

Mikrobiološka dijagnostika izvanbolničkih pneumonija

Microbiological Diagnostics of Community-Acquired Pneumonia

IVANA MAREKOVIĆ^{1,2}, DENIS BARIČEVIĆ³, NATAŠA FIRIS¹

¹Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, KBC Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³Klinika za plućne bolesti, KBC Zagreb

SAŽETAK Izvanbolničke pneumonije važan su uzrok morbiditeta i mortaliteta. Njihova etiologija i uz primjenu mikrobioloških metoda često ostaje nepoznata. Unatrag 20 godina zanimanje i potreba za mikrobiološkim pretragama kod bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom smanjili su se toliko da danas velik dio bolesnika nema otkrivenog uzročnika niti se on mikrobiološkim pretragama nastojao otkriti. Ograničenja u smislu provođenja mikrobioloških pretraga sadržavaju i trenutačno vrijedeće smjernice za dijagnostiku i liječenje izvanbolničkih pneumonija. Mikrobiološke pretrage u svrhu otkrivanja uzročnika izvanbolničkih pneumonija opravdano je primjenjivati kod hospitaliziranih bolesnika. To omogućuje primjenu ciljanog antimikrobnog liječenja, racionalnu primjenu antimikrobnih lijekova i smanjenje troškova liječenja. Osobito značenje u dijagnostici izvanbolničkih pneumonija imaju testovi otkrivanja pneumokoknog i legionelnog antigena u urinu. Najveće su im prednosti nalazi gotovi u roku od petnaest minuta te jednostavnost izvođenja. Molekularne pretrage nisu standardizirane, ali je otkrivanje pneumokoka u respiratornim uzorcima bolesnika prethodno liječenih antibioticima primjenom ovih metoda poboljšano. Zbog nesavršenosti mikrobioloških metoda kao pokazatelji etiologije izvanbolničke pneumonije i pomoć pri izboru antimikrobnog liječenja pokušavaju se primijeniti biomarkeri. Naime, njihove vrijednosti pokušale su se iskoristiti radi procjene duljine terapije i razlikovanja bakterijskih infekcija od virusnih. Prema do sada provedenim istraživanjima, vrijednosti procalcitonina mogu pomoći pri donošenju odluke o prestanku primjene antimikrobnih lijekova. Budućnost mikrobiološke dijagnostike izvanbolničkih pneumonija najvjerojatnije će biti upotreba testova point-of-care koje mogu izvoditi i medicinski djelatnici izvan laboratorija te daljnji razvoj i standardizacija molekularnih testova koji će omogućiti njihovu rutinsku primjenu.

KLJUČNE RIJEČI: izvanbolnička pneumonija, hemokultura, urinarni antigen, PCR, biomarkeri

SUMMARY Community-acquired pneumonia is an important cause of morbidity and mortality. Even with microbiological investigation done, the etiology frequently remains unknown. In the last 20 years the interest in and the need for microbiological tests in patients with community-acquired pneumonia have decreased, so today the majority of patients do not have the causative agent detected. Limitations regarding the use of microbiological tests are also found in the guidelines for diagnostics and treatment of community-acquired pneumonia. Microbiological investigation is indicated in hospitalized patients in order to administer pathogen-directed treatment, ensure rational administration of antibiotics and achieve savings in the cost of treatment. Urinary antigen tests for pneumococcus and legionella have a specific place among microbiological tests. Their greatest advantages are tests results obtained in only 15 minutes and their simplicity. Molecular methods have not been standardized, but the detection of pneumococcus in respiratory samples in patients previously treated with antibiotics has been improved. As a result of the imperfections of microbiological tests, biomarkers are investigated as indicators of community-acquired pneumonia etiology. The values of such biomarkers have been used for assessing the length of therapy and differentiating between bacterial and viral infections. Research has shown that procalcitonin levels can assist in making a decision about the duration of antimicrobial treatment. The future of microbiological diagnostics will most probably be point-of-care tests which can easily be performed by medical staff outside the laboratory, as well as further development and standardization of molecular tests to enable their routine use.

KEY WORDS: community-acquired pneumonia, blood culture, urinary antigen, PCR, biomarkers



Uvod

Izvanbolničke pneumonije važan su uzrok morbiditeta i mortaliteta. Unatoč primjeni mikrobioloških dijagnostičkih metoda njihova etiologija često ostaje nepoznata (1). Uzmemo li u obzir činjenice da mikrobiološ-

ke metode u dijagnostici izvanbolničkih pneumonija nisu savršene, da prema trenutačno vrijedećim smjernicama mikrobiološke pretrage kod ambulantno liječenih bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom nisu obavezne te da je empirijsko liječenje unatoč tomu vrlo djelotvorno, nameće

se pitanje važnosti mikrobioloških metoda u dijagnostici izvanbolničkih pneumonija, odnosno koliko je uopće važno otkriti uzročnika pneumonije.

Važnost otkrivanja uzročnika pneumonije

Mikrobiološke pretrage radi otkrivanja uzročnika izvanbolničke pneumonije nekad su imale ključnu ulogu u odabiru i ishodu antimikrobnog liječenja. Unatrag 20 godina zanimanje i potreba za mikrobiološkim pretragama kod bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom smanjili su se toliko da danas velik dio bolesnika nema otkrivenog uzročnika niti se on mikrobiološkim pretragama nastojao otkriti (2).

Na ovakav trend upućuju istraživanja u kojima je proučavana etiologija izvanbolničkih pneumonija. Dok je u istraživanjima provedenima početkom 20. stoljeća pneumokok bio otkriven kod većine ispitanika s izvanbolničkom pneumonijom, u nedavnim istraživanjima otkriven je u njih manje od 10% (2 – 5). Na temelju toga moglo bi se zaključiti ili da pneumokok kao važan uzročnik pneumonije nestaje, što je teško moguće ili, vjerojatnije, da su se posljednjih dvadesetak godina, možda i zbog djelotvornih antimikrobnih lijekova, smanjili interes i potreba za mikrobiološkim pretragama kod bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom. Zbog toga visoki postotak bolesnika nema dokazanog uzročnika, a mikrobiološke pretrage sa svrhom da se on otkrije sve se manje rade (2).

Dvojbena je koliki je opseg mikrobioloških pretraga opravdano napraviti kako bi se otkrio uzročnik pneumonije. Antimikrobni lijekovi primijenjeni prema vrijedećim smjernicama bit će djelotvorni kod većine bolesnika s pneumonijom pa će rezultati dijagnostičkih pretraga rijetko utjecati na njihovu primjenu. Mikrobiološke pretrage najviše će pomoći bolesnicima s teškom izvanbolničkom pneumonijom koji trebaju prijam u jedinicu intenzivnog liječenja te kod bolesnika s rizičnim čimbenicima za nastanak bolničke pneumonije (6).

U prilog tomu govore i istraživanja u kojima je utvrđeno da se rezultati dijagnostičkih metoda razlikuju s obzirom na težinu pneumonije. U tim su istraživanjima rezultati pneumokoknog antigena u urinu i rezultati hemokultura bili češće pozitivni kod bolesnika koji prema PSI-u (engl. *pneumonia severity index*) pripadaju u skupine IV i V, odnosno u skupine s težom pneumonijom (7).

Mikrobiološka dijagnostika i kliničke smjernice

Ograničenja u smislu provođenja mikrobioloških pretraga sadržavaju i trenutačno vrijedeće smjernice za dijagnostiku i liječenje izvanbolničkih pneumonija (3, 4). Prema smjernicama Američkog društva za infektivne bolesti i Američkoga torakalnog društva, niska osjetljivost i njihov neznatan pozitivni učinak na liječenje govore protiv rutin-

ske upotrebe uobičajenih mikrobioloških pretraga kao što su kultura sputuma i hemokultura. S druge strane, rezultati ovih pretraga kod pojedinih bolesnika mogu snažno utjecati na liječenje i važni su iz epidemioloških razloga kao što je praćenje osjetljivosti na antimikrobne lijekove koji se rabe pri razvoju smjernica za liječenje. Opsežnije mikrobiološke pretrage bile bi indicirane samo u slučajevima kad se očekuje da će rezultat pretrage promijeniti liječenje pojedinog bolesnika, odnosno kada se očekuje da će test biti visoko osjetljiv. Rutinske mikrobiološke pretrage radi otkrivanja etiologije nisu obavezne kod bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom koji ne trebaju hospitalizaciju. Hemokulture prije primjene antimikrobnih lijekova, Gramovih preparata i kultura sputuma (kod bolesnika s produktivnim kašljem) treba uzeti hospitaliziranim bolesnicima s prisutnim rizičnim čimbenicima kao što su prijam u jedinicu intenzivnog liječenja, leukopenija, alkoholizam, kronična bolest jetre, kronična opstruktivna plućna bolest, asplenija itd. Bolesnicima s teškom izvanbolničkom pneumonijom treba uzeti hemokulture, uzorak sputuma za Gramov preparat i kulturu te napraviti test otkrivanja urinarnog antigena za *Legionella pneumophila* i *Streptococcus pneumoniae*. Kod intubiranih bolesnika potrebno je uzeti uzorak aspirata traheje (bronhoskopski uzorci) (8).

Prema smjernicama Britanskoga torakalnog društva, mikrobiološke pretrage treba napraviti kod svih bolesnika s umjerenom i teškom izvanbolničkom pneumonijom pri čemu opseg pretraga ovisi o težini bolesti. Za bolesnike koji ne trebaju hospitalizaciju mikrobiološke se pretrage rutinski ne preporučuju. Kod hospitaliziranih bolesnika hemokulture se preporučuju onima s umjerenom i teškom izvanbolničkom pneumonijom, i to – ako je moguće – prije primjene antimikrobnih lijekova. Kulturu sputuma treba napraviti bolesnicima s umjerenom i teškom pneumonijom koji prethodno nisu dobivali antimikrobne lijekove i koji imaju produktivni kašalj. Test otkrivanja pneumokoknog antigena u urinu treba napraviti bolesnicima s umjerenom i teškom, a test otkrivanja legionelnog antigena u urinu bolesnicima s teškom izvanbolničkom pneumonijom (9).

Mikrobiološke pretrage

Mikrobiološke pretrage radi otkrivanja etiologije izvanbolničkih pneumonija jesu Gramov preparat i kultura sputuma, hemokultura, otkrivanje pneumokoknog i legionelnog antigena u urinu te, u novije vrijeme, molekularne pretrage. Uzorci dobiveni bronhoskopski rabe se u dijagnostici izvanbolničkih pneumonija koje ne regresiraju nakon primjene antimikrobnog liječenja te kod bolničkih pneumonija. U novije vrijeme biomarkeri poput kalcitonina istražuju se kao mogući indikatori etiologije koji mogu pomoći pri donošenju odluke o potrebi primjene ili prekidu antimikrobnog liječenja (2, 10, 11).

Iskašljaj i bronhoskopski dobiveni uzorci

Najčešći i najdostupniji uzorak iz donjega respiratornog sustava jest iskašljaj. Prilikom uzimanja uzorka problem je moguća kontaminacija koja nastaje prolaskom kroz gornje dišne putove i usnu šupljinu. Tu nalazimo kolonizaciju velikim brojem različitih vrsta bakterija ($10^9 - 10^{10}$ CFU bakterija/mL slin) uključujući i potencijalne uzročnike pneumonije (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*), a kod bolesnika prethodno liječenih antimikrobnim lijekovima ili onih koji imaju neku osnovnu bolest (kronična opstruktivna plućna bolest, bronhiektazije) česta je kolonizacija gram-negativnim bacilima (enterobakterije, pseudomonas) (2).

Zato standardna mikrobiološka obrada uzoraka iskašljaja uključuje procjenu kvalitete i adekvatnosti uzorka probirom (skringom) kojim se utvrđuje prisutnost stanica pločastog epitela. Njihova je prisutnost pokazatelj kontaminacije uzorka te ih u adekvatnom uzorku sputuma mora biti manje od 25 po vidnom polju malog povećanja mikroskopa $100 \times$ (2, 12, 13). Njihovu prisutnost ili odsutnost u mikroskopskom preparatu uzorka treba uzeti u obzir prilikom interpretacije nalaza. Uzorak mora biti uzet prije primjene ili 6 – 12 sati od početka antimikrobnog liječenja te ga valja obraditi u roku od 2 sata ili, ako to nije moguće, pohraniti na 4°C (14). Osjetljivost kulture sputuma smanjuje se produženjem vremena od početka primjene antimikrobnih lijekova, odnosno smanjenjem adekvatnosti i kvalitete uzorka (2, 15). Prethodno primijenjeno antimikrobno liječenje smanjuje osjetljivost kulture iskašljaja za 34% (16).

U procjeni kliničkog značenja uzročnika izoliranog iz uzorka iskašljaja i ostalih uzoraka iz respiratornog sustava može poslužiti kvantitativni nalaz, odnosno broj prisutnih mikroorganizama. Istraživanja pokazuju da kod većine bakterijskih infekcija broj patogena na mjestu infekcije dostiže razinu od $10^6/\text{mL}$ ili $10^6/\text{g}$ (17). Ova otkrića važna su za interpretaciju kliničke relevantnosti nekog mikroorganizma. Malo je uzročnika koji imaju patogeno značenje i važnost bez obzira na prisutni broj (npr. *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* spp.). Za ostale kvantifikacija je važna radi interpretacije nalaza, osobito kod onih mikroorganizama koji često koloniziraju gornji respiratorni sustav. Kod kvantitativnih kultura iskašljaja i aspirata traheje značajnom se smatra koncentracija mikroorganizama od $10^6/\text{mL}$, kod bronhoalveolarnog lavata $10^4/\text{mL}$ te kod zaštićene četkice $10^3/\text{mL}$ (18). U bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom bronhoskopski uzorci rijetko se uzimaju, uglavnom onda kada unatoč primijenjenom antimikrobnom liječenju ne dolazi do regresije plućnog infiltrata (19).

Hemokultura

Hemokulture uzete prije primjene antimikrobnog liječenja pozitivne su kod 5 – 14% bolesnika hospitaliziranih zbog izvanbolničke pneumonije. Osjetljivost im je niska, a najče-

šći je izolat *Streptococcus pneumoniae* (7, 20). Prema istraživanjima, 25% pneumokoknih pneumonija praćeno je bakterijemijom, odnosno omjer pneumokokne pneumonije bez bakterijemije i s njom jest 3 : 1 (15). Hemokulture treba uzeti hospitaliziranim bolesnicima s izvanbolničkom pneumonijom, pogotovo teškom, jer kod njih hemokulture imaju veću osjetljivost i veća je mogućnost da je prisutan uzročnik na kojeg empirijsko antimikrobno liječenje ne djeluje. Također ih treba uzeti bolesnicima s rizičnim čimbenicima kao što su kronična bolest jetre, leukopenija itd. Važno je uzeti ih prije primjene antimikrobnih lijekova (8).

Otkrivanje antigena u urinu

Osobito značenje u dijagnostici izvanbolničkih pneumonija imaju testovi otkrivanja pneumokoknog i legionelnog antigena u urinu. Najveće su im prednosti rezultati gotovi u roku od petnaest minuta te jednostavnost izvođenja. To su imunokromatografski testovi koji se ne moraju nužno izvoditi u laboratoriju, već pripadaju u skupinu tzv. testova *point-of-care* koji se mogu izvoditi na odjelu ili u ambulanti kraj samog bolesnika (20 – 22).

Antigen pneumokoka koji se detektira u urinu jest C-polisaharid smješten u staničnoj stijenci ovog uzročnika. Test je u Sjedinjenim Američkim Državama odobren još 1999. godine i ima specifičnost veću od 90%. Osjetljivost mu je veća kod bolesnika s prisutnom bakterijemijom u usporedbi s onima bez nje te iznosi 77 – 92%. Na osjetljivost testa utječe težina bolesti pa je veća kod bolesnika s težim oblikom pneumonije, odnosno višim PSI-em. Prednost ovog testa jest i činjenica da antimikrobno liječenje ne utječe na rezultate ove metode kao što je to slučaj kad se radi o metodama kojima se pneumokok pokušava izolirati u kulturi – hemokulturi ili uzorcima iz respiratornog sustava (20).

Nedostatak testa jesu mogući lažno pozitivni rezultati. Kod odraslih bolesnika lažno pozitivni rezultati susreću se u manje od 5% bolesnika. Mogu biti posljedica perzistencije antigena u urinu, prethodne primjene pneumokoknog cjepiva, prethodne infektivne epizode kod bolesnika s kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti (KOPB) te kolonizacije pneumokokom ili nekim drugim vrstama streptokoka. Zbog zadržavanja antigena u urinu rezultat testa može biti pozitivan od nekoliko tjedana do 6 mjeseci nakon pneumokokne pneumonije. U pojedinim istraživanjima 40 – 70% bolesnika imalo je pozitivan pneumokokni antigen u urinu mjesec dana nakon pneumonije. Upotreba testa ne preporučuje se bolesnicima koji su nedavno cijepljeni pneumokoknim cjepivom. Kod bolesnika s KOPB-om pozitivan rezultat može biti posljedica neke prethodne infektivne epizode, bilo egzacerbacije bilo pneumonije, pa kod njih s interpretacijom rezultata treba biti oprezan. Lažno pozitivni rezultati mogu nastati zbog kolonizacije bolesnika nekim drugim vrstama streptokoka jer njihova stanična stijenska sadržava C-poli-

saharid kao i pneumokok. Kod djece su lažno pozitivni rezultati češći i javljaju se u 7 – 15% bolesnika. Uzrok je često prisutna kolonizacija sa *S. pneumoniae* (23, 24).

U istraživanje provedeno 2008. godine u Klinici za plućne bolesti Jordanovac bilo je uključeno 80 bolesnika s izvanbolničkom pneumonijom. Uzorci urina za određivanje pneumokoknog antigena dobiveni su od 76 bolesnika. Pneumokokni antigen u urinu bio je pozitivan kod 16 (21,1%) ispitanika. Kod 14 ispitanika pneumokokni antigen u urinu bio je jedini pozitivan test za pneumokok i kod njih je omogućio postavljanje etiološke dijagnoze koja se nije mogla utvrditi ostalim metodama. Većina od ukupno 25 pneumokoknih pneumonija koliko ih je otkriveno u ovom istraživanju nađena je s pomoću pneumokoknog antigena u urinu. U ovom istraživanju to je bila najuspješnija metoda za dijagnostiku pneumokokne pneumonije (16, 25).

Test otkrivanja antigena u urinu postoji i za legionelu koja uzrokuje otprilike 2 – 6% izvanbolničkih pneumonija. Najčešće otkriva samo serogrupu 1 *Legionella pneumophila* koja je među serogrupama najčešći uzročnik. Kao i kod pneumokoka, antigen u urinu može perzistirati duže vrijeme (26).

Molekularne pretrage

Zbog navedenih nedostataka konvencionalnih mikrobioloških metoda u mikrobiološkoj dijagnostici izvanbolničkih pneumonija pokušavaju se primijeniti molekularne metode. S pomoću njih se u uzorku bolesnika mogu otkriti minimalne količine nukleinskih kiselina svih eventualnih uzročni-

ka. Prednost je činjenica da rezultat molekularnih pretraga ne ovisi o vijabilnosti uzročnika zbog čega je utjecaj prethodnog antimikrobnog liječenja na rezultate ovih metoda manji negoli na metode kultivacije te u činjenici da su rezultati brzo dostupni (27).

Molekularne pretrage nisu standardizirane, što im je ujedno i najveći nedostatak. Pokušavaju se primijeniti početnice za različite ciljane sekvencije te različite PCR-metode na različitim vrstama uzoraka (tablica 1.). Iako molekularne metode nisu pokazale znatan porast ni specifičnosti ni osjetljivosti u odnosu prema konvencionalnim metodama, ipak je otkrivanje pneumokoka u respiratornim uzorcima bolesnika prethodno liječenih antibioticima primjenom ovih metoda poboljšano. I kod molekularnih metoda kvantifikacija može biti način kojim se kolonizacija pokušava razlikovati od infekcije (28). Problem je nedostatak standardizacije zbog postojanja različitih kvantitativnih testova pa je teško definirati granične (engl. *cut off*) vrijednosti koje bi vrijedile za sve laboratorije (29, 30).

Biomarkeri kao pokazatelji etiologije izvanbolničke pneumonije

Zbog nesavršenosti mikrobioloških metoda kao pokazatelji etiologije izvanbolničke pneumonije i pomoć pri izboru antimikrobnog liječenja pokušavaju se primijeniti biomarkeri kao što je C-reaktivni protein (CRP). Otkriven je 1930. godine kod bolesnika s pneumokoknom pneumonijom kao protein u serumu bolesnika koji reagira s C-polisaharidom u stani-

TABLICA 1. Različite ciljane sekvencije, PCR-metode i vrste uzoraka koje se primjenjuju u molekularnim pretragama za dokazivanje uzročnika izvanbolničkih pneumonija

BAKTERIJSKI UZROČNIK	CILJANI GEN	PCR-metoda	UZORAK
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>ply</i> (gen za pneumolizin) <i>lytA</i> (gen za autolizin)	single-step PCR nested PCR real-time PCR	serum, plazma, krv, obrisak ždrijela, sputum, urin
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATPaza operon gen za P1 adhezin geni za 16S rRNA	single-step PCR nested PCR multiplex PCR real-time PCR RT-PCR	obrisak ždrijela, sputum, aspirat traheje, BAL
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	<i>ompA</i> (gen za MOMP) geni za 16S rRNA <i>PstI</i> fragment	nested touchdown PCR single-step PCR TETR-PCR real-time PCR multiplex PCR	obrisak ždrijela, sputum, BAL, serum, vaskularno tkivo
<i>Legionella species</i>	geni za 5S rRNA i 16S rRNA <i>mip</i>	single-step PCR multiplex PCR	obrisak ždrijela, sputum, BAL, aspirat traheje, urin, serum

noj stijenci pneumokoka (31). Danas ga nazivamo proteinom akutne faze upale koji se često rabi u dijagnostičke svrhe kao pokazatelj upalne reakcije. S obzirom na to da su kod bakterijskih infekcija nađene više razine serumskog CRP-a negoli kod virusnih infekcija, postavlja se pitanje može li CRP poslužiti kao rani pokazatelj etiologije izvanbolničkih pneumonija i tako omogućiti raniju primjenu ciljanog antimikrobnog liječenja (32). Rezultati dosadašnjih istraživanja su prijeporni. Pojedina istraživanja govore u prilog CRP-u kao ranom indikatoru etiologije izvanbolničke pneumonije. U njima su vrijednosti CRP-a bile više kod bolesnika u kojih su kao uzročnici dokazani *S. pneumoniae* i *L. pneumophila* negoli uzročnici *Mycoplasma pneumoniae* ili virusi (33). Međutim, u nekim je istraživanjima utvrđeno da se na temelju CRP-vrijednosti ne može razlikovati bakterijska infekcija respiratornog sustava od virusne (34).

Kao biomarker koji bi se mogao iskoristiti u ranom razlikovanju virusne infekcije od bakterijske proučavan je i prokalcitonin (35, 36). Serumske vrijednosti prokalcitonina $\leq 0,1$ $\mu\text{g/L}$ govore u prilog tomu da se može isključiti bakterijska etiologija pneumonije te ima visoku negativnu prediktivnu

vrijednost (9). Prokalcitonin je trenutačno najbolje istražen biomarker za određivanje trajanja antimikrobnog liječenja kod hospitaliziranih bolesnika (37, 38). Prema do sada provedenim istraživanjima, vrijednosti prokalcitonina mogu pomoći pri donošenju odluke o duljini liječenja i prestanku primjene antimikrobnih lijekova.

ZAKLJUČAK

Mikrobiološke pretrage u svrhu otkrivanja uzročnika izvanbolničkih pneumonija opravdano je primjenjivati kod hospitaliziranih bolesnika te bi kod njih trebalo nastojati otkriti uzročnika pneumonije. To omogućuje primjenu ciljanog antimikrobnog liječenja, racionalnu primjenu antimikrobnih lijekova, smanjenje troškova liječenja i smanjenje rizika od komplikacija kao što je infekcija s *Clostridium difficile*.

Budućnost mikrobiološke dijagnostike izvanbolničkih pneumonija najvjerojatnije će biti testovi *point-of-care* te daljnji razvoj i standardizacija molekularnih testova, koji će omogućiti njihovu rutinsku primjenu.

LITERATURA

- Holter JC, Müller F, Bjørang O i sur. Etiology of community-acquired pneumonia and diagnostic yields of microbiological methods: a 3-year prospective study in Norway. *BMC Infect Dis* 2015;15:64.
- Bartlett JG. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2011;52:S296–304.
- Bullowa JGM. The reliability of sputum typing and its relation to serum therapy. *JAMA* 1935;105:1512–23.
- Fekety FR Jr, Caldwell J, Gump D i sur. Bacteria, viruses and mycoplasmas in acute pneumonia in adults. *Am Rev Respir Dis* 1971;104:499–507.
- File TM. Community-acquired pneumonia. *Lancet* 2003;362:1991–2001.
- Wunderink RG, Waterer GW. Clinical practice. Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 2014;370:543–51.
- Hohenthal U, Vainionp R, Meurman O i sur. Aetiological diagnosis of community-acquired pneumonia: utility of rapid microbiological methods with respect to disease severity. *Scand J Infect Dis* 2008;40:131–8.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A i sur. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44Suppl 2:S27–72.
- Lim WS, Baudouin SV, George RC i sur. BTS guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax* 2009;64Suppl 3:iii1–55.
- Musher DM, Thorner AR. Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 2014;371:1619–28.
- Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R i sur. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:84–93.
- Geckler RW, Gremillion DH, McAllister CK, Ellenbogen C. Microscopic and bacteriological comparison of paired sputa and transtracheal aspirates. *J Clin Microbiol* 1977;6:396–9.
- Murray PR, Washington JA. Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum. *Mayo Clin Proc* 1975;50:339–44.
- Baron E. Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology*. U: Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, Funke G, Landry M, Richter S, Warnock D, ur. *Manual of Clinical Microbiology*. 11. izd. Washington, DC: ASM Press; 2015, str. 270–315.
- Musher DM, Montoya R, Wanahita A. Diagnostic value of microscopic examination of Gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2004;39:156–9.
- Said MA, Johnson HL, Nonyane BA i sur. Estimating the burden of pneumococcal pneumonia among adults: a systematic review and meta-analysis of diagnostic techniques. *PLoS One* 2013;8:e60273.
- Krizek TJ, Robson MC. Biology of surgical infection. *Surg Clin North Am* 1975;55:1261–7.

18. Bartlett JG, Finegold SM. Bacteriology of expectorated sputum with quantitative culture and wash technique compared to transtracheal aspirates. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:1019–27.
19. Kuru T, Lynch JP 3rd. Nonresolving or slowly resolving pneumonia. *Clin Chest Med* 1999;20:623–51.
20. Afshar N, Tabas J, Afshar K, Silbergleit R. Blood cultures for community-acquired pneumonia: are they worthy of two quality measures? A systematic review. *J Hosp Med* 2009;4:112–23.
21. Von Baum H, Ewig S, Marre R i sur. Community-acquired Legionella pneumonia: new insights from the German competence network for community acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2008;46:1356–64.
22. Weatherall C, Paoloni R, Gottlieb T. Point-of-care urinary pneumococcal antigen test in the emergency department for community-acquired pneumonia. *Emerg Med J* 2008;25:144–8.
23. Blaschke AJ. Interpreting assays for the detection of Streptococcus pneumoniae. *Clin Infect Dis* 2011;52Suppl 4:331–7.
24. Andreo F, Ruiz-Manzano J, Prat C i sur. Utility of pneumococcal urinary antigen detection in diagnosing exacerbations in COPD patients. *Respir Med* 2010;104:397–403.
25. Mareković I, Plečko V, Boras Z i sur. Evaluation of PCR as rapid microbiological method in diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Scand J Infect Dis* 2008;40:843–5.
26. Sopena N, Sabrià M, Pedro-Botet ML i sur. Factors related to persistence of Legionella urinary antigen excretion in patients with legionnaires' diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:845–8.
27. Johansson N, Kalin M, Tiveljung-Lindell A, Giske C, Hedlund J. Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods. *Clin infect Dis* 2010;50:202–9.
28. Johansson N, Kalin M, Giske CG, Hedlund J. Quantitative detection of Streptococcus pneumoniae from sputum samples with real-time quantitative polymerase chain reaction for etiologic diagnosis of community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;60:255–61.
29. Nolte FS. Molecular diagnostics for detection of bacterial and viral pathogens in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2008;47Suppl 3:S123–6.
30. Murdoch DR, O'Brien KL, Scott JA i sur. Breathing new life into pneumonia diagnostics. *J Clin Microbiol* 2009;47:3405–8.
31. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* 1930;52:561–71.
32. Ahn S, Kim WY, Kim SH i sur. Role of procalcitonin and C-reactive protein in differentiation of mixed bacterial infection from 2009 H1N1 viral pneumonia. *Influenza Other Respir Viruses* 2011;5:398–403.
33. Almirall J, Bolibar I, Toran P i sur. Contribution of C-reactive protein to the diagnosis and assessment of severity of community-acquired pneumonia. *Chest* 2004 Apr;125:1335–42.
34. Cals JW, Schot MJ, de Jong SA, Dinant GJ, Hopstaken RM. Point-of-care C-reactive protein testing and antibiotic prescribing for respiratory tract infections: a randomized controlled trial. *Ann Fam Med* 2010;8:124–33.
35. Schuetz P, Müller B, Christ-Crain M i sur. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;9: CD007498.
36. Rodríguez AH, Avilés-Jurado FX, Díaz E i sur. Procalcitonin (PCT) levels for ruling-out bacterial coinfection in ICU patients with influenza: A CHAID decision-tree analysis. *J Infect* 2016;72:143–51.
37. Agarwal R, Schwarz DN. Procalcitonin to guide duration of antimicrobial therapy in intensive care units: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2011;53:379–87.
38. Heyland DK, Johnson AP, Reynolds SC, Muscedere J. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting: a systematic review and an economic evaluation. *Crit Care Med* 2011;39:1792–9.

**ADRESA ZA DOPISIVANJE:**

Doc. dr. sc. Ivana Mareković, dr. med.
Klinički zavod za kliničku i molekularnu
mikrobiologiju
KBC Rebro, Kišpatićeva 12
10000 Zagreb
e-mail: imarekov@kbc-zagreb.hr

PRIMLJENO/RECEIVED:

6. 2. 2016. / February 6, 2016

PRIHVAĆENO/ACCEPTED:

3. 3. 2016. / March 3, 2016

