

Pneumocystis jirovecii Pnömonisi Şüphesi ile 2003-2011 Yılları Arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Solunum Yolu Örneklerinde Direkt Floresans Antikor Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi †

Keremettin YANIK*, Adil KARADAĞ*, Egemen USTA*, Nevzat ÜNAL*, Hava YILMAZ**, Murat HÖKELEK***

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji* ve Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji** Anabilim Dalları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı***

ÖZET

Amaç: *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi (PCP), alta yatan hastalığı olan ve immünsupresif tedavi veya steroid kullanan bağışıklık sistemi bozulmuş bireylerde, yaşamı tehdit eden önemli hastalıklardan biridir. Etken; daha önceleri bir protozoon olarak bilinirken, günümüzde mantar olduğu kabul edilen ve insanlarda PCP'ye yol açan, *P. jirovecii*'dir. Çalışmamızın amacı, PCP şüphesiyle izlenen çocuk ve yetişkinlerde direkt floresans antikor (DFA) yöntemiyle *P. jirovecii* tespitinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: PCP şüphesiyle 2003-2011 yılları arasında parazitoloji laboratuvarına gönderilen 255 solunum yolu örneği çalışmaya alındı. Örnekler; insan *P. jirovecii* kist, sporozoit ve trofozoitlerinin hücre duvarı ve matris antijenlerine özgül monoklonal antikorların kullanıldığı MeriFluor *Pneumocystis* (MeridianBioscience, USA) ticari kiti kullanılarak, DFA tekniği ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.

Bulgular: Örneklerin en sık dahiliye, enfeksiyon ve göğüs hastalıkları kliniklerinden gönderildiği saptandı. Çalışmaya alınan 255 örneğin ait olduğu hastaların 152 (%60)'si erkek, 103 (%40)'ü kadın olup, yaş ortalamaları 46.7 idi. İkiyüz ellibeş örneğin 138 (%54)'i pozitif, 117 (%46)'si negatif olarak değerlendirildi. Pozitif hastaların 79 (%57)'u erkek, 59 (%43)'ü kadın olup, 14 (%10)'ü 18 yaşın altındaydı. Hematolojik malignite, *P. jirovecii* pozitif hastalarda, alta yatan en sık hastalık (n: 75 hasta; %54,3) olarak tespit edildi.

Sonuç: Kazanılmış immün yetmezlik sendromu (Acquired immune deficiency syndrome: AIDS) ve hematolojik malignitesi olanlar PCP'den en çok etkilenen hasta gruplarıdır. PCP tanısında en çok kullanılan immünolojik yöntem floresans antikor testleridir. Risk grubunda bulunan pnömonili hastalarda, *P. jirovecii*'nin oldukça sık görüldüğü gözardı edilmemeli, mortalite ve morbiditeyi azaltmak için, tanıda duyarlılığı yüksek DFA'nın tercih edilebileceği düşünülmelidir.

Anahtar kelimeler: *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi, floresans antikor testi, immünsupresyon

SUMMARY

Evaluation of Respiratory Samples Results of the Direct Fluorescent Antibody Test Sending with Suspicion of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia to the Parasitology Laboratory of Ondokuz Mayıs University Medical School Between the Years 2003-2011

Objective: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PCP) is one of the most important life-threatening diseases in immunocompromised patients having an underlying disease or using immunosuppressive drugs including steroids. *Pneumocystis jirovecii*, previously known as a protozoon and now accepted as a fungus, is the causative agent of PCP. The purpose of the study is to evaluate data by determining the frequency of patients with *P. jirovecii* diagnosed by direct fluorescent antibody (DFA) method among children and adults admitted to our hospital with suspected PCP.

Materials and Methods: Two hundred and fifty-five respiratory samples sent to parasitology laboratory between 2003 and 2011 were included in the study. Samples were processed by using direct immunofluorescence technique with MeriFluor *Pneumocystis* (MeridianBioscience, USA) commercial kit which uses specific monoclonal antibodies against cell wall and matrix antigens of human *P. jirovecii* cyst, sporozoite and trophozoite in accordance with the recommendations of the manufacturer.

Results: Most of the samples came from the clinics of internal medicine, infectious diseases and chest diseases. Of 255 patients included in the study, 152 (60%) were male, 103 (40%) were female and the mean age was 46.7 years. Of the 255 samples, 138 (54%) were positive and 117 (46%) were negative. Of the positive patients, 79 (57%) were male, 59 (43%) were female and 14 (10%) were under the age of 18. The most frequently seen disease in *P. jirovecii* positive patients was haematologic malignancy which was seen in 75 patients (54.3%).

Conclusions: Patients with Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and haematologic disorders were the most affected groups by PCP. The most commonly used immunologic technique in the diagnosis of PCP is immunofluorescence. We suggest that the frequency of *P. jirovecii* shouldn't be overlooked in patients in the risk group and DFA can be preferred as the diagnostic tool for reducing mortality and morbidity due to its high sensitivity.

Key words: *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, fluorescence antibody method, immunosuppression

Alındığı tarih: 12.08.2012

Kabul tarihi: 23.10.2012

Yazışma adresi: Dr. Nevzat Ünal, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

e-posta: drnevezatunal@hotmail.com

†Bu çalışma, XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur (3-7 Kasım 2012, Kuşadası, Aydın).

GİRİŞ

Pneumocystis jirovecii pnömonisi (PCP), altta yatan hastalığı olan ve immünsupresif tedavi veya steroid kullanan bağışıklık sistemi bozulmuş bireylerde yaşamı tehdit eden önemli hastalıklardan biridir ⁽¹⁾. Etken daha önceleri protozoon olarak bilinen, günümüzde mantar olduğu kabul edilen ve insanlarda görülen PCP'ye yol açan *P. jirovecii*'dir ^(2,3). DNA gen dizisi analizlerine göre beş tür tanımlanmıştır. *Pneumocystis carini* ve *Pneumocystis wakefieldiae* sıçanları, *Pneumocystis oryctolagi* ise tavşanları enfekte eder. *Pneumocystis murina* ise farelerin akciğerlerinde bulunur ^(4,5). PCP olan hastalarda en sık dispne, taşipne, öksürük, ateş ve siyanoz gibi non-spesifik semptomlar görülür. En çok trofozoit form görülmekte olup, hücre merkezinde olmayan bir çekirdeği, retiküler sitoplazması, mitokondrileri ve az gelişmiş bir hücre duvarı ile 2-5 µm boyutlarında değişken bir morfoloji gösterir. Trofozoitler genelde kümeler halinde görülmektedir. Prekist, ara evredir ve ikiye bölünme ile eşeysiz olarak çoğalır. Erken, ara ve geç prekist olmak üzere üç evresi bulunmaktadır. Kistler; yuvarlak, 5-8 µm boyutlarında olup, kalın bir duvarı içinde birbirinden bağımsız en çok sekiz intrakistik cisimler (sporozoit 1-2 µm boyutlarında) taşımaktadır ⁽⁶⁾. *Pneumocystis* türleri kültür ortamlarında üretilmemiştir. Serumda antikor saptanmasına yönelik serolojik testler, çocukluk döneminde sıklıkla geçirildiğinden değerli değildir. Enfeksiyonun kesin tanısı, uyumlu bir klinikle beraber hastanın balgam, indüklenmiş balgam, trakeal aspirat sıvısı (TAS), bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı veya akciğer doku biyopsisi gibi örneklerinde organizmanın morfolojik olarak histolojik boyalar ve floresans antikor yöntemleriyle gösterilmesi ya da daha duyarlı moleküler yöntemlerle saptanması ile konulabilmektedir ⁽⁷⁾. Floresans mikroskopu ile mikroorganizmalar tek tek veya kümeler oluşturmuş parlak elma yeşili renkli cisimcikler olarak görülür. Trofozoidler, kistler ve kistlerin ekstrasellüler matrisi boyanır. PCP tanısında floresans antikor yönteminin, kolay uygulanabilmesi, kısa sürede sonuç alınabilmesi, diğer boyama yöntemlerinden daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğünün bulunması gibi olumlu özelliklerine rağmen, floresans mikroskopu ve sarf malzemelerin pahalı olması nedeniyle kullanımı sınırlıdır ^(6,8,9). PCP tanısında, mikroskopik inceleme-ye dayalı tanı yöntemlerinden daha yüksek oranda

duyarlılık ve özgüllüğü sahip ve özellikle bu hasta popülasyonunda kullanışlı olan moleküler metotlar da günümüzde mevcuttur ⁽¹⁰⁾. Moleküler testlerin duyarlılık ve özgüllükleri yüksektir, ancak klinik olarak PCP gelişmeyen hastalarda da solunum yolu örneklerinde *P. jirovecii* DNA'sını saptayabilmekte ve bu da kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımında zorluklar oluşturmaktadır ⁽¹¹⁻¹³⁾. Konvansiyonel moleküler tekniklerin uygulanmasının çok zaman alması, duyarlılığı artırmak için birçok aşamanın gerekli olması ve kontaminasyon olasılığının bulunması da diğer dezavantajlarıdır ⁽¹⁴⁾. Son yıllarda, "real-time polimerase chain reaction (RT-PCR)" metodu, daha az spesifik olan daha önceki metotların (nested PCR gibi) yerini büyük oranda almıştır ⁽¹⁰⁾. PCP'nin tedavisinde trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) tüm formları için tercih edilen, ilk seçenek ilaçtır ⁽¹⁾. Çalışmamızın amacı, hastanemize başvuran ve PCP şüphesiyle izlenen çocuk ve yetişkinlerde, direkt floresans antikor (DFA) yöntemiyle *P. jirovecii* tespitinin değerlendirilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

PCP şüphesiyle 2003-2011 yılları arasında parazitoloji laboratuvarına gönderilen, 255 solunum yolu örneği çalışmaya alındı. Örnekler, insan *P. jirovecii* kist, sporozoit ve trofozoitlerinin hücre duvarı ve matris antijenlerine özgül monoklonal antikorların kullanıldığı, MeriFluor *Pneumocystis* (Meridian Bioscience, USA) ticari kiti kullanılarak, DFA tekniği ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. Laboratuvara gelen bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı ve balgam örnekleri bekletilmeden işleme alındı. Balgam örneği, örneğin miktarı kadar 0,1M dithiotreitol (DTT; Sigma, USA) eklendikten sonra vortekslenerek 15-30 dakika 37°C'da bekletildi. BAL sıvısı örnekleri ise en az 5 ml olacak şekilde başka bir tüpe aktarıldı. Homojenize süspansiyonlar vortekslendikten sonra 1800 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra çökelti 500 µl 20mM phosphate buffered saline (PBS; pH 7-7.8; Sigma, USA) ile resüspanse edildi. Bu süspansiyonun 25-50 µl'si test lamına aktarıldı ve havada kurutulduktan sonra 1-2 damla aseton damlatılıp kuruması beklenerek tespit edildi. Tespit edilen örnekler üzerine MeriFluor *Pneumocystis* (MeridianBioscience, USA) belirleme solüsyonundan 50 µl eklenerek nemli ortamda ve kapalı bir kutuda 30 dakika 37°C'da inkübe edildi.

Distile su ile yıkama sonrası kapatma solüsyonu eklendi ve lamel kapatıldı. Preparatlar "Olympus BX50F4" model (Olympus Optical, Japan) floresans mikroskop ile 200-400X büyütmede incelenerek pozitif kontrol ile karşılaştırıldı. Preparatta en az bir kist veya trofozoit görülmesi pozitif, hiç görülmemesi negatif olarak yorumlandı.

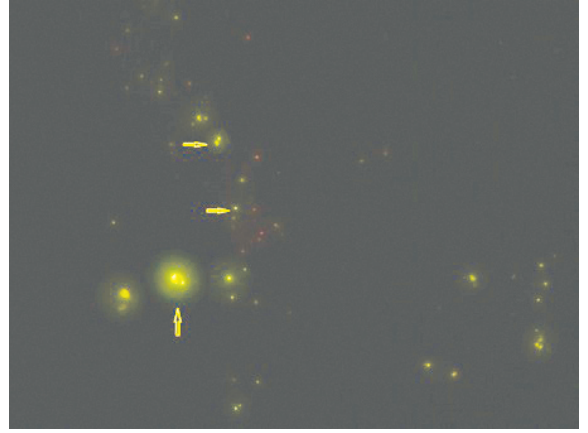
BULGULAR

Örneklerin en sık dahiliye, enfeksiyon ve göğüs hastalıkları kliniklerinden gönderildiği saptandı (Tablo 1). Çalışmaya alınan 255 örneğin ait olduğu hastaların 152 (%60)'si erkek, 103 (%40)'ü kadın olup, yaş ortalamaları 46,7 olarak bulundu. İkiyüz ellibeş örneğin 138 (%54)'i pozitif, 117 (%46)'si negatif olarak değerlendirildi (Tablo 1). Pozitif hastaların 79 (%57)'u erkek, 59 (%43)'ü kadın olup, 14 (%10)'ü 18 yaşın altında idi. Test sonuçlarının yıllara ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2'de sunulmuştur. *P. jirovecii* pozitif hastalarda en sık görülen hastalık (n:75; %54,3), hematolojik malignite olarak tespit edildi. *P. jirovecii* pozitif hastaların tanı dağılımı Tablo 3'te sunulmuştur. Çalışma döneminde *P. jirovecii* pozitif hastaların 93 (%67,4)'ünün ölmüş olduğu tespit edildi. *P. jirovecii* trofozoitlerinin floresans antikor boyalı preparatta

görünümleri Resim 1'de sunulmuştur.

Tablo 3. *Pneumocystis jirovecii* pozitif hastaların tanı dağılımı.

Tanımlar	Pozitif hasta sayısı, (%)
Hematolojik maligniteler	75 (54.3)
Kronik böbrek yetmezliği	16 (11.6)
Akciğer ve meme kanseri	14 (10.1)
Kazanılmış immün yetmezlik sendromu	10 (7.2)
Romatoid artrit	5 (3.6)
Diğer maligniteler	18 (13)
Toplam	138 (100)



Resim 1. Balganda *Pneumocystis jirovecii* trofozoitleri; tekli ve küme yapmış (DFA).

Tablo 1. Test sonuçlarının cinsiyete ve klinikler göre dağılımı.

Klinik (n)	Cinsiyet	Erkek			Kadın		
		P	N	T	P	N	T
Dahiliye (149)		40	47	87	38	24	62
Enfeksiyon Hastalıkları (33)		17	4	21	7	5	12
Göğüs Hastalıkları (32)		10	7	17	7	8	15
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (26)		10	7	17	4	5	9
Diğer Klinikler (15)		2	8	10	3	2	5
Toplam (255)		79	73	152	59	44	103

P: Pozitif; N: Negatif; T: Toplam

Tablo 2. Test sonuçlarının yıllara ve yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş-Pozitif (n)	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
0-17 / 14 (26) %53.8	2 (8)	1 (5)	0 (1)	3 (3)	3 (4)	0 (0)	3 (3)	0 (0)	2 (2)
18-30 / 9 (31) %29	0 (3)	2 (10)	0 (2)	2 (3)	1 (1)	2 (2)	1 (5)	0 (0)	1 (5)
31-50 / 45 (74) %60.8	7 (13)	6 (12)	4 (7)	4 (7)	5 (7)	3 (3)	12 (15)	1 (2)	3 (8)
51-60 / 26 (40) %65	3 (8)	2 (6)	1 (3)	3 (4)	6 (6)	4 (4)	5 (6)	0 (0)	2 (3)
>61 / 44 (84) %52.4	0 (7)	0 (8)	3 (8)	10 (14)	12 (15)	7 (9)	8 (15)	2 (4)	2 (4)
Toplam 138 (255)	12 (39) %30,8	11 (41) %26,8	8 (21) %38,1	22 (31) %71	27 (33) %81,8	16 (18) %88,9	29 (44) %65,9	3 (6) %50	10 (22) %45,4

TARTIŞMA

Kazanılmış immün yetmezlik sendromu (Acquired immune deficiency syndrome: AIDS) ve hematolojik malignitesi olanlar PCP'den en çok etkilenen hasta gruplarıdır. Ancak, geçtiğimiz on yılda etkin tedavi uygulamaları ile HIV enfeksiyonundaki azalmaya rağmen, PCP, nakil yapılan hastalarda (kemik iliği nakli dâhil), otoimmün ve diğer enflamatuar hastalıklarda, uzun süre immunsupresif veya kortikosteroid

kullanılarda ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir (15-20). Huang L ve ark. (21) çalışmalarında HIV'li hastalarda PCP pozitifliğini % 69 olarak bildirmektedir. Helweg-Larsen J ve ark. (22) çalışmalarında bağışıklığı baskılanmış hastalarda ise oranı %58,8 olarak bildirmektedir. Calderón EJ ve ark. (23) ise, altta akciğer hastalığı olan yetişkinler arasında %55'lere varan pozitiflik bildirmektedir. Güneş ve ark. (24) 49 hastada %11,3; Öner YA ve ark. (25) 70 hastada %7,1 oranında pozitiflik saptamıştır. Çalışmamızda ise tüm PCP şüpheli hastaların %10'u çocuk ve %90'ı yetişkin hastalardan oluşmakta olup, son dokuz yıl içinde incelenen hastalarda %54 pozitiflik oranı saptanmıştır. Çalışmamızda pozitiflik oranının yüksek olması; alınan numunelerin uygun, kullanılan yöntemin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek, değerlendiren personelin tecrübeli olmasına ve özellikle PCP açısından yüksek risk grubundaki hastalardan test istenmesine bağlanmıştır. Çalışmamızda *P. jirovecii* pozitifliği en sık hematolojik malignitesi olanlarda tespit edilmiştir. Bu literatür bilgileri ile uyumludur. AIDS'li hastalarda daha az tespit edilmesi ise, ülkemizde AIDS'in az görülmesi ile ilgili olduğunu düşündürmüştür.

PCP enfeksiyonlarında hastanın klinik durumunun aniden bozulmaya başlaması görülebilir (26). Bu durumda duyarlılığı yüksek, uygun yöntemleri kullanılarak erken tanı konması ve tedaviye başlanması klinik sonucu olumlu yönde etkiler (14,27). PCP tanısında en çok kullanılan immünolojik yöntem floresans antikor testleridir. Floresans boyalar ile işaretli monoklonal antikorların avantajı hem trofozoit hem de kist şekillerini boyayabilmesidir. Bu durum PCP sırasında trofozoit şekiller daha baskın olduğu için tanıda önemlidir. Risk grubunda bulunan pnömonili hastalarda, *P. jirovecii*'nin oldukça sık görüldüğünün gözardı edilmemesi, mortalite ve morbiditeyi azaltmak için, duyarlılığı yüksek ve güvenli olması nedeniyle DFA'nın tanıda tercih edilebileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Walzer PD, Smulian AG. *Pneumocystis* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier-Churchill Livingstone, 2009: 3377-90.
2. Stringer JR, Beard CB, Miller RF, Wakefield AE. A new name (*Pneumocystis jirovecii*) for *Pneumocystis* from humans. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:891-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0809.020096>
3. Cushion MT. *Pneumocystis*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM Press, 2007; 1789-1801.
4. Redhead S, Cushion MT, Frenkel JK, Stringer JR. *Pneumocystis* and *Trypanosoma cruzi*: nomenclature and typifications. *J Eukaryot Microbiol* 2006; 53:2-11. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00072.x> PMID:16441572
5. Beck JM, Cushion MT. *Pneumocystis* Workshop: 10th anniversary summary. *Eukaryot Cell* 2009; 8:446-60. <http://dx.doi.org/10.1128/EC.00309-08> PMID:19168751 PMCid:PMC2669207
6. Girginkardeşler N, Ok Üz, Korkmaz M. *Pneumocystis* pnömonisi. Özcel MA, Özbel Y, Ak M eds. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını* No:22, 2007; 451-72.
7. Thomas CF Jr, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *N Engl J Med* 2004; 350:2487-98. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra032588> PMID:15190141
8. Dağcı H, Delibaş B, Aktoğu S, Altıntaş N. *Pneumocystis carinii* tanısında Giemsa ve Gram-Weigert boyama yöntemlerinin indirekt floresans antikor yöntemiyle karşılaştırılması. *Türkiye Parazitol Derg* 2000; 24:365-8.
9. Procop GW, Haddad S, Quinn J, et al. Detection of *Pneumocystis jirovecii* in respiratory specimens by four staining methods. *J Clin Microbiol* 2004; 42:3333-5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.7.3333-3335.2004> PMID:15243109 PMCid:PMC446244
10. Carmona EM, Limper AH. Update on the diagnosis and treatment of *Pneumocystis pneumonia*. *Thorax* 2011; 5:41-59. <http://dx.doi.org/10.1177/1753465810380102> PMID:20736243
11. Arcenas RC, Uhl JR, Buckwalter SP, et al. A real-time polymerase chain reaction assay for detection of *Pneumocystis* from bronchoalveolar lavage fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 54:169-75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.08.006> PMID:16423488
12. Huggett JF, Taylor MS, Kocjan G, et al. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Pneumocystis jirovecii* DNA in bronchoalveolar lavage fluid of HIV infected patients. *Thorax* 2008; 63:154-9. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2007.081687> PMID:17693588
13. McTaggart LR, Wengenack NL, Richardson SE. Validation of the MycAssay *Pneumocystis* kit for detection of *Pneumocystis jirovecii* in bronchoalveolar lavage specimens by comparison to a laboratory standard of direct immunofluorescence microscopy, Real-Time PCR, or conventional PCR. *J Clin Microbiol* 2012; 50:1856-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.05880-11> PMID:22422855 PMCid:PMC3372158
14. Elbüken G. *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonu ve akciğer tutulumu. *Uludağ Üniv Tıp Fak Derg* 2007; 33:97-103.
15. Ng B, Dipchand A, Naftel D, et al. Outcomes of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia infections in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2011; 15:844-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3046.2011.01589.x> PMID:22112000
16. Le Gal S, Damiani C, Rouillé A, et al. A cluster of *Pneumocystis* infections among renal transplant recipients: molecular evidence of colonized patients as potential infectious sources of *Pneumocystis jirovecii*. *Clin Infect Dis* 2012; 54:e62-71. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir996> PMID:22337822
17. De Castro N, Neuville S, Sarfati C, et al. Occurrence of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia after allogeneic stem cell transplantation: a 6-year retrospective study. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36:879-83. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bmt.1705149> PMID:16151423
18. Eitner F, Hauser IA, Rettkowski O, et al. Risk factors for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PCP) in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:2013-17.

- <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq689>
PMid:21071545
19. **Kalyoncu U, Karadağ Ö, Akdoğan A ve ark.** *Pneumocystis carinii* pneumonia in a rheumatoid arthritis patient treated with adalimumab. *Scand J Infect Dis* 2006; 39:475-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365540601071867>
PMid:17464877
 20. **Özkoç S, İnceboz T, Sifil A, Tuncay S, Akısü Ç.** Böbrek transplantasyonlu bir hastada *Pneumocystis* pnömonisi. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2010; 34:186-9.
PMid:21391190
 21. **Huang L, Crothers K, Morris A, et al.** *Pneumocystis* colonization in HIV-infected patients. *J Eukaryot Microbiol* 2003; 50(Suppl):S616-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00651.x>
 22. **Helweg-Larsen J, Jensen JS, Dohn B, Benfield TL, Lundgren B.** Detection of *Pneumocystis* DNA in samples from patients suspected of bacterial pneumonia-a case-control study. *BMC Infect Dis* 2002; 2:28.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-2-28>
PMid:12445330 PMCID:PMC139972
 23. **Calderón EJ, Rivero L, Respaldiza N, et al.** Systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease who are colonized with *Pneumocystis jirovecii*. *Clin Infect Dis* 2007; 45:e17-9.
<http://dx.doi.org/10.1086/518989>
PMid:17578770
 24. **Güneş İ, Kalkanç A, Kuştimur S, Ergüven S, Özet G, Ekim N.** *Pneumocystis carinii* pnömonisi tanısında metenamin gümüşleme, direk flüoresan antikor ve iki türlü polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2002; 35:105-12.
 25. **Öner YA, Sahip N, Uysal H, Büğet E.** 1997-2001 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesinde *Pneumocystis carinii* yönünden değerlendirilen 70 adet muayene maddesinin inceleme sonuçları. *Türkiye Parazitoloji Derg* 2002; 26:249-50.
 26. **Fishman JA.** Treatment of infection due to *Pneumocystis carinii*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:1309-14.
PMid:9624465 PMCID:PMC105593
 27. **Alan MS.** *Pneumocystis jirovecii* Pnömonisi. XIII. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, 14-18 Mart 2007, Antalya: Türkiye. S261-4.