



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**EFFÜZYONLU OTİTİS MEDIA PATOGENEZİNDE
HELICOBACTER PYLORI'NİN ROLÜ:
KLARİTROMİSİN DİRENCİ, EPIYA MOTİFLERİ VE
BASKIN AP-POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU
KLONLARININ SÜRECE KATKISININ
İRDELENMESİ**

Dr. Ayşe Yasemin GÜNDÜZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Mart 2024
İSTANBUL**



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**EFFÜZYONLU OTİTİS MEDIA PATOGENEZİNDE
HELICOBACTER PYLORI'NİN ROLÜ:
KLARİTROMİSİN DİRENCİ, EPIYA MOTİFLERİ VE
BASKIN AP-POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU KLONLARININ SÜRECE
KATKISININ İRDELENMESİ**

Dr. Ayşe Yasemin GÜNDÜZ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Tayyar KALCIOĞLU**

**YARDIMCI TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Serdal ÇELİK**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**TÜSEB
31018**

**Mart 2024
İSTANBUL**

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesinde, Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği hükümlerine göre uzmanlık eğitimi gören Dr. Ayşe Yasemin GÜNDÜZ'ün hazırladığı ve jüri önünde savunduğu “EFFÜZYONLU OTİTİS MEDİA PATOGENEZİNDE *HELICOBACTER PYLORI*'NİN ROLÜ: KLARİTROMİSİN DİRENCİ, EPIYA MOTİFLERİ VE BASKIN AP-PCR KLONLARININ SÜRECE KATKISININ İRDELENMESİ” başlıklı tez, başarılı uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mahmut Tayyar KALCIOĞLU

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi

.....

Prof. Dr. Gül ÖZBİLEN ACAR

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi

.....

Doç. Dr. Ahmet MUTLU

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi

.....

Tarih: 05/03/2024

Yazar Beyannamesi

“EFFÜZYONLU OTİTİS MEDİA PATOGENEZİNDE *HELICOBACTER PYLORI*’NİN ROLÜ: KLARİTROMİSİN DİRENCİ, EPIYA MOTİFLERİ VE BASKIN AP-PCR KLONLARININ SÜRECE KATKISININ İRDELENMESİ” isimli tıpta uzmanlık tezim,

- Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) Proje Yönetimi ve Destek Daire Başkanlığınca 31018 numaralı 2022-ACİL01(11.Dönem) projesi olarak desteklenmiş olup bu proje desteği için TÜSEB Proje Yönetimi ve Destek Daire Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.
- Tezimin hazırlanmasında katkısı olan, tez danışmanım Prof. Dr. Mahmut Tayyar KALCIOĞLU ve yardımcı tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Serdal ÇELİK’in yanı sıra, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Rıza DURMAZ ve Öğr. Gör. Oğuz ARI’ya emeklerinden dolayı teşekkür ederim.
- Tezimin laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesi sürecinde bana destek olan Teknogen Biyomühendislik ve Teknolojik Sistemler A.Ş.’ye çalışma etiklerinden dolayı teşekkür ederim.
- Bu tez çalışmamda adı geçen kit, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim ve çatışmam yoktur.
- Tezimin veri ve örneklerini tez danışmanlarımdan nezdinde kendim topladığımı ve ilgili laboratuvar çalışmalarını yaptırdığımı,
- Tezimin içerisinde başkalarına ait yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalardan yaptığım alıntılar için gerekli kaynakları metinde ve kaynakçada açıkça belirttiğimi,
- Tez sürecim boyunca bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak çalıştığımı beyan ederim.

Mart 2024

.....
Dr. Ayşe Yasemin GÜNDÜZ

TEŞEKKÜR

Tıp fakültesinden beri arzu ettiğim tek branş olan Kulak Burun Boğaz Hastalıkları bölümü için uzmanlık eğitimime başladığım ilk haftamdan itibaren beni donatmaya başlayan, asistanlık süremi başından sonuna kadar her zaman bir hoca kararlılığında ve bir baba şefkatiyle beni hem cerrahi hem akademik alanda destekleyen ve kapılar açan, başarıyla yaptığım her işte “Boynuz kulağı geçmeli” sözüyle yaptıklarım ve yapabileceklerim konusunda beni teşvik eden saygıdeğer Anabilim Dalı başkanım ve aynı zamanda tez danışmanım Prof. Dr. Mahmut Tayyar KALCIOĞLU’na,

Cerrahi titizliği ve hasta yaklaşımındaki özeniyle her zaman örnek alacağım bir hoca olmanın yanında ayrıca hayatımın her alanıyla ilgili sevinç ve üzüntülerimi paylaşabildiğim ve her zaman akıl danışabildiğim bir abla da olabilen kıymetli hocam Prof. Dr. Gül ÖZBİLEN ACAR’a,

Üstün bilgi dağarcığını ve tecrübelerini benimle paylaşan ve bunları kullanmama olanak sağlarken de yanımda destek olup her zaman nezaketle beni yönlendiren sevgili uzmanım Doç. Dr. Osman İlkey ÖZDAMAR’a,

Geldiği günden itibaren bana çok farklı bakış açıları kazandırarak klinik nosyonumu genişleten, kriz anlarında pratik çözümler üretebilme yetimin gelişmesini sağlayan, cerrahi alanda ufkumu açıp ilham kaynağım olurken bir yandan da akademik alanda işin inceliklerini bilgisini esirgemedi bana öğreten sevgili uzmanım Doç. Dr. Ahmet MUTLU’ya,

İlerideki meslek hayatım boyunca kendine güvenen bir uzman olarak çalışmamı sağlayacak olan geniş cerrahi birikiminin inşasında en büyük katkısı olan, bilgi ve becerisini aktarırken sınırlarımı zorlayarak her zaman kendimi bir üst seviyeye taşımama fırsat veren, cerrahi cesareti ve iş bitiriciliği ile rol modelim olmuş ve olmaya devam edecek olan sevgili uzmanım Op. Dr. Osman KILIÇ’a,

Bir çocuğun emeklerken yürümeye ve koşmaya başlaması gibi ben de adım adım cerrahi basamakları çıkarken yanımda olmayı hiç bırakmayan, bir insanın gösterebileceği en üst düzeyde sabrı göstererek beni yönlendiren, geliştiren ve destekleyen, bunu yaparken de her zaman moralimi yüksek tutmayı başarabilecek kadar müşfik sevgili uzmanım Op. Dr. Kadri DEMİR’e,

Klinik ve cerrahi gelişimim süresince bana olan güveni ile beni cesaretlendiren, seçkin bilgi ve tecrübelerini bir öğretmende olabilecek en üstün sabırla öğreten ve gösteren, tüm bu süreçlerde ve klinik sahada insancıl yaklaşımını hiçbir zaman kaybetmeyerek bana ileride mesleğimi icra ederken ondan öğrendiğim şekilde vicdanlı ve etik bir hekim olmayı aşıl原因an sevgili uzmanım Op. Dr. Numan KÖKTEN'e,

Cerrahi alanda her zaman yeniliklere açık olmam ve kendimi geliştirmem için önayak olan, pratiğini ve bilgisini her daim benimle paylaşan, tüm bunların ötesinde sıcacık ve içten bir ağabey-kardeş ilişkisi kurmamıza olanak sağlayan sevgili uzmanım Op. Dr. Tolga ÇİÇEK'e,

Asistanlığımın daha en başında birlikte tuttuğum ilk refakat nöbetlerimde bir yandan sütür atmayı öğretirken bir yandan akademik hayata ilk adımlarını atan bana en başta destek olmaya başlayan, asistanlığımı bitirirken en komplike vakalarda ve ilerleyen akademik sürecimde bu desteğini devam ettiren, çalışkanlığın ve sağduyululuğun her zaman kazanacağını gösteren sevgili kıdemlim, uzmanım ve aynı zamanda yardımcı tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Serdal ÇELİK'e,

Klinikte uzmanlık eğitimime başladıktan kısa bir süre sonra biricik çalışma arkadaşım olan, tüm güzellikleriyle birlikte zor ve yorucu bu asistanlık sürecini baştan sona iyi ki onunla birlikte geçirdim diyebildiğim, her zaman tüm insancılığıyla yanımda olan canım arkadaşım Op. Dr. Burcu Bakıcı'ya,

Çalışma ortamımda her zaman son derece önemseydiğim ve başasistanlığım boyunca da kurmak ve devam ettirmek için elimden geleni yaptığım abla-kardeş ağabey-kardeş yakınlığında huzur ve mutluluk ortamında çalışmamı sağlayan, iyi ki tanımışım ve birlikte çalışmışım dediğim benden sonra kliniğe gelerek bu sevgi ve saygı ortamını devam ettiren tüm asistan arkadaşlarıma,

Asistanlığımın en yoğun ve yorucu ama aynı zamanda da en unutmayacağım güzel anılarını biriktirmeme vesile olan başasistanlık dönemimde evimden çok vakit geçirdiğim ameliyathanede birlikte çalıştığım sevgili ameliyathane hemşirelerimiz Meltem ÜRESİN, Fuat YAPAR ve Tuğba AKTAŞ'a, personelimiz Muzaffer ÇELİK ve Yasin KESERCİ'ye, ve anestezi teknikerimiz Bayram İNCİ'ye,

Tıp fakültesinde yollarımızın kesişmesiyle başlayan on yıldan uzun bir sürede ne olursa olsun her daim yanımda ve bana destek olan kardeşten öte bir arkadaşına erişen, yaşadığım her mutluluğu ve her zorluğu koşa koşa ilk paylaştığım "o" arkadaş olan biricik dostum Uzm. Dr. Melike KESKİN'e,

Yine tıp fakültesinde birbirimizi bulduğumuz ve on yıldan uzun bir süre içerisinde benzer hayat görüşlerimiz ile arkadaşlığımızı dostluğa taşıdığımız, şartlar bizi fiziken uzaklaştırsa da her zaman yanı başımda olduklarını bilmem kadar bana yakın olan ve her daim bana desteklerini eksik etmeyen en yakın arkadaşlarım canlarım Op. Dr. Hilal ATILGAN, Op. Dr. Gülay YALÇINKAYA ÇAKIR ve Dr. Melis KETENCİ'ye,

Doğduğum günden itibaren benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, benim bu hayatta sağlam durabilmem için en ufak detaylardan en büyük detaylara kadar elinden geleni yaparak hayatını adayan, benim annem olduğu için çok şanslı olduğum ve hakkını asla ödeyemeyeceğim biricik annem Dilek KİNEŞ'e, başarılı ve kendi ayakları üzerinde duran bir kadın olmam için beni her zaman desteklemesinin yanında aynı zamanda mutlu, güzel ve kaliteli bir hayat yaşamam için kıymetli tecrübelerini ve öğütlerini bana her fırsatta işleyen, varlığıyla bana güven veren canım babam Ali Abdullah GÜNDÜZ'e, bu hayatta ufkumu genişletmemde ve kalıplarımın dışına çıkarak dünyaya açılmamda en büyük katkısı olan, giriştiğim her işte akıl danışabildiğim, güzel yüreğiyle her zaman iyi ki varsın dediğim canım ağabeyim Enis Doğuş GÜNDÜZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Ayşe Yasemin GÜNDÜZ



İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	ix
TABLolar.....	x
ŞEKİLLER.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. ORTA KULAK.....	4
2.1.1. Orta kulak embriyolojisi.....	4
2.1.2. Orta kulak anatomisi.....	5
2.1.3. Orta kulak histolojisi.....	9
2.2. NAZOFARENKS.....	9
2.2.1. Nazofarenks embriyolojisi.....	9
2.2.2. Nazofarenks anatomisi.....	12
2.2.3. Nazofarenks histolojisi.....	14
2.3. EFFÜZYONLU OTİTİS MEDİA.....	16
2.3.1. Tanım.....	16
2.3.2. Epidemiyoloji ve risk faktörleri.....	16
2.3.3. Patofizyoloji.....	17
2.3.4. Tanı.....	18
2.3.5. Tedavi.....	20
2.4. HELICOBACTER PYLORI.....	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. ETİK KURUL ONAYI ve PROJE DESTEĞİ.....	27
3.2. HASTALARIN SEÇİLMESİ ve ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	27
3.3. DNA İZOLASYONU.....	29
3.4. <i>H. PYLORI</i> ve KLARİTROMİSİN DİRENÇ GENLERİNİN	
ARAŞTIRILMASI.....	30
3.5. EPIYA MOTİFİ ARAŞTIRILMASI.....	31
3.6. AP-PCR.....	33
3.7. İSTATİKSEL ANALİZ.....	33
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	49

6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR.....	58
EKLER	
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	
EK 2. iThenticate intihal raporu	



KISALTMALAR

AOM.....	Akut otitis media
AP-PCR.....	Arbitrarily primed-polymerase chain reaction (random başlatılmış polimeraz zincir reaksiyonu)
CLO test.....	Campylobacter-like organism test (Campylobacter benzeri mikroorganizma testi)
DiaRD-HPykl kiti..	DiaRD <i>H. pylori</i> -Klaritromisin direnç saptama kiti
DNA.....	Deoksiribonükleik asit
ELISA.....	Enzyme-linked immunosorbent assay (enzime bağlı immünosorban yöntem)
EOM.....	Effüzyonlu otitis media
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
PCR.....	Polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
PCR-RFLP.....	Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi)
PFGE.....	Pulsed field gel electrophoresis (değişken alanlı jel elektroforezi)
rRNA.....	Ribozomal ribonükleik asit
RT-PCR.....	Real time-polymerase chain reaction (gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu)
RUT test.....	Rapid urease test (hızlı üreaz testi)
ÜSYE.....	Üst solunum yolu enfeksiyonu
VT.....	Ventilasyon tüpü

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Timpanik kavitenin duvarlarını oluşturan yapılar.....	7
Tablo 3.1. DiaRD-HPykl RT-PCR kiti.....	31
Tablo 3.2. EPIYA motifi araştırmasında kullanılması planlanan primerler.....	32
Tablo 4.1. Sonuçlar (N/A=Not applicable).....	37



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Orta kulağın embriyolojik gelişimi.....	4
Şekil 2.2. Orta kulak boşluk sistemi.....	6
Şekil 2.3. Orta kulağın bölümleri.....	6
Şekil 2.4. Orta kulak boşluğunun duvarları ve komşulukları.....	7
Şekil 2.5. Orta kulak kemikçikleri.....	8
Şekil 2.6. Orofarengeal membran.....	10
Şekil 2.7. Bukkofarengeal membranın 4. haftada yırtılması.....	10
Şekil 2.8. Hipofiz bezinin gelişimi.....	11
Şekil 2.9. Farenks bölümleri ve nazofarenks komşulukları. Kırmızı çizgi retrofaringeal boşluğun lokalizasyonunu göstermektedir.....	12
Şekil 2.10. Nazofarenksin endoskopik görüntüsü. Oklar lateral duvardaki torus tubarius ve hemen arkasındaki Rosenmüller fossayı göstermektedir.....	13
Şekil 2.11. Waldeyer'in lenfatik halkası.....	14
Şekil 2.12. Adenoid ve Östaki tüpü farengeal orifisinin histolojik kesiti. Adenoid doku lenfoid kümelenmesi ile üzerindeki mukozal katlantılar ve her iki tarafa Östaki tüpü orifisinin medial yüzünde bulunan kartilaj doku görülmetedir.....	15
Şekil 2.13. EOM muayene bulgularının endoskopik görüntüsü.....	19
Şekil 2.14. EOM odyolojik değerlendirme sonuçları.....	20
Şekil 2.15. Ventilasyon tüpleri postoperatif görünümü.....	22
Şekil 3.1. İntraoperatif olarak Eppendorf tüplerine alınan orta kulak effüzyon örneği ile adenoid doku örneği.....	28
Şekil 4.1. Örnek sonuç görselleri.....	36

ÖZET

EFFÜZYONLU OTİTİS MEDIA PATOGENEZİNDE *HELICOBACTER PYLORI*'NİN ROLÜ: KLARİTROMİSİN DİRENCİ, EPIYA MOTİFLERİ VE BASKIN AP-PCR KLONLARININ SÜRECE KATKISININ İRDELENMESİ

Effüzyonlu otitis media polimikrobial bir hastalıktır. Vücutta kronik sistemik enfeksiyon yapan *Helicobacter pylori*'nin, ihtiyaç duyduğu özel yaşam koşullarına erişerek orta kulakta kolonize olup effüzyon gelişimine sebep olabileceği düşünülmüştür. Bakteri gastroözofageal reflü ile nazofarenkse ve Östaki tüpü aracılığıyla orta kulağa ulaşabilmektedir. Literatürde effüzyonlu otitis media patogenezi ve *Helicobacter pylori* ilişkisi birçok kez araştırılmış ancak birbirlerinden çok farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmada effüzyonlu otitis mediası olan çocukların effüzyon ve adenoid dokuları ile sağlıklı orta kulağa sahip çocukların orta kulak ve adenoid dokularında *Helicobacter pylori* varlığı araştırılacak ve literatürde ilk defa bu dokulardaki suşlar kıyaslanarak klonal ilişkileri ortaya konulacaktır. Ayrıca yine ilk defa bu bakterilerin klaritromisin direnci ve virülans faktörlerinden EPIYA motifleri ortaya konularak effüzyon patogenezinde etkileri olup olmadığı araştırılacaktır.

Çalışmaya 1-12 yaş aralığında 300 çocuk hasta dahil edildi. Kronik effüzyonlu otitis media ve adenoid hipertrofisi nedeniyle ventilasyon tüp tatbiki ve adenoidektomi yapılan 100 çocuğun bir kulağından alınan 100 effüzyon örneği çalışma grubunu, adenoidinden alınan 100 adenoid örneği Kontrol 1 grubunu oluşturdu. Koklear implantasyon yapılan 100 çocuğun sağlıklı görünümlü bir kulağından alınan 100 orta kulak irrigasyon solüsyonu Kontrol 2 grubunu oluşturdu. Effüzyonu olmayıp sadece adenoidektomi yapılan 100 çocuktan alınan 100 adenoid örneği Kontrol 3 grubunu oluşturdu. Örneklerin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra *Helicobacter pylori* 16s rRNA ve 23s rRNA klaritromisin direnç genleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real time-polymerase chain reaction, RT-PCR) ile araştırıldı. EPIYA motif araştırması için *cagA* genine yönelik

primerler ve uygun PCR protokolü belirlendi. Aynı bireye ait effüzyon ve adenoid örneklerindeki bakteri suşlarının klonal ilişkisini araştırmak için uygun primerler belirlenerek random başlatılmış polimeraz zincir reaksiyonu (arbitrarily primed-polymerase chain reaction, AP-PCR) yöntemi kullanılması planlandı.

Çalışmadaki 300 çocuğun medyan yaşı 5 (aralık, 1-12) olup 179'u erkek ve 121'i kız idi. Çalışılan 200 orta kulak ve 200 adenoid örneğinden oluşan toplam 400 örneğin hiçbirinde (%0) RT-PCR ile *Helicobacter pylori* saptanmadı. *Helicobacter pylori* ve klaritromisin direnç genlerinin araştırmasında pozitif sonuç alınamadığı için planlanan EPIYA motif çalışmaları ve AP-PCR ile klonal ilişki araştırmalarına geçilemedi.

Literatürde halen tartışmalı olan effüzyonlu otitis media patogeneğinde *Helicobacter pylori*'nin rolünü aydınlatmak amacıyla yapılan ve bu kadar geniş örneklem ile en güncel moleküler yöntemleri bir araya getiren bu çalışmada hiçbir örnekte bakterinin saptanmaması, *Helicobacter pylori*'nin effüzyonlu otitis media polimikrobialitesinde aktif bir patojen olarak rol almadığını ve adenoid dokunun da *Helicobacter pylori* için bu süreçte bir rezervuar görevi görmediğini ortaya koymuştur. Buna bağlı olarak bakterinin başta EPIYA olmak üzere virülans faktörlerinin de effüzyon oluşumunda etkili olabileceği düşüncesi de bu çalışma ile ortadan kalkmıştır.

Anahtar kelimeler: adenoid, effüzyonlu otitis media, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu, *Helicobacter pylori*, klaritromisin.

ABSTRACT

ROLE OF *HELICOBACTER PYLORI* IN THE PATHOGENESIS OF OTITIS MEDIA WITH EFFUSION: ANALYSING HOW CLARITHROMYCIN RESISTANCE, EPIYA MOTIFS, AND DOMINANT AP-PCR CLONES CONTRIBUTE TO THE DISEASE PROCESS

Otitis media with effusion is a polymicrobial disease. It has been thought that *Helicobacter pylori*, which causes chronic systemic infection in the body, may reach the specific conditions it requires for its survival and colonize in the middle ear and give rise to collection of effusion. Bacteria can reach the nasopharynx with gastroesophageal reflux and then the middle ear through the Eustachian tube. Relationship between the pathogenesis of otitis media with effusion and *Helicobacter pylori* has been investigated many times in the literature, but conflicting results have been achieved. In this study, presence of *Helicobacter pylori* in the effusion and adenoid samples of children having otitis media with effusion and in the middle ear and adenoid samples of children with healthy middle ears will be investigated, and for the first time in the literature, the strains in these tissues will be compared and their clonal relationships will be shown. In addition, again for the first time, clarithromycin resistance and EPIYA motifs of virulence factors of these bacteria will be revealed to see whether they have an effect on the pathogenesis of effusion.

In the study, 300 pediatric patients between the ages of 1-12 years were included. 100 effusion samples collected from one ear of 100 children who underwent ventilation tube insertion and adenoidectomy due to chronic otitis media with effusion and adenoid hypertrophy formed the study group, and 100 adenoid samples collected from the adenoids of these children formed the Control 1 group. 100 middle ear irrigation solutions collected from one healthy-looking ear of 100 children who underwent cochlear implantation formed the Control 2 group. 100 adenoid samples collected from 100 children who had no effusion and only underwent adenoidectomy formed the Control 3 group. After performing DNA

isolation of the samples, *Helicobacter pylori* 16s rRNA and 23s rRNA clarithromycin resistance genes were investigated by real time-polymerase chain reaction (RT-PCR). For EPIYA motif analysis, primers for the *cagA* gene were identified and appropriate PCR protocol was determined. To investigate the clonal relationship of bacterial strains in the effusion and adenoid samples from the same individual, appropriate primers were identified and arbitrarily primed-polymerase chain reaction (AP-PCR) method was determined to be used.

The median age of the 300 children in the study was 5 years (range, 1-12), and 179 of them were boys and whereas 121 were girls. *Helicobacter pylori* was detected by RT-PCR in none (0%) of the 400 samples consisting of 200 middle ear and 200 adenoid samples. Since no positive results were obtained in the analysis of *Helicobacter pylori* and clarithromycin resistance genes, EPIYA motif studies and clonal relationship studies with AP-PCR which were planned in the beginning could not be performed.

This study, which was conducted to elucidate the role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of otitis media with effusion, which is still controversial in the literature, comprised the most updated molecular methods with a large sample. The fact that no bacteria was detected in any of the samples in this study indicates that *Helicobacter pylori* does not play a role as an active pathogen in the polymicrobiality of otitis media with effusion, and adenoid tissue do not serve as a reservoir for *Helicobacter pylori* in this process. Accordingly, the idea of virulence factors, especially EPIYA motifs, of the bacteria may be effective in the formation of effusion has been eliminated with this study.

Keywords: adenoid, clarithromycin, *helicobacter pylori*, otitis media with effusion, real-time polymerase chain reaction.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çocuklarda işitme kaybının en sık sebeplerinden biri olan effüzyonlu otitis media (EOM), önemli bir halk sağlığı sorunu olarak baş göstermektedir. EOM sessiz bir klinik tablo altında orta kulakta sıvı birikimi olmasıdır. EOM geliştiren ve aslında işitme kaybı olan çocukların dil gelişimleri sekteye uğramakta, bu da iletişim becerilerinin bozulmasına ve akademik yaşamlarının olumsuz etkilenmesine sebep olmaktadır (1, 2). Bu nedenle EOM'u erken dönemde tanımak, gerekli tedaviyi başlatmak ve takip sürecini devam ettirmek son derece önem arz etmektedir.

EOM patofizyolojisinde günümüzde kabul gören iki ana görüş bulunmaktadır. Bunlardan ilki eskiden beri çalışılmış olan ve geleneksel olarak kabul gören Östaki tüpü disfonksiyonu ve blokajıdır (3). Çocuklarda anatomik ve fizyolojik olarak matürasyonunu henüz tamamlamamış Östaki tüpü yeterince fonksiyon göremediğinden EOM gelişimine zemin hazırlar ve bu nedenle EOM pediatrik popülasyonda erişkinlerden çok daha sık görülür (4). Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile Östaki tüpü disfonksiyonunun tek başına patogeneze yeterli olmadığı anlaşılmış ve güncel olarak bakteriyel biyofilm teorisi daha ön planda kabul görmeye başlamıştır (5, 6). Güncel moleküler genetik tanı yöntemleri ile EOM'un polimikrobial bir hastalık olduğu ortaya konmuştur. Üst solunum yollarının temel patojenleri olan *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* ve *Moraxella catarrhalis*, EOM'da da en sık bulunan bakteriler arasında olduğu gibi bunların dışında sadece orta kulakta rastlanan *Alloicoccus otitis*, EOM'da en yoğun bulunan bakteri olmuştur (7-13). Hastalığın patogenezinde bu bakterilerin orta kulakta biyofilm tabakası oluşturarak kendilerine uygun ortam şartlarında uzun süre yaşadıkları düşünülmektedir. Orta kulağın kendi mikrobiyotası EOM patogenezinde rol oynayabileceği gibi patojen rezervuar hipotezine göre patogenetik bakterilerin ana kaynağı özellikle Östaki orifisindeki adenoid dokuyu içeren üst solunum yollarıdır (14). Orta kulakta bulunan bakterilerin hangilerinin EOM patogenezinde rol aldığı ve kaynağı halen devam eden bir araştırma konusudur.

Helicobacter pylori (*H. pylori*) sıklıkla yaşamın erken dönemlerinde edinilen ve konakta yaşam boyu sürebilen bir kronik inflamasyon başlatan bir bakteridir. Midede kronik inflamasyondan ülserler ve kansere kadar gidebilen çeşitlilikte hastalık yapma kapasitesi nedeniyle halen yoğun olarak araştırılmakta ve patofizyolojik özellikleri aydınlatılmaya

çalışılmaktadır (15). Sistemik tutulum yapan bu bakteri, baş-boyun bölgesinde üst aerodigestif kanal boyunca çeşitli dokularda da tespit edilmiştir (16-21). Çocukların tonsil ve adenoid dokularında değişen oranlarda bulunması, *H. pylori*'nin orta kulakta da bulunabileceğini düşündürmüştür. Bunun için adenoid doku bir rezervuar olarak çalışıp Östaki tüpü aracılığıyla bakteri yayılabileceği gibi gastroözofageal reflü ile bakteri Östaki tüpünden geçerek de orta kulağa ulaşabilir (22). Orta kulak, düşük oksijen ile yüksek karbondioksit içeriği ve nötral pH değeri ile, bakterinin midede mukoza içerisine yerleşerek elde ettiği kolonizasyonu için ihtiyacı olan ortam özelliklerine sahiptir (22-25). Literatürde EOM tanılı çocukların effüzyon örneklerinde yapılan çalışmalarda *H. pylori* varlığı araştırılmış ve %0'dan %70'e kadar varan oranlarda bakteri bulunmuştur (22, 26). *H. pylori* ilişkili gastrit ve EOM'un inflamatuvar süreçleri lenfosit ağırlıklı olmaları ve goblet hücre metaplazisi göstermeleri yönünden benzer olduğundan, *H. pylori*'nin orta kulakta sessiz bir şekilde bulunmaktan öte patofizyolojide rol oynayabileceği düşünülmüştür (27).

Son zamanlarda yapılan araştırmalar *H. pylori* enfeksiyonlarında bakterinin farklı alt türlerinin hastalık sürecinde rol aldığını göstermiştir. *H. pylori* enfeksiyonlarında birinci basamak tedavi olarak yıllardır kullanılan klaritromisin nedeniyle enfeksiyonların belirgin bir kısmında klaritromisin dirençli *H. pylori* suşları tespit edilmiştir (28, 29). Bunun yanında *H. pylori* enfeksiyonlarında hastalık gelişiminde ortaya konulan virülans faktörlerinden en önemlisi olan CagA proteininin EPIYA motifi adı verilen karboksil ucundaki aminoasit dizilim ve tekrar farklılıklarına göre farklı tiplerinin bulunduğu ve buna göre patogenetik özelliklerinin değiştiği gösterilmiştir (30-32).

Literatürde orta kulak effüzyonlarında *H. pylori*'nin sadece bulunup bulunmamasına bakılmış olup bu bakterinin EOM gelişmesindeki rolü net olarak ortaya konulamamıştır (33). Effüzyon gelişiminde *H. pylori* direnç ve virülans faktörleri, özellikle *H. pylori* EPIYA motifleri ilişkisi şimdiye kadar incelenmemiş bir konudur. Bu çalışmada en gelişmiş moleküler yöntemler kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real time-polymerase chain reaction, RT-PCR) ile EOM'lu çocukların ve kontrol grubu olarak effüzyonu olmayan sağlıklı çocukların orta kulak örneklerinde *H. pylori* varlığı araştırılıp effüzyonun patogeneğinde *H. pylori*'nin olası etkisi belirlenecektir. Çalışmada ilk kez EPIYA motiflerinin özellikle C motifinin EOM patogeneindeki rolünün ortaya koyulması amaçlanmıştır. Ayrıca bu çalışma ile ilk defa random başlatılmış polimeraz zincir reaksiyonu (arbitrarily primed-polymerase chain reaction, AP-PCR) ile aynı bireylere ait suşlar arasındaki klonal ilişkinin araştırılması, adenoid dokulardaki *H. pylori* deoksiribonükleik asit (DNA) parmak izleri orta kulaktakilerin parmak izleriyle karşılaştırılarak bu dokuların

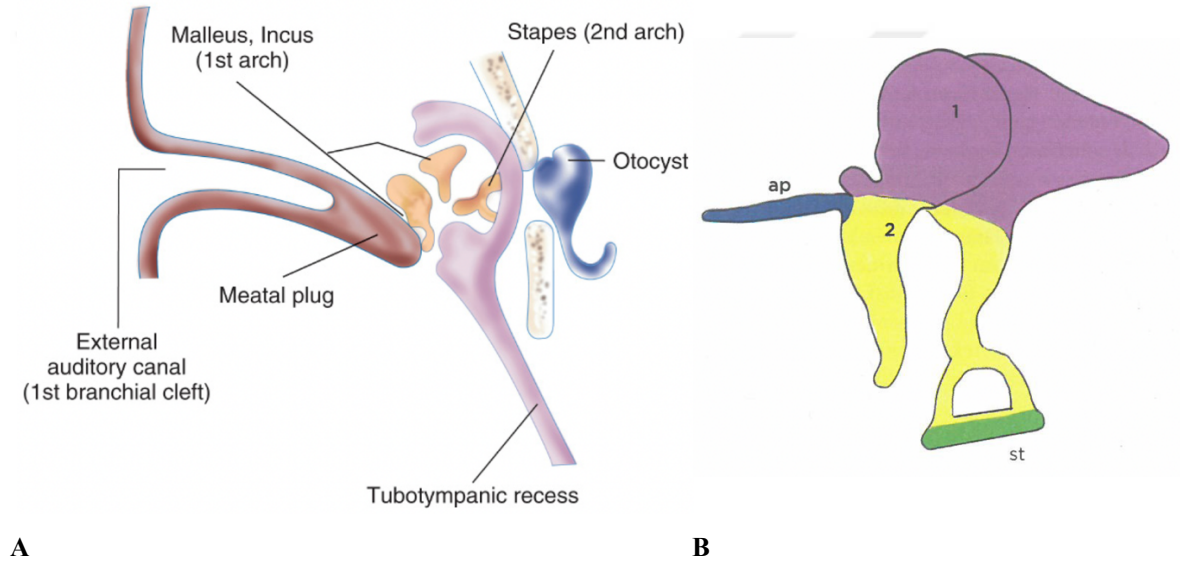
orta kulak için rezervuar görevi görüp görmediğı ve effüzyon gelişiminde baskın bir klonun olup olmadığı sorusunun aydınlatılması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORTA KULAK

2.1.1. Orta kulak embriyolojisi



Şekil 2.1. Orta kulağın embriyolojik gelişimi: A) Tubotimpanik resesten orta kulak boşluk sisteminin gelişimi ve orta kulak kemikçiklerinin 1. ve 2. farengeal ark mezenşiminden oluşumu; B) Orta kulak kemikçiklerinin embriyolojik kökenleri: (1) 1. farengeal ark, (2) 2. farengeal ark, (ap) bağımsız olarak kemikleşen malleus anterior prosesi, (st) otik kapsül. (A) Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 13'ten alınmıştır; B) Güneri EA. *Kulak Burun Boğaz Baş Boyun Cerrahisi*. Önerci TM, editor. Ankara: Matsa Basımevi; 2016. p: 3'ten alınmıştır)

Gestasyonun 3. haftasında, 3. farengeal ark büyürken 1. ve 2. farengeal poşu sıkıştırır. Östaki tüpü, orta kulak kavitesi, antrum ve mastoid hücreleri içeren orta kulak boşluk sistemi 1. farengeal poşun sıkışmasıyla oluşan tubotimpanik resesin endoderminden gelişir (Şekil 2.1). Tubotimpanik resesten ilk olarak Östaki tüpü oluşur. Östaki tüpünün lateral ucundaki dışa genişleme, orta kulak kavitesini oluşturur. Pnömatizasyon 10. haftada başlar. Antrum 23. haftada ortaya çıkarak 36. haftaya kadar gelişimi devam eder. Orta kulak kavitesi doğuma kadar mukoid bağ doku ile doludur. Gestasyonun 28. haftasında; dıştaki skuamöz epitel tabakası ektodermden, ortadaki fibröz tabakası mezodermden, içteki

mukozal tabakası endodermiden olmak üzere her üç germinal tabakadan gelişen timpanik membran oluşur. Yine 12. haftadan 28. haftaya kadar dört adet primitif mukozal kese gelişerek orta kulak boşluğunun subboşlukları gelişir.

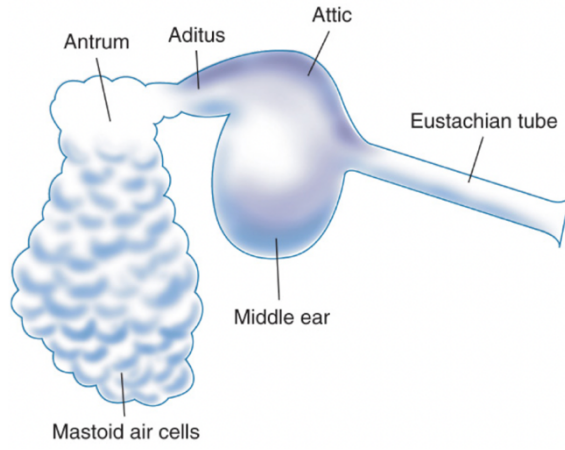
Orta kulak kavitesi doğumda büyük oranda nihai haline yakın olarak oluşmuştur ve postnatal dönemde çok az büyüme daha gösterir. 1 yaşında mastoid kemik çıkıntısı oluşur. 3 yaşında timpanik halka ve osseöz dış kulak kanalı kalsifiye olur. Östaki tüpü doğumda yaklaşık 17-18 mm iken erişkin dönemde 35 mm'ye ulaşır ve 3 boyutlu anatomik duruşu da gelişim süreci boyunca değişikliğe uğrar (34, 35).

Orta kulak kemikçiklerinin gelişimi 1. ve 2. farengeal arkların mezenşiminden kaynaklanır (Şekil 2.1). Embriyonik gelişimin 6. haftasında malleus ve inkus tek bir ünite olarak ortaya çıkar ve 8. haftada ayrılırlar. Malleusun başı ve boynu ile inkusun gövde ve kısa kolu Meckel kartilajı (1. farengeal ark mezodermi) tarafından oluşturulurken; manubrium mallei ile inkusun uzun kolu Reichert kartilajı (2. farengeal ark mezodermi) tarafından oluşturulur. Bu kemikçikler 16. haftada erişkin boyutlarına ulaşır ve ossifikasyon başlar. Doğumda malleus ve inkus erişkin boyutlarındadır. Gestasyonun 4-5. haftasında ise 2. farengeal arkın mezenşimal hücreleri toplanır ve 7. haftada buradan stapes halkası stapedial arterin etrafında oluşur. Otik kapsülden lamina stapedialis gelişir ve buradan stapes tabanı oluşur. Gestasyonun 10. haftasında stapes halka şeklinden üzengi şekline değişir, 19. haftada ossifikasyon başlar ve 28. haftada tamamlanır. Stapes tabanının vestibüler yüzü yaşam boyu kartilajinöz olarak kalır. Doğumda stapes erişkin boyutu ve formundadır.

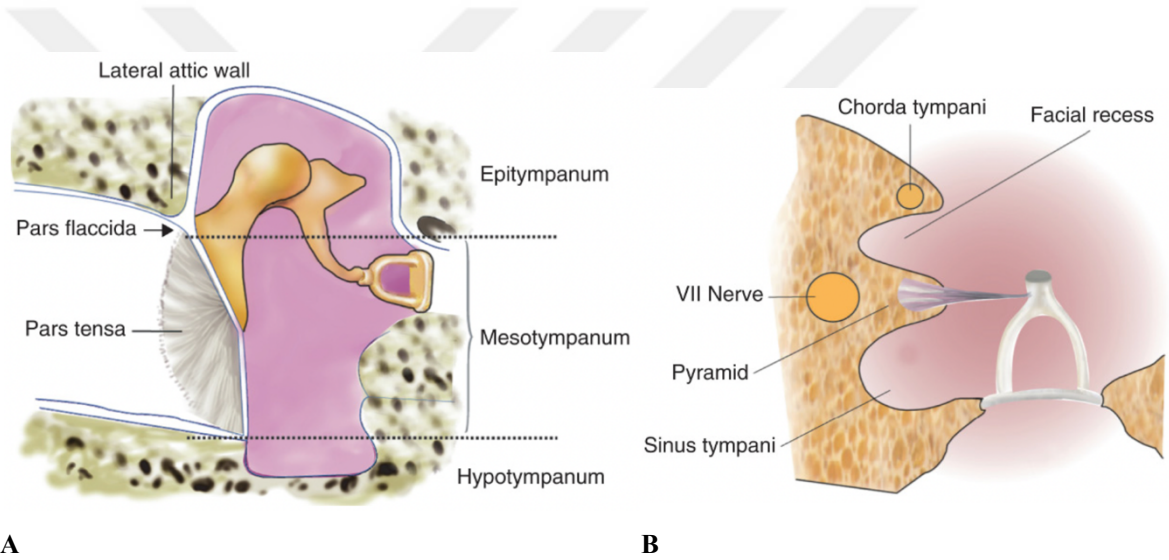
Gestasyonun 36. haftasından itibaren timpanik kavite genişleyerek kemikçikleri sarar ve böylece manubrium mallei timpanik membran ile, stapes tabanı oval pencere ile birleşir. Bu şekilde timpanik kaviteyi döşeyen endoderm kemikçikleri de örtmüş olur ve oluşan mukozal katlantılar ile kemikçikler timpanik kaviteye sabitlenmiş olur.

2.1.2. Orta kulak anatomisi

Orta kulak, içi hava ile dolu irregüler bir boşluktur. Timpanik kavite olarak da adlandırılır. Orta kulağın primer fonksiyonu, dış kulaktan gelen ses enerjisini enerji kaybını minimuma indirerek iç kulağa iletmektir. Orta kulak boşluk sistemi, içi hava dolu tek bir yarıktan gelişen Östaki tüpü, timpanik kavite, aditus, antrum ve mastoid hücreleri içeren bir komplekstir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Orta kulak boşluk sistemi. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 6'dan alınmıştır)

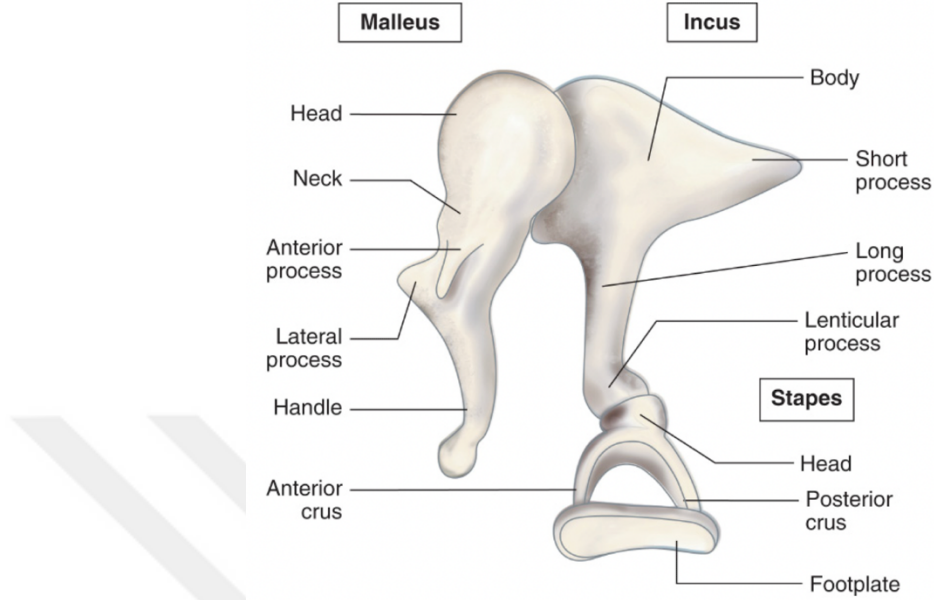


Şekil 2.3. Orta kulağın bölümleri: A) Mezo-, epi- ve hipotimpanum; B) Retrotimpanum. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 6-7'den alınmıştır)

Orta kulak, timpanik membran arkasında görülen boşluktan daha geniş bir alandır ve buna göre bölümlere ayrılır (Şekil 2.3):

- 1- Mezotimpanum (pars tensa medialindeki bölüm)
- 2- Epitimpanum ya da attik (pars flasidanın ve skutum denilen lateral attik kemik duvarının medialinde kalan, pars tensa seviyesinin superiorundaki bölüm)
- 3- Hipotimpanum (pars tensa seviyesinin inferiorunda kalan bölüm)
- 4- Retrotimpanum (pars tensa hizasının posteriorunda kalan bölüm olup sinüs timpani ve fasyal resesi içerir)
- 5- Protimpanum (pars tensa hizasının anteriorunda kalan bölüm olup Östaki ağzı burada bulunur)

arkasında vertikal olarak uzanır. İnkus gövdesi ile malleus başı attikte eklem yapar. Stapes kemikçiği baş, boyun, anterior ile posterior kruslar ve tabandan oluşur. Stapes başı inkus uzun kolu ile eklem yaparken stapes tabanı anüler ligaman ile oval pencereye tutunur.



Şekil 2.5. Orta kulak kemikçikleri. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 9'dan alınmıştır)

Orta kulakta iki adet kas bulunur. Tensor timpani kası, kokleariform proresten tendonu uzanarak malleus boynuna tutunur ve timpanik membranın gerginliğini artırır. Stapedius kası ise piramidal eminesten tendonu uzanarak stapes boynuna tutunur ve stapes tabanını oval pencereden kaldırarak çok yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa travma yaratmasının önüne geçer. Tensor timpani kası mandibuler sinir ile innerve olurken stapedius kası fasyal sinir ile innerve olur.

Fasyal sinir, timpanik kavite komşuluğunda seyreden önemli bir nörolojik yapıdır. Fasyal sinirin içerisinde seyrettiği kemik kanal Fallop kanalı olarak adlandırılır. Fasyal sinir internal akustik meatustan girip labirentin segmentinden sonra genikulat ganglionda 1. dirseğini yapar ve timpanik kavite medial duvarında timpanik segmenti ilerler. Burada lateral semisirküler kanal ve stapes tabanı ile yakın ilişkisinden sonra 2. dirseğini yaparak timpanik kavite posterior duvarında mastoid segmenti vertikal olarak aşağı ilerler ve stilomastoid foramenden dışarı çıkar.

Fasyal sinir dışında orta kulakta iki önemli sinirsel yapı daha bulunur. Timpanik pleksus siniri ya da Jacobson siniri promontorium üzerinde seyreder. Glossofarengusun timpanik dalı ve internal carotid arterin etrafındaki sempatik pleksus dallarından oluşur. Tüm

orta kulak boşluk sisteminin ve Östaki tüpü kemik kısmının duyuşal innervasyonunu sağlarken aynı zamanda parotis bezine giden sekretomotor lifler de taşır. Orta kulak kavitesinden geçen diğer bir sinir de fasyal sinirin dalı olan korda timpanidir. Orta kulağa posterior kanalikülden girerek timpanik membran medial yüzünde ilerler, ardından manubrium mallei ve inkus uzun kolu arasından devam eder. Dil ön 2/3'ünün tat duyuşunu taşırken aynı zamanda submandibuler ve sublingual tükruk bezlerine sekretomotor lifler taşır.

Orta kulak kanlanması iki ana arter tarafından sağlanır. Maksiller arterin anterior timpanik dalı timpanik membranı beslerken posterior auriküler arterin stilomastoid dalı orta kulak ve mastoid hava hücrelerini besler. Bunların dışında dört minör arter de beslenmeye katkı sağlar. Bunlar middle meningeal arterin petrozal dalı ile superior timpanik dalı, pterigoid kanal arterinden dal ve internal karotid arterin timpanik dalıdır. Orta kulağın venöz dönüşü pterigoid venöz pleksus ve superior petrozal sinüs aracılığıyla olur.

2.1.3. Orta kulak histolojisi

Tüm orta kulak boşluk sistemi mukoza ile kaplıdır ve bu mukoza nazofarenks mukozası ile devamlılık gösterir. Orta kulak mukozası, orta kulaktaki tüm kemikçik, kas, ligaman ve sinir yapılarını sararak katlantılar oluşturur ve boşluğu bölümlere ayırır.

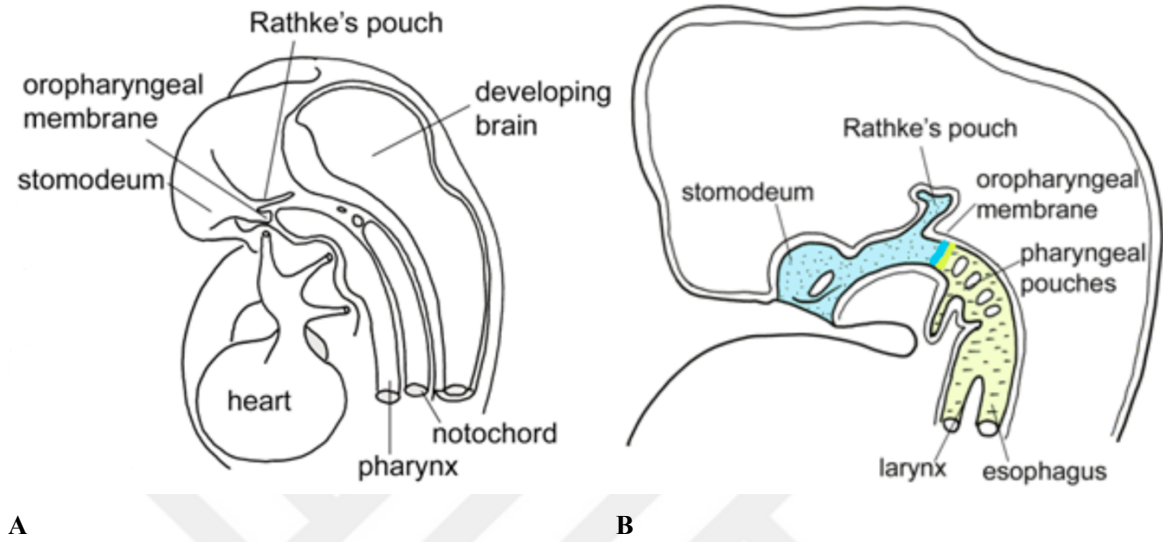
Timpanik kavite posterior kısmında silsiz küboid epitel ile kaplı olup bu epitel antrum ve mastoidde silsiz yassı epitel olarak devam eder. Timpanik kavitenin anterior kısmı ise silli kolumnar epitel ile kaplıdır ve bu epitel Östaki tüpüne doğru devam ederek kemik kısmını da döşer. Östaki tüpünün fibrokartilajinöz kısmı ise nazofarenks epiteli ile aynı olup solunum epiteli olarak adlandırılan yalancı çok katlı silli kolumnar epitel ile kaplıdır. Silli kolumnar epitel bulunan bölgelerde ayrıca birçok submukozal muköz bez bulunur.

2.2. NAZOFARENKS

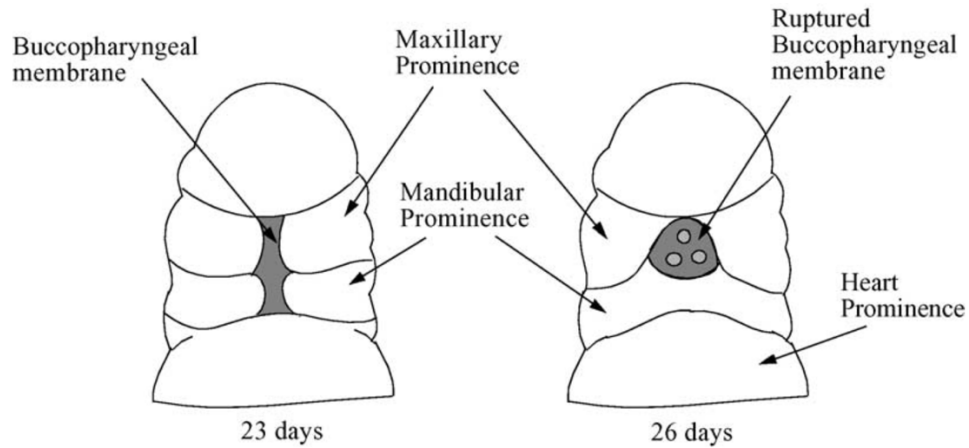
2.2.1. Nazofarenks embriyolojisi

Nazofarenks gelişimiyle ilgili ilk embriyolojik aşama 3. hafta civarında görülür. Bu dönemde embriyo her 3 germinal tabakayı da oluşturmuş, ayrıca notokord ve nöral tüp de gelişmiştir. Kranyal uçta ektoderm ve endoderm ile notokord birleşmiş durumda olup bu bilaminer yapı orofarengeal membranı ya da diğer ismiyle bukkofarengeal membranı oluşturur (Şekil 2.6). Farenks oluşumundaki ilk aşama, bu orofarengeal membranın 4. haftada ruptüre olmasıyla primer ağız olan stomodeum ve primitif farenksin oluşması ile

başlar (Şekil 2.7). Bu aşamada primitif nazal kaviteler ve nazofarenks, primitif ağız boşluğundan önde primer damak ve arkada oronazal membran ile ayrılmış durumdadır. Oronazal membranın 6. haftada ruptüre olmasıyla primitif koanalar oluşarak nazofarenks ile orofarenks bağlantısı gerçekleşir.



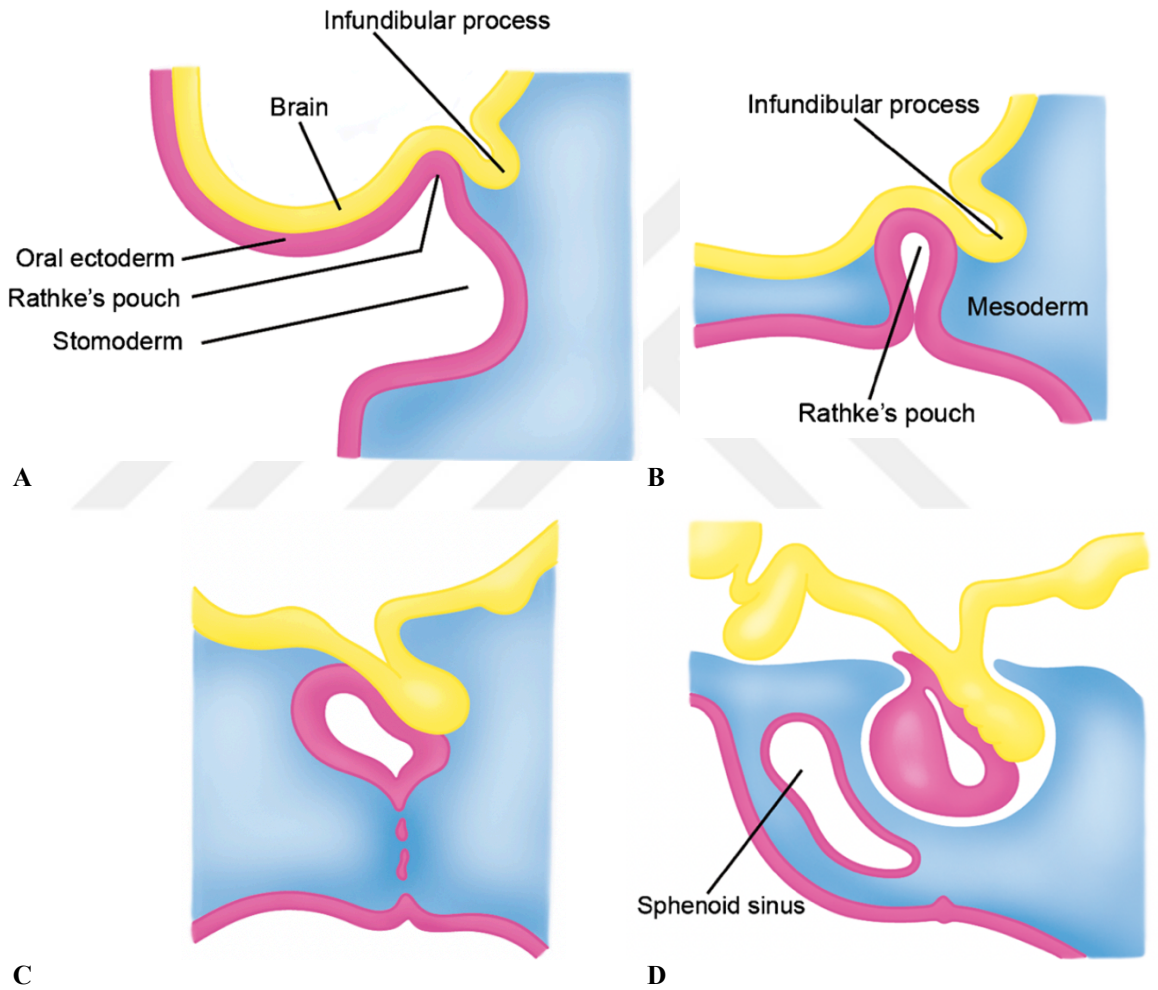
Şekil 2.6. Oropharyngeal membran: A) Her 3 germinal tabaka ve kranyal uçta ektoderm, endoderm ve notokord birleşiminde bulunan orofarangeal membran; B) Bilaminer orofaryngeal membran. (Danowitz M, Zheng H, Guigova A, Solounias N. A combined approach of teaching head development using embryology and comparative anatomy. Edorium J Anat Embryo. 2016;3:17-27. doi:10.5348/A04-2016-11-RA-3'ten alınmıştır)



Şekil 2.7. Bukkofarengeal membranın 4. haftada yırtılması. (Ooi EH, Khouri Z, Hilton M. Persistent buccopharyngeal membrane in an adult. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005;34(4):446-448. doi:10.1016/j.ijom.2004.09.007'den alınmıştır)

Hipofiz bezinin gelişimi, 4. haftada ektodermin invajinasyonu ile oluşan stomodeumun tavanının yukarıya doğru prolifer olup hipofizyal duktus ve Rathke kesesini oluşturması, ayrıca diensefalonun aşağı doğru büyüyerek nörofizyal tomurcuğu oluşturması ile gerçekleşir. Gestasyonun 5. haftasında hipofiz bezinin ön ve arka loplarnı oluşturan bu

iki parçası birbiriyle temas eder ve Rathke kesesi bağlantılı olduğu oronazal epitelden ayrılarak sapı 6. haftada dejenere olur (Şekil 2.8). Eğer bu sap tamamen dejenere olamazsa farengeal bursa denilen mikrokistler şeklinde erişkin yaşamda posterosuperior nazofarenks duvarında adenoid doku üzerinde bir gamze olarak görülebilir. Bu keseler semptomatikleşebilir ve Thornwaldt kisti olarak adlandırılır. Bu bölgede ayrıca Rathke kesesi kalıntılarından kraniofarenjioma gelişebilir (36). Embriyonik yaşamda notokordun farengeal endoderme tutunduğu yer regrese olmazsa notokord kalıntılarından kordomalar gelişebilir (37).

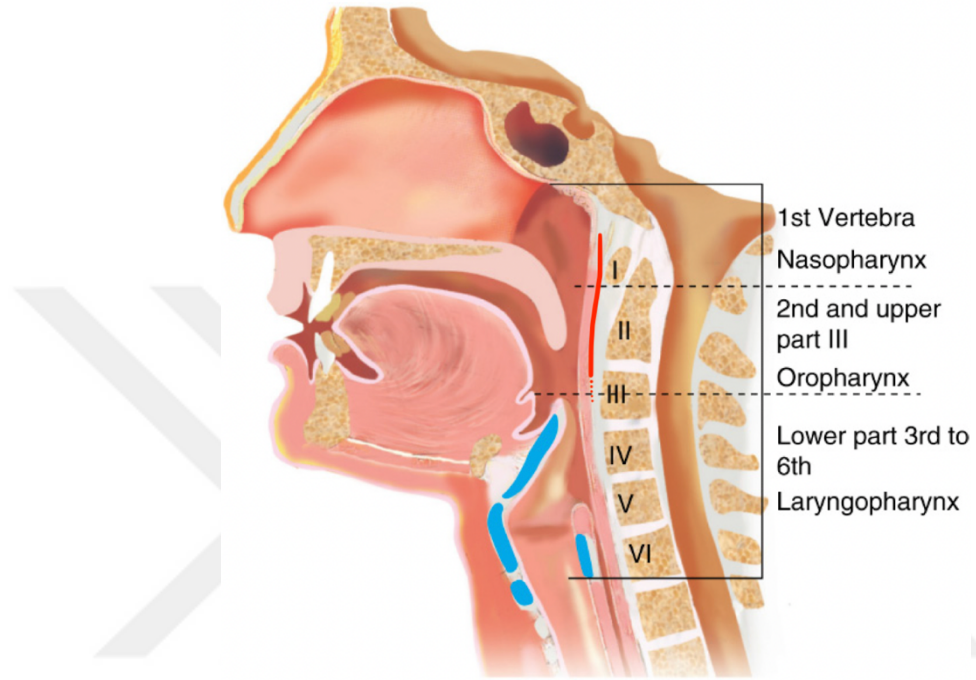


Şekil 2.8. Hipofiz bezinin gelişimi: A) Farenks duvarının yukarı doğru Rathke kesesi olarak büyümeye ve diensefalonun aşağıya doğru infundibuler çıkıntı olarak ilerlemeye başlaması; B) Rathke kesesi ve infundibuler çıkıntının büyümesi; C) Rathke kesesi sapının farenks epitelinden ayrılarak dejenere olması; D) Oluşumu tamamlanmış hipofiz bezi ön ve arka lobu. (Shields R, Mangla R, Almast J, Meyers S. *Magnetic resonance imaging of sellar and juxtasellar abnormalities in the paediatric population: an imaging review. Insights Imaging.* 2015;6(2):241-260. doi:10.1007/s13244-015-0401-5'ten alınmıştır)

Waldeyer'in lenfatik halkası embriyonik yaşamın 14-18. haftaları arasında oluşur. Adenoid doku 12-14. haftalarda nazofarenks posterior duvarında oluşan vertikal katlantı taslaklarından gelişir.

2.2.1. Nazofarenks anatomisi

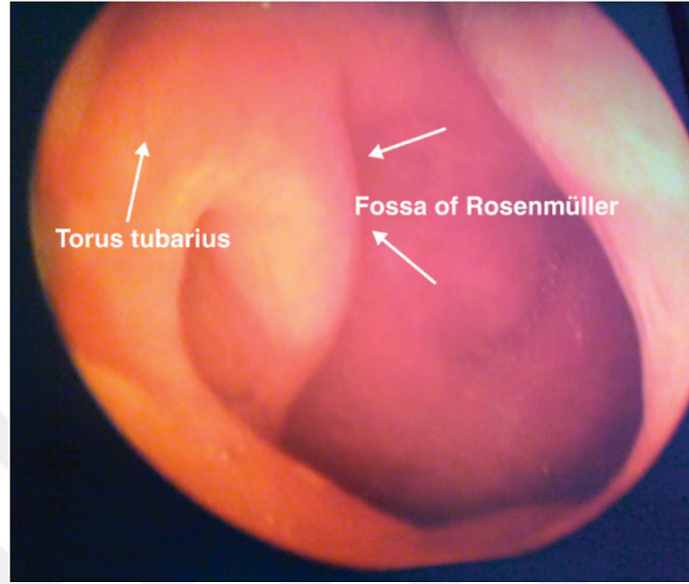
Farenks, üst aerodigestif traktı oluşturan 12-14 cm uzunluğunda koni şeklinde fibromüsküler bir tüptür. Bu farengeal tüpün kafa tabanından yumuşak damak alt sınırına kadar uzanan üst 1/3'lük kısmı nazofarenks ya da epifarenks olarak adlandırılır.



Şekil 2.9. Farenks bölümleri ve nazofarenks komşulukları. Kırmızı çizgi retrofarengeal boşluğun lokalizasyonunu göstermektedir. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 270'ten alınmıştır)

Nazofarenks, kraniodorsal olarak sfenoid kemik alt yüzü ve oksipital kemik baziler parçası ile sınırlandırılır. Üst servikal omurlar etrafındaki derin boyun kasları ve onları saran prevertebral fasya, nazofarenks posterior duvarı ile komşuluktadır. Bu prevertebral fasya ile nazofarengeal kas dokusu arkasındaki fasyası arasında, retrofarengeal boşluk olarak adlandırılan ve lenf düğümleri içeren ve bazı enfeksiyonlarda apse gelişebilen potansiyel bir boşluk bulunur (Şekil 2.9) (38). Bu potansiyel alan farenksin her iki yanında parafarengeal boşluk olarak devam eder ve içerisinde damar sinir paketi bulunur. Anteriorda nazofarenks, nazal septum posterior kenarı tarafından ikiye ayrılan koana denilen açıklıklar ile nazal kaviteye bağlanır. Kaudalde ise nazofarenks, yumuşak damağın arkasında orofarenks ile devam eder. Her iki tarafta yumuşak damağın tensor ve levator veli palatini kasları, tutundukları torus tubarius ile birlikte nazofarenksin lateral duvarlarını sınırlar. Ayrıca tubal kaslar olan salpingopalatin ve salpingofarengeal kaslar, üzerlerini örten mukozalar ile

birlikte yine aynı isimli katlantılar olarak posterolateral duvarda görülürler. Posterolateral duvarda her iki tarafta torus tubariusun hemen arkasında Rosenmüller fossa adı verilen derin birer faringeal reses yer alır (Şekil 2.10) ve bu bölge nazofarenks kanserlerinin en sık köken aldığı lokalizasyondur (39).

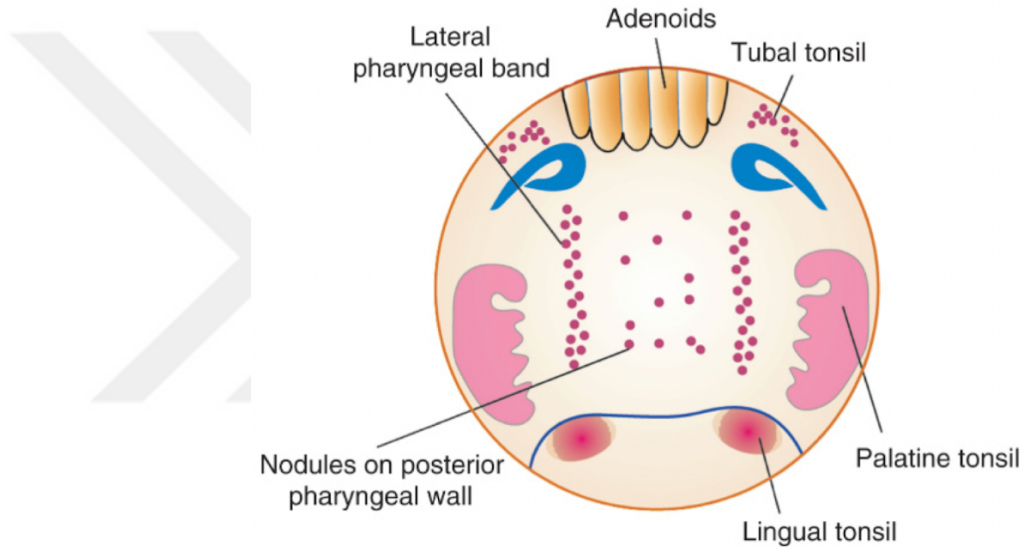


Şekil 2.10. Nazofarenksin endoskopik görüntüsü. Oklar lateral duvardaki torus tubarius ve hemen arkasındaki Rosenmüller fossayı göstermektedir. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 271'den alınmıştır)

Nazofarenks, orta kulak kavitesine Östaki tüpü aracılığı ile bağlanır. Östaki tüpünün orta kulak kavitesine açılan kısmı 1-1,5 cm'lik kemik kısmı olup, nazofarenks lateral duvarına açılan kısmı 2-2,5 cm'lik fibrokartilajinöz kısımdır. Östaki tüpünün faringeal orifisi, torus tubarius adı verilen ve altında kartilaj doku içeren bir mukozal katlantı yapar. Normalde tüp ve orifisi kapalı durur; yukarıda bahsedilen velum kasları ve tubal kasların aktiviteleri sonucu çiğneme, yutkunma ve esmene gibi hareketler ile periyodik olarak açılarak orta kulağa hava geçişine izin verir ve orta kulağın atmosferik basınçla eşitlenmesini sağlar. Yarık damak gibi bu kaslarda defekt olan anomalilerde kronik Östaki tüpü disfonksiyonu görülmesi kaçınılmaz olduğu gibi küçük yaşlarda nöromusküler sistemin immatüritesi nedeniyle de kaslarda yeterli düzeyde kasılma olamadığından Östaki tüpü disfonksiyonu sık görülmektedir (40).

Morgagni sinüsü, superior konstriktör kas serbest üst kenarı ile kafa tabanı arasında kalan sadece fasyadan oluşan kastan yoksun bir boşluktur. İçerisinden Östaki tüpü, levator veli palatini, tensor veli palatini ve fasyal arterin dalı olan asendan palatin arter geçer.

Adenoid doku ya da diğ er ismiyle faringeal tonsil, posterosuperior nazofaringeal duvarda bulunan lenfoid doku konglomerasyonudur. Daha küçük bir lenfoid agregasyon olan tubal tonsiller, faringeal reseslerde bulunur. Faringeal ve tubal tonsiller, palatin ve lingual tonsiller ile birlikte, aerodigestif sistemin girişindeki farenksi halka şeklinde saran önemli bir immünolojik yapı olan Waldeyer'in lenfatik halkasını oluştururlar (şekil 2.11). Adenoid doku içerisinde veya kranyal kenarında, faringeal ya da nazofaringeal bursa denilen bir mukozal   k  nt   ve reses gözlenebilir. Mukoza ile d  şeli bu reses, farenks mukozasından bazioksiput periostuna kadar uzanır ve bu yapı embriyolojik olarak Rathke kesesi kalıntılarına karşılık gelir. Bu bölgede zaman zaman enfeksiyonlara bağlı reses apseleşebilir ve Thornwaldt hastalığı olarak adlandırılır (41).



şekil 2.11. Waldeyer'in lenfatik halkası. (Dhingra PL, Dhingra S, Dhingra D. *Diseases of Ear, Nose and Throat & Head and Neck Surgery*. 7th ed. New Delhi: Elsevier RELX India Pvt. Ltd.; 2018. p: 270'ten alınmıştır)

2.2.2. Nazofarenks histolojisi

Faringeal duvar i ten dışa 4 tabakadan oluşur:

- 1- Mukoza
- 2- Faringeal aponöroz ya da farenkobaziler fasya
- 3- Musküler tabaka
- 4- Bukkofaringeal fasya

Mukoza, tüm faringeal kaviteyi i  yüzde kaplayan membran olup burun, östaki tüpleri, ağız, larenks ve özofagus mukozası ile devamlılık gösterir. Nazofarenks mukozası,

solunum epiteli olarak adlandırılan yalancı çok katlı silli kolumnar epitelden oluşur, goblet hücrelerince zengindir ve içerisinde çok sayıda muköz bez bulunur.

Farengal aponöroz, musküler tabakayı içeriden kaplayan fibröz tabakadır. Kafa tabanına doğru kaybolan musküler tabakanın boşluğunu doldurmak için kalınlaşarak yapışır ve bu nedenle faringobaziler fasya olarak da adlandırılır, inferiora doğru ise incelerek kaybolur.

Musküler tabaka, her biri 3'er çift kastan oluşan 2 tabakadan oluşur. İnternal tabakasında longitudinal olarak uzanan stilofarengus, salpingofarengus ve palatofarengus kasları bulunur. Eksternal tabakasında ise sirküler şekilde uzanan superior, middle ve inferior konstriktör kasları bulunur. Nazofarenks düzeyinde superior konstriktör kası bulunmaktadır.

Bukkofarengal fasya, konstriktör kasların dış yüzünü sarar. Farengal sinir pleksusu ve vasküler ağı içeren gevçek bir bağ dokudur. Superior konstriktörün üst kenarında farengal aponöroz ile birleşir. Ayrıca bu superior seviyede anteriora doğru uzanarak buksinatör kaslarını da sarar.

Farenksin yukarıda anlatılan 4 tabakası haricinde, subepitelyal alanda farenks duvarı boyunca yer yer dağılmış şekilde lenfoid dokuların olduğu bir tabakası daha bulunur. Bu submukozal alandaki lenfoid dokular bazı bölgelerde kümelenerek anatomik kitleler oluştururlar ve Waldeyer'in lenfatik halkasını meydana getirirler (Bkz. Bölüm 2.2.1. Nazofarenks anatomisi, sayfa 14). Bu lenfoid kümelerin nazofarenkste en büyüğü ve önemlisi adenoid dokudur. Adenoid dokudaki bu kümelenme, üzerindeki mukozanın da çok sayıda katlantı ve girintiler yapmasına neden olur (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Adenoid ve Östaki tüpü farengal orifisinin histolojik kesiti. Adenoid doku lenfoid kümelenmesi ile üzerindeki mukozal katlantılar ve her iki tarafta Östaki tüpü orifisinin medial yüzünde bulunan kartilaj doku görülmektedir. (Anniko M, Bernal-Sprekelsen M, Bonkowsky V, Bradley P, Iurato S. Otorhinolaryngology, Head & Neck Surgery. Arnold W, Ganzer U, editors. Leipzig: Springer-Verlag; 2010. p: 319'dan alınmıştır)

2.3. EFFÜZYONLU OTİTİS MEDIA

2.3.1. Tanım

EOM ya da diğer isimleriyle seröz otitis media veya sekretuar otitis media, ilk defa Mawson tarafından 1970 yılında bugünkü anlamıyla tanımlanmış olup akut enfeksiyon bulguları göstermeden orta kulak boşluğunda sıvı toplanmasını ifade etmektedir (42).

Sözcük anlamı orta kulak iltihabı olan otitis media, farklı iltihabi süreçlerin baskın olmasıyla aslında bir grup hastalığı temsil eder (43). Akut otitis media (AOM), otalji ve ateş ile prezente olur ve genellikle üst solunum yolu enfeksiyonlarını (ÜSYE) takip eder (44). Orta kulak boşluğundaki yüksek basınçlı enfekte sıvı timpanik membranı rüptüre ettiğinde akut süpüratif otitis media adını alır. Timpanik membrandaki bu perforasyon zamanla iyileşmezse, perforasyondan persistan veya rekürren otore olması ile karakterize olan kronik süpüratif otitis media gelişir (45).

Eğer sıvı kolleksiyonu yukarıda bahsedildiği gibi klinik olarak sessiz bir şekilde gerçekleşirse EOM gelişir. Bu otitis media tipinde, timpanik membran bütünlüğünü halen korurken kronik transformasyon gelişir; süreç 3 aydan uzun sürdüğünde kronik EOM adını alır (46). AOM sonrası tedaviye rağmen kalan persistan effüzyon, en fazla 2 ay sürmesi ile kronik EOM'dan ayrılır (47).

2.3.2. Epidemiyoloji ve risk faktörleri

Yaşamın erken dönemlerinde, orta kulak effüzyonunun ilk baştaki kaynağı aslında amniyotik kese içerisindeki sıvıdır. Term bebeklerin 2/3'ünden fazlasının orta kulak boşluğunda amniyotik sıvı tespit edilmiştir (48). EOM prevalansı 2 yaş altında %60 kadar yüksek iken sonrasında yaş ilerledikçe orta kulak sıvısı çözülmeye başlar (49). Hastalık prevalansı 7 yaşından sonra anlamlı olarak düşerek %20'nin altına iner (50).

Kranyofasyal anomalili çocuklar, normal akranlarına göre daha sık EOM geliştirir. Yaşları 8'in altında olan Down sendromlu çocuklarda %60, yarı dudak damaklı çocuklarda %75 kadar yüksek oranlarda EOM görülebilmektedir (51, 52).

Direkt bir patofizyolojik ilişki henüz gösterilmemiş olsa da, atopik çocuklarda EOM'un daha sık görüldüğü bilinmektedir. Çocuk herhangi bir alerjik veya astmatik semptom gösteriyorsa EOM prevalansı artmaktadır (50).

Hasta öyküsünün yanı sıra, hastanın sosyoekonomik çevresinin de EOM gelişimi üzerine önemli etkisi bulunur. Eğitim düzeyleri düşük ve düşük statülü işlerde çalışan ebeveynlerin çocuklarında EOM gelişme riski daha yüksektir. Bunun dışında, sigara içen

ebeveynlerin pasif içici çocukları da sigara dumansız ortamda yaşayan yaşlılarına göre daha sık EOM geliştirir (50). Bu bağlamda EOM önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kendini göstermektedir.

2.3.3. Patofizyoloji

Östaki tüpü yaşla birlikte gelişmeye devam eder ve erişkin konfigürasyonuna 8 yaş itibarıyla ulaşır (53). EOM'un çocuklarda erişkinlerden daha fazla görülmesinin ana sebebi, yeterince gelişmemiş Östaki tüpünün normal orta kulak fonksiyonunun sağlanması üzerine olan görevini yeterince yerine getirememesidir. İmmatür Östaki tüpü daha kısadır, daha horizontal yerleşimlidir ve dinamik olarak yeterince açılıp kapanamaz (4). Sonuç olarak orta kulak, nazofarenkstekki basınç değişikliklerinden ve mikroorganizmalardan etkilenmeye başlar. Başka bir deyişle, disfonksiyonel immatür Östaki tüpü, hastalığın gelişmesine predispozisyon sağlar. Nazofarenkstekki inflamatuvar ve enfeksiyöz olaylar, orta kulakta başlayan patolojik sürecin tetikleyicisi olarak düşünülmektedir. Orta kulakta başlayan lokal inflamasyon ile vazodilatasyon ve sitokin üretimi gerçekleşir. Bu inflamatuvar değişiklikler sırasıyla, orta kulakta gaz emilimini artırarak orta kulak basıncının azalmasına ve orta kulak mukozasında goblet hücre metaplazisi ve glandüler metaplaziye neden olarak eksuda tarzı sekresyon birikimine neden olur (54). Orta kulakta birikmeye başlayan sıvının karakteri muköz, seromüköz veya seröz olabilir. Fazla sekresyon Östaki tüpünü oblitere eder ve orta kulağın nazofarenksten havalanmasını bloklar. Sonuç olarak orta kulakta gelişen negatif basınç timpanik membranın yapısına zarar vermeye ve atrofiye gitmesine sebep olur. Retraksiyon cepleri ilk olarak fibröz tabaka içermeyen pars flasidada gelişir. EOM tedavi edilip sağlıklı orta kulak basıncı sağlanmadığı sürece retraksiyon tüm timpanik membranı kapsayarak atelektazi veya adeziv otit gelişimi ile komplike olur. EOM ilerleyen zamanlarda özellikle tedaviye dirençli çocuklarda retraksiyon ceplerinden kolesteatom gelişimine sebep olabileceğinden, negatif orta kulak basıncına maruz kalınan süreyi en aza indirmek için gecikme olmadan ve mümkün olan en erken yaşta tanınmalı ve tedavi edilmelidir (55, 56).

Östaki tüpü disfonksiyonu, EOM için uzun yıllardır geleneksel patofizyolojik konsept olmuştur (3). Ancak güncel çalışmalar Östaki tüpü disfonksiyonunun tek ve ana etiyolojik faktör olmaktan ziyade predispozan faktör olduğunu göstermiştir (57). Sağlıklı orta kulakta bakteri ve virüsler bulunmaz (58); buna karşın EOM steril olmayan bir inflamatuvar süreçtir. Konvansiyonel mikroskopi ve çok daha sensitif olan polimeraz zincir reaksiyonu (polimerase chain reaction, PCR) çalışmaları, orta kulak boşluğunda muhtemel nazofarenks kaynaklı bakterilerin bulunduğunu göstermiştir. AOM ve akut bakteriyel sinüzit etiyolojisindeki ana patojenler olan ve adenoidlerde belirgin şekilde bol bulunan

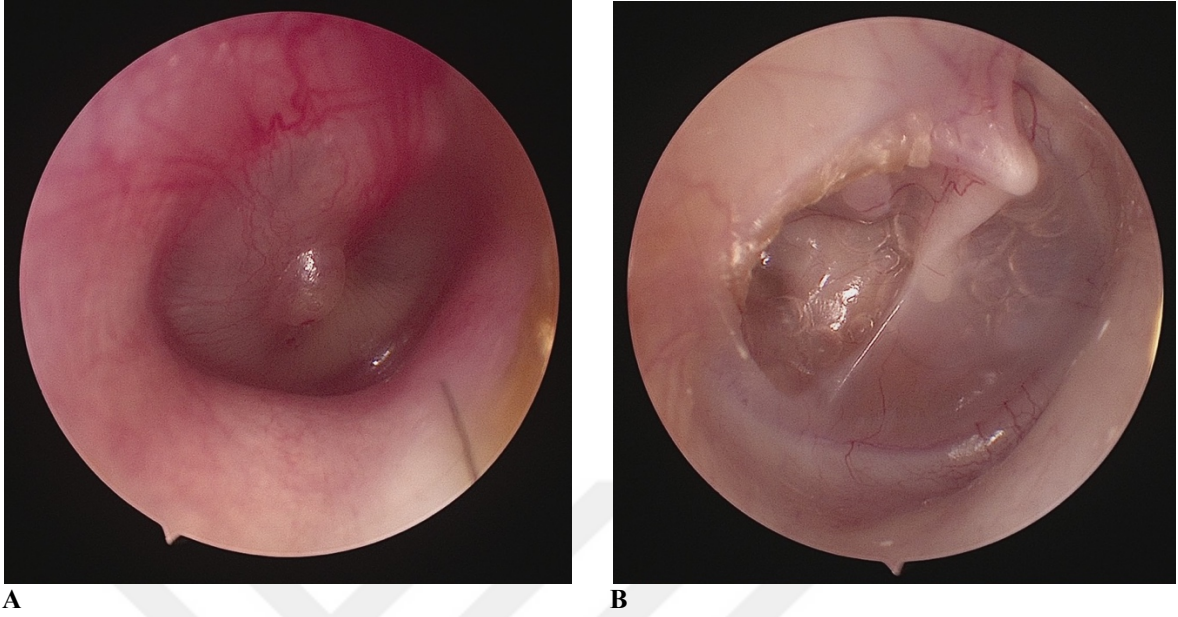
Streptococcus pneumoniae, *Haemophilus influenza* ve *Moraxella catarrhalis*, EOM'da da en sık gözlemlenen patojenler arasındadır (7, 8, 59). Patojen rezervuar hipotezinde, üst solunum yolundaki adenoid doku, duyarlı bireylerde orta kulak boşluğunda enfeksiyonu başlatan bakteriyel kaynak olarak görev yapar (14). Bu patojenlerin orta kulakta biyofilm tabakası oluşumunda rol oynadıkları düşünülmektedir (5, 6). Nispeten az miktarda oksijen ve besin ihtiyacı olan ve kendilerini biyofilm tabakasına gömerek uygun pH'a ulaşan bu bakteriler, biyofilmdeki ekstraselüler matriks sayesinde aynı zamanda konak fagositleri, antikorları ve sistemik antibiyotiklerden de korunurlar (60, 61). Enfeksiyon, biyofilm tabakasında kalmaya devam eden bu bakteriler nedeniyle kronikleşir. Yeni gelişen genetik sekanslama teknikleri ile hastalık sürecinin polimikrobiyalılığı doğrulanmış ve bilinen bir gerçek olmuştur; bununla birlikte orta kulak effüzyonlarında baskın olan ve persiste eden bu bakterilerin aslında adenoid bakteriyomu ile özdeş olmadığı görülmüştür (9). Üst solunum yolunun yukarıda bahsedilen 3 ortak türüne ilaveten orta kulağa spesifik olan *Alloicoccus otitis*, EOM hastalarının orta kulak sıvılarındaki en bol bulunan bakteri olarak gösterilmiştir (9-13). En son bulgular EOM gelişiminde adenoid mikrobiyomunun yanı sıra orta kulağın kendi mikroçevresinin de önemini de açığa çıkarmıştır. Patojen rezervuar teorisi dışındaki muhtemel farklı patofizyolojik süreçlerin halen araştırılması gerekmektedir.

EOM gelişimine başka bazı farklı faktörlerin de etki edebileceği düşünülmüştür. Yaşamayı için orta kulakta uygun pH düzeyi ve biyofilm tabakasını bulabilen mikroaerofil bir bakteri olan *H. pylori* ile birlikte pepsin molekülünün orta kulak effüzyon örneklerinde gösterildiği çalışmalar, EOM etiyolojisinde gastroözofageal reflünün bir rolü olabileceğini düşündürmüştür (62, 63). Ancak çalışmalar bu konuda direkt bir neden-sonuç ilişkisini henüz ortaya koyamamıştır (17, 64). Alerjik havayolu hastalıkları ile EOM arasında bir bağlantı olabileceği pek çok kez öne sürülmüştür (65-69); ancak net bir neden-sonuç ilişkisi gösterilememiş ve antialerjik tedavinin EOM hastalık sürecinde etkisi olmadığı gösterilmiştir (70).

2.3.4. Tanı

EOM tanısı genellikle klinik olarak konulmaktadır. İşitme kaybı, orta kulak effüzyonu için ana semptom olup çocuklarda bunu anlamak için ebeveynlerin verdiği anamnez son derece önemlidir (71, 72). Anamnez ile EOM şüphesi doğduktan sonra kulak muayenesi ile klinik tanı konur. Otoskopik muayenede timpanik membranda matlık, hava-sıvı seviyesi, hava kabarcıkları veya retraksiyon cepleri klinik tanıyı doğrular (Şekil 2.13). Pnömotik otoskop, basınç değişikliklerine karşı timpanik membran mobilitesinin de değerlendirilebilmesine imkan verdiği için önerilen muayene aracıdır. Endoskop veya

mikroskop da alternatif muayene araçları olarak kullanılabilir. Bulgular 3 aydan uzun süre devam ettiğinde kronik EOM tanısı konur.



Şekil 2.13. EOM muayene bulgularının endoskopik görüntüsü: A) Timpanik membranda tipik mat görüntü olup büllöz mirinjit eşlik etmektedir; B) Timpanik membran posterior kadrantındaki retraksiyon cebi adeziv otite ilerlemiştir, ayrıca timpanik membran arkasındaki sıvı içerisinde hava kabarcıkları görülmektedir. (Fotoğraflar Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Kulak Burun Boğaz polikliniğinde hasta onamı alınarak çekilmiş olup Springer yayınevinde basılmak üzere hazırlanmakta olan Otolology Update kitabının Effüzyonlu Otitis Media başlıklı bölümünde kullanılmıştır)

Nazal endoskopik muayene, burun tıkanıklığı şikayeti eşlik eden çocuklarda ayırıcı tanı için muayeneye eklenmelidir (73-75); erişkinde ise olası bir nazofarengeal tümörü dışlamak amacıyla mutlaka yapılması gerekir.

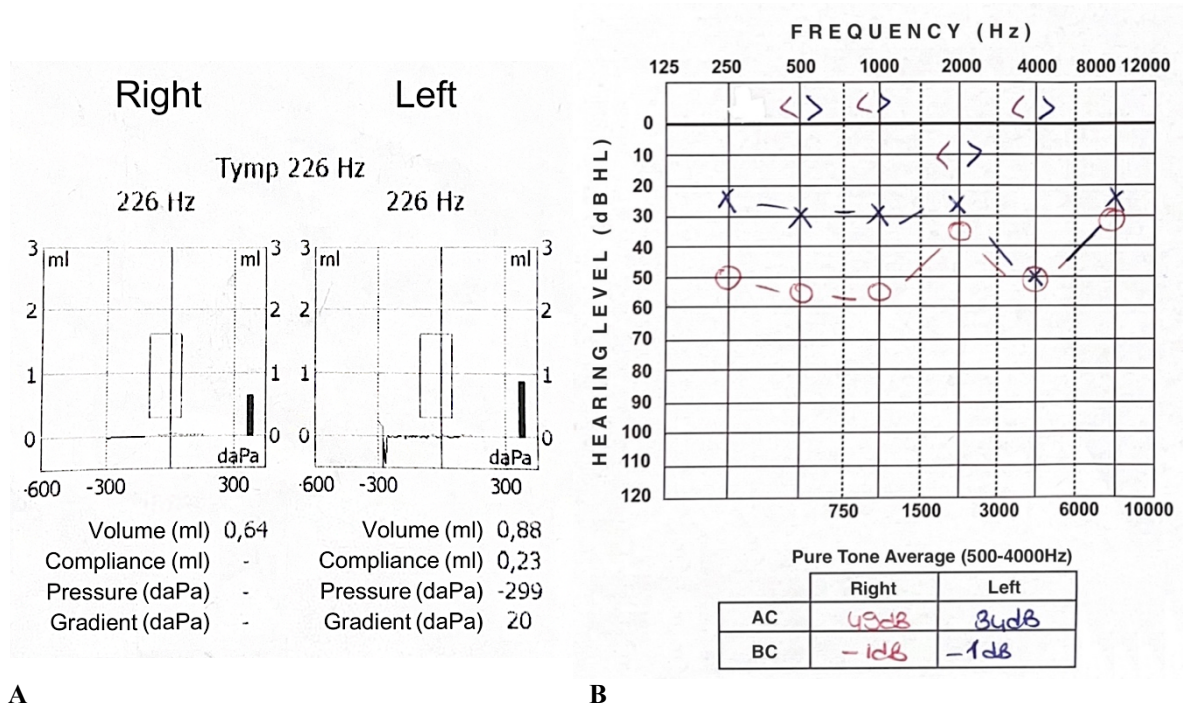
Kranyofasial anomalileri tanımak, dirençli ve rekürren EOM için yatkınlık oluşturduklarından önemlidir (76). Bariz bir fenotipik anomali olmadığı durumlarda dikkatli bir orofarengeal ve oral kavite muayenesi, eşlik eden palatal defektleri tespit etmek için şarttır.

Klinik EOM tanısını doğrulamak amacıyla bazı odyolojik değerlendirmeler yapılmaktadır. Bu testlerdeki altın standart yöntem timpanik membran mobilitesini değerlendiren timpanometri testidir. EOM için en yüksek spesifiteye sahip olan ve statik timpanik kompliyansı gösteren tipik eğri Tip B timpanogram eğrisidir (Şekil 2.14) (77, 78). EOM’da timpanik membran arkasında toplanan sıvı membran hareketini kısıtlar.

EOM tanısından sonra herhangi bir tedavi girişimi öncesinde işitme kaybının derecesini belirlemek önemlidir. Bu amaçla, hava ve kemik yolu işitme eşiklerinin belirlendiği tonal odyometri ve konuşma odyometrisi ideal olarak önerilen testlerdir (Şekil 2.14). 500-4000 Hz aralığında EOM tanılı çocukların yarısında 20 dB’in üzerinde, 1/5’inde

35 dB'in üzerinde işitme kaybı görülmektedir (79). Uzun süre tedavisiz kalan olgularda işitme kaybının orta ve ileri dereceye ilerlemesinin yanında iç kulak da etkilenip zarar görmeye başlar.

Hasta uyumsuzluğu nedeniyle odyometrik testler yapılamayan özellikle çok küçük yaş hastalarda, herhangi bir girişim öncesinde işitsel beyinsapı yanıtları veya işitsel devamlı-durumda uyarım yanıtları alınmalıdır (80).



Şekil 2.14. EOM odyolojik değerlendirme sonuçları: A) Tip B timpanogram. Her iki kulakta da düz çizen eğriler timpanik membranda kompliyansın kaybolduğunu göstermektedir; B) Saf ses odyogram. Her iki kulakta da normal kemik yolu eşikleri ile birlikte belirgin hava-kemik yolu aralıkları görülmektedir. Sağ kulakta orta, sol kulakta hafif dereceli iletim tipi işitme kaybı mevcuttur. (Fotoğraflar Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Kulak Burun Boğaz polikliniği Odyoloji bölümünde EOM klinik tanılı bir çocuk hastaya yapılmış olan testlerin sonuçları olup Springer yayınevinde basılmak üzere hazırlanmakta olan Otology Update kitabının Effüzyonlu Otitis Media başlıklı bölümünde kullanılmıştır)

2.3.5. Tedavi

EOM tedavisinde kanıtlanmış bir medikal tedavi bulunmamakla birlikte hastalığın yönetimini kolaylaştırmak amacıyla önerilmiş ve denenmiş bazı uygulamalar ve ilaçlar bulunmaktadır.

İlk basamak tedavisi olarak Östaki tüpü disfonksiyonu ve negatif orta kulak basıncını mekanik olarak çözmeye yönelik geliştirilen bazı manevralar başlanabilir. Bu manevralar herhangi bir ekipman gerektirmez, hasta tarafından uygulanması kolaydır ve herhangi bir

yan etkisi bulunmaz. Toynbee ve Valsalva manevralarının işitme ve orta kulak basınçları üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (81, 82).

Intranazal kortikosteroid ajanlar lokal inflamasyonu baskılayarak Östaki tüpü orifisindeki lenfoid doku volümünü azaltır, orta kulak effüzyon sıvısının viskozitesini azaltır ve surfaktan sekresyonunu artırır; böylece orta kulak ve Östaki tüpündeki normal fonksiyonu kazanmaya katkıda bulunur (83). Topikal steroidlerin effüzyonun çözülmesi ve EOM semptomlarında kısa dönem faydaları olup, bu ajanlar erken semptomatik rahatlama sağlamak amacıyla kullanılabilir (84). Oral steroidlerin, işitme üzerine katkı sağlamadıkları gibi sistemik yan etkileri de bulunduğundan tedavide yeri yoktur (85).

Mukolitik ajanlar mukus üretimini azaltıp salgılanmış mukusun atılımını artırarak dolaylı yoldan inflamasyonu yatıştırır. Bu etkilerle kısa dönemde EOM semptomlarında rahatlama sağlamalarının yanında her 5 çocuğun birinde cerrahi ihtiyacını da ortadan kaldırebildikleri gösterilmiştir (86). Ancak bu ajanların kost-effektiviteleri çalışmalarla net bir şekilde gösterilemediğinden EOM tedavisinde uluslararası kılavuzlarda önerilmezler (87).

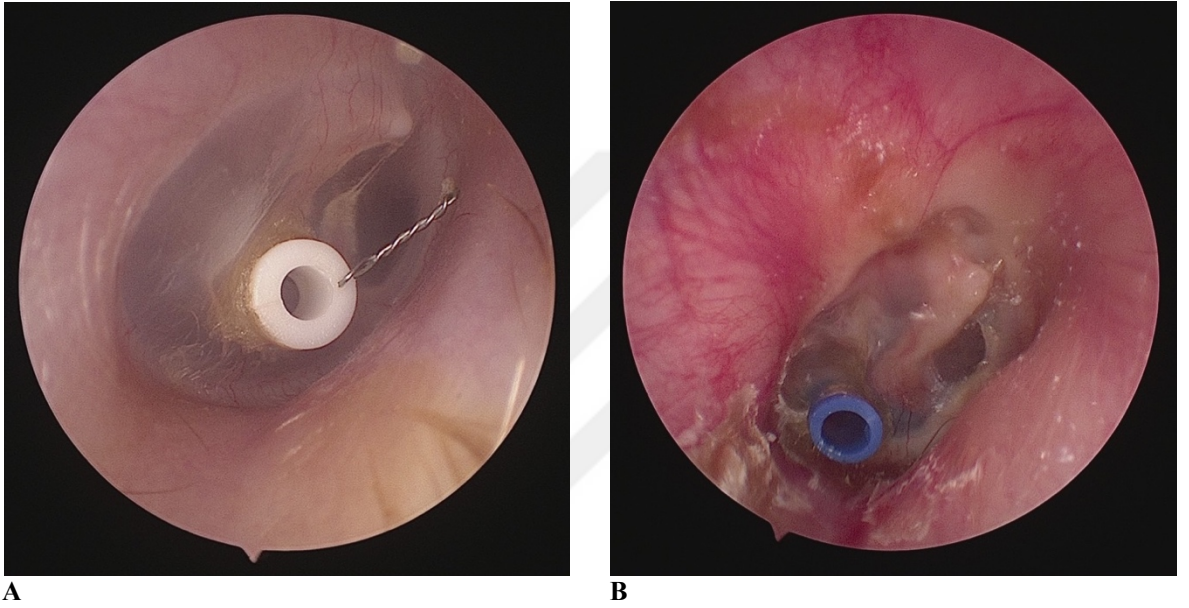
Oral antibiyotik tedavileri, EOM'un nonsteril bir enfeksiyon olması sebebiyle genel pratikte kullanılsa da bunların uzun dönemde EOM semptomları, işitme kaybı veya ventilasyon tüpü (VT) tatbiki oranlarında bir iyileşme yapamadığı görülmüştür (88). Antibiyotiklerin etkisiz kalmalarının sebebi patogenetik bakterilerin biyofilm tabakası içinde koruma altında olmalarıdır (Bkz. Bölüm 2.3.3. Patofizyoloji, sayfa 18).

Oral veya nazal formdaki antihistaminik ve dekonjestanların EOM tedavisinde klinik anlamda katkıları bulunmamakta, ek olarak bu ilaçlara bağlı belirgin oranlarda yan etkiler görülebilmektedir (89).

Amerikan ve Avrupa kılavuzları, 3 aylık bekle-gör şeklinde izlem döneminden sonra devam eden kronik EOM'larda cerrahi tedavi önermektedir (46, 90).

Uluslararası kılavuzlarda kronik EOM'da önerilen anahtar tedavi VT tatbiki ya da diğer adıyla timpanostomi tüpü tatbikidir (87). VT tatbiki endikasyonları timpanik membranda atrofi veya retraksiyon cebi gelişmeye başlaması, odyometride 25-40 dB arasında olan objektif işitme kaybı bulunması veya daha hafif dereceli işitme kaybı olmasına rağmen hayat kalitesinin etkilendiği durumlardır (91). VT tatbikinden sonra ilk 9 ay içerisinde işitme ve yaşam kalitesinde anlamlı iyileşmeler görülür (1, 46, 49, 92). Timpanik membrana yerleştirilen VT, Östaki tüpü aracılığıyla havalanamayan orta kulağa dış kulak yolundan hava geçmesine olanak sağlar, böylelikle orta kulak basıncı atmosferik basınçla eşitlenir. EOM cerrahi tedavisinde çeşitli VT tipleri bulunmaktadır. Shepard stili (Şekil 2.15), Armstrong stili veya Paparella tipinde olabilen grommet tüpler 6-18 ay arasında

atılırlar ve primer EOM cerrahisinde ilk basamak olarak tercih edilirler (93-95). Grommet tüpler, Tip II Paparella tüpü hariç, kısa dönem tüpler olduklarından komplikasyon oranları da oldukça düşüktür (96). Grommet tüplerin dışında, daha kalıcı bir şekilde orta kulak havalanmasını sağlamak amacıyla daha uzun süre yerinde kalan ve spontan atılımı beklenmeyen T-tüpler de mevcuttur (Şekil 2.15) (97). Komplikasyon oranları daha yüksek olsa da uzun dönem tüpler olan ve 2 yıldan uzun süre yerinde kalan T-tüpler, grommet tüplerden fayda görmemiş kronik Östaki tüpü disfonksiyonu olan dirençli veya rekürren EOM'lu hastalarda endikedir.



Şekil 2.15. Ventilasyon tüpleri postoperatif görünümü: A) Shepard stili grommet tüp; B) T-tüp. (Fotoğraflar Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Kulak Burun Boğaz polikliniğinde hasta onamı alınarak çekilmiş olup Springer yayınevinde basılmak üzere hazırlanmakta olan *Otology Update* kitabının *Effüzyonlu Otitis Media* başlıklı bölümünde kullanılmıştır)

EOM tedavisinde VT tatbiki ile kombine edilebilen diğer cerrahi prosedür adenoidektomidir. EOM için Amerikan klinik pratik kılavuzu 4 yaş üzerindeki çocuklarda adenoidektominin rutin olarak yapılmasını önerirken 4 yaşın altında sadece eşlik eden burun tıkanıklığı varlığında veya rekürren EOM varlığında adenoidektomi önermektedir (90). Özellikle 4 yaşın üzerinde VT tatbiki ile aynı seansta adenoidektomi yapıldığında, 2 yıllık izlemde tekrar VT tatbiki ihtiyacı olan EOM rekürrensleri hem daha geç ortaya çıkmış hem de daha az görülmüştür (98, 99). EOM'da adenoidektominin yapılmasındaki amaç Östaki tüpü ağzındaki mekanik obstrüksiyonu ortadan kaldırmak olduğu kadar aynı zamanda enfeksiyon rezervuarını ortadan kaldırmaktır (100, 101).

2.4. HELICOBACTER PYLORI

H. pylori, dünya çapındaki insanların yarısından fazlasında mide epitelini kolonize eden gram negatif spiral mikroaerofilik bir bakteridir (102, 103). Enfeksiyon genellikle bebeklik dönemi ve erken yaşlarda edinilir ve bazı durumlarda yaşam boyunca devam eder (104, 105). *H. pylori* gastrite neden olduktan sonra ilerleyen süreçlerde gastrik ve duodenal peptik ülser hastalığına, hatta gastrik kanser ve primer gastrik lenfomaların oluşmasına yol açabilen bir enfeksiyöz ajandır (106).

Gelişmiş ülkelerde *H. pylori* enfeksiyon prevalansı %10-50 aralığında olup ortalama %30 iken, bazı coğrafi farklılıklarla birlikte gelişmekte olan ülkelere %80'e kadar çıkmaktadır (107, 108). Yıllık insidans gelişmiş ülkelere %1, gelişmekte olan ülkelere %5-10 arasındadır. *H. pylori* epidemiyolojisi sosyoekonomik yapı ile birlikte yaşa göre de önemli farklılıklar göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelere yaşa bağlı prevalans 0-5 yaş grubu için %5, 5-17 yaş grubu için %60 arasında değişmektedir. Gelişmiş ülkelere kıyaslandığında, gelişmekte olan ülkelere *H. pylori* enfeksiyonu genç yaşlarda belirgin şekilde daha yaygındır (109). Türkiye *Helicobacter* çalışma grubunun verilerine göre Türkiye'deki prevalans %82.5'dir. Yapılan bir derlemede prevalans Doğu Anadolu Bölgesindeki bir ilde %71.9, Marmara Bölgesinde %71.8 ve Güney Doğu Anadolu Bölgesinde %88.7 olarak rapor edilmiştir (110). Türkiye'de pediatrik popülasyonda prevalans %15 olarak tespit edilmiştir (111).

H. pylori vücutta primer rezervuarı olan mideye sınırlı kalmayıp sistemik tutulum yapabilen bir bakteridir. İntestinal, hepatobilier, pulmoner, hematolojik hastalıklarda, aterosklerozda ve baş-boyun hastalıklarında *H. pylori* virülansının etkisi literatürde yerini almıştır (112). Baş-boyun bölgesinde nazal polip dokusu ile kronik sinüzitte nazal mukoza ve sinüs mukozası örneklerinde, dental plaklar ile tonsil ve adenoid dokularında, vokal kord benign lezyonları ile larenks skuamöz hücreli karsinomu gibi larengeal dokularda varlığı gösterilmiştir (16-21). *H. pylori*'nin oral kavitenin doğal flora elemanı olup gastrik enfeksiyon ile bir bağlantısı olmadığı, gastrik ve duodenal *H. pylori* enfeksiyonunda ağız boşluğundaki bu sürekli rezervuar kaynaklı rekürrenslerin olabileceği öne sürülmüştür. Oral flora elemanı olarak *H. pylori*'nin konak ile kommensal ilişkide olduğu, ancak az sayıda olması, kokoid forma geçmesi, çapraz reaksiyonlar ve bulaşlardan dolayı tanısının güvenilir olmadığı söylenmiştir (113). Bazı çalışmalarda ise *H. pylori*'nin kalıcı bir oral flora elemanı olmadığı ancak gastroözefageal reflü kaynaklı ağız boşluğunda bulunabileceği bildirilmiştir. Bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalara rağmen oral kavitede *H. pylori*'nin rezervuar etkisi ile reenfeksiyonlara sebep olup olmayacağı konusu hala tartışmalıdır (114, 115).

Orofarenks ve nazofarenkste *H. pylori*'nin gösterilmiş olması bu bakterinin orta kulak boşluğunda da bulunabileceği olasılığını akla getirmektedir. Farklı tanısal yöntemler kullanılarak yapılmış olan çalışmalarda tonsillektomi ve/veya adenoidektomi ameliyatı geçiren çocukların %0-63'ünün tonsil dokusunda (19, 29, 116-119); %0-64'ünün adenoid dokusunda *H. pylori* bulunmuştur (19, 22, 23, 27, 119-122). EOM oluşumunda bu dokuların *H. pylori* için bir rezervuar görevi görebileceği ile ilgili tartışma literatürde halen devam etmektedir. Nitekim orta kulak örneklerinde yapılmış olan çalışmalarda çalışma grubu ve kullanılan yöntemlere göre farklılık göstermekle birlikte EOM olan çocukların %0-70'inde (22, 23, 26, 27, 118, 121-128) *H. pylori* gösterilmiştir. Orta kulak effüzyonlarında *H. pylori*'nin bulunabilirliği çeşitli mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Anatomik komşuluk dolayısıyla Östaki tüpünden direkt yayılım söz konusu olabileceği gibi gastroözofageal reflü ile Östaki tüpü yoluyla orta kulağa geçiş de mümkün olabilir (22). Çocuklarda Östaki tüpünün immatür yapısı ve nazofarenks ile orta kulak arası daha horizontal açılanması nedeniyle orta kulağa reflü ile mide içeriğinin geçişi daha kolay olmaktadır (129). Yapılan bir çalışmada çocuklarda orta kulak effüzyon materyalinde, serum düzeyinden daha yüksek konsantrasyonda pepsinojen ve pepsin tespit edilmiş olup orta kulakta bulunan mide sıvısının EOM patogenezinde rolü olabileceği düşünülmüştür (130). Reflü özofajiti patofizyolojisinde önemli rolü olduğu bilinen TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler (131) reflü sonucu Östaki tüpü ve orta kulak mukozasında gelişen inflamasyonda da rol almaktadır (124, 132, 133). Bu proinflamatuvar sitokinlerin sürecin devamında goblet hücrelerinden MUC1 ve MUC5AC gibi musin proteinlerinin üretimini tetiklediği bilinmektedir (23, 124, 133). *H. pylori* için midede başlıca reseptör görevi gören bu proteinler, orta kulakta da bu bakterinin kolonize olmasına olanak sağlayabilir (23, 124, 134). Bakterinin çoğalması için ihtiyacı olan mikroaerofilik ortam (%5 karbondioksit), orta kulakta ideal bir şekilde bulunmaktadır (22, 23). Ayrıca midede mukoza içerisine gömülerek lümenal taraftaki asidik pH'tan kaçan ve pH değeri 7.4 olan mukozal tarafta yaşayan bakteri, pH değeri 7.0-9.0 olan orta kulak effüzyonlarında viabilitesi için uygun benzer ortamı bulmaktadır (24, 25). Literatürde effüzyon örneklerinde, adenoid ve/veya tonsil dokularından daha yüksek oranlarda *H. pylori* tespit edilmesi, orta kulağın *H. pylori*'nin yaşaması için bu ideal şartlara sahip olmasına bağlanmakta, hatta miringotominin yüksek oksijen konsantrasyonu sağlayarak bu ortamı bozup bakterinin daha ileri kolonizasyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir (27, 124). Kolonize olup proliferasyona başlayan *H. pylori*'nin CagA ve VacA virülans alt üniteleri ile musin ekspresyonunu amplifiye ederek inflamasyonu daha da alevlendirebileceği öne sürülmektedir (23). Tüm bunların yanı sıra, *H. pylori*'nin sebep olduğu mide ve özofagus enfeksiyonlarında görülen mukozal metaplazi ve goblet

hücre proliferasyonu, EOM'da da benzer şekilde görülmektedir (27). Ayrıca hem gastrit ve özofajitte hem de EOM'da görülen inflamatuvar cevap lenfosit infiltrasyonu ile domine edilmektedir (27). İki hastalığın histopatolojisindeki bu benzerlik yine EOM patogenezinde *H. pylori* rolünü akla getirmektedir. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada orta kulak effüzyon örneklerinde *H. pylori* varlığı gösterilmiş olmakla birlikte bu bakterinin EOM patogenezinde rolü olup olmadığı net bir şekilde gösterilememiştir (33, 121, 122).

H. pylori enfeksiyonlarının tedavisinde kombine ilaçlar (proton pompa inhibitörü + klaritromisin + amoksisilin/veya metronidazol gibi) kullanılmaktadır. Klaritromisin ilk seçenek ilaç olarak kombinasyonda yerini almaktadır (135). Bununla birlikte, dünya genelinde %20'nin üzerine çıkarak küresel olarak artan klaritromisin direnci nedeniyle, birinci basamak tedavide klaritromisin üçlü tedavisinin eradikasyon oranı %80'in altındadır (136). Türkiye'de yapılmış olan bir kapsamlı meta-analiz çalışmasına göre 1059 *H. pylori* suşunun 425'inde (%24.864) klaritromisin direncinin olduğu rapor edilmiştir (28). Bu antibiyotiğe direnç tedavi başarısını önemli oranda olumsuz etkilemektedir. Uzun yıllar boyunca klaritromisin, *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisi için genellikle ilk basamak olarak kullanılmıştır. Klaritromisinin büyük ölçüde etkisiz kaldığı durumlarda, ikinci basamak tedavi seçeneği olarak bizmut sülfat ilaveli dörtlü tedavi veya levofloksasin üçlü tedavisi uygulanmaktadır (137). Klaritromisinin yaygın kullanımının sonucu olarak hastaların büyük bir kısmında klaritromisin dirençli *H. pylori*'nin neden olduğu enfeksiyonlar tespit edilmektedir. Klaritromisin dirençli suşların tamamına yakınında 23S ribozomal ribonükleik asit (rRNA) gen bölgesinin 2142. ve 2143. nükleotidlerinde A2142C/G ve A2143G değişimleri gözlenmektedir (28).

H. pylori enfeksiyonlarında önemli olan bazı virülans faktörleri bulunmaktadır. En önemli virülans faktörü *cagA* geni tarafından kodlanan CagA proteindir (30). Polimorfik bir protein olan CagA proteini immünojenik olup bakteri tarafından oluşturulduktan sonra tip IV sekresyon sistemi aracılığı ile konak epitel hücrelerinin içerisine zerk edilmektedir. Hücre içine aktarıldıktan sonra CagA'nın karboksi terminal ucunda lokalize olan "EPIYA tirozin rezüdü motifleri" (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala)'nde fosforilasyon olmaktadır (138). Fosforile CagA, fosfataz SHP-2 ile etkileşime girmekte, konak hücrede elongasyona ve "humming-bird" fenotipi gelişmesine sebep olmaktadır (139). EPIYA motiflerindeki varyasyonlar CagA büyüklüğünde değişmelere neden olmaktadır. Motiflerdeki aminoasit ve bitişik dizilimlerdeki sekans farklılığına göre A, B, C ve D olmak üzere dört EPIYA motifi tanımlanmıştır (31). Yakın zamanda, EPIYA motiflerinin patogeneizde önemli rol oynadığı ve bölgelere bağlı olarak bu motiflerde önemli farklılıklar olduğu gösterilmiştir (32, 140, 141). A ve B motifleri bütün izolatlarda bulunmaktadır, buna karşın motif C Batı suşlarında

(Western tip), D ise Asya suşlarında (Asian tip) gözlenmektedir (139). EPIYA C motifi tirozin fosforilasyon seviyesiyle ilişkili olarak farklı tekrarlar içermektedir. Bu nedenle yüksek seviyede EPIYA C tekrarları bulunduran Batı CagA suşları, bu tekrarı düşük seviyede bulunduranlara göre biyolojik olarak daha aktiftirler (142). Yapılan çalışmalarda iki veya daha fazla EPIYA C tekrarı bulunduran suşlarla enfekte olma durumunda gastrik kanser gelişme riskinin 32-51 kat arttığı rapor edilmiştir (143-146). EPIYA C motifinin aksine EPIYA D motifi nadir olarak ikili halde bulunmaktadır. EPIYA D motif aminoasit dizisinde değişiklikler olmaz. EPIYA D motifi, EPIYA C motifi ile karşılaştırıldığında, epitel hücrelerinde belirgin değişiklikleri indüklemek için daha güçlü yetenek ve daha yüksek bir morfogenetik aktiviteye sahiptir. Bunun sonucu olarak, CagA Asya suşları, CagA Batı suşlarına kıyasla daha karsinogeniktirler (147). Türkiye’de EPIYA motifleri komşu Batı suşlarına benzer paternde olup Doğu Asya’da sık izole edilen EPIYA D motifine rastlanmamıştır (148). Literatür verilerine bakıldığında çoğunlukla yetişkin hasta popülasyonunda *H. pylori* suşlarında direnç, virülans faktörleri ve nadir olarak EPIYA motif araştırmalarının olduğu görülmektedir (32, 105, 140, 141, 149, 150). EOM hastalarında *H. pylori*’nin incelendiği çalışmalar arasında bakterinin virülans faktörlerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. EPIYA motiflerinin, özellikle motifteki tekrar sayılarının artmasına paralel olarak biyolojik aktivitesi artan ve kanser geliştirme riskini artıran EPIYA C motifinin orta kulakta kolonizasyon ve/veya effüzyon gelişmesindeki rolü bugüne kadar çalışılmamış bir konudur.

H. pylori suşları arasındaki klonal ilişkinin araştırıldığı moleküler tiplendirme yöntemleriyle suşların DNA parmak izleri karşılaştırılarak ortak bir kaynaktan gelip gelmedikleri, epidemiyolojisi ve yayılma dinamiği hakkında önemli veriler elde edilmektedir. Klonal ilişkinin ortaya konulmasında polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP), değişken alanlı jel elektroforezi (pulsed field gel electrophoresis, PFGE), AP-PCR gibi yöntemler kullanılmıştır. AP-PCR kültüre gerek duymadan dokulardan ekstrakte edilmiş DNA üzerinden çalışmaya elverişli hızlı ve ucuz yöntemdir. Birçok bakteride olduğu gibi *H. pylori* suşlarının tiplendirilmesinde başarıyla kullanılabildiği gösterilmiştir (151). Türkiye’deki suşların klonal ilişkisini ortaya koymaya yönelik yayın bulunmamaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ETİK KURUL ONAYI ve PROJE DESTEĞİ

Çalışma protokolü İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 02.11.2022 tarihinde 2022/0631 karar numarası ile onaylanmış olup Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığının (TÜSEB) 31018 numaralı 2022-ACİL01(11.Dönem) projesi olarak desteklenmiş ve yürütülmüştür.

3.2. HASTALARIN SEÇİLMESİ ve ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Çalışma İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniğine 15.11.2022-01.11.2023 tarihleri arasında başvuran hastalar üzerinden prospektif bir vaka-kontrol çalışması olarak planlandı. Dahil edilecek çocukların yaş grubu, Amerikan Otolarengoloji-Baş Boyun Cerrahisi Akademisinin 2016 yılında güncellediği EOM yönetimi için klinik pratik kılavuzunun hedef yaş grubu olan 2 ay -12 yaş aralığı olarak belirlendi (90).

Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine başvuran belirtilen yaş grubundaki çocukların otoskopisinde unilateral veya bilateral effüzyon imajı, Tip B veya Tip C timpanogram sonucu ve saf ses odyometrisinde hava-kemik yolu aralığı 20 dB'in üzerinde olanlardan mukolitik tedavisi ve 3 aylık izlem sonucunda orta kulak effüzyonu sebat edip VT tatbiki kararı verilenler çalışma grubuna alındı. Yine aynı yaş grubundan polikliniğe başvuran çocuklardan fleksibl nazofarengoskopiye nazofarenksi sagittal planda %75 ve üzeri oranda tıkayan Grade 4 adenoid hipertrofisi olup adenoidektomi kararı verilen çocuklar da çalışmanın nazofarenks örnekleri ayağını oluşturmak için çalışmaya alındı (152, 153). Çalışma grubuna, unilateral veya bilateral kronik EOM nedeniyle cerrahi uygulanacak 100 çocuğun bir kulağından alınan effüzyon örnekleri dahil edildi. Bu 100 çocuktan yukarıda tanımlanan tıkaııcı etki nedeniyle aynı zamanda adenoidektomi de yapılırken alınan adenoid örnekleri birey içindeki kontrol grubunu (Kontrol 1) oluşturdu. Bireyler arası kontrol grupları olarak unilateral veya bilateral koklear implant ameliyatı gerçekleştirilecek ve orta

kulağı sağlıklı görünümde olan 100 çocuğun bir kulağından orta kulak örnekleri (Kontrol 2) ile yine yukarıda sayılan tıkalı etki nedeniyle adenoidektomi cerrahisi uygulanacak ancak EOM'u olmayan 100 çocuğun adenoid örnekleri (Kontrol 3) dahil edildi. Operasyon kararı verilerek çalışmaya dahil edilen çocukların operasyon öncesi en az 2 hafta antibiyoterapi almamış olmasına ve işlem sırasında akut üst solunum yolu enfeksiyonu veya akut otitis media geçiriyor olmamasına dikkat edildi. Ayrıca daha önce otolojik cerrahi, adenoidektomi veya tonsillotomi/tonsillektomi geçirenler; Down sendromu gibi kranyofasyal anomalilerle seyreden genetik sendromları olanlar veya yarı damak gibi anatomik problemleri olanlar; kronik medikal hastalık öyküsü olanlar; konka hipertrofisi veya nazal polip gibi havayolu tıkanıklığına sebep olan diğer farklı nedenlerin eşlik ettiği çocuklar çalışmadan çıkartıldı. Bu kriterlere uyan çocukların ebeveynlerinden çalışmaya katılmak için cerrahi öncesinde aydınlatılmış onam alındı.

Tüm cerrahiler genel anestezi altında ve steril şartlarda gerçekleştirildi. Örneklerin toplanıp saklanması için 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri kullanıldı. Orta kulak effüzyon örnekleri toplanırken, dış kulak yolunun povidon iyot ile yıkanmasının ardından timpanik membrana yapılan parasentez sonrasında glue karakterinde gelen mayi mikroaspiratör ucu ile toplandı ve 1 ml serum fizyolojik ile irriye edilen mikroaspiratör ucundan Eppendorf tüplerine steril bir şekilde aktarıldı. Adenoidektomi cerrahileri adenotom kullanılarak küretaj yöntemi ile gerçekleştirildikten sonra eksize edilen adenoid dokusundan 3 mm boyutunda parça ayrılarak 1 ml serum fizyolojik ile birlikte steril bir şekilde Eppendorf tüplerine alındı (Şekil 3.1). Örnek alınan tüpler 30 dakika içerisinde +4°C'de buzdolabına maksimum 3 saat süre ile geçici muhafaza için alındıktan sonra örnekler çalışılana kadar nihai muhafaza için -32°C'lik derin dondurucuya transfer edildi.



Şekil 3.1. İntraoperatif olarak Eppendorf tüplerine alınan adenoid doku örneği (sol) ile glue tarzındaki orta kulak effüzyon örneği (sağ).

Çalışmanın kontrol grubunun orta kulak ayağının, sağlıklı bireylerin kullanımının etik olarak problem oluşturmaması için, orta kulağa cerrahi olarak erişimin sağlandığı koklear implant cerrahisi geçirecek olan çocuklardan oluşturulmasına karar verildi. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları kliniğinde belirtilen çalışma süresi içerisinde koklear implantasyon yapılan yaşa göre çalışma gruplarına eşleştirilmiş 100 çocuğun ailelerinden aydınlatılmış onam alındıktan sonra, cerrahi sırasında sağlıklı orta kulağa sahip olduğu gözlenen çocukların orta kulak boşlukları serum fizyolojik ile irrigate edilerek irrigasyon solüsyonları 10 ml'lik enjektörler ile toplandı ve 1.5 ml'lik Eppendorf tüplerine steril bir şekilde aktarıldı. Operasyon sırasında orta kulak boşluklarında effüzyon olan veya hipertrofik mukozaya sahip olduğu görülen çocuklar çalışma kontrol grubuna dahil edilmedi. Tüplere alınan örnekler çalışılincaya dek, maksimum 3 saat süre ile geçici muhafaza için +4°C'de buzdolabına 30 dakika içerisinde alındıktan sonra -32°C'lik derin dondurucuya alınarak nihai olarak muhafaza edildi. Effüzyonsuz adenoidektomi cerrahilerinde operasyon yukarıda anlatılan yöntemle gerçekleştirildikten sonra çıkarılan adenoid dokusundan 3 mm boyutunda parça ayrılarak yine Eppendorf tüplerine steril olarak 1 ml serum fizyolojik ile birlikte alındı. Örnek alınan tüpler 30 dakika içerisinde +4°C'de buzdolabına maksimum 3 saat süre ile geçici muhafaza için alındıktan sonra örnekler çalışılana kadar nihai muhafaza için -32°C'lik derin dondurucuya transfer edildi.

Hedeflenen sayıda örneğin toplanmasının ardından, örnekler soğuk zincir koşullarında strafor kutu içerisinde kuru buz ile deneysel çalışmaların yapılacağı Ankara Diagen Biyoteknolojik Sistemler A.Ş. laboratuvarına gönderildi.

3.3. DNA İZOLASYONU

Orta kulak effüzyon sıvısı ile orta kulak irrigasyon sıvısı numunelerinden DNA izolasyonu DiaRex® Kandan Genomik DNA Ekstraksiyon Kiti (DiaRex® Blood Genomic DNA Extraction Kit, Katalog No: BLD-5295, Ankara) kullanılarak yapıldı. 200 µl sıvı numunesi temiz 1,5 ml tüpe alındı. Üzerine 250 µl Lizis (LBD) solüsyonu eklendi. Ardından 25 µl Proteinaz K (PKD) eklenerek, vortex ve spin ile lizat homojen hale getirildi. 56°C'de 15 dakika inkübasyon yapıldıktan sonra üzerine 250 µl mutlak etanol eklendi ve tüm içerik kolona aktarıldı. Kolon 8000 g x 1 dakika santrifüj yapıldı ve atık tüpü döküldü. Ardından kit protokolüne göre yıkamalar yapıldıktan sonra 100 µl Elüsyon (EBD) solüsyonu eklendi

ve 2 dakika inkübasyondan sonra 8000 g x 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edildi.

Adenoid doku numunelerinden DNA izolasyonu DiaRex® Dokudan Genomik DNA Ekstraksiyon Kiti (DiaRex® Tissue Genomic DNA Extraction Kit, Katalog No: TS-6826, Ankara) kullanılarak yapıldı. Önce 20-30 mg doku numunesi üzerine 250 µl Lizis (LBD) solüsyonu eklendi. Ardından üzerine 15 mg cam ve 10 adet zirkon boncuk eklenerek homojenizatör cihazında 4000 rpm 2 x 20 saniye uygulama yapıldı. Homojenizasyondan sonra üzerine 25 µl Proteinaz K (PKD) solüsyonu eklendi ve 56°C' de 30 dakika inkübasyon yapıldı. İnkübasyon sonunda tüm içerik 5000 g x 5 dakika santrifüj yapılarak süpernatant yeni tüpe aktarıldı. Lizat üzerine 250 µl mutlak etanol eklendi ve tüm içerik kolona aktarıldı. Kolon 8000 g x 1 dakika santrifüj yapıldı ve atık tüpü döküldü. Ardından kit protokolüne göre yıkamalar yapıldıktan sonra 100 µl Elüsyon (EBD) solüsyonu eklendi ve 2 dakika inkübasyondan sonra 8000 g x 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edildi.

3.4. *H. PYLORI* ve KLARİTROMİSİN DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Örneklerde *H. pylori* ve klaritromisin direnç varlığı DiaRD-HPykl RT-PCR kiti (DiaRD *H. pylori*-Klaritromisin direnç saptama RT-PCR kiti, Katalog No: DiaRD-HPykl, Diagen AŞ, Ankara, www.diagen.com.tr) kullanılarak araştırıldı.

DiaRD-HPykl RT-PCR kiti, *H. pylori* enfeksiyonu olan hastaların örneklerinden *H. pylori* DNA'sını ve bakterideki klaritromisin direncinden sorumlu 23S rRNA gen bölgesindeki A2142C/G ve A2143G mutasyonlarını tespit edebilmek için gerekli tüm bileşenleri bulunduracak şekilde geliştirilmiş kalitatif bir RT-PCR testidir. Kit içerisinde, *H. pylori* varlığını belirlemek için, 16S rRNA geni içerisindeki *H. pylori* için spesifik bölgenin amplifikasyonunu sağlayan primerler ile çoğalmayı saptayacak florofor boya ve baskılayıcı ile işaretli TaqMan probu bulunur. Ayrıca 23S rRNA bölgesinde klaritromisin direncinden sorumlu mutasyonları araştırmaya yönelik moleküler Beacon prob ve primerleri bulunur. Örnekte *H. pylori* spesifik DNA bulunması halinde uygulanmakta olan amplifikasyon programı süresince forward (ileri) ve reverse (geri) primerler ile hedef bölge çoğaltılır. Amplifikasyon aşamasında DNA polimeraz enziminin probu 5' uçlarından kesmesiyle bu uca bağlanmış olan floresan boya probun 3' ucundaki baskılayıcıdan kurtularak floresan verir. Oluşan floresan sinyalleri amplifikasyon süresince toplanır ve amplifikasyon grafikleri halinde rapor edilir. Moleküler Beacon prob, wild tip spesifik olarak tasarlanmış olduğundan klaritromisin duyarlı olan suşta bu prob için kullanılan boya kanalından sinyal alınırken,

mutasyon olan yani dirençli suşta sinyal alınmaz. Ayrıca kit kapsamında, olası PCR inhibitörlerin tespitini sağlamak için beta-aktin genini hedef alan primerler ve prob bulunur. Pozitif kontrol olarak *H. pylori* DNA yükü 1×10^2 kopya/ μ L olan örnek, negatif kontrol olarak steril PCR grade su bulunur (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. DiaRD-HPykl RT-PCR kiti.

Kit İçeriği	Tüp Sayısı	Tüp Rengi
<i>H. pylori</i> spesifik oligonükleotid miks	1	Kahverengi
qPCR master miks (2X)	1	Mavi
Pozitif kontrol-Standart eğri için	1	Sarı
Negatif kontrol	1	Beyaz

PCR Miks Hazırlanması	Kullanılacak Hacim
<i>H. pylori</i> spesifik oligonükleotid miks	5 μ L
qPCR master miks (2X)	10 μ L
Numune/Pozitif kontrol/Negatif kontrol	5 μ L
Final Hacim	20 μL

PCR Döngüsü	Sıcaklık	Süre	Notlar
1	95°C	10 dakika	Polimeraz aktivasyonu
50	95°C	15 saniye	Denatürasyon
	62°C	60 saniye	Bağlanma/Uzama ^a

HEX	<i>H. pylori</i> 16S rRNA geni
FAM	Klaritromisin
CY5	Aktin beta geni

^a HEX (Yellow Channel), FAM (Green Channel), CY5 (Red Channel) kanalları açık olmalıdır.

3.5. EPIYA MOTİFİ ARAŞTIRILMASI

EPIYA motiflerini kodlayan nükleotidlerin dizisi ve kodlanan motiflerin sayısını belirlemek için gerçekleştirilecek PCR’larda kullanılmak üzere Tablo 3.2’de gösterilen forward (cagA28F) ve reverse (cagA-P1C, cagA-P2CG, cagA-P2TA ve cagA-P3E) primerler belirlendi. EPIYA A için cagA28F-cagA-P1C primerleri, EPIYA B için cagA28F-

cagA-P2CG primerleri, EPIYA C için cagA28F-cagA-P2TA primerleri ve EPIYA D için cagA28F-cagA-P3E primerlerinin kullanılması planlandı (140, 148). Bunların dışında *cagA* gen bölgesi için alternatif primerler yine Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. EPIYA motifi araştırmasında kullanılması planlanan primerler.

Primer	Primer Dizisi (5’-3’)	Özellik
cagA28F	TTCTCAAAGGAGCAATTGGC	EPIYA A, B, C, D
cagA-P1C	GTCCTGCTTTCTTTTATTAACCTTKAGC	EPIYA A
cagA-P2CG	TTTAGCAACTTGAGCGTAAATGGG	EPIYA B
cagA-P2TA	TTTAGCAACTTGAGTATAAATGGG	EPIYA C
cagA-P3E	ATCAATTGTAGCGTAAATGGG	EPIYA D
cag2 ^a	GGAACCCTAGTCGGTAATG	Alternatif primer
cag4 ^a	ATCTTTGAGCTTGTCTATCG	Alternatif primer
cagTF ^b	ACCCTAGTCGGTAATGGG	Alternatif primer
cagTR ^b	GCTTTAGCTTCTGAYACYGC	Alternatif primer

^a (Rudi ve ark. 1998, Talarico ve ark. 2018)

^b (Rodríguez ve ark. 2020)

Amplifikasyon için, 95°C ‘de 2 dakikalık başlangıç denatürasyonunu takiben 50 siklus halinde 95°C’de 30 saniyelik denatürasyon, 57°C’de 45 saniyelik bağlanma ve 72°C’de 35 saniyelik uzama basamaklarının uygulanması ve 72°C’de 5 dakika ile son uzamanın tamamlanması tasarlandı. Elde edilen PCR ürünü %1.5’lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulduktan sonra oluşan bantların büyüklükleri ve sayılarına göre EPIYA motiflerinin belirlenmesi planlandı (140). PCR amplikon uzunluğundan EPIYA C tekrar sayılarını doğrulamak için sekanslama yapılmasına karar verildi. Bunun için jelde birden fazla bant olan örneklerde jelden DNA saflaştırmasını takiben Sanger sekanslama uygulanması planlandı (139).

Yukarıda açıklanan yöntemde net sonuçların alınamadığı durumlarda B planı olarak Tabloda 3.2’de verilen *cagA* forward (cag2) ve reverse (cag4) primerleri kullanılarak *cagA* geninin PCR ile amplifikasyonunun yapılmasına karar verildi. Uzunluğu 550-800 baz çifti uzunluğunda olması beklenen amplifikasyon ürünlerinin Sanger sekanslama yöntemiyle baz diziliminin elde edilmesi planlandı. PCR amplifikasyonun 100 ng *H. pylori* DNA’sı, 0.3 µM forward/reverse primerleri, 1 U *Taq* DNA polimeraz enzimi içeren 2X PCR Master Mix (Promega, Madison, USA, worldwide.promega.com) içerisinde yapılmasına karar verildi. Amplifikasyon koşulları, 95°C’de 10 dakikalık başlangıç denatürasyonunu takiben 40 siklus

halinde uygulanacak olan 95°C'de 30 saniye, 52.3°C'de 30 saniye ve 72°C'de 36 saniye aşamaları ve ardından 72°C'de 5 dakika ilave uzama aşaması olarak belirlendi. PCR amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek bant görüntüleri alındıktan sonra jelde birden fazla bant gözlenmesi durumunda her bir bandın görüldüğü bölgeden jel kesilerek Eppendorf tüplere konulması planlandı (139). Jelden DNA ekstraksiyon kiti olarak Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System Kit (Promega, Madison, USA, worldwide.promega.com) kullanılarak DNA'nın ekstrakte edilmesine karar verildi. Saflaştırılan DNA konsantrasyonu UV spektrofotometre ile ölçüldükten sonra Sanger sekans yapıp elde edilen dizilerin analizi yapılarak EPIYA motiflerin belirlenmesi hedeflendi (139, 140).

3.6. AP-PCR

Hasta örneklerinde saptanan *H. pylori* DNA'ları arasındaki klonal ilişkinin AP-PCR yöntemi kullanılarak araştırılması planlandı. AP-PCR için kullanılacak primerler, P1254 (5'-CCGCAGCCAA-3') ve P1290 (5'-GTGGATGCGA-3') olarak belirlendi (151). 2X PCR Master Mix kiti (Cat. No./ ID: 201443, Qiagen®, Venlo, The Netherlands, www.qiagen.com), 3 mM MgCl₂, 20 pmol primer kullanılarak PCR reaksiyonunun gerçekleştirilmesine karar verildi. Amplifikasyon için Rotor-Gene Q cihazı (Cat. No./ ID: 9001862, Qiagen®, Venlo, The Netherlands, www.qiagen.com) kullanılması planlandı. PCR reaksiyonunun 94°C'de 5 dakika, 36°C'de 5 dakika ve 72°C'de 5 dakikanın tekrarı ile ilk 4 döngü, ardından 94°C'de 1 dakika ve 36°C'de 1 dakikanın tekrarı ile 30 döngü ve ilave olarak 72°C'de 2 dakika ek uzama yapılarak gerçekleştirilmesi tasarlandı (151). Elde edilen PCR ürününün %1 agaroz jelde analiz edilmesi planlandı.

3.7. İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmadaki tanımlayıcı istatistikler sayı (n), yüzde (%) ve medyan (aralık, minimum değer-maksimum değer) olarak hesaplandı. Test-tekrar test korelasyonu Pearson r ile sunuldu. Kruskal-Wallis, ANOVA, Pearson Ki-kare (χ^2) ve Fisher's exact testlerinin, çalışma ve kontrol gruplarında *H. pylori* pozitiflik oranları, klaritromisin direnç oranları, EPIYA motiflerinin dağılımı, kümeleşme oranlarının karşılaştırmasında ve anlamlı farklılıkların tespitinde kullanılması planlandı (32, 145). EOM ve kontrol gruplarında EPIYA C tekrar sayısı arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon katsayısı ile hesaplanmasına ve 0.05'ten küçük *p* değerlerinin anlamlı kabul edilmesine karar verildi.

Hesaplama da %95 CI ve 1.000 tekrarlı Bootstrap parametrelerinin kullanılmasına karar verildi. İstatistiksel işlemlerin STATA 14 ile gerçekleştirilmesi planlandı (139).

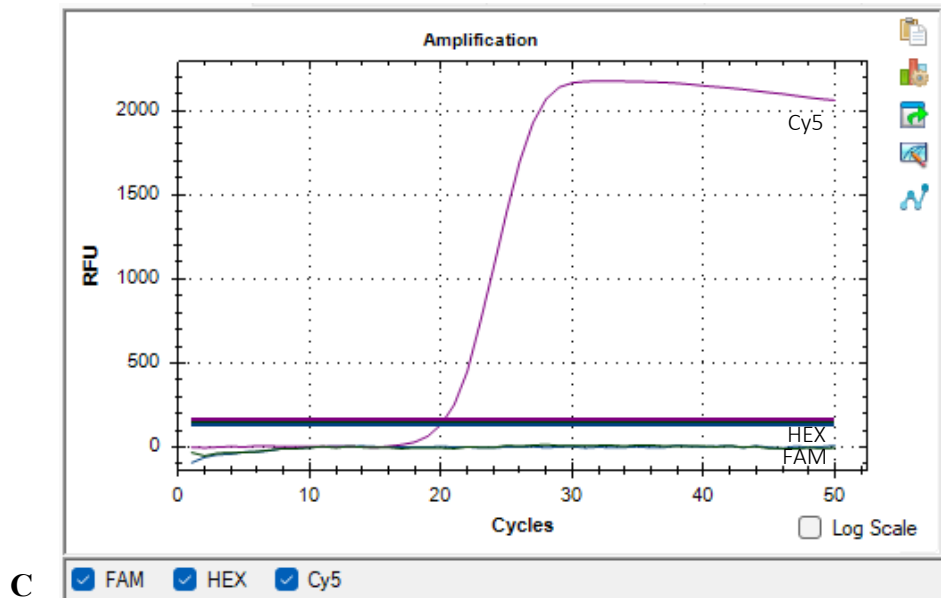
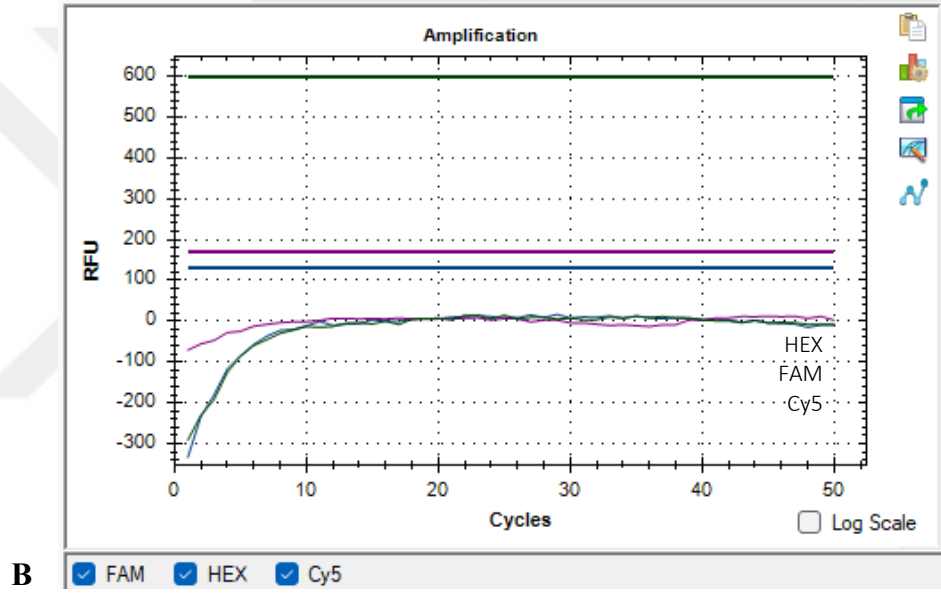
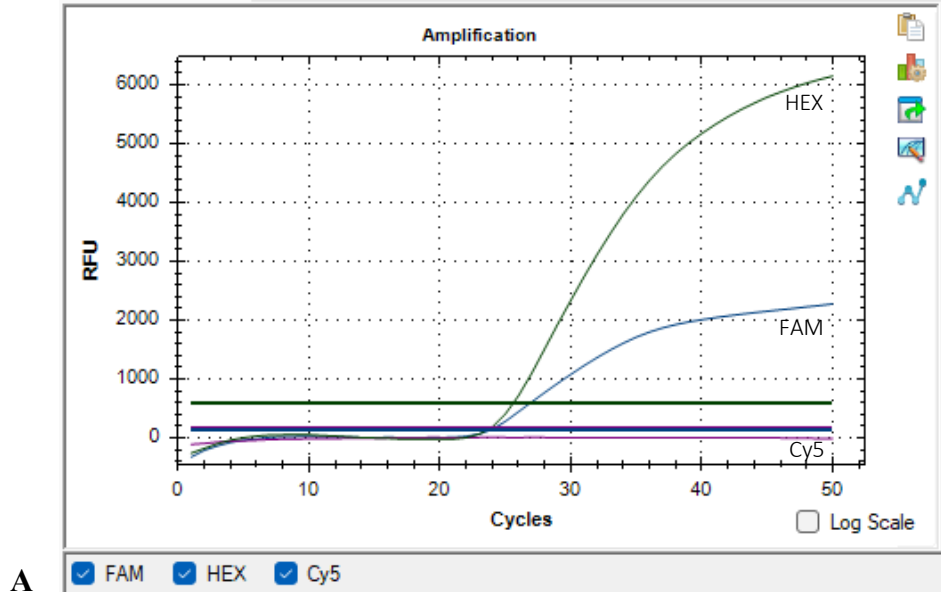


4. BULGULAR

Çalışma için planlanan süre içerisinde kriterleri karşılayan toplam 300 ardışık çocuk hasta çalışmaya dahil edildi. Bu çocukların medyan yaşı 5 (aralık, 1-12) olup 179'u (%59.7) erkek ve 121'i (%40.3) kız idi. Çalışma grubu ve Kontrol 1 grubunu oluşturan eşzamanlı VT tatbiki ve adenoidektomi operasyonu geçiren 100 çocuğun medyan yaşı 5 (aralık, 1-10) olup bu çocukların 60'ı erkek 40'ı kız idi. Koklear implant cerrahisi geçiren Kontrol 2 grubundaki 59 erkek ve 41 kızdan oluşan 100 çocuğun medyan yaşı 3 (aralık, 1-11) ve sadece adenoidektomi operasyonu geçiren Kontrol 3 grubundaki 60 erkek ve 40 kızdan oluşan 100 çocuğun medyan yaşı 6 (aralık, 3-12) idi. Çalışma için orta kulak örnekleri alınan çocukların dahil edilen kulak tarafları rastgele olarak seçildi. Çalışma grubundaki 100 effüzyon örneğinin 43'ü sağ kulak ve 57'si sol kulak, Kontrol 2 grubundaki 100 orta kulak irrigasyon sıvısının 52'si sağ kulak ve 48'i sol kulaktan alındı.

Araştırma kapsamında Çalışma grubu (n=100), Kontrol 1 grubu (n=100), Kontrol 2 grubu (n=100) ve Kontrol 3 grubundan (n=100) oluşan çalışılması gereken toplam 400 örnek için DNA izolasyonlarının ardından RT-PCR çalışmaları tamamlandı ve örneklerin hiçbirinde (%0) *H. pylori* saptanmadı (Tablo 4.1). Pozitif kontrol, negatif kontrol ve test sonucu negatif olan klinik örnek floresan sinyal analizi sonuç görselleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Sonuçların güvenilirliğini en üst düzeye çıkarmak amacıyla test-tekrar test yöntemi kullanıldı. Bunun için örneklerin yarısı rastgele olarak seçilerek ikinci defa test edildi ve yapılan bu testlerde de örneklerin hiçbirinde (%0) *H. pylori* saptanmayarak aynı sonuçlar elde edildi (test-tekrar test korelasyonu $r=1.00$).

H. pylori ve klaritromisin direnç genlerinin araştırılmasında pozitif sonuç alınamadığı için çalışmada yapılması planlanan EPIYA motif çalışmaları ve AP-PCR ile klonal ilişki araştırmalarına geçilemedi.



Şekil 4.1. Örnek sonuç görselleri: A) Pozitif kontrol sonucu; B) Negatif kontrol sonucu; C) Test sonucu negatif klinik örnek (HEX kanalı: *H. pylori*; FAM kanalı: *H. pylori* klaritromisin direnci; Cy5 kanalı: internal kontrol; RFU = Relative fluorescence units).

Tablo 4.1. Sonuçlar (N/A=Not applicable).

Sıra No	Numune Tipi	Ekstraksiyon Tipi	Elüsyon Hacmi	DNA Ekstraksiyon Kit Adı	Katalog No	PCR Kit Adı	Aktin Beta CY5	Klaritromisin FAM	H. pylori HEX
1	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
2	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	18,2	N/A	N/A
3	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,5	N/A	N/A
4	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,2	N/A	N/A
5	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,2	N/A	N/A
6	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
7	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,2	N/A	N/A
8	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
9	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
10	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
11	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,3	N/A	N/A
12	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,9	N/A	N/A
13	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,9	N/A	N/A
14	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
15	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,9	N/A	N/A
16	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
17	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,9	N/A	N/A
18	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,8	N/A	N/A
19	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
20	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	25,2	N/A	N/A
21	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,3	N/A	N/A
22	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
23	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
24	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
25	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
26	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	31,7	N/A	N/A
27	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
28	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
29	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	25,3	N/A	N/A
30	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
31	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	33,0	N/A	N/A
32	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
33	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

34	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
35	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
36	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,7	N/A	N/A
37	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
38	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
39	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	27,6	N/A	N/A
40	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,4	N/A	N/A
41	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,7	N/A	N/A
42	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
43	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,6	N/A	N/A
44	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,5	N/A	N/A
45	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
46	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
47	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,6	N/A	N/A
48	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
49	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,5	N/A	N/A
50	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,5	N/A	N/A
51	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
52	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
53	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,9	N/A	N/A
54	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
55	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
56	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
57	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
58	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,9	N/A	N/A
59	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
60	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,5	N/A	N/A
61	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,9	N/A	N/A
62	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,6	N/A	N/A
63	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
64	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,8	N/A	N/A
65	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
66	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,8	N/A	N/A
67	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

68	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	35,8	N/A	N/A
69	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
70	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
71	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,0	N/A	N/A
72	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
73	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,4	N/A	N/A
74	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
75	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
76	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
77	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,0	N/A	N/A
78	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,5	N/A	N/A
79	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,4	N/A	N/A
80	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,3	N/A	N/A
81	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
82	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
83	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,8	N/A	N/A
84	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	25,2	N/A	N/A
85	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
86	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
87	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,2	N/A	N/A
88	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,3	N/A	N/A
89	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
90	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
91	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
92	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
93	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,2	N/A	N/A
94	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,5	N/A	N/A
95	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,0	N/A	N/A
96	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,6	N/A	N/A
97	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
98	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
99	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,9	N/A	N/A
100	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,9	N/A	N/A
101	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,3	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

102	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
103	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
104	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,5	N/A	N/A
105	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
106	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,1	N/A	N/A
107	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,3	N/A	N/A
108	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,2	N/A	N/A
109	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,7	N/A	N/A
110	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
111	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,1	N/A	N/A
112	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	25,1	N/A	N/A
113	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,5	N/A	N/A
114	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	32,4	N/A	N/A
115	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,7	N/A	N/A
116	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A
117	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A
118	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
119	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,4	N/A	N/A
120	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,7	N/A	N/A
121	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
122	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
123	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
124	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,1	N/A	N/A
125	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
126	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
127	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,4	N/A	N/A
128	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
129	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
130	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,3	N/A	N/A
131	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
132	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,9	N/A	N/A
133	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,1	N/A	N/A
134	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,9	N/A	N/A
135	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,0	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

136	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,2	N/A	N/A
137	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,7	N/A	N/A
138	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,0	N/A	N/A
139	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,1	N/A	N/A
140	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
141	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,9	N/A	N/A
142	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,3	N/A	N/A
143	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,5	N/A	N/A
144	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,2	N/A	N/A
145	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,1	N/A	N/A
146	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,0	N/A	N/A
147	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,4	N/A	N/A
148	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
149	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,7	N/A	N/A
150	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,2	N/A	N/A
151	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,3	N/A	N/A
152	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,8	N/A	N/A
153	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
154	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
155	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,9	N/A	N/A
156	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,9	N/A	N/A
157	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
158	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,8	N/A	N/A
159	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,8	N/A	N/A
160	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,0	N/A	N/A
161	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,4	N/A	N/A
162	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,5	N/A	N/A
163	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,5	N/A	N/A
164	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,5	N/A	N/A
165	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,3	N/A	N/A
166	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
167	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
168	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,1	N/A	N/A
169	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

170	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
171	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,7	N/A	N/A
172	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,2	N/A	N/A
173	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A
174	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,5	N/A	N/A
175	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,3	N/A	N/A
176	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,6	N/A	N/A
177	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	23,9	N/A	N/A
178	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,4	N/A	N/A
179	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
180	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
181	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,2	N/A	N/A
182	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,9	N/A	N/A
183	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,0	N/A	N/A
184	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,8	N/A	N/A
185	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,5	N/A	N/A
186	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,4	N/A	N/A
187	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
188	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
189	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A
190	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,5	N/A	N/A
191	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,2	N/A	N/A
192	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,2	N/A	N/A
193	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,6	N/A	N/A
194	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	26,0	N/A	N/A
195	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	21,3	N/A	N/A
196	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,7	N/A	N/A
197	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
198	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,3	N/A	N/A
199	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	19,5	N/A	N/A
200	Adenoid Doku	DNA	100	DiaRex Doku Kit	TS-6826	DiaRD-Hpykl	20,3	N/A	N/A
201	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,8	N/A	N/A
202	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,5	N/A	N/A
203	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,1	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

204	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,5	N/A	N/A
205	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,9	N/A	N/A
206	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,4	N/A	N/A
207	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,2	N/A	N/A
208	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,4	N/A	N/A
209	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,4	N/A	N/A
210	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,1	N/A	N/A
211	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,1	N/A	N/A
212	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,3	N/A	N/A
213	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A
214	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,7	N/A	N/A
215	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,4	N/A	N/A
216	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,5	N/A	N/A
217	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,1	N/A	N/A
218	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,8	N/A	N/A
219	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,1	N/A	N/A
220	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,9	N/A	N/A
221	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,8	N/A	N/A
222	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,2	N/A	N/A
223	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,4	N/A	N/A
224	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,4	N/A	N/A
225	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,5	N/A	N/A
226	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,0	N/A	N/A
227	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,0	N/A	N/A
228	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	31,3	N/A	N/A
229	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,8	N/A	N/A
230	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,1	N/A	N/A
231	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,8	N/A	N/A
232	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,6	N/A	N/A
233	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,0	N/A	N/A
234	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,1	N/A	N/A
235	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,4	N/A	N/A
236	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	34,2	N/A	N/A
237	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,6	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

238	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,3	N/A	N/A
239	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,8	N/A	N/A
240	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,3	N/A	N/A
241	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,7	N/A	N/A
242	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,8	N/A	N/A
243	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A
244	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,0	N/A	N/A
245	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
246	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
247	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,5	N/A	N/A
248	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,3	N/A	N/A
249	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,6	N/A	N/A
250	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,9	N/A	N/A
251	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,6	N/A	N/A
252	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,8	N/A	N/A
253	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
254	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,7	N/A	N/A
255	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,2	N/A	N/A
256	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,1	N/A	N/A
257	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,1	N/A	N/A
258	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,8	N/A	N/A
259	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
260	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,6	N/A	N/A
261	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
262	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
263	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
264	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,3	N/A	N/A
265	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,4	N/A	N/A
266	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,6	N/A	N/A
267	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,0	N/A	N/A
268	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
269	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,0	N/A	N/A
270	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
271	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,0	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

272	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A
273	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,1	N/A	N/A
274	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,6	N/A	N/A
275	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,7	N/A	N/A
276	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,0	N/A	N/A
277	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,6	N/A	N/A
278	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
279	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,8	N/A	N/A
280	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,1	N/A	N/A
281	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,7	N/A	N/A
282	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,8	N/A	N/A
283	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,5	N/A	N/A
284	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,8	N/A	N/A
285	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
286	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	21,0	N/A	N/A
287	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,3	N/A	N/A
288	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,4	N/A	N/A
289	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,9	N/A	N/A
290	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,1	N/A	N/A
291	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
292	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,0	N/A	N/A
293	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,7	N/A	N/A
294	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
295	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
296	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,9	N/A	N/A
297	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,6	N/A	N/A
298	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,9	N/A	N/A
299	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
300	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,5	N/A	N/A
301	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,9	N/A	N/A
302	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,7	N/A	N/A
303	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,8	N/A	N/A
304	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,1	N/A	N/A
305	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,3	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

306	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,1	N/A	N/A
307	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,8	N/A	N/A
308	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,7	N/A	N/A
309	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,9	N/A	N/A
310	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,2	N/A	N/A
311	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,8	N/A	N/A
312	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,1	N/A	N/A
313	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,1	N/A	N/A
314	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,5	N/A	N/A
315	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,3	N/A	N/A
316	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
317	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,7	N/A	N/A
318	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,3	N/A	N/A
319	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,0	N/A	N/A
320	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,1	N/A	N/A
321	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,0	N/A	N/A
322	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,4	N/A	N/A
323	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,2	N/A	N/A
324	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,0	N/A	N/A
325	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,4	N/A	N/A
326	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,3	N/A	N/A
327	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,9	N/A	N/A
328	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,2	N/A	N/A
329	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,1	N/A	N/A
330	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,2	N/A	N/A
331	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	31,2	N/A	N/A
332	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,6	N/A	N/A
333	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,7	N/A	N/A
334	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,3	N/A	N/A
335	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,7	N/A	N/A
336	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,0	N/A	N/A
337	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,2	N/A	N/A
338	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,5	N/A	N/A
339	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

340	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A
341	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,6	N/A	N/A
342	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,5	N/A	N/A
343	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,1	N/A	N/A
344	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,3	N/A	N/A
345	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,2	N/A	N/A
346	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,3	N/A	N/A
347	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,7	N/A	N/A
348	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,5	N/A	N/A
349	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,5	N/A	N/A
350	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,1	N/A	N/A
351	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,8	N/A	N/A
352	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,7	N/A	N/A
353	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,9	N/A	N/A
354	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,9	N/A	N/A
355	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,8	N/A	N/A
356	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,2	N/A	N/A
357	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,0	N/A	N/A
358	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,1	N/A	N/A
359	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,1	N/A	N/A
360	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,8	N/A	N/A
361	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,3	N/A	N/A
362	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	31,2	N/A	N/A
363	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,5	N/A	N/A
364	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,3	N/A	N/A
365	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,5	N/A	N/A
366	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,6	N/A	N/A
367	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	22,0	N/A	N/A
368	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,6	N/A	N/A
369	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,0	N/A	N/A
370	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,4	N/A	N/A
371	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,1	N/A	N/A
372	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,5	N/A	N/A
373	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A

Tablo 4.1. (Devam) Sonuçlar (N/A=Not applicable).

374	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,8	N/A	N/A
375	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,4	N/A	N/A
376	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,5	N/A	N/A
377	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,2	N/A	N/A
378	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,5	N/A	N/A
379	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,0	N/A	N/A
380	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,0	N/A	N/A
381	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,3	N/A	N/A
382	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,3	N/A	N/A
383	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,4	N/A	N/A
384	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,6	N/A	N/A
385	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,3	N/A	N/A
386	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	25,5	N/A	N/A
387	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,7	N/A	N/A
388	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,5	N/A	N/A
389	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,3	N/A	N/A
390	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	27,8	N/A	N/A
391	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,3	N/A	N/A
392	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	30,1	N/A	N/A
393	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,1	N/A	N/A
394	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,1	N/A	N/A
395	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,4	N/A	N/A
396	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	28,7	N/A	N/A
397	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	24,9	N/A	N/A
398	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	23,6	N/A	N/A
399	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	26,4	N/A	N/A
400	Orta Kulak Sıvısı	DNA	100	DiaRex Blood Kit	BLD-5295	DiaRD-Hpykl	29,5	N/A	N/A

5. TARTIŞMA

EOM patogeneğinde *H. pylori*'nin rolünü aydınlatmak amacıyla literatürde ilk defa en spesifik yöntemleri bir araya getirerek detayları adım adım planlanmış olan bu çalışmada, toplanan orta kulak sıvısı ve adenoid doku örneklerinin tamamında *H. pylori* için RT-PCR analizleri negatif olarak sonuçlandı. Çalışılan 400 örnekte elde edilen bu sonuç literatürde halen tartışmalı olan bu konuya açıklık getirme bakımından son derece önemlidir. Bu sonuçlarla artık orta kulak sıvısında ve adenoid dokuda *H. pylori* bakterisi yoktur argümanı savunulabilecektir. Dolayısıyla *H. pylori* bakterisinin başta EPIYA faktörleri olmak üzere birtakım virölans faktörlerinin bu hastalık sürecinde etkili olabileceği fikri de bu çalışma ile son bulmuştur.

Literatürde farklı yöntemler kullanılarak bakteri varlığı araştırılan çalışmalarda orta kulak örneklerinde %0'dan %70'e kadar değişen oranlarda *H. pylori* pozitifliği saptanırken (22, 23, 26, 27, 118, 121-128) adenoid dokuda benzer şekilde %0'dan %64'e kadar değişen oranlarda *H. pylori* tespit edilmiştir (19, 22, 23, 27, 119-122). Yapılan çalışmaların bazılarında EOM örneklerinde *H. pylori*'nin gösterilmiş olması, bu bakterinin patogeneşte rolü olduğunu söyleyebilmek için yeterli bir argüman olamadığı gibi yine çalışmaların bazılarında adenoid dokuda *H. pylori*'nin gösterilmesi adenoidin bu bakteri için ekstragastrik bir niş olduğu fikrini kanıtlamak için de yeterli değildir (27, 33). Orta kulak effüzyonları ve adenoid dokulardaki *H. pylori* pozitifliğinin şimdiye kadar yapılmış bu çalışmalarda hiç saptanmamasından büyük oranda saptanmasına kadar birbirinden uzak ve değişken sonuçların elde edilmesi, bu çalışmaların çoğunda metodolojik farklılıkların ve kısıtlamaların bulunmasıyla açıklanabilir.

Literatüre bakıldığında EOM örneklerinde *H. pylori* araştırması yapan çalışmalar toplamda 15 hastadan en fazla 132 hastaya kadar değişen sayıda hastanın örneğini çalışmalarına dahil ederken (124, 154) bakteri varlığının adenoid dokuda da araştırıldığı çalışmalar ise 18 hastadan 84 hastaya kadar değişen sayıda hastanın örneğini çalışmıştır (120, 122). Bu çalışmaya ise toplamda 300 çocuk hasta dahil edildi ve bu çocuklardan alınan 200 adet orta kulak sıvısı örneği ile 200 adet adenoid doku örneğinden oluşan toplam 400 örnek çalışıldı. Bu bağlamda, şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalarda dahil edilen hasta sayılarının ve dolayısıyla örnek sayılarının rölatif olarak az olduğu görülmektedir.

Literatürdeki meta-analizlerdekine benzer genişlikte örneklem büyüklüğüne sahip olan bu çalışma (33, 155), orta kulak ve adenoid dokuda *H. pylori*'yi araştıran şimdiye kadarki en geniş örnekleme sahip çalışma olarak öne çıkmaktadır.

Literatürdeki çalışmaların bazıları kesitsel çalışmalar olarak planlanmış olup kontrol grubu barındırmamaktadır (125, 127, 154, 156). Çalışmaların bir kısmı ise kontrol grubu barındırsa bile bunlarda yaşa göre eşleştirilmiş kontrol grubu sadece adenoid doku örnekleri olarak bulunup (23, 29, 128) orta kulak örnekleri için bir kontrol grubu nadiren ve oldukça kısıtlı bir örneklem ile bulunmaktadır (119). Bu çalışmada ise, çalışma grubunu oluşturan orta kulak effüzyon örnekleri için her biri 100 örnekten oluşan 3 ayrı kontrol grubu oluşturuldu. Birey içindeki kontrol grubunu effüzyon örneği alınan çocukların adenoid doku örnekleri oluşturdu. Bireyler arası kontrol gruplarını ise sağlıklı orta kulağa erişimin sağlandığı koklear implant cerrahisi geçiren çocukların intraoperatif olarak alınan orta kulak irrigasyon sıvıları ve adenoidektomi cerrahisi geçiren sağlıklı orta kulağa sahip çocukların adenoid dokuları oluşturdu. Bu çalışma her 3 kontrol grubunu bir arada ve bu kadar geniş örneklem büyüklüğünde içermesiyle literatürde bu özellikteki tek çalışmadır.

İnsan vücudundan alınan biyolojik materyallerde bakteri varlığının araştırılması birçok yöntemle mümkündür. *H. pylori* bakterisini sıvı veya doku formundaki bu materyallerde araştırmak için rutin histolojik boyamalar, immünohistokimya, enzime bağlı immünosorban yöntem (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), kültür, *Campylobacter* benzeri mikroorganizma testi (*Campylobacter*-like organism test, CLO testi) veya diğer ismiyle hızlı üreaz testi (rapid urease test, RUT) ve PCR testleri kullanılmıştır (27, 29, 117, 120, 125, 126, 128, 154, 157, 158). Rutin ve immünohistokimyasal boyamalarda gram negatif kıvrımlı veya spiral bakterilerin görülmesi *H. pylori* lehine yorumlanır (154). Kültür, canlı organizmanın varlığını gösterebilme ve bunların antimikrobial duyarlılığını belirleyebilme yönüyle ön plana çıkan bir yöntem olsa da bakteriye özel koşullar gerektirdiğinden ve süreye ihtiyaç duyduğundan nispeten zor olup aynı verileri daha yüksek hassasiyetle verebilen güncel moleküler yöntemler mevcuttur (29, 33). CLO testi duyarlılık ve özgüllüğü nispeten yüksek olan güvenli, ucuz ve kolay uygulanabilir bir testtir (27). CLO testinde üreaz enzim aktivitesi ölçülerek bakterinin varlığı hakkında yorum yapılır ancak testin pozitiflik oranı üreaz üreten canlı bakterinin yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (17). Ayrıca ortam şartlarının değişmesine bağlı olarak üreaz üretebilen diğer *Helicobacter* türleri veya *Campylobacter* türleri gibi *Helicobacter* benzeri organizmaların yoğunluğunun artması sonucu çapraz reaktivite görülüp yanlış pozitiflikler saptanabileceğinden testin özgüllüğü ideal düzeyde değildir (118). Şimdiye kadar yapılan bazı çalışmalarda bu nedenlerden dolayı doğru sonuçlara

ulaşmak amacıyla bu testler birlikte kullanılarak veriler değerlendirilmiş ancak birbirlerinden oldukça farklı sonuçlar elde edilmiştir (154, 159). Göreceli düşük duyarlılığı olan bu tanısal testlerin kullanıldığı çalışmaların yanı sıra bakterinin kendine özgü genetik materyalinin tespitini sağlayan PCR yöntemini kullanan çalışmalar da yapılmıştır. PCR yöntemiyle düşük sayıdaki mikroorganizmalar bile hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilebilmektedir. Biyolojik örneklerde *H. pylori*'nin saptanmasında ve kantifikasyonunda neredeyse %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan tek yöntem RT-PCR yöntemidir ve jel analizi gerektirmeyerek kapalı sistem içerisinde gerçekleştirilen bu yöntemle klasik PCR'dan daha hızlı ve hassas sonuçlar elde edilir (126, 160). *H. pylori*'nin tespiti için PCR analizlerinde bakterinin üreaz genleri, adezyon molekül alt ünite genleri, 26 kDa SSA geni, CagA geni, 16s rRNA veya 23s rRNA genleri kullanılabilir. Seçilen hedef gen ve bunun için kullanılan primerlere göre PCR performansı etkilenebilmektedir.

Park ve ark. (128) CLO ve PCR testlerini birlikte kullanarak çalıştıkları orta kulak effüzyon örneklerinin 1/3'ünde *H. pylori* tespit etmiştir. Fancy ve ark. (121) 82 çocuk dahil ederek yaptıkları çalışmada yine orta kulak effüzyon örneklerinin sadece 1/3'ünde bakteri tespit etmiştir. Fancy ve ark. bu çalışmada örneklerde *H. pylori*'nin SSA genine yönelik PCR analizi yapmıştır. Yılmaz ve ark. (23) 2005'te 18 çocuk üzerinde yaptıkları çalışmalarında RT-PCR yöntemiyle bakterinin 23s rRNA genini hedeflemiş ve çocukların yarısından fazlasında orta kulak effüzyon örneğinde *H. pylori* pozitifliği tespit etmiştir. Karlıdağ ve ark. (127) yine 2005'te yaptıkları bir çalışmada orta kulak effüzyonlarında *H. pylori* varlığını PCR ile göstermişler ve 38 çocuktan alınan 55 orta kulak effüzyon örneğinin %16'ısında *H. pylori* pozitifliği bildirmişlerdir. Yazarlar metodolojilerinde tüm örneklerin steril şartlarda toplandığını belirtmekle birlikte her deneyde referans bir *H. pylori* suşu ile pozitif kontrol ve negatif kontrol kullanıldığını ve pozitif sonuçlanan örneklerin tekrar test edilerek doğrulama yapıldığını ifade etmişlerdir. Karlıdağ ve ark. çalışmalarında *H. pylori*'nin tespiti için *UreC* genine ait primerler kullanmıştır. Literatürde *H. pylori* bakterisi için *UreC* ve 26 kDa SSA genlerinden daha duyarlı ve özgül gen bölgeleri olduğu bildirilmiştir (161,162). Ayrıca 23s rRNA gen bölgesinde mutasyonlar olarak dirençli suşlar gelişebileceği ve bunların tespitinde 23s rRNA genine yönelik yuvalanmış PCR (nested PCR) yönteminin ELISA ve kültür ile benzer duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (163, 164). Melake ve ark.'nın (29) 60 çocuk üzerinde kültür ve PCR yöntemlerini kullanarak yaptığı çalışmasında, PCR ile kültüre kıyasla anlamlı olarak daha yüksek oranlarda pozitiflik elde edilmiştir. Yazarlar bu PCR çalışmalarında özgüllüğünden dolayı *Urease A* genini hedefleyen primerler kullandıklarını ifade etseler de üreaz genlerinin sonradan tespit edilen kültüre edilememiş *Helicobacter* türleri ile çapraz reaksiyon gösterebileceğini bildiren

alışmalar da mevcuttur (165). Aynı bakteri için farklı primerler kullanıldığında farklı pozitiflik oranlarının elde edilmesi, popölasyondaki bazı suşlardaki gen polimorfizmi de göz önüne alındığında, kullanılan primerlerin hassasiyetinin değişiklik göstermesine bağlı olabilir. *H. pylori*'ye ait gen bölgelerinin tespiti için kullanılan primerlerin popölasyondaki *H. pylori* suşlarına spesifikliği detaylıca ortaya konulmadan, *Helicobacter* benzeri organizmalar ile muhtemel bir çapraz reaksiyon olmadığını kesin olarak söylemek mümkün değildir. Literatürde bildirilmiş olan ve kullanılan tekniğin detaylarına göre değişen bu oranların yanında, bu çalışmada 100 orta kulak effüzyonu ve 100 sağlıklı orta kulak irrigasyon sıvısı örneklerinin hiçbirinde *H. pylori* saptanmadı. Çalışmada *H. pylori* için hedef gen olarak yüksek spesifiteye sahip 16s rRNA geni ile klaritromisin direncinin görüldüğü 23s rRNA geni birlikte kullanıldı ve konvansiyonel PCR'lardan daha gelişmiş bir yöntem olan RT-PCR ile analizler yapıldı (166, 167).

Karlıdağ ve ark.'nın (127) alışmasından kısa bir süre sonra Yılmaz ve ark. (119) 42 çocukta yaptıkları bir araştırmada kültür ve konvansiyonel PCR yöntemlerini beraber kullanmış ve PCR analizlerinde *H. pylori*'nin 16s rRNA gen bölgesini hedeflemişlerdir. Çalışma sonucunda EOM tanılı çocukların orta kulak ve adenoid örneklerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek oranda *H. pylori* bulmuşlardır. alışmalarında farklı olarak her çocukta genel anestezi indüksiyonu sonrası operasyona başlamadan orogastrik sonda ile mideden lavaj örnekleri almışlar ve EOM tanılı çocukların bu örneklerde daha yüksek oranda *H. pylori* ile enfekte olduğunu bulmuşlardır. Melake ve ark. da (29) benzer şekilde orta kulakta *H. pylori* saptadıkları hastaların tümünde aldıkları gastrik lavaj örneklerinde de *H. pylori* pozitifliği saptamışlardır. Mide sıvısındaki *H. pylori* pozitifliği ile adenoid ve orta kulak örneklerindeki *H. pylori* pozitifliğinin bu şekilde yüksek korelasyonu, bakterinin gastroözofageal ve farengeal reflü sonucu mide içeriği ile birlikte bu bölgelere ulaşıp tespit edilebildiğini düşündürmektedir. Poelmans ve ark. (168) EOM tanılı hastaların tamamında objektif olarak reflü varlığını göstermiştir. Boronat-Echeverria ve ark. (125) da 50 çocuğun effüzyon örneklerinde ELISA ve yine 16s rRNA'nın hedeflendiği PCR ile yaptıkları *H. pylori* araştırmasında bu çocuklarda gastroözofageal reflüyü saptamak için bir klinik tanı anketi uygulamış ve effüzyon örneklerinde oldukça düşük oranda pozitiflik elde etmelerinin yanında bu pozitiflik ile gastroözofageal reflü semptomları arasında şiddetli bir korelasyon tespit etmişlerdir. şu anki çalışmada, 16s rRNA ve 23s rRNA gen bölgesine yönelik RT-PCR yöntemi kullanılarak analiz edilen 400 örneğin hiçbirinde *H. pylori*'nin bulunmadığı gösterildi. Bu veriler göz önüne alındığında, *H. pylori*'nin EOM patogenezi ve hastalığın klinik seyri ile bağlantılı olduğu yargısına ulaşmak yanlış yönde yorumlanmış bir argüman olup bakterinin hastalık patogenezinin bağımsız olarak belirgin düzeylerde

farengeal reflü sonucu adenoid ve orta kulakta tespit edilebileceği yorumunu yapmak daha sağduyulu bir argüman olacaktır (169). Tanıda kullanılan benzer araçların yıllar içindeki teknolojik gelişimiyle elde edilen sonuçlarda farklılıkların görülebileceği elbette ki ilk planda akılda tutulmalıdır. Ancak çalışmaya alınan çocuklarda farengeal reflü düzeylerindeki farklılıkların da sonuçların farklı çıkmasını açıklayabileceği fikri üzerinde düşünülebilir bir soru olarak bir kenarda tutulabilir.

H. pylori'nin EOM patogeneğinde ön planda aktif olarak rol almadığı görüşünü destekleyen farklı kulvarda yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Ayçiçek ve ark. (170) bu konuyu temel düzeyde aydınlatmak için tavşanlar üzerinde bir hayvan deneyi yürütmüştür. Çalışma sonucunda *H. pylori*'nin normal bir orta kulakta inflamasyon başlatmadığı ancak inflame kulakta var olan bir inflamasyonu ağırlaştırabileceği ve kendi replikasyonunu kolaylaştırabileceği gösterilmiştir.

H. pylori'yi 300 çocuğa ait 400 orta kulak ve adenoid örneğinde 16s rRNA ve 23s rRNA genine yönelik RT-PCR ile çalışıp örneklerin hiçbirinde saptamayan şu anki çalışmanın sonuçları ile benzer sonuçlara ulaşan bir çalışma Jeyakumar ve ark.'nın (26) 48 çocukta 16s rRNA geninin amplifikasyonu ile yaptığı PCR analizinde effüzyon örneklerinin hiçbirinde *H. pylori* bulmadıkları çalışmadır. *H. pylori*'nin ülke popülasyonunda düşük prevalansa sahip olduğu bilinen Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bu çalışmada, bu duruma paralel olarak gaita örneklerinde sadece 1 çocukta *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Literatürdeki diğer gelişmekte olan veya endemik ülkelerde bildirilen pozitiflik oranları dikkate alındığında, bir gelişmiş ülke olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde *H. pylori*'nin pediatrik popülasyonda EOM gelişiminde bir rolü olmadığı savunulmuştur. Ancak literatürde orta kulak örneklerinde %0'dan %70'e kadar değişen pozitiflik oranları bulunması nedeniyle, bakterinin yüksek insidans ve prevalansa sahip olduğu diğer popülasyonlarda EOM sürecinde rolü olabileceği yorumu yapılmıştır.

Khasawneh ve ark.'nın (124) pediatrik ve erişkin yaş grubunu içeren 132 hastadan alınan 167 örneği inceleyerek yaptıkları şimdiye kadar literatürdeki en geniş örnekleme sahip olan çalışmasında, effüzyon örneklerinin hiçbirinde *UreaC* genine yönelik RT-PCR analizinde *H. pylori* saptanmamıştır. Yazarlar sonuçların doğruluğu için kullandıkları kitte pozitif kontrol, negatif kontrol ve internal kontrolün bulunduğunu ve bunların sonuç verilerini metodolojilerinde paylaşmışlardır. Literatürde en yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip yöntem olan RT-PCR analiziyle elde edilen bu sonuçlar son derece değerli olup şimdiki çalışmanın sonuçlarıyla da uyumluluk göstermektedir. Çalışmanın *H. pylori* prevalansının düşük olduğu gelişmiş bir ülke olan İtalya'da yapıldığı dikkati çekmektedir. Yazarlar da ülkelerindeki yüksek hijyen ve sağlık koşulları, sosyoekonomik düzey ve

antibiyotik erişiminin, ülke popülasyonlarında fekal-oral yolla bulaşan bu bakteriye olan maruziyeti azaltıp gastrik *H. pylori* taşıyıcılık prevalansını azalttığına dikkat çekmiştir. Bununla birlikte gelişmiş ülkelerde erken tanı ve agresif eradikasyon tedavilerine ulaşım bakterinin orta kulağa yayılımının önüne geçebilmektedir. Yazarlar çalışmalarında dahil ettikleri hasta yaş grubunu kısıtlamadıklarından örneklemelerinin ülke popülasyonunu temsil ettiğini belirtmişlerdir. Çalışmada kontrol grubunun olmaması bu çalışmadaki en önemli kısıtlılık olarak bildirilmiştir. Tüm bunların yanında, çalışma eşzamanlı olarak gastroözofageal reflü varlığını da değerlendirmeye almasıyla öne çıkmaktadır. Çalışmada hastalar reflü semptomları sorgulanarak reflü semptom indeksi ile değerlendirilmiş ve hastalara midede *H. pylori* varlığını belirlemek için üre nefes testi yapılmıştır. Dahil edilen hastaların %13'ünde üre nefes testi pozitif olup midede *H. pylori* enfeksiyonu bulunmuştur. Tüm değerlendirmeler sonucunda da EOM hastalarının 1/3'ünde gastroözofageal reflü saptanmıştır. Sonuç olarak yazarlar Tasker ve ark.'nın (130) da savunduğu gibi EOM ile farengeal reflünün ilişkisinin olabileceğini ancak *H. pylori*'nin EOM'un patogenetik sürecinde direkt bir rolünün olmadığı sonuçlarına varmışlardır.

Gastroözofageal ve farengeal reflü, EOM için tetikleyici olabilir. Wu ve ark.'nın (155) toplamda 300 çalışma ve 300 kontrol olgusu içeren ve CLO, PCR ve RT-PCR testlerinin kullanıldığı 9 çalışmayı derlediği makalesinde de Afrikalı ve Asyalı pediatrik popülasyonlarda effüzyon ve adenoid örneklerinde *H. pylori*'nin bulunabildiği bildirilmişken, beyaz ırkta bulunmadığı bildirilmiş ancak bunun için özellikle bu popülasyonlarda ileride daha çok çalışma yapılması gerektiği yorumu yapılmıştır.

Jeyakumar ve ark. (26) ile Khasawneh ve ark.'nın (124) yapmış oldukları çalışmaların yanında, şimdiki çalışmanın sonuçlarını destekleyecek sonuçlar elde etmiş bir çalışma da Shishegar ve ark.'nın (123) İran'da yaptıkları 21 hastadan alınan 40 effüzyon örneğinin hiçbirinde *H. pylori* saptamadıkları çalışmadır. Bu çalışmada örnekler üreaz genleri hedeflenerek PCR analizi ile değerlendirilmiştir. Yazarlar bu negatif sonuç için, *H. pylori*'nin effüzyonda serbest yüzen formda bulunmayıp Post'un (171) belirttiği gibi mukozada bakteriyel biyofilm olarak bulunabilmesinin bir sebep olabileceğini düşünmüştür. Çalışmada adenoid doku incelenmediğinden orta kulak ile adenoidin kıyaslaması yapılamamıştır. Bitar ve ark. (120) kültür, CLO testi ve PCR testi ile hem orta kulak hem adenoid örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada tüm örneklerde *H. pylori*'ye yönelik PCR sonucu negatif olduğundan çocuklarda *H. pylori*'nin EOM'da rolü olmadığı ve adenoidin de rezervuar görevi görmediği sonucuna varmışlardır. Bununla birlikte Sudhoff ve ark. (33) yaptıkları derlemede "*H. pylori*'ye bağlı EOM gelişebilir" diyebilmek için kanıtların oldukça yetersiz olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmalar ışığında, *H. pylori* farengeal

reflü ile orta kulağa ulaşsa bile *H. pylori*'nin orta kulak fizyolojisini etkileyecek aktiflikte canlı kalamadığını söylemek yanlış olmayacaktır. Ayrıca kronik EOM hastalarının orta kulağının pH'ı 7.0 ila 9.0 arasında değişen hafif alkali ortamı sanıldığına aksine *H. pylori*'nin canlı kalabilmesi için belki de ideal ortam şartı olmayabilir. *H. pylori* bakterisi üre varlığında asidofil bir bakteri olup pH değeri 4'ün altındaki ortamlarda ürettiği üreaz enzimi sayesinde yaşayabilmektedir. Bakteri üre yokluğunda ise nötrofilik bir organizma olarak davranır ve pH değeri 4.0 ila 7.0 aralığındaki ortamlarda yaşayabilir (172). Normal orta kulak ve Östaki tüpü mukozasında çeşitli aquagliseroporin kanallarının eksprese edildiği farklı çalışmalarda gösterilmiş olup bu kanalların fonksiyonlarındaki değişimler sonucu geçirdikleri su, elektrolit ve diğer maddelerin konsantrasyonlarında değişiklikler olmakta, kronik otit ve effüzyonların gelişiminde bu kanallar rol oynayabilmektedir (173). Bu kanallar suyun yanında aynı zamanda gliserol, karbondioksit, amonyak ve üre gibi eriyiklerin geçişine izin verir. Buradan yola çıkarak orta kulakta bulunması muhtemel üre nedeniyle asidofil olarak davranmak isteyecek olan *H. pylori*'nin hafif alkali olan orta kulak ortamında yaşamını sürdüremeyeceği düşünülebilir.

Literatürde şimdiye kadar yapılmış olan birçok farklı çalışma ile EOM gelişim sürecinde *H. pylori* için adenoid dokunun bir rezervuar görevi görebileceği hipotezi araştırılmış ve pek çok çalışmada elde edilen veriler bu hipotezden uzaklaştırıcı yönde olmuştur. Fancy ve ark. (121) 82 çocuğun örnekleri ile gerçekleştirdikleri PCR analizinde EOM tanılı çocukların adenoid dokularının 1/6'sında *H. pylori* pozitifliği bulurken EOM tanısı olmayan çocukların adenoid dokularının 1/4'ünde *H. pylori* pozitifliği bulmuş ve aralarında anlamlı fark olmayan bu düşük pozitiflik oranları ile "*H. pylori* bu bölgelerde patogenetik süreçlerde rol oynar" şeklinde bir yorumun yapılamayacağı sonucuna varmışlardır. Kaymakçı ve ark. (126) sınırlı bir örneklem üzerinde *UreC* genini amplifiye ederek gerçekleştirdikleri RT-PCR analizi sonucunda adenoid doku örneklerinin %10'una yakınında *H. pylori* saptamalarına rağmen bakterinin adenoid hipertrofisi gelişiminde rolü olabileceğini söylemek için farklı metodlar ile çok daha geniş boyutta çalışmaların yapılması gerektiği yorumunu yapmışlardır. Yine Damghani ve ark.'nın (22) 50 hastada orta kulak effüzyonu ve adenoid doku örneklerinde PCR ile yaptıkları araştırmada effüzyonlarda yüksek oranda *H. pylori* saptanmasına karşılık adenoidlerde yok denecek kadar az oranda bakteri bulunması nedeniyle, adenoidler *H. pylori* için kronik bir istasyon olmaktan ziyade Östaki tüpü aracılığıyla orta kulak boşluğuna faringeal reflü ile erişen ve içinde *H. pylori* bakterisi de bulunan mide içeriğinin bypass ettiği bir doku olarak yorumlanmıştır. Yılmaz ve ark. (23) 23S rRNA genini hedefledikleri RT-PCR çalışmasında adenoid hipertrofisi olan 38 çocuğun hiçbirinin adenoid doku örneğinde *H. pylori* tespit etmemiş ve bu sonuçları ile

adenoid dokunun *H. pylori* için rezervuar görevi görmediği savını desteklemişlerdir. Jelavic ve ark. (169) yaptıkları derleme incelemesinin sonunda da bakterinin nazofarenkste ve diğer baş boyun bölgelerinde gastroözofageal reflü sonucu aslında sadece bir ekilmeye uğrayıp tesadüfen tespit edilebildiğini ve otolarenkolojik hastalıklarda patolojik bir rolü bulunmadığını özetlemişlerdir. Toplamda 300 çocuk hasta dahil edilerek 200 adet orta kulak sıvısı örneği ve 200 adet adenoid doku örneğinin 16s rRNA geni ve 23s rRNA genleri hedeflenerek RT-PCR ile analiz edildiği şimdiki çalışmada da hiçbir effüzyon örneğinde bakteri saptanmadığı gibi hiçbir adenoid örneğinde de bakterinin tespit edilmemiş olmasıyla yukarıda tartışılan çalışmaları destekleyen sonuçlar elde edildi. Bu derecede geniş örnekleme elde edilen bu verilerin desteği ile *H. pylori*'nin, EOM'un veya EOM'da bir rezervuar olarak adenoid hipertofisinin gelişimi sırasındaki patogenetik süreçlerin dışında kaldığı artık çok daha rahatlıkla söylenebilecektir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Orta kulak effüzyonlarının etkin olarak tedavi edilebilmesi için hastalığın patogenetik süreci hakkında fikir sahibi olmak son derece önemlidir. Oldukça geniş bir hasta popülasyonu üzerinde en güncel moleküler teknoloji yöntemleri kullanılarak yapılan bu çalışmada orta kulak sıvıları ve adenoid doku örneklerinin hiçbirinde *H. pylori* saptanmaması, EOM patogenezindeki polimikrobial süreç içerisinde bu bakterinin sorumlu bir patojen olarak yer almadığını gösterdi. Bu konu ile ilgili ileride yapılacak olan çalışmalarda farklı etiyolojik faktörler ve ajanlar üzerine yoğunlaşılması, kaynakların daha doğru yönde kullanılmasını sağlayarak klinik pratiğe katkısı olabilecek sonuçlar elde edilmesine olanak sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

1. Maw R, Wilks J, Harvey I, Peters TJ, Golding J. Early surgery compared with watchful waiting for glue ear and effect on language development in preschool children: a randomised trial [published correction appears in *Lancet* 1999 Oct 16;354(9187):1392]. *Lancet*. 1999;353(9157):960-963. doi:10.1016/S0140-6736(98)05295-7.
2. Aarhus L, Tambs K, Kvestad E, Engdahl B. Childhood Otitis Media: A Cohort Study With 30-Year Follow-Up of Hearing (The HUNT Study). *Ear Hear*. 2015;36(3):302-308. doi:10.1097/AUD.0000000000000118.
3. Bluestone CD. Current concepts in eustachian tube function as related to otitis media. *Auris Nasus Larynx*. 1985;12 Suppl 1:S1-S4. doi:10.1016/s0385-8146(85)80083-3.
4. Bluestone C, Klein J. *Otitis Media in Infants and Children*. 4th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2001.
5. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science*. 1999;283(5409):1837-1839. doi:10.1126/science.283.5409.1837.
6. Van Hoecke H, De Paepe AS, Lambert E, et al. *Haemophilus influenzae* biofilm formation in chronic otitis media with effusion. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(11):3553-3560. doi:10.1007/s00405-016-3958-9.
7. Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA*. 2006;296(2):202-211. doi:10.1001/jama.296.2.202.
8. Rayner MG, Zhang Y, Gorry MC, Chen Y, Post JC, Ehrlich GD. Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *JAMA*. 1998;279(4):296-299. doi:10.1001/jama.279.4.296.
9. Ari O, Karabudak S, Kalcioğlu MT, Gunduz AY, Durmaz R. The bacteriome of otitis media with effusion: Does it originate from the adenoid?. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2019;126:109624. doi:10.1016/j.ijporl.2019.109624.
10. Korona-Glowniak I, Wisniewska A, Juda M, Kielbik K, Niedzielska G, Malm A. Bacterial aetiology of chronic otitis media with effusion in children - risk factors. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;49(1):24. Published 2020 Apr 29. doi:10.1186/s40463-020-00418-5.
11. Chan CL, Wabnitz D, Bardy JJ, et al. The microbiome of otitis media with effusion. *Laryngoscope*. 2016;126(12):2844-2851. doi:10.1002/lary.26128.
12. Farajzadah Sheikh A, Saki N, Roointan M, et al. Identification of *Alloiococcus otitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae* in Children With Otitis Media With Effusion. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(3):e17985. Published 2015 Mar 21. doi:10.5812/jjm.17985.
13. Kalcioğlu MT, Oncel S, Durmaz R, Otlı B, Mıman MC, Özturan O. Bacterial etiology of otitis media with effusion; focusing on the high positivity of *Alloiococcus otitidis*. *New Microbiol*. 2002;25(1):31-35.
14. Hoa M, Tomovic S, Nistico L, et al. Identification of adenoid biofilms with middle ear pathogens in otitis-prone children utilizing SEM and FISH. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009;73(9):1242-1248. doi:10.1016/j.ijporl.2009.05.016.
15. Thorell K, Lehours P, Vale FF. Genomics of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2017;22 Suppl 1:10.1111/hel.12409. doi:10.1111/hel.12409.
16. Ozyurt M, Gungor A, Ergunay K, Cekin E, Erkul E, Haznedaroglu T. Real-time PCR detection of *Helicobacter pylori* and virulence-associated *cagA* in nasal polyp and Laryngeal disorders. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;141:131---5.
17. Morinaka S, Ichimiya M, Nakamura H. Detection of *Helicobacter pylori* in nasal and maxillary sinus specimens from patients with chronic sinusitis. *Laryngoscope*. 2003 Sep;113(9):1557-63. doi: 10.1097/00005537-200309000-00027.
18. Desai HG, Gill HH, Shankaran K, Mehta PR, Prabhu SR. Dental plaque: a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*? *Scand J Gastroenterol*. 1991 Nov;26(11):1205-8. doi: 10.3109/00365529108998615.

19. Unver S, Kubilay U, Sezen OS, Coskuner T. Investigation of *Helicobacter pylori* colonization in adenotonsillectomy specimens by means of the CLO test. *Laryngoscope*. 2001 Dec;111(12):2183-6. doi: 10.1097/00005537-200112000-00021.
20. Tba M, Fawaz S, Osman H. *Helicobacter pylori* and its role in vocal folds minimal lesions. *Clin Respir J*. 2010;4:237---40.
21. Aygenc E, Selcuk A, Celikkanat S, Ozbek C, Ozdem C. The role of *Helicobacter pylori* infection in the cause of squamous cell carcinoma of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001 Nov;125(5):520-1. doi: 10.1067/mhn.2001.119438.
22. Damghani MA, Dehghan E. Is there any association between *Helicobacter pylori* and otitis media with effusion? *Braz J Otorhinolaryngol*. 2020 Mar-Apr;86(2):217-221. doi: 10.1016/j.bjorl.2018.11.002.
23. Yilmaz MD, Aktepe O, Cetinkol Y, Altuntaş A. Does *Helicobacter pylori* have role in development of otitis media with effusion? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2005 Jun;69(6):745-9. doi: 10.1016/j.ijporl.2004.12.009.
24. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002;347:1175---86.
25. Tasker A, Dettmar PW, Panetti M, Koufman JA, P Birchall J, Pearson JP. Is gastric reflux a cause of otitis media with effusion in children? *Laryngoscope*. 2002;112:1930---4.
26. Jeyakumar A, Bégué RE. Otitis Media with Effusion and *Helicobacter pylori*. *OTO Open*. 2018 Jul 26;2(3):2473974X18792489. doi: 10.1177/2473974X18792489.
27. Agirdir BV, Bozova S, Derin AT, Turhan M. Chronic otitis media with effusion and *Helicobacter pylori*. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006 May;70(5):829-34. doi: 10.1016/j.ijporl.2005.09.026.
28. Kocazeybek B, Tokman HB. Prevalence of Primary Antimicrobial Resistance of *H. pylori* in Turkey: A Systematic Review. *Helicobacter*. 2016;21:251-60.
29. Melake NA, Shaker GH, Salama MA. Incidence of *Helicobacter pylori* infection and their clarithromycin-resistant strains in otitis media with effusion regarding phenotypic and genotypic studies. *Saudi Pharm J*. 2012 Oct;20(4):345-53. doi: 10.1016/j.jsps.2012.02.004.
30. Piazuolo MB, Epplen M, Correa P. Gastric cancer: an infectious disease. *Infect Dis Clin North Am*. 2010;24:853-69, vii.
31. Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, et al. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:14428-33.
32. Khaledi M, Bagheri N, Validi M, et al. Determination of CagA EPIYA motif in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with digestive disorder. *Heliyon*. 2020;6:e04971.
33. Sudhoff H, Rajagopal S, Baguley DM, Ebmeyer J, Schmelzer A, Schreiber S, Moffat DA. A critical evaluation of the evidence on a causal relationship between *Helicobacter pylori* and otitis media with effusion. *J Laryngol Otol*. 2008 Sep;122(9):905-11. doi: 10.1017/S0022215107000989.
34. King PF. The Eustachian tube and its significance in flight. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1979;93(7):659-678. doi:10.1017/S0022215100087533.
35. Bluestone CD, Doyle WJ. Anatomy and physiology of eustachian tube and middle ear related to otitis media. *J Allergy Clin Immunol*. 1988;81(5 Pt 2):997-1003. doi:10.1016/0091-6749(88)90168-6.
36. Garnett MR, Puget S, Grill J, Sainte-Rose C. Craniopharyngioma. *Orphanet J Rare Dis*. 2007;2:18. Published 2007 Apr 10. doi:10.1186/1750-1172-2-18.
37. Nibu Y, José-Edwards DS, Di Gregorio A. From notochord formation to hereditary chordoma: the many roles of Brachyury. *Biomed Res Int*. 2013;2013:826435. doi:10.1155/2013/826435.
38. Philpott CM, Selvadurai D, Banerjee AR. Paediatric retropharyngeal abscess. *J Laryngol Otol*. 2004;118(12):919-926. doi:10.1258/0022215042790538.
39. Serindere G, Gunduz K, Avsever H, Orhan K. The anatomical and measurement study of Rosenmüller fossa and oropharyngeal structures using cone beam computed tomography. *Acta Clin Croat*. 2022;61(2):177-184. doi:10.20471/acc.2022.61.02.02.
40. Bylander A, Tjernström O. Changes in Eustachian tube function with age in children with normal ears. A longitudinal study. *Acta Otolaryngol*. 1983;96(5-6):467-477. doi:10.3109/00016488309132733.

41. Miyahara H, Matsunaga T. Tornwaldt's disease. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1994;517:36-39. doi:10.3109/00016489409124336.
42. Mawson SR. Middle ear effusions: definitions. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1976;85(2 Suppl 25 Pt 2):12-14. doi:10.1177/00034894760850S203.
43. National Institute for Health and Clinical Excellence. Surgical management of otitis media with effusion in children. NICE Clinical Guideline 60. Developed by the National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. 2008. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG60NICEguideline.pdf>. Accessed 11 Aug 2023.
44. Winther B, Doyle WJ, Alper CM. A high prevalence of new onset otitis media during parent diagnosed common colds. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006;70(10):1725-1730. doi:10.1016/j.ijporl.2006.05.011.
45. Rosario DC, Mendez MD. Chronic Suppurative Otitis. In: StatPearls. NCBI Bookshelf version. StatPearls Publishing; 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532270>. Accessed 11 Aug 2023.
46. Blanc F, Ayache D, Calmels MN, et al. Management of otitis media with effusion in children. Société française d'ORL et de chirurgie cervico-faciale clinical practice guidelines. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2018;135(4):269-273. doi:10.1016/j.anorl.2018.04.008.
47. Mazer BD. Otitis media. In: Leung DYM, Szefer SJ, Bonilla FA, Akdis CA, Sampson HA, editors. *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. 3rd ed. USA: Elsevier; 2016. p: 219-27. doi: 10.1016/B978-0-323-29875-9.00025-2.
48. Roberts DG, Johnson CE, Carlin SA, Turczyk V, Karnuta MA, Yaffee K. Resolution of middle ear effusion in newborns. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1995;149(8):873-877. doi:10.1001/archpedi.1995.02170210047008.
49. Casselbrant ML, Mandel EM, Rosenfeld RM, Bluestone CD. Evidence-based otitis media. *Epidemiology.* 2003;3:147-62.
50. Kalciglu MT, Sallavaci S, Hrnčić N, et al. Prevalence of and factors affecting otitis media with effusion in children in the region from Balkans to Caspian basin; A multicentric cross-sectional study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2021;143:110647. doi:10.1016/j.ijporl.2021.110647.
51. Maris M, Wojciechowski M, Van de Heyning P, Boudewyns A. A cross-sectional analysis of otitis media with effusion in children with Down syndrome. *Eur J Pediatr.* 2014;173(10):1319-1325. doi:10.1007/s00431-014-2323-5.
52. Flynn T, Möller C, Jönsson R, Lohmander A. The high prevalence of otitis media with effusion in children with cleft lip and palate as compared to children without clefts. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2009;73(10):1441-1446. doi:10.1016/j.ijporl.2009.07.015.
53. Magro I, Pastel D, Hilton J, Miller M, Saunders J, Noonan K. Developmental Anatomy of the Eustachian Tube: Implications for Balloon Dilation. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2021;165(6):862-867. doi:10.1177/0194599821994817.
54. Li JD, Hermansson A, Ryan AF, et al. Panel 4: Recent advances in otitis media in molecular biology, biochemistry, genetics, and animal models. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;148(4 Suppl):E52-E63. doi:10.1177/0194599813479772.
55. Spilsbury K, Miller I, Semmens JB, Lannigan FJ. Factors associated with developing cholesteatoma: a study of 45,980 children with middle ear disease. *Laryngoscope.* 2010;120(3):625-630. doi:10.1002/lary.20765.
56. Djurhuus BD, Christensen K, Skytthe A, Faber CE. The impact of ventilation tubes in otitis media on the risk of cholesteatoma on a national level. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;79(4):605-609. doi:10.1016/j.ijporl.2015.02.005.
57. Folino F, Ruggiero L, Capaccio P, et al. Upper Respiratory Tract Microbiome and Otitis Media Intertalk: Lessons from the Literature. *J Clin Med.* 2020;9(9):2845. Published 2020 Sep 2. doi:10.3390/jcm9092845.
58. Westerberg BD, Kozak FK, Thomas EE, Blondel-Hill E, Brunstein JD, Patrick DM. Is the healthy middle ear a normally sterile site?. *Otol Neurotol.* 2009;30(2):174-177. doi:10.1097/MAO.0b013e31819225a0.
59. Fagö-Olsen H, Dines LM, Sørensen CH, Jensen A. The Adenoids but Not the Palatine Tonsils Serve as a Reservoir for Bacteria Associated with Secretory Otitis Media in Small Children. *mSystems.* 2019;4(1):e00169-18. Published 2019 Feb 12. doi:10.1128/mSystems.00169-18.

60. Fergie N, Bayston R, Pearson JP, Birchall JP. Is otitis media with effusion a biofilm infection?. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 2004;29(1):38-46. doi:10.1111/j.1365-2273.2004.00767.x.
61. Belfield K, Bayston R, Birchall JP, Daniel M. Do orally administered antibiotics reach concentrations in the middle ear sufficient to eradicate planktonic and biofilm bacteria? A review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;79(3):296-300. doi:10.1016/j.ijporl.2015.01.003.
62. He Z, O'Reilly RC, Bolling L, et al. Detection of gastric pepsin in middle ear fluid of children with otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;137(1):59-64. doi:10.1016/j.otohns.2007.02.002.
63. Formánek M, Zeleník K, Komínek P, Matoušek P. Diagnosis of extraesophageal reflux in children with chronic otitis media with effusion using Peptest. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;79(5):677-679. doi:10.1016/j.ijporl.2015.02.013.
64. Miura MS, Mascaro M, Rosenfeld RM. Association between otitis media and gastroesophageal reflux: a systematic review. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;146(3):345-352. doi:10.1177/0194599811430809.
65. Pau BC, Ng DK. Prevalence of otitis media with effusion in children with allergic rhinitis, a cross sectional study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2016;84:156-160. doi:10.1016/j.ijporl.2016.03.008.
66. Kwon C, Lee HY, Kim MG, Boo SH, Yeo SG. Allergic diseases in children with otitis media with effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77(2):158-161. doi:10.1016/j.ijporl.2012.09.039.
67. Kreiner-Møller E, Chawes BL, Caye-Thomasen P, Bønnelykke K, Bisgaard H. Allergic rhinitis is associated with otitis media with effusion: a birth cohort study. *Clin Exp Allergy.* 2012;42(11):1615-1620. doi:10.1111/j.1365-2222.2012.04038.x.
68. Luong A, Roland PS. The link between allergic rhinitis and chronic otitis media with effusion in atopic patients. *Otolaryngol Clin North Am.* 2008;41(2):311-vi. doi:10.1016/j.otc.2007.11.004.
69. Alles R, Parikh A, Hawk L, Darby Y, Romero JN, Scadding G. The prevalence of atopic disorders in children with chronic otitis media with effusion. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12(2):102-106. doi:10.1046/j.0905-6157.2000.00008.x.
70. Simpson SA, Lewis R, van der Voort J, Butler CC. Oral or topical nasal steroids for hearing loss associated with otitis media with effusion in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;2011(5):CD001935. Published 2011 May 11. doi:10.1002/14651858.CD001935.pub3.
71. Kubba H, Swan IR, Gatehouse S. Measuring quality of life in preschool children with sore throats and otitis media using the TAPQOL questionnaire. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;132(4):647-652. doi:10.1016/j.otohns.2005.01.028.
72. Luotonen M, Uhari M, Aitola L, Lukkaronen AM, Luotonen J, Uhari M. A nation-wide, population-based survey of otitis media and school achievement. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1998;43(1):41-51. doi:10.1016/s0165-5876(97)00157-2.
73. Elicora SS, Ozturk M, Sevinc R, Derin S, Dinc AE, Erdem D. Risk factors for otitis media effusion in children who have adenoid hypertrophy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;79(3):374-377. doi:10.1016/j.ijporl.2014.12.030.
74. Quaranta N, Milella C, Iannuzzi L, Gelardi M. A study of the role of different forms of chronic rhinitis in the development of otitis media with effusion in children affected by adenoid hypertrophy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77(12):1980-1983. doi:10.1016/j.ijporl.2013.09.017.
75. Scadding G. Optimal management of nasal congestion caused by allergic rhinitis in children: safety and efficacy of medical treatments. *Paediatr Drugs.* 2008;10(3):151-162. doi:10.2165/00148581-200810030-00004.
76. Yaneza MM, Hunter K, Irwin S, Kubba H. Hearing in school-aged children with trisomy 21 - results of a longitudinal cohort study in children identified at birth. *Clin Otolaryngol.* 2016;41(6):711-717. doi:10.1111/coa.12606.
77. Rosenfeld RM, Kay D. Natural history of untreated otitis media. *Laryngoscope.* 2003;113(10):1645-1657. doi:10.1097/00005537-200310000-00004.
78. Shekelle P, Takata G, Chan LS, et al. Diagnosis, natural history, and late effects of otitis media with effusion. *Evid Rep Technol Assess (Summ).* 2002;(55):1-5. doi:10.1037/e439822005-001.
79. Roberts J, Hunter L, Gravel J, et al. Otitis media, hearing loss, and language learning: controversies and current research. *J Dev Behav Pediatr.* 2004;25(2):110-122. doi:10.1097/00004703-200404000-00007.

80. Nagashima H, Udaka J, Chida I, Shimada A, Kondo E, Takeda N. Air-bone gap estimated with multiple auditory steady-state response in young children with otitis media with effusion. *Auris Nasus Larynx*. 2013;40(6):534-538. doi:10.1016/j.anl.2013.03.002.
81. Han JJ, Park JM, Kim DK, Park SY, Park SN. A pilot study to investigate the therapeutic effect of Valsalva maneuver on otitis media with effusion in adults. *Auris Nasus Larynx*. 2019;46(1):34-37. doi:10.1016/j.anl.2018.05.012.
82. Hidir Y, Ulus S, Karahatay S, Satar B. A comparative study on efficiency of middle ear pressure equalization techniques in healthy volunteers. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38(4):450-455. doi:10.1016/j.anl.2010.11.014.
83. Rosenfeld RM. New concepts for steroid use in otitis media with effusion. *Clin Pediatr (Phila)*. 1992;31(10):615-621. doi:10.1177/000992289203101007.
84. Borge P. Atopy and secretory otitis media. Immunological studies and responses to topical corticosteroid therapy. *J Laryngol Otol*. 1983;97(2):117-129. doi:10.1017/s0022215100093890.
85. Francis NA, Cannings-John R, Waldron CA, et al. Oral steroids for resolution of otitis media with effusion in children (OSTRICH): a double-blinded, placebo-controlled randomised trial. *Lancet*. 2018;392(10147):557-568. doi:10.1016/S0140-6736(18)31490-9.
86. Moore RA, Commins D, Bates G, Phillips CJ. S-carboxymethylcysteine in the treatment of glue ear: quantitative systematic review. *BMC Fam Pract*. 2001;2:3. doi:10.1186/1471-2296-2-3.
87. Simon F, Haggard M, Rosenfeld RM, et al. International consensus (ICON) on management of otitis media with effusion in children. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2018;135(1S):S33-S39. doi:10.1016/j.anorl.2017.11.009.
88. Mulvaney CA, Galbraith K, Webster KE, et al. Antibiotics for otitis media with effusion (OME) in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023;10(10):CD015254. Published 2023 Oct 23. doi:10.1002/14651858.CD015254.pub2.
89. Griffin G, Flynn CA. Antihistamines and/or decongestants for otitis media with effusion (OME) in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;2011(9):CD003423. Published 2011 Sep 7. doi:10.1002/14651858.CD003423.pub3.
90. Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, et al. Clinical Practice Guideline: Otitis Media with Effusion (Update). *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2016;154(1 Suppl):S1-S41. doi:10.1177/0194599815623467.
91. Ito M, Takahashi H, Iino Y, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of otitis media with effusion (OME) in children in Japan, 2015. *Auris Nasus Larynx*. 2017;44(5):501-508. doi:10.1016/j.anl.2017.03.018.
92. Hellström S, Groth A, Jörgensen F, et al. Ventilation tube treatment: a systematic review of the literature. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;145(3):383-395. doi:10.1177/0194599811409862.
93. Rosenfeld RM, Schwartz SR, Pynnonen MA, et al. Clinical practice guideline: Tympanostomy tubes in children. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;149(1 Suppl):S1-S35. doi:10.1177/0194599813487302.
94. Ha J, Gu GY, Yeou SH, et al. Determination of Tympanostomy Tube Types for Otitis Media with Effusion in Patients with Cleft Palate: Comparison between Paparella Type 1 and Type 2 Tubes. *J Clin Med*. 2023;12(20):6651. Published 2023 Oct 20. doi:10.3390/jcm12206651.
95. Yoo MH, Cho YS, Choi J, et al. Factors Affecting the Extrusion Rate and Complications After Ventilation Tube Insertion: A Multicenter Registry Study on the Effectiveness of Ventilation Tube Insertion in Pediatric Patients With Chronic Otitis Media With Effusion-Part II. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2022;15(4):326-334. doi:10.21053/ceo.2022.00934.
96. Lindstrom DR, Reuben B, Jacobson K, Flanary VA, Kerschner JE. Long-term results of Armstrong beveled grommet tympanostomy tubes in children. *Laryngoscope*. 2004;114(3):490-494. doi:10.1097/00005537-200403000-00019.
97. Söderman AC, Knutsson J, Priwin C, von Unge M. A randomized study of four different types of tympanostomy ventilation tubes - One-year follow-up. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2016;89:159-163. doi:10.1016/j.ijporl.2016.08.010.
98. Wang MC, Wang YP, Chu CH, Tu TY, Shiao AS, Chou P. The protective effect of adenoidectomy on pediatric tympanostomy tube re-insertions: a population-based birth cohort study. *PLoS One*. 2014;9(7):e101175. Published 2014 Jul 1. doi:10.1371/journal.pone.0101175.

99. Mikals SJ, Brigger MT. Adenoidectomy as an adjuvant to primary tympanostomy tube placement: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;140(2):95-101. doi:10.1001/jamaoto.2013.5842.
100. Skoloudik L, Kalfert D, Valenta T, Chrobok V. Relation between adenoid size and otitis media with effusion. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2018;135(6):399-402. doi:10.1016/j.anorl.2017.11.011.
101. Kubba H. Re: Umapathy et al. A community based questionnaire study on the association between symptoms suggestive of otitis media with effusion, rhinitis and asthma in primary school children *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2007;71:705-12. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007;71(11):1813-1814. doi:10.1016/j.ijporl.2007.06.017.
102. Venneman K, Huybrechts I, Gunter MJ, et al. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Europe and the impact of lifestyle on its natural evolution toward stomach cancer after infection: A systematic review. *Helicobacter.* 2018;23:e12483.
103. Eshraghian A. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection among the healthy population in Iran and countries of the Eastern Mediterranean Region: a systematic review of prevalence and risk factors. *World J Gastroenterol.* 2014;20:17618-25.
104. Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J.* 2016;39:14-23.
105. Salimzadeh L, Bagheri N, Zamanzad B, et al. Frequency of virulence factors in *Helicobacter pylori*-infected patients with gastritis. *Microb Pathog.* 2015;80:67-72.
106. Morales-Espinosa R, Fernandez-Presas A, Gonzalez-Valencia G, et al. *Helicobacter pylori* in the oral cavity is associated with gastroesophageal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24:464-8.
107. Choi IJ, Kook MC, Kim YI, et al. *Helicobacter pylori* Therapy for the Prevention of Metachronous Gastric Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378:1085-95.
108. Rizwan M, Fatima N, Alvi A. Epidemiology and pattern of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: scenario from Saudi Arabia. *Saudi J Gastroenterol.* 2014;20:212-8.
109. Peleteiro B, Bastos A, Ferro A, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection worldwide: a systematic review of studies with national coverage. *Dig Dis Sci.* 2014;59:1698-709.
110. Kaplan M, Tanoglu A, Duzenli T, et al. *Helicobacter pylori* treatment in Turkey: Current status and rational treatment options. *North Clin Istanbul.* 2020;7:87-94.
111. Guven B, Gulerman F, Kacmaz B. *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin and fluoroquinolones in a pediatric population in Turkey: A cross-sectional study. *Helicobacter.* 2019;24:e12581.
112. Franceschi F, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21(2):325-34. doi: 10.1016/j.bpg.2006.10.003.
113. Mao X, Jakubovics NS, Bachle M, et al. Colonization of *Helicobacter pylori* in the oral cavity - an endless controversy? *Crit Rev Microbiol.* 2021;47:612-29.
114. Yee JKC. Are the view of *Helicobacter pylori* colonized in the oral cavity an illusion? *Exp Mol Med.* 2017;49:e397.
115. Flores-Trevino S, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarrías P, et al. *Helicobacter pylori* drug resistance: therapy changes and challenges. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;12:819-27.
116. Skinner LJ, Winter DC, Curran AJ, Barnes C, Kennedy S, Maguire AJ, Charles DA, Timon CI, Burns HP. *Helicobacter pylori* and tonsillectomy. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 2001 Dec;26(6):505-9. doi: 10.1046/j.1365-2273.2001.00513.x.
117. Yilmaz M, Kara CO, Kaleli I, Demir M, Tümkaya F, Büke AS, Topuz B. Are tonsils a reservoir for *Helicobacter pylori* infection in children? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004 Mar;68(3):307-10. doi: 10.1016/j.ijporl.2003.10.016.
118. Cirak MY, Ozdek A, Yilmaz D, Bayiz U, Samim E, Turet S. Detection of *Helicobacter pylori* and its CagA gene in tonsil and adenoid tissues by PCR. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Nov;129(11):1225-9. doi: 10.1001/archotol.129.11.1225.

- 119.Yilmaz T, Ceylan M, Akyön Y, Özçakır O, Gürsel B. *Helicobacter pylori*: a possible association with otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006 May;134(5):772-7. doi: 10.1016/j.otohns.2006.02.002.
- 120.Bitar M, Mahfouz R, Soweid A, Racoubian E, Ghasham M, Zaatari G, et al. Does *Helicobacter pylori* colonize the nasopharynx of children and contribute to their middle ear disease? *Acta Otolaryngol.* 2006;126:154–9. doi: 10.1080/00016480500312679.
- 121.Fancy T, Mathers PH, Ramadan HH. Otitis media with effusion: a possible role for *Helicobacter pylori*? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009 Feb;140(2):256-8. doi: 10.1016/j.otohns.2008.11.023.
- 122.Saki N, Samarbaf Zadeh AR, Sheikhpour Jonaky R, Noori SM, Kayedani GA, Nikakhlagh S. The Prevalence Rate of *Helicobacter pylori* Infection in, Chronic Otitis Media With Effusion Patients. *Jundishapur J Microbiol.* 2014 Mar;7(3):e15694. doi: 10.5812/jjm.15694.
- 123.Shishegar M, Motamedi-Far M, Hashemi SB, Bigham-Sadegh A, Emami A. Tracing of *helicobacter pylori* in patients of otitis media with effusion by polymerase chain reaction. *Iran J Med Sci.* 2015 May;40(3):272-6.
- 124.Khasawneh L, Khassawneh AH, Kheirallah KA, Neri G, Filograna Pignatelli G, Al-Balas HI, Martinotti S, Al-Mistarehi AH. Otitis media with effusion: The role of *Helicobacter Pylori* in its pathogenesis. *Ann Med Surg (Lond).* 2021 Jan 24;62:278-282. doi: 10.1016/j.amsu.2021.01.056.
- 125.Boronat-Echeverría N, Aguirre-Mariscal H, Carmolina-Ponce M, Sevilla-Delgado Y, Miceli-Flores R, Kennedy-Padilla A, Mejía-Aranguré JM. *Helicobacter pylori* detection and clinical symptomatology of gastroesophageal reflux disease in pediatric patients with otitis media with effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2016 Aug;87:126-9. doi: 10.1016/j.ijporl.2016.06.023.
- 126.Kaymakçı M, Aydın M, Yazıcı S, Sağır O, Gür OE, Sayan M. Detection of *Helicobacter pylori* in adenoid tissue by real-time polymerase chain reaction. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.* 2014 Mar-Apr;24(2):78-82. doi: 10.5606/kbbihtisas.2014.28445.
- 127.Karlıdag T, Bulut Y, Keles E, Kaygusuz I, Yalcin S, Ozdarendeli A, Dabak H. Detection of *Helicobacter pylori* in children with otitis media with effusion: a preliminary report. *Laryngoscope.* 2005 Jul;115(7):1262-5. doi: 10.1097/01.MLG.0000165697.83921.2B.
- 128.Park CW, Chung JH, Min HJ, et al. *Helicobacter pylori* in middle ear of children with otitis media with effusion. *Chin Med J (Engl).* 2011;124(24):4275-4278.
- 129.Ruhani K, Raisanen S, Simonsen GS, Stenfors LE. Bacterial behaviour in middle ear effusion material: an in vitro study. *Acta Otolaryngol.* 1996 Jan;116(1):64-8. doi: 10.3109/00016489609137714.
- 130.Tasker A, Dettmar PW, Panetti M, Koufman JA, Birchall JP, Pearson JP. Reflux of gastric juice and glue ear in children. *Lancet.* 2002 Feb 9;359(9305):493. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07665-1.
- 131.Ku SK, Kim JS, Seo YB, Kim YU, Hwang SL, Lee YC, Yang CH, Kim HY, Seo BI, Park JH, Min YH, Roh SS. Effect of *Curculigo orchoides* on reflux esophagitis by suppressing proinflammatory cytokines. *Am J Chin Med.* 2012;40(6):1241-55. doi: 10.1142/S0192415X12500929.
- 132.Yan S, Wei Y, Zhan X, Yao L, Li X, Fang F, Xu J. Gastroesophageal Reflux Disease: A Cause for Eustachian Tube Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea. *Ear Nose Throat J.* 2021 Dec;100(10_suppl):937S-942S. doi: 10.1177/0145561320931219.
- 133.Smirnova MG, Kiselev SL, Birchall JP, Pearson JP. Up-regulation of mucin secretion in HT29-MTX cells by the pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6. *Eur Cytokine Netw.* 2001 Mar;12(1):119-25.
- 134.Lindén S, Mahdavi J, Hedenbro J, Borén T, Carlstedt I. Effects of pH on *Helicobacter pylori* binding to human gastric mucins: identification of binding to non-MUC5AC mucins. *Biochem J.* 2004 Dec 1;384(Pt 2):263-70. doi: 10.1042/BJ20040402.
- 135.Graham DY. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology.* 2015;148:719-31 e3.
- 136.Kuo YT, Liou JM, El-Omar EM, et al. Primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* in the Asia-Pacific region: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2:707-15.
- 137.Fallone CA, Moss SF, Malfertheiner P. Reconciliation of Recent *Helicobacter pylori* Treatment Guidelines in a Time of Increasing Resistance to Antibiotics. *Gastroenterology.* 2019;157:44-53.

138. Hatakeyama M. Anthropological and clinical implications for the structural diversity of the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. *Cancer Sci.* 2011;102:36-43.
139. Rodríguez Gómez ER, Otero Regino W, Monterrey PA, Trespalacios Rangel AA. *cagA* gene EPIYA motif genetic characterization from Colombian *Helicobacter pylori* isolates: Standardization of a molecular test for rapid clinical laboratory detection [published correction appears in *PLoS One.* 2020 Feb 3;15(2):e0228840]. *PLoS One.* 2020;15(1):e0227275. Published 2020 Jan 10. doi:10.1371/journal.pone.0227275.
140. Argent RH, Zhang Y, Atherton JC. Simple method for determination of the number of *Helicobacter pylori* CagA variable-region EPIYA tyrosine phosphorylation motifs by PCR. *J Clin Microbiol.* 2005;43:791-5.
141. Demiryas S, Caliskan R, Saribas S, et al. The association between *cagL* and *cagA*, *vacAs-m*, *babA* genes in patients with gastric cancer, duodenal ulcer, and non-ulcer dyspepsia related to *Helicobacter pylori*. *Acta Gastroenterol Belg.* 2020;83:385-92.
142. Xia Y, Yamaoka Y, Zhu Q, et al. A comprehensive sequence and disease correlation analyses for the C-terminal region of CagA protein of *Helicobacter pylori*. *PLoS One.* 2009;4:e7736.
143. Basso D, Zambon CF, Letley DP, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* gene polymorphisms. *Gastroenterology.* 2008;135:91-9.
144. Ferreira RM, Machado JC, Leite M, et al. The number of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA C tyrosine phosphorylation motifs influences the pattern of gastritis and the development of gastric carcinoma. *Histopathology.* 2012;60:992-8.
145. Beltran-Anaya FO, Poblete TM, Roman-Roman A, et al. The EPIYA-ABCC motif pattern in CagA of *Helicobacter pylori* is associated with peptic ulcer and gastric cancer in Mexican population. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:223.
146. Batista SA, Rocha GA, Rocha AM, et al. Higher number of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA C phosphorylation sites increases the risk of gastric cancer, but not duodenal ulcer. *BMC Microbiol.* 2011;11:61.
147. Hatakeyama M, Higashi H. *Helicobacter pylori* CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis. *Cancer Sci.* 2005;96:835-43.
148. Kocazeybek BS, Caliskan R, Erdamar Cetin S, et al. Patterns of EPIYA motifs among *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains: a case-control study in a Turkish population with Eurasian geographical features. *J Med Microbiol.* 2015;64(10):1117-23. doi:10.1099/jmm.0.000141.
149. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature.* 1997;388:539-47.
150. Sommer F, Faller G, Konturek P, et al. Antrum- and corpus mucosa-infiltrating CD4(+) lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis display a Th1 phenotype. *Infect Immun.* 1998;66:5543-6.
151. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, et al. DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based RAPD fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1992;20:5137-42.
152. Peedikakkal NT, Prakash DRS, Chandrakiran C, Patil SB, Reddy HN. Endoscopic Grading, Radiological Grading and Clinical Features in Children with Chronic Adenoid Hypertrophy: A Correlational Study. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2023;75(2):725-731. doi:10.1007/s12070-022-03438-x.
153. Truong MT, Koltai PJ. Current Techniques of Adenoidectomy, Chapter 70. In: Friedman M, Jacobowitz O, editors. *Sleep Apnea and Snoring: Surgical and Non-surgical Therapy.* 2nd ed. USA: Elsevier; 2020. p: 422-25. doi: 10.1016/B978-0-323-44339-5.00070-5.
154. Morinaka S, Tominaga M, Nakamura H. Detection of *Helicobacter pylori* in the middle ear fluid of patients with otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;133(5):791-794. doi:10.1016/j.otohns.2005.05.050.
155. Wu X, Zheng Y, Gao X, Li G, Cao Q. Association Between *Helicobacter pylori* Infection and Otitis Media With Effusion Risk in Children: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020;163(4):654-661. doi:10.1177/0194599820921861.
156. Bai X, Wang D, Fan Z, et al. *Helicobacter pylori* may cause otitis media with effusion: a pilot study. *B-ENT.* 2012;8(4):261-264.

157. Doğru M, Kuran G, Haytoğlu S, Dengiz R, Arıkan OK. Role of Laryngopharyngeal Reflux in the Pathogenesis of Otitis Media with Effusion. *J Int Adv Otol.* 2015;11(1):66-71. doi:10.5152/iao.2015.642.
158. Pitkäranta A, Kolho KL, Rautelin H. *Helicobacter pylori* in children who are prone to upper respiratory tract infections. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;131(3):256-258. doi:10.1001/archotol.131.3.256.
159. Özcan C, Vayisoglu Y, Otag F, Polat A, Görür K, İsmi O. Does *Helicobacter pylori* have a role in the development of chronic otitis media with effusion? A preliminary study. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;38(5):526-531.
160. He Q, Wang JP, Osato M, Lachman LB. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 2002 Oct;40(10):3720-8. doi: 10.1128/JCM.40.10.3720-3728.2002.
161. Wahab H, Khan T, Ahmad I, et al. Detection of *H. pylori* by PCR method using *ureA* and *ureC* gene in gastric biopsy sample. *Journal of Pure and Applied Microbiology.* 2015;9(3): 2165-2174.
162. Lu JJ, Perng CL, Shyu RY, et al. Comparison of five PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA in gastric tissues. *J Clin Microbiol.* 1999;37(3):772-774. doi:10.1128/JCM.37.3.772-774.1999.
163. Wang G, Taylor DE. Site-specific mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* confer two types of resistance to macrolide-lincosamide-streptogramin B antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(8):1952-1958. doi:10.1128/AAC.42.8.1952.
164. Noguchi N, Rimbara E, Kato A, et al. Detection of mixed clarithromycin-resistant and -susceptible *Helicobacter pylori* using nested PCR and direct sequencing of DNA extracted from faeces. *J Med Microbiol.* 2007;56(Pt 9):1174-1180. doi:10.1099/jmm.0.47302-0.
165. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, Tompkins LS. Molecular analysis of urease genes from a newly identified uncultured species of *Helicobacter*. *Infect Immun.* 1994;62(5):1631-1638. doi:10.1128/iai.62.5.1631-1638.1994.
166. Khalilpour A, Kazemzadeh-Narbat M, Tamayol A, Oklu R, Khademhosseini A. Biomarkers and diagnostic tools for detection of *Helicobacter pylori*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016;100(11):4723-4734. doi:10.1007/s00253-016-7495-7.
167. Li C, Ferguson DA Jr, Ha T, Chi DS, Thomas E. A highly specific and sensitive DNA probe derived from chromosomal DNA of *Helicobacter pylori* is useful for typing *H. pylori* isolates. *J Clin Microbiol.* 1993;31(8):2157-2162. doi:10.1128/jcm.31.8.2157-2162.1993.
168. Poelmans J, Tack J, Feenstra L. Chronic middle ear disease and gastroesophageal reflux disease: a causal relation?. *Otol Neurotol.* 2001;22(4):447-450. doi:10.1097/00129492-200107000-00005.
169. Jelavic B, Petricevic J, Marijanović I, Bevanda M. *Helicobacter pylori* in Otorhinolaryngology: Cause or Bystander. *Eurasian J Med.* 2019 Jun;51(2):196-202. doi: 10.5152/eurasianjmed.2018.18192.
170. Aycicek A, Çetinkaya Z, Kıyıcı H, Bukulmez A, Yucedag F. Can *Helicobacter pylori* cause inflammation in the middle ear?. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2012;76(8):1087-1090. doi:10.1016/j.ijporl.2012.04.005.
171. Post JC. Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media. *Laryngoscope.* 2001;111(12):2083-2094. doi:10.1097/00005537-200112000-00001.
172. Stingl K, Altendorf K, Bakker EP. Acid survival of *Helicobacter pylori*: how does urease activity trigger cytoplasmic pH homeostasis?. *Trends Microbiol.* 2002;10(2):70-74. doi:10.1016/s0966-842x(01)02287-9.
173. Jung SY, Kim SS, Kim YI, Kim SH, Yeo SG. A Review: Expression of Aquaporins in Otitis Media. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10):2164. Published 2017 Oct 17. doi:10.3390/ijms18102164.

EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64) KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 02.11.2022

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Effüzyonlu otitis media patogeneğinde <i>Helicobacter pylori</i> 'nin rolü: Klaritromisin direnci, EPIYA motifleri ve baskın AP-PCR klonlarının sürece katkısının irdelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Doktor Erkin Cad. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof Dr Mahmut Tayyar Kalcıoğlu- Dr Öğretim Üyesi Serdal Çelik- Dr Ayşe Yasemin Gündüz			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	KBB			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
Gözlemsel ilaç çalışması		☐			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☒			
Retrospektif		☐			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER		TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama	
	SİGORTA	☐			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐			
	İLAN	☐			
	YILLIK BİLDİRİM	☐			
	SONUÇ RAPORU	☐			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2022/0631	Tarih: 02.11.2022			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.				

T.C.S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER
Tarih: 2001/025

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2013-KAEK-64)

KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 02.11.2022

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Effüzyonlu otitis media patogenezinde <i>Helicobacter pylori</i> 'nin rolü: Klaritromisin direnci, EPIYA motifleri ve baskın AP-PCR klonlarının sürece katkısının irdelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım *	İmza
Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER	Tıbbi Farmakoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Aytekin OĞUZ	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Işıl MARAL	Halk Sağlığı Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Asif Yıldırım	Üroloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Süleyman Daşdağ	Biyofizik	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Derya Büyükkayhan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Asiye KANBAY	Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Doç. Dr. Sıdika Şeyma ÖZKANLI	Tıbbi Patoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Hacer Hicran Mutlu	Aile Hekimliği	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uzm. Dr. Ergül Demirçivi	Kadın Hastalıkları ve Doğum	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Mahmut ÇELİK	Avukat	Çelik Hukuk Bürosu	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Saliha Şahin	İşçi		E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Karar: ☒ Onaylandı ☐ Reddedildi

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
 Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi
 Etik Kurulu Başkanı
 Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER
 02.11.2022

EK 2. iThenticate intihal raporu

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	tel.archives-ouvertes.fr Internet	1478 words — 6%
2	acikbilim.yok.gov.tr Internet	282 words — 1%
3	altera.ub.ac.id Internet	161 words — 1%
4	adoc.pub Internet	120 words — 1%
5	Guillermo Orellana. "PHOTOINDUCED ELECTRON TRANSFER QUENCHING OF EXCITED Ru(II) POLYPYRIDYLS BOUND TO DNA: THE ROLE OF THE NUCLEIC ACID DOUBLE HELIX", Photochemistry and Photobiology, 10/1991 Crossref	57 words — < 1%
6	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet	57 words — < 1%
7	sdg.medeniyet.edu.tr Internet	50 words — < 1%
8	tesav.info Internet	40 words — < 1%

