan yoluyla yayılan enfeksiyonlardan ayırt ettirebileceğini düşündürmektedir. Bu, kan kültürü kontaminasyonunun ayırt edilmesinin önemi dikkate alındığında PCT'nin rolünü iyi bir biçimde ortaya koymaktadır (9). PCT'nin bu üstün tanısal performansının, menenjit (4, 12), enfeksiyöz endokardit (13), idrar yolları enfeksiyonu (14) ve pnömoni (8, 15) gibi diğer enfeksiyon tabloları için de geçerli olduğu gösterilmiştir.

Çeşitli enfeksiyöz hastalıklara hızlı bir biçimde tanı konmasında PCT'nin yararlı olduğunu gösteren kanıtların varlığına karşın, zamanında ve doğru tanı konması ve uygun antimikrobiyal tedavinin başlanması sıklıkla sorun oluşturmaktadır. Şiddetli sepsis ve septik şok hastaları için zaten yüksek olan mortalite riski göz önünde bulundurulduğunda, uygun olmayan antimikrobiyal tedaviye başlanması ve bu nedenle de etkili tedavinin gecikmesiyle mortalite riskinin daha da yükselmesi olasıdır (201).

Antimikrobiyal direncin artışına dair mevcut gözlemlerle bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, biyobelirteçlerin sadece tanı koyma amacıyla değil, tedavinin etkinliğinin izlenmesinde de kullanılması mümkün görünmektedir. Ancak, antimikrobiyal tedavinin kritik durumdaki sepsis hastaları için seçimi, zamanlaması ve süresi, sıklıkla ampirik kurallara dayanmaktadır (202). Antimikrobiyal direncin artması ve çoklu ilaca direnç gösteren organizmaların ortaya çıkması, tedavi kılavuzlarını, uygun olmayan antimikrobiyal kullanımını sınırlandırmaya yöneltmiştir (203). Son 5 yılda, PCT'nin, sistemik bakteriyel enfeksiyonlu hastaların antibiyotik uygulanmasındaki yararını araştıran bir çok randomize kontrollü çalışma yayınlanmıştır (204-206). Nobre ve arkadaşları (2008), seri PCT ölçümlerine dayalı bir protokol geliştirilmesinin, yoğun bakım ünitelerine kabul edilen şiddetli sepsis veya septik şok hastalarına belirgin bir zarar vermeden antimikrobiyal tedavi süresinin kılmasını sağlayabileceğini öne sürmüştür (205). Bu çalışmada, hastalara, ilk 5 gün boyunca, yoğun bakımda günlük PCT ölçümleri yapılırken, kontrol grubundaki hastalara PCT ölçümü yapılmamıştır. PCT grubundaki hastaların antibiyotik maruziyetinde belirgin bir düşüş olmuş ve yoğun bakımda ortalama kalma süreleri kontrol hastalarına göre belirgin düzeyde

kısalmıştır. İki hasta grubu arasında, 28 günlük mortalite, klinik kür, veya reinfeksiyon/ nüks bakımından her hangi bir fark gözlenmemiştir. Aynı şekilde, alt solunum yolu enfeksiyonu hastaları üzerinde yapılan çalışmalar, PCT'nin, antimikrobiyal tedavinin de-eskasyonu için kullanışlı bir biyobelirteç olduğunu ve antibiyotik kullanımını azaltabildiğini saptamışlardır (7, 204-206). Buna ek olarak, iki derlemede (207, 208), PCT- kılavuzluğundaki algoritmalara uygun olarak tedavi edilen hasta grupları ve kontrol grupları arasında, mortalite veya enfeksiyonu nüksü açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışmaların büyük bir bölümünde, antibiyotik maruziyetinin yanı sıra, yoğun bakımda kalma süresinde de önemli ölçüde azalma gözlenmiştir.

## 2.7. Pnömoni

ABD'de bütün yaş gruplarında, mortalitenin en sık sekizinci nedeni olan pnömoninin, 2004'teki ölümlerin % 0.3'ünden sorumlu olduğu bildirilmiştir (209). ABD'de ayaktan tedavi gören 4.2 milyon pnömoni hastası vardır (210). İki bin altı yılında pnömoni nedeniyle 1.2 milyon kişi hastaneye yatırılmış ve 55.477 kişi ise yaşamını yitirmiştir (211). Tüm dünyada, toplumdan edinilmiş ağır pnömoni hastalarının mortalite oranı % 50'lere ulaşmaktadır (212). Gelişmekte olan ülkelerde şiddetli TKP, enfeksiyona bağlı hastalıkların en önemli nedenlerinden biridir (213).

Bu problemin ışığında, TKP kullanılan tanısal ve prognostik yöntemler, aşağıdaki iki nedenden dolayı güçlük oluşturmaktadır. Birincisi, pnömoni tanısında kan ve balgam kültürlerinin, mikroorganizmayı ayırt etme açısından yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmamasıdır (214). İkincisi, klinisyenlerin, başlangıç antibiyotik tedavisinin bakteriyel enfeksiyonu mu, yoksa bakteriyel olmayan enfeksiyonu mu tedavi etmesi gerektiğine karar vermeleridir (215). Geleneksel olarak antibiyotik kullanımı kararı, klinik belirtiler ve göğüs radyografisi değerlendirmesi göz önünde bulundurularak verilmektedir. Farklı enfeksiyöz ajanlar, benzer semptomlar ve radyografik bulgularla ortaya çıkabileceğinden, belirtiler ve/veya radyografilerden yola çıkarak bakteriyel ve bakteriyel olmayan enfeksiyonlar birbirinden ayırt edilememektedir (216). Bu nedenle, TKP'de antibiyotik seçimi karmaşıktır. Örneğin, bazı bakteriyel olmayan pnömoni (viral hastalıklar veya enfeksiyöz olmayan) hastalarına, bakteriyel enfeksiyon tanısı konabilmektedir. Ancak,



bakteriyel olmayan hastalıkta antibiyotik tedavisi etkin değildir ve allerjik reaksiyon riski yanında antibiyotik direnci prevalansının, sağlık harcamalarının ve toksisitenin artmasına katkıda bulunmaktadır (217). Tersine, bakteriyel TKP, saptanması güç klinik ve radyografik bulgular nedeniyle, yanlışlıkla enfeksiyöz olmayan pnömoni olarak değerlendirilebilmektedir (216). Bakteriyel TKP'de, antibiyotik tedavisine gecikmeden başlanması çok önemlidir. Antibiyotik tedavisine başlanmasında 4 saatten daha uzun süreli gecikme, ölüm oranının artmasıyla ilişkilendirilmektedir (109).

İkincisi, TKP'de hastalığın şiddetinin belirlenmesinde ve prognozunun öngörülmesindeki güçlüktür (218). Klinisyenlerin, şiddetli TKP'de ilerlemesiyle kötüleşme riski taşıyan hastaları saptaması çok önemlidir. Böylece klinisyenler, hastaya doğru ve hızlı bir biçimde müdahale edebilirler (219). TKP nedeniyle hastaneye başvuran hastaların büyük bölümünün başlangıç tedavisi acil serviste yapılmaktadır (220). Bu hastaların hastaneye yatırılması önemlidir (221). Yatış sonrası, bir servisten yoğun bakım ünitesine (YBÜ) sevk edilen TKP hastalarının mortalite oranı, doğrudan YBÜ'ye kabul edilen hastalardan daha yüksektir (222).

### **2.7.1. Pnömoni ve Prokalsitonin**

Pnömoni şiddet indeksi (PSI), TKP hastalarını sınıflandırmada ve hastalığın şiddetini belirlemede kullanılan klinik skorlama sistemlerinden biridir (222). Ancak, PSI'nin kullanımı karmaşıktır ve 20 değişkeni skorlamak üzere bir bilgisayar programı gerektirmektedir. Düşük mortalite oranına sahip hastalarla karşılaştırıldığında yüksek mortalite oranına sahip hastaların değerlendirilmesinde ölçü aracının geçerliliği yeterli düzeyde değildir(223). Tanısal ve prognostik belirsizlik dikkate alındığında, PCT, tipik bakteriyel pnömoninin ayırt edilmesi ve TKP'den kaynaklanabilecek mortalitenin öngörülmesi açısından önemli bir biyobelirteç olarak düşünülmektedir. Biyobelirteçler, bakteriyel enfeksiyonun varlığının nicel olarak saptanmasında kullanışlıdır ve klinik skorlama sistemlerinden daha kolay sonuç verir. Çeşitli biyobelirteçler arasında, PCT'nin umut veren bir biyobelirteç olduğu düşünülmektedir (218). Kalsitonin hormonunun öncül peptidi olan PCT, mikrobiyal enfeksiyonlarda ve inflamasyonda yükselir (224). PCT, mikrobiyal toksinler yoluyla doğrudan, veya, hümmoral ya da hümmoral konakçı tepkisi

ile dolaylı olarak indüklenen bir inflamatuvar sürece bağı olarak salıverilebilmektedir (225). Bu indüklenme, viral veya güç üreyen organizmalara (örn. *Mycoplasma*, *Chlamydia*) bağı enfeksiyonlarda zayıflayabilmektedir. Atipik patojenlerin neden olduğı enfeksiyonlarda PCT'nin daha belirgin olmayışının sebebi bu olabilir (226). PCT, büyük bir bakteri yükü veya aşırı inflamatuvar yanıtı ayırt ettirebilen önemli bir serum belirteci gibi görünmektedir. Yüksek PCT düzeyleri, hastanın akciğerlerinde yaygın konsolidasyon veya septik şok gibi olumsuz durumlara işaret edebilir (218). Bu nedenle, yükselmiş PCT düzeyi, mortalite ve hastalık şiddetiyle ilişkili olabilir.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Etik Kurul Onayı**

Çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan 15.02.2011 tarihinde 2011/0019sayı numarası ile yazılı onay alınmıştır;ve Helsinki Deklarasyonu'na (227) ve İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu'na(228) uygun şekilde yürütülmüştür.

#### **3.2. Çalışma Grubunun Seçimi**

##### **3.2.1. Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonları**

###### **3.2.1.a. Tüberküloz**

Pulmoner TB ve ekstrapulmoner TB olmak üzere toplam 14 tüberküloz hastası çalışmaya alındı. Tanı, klinik, radyolojik ve/veya mikrobiyolojik/histopatolojik bulgular ile konuldu.

Tanı konulmasında; radyolojik değerlendirmede direkt Akciğer grafisi ve /veya tomografi (BT), mikrobiyolojik değerlendirme balgam veya vücut sıvılarından alınan örnekler Erlich-Ziehl-Neelsen metoduyla boyama, Löwenstein-Jensen besiyerine ekimve/veya PCR yöntemi kullanıldı. Histopatolojik değerlendirmede ise etkilenen bölgeden alınan örnekte kazeifikasyon nekrozu içeren granülatöz inflamasyonun gösterilmesi anlamlı kabul edildi.

###### **3.2.1.b. Bruselloz**

Klinik bulgulara ek olarak, kan kültüründe bakterinin üretilmesi ve/veya standart tüp aglütinasyon (STA) testi ile 1/160 üzerinde pozitiflik saptanması ile tanı konulan 30 bruselloz hastası alındı.

### **3.2.1.c.Tularemi**

Klinik bulgulara ek olarak, serolojik olarak mikroaglutinasyonda 1/160 titre üzerinde *F. tularensis* antikor pozitifliği saptanması ile tanı konulan 28 tularemi hastası alındı.

### **3.2.2. Hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonları**

HD yerleşim yapan patojenlerle gelişen sepsis, pnömoni ve yara yeri enfeksiyonu tanısı konan 47 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bireylerin sosyodemografik ve klinik özellikleri kaydedildi.

#### **Çalışmaya dahil edilme kriterleri**

- Cinsiyet ayırımı gözetmeksizin, 18-70 yaş arası aktif akciğer tüberkulozu tanısı konan hastalar,
- Cinsiyet ayırımı gözetmeksizin, 18-70 yaş arası aktif bruselloz tanısı konan hastalar,
- Cinsiyet ayırımı gözetmeksizin, 18-70 yaş arası aktif tularemi tanısı konan hastalar,
- Karşılaştırma grubu olarak, cinsiyet ayırımı gözetmeksizin, 18-70 yaş arası sepsis, pnömoni, yara yeri enfeksiyonu tanısı konan hastalar,
- Çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul etmiş ve hasta bilgilendirme formunu okuduktan sonra onam formuna onay (imza) vermiş olan bireyler.

#### **Çalışmadan dışlama kriterleri**

- 18 yaş altı veya 70 yaş üstü hastalar,
- Otoimmün hastalık,
- Diabetes mellitus,

- Malignite,
- Serebrovasküler hastalık,
- Hipertansiyon,
- Kronik obstruktif akciğer hastalığı gibi sistemik hastalığı olanlar,
- Son 1 ay içinde diğer enfeksiyonları geçirmiş veya geçirmekte olan hastalar.

### 3.3. Laboratuvar Analizleri

Bu çalışmada; tam kan sayımı, ESR, CRP ve PCT değerlendirmeleri yapıldı. Tam kan sayımı Beckman Coulter LH780(*Hematology Analyzer with LH SlideMaker and LH SlideStainer*) cihazı ile yapıldı. CRP düzeyleri, Beckman Coulter 378020(*378020: Beckman Coulter, Fullerton CA, USA*) kiti ile ölçüldü. Bir saatlik ESR (westergren yöntemi) değerlendirildi.

Serum PCT düzeyi, enzim bağlantılı floresan testi (enzyme-linked fluorescent assay=ELFA; VIDAS BRAHMAS PCT, bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) ile ölçüldü.

Bu testte, insan PCT'sine karşı alkalen fosfataz ile işaretli fare monoklonal immünoglobulinleri kullanılmaktadır. Serum örnekleri, konjugatlarla reaksiyona girmekte ve yayılan sinyaller otomatik olarak ölçülmektedir. Testin en düşük saptama sınırı 0.05 ng/ml dir.

### 3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen tüm veriler bilgisayarda Windows işletim sisteminde, "Statistical Package for the Social Science" (SPSS) 11.5 kullanılarak analiz edildi.

Tanımlayıcı istatistiksel analizler yapıldıktan sonra (frekans, yüzde dağılımı, medyan [minimum maksimum]); 0.05 ng/ml'nin altında saptanamayan değerlere sahip olan PCT karşılaştırmalarında, saptanamayan PCT değerleri kesme noktasının yarısı

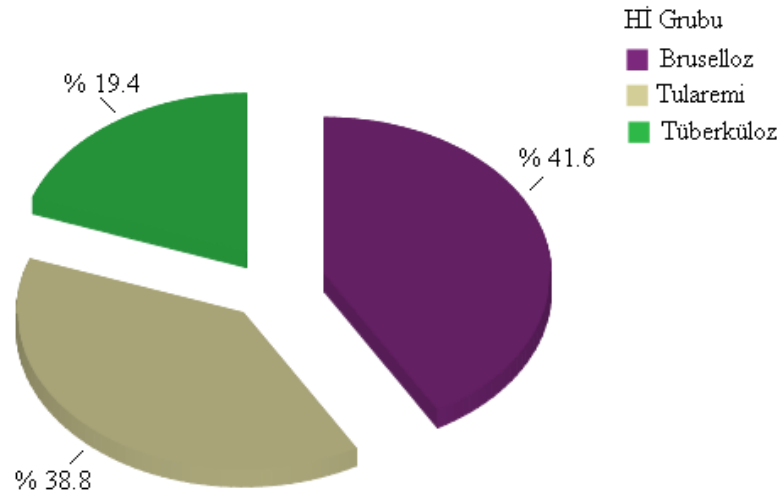
değerinde alındı. İki'den fazla sayıda grubun karşılaştırıldığı durumlarda *Kruskal Wallis testi* ve ikili karşılaştırmalar için *Mann-Whitney U testi (Bonferroni düzeltmesi)* kullanıldı.

$p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının grubunda 72 olgu (% 60.5), HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının grubunda 47 (% 39.5) olgu vardı.

Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının grubunda bruselloz tanısı konan 30 (% 41.6) olgu, tularemi tanısı konan 28 (% 38.8) olgu ve tüberküloz tanısı konan 14 (% 19.4) olgu vardı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hücreiçi yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının dağılımı

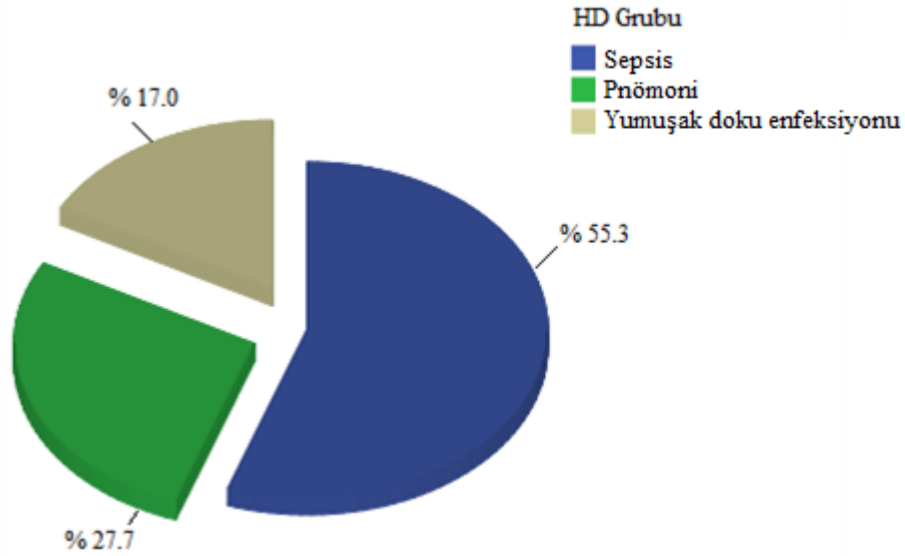
Bruselloz grubunda, kan kültüründe üreme olan 4 (% 13.3) olgu, üreme olmayan 26 (% 86.7) olgu vardı. Kan kültüründe üreyen mikroorganizma *Brucella spp.* idi. Hastalara rifampisin + doksisisiklin veya doksisisiklin + streptomisin başlandı.

Tularemi grubundaki 28 olgudan 23'ünde (% 82.2) orofarengeal tularemi, 4'ünde (% 14.3) ülseroglandüler tularemi ve 1'inde (% 3.5) pnömonik tularemi saptandı. Orofarengeal tularemisi olan 15 olguda lenfadenopati gözlemlendi. Hastalara streptomisin veya doksisisiklin + siprofloksasin başlandı.

Tüberküloz grubunda PTB 8 (% 57.1) olgu ve ekstrapulmoner TB 6 (% 42.9) olgu vardı. Ekstrapulmoner TB vertebra tutulumu olan 2 olgu, genitoüriner tutulumu olan 2 olgu ve lenfadenit saptanan 2 olgu vardı. PTB' da ARB pozitif olan 7 olgu, ARB negatif olan 1 olgu saptandı. PTB grubunda balgam kültüründe üreme olan 2

(% 14.2) olgu, balgam kültüründe üreme olmayan 6 olgu vardı. Balgam kültüründe üreyen mikroorganizma *M. tuberculosis* idi. Ekstrapulmoner TB grubunda vertebral tutulumu olan iki olgunun, üriner tutulumu olan bir olgunun ve lenfadenit saptanan 2 olgunun tanısı histopatolojik değerlendirmede kazeifaksiyon nekrozu içeren granülomatöz inflamasyon saptanması ile konuldu. Üriner tüberküloz olan bir hastanın dren kültüründen *M. tuberculosis* üredi. Hastalara 4' lü anti tüberküloz tedavi başlandı.

HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının grubunda sepsis tanısı konan 26 olgu (% 55.3), pnömoni tanısı konan 13 olgu (% 27.7) ve yumuşak doku enfeksiyonu tanısı konan 8 olgu (% 17.0) vardı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının dağılımı

Sepsis, ciddi sepsis, septik şok ve/veya doku hipoperfüzyonu bulguları olan 26 hasta sepsis grubuna alındı. Sepsis tanısı konan 21 hasta yoğun bakım şartlarında, 5 hastada klinikte takip edildi. Primer odağı üriner enfeksiyon olan 16 sepsis hastasının 12'sinde sadece idrarda, 4'ünde hem idrar, hemde kan kültüründe üreme oldu. Etkenler *Enterococcus spp* (1), *Escherichia coli* (13), *Acinetobacter spp* (2) di. 7 sepsis hastasının primer odağı VIP ve/veya nozokomiyal pnömoni idi. Üçünde kankültürü ve trakeal aspirat, 2'sinde sadece trakeal aspiratta üreme oldu. Etkenler *E. coli* (2), *Acinetobacter spp* (2), ve *Pseudomonas aeruginosa* (1) idi. İki hastada etken saptanamadı. Primer odağı belli olmayan 3 hastanın alınan kültürlerinde etken saptanamadı..



Klinik ve akciğer grafisi bulguları ile pnömoni tanısı konulan ve klinikte takip edilen 13 hasta pnömoni grubu olarak tanımlandı.

Cerrahi yaraenfeksiyonu (n=5)ve selülit (n=3) olan 8 hasta yumuşak doku enfeksiyonu grubu olarak tanımlandı.

HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarında üreyen mikroorganizmalar analiz yapıldığında kan kültüründe üreyen mikroorganizmalar *Enterococcus* spp(1), *E. coli*(1), *Acinetobacter* spp(4), *Enterobacter* spp.(1) ve *P. aeruginosa*(1), trakeal aspiratta üreyen mikroorganizmalar *E. coli*(4), *Acinetobacter* spp(4), *Ewingella Americana*(1) ve *P. aeruginosa*(1), idrar kültüründe üreyen mikroorganizmalar *Enterococcus* spp(1), *E.coli*(12), *Acinetobacter* spp(2), ve *Klebsiella* spp.(2) idi. Yara kültüründe üreyen mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus* ve *Morganella morganii* idi.

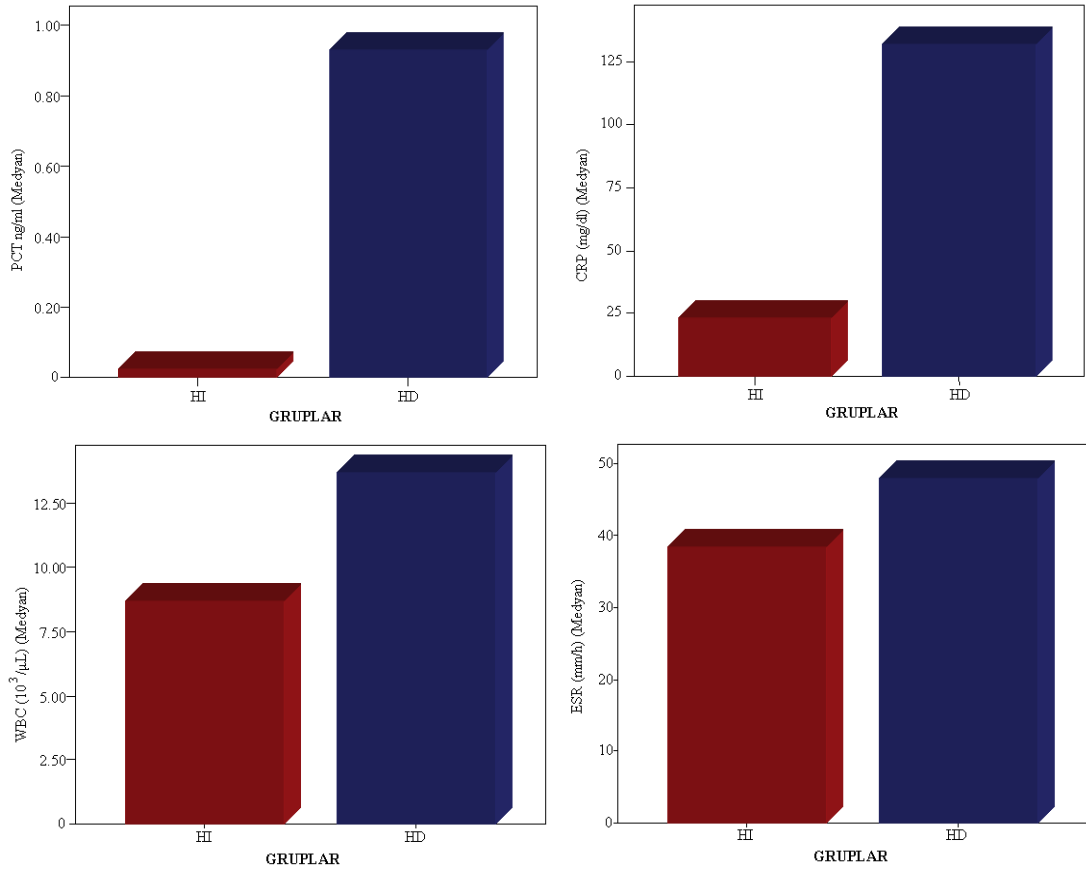
Hİyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun yaş medyanı (min-maks) 44.50 (15-72) yıl, HDyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun yaş medyanı (min-maks) 60 (21-89) yıl olarak saptandı. HDyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun yaş medyanı, Hİyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun yaş medyanından yüksekti ( $p<0.001$ ). Hİyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hastagrubunda 35 (% 48.6) erkek, 37 (% 51.4) kadın olgu vardı. HDyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hastagrubunda 24 (% 51.1) erkek, 23 (% 48.9) kadın olgu vardı. İki grubun cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmadı ( $p=0.084$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** HDve Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

	GRUPLAR				p
	Hİ (n=72)		HD (n=47)		
	Med (Min-Maks)		Med (Min-Maks)		
Yaş (yıl)	44.50 (15-72)		60 (21-89)		<0.001*
	n	Sütun % n	n	Sütun % n	
Cinsiyet Erkek	35	48.6	24	51.1	0.941**
Kadın	37	51.4	23	48.9	

\*Mann Whitney U Test

\*\*Yates Ki-kare Test



**Şekil 4.3.**Hücre içi ve hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarında PCT, CRP, WBC ve ESRdeğerlerine ait çubuk grafikleri.

Hİyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun PCT düzeyleri, HDyerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun PCT düzeylerinden düşüktü( $p<0.001$ ) (**Tablo 4.3, Şekil 4.3**).Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun CRP değerleri HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun CRP değerlerinden düşüktü ( $p<0.001$ ).Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubundaki olguların WBC değerleri, HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü ( $p<0.001$ ). Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubu ile HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta grubunun ESR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptanmadı ( $p=0.107$ ) (**Tablo 4.3 ve Şekil 4.3**).

**Tablo 4.3.**Hücre içi ve hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarındaPCT, CRP, WBC ve ESR değerlerine ait karşılaştırmalar.

	GRUPLAR						P*
	Hİ (n=72)			HD (n=47)			
	Medy	Min	Maks	Medy	Min	Maks	
PCT (ng/ml)	0.025	0.025	2.150	0.930	0.025	102.030	<0.001
CRP (mg/dl)	23	0.21	368	132	15	328	<0.001
ESR (mm/h)	38.50	1.00	127.00	48.00	2.00	110.00	0.107
WBC(10 <sup>3</sup> /μL)	8.70	2.10	82.00	13.70	3.90	61.00	<0.001

\*Mann-Whitney U Test

Sepsis, pnömoni ve yumuşak doku enfeksiyonu gruplarının PCT değerleri arasında anlamlı fark vardı (p<0.001). Sepsis grubunun PCT değerleri, pnömoni (p=0.005) ve yumuşak doku enfeksiyonu (p=0.005) grubunun PCT değerlerinden yüksekti. Pnömoni ve yumuşak doku enfeksiyonu grubunun PCT değerleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.291). Üç grubun CRP değerleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.454). Sepsis grubunun WBC (p<0.001) ve ESR (p=0.001) değerleri, pnömoni grubundan yüksekti. Sepsis grubunun WBC (p=0.858) ve ESR (p=0.921) değerleri ile yumuşak doku enfeksiyonu grubunun WBC ve ESR değerleri arasında anlamlı fark yoktu. Pnömoni ve yumuşak doku enfeksiyonu gruplarının WBC (p=0.020) ve ESR (p=0.089) değerleri arasında anlamlı fark yoktu (**Tablo 4.4**).

**Tablo 4.4.**Sepsis, pnömoni ve yumuşak doku enfeksiyonu gruplarının PCT, CRP, WBC ve ESR değerlerine ait karşılaştırmalar.

	GRUPLAR									P*
	Sepsis (n=26)			Pnömoni (n=13)			Yumuşak doku enfeksiyonu (n=8)			
	Med	Min	Maks	Med	Min	Maks	Med	Min	Maks	
PCT (ng/ml)	3	0.050	102.030	0.270	0.050	62.400	0.115	0.050	58	<0.001
CRP (mg/dl)	144.50	15	328	96.24	26	320	116	23	272	0.454
ESR (mm/h)	57.50	10	110	27	2	61	65	5	94	0.007
WBC(10 <sup>3</sup> /μL)	15.10	7.40	61	8.40	3.90	14.50	14.82	4.80	23.60	0.001

\*Kruskal-Wallis Test

Tüberküloz, tularemi ve bruselloz gruplarının PCT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark yoktu (p=0.305). Tüberküloz, tularemi ve bruselloz gruplarının CRP değerleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.640). Tüberküloz, tularemi ve bruselloz gruplarının WBC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptanmadı. Tüberküloz grubu ile tularemi grubunun WBC değerleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.989). Üç grubun ESR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (p<0.001). Bu fark,

bruselloz grubunun ESR değerlerinin, tüberküloz (p=0.001) ve tularemi (p=0.001) gruplarından düşük olmasından kaynaklanıyordu. Tüberküloz grubu ile tularemi grubunun ESR değerleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.362). Üç grubun PLT (p=0.069) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptanmadı (**Tablo 4.5**).

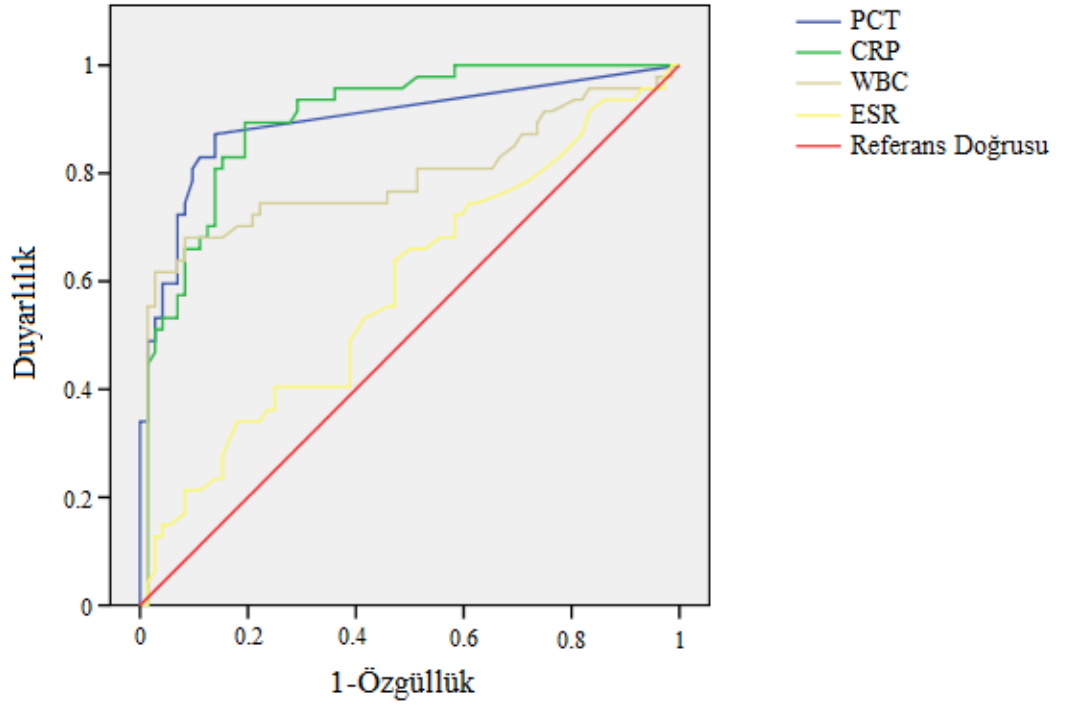
**Tablo 4.5.**Tüberküloz, tularemi ve bruselloz gruplarınınPCT, CRP,WBC, PLT, ESR ve CRP değerlerine ait karşılaştırmalar.

	GRUPLAR									P*
	Tüberküloz (n=14)			Tularemi (n=28)			Bruselloz (n=30)			
	Med	Min	Maks	Med	Min	Maks	Med	Min	Maks	
<b>PCT (ng/ml)</b>	0.025	0.025	0.880	0.025	0.025	2.150	0.025	0.025	0.550	0.305
<b>CRP (mg/dl)</b>	23.50	1.46	368	24	1.82	135	18	0.21	109	0.640
<b>ESR (mm/h)</b>	51.00	16.00	127.00	52.00	15.00	94.00	23.00	1.00	77.00	<b>&lt;0.001</b>
<b>WBC(10<sup>3</sup>/µL)</b>	8.82	5.40	11.60	9.33	4.90	11.90	7.60	2.10	82.00	<b>0.048</b>
<b>PLT (10<sup>3</sup>/µL)</b>	291.22	146.00	838.00	283.20	182.00	598.00	292.77	150.00	293.23	0.069

\*Kruskal-Wallis Test

HD ve Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta olguları için oluşturulan ROC eğrilerinde PCT için eğri altı alan (EAA) 0.921 (p<0.001), 0.07 ng/ml'lik kesme noktası için duyarlılık % 87.2 ve özgüllük % 86.1 (0.10 ng/ml'lik kesme noktası için duyarlılık % 83.0 ve özgüllük % 88.9); CRP için EAA 0.920 (p<0.001), 44 mg/dl'lik kesme noktası için duyarlılık % 89.4 ve özgüllük % 80.6; WBC için EAA 0.809 (p<0.001), 10x10<sup>3</sup>/µL'lik kesme noktası için duyarlılık % 72.3 ve özgüllük % 79.2; ESR için EAA 0.738 (p<0.001), 46 mm/h'lik kesme noktası için duyarlılık % 55.3 ve özgüllük % 54.2 idi (**Şekil 4.4**).

### HD ve Hİ ROC Eğrileri



**Şekil 4.4.** Hücre içi ve hücre dışı yerleşim yapan bakteri enfeksiyonu olan hasta olgularında; PCT, CRP, WBC ve ESR değerleri için elde edilen ROC eğrileri

## 5. TARTIŞMA

Çeşitli biyobelirteçler, enfeksiyöz hastalıklarda tanı koyma ve tedavinin etkinliğinin izlenmesinde umut vaat etmektedir. PCT, bu belirteçlerden biridir. PCT; menenjit (4, 12), enfeksiyöz endokardit (13), idrar yolları enfeksiyonu (14) ve pnömoni (8, 15) gibi enfeksiyon tablolarında da yüksek tanılal performansa sahiptir. PCT bakteriyel yük (7) ve enfeksiyon şiddeti (8) ile güçlü bir ilişki göstermektedir. PCT, her yaş grubunda bakteriyeminin saptanmasında duyarlılığı yüksek bir biyobelirteçtir (199, 200).

CT hormonunun öncül peptidi olan PCT, mikrobiyal enfeksiyonlarda ve inflamasyonda yükselmektedir (224). PCT, mikrobiyal toksinler yoluyla doğrudan, veya, hüneral ya da hünerel konakçı reaksiyonu ile dolaylı olarak indüklenen bir inflamatuvar sürece bağlı olarak salıverilebilmektedir (225). Bu indüklenme, viral veya güç üreyen organizmalara (örn. *Mycoplasma*, *Chlamydia*) bağlı enfeksiyonlarda zayıflayabilmektedir. Atipik patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda PCT'nin daha belirgin olmayışının sebebi bu olabilir (226). Bizim çalışmamızda da, HD yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda PCT, CRP düzeylerinin Hİ yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlara göre daha belirgin düzeyde yükseldiğini görüldü. HD yerleşim yapan bakteriler ile gelişen enfeksiyonlarda gelişen yüksek bakteri yükü veya aşırı inflamatuvar yanıtın ayırt edilmesinde PCT önemli bir serum belirteci gibi görünmektedir. Gerçektende, PCT, yaygın enfeksiyonun ayırt edilmesinde avantajlı bir biyobelirteç olarak bilinmektedir (6).

Hİ ile HD yerleşimli enfeksiyonların immünopatogenezi belirgin farklılık göstermektedir. Hİ yerleşimli enfeksiyonlara karşı T hücreleri tarafından geliştirilen hünerel immün yanıt ile etkili olunmaktadır. Yardımcı hücreleri tarafından IFN- $\gamma$  başta olmak üzere bazı sitokinler salgılanarak makrofaj aktive edilmekte ve makrofaj içerisinde yerleşmiş olan mikroorganizmanın yok edilmesini sağlamaktadır (16, 17). HD yerleşimli enfeksiyonlar'da B lenfositler tarafından oluşturulan ve antijeni spesifik olarak tanıyıp ortadan kaldırılmasını sağlayan antikorlar (humoral immünite) rol oynar. B lenfositler antijenik uyarıyı takiben plazma hücrelerine dönüşmekte ve antikor üretmektedirler. Antikorlar, başta nötrofiller ile bakterilerin fagositozun kolaylaştırılması olmak üzere değişik mekanizmalar kullanarak HD'da bulunan

mikroorganizmaların yok edilmesini sağlamaktadır (18). İmmunopatogenezdeki bu farklılık ile ilişkili olarak, PCT'nin HD bakteriyel enfeksiyonlarda daha belirgin olarak yükseldiği düşünülmektedir.

Gönüllü bireylerle yapılan çalışmalarda ve klinik gözlemlere dayanarak, lipopolisakkaritlerin (LPS) PCT üretimi için potent bir indükleyici olduğu bildirilmiştir (229). Çeşitli çalışmalarda, PCT ekspresyonunun artmasında; LPS, fitohemaglutinin ve proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6) rolünün olduğu belirlenmiştir (229-231). HD ve Hİ yerleşim gösteren mikroorganizmaların karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamakla birlikte, bizim çalışmamızla uyumlu olarak, intrasellüler yerleşim gösteren, gram negatif bir basil olan *Coxiella burnetii* ile gelişen Q ateşinde PCT düzeylerinin olguların büyük çoğunluğunda normal sınırlarda olduğu belirlenmiştir (232).

HD ve Hİ yerleşim yapan bakteriler ile gelişen enfeksiyonlar arasında bazı klinik ve laboratuvar farklılıklar olduğu bilinmektedir. Bu enfeksiyonların tanı ve tedavisinde WBC, CRP, ESR gibi laboratuvar bulgular önemle değerlendirilmektedir. Bizim çalışmamızda da bu enfeksiyonların birbirinden ayırt edilmesinde PCT'in yeri sorgulanmıştır. Çalışmamızın sonuçları, HD yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda PCT ve CRP düzeylerinin Hİ yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlara göre belirgin düzeyde yüksek olduğunu gösterdi. Ancak ESR değerlerinin bu gruplar arasında farklı olmadığı görüldü. HD yerleşimli mikroorganizma enfeksiyonlarının Hİ yerleşimli mikroorganizma enfeksiyonlarından ayırt edilmesinde PCT ve CRP'nin duyarlılık ve özgüllük düzeyleri kayda değerdir. PCT düzeyi için kesme noktası 0.07 ng/ml olarak alındığında duyarlılık % 87.2 ve özgüllük % 86.1 (0.10 ng/ml olarak alındığında duyarlılık % 83.0 ve özgüllük % 88.9); CRP'nin 44 mg/dl'lik kesme noktası için duyarlılığı % 89.4 ve özgüllüğü % 80.6 idi.

Yapılan bir çalışmada, atipik veya viral mikroorganizmalarla gelişen pnömonideki PCT ve CRP düzeylerinin, diğer bakteriyel enfeksiyonlarla gelişen TKP'deki düzeylerden düşük olduğu saptanmıştır (233). TKP'nin tersine (109-115), PTB'deki PCT düzeyleri ile ilgili veriler sınırlıdır. Yirmi yedi PTB hastası (116), 30 PTB hastası (117) ve 34 HIV pozitif PTB hastası (118) ile yapılan küçük ölçekli çalışmaların sonuçları, PTB'de serum PCT düzeylerinin yükselmediğini göstermiştir. Zarka ve arkadaşları da (1999), TB olgularında PCT düzeylerinin yükselmediğini

belirlemişlerdir (234). Kang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, pnömoni ve TB gruplarının medyan CRP düzeyleri sırasıyla 14.58 mg/dl ve 5.27 mg/dl; pnömoni ve TB gruplarının medyan PCT düzeyleri sırasıyla 0.514 ng/ml ve 0.029 ng/ml olarak belirlenmiştir. Bakteriyel TKP ile PTB'nin ayırt edilmesinde CRP için kesme noktası 10 mg/dl olarak alındığında duyarlılık % 83.3 ve özgüllük % 75 olarak hesaplanmıştır. Bakteriyel TKP ile PTB'nin ayırt edilmesinde PCT için kesme noktası 0.10 ng/ml olarak alındığında duyarlılık % 83.3 ve özgüllük % 75 olarak hesaplanmıştır (117). HIV-negatif PTB ile TKP'nin ayırt edilmesinde, PCT için kesme noktası 0.25 ng/ml olarak alındığında duyarlılık % 86.3 ve özgüllük % 74.2 olarak bulunmuştur (235). Bu çalışmada, HIV-negatif PTB ile TKP'nin ayırt edilmesinde WBC ve CRP'nin yararlı olmadığı ileri sürülmüştür (235). Diğer bir çalışmada, PTB grubunun CRP, WBC ve ESR düzeylerinin TKP grubundan daha düşük olduğu bulunmuştur (236).

Çalışmamızda 14 TB hastasının 11'inde PCT 0.05 ng/ml'nin altında idi. Ancak, üç olguda 0.05 ng/ml'den yüksekti. TBenfeksiyonunda, PCT düzeylerinin yükselmemesi çeşitli nedenlere bağlanmaktadır. Birincisi, TBenfeksiyonu ile genel bakteriyel enfeksiyonlar arasında salgılanan sitokin paterni açısından farklılıklar vardır. Örneğin, IFN- $\gamma$ 'nın *mycobacteria*'nın çoğalmasının inhibisyonundaki rolü diğer bakteriyel enfeksiyonlardan daha kritiktir (237-239). In vitro gözlemler, IFN- $\gamma$ 'nın yağ dokusundan PCT salgılanmasını azalttığını göstermiştir (29). İkincisi, Hİ mikroorganizmaların PCT düzeyinde hafif artışa neden olduğu bilinmektedir (15, 240). PCT sentezi ve salgılanması, sistemik enfeksiyon sırasındaki inflamatuvar sitokin kaskadı ile yönetilmektedir. PCT sentezi ve salgılanmasının yoğunluğu, sistemik dolaşıma giren mikroorganizmaların sayısına bağlıdır. PTB'deki mikroorganizma sayısının, tipik bakteriyel pnömonidekinden daha düşük olması beklenir (235).

Çalışmamızdaki 30 bruselloz olgusunun 28'inde PCT 0.05 ng/ml'nin altında idi. Ancak, iki olguda 0.05 ng/ml'den yüksekti. Bruselloz olgularında PCT düzeyinin değerlendirildiği bir çalışma yoktur. Demirdağ ve arkadaşları tarafından yapılan, 27 akut bruselloz olgusu ve yakınması olmayan 20 sağlıklı kontrolün değerlendirildiği bir çalışmada, bruselloz olgularının CRP ve ESR düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (58).



Çalışmamızda 28 tularemi hastasının 26'inde PCT 0.05 ng/ml'nin altında idi. Ancak, iki olguda 0.05 ng/ml'den yüksekti. İnvaziv bakteriyel hastalıkların tersine, tularemide tam kan veya biyokimya değerlerinde dramatik değişiklikler genellikle ortaya çıkmamaktadır. WBC sayısı, normal veya yükselmiş olabilir. Mononükleer hücreler göreceli bir artış gösterebilir. Karaciğer enzim düzeyleri hafifçe yükselebilir (241). Finlandiya'da yapılan bir çalışmada, tularemide ortalama CRP değerlerinin, invaziv bakteriyel hastalık için belirgin düzeyde düşük olan 53 mg/dl'de pik yaptığı belirlenmiştir. Tularemideki ESR değerleri ise, hastalığın başlangıcından sonraki ilk bir ay içinde 30-50 mm/saat kadar yüksek bulunabilmektedir (59). Ancak, literatürde, tularemi olgularında PCT düzeyini değerlendiren bir çalışmaya ulaşılamamıştır.

Çalışmamızda TB, tularemi ve bruselloz gruplarının PCT, CRP ve WBC düzeyleri birbirinden farklı değildi. Bu sonuçlar bize, Bu üç enfeksiyonun ayırt edilmesinde PCT, CRP ve WBC değerlerinin yararı olmayacağını göstermiştir. Ancak bruselloz grubunun ESR değerleri, TB ve tularemi gruplarının ESR değerlerinden anlamlı bir şekilde düşüktü.

PCT'nin sepsis tanısında kullanılabileceğine dair kanıtlar sunan çok sayıda çalışma vardır. Şiddetli sepsis ve septik şok hastaları için zaten yüksek olan mortalite riski göz önünde bulundurulduğunda, uygun olmayan antimikrobiyal tedaviye başlanması ve bu nedenle de etkili tedavinin gecikmesiyle mortalite riskinin artması da olasıdır (201).

Bir çalışmada, PCT için 0.50 ng/ml kesme noktasının ağır bakteriyel hastalıkların ayırt edilmesinde genellikle yararlı olduğu; PCT için kesme noktası 2 ng/ml olarak alındığında bakteriyel sepsis için güçlü bir indikatör olduğu belirlenmiştir (10). Nicolcescu ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, 0.50 ng/ml'den daha yüksek PCT değerlerinin akut enfeksiyon veya septik inflamasyonda daima ayırt ettirici olduğu bildirilmiştir (11).

TKP hastalarının sınıflandırılması ve hastalığın şiddetinin belirlenmesinde, klinik skorlama sistemlerinden yararlanılmaktadır(222). Ancak, düşük mortalite oranına sahip hastalarla karşılaştırıldığında yüksek mortalite oranına sahip hastaların değerlendirilmesinde ölçü aracının geçerliliği yeterli düzeyde değildir(223). Biyobelirteçler, bakteriyel enfeksiyonun varlığının nicel olarak saptanmasında kullanışlıdır ve klinik skorlama sistemlerinden daha kolay sonuç verir. Tanısal ve prognostik belirsizlikler göz önüne alındığında, PCT, tipik bakteriyel pnömoninin

ayırt edilmesi ve TKP'den kaynaklanabilecek mortalitenin öngörülmesi açısından önemli bir biyobelirteç olarak görülmektedir (218). Yüksek PCT düzeyleri, hastanın akciğerlerinde yaygın konsolidasyon veya septik şok gibi olumsuz durumlara işaret edebilir (218). Pnömonide PCT'in değerini araştıran bir çalışmada, kan kültürü pozitif olan pnömoni olgularının PCT düzeyleri kan kültürü negatif olan pnömoni olgularından daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada, PCT'nin kan kültürü pozitifliğinin saptanmasındaki duyarlılığı  $\geq$ % 85 olarak hesaplanmıştır (242).

Erişkin hasta grubundaki sepsis ve septik şokta PCT'nin tanısal performansını değerlendiren çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğunun sonuçları, PCT'nin sepsis tanısı konulmasında kullanılabilecek bir biyobelirteç olduğu görüşünü destekler niteliktedir. PCT kesme noktası 1.5 ng/ml olarak alındığında, sepsis olgularında tanı performansı için duyarlılık % 88.3 ve özgüllük % 92.3 olarak bulunmuştur (243). Tugrul ve arkadaşları (2002) tarafından yapılan ve erişkin sepsis, ağır sepsis ve septik şok olgularının dahil edildiği bir çalışmada, PCT düzeyi için kesme noktası 1.3 ng/ml alındığında duyarlılık % 73 ve özgüllük % 80 olarak belirlenmiştir (244). Oshita ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmaya; erişkin sepsis, ağır sepsis ve septik şok olguları dahil edilmiştir (33). Bu çalışmada, PCT düzeyi için kesme noktası olarak alınan 0.5 ng/ml değerine göre, PCT'in tanı performans duyarlılığı % 88 ve özgüllüğü % 96 olarak bulunmuştur (33). Aynı tanılara sahip erişkin hasta grubunun değerlendirildiği bir çalışmada, 0.5 ng/ml'lik PCT düzeyi kesme noktasına göre duyarlılık % 88 ve özgüllük % 96 olarak bulunmuştur (245). Erişkin sepsis, ağır sepsis ve septik şok hastaların dahil edildiği diğer bir çalışmada, PCT düzeyi için kesme noktası 1 ng/ml olarak alındığında duyarlılık % 70 ve özgüllük % 91 olarak hesaplanmıştır (246). Erişkin sepsis, ağır sepsis ve septik şok olgularının dahil edildiği bir çalışmada, PCT düzeyi için kesme noktası 2 ng/ml olarak alınmış ve bu kesme noktasına göre duyarlılık % 69 ve özgüllük % 56 olarak bulunmuştur (247). Diğer bir çalışmada, PCT düzeyi için kesme noktası 3.3 ng/ml olarak alınmış ve sepsis ve ağır sepsis tanıları için duyarlılık % 86 ve özgüllük % 55 olarak hesaplanmıştır (248). Sözü edilen son iki çalışmada hesaplanan duyarlılık ve/veya özgüllük değerleri görece düşük olarak kabul edilebilir. Ancak, yukarıda sözü edilen çalışmalarda kullanılan PCT kitlerinin farklılığı dikkate alındığında bu görece düşük düzeyler anlaşılır hale gelmektedir.

Yara yeri enfeksiyonu olgularında PCT düzeyi ile ilgili çalışmalar, yanık ve cerrahi enfeksiyon çerçevesinde ele alınmıştır. Sepsis gelişmeksizin yara yeri enfeksiyonu olan 20 yanık hastasının değerlendirildiği bir çalışmada, hastaların medyan PCT düzeylerinin 0.87 ng/ml (minimum-maksimum; 0.2-5.4 ng/ml) olduğu belirlenmiştir. Sepsis gelişmeksizin yara yeri enfeksiyonunda kesme noktası 0.56 ng/ml olarak alındığında PCT için duyarlılık % 75.6 ve özgüllük % 80.5 olarak bulunmuştur (243).

ESR (50, 51) ve CRP (52), enfeksiyon hastalıklarına tanı konulmasında yararlı olduğu düşünülen testlerdir. CRP'nin normal sınırlardaki serum konsantrasyonu <0.3 mg/dl'dir. Ağır enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında, CRP'nin 50 mg/dl'nin üzerine çıkması beklenen bir durumdur (53). Yüksek ESR ve CRP düzeylerinin pnömoni için de önemli yordayıcılar olduğu bildirilmiştir (54). Flander ve arkadaşlarının (2004) yaptığı bir çalışmada, pnömoni hastalarının bir alt grubunda CRP düzeylerinin 11 mg/dl'nin altında olduğu belirlenmiştir (249). Bir çalışmada, tipik bakteriyel TKP'de, CRP düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (250).TKP tanısında, belirti ve bulgular yanında CRP'nin de dahil edildiği modellerin tanı performansını artırdığına dair sonuçlar elde edilmiştir (251).Tipik bakteriyel TKP'de, WBC düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (250).

Çalışmamızın sonuçları, HD yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda PCT ve CRP düzeylerinin Hİ yerleşimli mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlara göre daha belirgin düzeyde yükseldiğini gösterdi. Ayrıca, HD mikroorganizmaların Hİ mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlardan ayırt edilmesinde PCT ve CRP'ninduyarlılık ve özgüllük düzeyleri kayda değerdir. AncakESR değerleri her iki grup arasında fark etmiyordu ve HD ile Hİ enfeksiyonlarının ayırt edilmesinde yeterli duyarlılığa ve özgüllüğe sahip değildi.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

HD veya Hİ yerleşim gösteren mikroorganizmaların harekete geçirdikleri immünopatogenetik süreçler birbirinden farklıdır. Böylece, bu süreçlerin PCT düzeyleri üzerine farklı etkilerinin olması da beklenebilir. Sonuçlarımız da dolaşımdaki PCT düzeyinin, HD mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlarda Hİ mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlardan daha yüksek olduğunu göstermiştir. HD mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların Hİ mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlardan ayırt edilmesinde dolaşımdaki PCT, CRP değerlerinin güçlü duyarlılık ve özgüllüğe sahip parametreler olduğu görülmüştür.

Çalışmamız prokalsitoninin yerini bruselloz ve tularemi gibi Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarında değerlendiren ilk çalışmadır. Yine prokalsitonin ve tüberküloz ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu nedenle aldığımız sonuçlar daha sonra yapılacak geniş kapsamlı çalışmalara ışık tutacaktır. Ancak, çalışmamızdaki HD ve Hİ yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının örneklem boyutunun göreceli küçük olması, HD yerleşim yapan bakteri enfeksiyonlarının klinik tablo ve/veya etiyolojik ajan açısından homojen olmaması sonuçlarımızı değerlendirirken dikkatli olunmasını gerektirmektedir. Örneklem boyutu büyük ve homojen gruplarla yapılacak çalışmalar, daha güçlü sonuçlar sunacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Jacobs JW , Goodman RH , Chin WW , Dee PC , Habener JF , Bell NH and Potts JT, Jr., *Calcitonin messenger RNA encodes multiple polypeptides in a single precursor*. Science, 1981. 213(4506): p. 457-9.
2. Moya F , Nieto A and JL RC, *Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor*. Eur J Biochem, 1975. 55(2): p. 407-13.
3. Le Moullec JM , Jullienne A , Chenais J , Lasmoles F , Guliana JM and Milhaud G, *The complete sequence of human preprocalcitonin*. FEBS Lett, 1984. 167(1): p. 93-7.
4. Assicot M , Gendrel D , Carsin H , Raymond J , Guilbaud J and Bohuon C, *High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection*. Lancet, 1993. 341(8844): p. 515-8.
5. Nylen ES , O'Neill W , Jordan MH , Snider RH , Moore CF , Lewis M , Silva OL and Becker KL, *Serum procalcitonin as an index of inhalation injury in burns*. Horm Metab Res, 1992. 24(9): p. 439-43.
6. Oberhoffer M , Karzai W , Meier-Hellmann A and Reinhart K, *[Procalcitonin. A new diagnostic parameter for severe infections and sepsis]*. Anaesthesist, 1998. 47(7): p. 581-7.
7. Schuetz P , Mueller B and Trampuz A, *Serum procalcitonin for discrimination of blood contamination from bloodstream infection due to coagulase-negative staphylococci*. Infection, 2007. 35(5): p. 352-5.
8. Muller B , Harbarth S , Stolz D , Bingisser R , Mueller C , Leuppi J , Nusbaumer C , Tamm M and Christ-Crain M, *Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community-acquired pneumonia*. BMC Infect Dis, 2007. 7: p. 10.
9. Riedel S and Carroll KC, *Blood cultures: key elements for best practices and future directions*. J Infect Chemother, 2010. 16(5): p. 301-16.
10. Gervaix A and Pugin J, *Usefulness of procalcitonin in adults and children*. Rev Med Suisse, 2005. 1(13): p. 872-4, 877.

11. Nicolcescu P , Badulescu F and Schenker M, *Diagnosis of nosocomial pneumonia: conventional and new indicators*. Pneumologia, 2006. 55(2): p. 52-7.
12. Dubos F , Korczowski B , Aygun DA , Martinot A , Prat C , Galetto-Lacour A , Casado-Flores J , Taskin E , Leclerc F , Rodrigo C , Gervaix A , Gendrel D , Breart G and Chalumeau M, *Distinguishing between bacterial and aseptic meningitis in children: European comparison of two clinical decision rules*. Arch Dis Child, 2010. 95(12): p. 963-7.
13. Mueller C , Huber P , Laifer G , Mueller B and Perruchoud AP, *Procalcitonin and the early diagnosis of infective endocarditis*. Circulation, 2004. 109(14): p. 1707-10.
14. Pecile P , Miorin E , Romanello C , Falleti E , Valent F , Giacomuzzi F and Tenore A, *Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children*. Pediatrics, 2004. 114(2): p. e249-54.
15. Moulin F , Raymond J , Lorrot M , Marc E , Coste J , Iniguez JL , Kalifa G , Bohuon C and Gendrel D, *Procalcitonin in children admitted to hospital with community acquired pneumonia*. Arch Dis Child, 2001. 84(4): p. 332-6.
16. Green SJ , Crawford RM , Hockmeyer JT , Meltzer MS and Nancy CA, *Leishmania major amastigotes initiate the L-arginine-dependent killing mechanism in IFN-gamma-stimulated macrophages by induction of tumor necrosis factor-alpha*. J Immunol, 1990. 145(12): p. 4290-7.
17. Wherry JC , Schreiber RD and Unanue ER, *Regulation of gamma interferon production by natural killer cells in scid mice: roles of tumor necrosis factor and bacterial stimuli*. Infect Immun, 1991. 59(5): p. 1709-15.
18. Goodnow CC , Vinuesa CG , Randall KL , Mackay F and Brink R, *Control systems and decision making for antibody production*. Nat Immunol, 2010. 11(8): p. 681-8.
19. Lewin A and Sharbati-Tehrani S, *[Slow growth rate of mycobacteria. Possible reasons and significance for their pathogenicity]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2005. 48(12): p. 1390-9.

20. Yagupsky P, *Detection of Brucellae in blood cultures*. J Clin Microbiol, 1999. 37(11): p. 3437-42.
21. Payne MP and Morton RJ, *Effect of culture media and incubation temperature on growth of selected strains of Francisella tularensis*. J Vet Diagn Invest, 1992. 4(3): p. 264-9.
22. Porter S , Ketheesan N and Norton R, *Bacteraemias in tropical Australia: changing trends over a 10-year period*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013. 75(3): p. 266-70.
23. Memish Z , Mah MW , Al Mahmoud S , Al Shaalan M and Khan MY, *Brucella bacteraemia: clinical and laboratory observations in 160 patients*. J Infect, 2000. 40(1): p. 59-63.
24. Haristoy X , Lozniewski A , Tram C , Simeon D , Bevanger L and Lion C, *Francisella tularensis bacteremia*. J Clin Microbiol, 2003. 41(6): p. 2774-6.
25. Mohamed SE , Mubarak AI and Alfarooq LO, *Francisella tularensis Bacteremia: A Case Report from Sudan*. Case Rep Infect Dis, 2012. 2012: p. 405737.
26. Bouza E , Diaz-Lopez MD , Moreno S , Bernaldo de Quiros JC , Vicente T and Berenguer J, *Mycobacterium tuberculosis bacteremia in patients with and without human immunodeficiency virus infection*. Arch Intern Med, 1993. 153(4): p. 496-500.
27. Esteban J , de Gorgolas M , Santos-O'Connor F , Gadea I , Fernandez-Roblas R and Soriano F, *Mycobacterium tuberculosis bacteremia in a university hospital*. Int J Tuberc Lung Dis, 2001. 5(8): p. 763-8.
28. Chiu YS , Wang JT , Chang SC , Tang JL , Ku SC , Hung CC , Hsueh PR and Chen YC, *Mycobacterium tuberculosis bacteremia in HIV-negative patients*. J Formos Med Assoc, 2007. 106(5): p. 355-64.
29. Linscheid P , Seboek D , Nylen ES , Langer I , Schlatter M , Becker KL , Keller U and Muller B, *In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue*. Endocrinology, 2003. 144(12): p. 5578-84.

30. Mueller B , White JC , Nylen ES , Snider RH , Becker KL and Habener JF, *Ubiquitous expression of the calcitonin I gene in multiple tissues in response to sepsis*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(1): p. 396-404.
31. Becker KL , Snider R and Nylen ES, *Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations*. Crit Care Med, 2008. 36(3): p. 941-52.
32. Schuetz P , Christ-Crain M , Huber AR and Muller B, *Long-term stability of procalcitonin in frozen samples and comparison of Kryptor and VIDAS automated immunoassays*. Clin Biochem, 2010. 43(3): p. 341-4.
33. Oshita H , Sakurai J and Kamitsuna M, *Semi-quantitative procalcitonin test for the diagnosis of bacterial infection: clinical use and experience in Japan*. J Microbiol Immunol Infect, 2010. 43(3): p. 222-7.
34. Struck J , Strebelow M , Tietz S , Alonso C , Morgenthaler NG , van der Hoeven JG , Pickkers P and Bergmann A, *Method for the selective measurement of amino-terminal variants of procalcitonin*. Clin Chem, 2009. 55(9): p. 1672-9.
35. Pepys MB, *C-reactive protein fifty years on*. Lancet, 1981. 1(8221): p. 653-7.
36. Meier-Ewert HK , Ridker PM , Rifai N , Price N , Dinges DF and Mullington JM, *Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects*. Clin Chem, 2001. 47(3): p. 426-30.
37. Clyne B and Olshaker JS, *The C-reactive protein*. J Emerg Med, 1999. 17(6): p. 1019-25.
38. Gabay C and Kushner I, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. N Engl J Med, 1999. 340(6): p. 448-54.
39. Dong Q and Wright JR, *Expression of C-reactive protein by alveolar macrophages*. J Immunol, 1996. 156(12): p. 4815-20.
40. Zee RY and Ridker PM, *Polymorphism in the human C-reactive protein (CRP) gene, plasma concentrations of CRP, and the risk of future arterial thrombosis*. Atherosclerosis, 2002. 162(1): p. 217-9.



41. Szalai AJ , McCrory MA , Cooper GS , Wu J and Kimberly RP, *Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene*. *Genes Immun*, 2002. 3(1): p. 14-9.
42. Brull DJ , Serrano N , Zito F , Jones L , Montgomery HE , Rumley A , Sharma P , Lowe GD , World MJ , Humphries SE and Hingorani AD, *Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. 23(11): p. 2063-9.
43. Verma S , Szmitko PE and Ridker PM, *C-reactive protein comes of age*. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2005. 2(1): p. 29-36; quiz 58.
44. Ablj H and Meinders A, *C-reactive protein: history and revival*. *Eur J Intern Med*, 2002. 13(7): p. 412.
45. Volanakis JE and Kaplan MH, *Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide*. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971. 136(2): p. 612-4.
46. Chang MK , Binder CJ , Torzewski M and Witztum JL, *C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. 99(20): p. 13043-8.
47. Agrawal A , Shrive AK , Greenhough TJ and Volanakis JE, *Topology and structure of the C1q-binding site on C-reactive protein*. *J Immunol*, 2001. 166(6): p. 3998-4004.
48. Wolbink GJ , Brouwer MC , Buysmann S , ten Berge IJ and Hack CE, *CRP-mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring circulating complement-C-reactive protein complexes*. *J Immunol*, 1996. 157(1): p. 473-9.
49. Hoffmann JA , Kafatos FC , Janeway CA and Ezekowitz RA, *Phylogenetic perspectives in innate immunity*. *Science*, 1999. 284(5418): p. 1313-8.
50. Dinant GJ , de Kock CA and van Wersch JW, *Diagnostic value of C-reactive protein measurement does not justify replacement of the erythrocyte*

- sedimentation rate in daily general practice. Eur J Clin Invest, 1995. 25(5): p. 353-9.*
51. Dinant GJ , Knottnerus JA and Van Wersch JW, *Discriminating ability of the erythrocyte sedimentation rate: a prospective study in general practice. Br J Gen Pract, 1991. 41(350): p. 365-70.*
  52. Hjortdahl P , Landaas S , Urdal P , Steinbakk M , Fuglerud P and Nygaard B, *C-reactive protein: a new rapid assay for managing infectious disease in primary health care. Scand J Prim Health Care, 1991. 9(1): p. 3-10.*
  53. Falk G and Fahey T, *C-reactive protein and community-acquired pneumonia in ambulatory care: systematic review of diagnostic accuracy studies. Fam Pract, 2009. 26(1): p. 10-21.*
  54. Hopstaken RM , Muris JW , Knottnerus JA , Kester AD , Rinkens PE and Dinant GJ, *Contributions of symptoms, signs, erythrocyte sedimentation rate, and C-reactive protein to a diagnosis of pneumonia in acute lower respiratory tract infection. Br J Gen Pract, 2003. 53(490): p. 358-64.*
  55. Fujii T , Tabe Y , Yajima R , Tsutsumi S , Asao T and Kuwano H, *Relationship between C-reactive protein levels and wound infections in elective colorectal surgery: C-reactive protein as a predictor for incisional SSI. Hepatogastroenterology, 2011. 58(107-108): p. 752-5.*
  56. Lee JH , Kim JB , Lee HS , Lee DY and Lee DO, *Normal range of the inflammation related laboratory findings and predictors of the postoperative infection in spinal posterior fusion surgery. Clin Orthop Surg, 2012. 4(4): p. 269-77.*
  57. Doganay M and Aygen B, *Human brucellosis: an overview. Int J Infect Dis, 2003. 7: p. 173-82.*
  58. Demirdag K , Ozden M , Kalkan A , Godekmerdan A and Sirri Kilic S, *Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers. FEMS Immunol Med Microbiol, 2003. 39(2): p. 149-53.*

59. Syrjala H, *Peripheral blood leukocyte counts, erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in tularemia caused by the type B strain of Francisella tularensis*. Infection, 1986. 14(2): p. 51-4.
60. Smith KC , Armitige L and Wanger A, *A review of tuberculosis: reflections on the past, present and future of a global epidemic disease*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2003. 1(3): p. 483-91.
61. World Health O, *Global Tuberculosis Control: WHO Report 2011*. 2011: Geneva, Switzerland.
62. Zuniga J , Torres-Garcia D , Santos-Mendoza T , Rodriguez-Reyna TS , Granados J and Yunis EJ, *Cellular and humoral mechanisms involved in the control of tuberculosis*. Clin Dev Immunol, 2012. 2012: p. 193923.
63. Ahmad S, *Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection*. Clin Dev Immunol, 2011. 2011: p. 814943.
64. Ahmad S, *New approaches in the diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection*. Respir Res, 2010. 11: p. 169.
65. Bloom BR, *“Pathogenesis of pulmonary tuberculosis,” in An Interplay between Tissue-Damaging and Macrophage-Activating Immune Responses: Dual Mechanisms That Control Bacillary multiplication*, in American Society for Microbiology, B.R. Bloom, Editor. 1994: Washington, DC, USA.
66. Lurie MB, *Resistance to Tuberculosis: Experimental Studies in Native and Acquired Defensive Mechanisms*. 1964: Harvard University Press.
67. Kaufmann SH, *How can immunology contribute to the control of tuberculosis?* Nat Rev Immunol, 2001. 1(1): p. 20-30.
68. Schaible UE , Sturgill-Koszycki S , Schlesinger PH and Russell DG, *Cytokine activation leads to acidification and increases maturation of Mycobacterium avium-containing phagosomes in murine macrophages*. J Immunol, 1998. 160(3): p. 1290-6.
69. Fenhalls G , Stevens L , Bezuidenhout J , Amphlett GE , Duncan K , Bardin P and Lukey PT, *Distribution of IFN-gamma, IL-4 and TNF-alpha protein and CD8 T cells producing IL-12p40 mRNA in human lung tuberculous granulomas*. Immunology, 2002. 105(3): p. 325-35.

70. Herrera MT , Torres M , Nevels D , Perez-Redondo CN , Ellner JJ , Sada E and Schwander SK, *Compartmentalized bronchoalveolar IFN-gamma and IL-12 response in human pulmonary tuberculosis*. Tuberculosis (Edinb), 2009. 89(1): p. 38-47.
71. Schierloh P , Yokobori N , Aleman M , Musella RM , Beigier-Bompadre M , Saab MA , Alves L , Abbate E , de la Barrera SS and Sasiain MC, *Increased susceptibility to apoptosis of CD56dimCD16+ NK cells induces the enrichment of IFN-gamma-producing CD56bright cells in tuberculous pleurisy*. J Immunol, 2005. 175(10): p. 6852-60.
72. Sadek MI , Sada E , Toossi Z , Schwander SK and Rich EA, *Chemokines induced by infection of mononuclear phagocytes with mycobacteria and present in lung alveoli during active pulmonary tuberculosis*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998. 19(3): p. 513-21.
73. Blomgran R and Ernst JD, *Lung neutrophils facilitate activation of naive antigen-specific CD4+ T cells during Mycobacterium tuberculosis infection*. J Immunol, 2011. 186(12): p. 7110-9.
74. Takeda K and Akira S, *Toll-like receptors in innate immunity*. Int Immunol, 2005. 17(1): p. 1-14.
75. Saunders BM and Britton WJ, *Life and death in the granuloma: immunopathology of tuberculosis*. Immunol Cell Biol, 2007. 85(2): p. 103-11.
76. Saunders BM , Frank AA , Orme IM and Cooper AM, *CD4 is required for the development of a protective granulomatous response to pulmonary tuberculosis*. Cell Immunol, 2002. 216(1-2): p. 65-72.
77. Tsai MC , Chakravarty S , Zhu G , Xu J , Tanaka K , Koch C , Tufariello J , Flynn J and Chan J, *Characterization of the tuberculous granuloma in murine and human lungs: cellular composition and relative tissue oxygen tension*. Cell Microbiol, 2006. 8(2): p. 218-32.
78. Khader SA , Bell GK , Pearl JE , Fountain JJ , Rangel-Moreno J , Cilley GE , Shen F , Eaton SM , Gaffen SL , Swain SL , Locksley RM , Haynes L , Randall TD and Cooper AM, *IL-23 and IL-17 in the establishment of*

- protective pulmonary CD4+ T cell responses after vaccination and during Mycobacterium tuberculosis challenge.* Nat Immunol, 2007. 8(4): p. 369-77.
79. Yoshida YO , Umemura M and Yahagi A, “*Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infectioninduced granuloma in the lung,*”. Journal of Immunology, 2010. 184(8): p. 4414-4422.
  80. Peters W and Ernst JD, *Mechanisms of cell recruitment in the immune response to Mycobacterium tuberculosis.* Microbes Infect, 2003. 5(2): p. 151-8.
  81. Cardona PJ, *A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection.* Infection, 2009. 37(2): p. 80-6.
  82. van Crevel R , Ottenhoff TH and van der Meer JW, *Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis.* Clin Microbiol Rev, 2002. 15(2): p. 294-309.
  83. Nelson LJ and Wells CD, *Global epidemiology of childhood tuberculosis.* Int J Tuberc Lung Dis, 2004. 8(5): p. 636-47.
  84. Society. AT, *Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR Recomm Rep.* 2000. p. 1-51.
  85. Mandalakas AM and Starke JR, *Current concepts of childhood tuberculosis.* Semin Pediatr Infect Dis, 2005. 16(2): p. 93-104.
  86. Starke JR and Munoz FM, *Tuberculosis,* in *Nelson Textbook,* R.M. Kliegman, et al., Editors. 2007, W.B Saunders: Newyork. p. 1240-1254.
  87. Pediatrics. PTCG, *Targeted Tuberculin Skin Testing and Treatment of Latent Tuberculosis Infection in Children and Adolescents.* 2004. 114: p. 1175-1201.
  88. Prevention. ATScfDCa, *Diagnostic standarts and classification of tuberculosis in adults and children.* Am J Respir Crit Care Med, 2000. 161: p. 376-395.
  89. Ferebee SH, *Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review.* Bibl Tuberc, 1970. 26: p. 28-106.
  90. Woods GL, *The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques.* Infect Dis Clin North Am, 2002. 16(1): p. 127-44.

91. Drobniowski FA , Caws M , Gibson A and Young D, *Modern laboratory diagnosis of tuberculosis*. Lancet Infect Dis, 2003. 3(3): p. 141-7.
92. Starke JR, *Pediatric tuberculosis: time for a new approach*. Tuberculosis (Edinb), 2003. 83(1-3): p. 208-12.
93. Zar HJ , Hanslo D , Apolles P , Swinger G and Hussey G, *Induced sputum versus gastric lavage for microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study*. Lancet, 2005. 365(9454): p. 130-4.
94. Starke JR and Taylor-Watts KT, *Tuberculosis in the pediatric population of Houston, Texas*. Pediatrics, 1989. 84(1): p. 28-35.
95. Shingadia D and Novelli V, *Diagnosis and treatment of tuberculosis in children*. Lancet Infect Dis, 2003. 3(10): p. 624-32.
96. Gomez M , Johnson S and Gennaro ML, *Identification of secreted proteins of Mycobacterium tuberculosis by a bioinformatic approach*. Infect Immun, 2000. 68(4): p. 2323-7.
97. Somoskovi A , Kodmon C , Lantos A , Bartfai Z , Tamasi L , Fuzy J and Magyar P, *Comparison of recoveries of mycobacterium tuberculosis using the automated BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Lowenstein-Jensen medium*. J Clin Microbiol, 2000. 38(6): p. 2395-7.
98. Starke JR and Jacobs RF, *Mycobacterium tuberculosis*, in *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, S.S. Long, L.K. Pickering, and C.G. Prober, Editors. 2008, Elsevier. p. 770-788.
99. Pai M , Riley LW and Colford JM, Jr., *Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review*. Lancet Infect Dis, 2004. 4(12): p. 761-76.
100. Andersen P , Munk ME , Pollock JM and Doherty TM, *Specific immune-based diagnosis of tuberculosis*. Lancet, 2000. 356(9235): p. 1099-104.
101. Sorensen AL , Nagai S , Houen G , Andersen P and Andersen AB, *Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun, 1995. 63(5): p. 1710-7.

102. Celik U and Kocabas E, [*New diagnostic tool of tuberculosis: interferon-gamma assays*]. *Tuberk Toraks*, 2007. 55(1): p. 108-17.
103. Fietta A , Meloni F , Cascina A , Morosini M , Marena C , Troupioti P , Mangiarotti P and Casali L, *Comparison of a whole-blood interferon-gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of Mycobacterium tuberculosis infection*. *Am J Infect Control*, 2003. 31(6): p. 347-53.
104. Pai M , Zwerling A and Menzies D, *Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update*. *Ann Intern Med*, 2008. 149(3): p. 177-84.
105. Meier T , Eulenbruch HP , Wrighton-Smith P , Enders G and Regnath T, *Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005. 24(8): p. 529-36.
106. Campos M , Quartin A , Mendes E , Abreu A , Gurevich S , Echarte L , Ferreira T , Cleary T , Hollender E and Ashkin D, *Feasibility of shortening respiratory isolation with a single sputum nucleic acid amplification test*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008. 178(3): p. 300-5.
107. Nolte FS, *Case studies in cost effectiveness of molecular diagnostics for infectious diseases: pulmonary tuberculosis, enteroviral meningitis, and BK virus nephropathy*. *Clin Infect Dis*, 2006. 43(11): p. 1463-7.
108. Tortoli E and Palomino JC, *New Diagnostic Methods*, in *Tuberculosis*, J.C. Palomino, Editor. 2007, Ritacco V: Leão CS. p. 441-487.
109. Christ-Crain M , Stolz D , Bingisser R , Muller C , Miedinger D , Huber PR , Zimmerli W , Harbarth S , Tamm M and Muller B, *Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006. 174(1): p. 84-93.
110. Schuetz P , Christ-Crain M , Thomann R , Falconnier C , Wolbers M , Widmer I , Neidert S , Fricker T , Blum C , Schild U , Regez K , Schoenenberger R , Henzen C , Bregenzer T , Hoess C , Krause M , Bucher HC , Zimmerli W and Mueller B, *Effect of procalcitonin-based guidelines vs*

*standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections: the ProHOSP randomized controlled trial.* JAMA, 2009. 302(10): p. 1059-66.

111. Boussekey N , Leroy O , Georges H , Devos P , d'Esquivan T and Guery B, *Diagnostic and prognostic values of admission procalcitonin levels in community-acquired pneumonia in an intensive care unit.* Infection, 2005. 33(4): p. 257-63.
112. Masia M , Gutierrez F , Shum C , Padilla S , Navarro JC , Flores E and Hernandez I, *Usefulness of procalcitonin levels in community-acquired pneumonia according to the patients outcome research team pneumonia severity index.* Chest, 2005. 128(4): p. 2223-9.
113. Kruger S , Ewig S , Marre R , Papassotiriou J , Richter K , von Baum H , Suttorp N and Welte T, *Procalcitonin predicts patients at low risk of death from community-acquired pneumonia across all CRB-65 classes.* Eur Respir J, 2008. 31(2): p. 349-55.
114. Menendez R , Cavalcanti M , Reyes S , Mensa J , Martinez R , Marcos MA , Filella X , Niederman M and Torres A, *Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia.* Thorax, 2008. 63(5): p. 447-52.
115. Tseng JS , Chan MC , Hsu JY , Kuo BI and Wu CL, *Procalcitonin is a valuable prognostic marker in ARDS caused by community-acquired pneumonia.* Respirology, 2008. 13(4): p. 505-9.
116. Polzin A , Pletz M , Erbes R , Raffenberg M , Mauch H , Wagner S , Arndt G and Lode H, *Procalcitonin as a diagnostic tool in lower respiratory tract infections and tuberculosis.* Eur Respir J, 2003. 21(6): p. 939-43.
117. Kang YA , Kwon SY , Yoon HI , Lee JH and Lee CT, *Role of C-reactive protein and procalcitonin in differentiation of tuberculosis from bacterial community acquired pneumonia.* Korean J Intern Med, 2009. 24(4): p. 337-42.
118. Schleicher GK , Herbert V , Brink A , Martin S , Maraj R , Galpin JS and Feldman C, *Procalcitonin and C-reactive protein levels in HIV-positive subjects with tuberculosis and pneumonia.* Eur Respir J, 2005. 25(4): p. 688-92.



119. Sjostedt AB, *Francisella*, in *The Proteobacteria, Part B, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, D.R. Boone, et al., Editors. 2005, Springer: New York. p. 200–210.
120. Ellis J , Oyston PC , Green M and Titball RW, *Tularemia*. Clin Microbiol Rev, 2002. 15(4): p. 631-46.
121. Sinclair R , Boone SA , Greenberg D , Keim P and Gerba CP, *Persistence of category A select agents in the environment*. Appl Environ Microbiol, 2008. 74(3): p. 555-63.
122. Keim P , Johansson A and Wagner DM, *Molecular epidemiology, evolution, and ecology of Francisella*. Ann N Y Acad Sci, 2007. 1105: p. 30-66.
123. Oyston PC , Sjostedt A and Titball RW, *Tularaemia: bioterrorism defence renews interest in Francisella tularensis*. Nat Rev Microbiol, 2004. 2(12): p. 967-78.
124. Casadevall A and Pirofski LA, *A reappraisal of humoral immunity based on mechanisms of antibody-mediated protection against intracellular pathogens*. Adv Immunol, 2006. 91: p. 1-44.
125. Huber VC , Lynch JM , Bucher DJ , Le J and Metzger DW, *Fc receptor-mediated phagocytosis makes a significant contribution to clearance of influenza virus infections*. J Immunol, 2001. 166(12): p. 7381-8.
126. Wayne Conlan J and Oyston PC, *Vaccines against Francisella tularensis*. Ann N Y Acad Sci, 2007. 1105: p. 325-50.
127. Griffin KF , Oyston PC and Titball RW, *Francisella tularensis vaccines*. FEMS Immunol Med Microbiol, 2007. 49(3): p. 315-23.
128. Clemens DL and Horwitz MA, *Uptake and intracellular fate of Francisella tularensis in human macrophages*. Ann N Y Acad Sci, 2007. 1105: p. 160-86.
129. Woolard MD , Wilson JE , Hensley LL , Jania LA , Kawula TH , Drake JR and Frelinger JA, *Francisella tularensis-infected macrophages release prostaglandin E2 that blocks T cell proliferation and promotes a Th2-like response*. J Immunol, 2007. 178(4): p. 2065-74.

130. Kirimanjeswara GS , Golden JM , Bakshi CS and Metzger DW, *Prophylactic and therapeutic use of antibodies for protection against respiratory infection with Francisella tularensis*. J Immunol, 2007. 179(1): p. 532-9.
131. Sjostedt A, *Intracellular survival mechanisms of Francisella tularensis, a stealth pathogen*. Microbes Infect, 2006. 8(2): p. 561-7.
132. Steinman RM, *Dendritic cells: understanding immunogenicity*. Eur J Immunol, 2007. 37 Suppl 1: p. S53-60.
133. Bosio CM , Bielefeldt-Ohmann H and Belisle JT, *Active suppression of the pulmonary immune response by Francisella tularensis Schu4*. J Immunol, 2007. 178(7): p. 4538-47.
134. Bosio CM and Dow SW, *Francisella tularensis induces aberrant activation of pulmonary dendritic cells*. J Immunol, 2005. 175(10): p. 6792-801.
135. Sauret JM and Vilissova N, *Human brucellosis*. J Am Board Fam Pract, 2002. 15(5): p. 401-6.
136. Corbel MJ, *Brucella*, in *Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*, T. Parker and L.H. Collier, Editors. 1990, Edward Arnold,: London. p. 341-353.
137. Enright FM, *The pathogenesis and pathobiology of Brucella infection in domestic animals*, in *Animal Brucellosis*, K. Nielsen and J.R. Duncan, Editors. 1990, CRC Press: Boston. p. 301-320.
138. Garcia-Carrillo C, *Laboratory animal models for brucellosis studies*. Animal Brucellosis, ed. K. Nielsen and J.R. Duncan. 1990, Boca Raton: CRC Press.
139. Kohler S , Porte F , Jubier-Maurin V , Ouahrani-Bettache S , Teyssier J and Liautard JP, *The intramacrophagic environment of Brucella suis and bacterial response*. Vet Microbiol, 2002. 90(1-4): p. 299-309.
140. Monack DM , Meccas J , Ghori N and Falkow S, *Yersinia signals macrophages to undergo apoptosis and YopJ is necessary for this cell death*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. 94(19): p. 10385-90.

141. Muller A , Hacker J and Brand BC, *Evidence for apoptosis of human macrophage-like HL-60 cells by Legionella pneumophila infection*. Infect Immun, 1996. 64(12): p. 4900-6.
142. Ruckdeschel K , Harb S , Roggenkamp A , Hornef M , Zumbihl R , Kohler S , Heesemann J and Rouot B, *Yersinia enterocolitica impairs activation of transcription factor NF-kappaB: involvement in the induction of programmed cell death and in the suppression of the macrophage tumor necrosis factor alpha production*. J Exp Med, 1998. 187(7): p. 1069-79.
143. Weinrauch Y and Zychlinsky A, *The induction of apoptosis by bacterial pathogens*. Annu Rev Microbiol, 1999. 53: p. 155-87.
144. Gross A , Terraza A , Ouahrani-Bettache S , Liautard JP and Dornand J, *In vitro Brucella suis infection prevents the programmed cell death of human monocytic cells*. Infect Immun, 2000. 68(1): p. 342-51.
145. Galdiero E , Romano Carratelli C , Vitiello M , Nuzzo I , Del Vecchio E , Bentivoglio C , Perillo G and Galdiero F, *HSP and apoptosis in leukocytes from infected or vaccinated animals by Brucella abortus*. New Microbiol, 2000. 23(3): p. 271.
146. Caron E , Gross A , Liautard JP and Dornand J, *Brucella species release a specific, protease-sensitive, inhibitor of TNF-alpha expression, active on human macrophage-like cells*. J Immunol, 1996. 156(8): p. 2885-93.
147. Zhan Y and Cheers C, *Control of IL-12 and IFN-gamma production in response to live or dead bacteria by TNF and other factors*. J Immunol, 1998. 161(3): p. 1447-53.
148. Zhan Y , Liu Z and Cheers C, *Tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium Brucella abortus by different mechanisms*. Infect Immun, 1996. 64(7): p. 2782-6.
149. Caron E , Peyrard T , Kohler S , Cabane S , Liautard JP and Dornand J, *Live Brucella spp. fail to induce tumor necrosis factor alpha excretion upon infection of U937-derived phagocytes*. Infect Immun, 1994. 62(12): p. 5267-74.

150. Salmeron I , Rodriguez-Zapata M , Salmeron O , Manzano L , Vaquer S and Alvarez-Mon M, *Impaired activity of natural killer cells in patients with acute brucellosis*. Clin Infect Dis, 1992. 15(5): p. 764-70.
151. Rodriguez-Zapata M , Alvarez-Mon M , Salmeron I , Prieto A , Manzano L , Salmeron OJ and Carballido J, *Diminished T lymphocyte proliferative response to polyclonal mitogens in acute brucellosis patients*. Infection, 1996. 24(2): p. 115-20.
152. Rodriguez-Zapata M , Salmeron I , Manzano L , Salmeron OJ , Prieto A and Alvarez-Mon M, *Defective interferon-gamma production by T-lymphocytes from patients with acute brucellosis*. Eur J Clin Invest, 1996. 26(2): p. 136-40.
153. Vendrell JP , Conge AM , Segondy M , Lombroso S , Huguet MF , Bertrand A , Janbon F and Serre A, *In vitro antibody secretion by peripheral blood mononuclear cells as an expression of the immune response to Brucella spp. in humans*. J Clin Microbiol, 1992. 30(8): p. 2200-3.
154. Murphy EA , Sathiyaseelan J , Parent MA , Zou B and Baldwin CL, *Interferon-gamma is crucial for surviving a Brucella abortus infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice*. Immunology, 2001. 103(4): p. 511-8.
155. Murphy EA , Parent M , Sathiyaseelan J , Jiang X and Baldwin CL, *Immune control of Brucella abortus 2308 infections in BALB/c mice*. FEMS Immunol Med Microbiol, 2001. 32(1): p. 85-8.
156. Gross A , Spiesser S , Terraza A , Rouot B , Caron E and Dornand J, *Expression and bactericidal activity of nitric oxide synthase in Brucella suis-infected murine macrophages*. Infect Immun, 1998. 66(4): p. 1309-16.
157. Zhan Y and Cheers C, *Differential induction of macrophage-derived cytokines by live and dead intracellular bacteria in vitro*. Infect Immun, 1995. 63(2): p. 720-3.
158. Jubier-Maurin V , Boigegrain RA , Cloeckaert A , Gross A , Alvarez-Martinez MT , Terraza A , Liautard J , Kohler S , Rouot B , Dornand J and Liautard JP, *Major outer membrane protein Omp25 of Brucella suis is*

- involved in inhibition of tumor necrosis factor alpha production during infection of human macrophages.* Infect Immun, 2001. 69(8): p. 4823-30.
159. Jiang X , Leonard B , Benson R and Baldwin CL, *Macrophage control of Brucella abortus: role of reactive oxygen intermediates and nitric oxide.* Cell Immunol, 1993. 151(2): p. 309-19.
160. Pappas G , Akritidis N , Bosilkovski M and Tsianos E, *Brucellosis.* N Engl J Med, 2005. 352(22): p. 2325-36.
161. Osoba AO , Balkhy H , Memish Z , Khan MY , Al-Thagafi A , Al Shareef B , Al Mowallad A and Oni GA, *Diagnostic value of Brucella ELISA IgG and IgM in bacteremic and non-bacteremic patients with brucellosis.* J Chemother, 2001. 13 Suppl 1: p. 54-9.
162. Ariza J , Pellicer T , Pallares R , Foz A and Gudiol F, *Specific antibody profile in human brucellosis.* Clin Infect Dis, 1992. 14(1): p. 131-40.
163. İşeri S , Bulut C and Yetkin MA, *Brusellozda kan ve kemik iliği kültürlerinin tanı değerinin karşılaştırılması.* Mikrobiyol Bül, 2006. 40: p. 201-206.
164. Bannatyne RM , Jackson MC and Memish Z, *Rapid diagnosis of Brucella bacteremia by using the BACTEC 9240 system.* J Clin Microbiol, 1997. 35(10): p. 2673-4.
165. Ozturk R , Mert A , Kocak F , Ozaras R , Koksak F , Tabak F , Bilir M and Aktuglu Y, *The diagnosis of brucellosis by use of BACTEC 9240 blood culture system.* Diagn Microbiol Infect Dis, 2002. 44(2): p. 133-5.
166. Winn WC , Allen SD and Janda WM, *Miscellaneous Fastidious Gram-Negative Bacilli.* 6 th ed. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins.
167. Young EJ, *Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature.* Rev Infect Dis, 1991. 13(3): p. 359-72.
168. Ruiz-Mesa JD , Sanchez-Gonzalez J , Reguera JM , Martin L , Lopez-Palmero S and Colmenero JD, *Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas.* Clin Microbiol Infect, 2005. 11(3): p. 221-5.

169. Casao MA , Navarro E and Solera J, *Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis*. J Infect, 2004. 49(2): p. 102-8.
170. Bilgehan H, *Brusellozda aglütinasyon blokajının Coombs deneyi ile ortaya çıkarılması*. 2.baskı ed. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 1995, İzmir: Barış Yayınları.
171. Pellicer T , Ariza J , Foz A , Pallares R and Gudiol F, *Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis*. J Infect Dis, 1988. 157(5): p. 918-24.
172. Smits HL , Basahi MA , Diaz R , Marrodan T , Douglas JT , Rocha A , Veerman J , Zheludkov MM , Witte OW , de Jong J , Gussenhoven GC , Goris MG and van Der Hoorn MA, *Development and evaluation of a rapid dipstick assay for serodiagnosis of acute human brucellosis*. J Clin Microbiol, 1999. 37(12): p. 4179-82.
173. Altuglu I , Zeytinoglu A , Bilgic A , Kamcioglu S , Karakartal G and Smits H, *Evaluation of Brucella dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2002. 44(3): p. 241-3.
174. Zeytinoglu A , Turhan A , Altuglu I , Bilgic A , Abdoel TH and Smits HL, *Comparison of Brucella immunoglobulin M and G flow assays with serum agglutination and 2-mercaptoethanol tests in the diagnosis of brucellosis*. Clin Chem Lab Med, 2006. 44(2): p. 180-4.
175. Smiths HL , Abdoel TH , Solera J , Clavijo E and Diaz R, *Immunochromatografic Brucella-specific immunoglobulin M and G lateral flow assays for rapid serodiagnosis of human brucellosis*. Clin Diagn Lab Immunol, 2003: p. 1141-1146.
176. Irmak H , Buzgan T , Evirgen O , Akdeniz H , Demiroz AP , Abdoel TH and Smits HL, *Use of the Brucella IgM and IgG flow assays in the serodiagnosis of human brucellosis in an area endemic for brucellosis*. Am J Trop Med Hyg, 2004. 70(6): p. 688-94.
177. Araj GF , Lulu AR , Mustafa MY and Khateeb MI, *Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings*. J Hyg (Lond), 1986. 97(3): p. 457-69.

178. Araj GF and Kaufmann AF, *Determination by enzyme-linked immunosorbent assay of immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA to Brucella melitensis major outer membrane proteins and whole-cell heat-killed antigens in sera of patients with brucellosis.* J Clin Microbiol, 1989. 27(8): p. 1909-12.
179. Araj GF , Kattar MM , Fattouh LG , Bajakian KO and Kobeissi SA, *Evaluation of the PANBIO Brucella immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis.* Clin Diagn Lab Immunol, 2005. 12(11): p. 1334-5.
180. Orduna A , Almaraz A , Prado A , Gutierrez MP , Garcia-Pascual A , Duenas A , Cuervo M , Abad R , Hernandez B , Lorenzo B , Bratos MA and Torres AR, *Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis.* J Clin Microbiol, 2000. 38(11): p. 4000-5.
181. Ardic N , Ozyurt M , Sezer O , Erdemoglu A and Haznedaroglu T, *Comparison of Coombs' and immunocapture-agglutination tests in the diagnosis of brucellosis.* Chin Med J (Engl), 2005. 118(3): p. 252-4.
182. Angus DC , Linde-Zwirble WT , Lidicker J , Clermont G , Carcillo J and Pinsky MR, *Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care.* Crit Care Med, 2001. 29(7): p. 1303-10.
183. Engel C , Brunkhorst FM , Bone HG , Brunkhorst R , Gerlach H , Grond S , Gruendling M , Huhle G , Jaschinski U , John S , Mayer K , Oppert M , Olthoff D , Quintel M , Ragaller M , Rossaint R , Stuber F , Weiler N , Welte T , Bogatsch H , Hartog C , Loeffler M and Reinhart K, *Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study.* Intensive Care Med, 2007. 33(4): p. 606-18.
184. Diekema DJ , Beekmann SE , Chapin KC , Morel KA , Munson E and Doern GV, *Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection.* J Clin Microbiol, 2003. 41(8): p. 3655-60.
185. Wang P , Yang ZT , He YG and Shu CM, *Pitfalls in the rapid diagnosis of positive blood culture.* Rev Med Microbiol, 2010. 21(3): p. 39-43.

186. Murphy SL , Xu J and Kochanek KD, *Deaths: preliminary data for 2010*. National Vital Statistics Report, 2012. 60(4): p. 1-68.
187. Dellinger RP , Levy MM , Carlet JM , Bion J , Parker MM , Jaeschke R , Reinhart K , Angus DC , Brun-Buisson C , Beale R , Calandra T , Dhainaut JF , Gerlach H , Harvey M , Marini JJ , Marshall J , Ranieri M , Ramsay G , Sevransky J , Thompson BT , Townsend S , Vender JS , Zimmerman JL and Vincent JL, *Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008*. Crit Care Med, 2008. 36(1): p. 296-327.
188. Bone RC , Grodzin CJ and Balk RA, *Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process*. Chest, 1997. 112(1): p. 235-43.
189. Brunn GJ , Wijdicks MF and Platt JL, *Toward a modern concept of sepsis: new answers to ancient questions*. Discov Med, 2006. 6(31): p. 11-7.
190. Johnson GB , Brunn GJ , Samstein B and Platt JL, *New insight into the pathogenesis of sepsis and the sepsis syndrome*. Surgery, 2005. 137(4): p. 393-5.
191. Bates DW , Sands K , Miller E , Lanken PN , Hibberd PL , Graman PS , Schwartz JS , Kahn K , Snyderman DR , Parsonnet J , Moore R , Black E , Johnson BL , Jha A and Platt R, *Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group*. J Infect Dis, 1997. 176(6): p. 1538-51.
192. Bennett IL, Jr. and Beeson PB, *Bacteremia: a consideration of some experimental and clinical aspects*. Yale J Biol Med, 1954. 26(4): p. 241-62.
193. Jaimes F , Arango C , Ruiz G , Cuervo J , Botero J , Velez G , Upegui N and Machado F, *Predicting bacteremia at the bedside*. Clin Infect Dis, 2004. 38(3): p. 357-62.
194. Mackowiak PA, *Concepts of fever*. Arch Intern Med, 1998. 158(17): p. 1870-81.
195. Riedel S , Bourbeau P , Swartz B , Brecher S , Carroll KC , Stamper PD , Dunne WM , McCardle T , Walk N , Fiebelkorn K , Sewell D , Richter SS , Beekmann S and Doern GV, *Timing of specimen collection for blood cultures*



- from febrile patients with bacteremia.* J Clin Microbiol, 2008. 46(4): p. 1381-5.
196. Bossink AW , Groeneveld AB , Hack CE and Thijs LG, *The clinical host response to microbial infection in medical patients with fever.* Chest, 1999. 116(2): p. 380-90.
  197. Galetto-Lacour A , Zamora SA and Gervais A, *Bedside procalcitonin and C-reactive protein tests in children with fever without localizing signs of infection seen in a referral center.* Pediatrics, 2003. 112(5): p. 1054-60.
  198. Martin GS , Mannino DM , Eaton S and Moss M, *The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000.* N Engl J Med, 2003. 348(16): p. 1546-54.
  199. Fioretto JR , Martin JG , Kurokawa CS , Carpi MF , Bonatto RC , de Moraes MA and Ricchetti SM, *Comparison between procalcitonin and C-reactive protein for early diagnosis of children with sepsis or septic shock.* Inflamm Res, 2010. 59(8): p. 581-6.
  200. Lai CC , Chen SY , Wang CY , Wang JY , Su CP , Liao CH , Tan CK , Huang YT , Lin HI and Hsueh PR, *Diagnostic value of procalcitonin for bacterial infection in elderly patients in the emergency department.* J Am Geriatr Soc, 2010. 58(3): p. 518-22.
  201. Kumar A , Ellis P , Arabi Y , Roberts D , Light B , Parrillo JE , Dodek P , Wood G , Simon D , Peters C , Ahsan M and Chateau D, *Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock.* Chest, 2009. 136(5): p. 1237-48.
  202. Calandra T and Cohen J, *The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit.* Crit Care Med, 2005. 33(7): p. 1538-48.
  203. Dellit TH , Owens RC , McGowan JE, Jr. , Gerding DN , Weinstein RA , Burke JP , Huskins WC , Paterson DL , Fishman NO , Carpenter CF , Brennan PJ , Billeter M and Hooton TM, *Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines*

- for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship.* Clin Infect Dis, 2007. 44(2): p. 159-77.
204. Esposito S , Tagliabue C , Picciolli I , Semino M , Sabatini C , Consolo S , Bosis S , Pinzani R and Principi N, *Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia.* Respir Med, 2011. 105(12): p. 1939-45.
205. Nobre V , Harbarth S , Graf JD , Rohner P and Pugin J, *Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial.* Am J Respir Crit Care Med, 2008. 177(5): p. 498-505.
206. Schuetz P , Christ-Crain M , Wolbers M , Schild U , Thomann R , Falconnier C , Widmer I , Neidert S , Blum CA , Schonenberger R , Henzen C , Bregenzer T , Hoess C , Krause M , Bucher HC , Zimmerli W and Muller B, *Procalcitonin guided antibiotic therapy and hospitalization in patients with lower respiratory tract infections: a prospective, multicenter, randomized controlled trial.* BMC Health Serv Res, 2007. 7: p. 102.
207. Agarwal R and Schwartz DN, *Procalcitonin to guide duration of antimicrobial therapy in intensive care units: a systematic review.* Clin Infect Dis, 2011. 53(4): p. 379-87.
208. Schuetz P , Chiappa V , Briel M and Greenwald JL, *Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms.* Arch Intern Med, 2011. 171(15): p. 1322-31.
209. Minino AM , Heron MP and Smith BL, *Deaths: preliminary data for 2004.* Natl Vital Stat Rep, 2006. 54(19): p. 1-49.
210. File TM, Jr. and Marrie TJ, *Burden of community-acquired pneumonia in North American adults.* Postgrad Med, 2010. 122(2): p. 130-41.
211. Heron M , Hoyert DL , Murphy SL , Xu J , Kochanek KD and Tejada-Vera B, *Deaths: final data for 2006.* Natl Vital Stat Rep, 2009. 57(14): p. 1-134.
212. Rello J, *Demographics, guidelines, and clinical experience in severe community-acquired pneumonia.* Crit Care, 2008. 12 Suppl 6: p. S2.

213. Kaplan V , Clermont G , Griffin MF , Kasal J , Watson RS , Linde-Zwirble WT and Angus DC, *Pneumonia: still the old man's friend?* Arch Intern Med, 2003. 163(3): p. 317-23.
214. Schuetz P , Briel M , Christ-Crain M , Wolbers M , Stolz D , Tamm M and Muller B, *Procalcitonin to initiate or withhold antibiotics in acute respiratory tract infections (Protocol)*. The Cochrane Collaboration, 2009. 3: p. 1-7.
215. Donowitz GR, *Acute pneumonia*, in *Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious disease*, G.L. Mandell, J.E. Bennett, and R. Dolin, Editors. 2010, Churchill Livingstone Elsevier: Philadelphia. p. 891-916.
216. Niederman MS, *Biological markers to determine eligibility in trials for community-acquired pneumonia: a focus on procalcitonin*. Clin Infect Dis, 2008. 47 Suppl 3: p. S127-32.
217. Simon L , Gauvin F , Amre DK , Saint-Louis P and Lacroix J, *Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis*. Clin Infect Dis, 2004. 39(2): p. 206-17.
218. Brown SM and Dean NC, *Defining and predicting severe community-acquired pneumonia*. Curr Opin Infect Dis, 2010. 23(2): p. 158-64.
219. Mira JP , Max A and Burgel PR, *The role of biomarkers in community-acquired pneumonia: predicting mortality and response to adjunctive therapy*. Crit Care, 2008. 12 Suppl 6: p. S5.
220. Yealy DM , Auble TE , Stone RA , Lave JR , Meehan TP , Graff LG , Fine JM , Obrosky DS , Edick SM , Hough LJ , Tuozzo K and Fine MJ, *The emergency department community-acquired pneumonia trial: Methodology of a quality improvement intervention*. Ann Emerg Med, 2004. 43(6): p. 770-82.
221. Nazarian DJ , Eddy OL , Lukens TW , Weingart SD and Decker WW, *Clinical policy: critical issues in the management of adult patients presenting to the emergency department with community-acquired pneumonia*. Ann Emerg Med, 2009. 54(5): p. 704-31.

222. Mandell LA , Wunderink RG , Anzueto A , Bartlett JG , Campbell GD , Dean NC , Dowell SF , File TM, Jr. , Musher DM , Niederman MS , Torres A and Whitney CG, *Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults*. Clin Infect Dis, 2007. 44 Suppl 2: p. S27-72.
223. Lim WS , van der Eerden MM , Laing R , Boersma WG , Karalus N , Town GI , Lewis SA and Macfarlane JT, *Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study*. Thorax, 2003. 58(5): p. 377-82.
224. Whang KT , Steinwald PM , White JC , Nylén ES , Snider RH , Simon GL , Goldberg RL and Becker KL, *Serum calcitonin precursors in sepsis and systemic inflammation*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(9): p. 3296-301.
225. Christ-Crain M and Müller B, *Procalcitonin and pneumonia: is it a useful marker?* Curr Infect Dis Rep, 2007. 9(3): p. 233-40.
226. Brown JS, *Biomarkers and community-acquired pneumonia*. Thorax, 2009. 64(7): p. 556-8.
227. WMA, *Declaration Of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects*, in *59th WMA General Assembly*, W.M. Association, Editor. October 2008: Seoul.
228. T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü, *İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu*. 1995, T.C. Sağlık Bakanlığı: Ankara.
229. Dandona P , Nix D , Wilson MF , Aljada A , Love J , Assicot M and Bohuon C, *Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 1994. 79(6): p. 1605-8.
230. Chomczynski P and Sacchi N, *Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction*. Anal Biochem, 1987. 162(1): p. 156-9.
231. Oberhoffer M , Stonans I , Russwurm S , Stonane E , Vogelsang H , Junker U , Jäger L and Reinhart K, *Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro*. J Lab Clin Med, 1999. 134(1): p. 49-55.

232. de Wit NC , de Jager CP , Meekelenkamp JC , Schoorl M , van Gageldonk-Lafeber AB , Leenders AC , Kusters R and Wever PC, *Markers of infection in inpatients and outpatients with acute Q-fever*. Clin Chem Lab Med, 2009. 47(11): p. 1407-9.
233. Espana PP , Capelastegui A , Bilbao A , Diez R , Izquierdo F , Lopez de Goicoetxea MJ , Gamazo J , Medel F , Salgado J , Gorostiaga I and Quintana JM, *Utility of two biomarkers for directing care among patients with non-severe community-acquired pneumonia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012. 31(12): p. 3397-405.
234. Zarka V , Valat C , Lemarie E , Boissinot E , Carre P , Besnard JC and Diot P, *Procalcitonine sérique et pathologie infectieuse respiratoire*. Rev Pneumol Clin, 1999. 55: p. 365-369.
235. Ugajin M , Miwa S , Shirai M , Ohba H , Eifuku T , Nakamura H , Suda T , Hayakawa H and Chida K, *Usefulness of serum procalcitonin levels in pulmonary tuberculosis*. Eur Respir J, 2011. 37(2): p. 371-5.
236. Sahin F , Yazar E and Yildiz P, *Prominent features of platelet count, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in pulmonary tuberculosis*. Multidiscip Respir Med, 2012. 7(1): p. 38.
237. Schluger NW and Rom WN, *The host immune response to tuberculosis*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. 157(3 Pt 1): p. 679-91.
238. Ribera E , Ocana I , Martinez-Vazquez JM , Rossell M , Espanol T and Ruibal A, *High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion*. Chest, 1988. 93(2): p. 308-11.
239. Soderblom T , Nyberg P , Teppo AM , Klockars M , Riska H and Pettersson T, *Pleural fluid interferon-gamma and tumour necrosis factor-alpha in tuberculous and rheumatoid pleurisy*. Eur Respir J, 1996. 9(8): p. 1652-5.
240. Nyamande K and Lalloo UG, *Serum procalcitonin distinguishes CAP due to bacteria, Mycobacterium tuberculosis and PJP*. Int J Tuberc Lung Dis, 2006. 10(5): p. 510-5.
241. Evans ME , Gregory DW , Schaffner W and McGee ZA, *Tularemia: a 30-year experience with 88 cases*. Medicine (Baltimore), 1985. 64(4): p. 251-69.

242. Diez-Padrisa N , Bassat Q , Morais L , O'Callaghan-Gordo C , Machevo S , Nhampossa T , Ibarz-Pavon AB , Quinto L , Alonso PL and Roca A, *Procalcitonin and C-reactive protein as predictors of blood culture positivity among hospitalised children with severe pneumonia in Mozambique*. Trop Med Int Health, 2012. 17(9): p. 1100-7.
243. Lavrentieva A , Papadopoulou S , Kioumis J , Kaimakamis E and Bitzani M, *PCT as a diagnostic and prognostic tool in burn patients. Whether time course has a role in monitoring sepsis treatment*. Burns, 2012. 38(3): p. 356-63.
244. Tugrul S , Esen F , Celebi S , Ozcan PE , Akinci O , Cakar N and Telci L, *Reliability of procalcitonin as a severity marker in critically ill patients with inflammatory response*. Anaesth Intensive Care, 2002. 30(6): p. 747-54.
245. Naeini AE and Montazerolghaem S, *Procalcitonin marker for sepsis diagnosis. Evaluating a rapid immuno-chromatografic test*. Saudi Med J, 2006. 27(3): p. 422-4.
246. Tsangaris I , Plachouras D , Kavatha D , Gourgoulis GM , Tsantes A , Kopterides P , Tsaknis G , Dimopoulou I , Orfanos S , Giamarellos-Bourboulis E , Giamarellou H and Armaganidis A, *Diagnostic and prognostic value of procalcitonin among febrile critically ill patients with prolonged ICU stay*. BMC Infect Dis, 2009. 9: p. 213.
247. Sakr Y , Burgett U , Nacul FE , Reinhart K and Brunkhorst F, *Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis?* Crit Care Med, 2008. 36(7): p. 2014-22.
248. Selberg O , Hecker H , Martin M , Klos A , Bautsch W and Kohl J, *Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6*. Crit Care Med, 2000. 28(8): p. 2793-8.
249. Flanders SA , Stein J , Shochat G , Sellers K , Holland M , Maselli J , Drew WL , Reingold AL and Gonzales R, *Performance of a bedside C-reactive protein test in the diagnosis of community-acquired pneumonia in adults with acute cough*. Am J Med, 2004. 116(8): p. 529-35.

250. Kruger S , Pletz MW and Rohde G, [*Biomarkers in community acquired pneumonia - what did we learn from the CAPNETZ study?*]. *Pneumologie*, 2011. 65(2): p. 110-3.
251. Pencina MJ , D'Agostino RB, Sr. , D'Agostino RB, Jr. and Vasan RS, *Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond*. *Stat Med*, 2008. 27(2): p. 157-72; discussion 207-12.