



**T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE YOĞUN BAKIM  
ÜNİTELERİNDEN İZOLE EDİLEN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* ÜREMELERİNE  
YÖNELİK SEROTİP DAĞILIMI ve ANTİBİYOGRAM SONUÇLARININ  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Çağrı IŞIK**

**Antalya, 2025**



**T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE YOĞUN BAKIM  
ÜNİTELERİNDEN İZOLE EDİLEN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* ÜREMELERİNE  
YÖNELİK SEROTİP DAĞILIMI ve ANTİBİYOGRAF SONUÇLARININ  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Çağrı IŞIK**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özge TURHAN**

**Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından desteklenmiştir.**

**(Proje No: TTU-2023-6431)**

**“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”**

**Antalya, 2025**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini, bilgi birikimini ve sevgisini esirgemeyen, uzmanlık eğitimimin başından sonuna kadar hekimliği ile bana örnek olan tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Özge Turhan' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emeği geçen, bilimsel ve sosyal alanlarda desteklerini her zaman hissettiğim değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Dilara İnan'a ve Prof. Dr. Ata Nevzat Yalçın' a,

Tez çalışmamın istatistik bölümünde ve tez dışındaki diğer tüm alanlarda sıkça başvurduğum danışmanlığı, donanımı ve yönlendirmeleri için Öğretim Görevlisi Dr. Çağlayan Merve Ayaz Ceylan' a,

Tez çalışmam sırasında hiçbir olanağı esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarımda bana yol gösteren Prof. Dr. Meral Dilara Ögünç' e ve Doç. Dr. Özlem Koyuncu Özyurt' a,

Tez çalışmamda bilgi birikimi ve donanımı ile yol gösteren değerli ve saygıdeğer Doç. Dr. Mert Ahmet Kuşkucu' ya,

Laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan, desteği ve arkadaşlığı ile beni yalnız bırakmayan Uzm. Dr. Tuncer Karpuz' a,

Tez çalışmam dâhil her konuda, her zaman ve her koşulda sevgisini, manevi desteğini, yardımını ve anlayışını esirgemeyen sevgili eşim Dr. Cemile Beyza Işık' a,

Hayatımın her döneminde koşulsuz bir şekilde yanımda olan, bana olan güvenlerini ve inançlarını asla kaybetmeyen sevgili aileme,

Uzmanlık eğitimim sırasında ve sosyal hayatımda beni motive eden, destekleyen ve yanımda olan arkadaşlarım Dr. Simge Sekin ve Dr. Samet Acar' a,

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı' nda görev yapmakta olan ve çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

*Haemophilus influenzae*, yaşamı tehdit eden invaziv ve sistemik enfeksiyonlara neden olabilen, kokobasil şeklinde, hareketsiz, sporsuz, gram negatif bir bakteridir. Kapsüllü suşların birden çok serotipi vardır. Kapsüllü suşlardan *Haemophilus influenzae* tip b serotipi (Hib), beş yaşından küçük çocuklarda pnömoni, menenjit, bakteriyemi ve epiglottit gibi yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlardan sorumludur. Ülkemizde Hib aşısının 2007 yılında rutin çocukluk aşılama programına eklenmesi sonrasında, yaygın etken serotip dağılımında değişiklikler gözlenmiş ve NTHi suşlarının insidansında artış görülmüştür. Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen ve yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilen *Haemophilus influenzae* izolatlarında; serotip dağılımı, antibiyotik duyarlılık sonuçları,  $\beta$ -laktamaz aktivite ve mortaliteye etki eden faktörler saptanmıştır. Serotip dağılımı moleküler yöntemle (PZR) çalışılmıştır. PZR testleri sonucunda NTHi' nin (%60,9) en yaygın serotip olduğu belirlenmiştir. Kapsüllü suşlardan *Haemophilus influenzae* tip a %12,6, tip b %4,6, tip c %10,3, tip d %2,3, tip e %5,7, tip f %3,4 oranında saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST-V14.0)" önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Duyarlılık testlerinin sonucunda, en yüksek direnç (%80,9) azitromisine karşı saptanırken %57,6 ile ampisilin direnci ikinci sırada yer almıştır. Nitrosefin testi ile yapılan  $\beta$ -laktamaz aktivite sonucunda  $\beta$ -laktamaz pozitiflik oranı %11,8 oranında tespit edilmiştir.  $\beta$ -laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) suşların oranı ise %45,8 olarak belirlenmiştir. Mortaliteyi etkileyen faktörler incelenirken hastaların demografik verileri, etkenin izole edildiği yer, tam kan ve serum örneklerinden alınan laboratuvar sonuçları (tam kan hücre sayımı, c-reaktif protein düzeyi, serum kreatinin düzeyi ve glomerüler filtrasyon hızı) değerlendirilmiştir. İnceleme sonucunda lökosit sayısı, nötrofil sayısı, kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı mortalite ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Çalışmamız verileri; *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında en sık NTHi suşunun görüldüğünü ve diğer kapsüllü suşların dağılımının coğrafi farklılıklar gösterebildiğini literatür ile uyumlu olarak ortaya koymuştur. Ayrıca tüm dünyada artan  $\beta$ -laktamaz üretimi ve BLNAR suşlarında artış nedeniyle empirik tedavide ampisilin kullanımından kaçınılması gerektiği vurgulanmıştır. Sonuç olarak, çalışmamız, bölgemizdeki *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının serotip dağılımını, antibiyotik duyarlılık profilini ve mortaliteyi etkileyen faktörleri belirleyerek, empirik tedavi yaklaşımlarının gözden geçirilmesi gerektiğini ortaya koyarak literatüre katkı sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Haemophilus influenzae*, serotip, antibiyogram



## ABSTRACT

*Haemophilus influenzae* is a non-motile, non-spore forming, gram-negative bacterium that can cause life-threatening invasive and systemic infections. Encapsulated strains of this bacterium have multiple serotypes. *Haemophilus influenzae* type b (Hib) serotype, one of the encapsulated strains, is responsible for life-threatening invasive infections such as pneumonia, meningitis, bacteremia, and epiglottitis in children under five years of age. After the Hib vaccine was introduced into the routine childhood vaccination program in our country in 2007, changes in the distribution of circulating serotypes were observed, along with an increase in the incidence of non-typeable *Haemophilus influenzae* (NTHi) strains. In this study, we aimed to determine the serotype distribution, antibiotic susceptibility results,  $\beta$ -lactamase activity, and factors affecting mortality in *Haemophilus influenzae* isolates from patients in the intensive care units of Akdeniz University Hospital's Microbiology Laboratory. Serotype distribution was investigated using molecular methods (PCR). The PCR results showed that NTHi was the most prevalent serotype, accounting for 60.9%. Among encapsulated strains, *Haemophilus influenzae* type a was detected at 12.6%, type b at 4.6%, type c at 10.3%, type d at 2.3%, type e at 5.7%, and type f at 3.4%. Antibiotic susceptibility tests were conducted according to the guidelines of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST-V14.0). The results of these tests showed the highest resistance to azithromycin (80.9%), followed by ampicillin resistance at 57.6%.  $\beta$ -lactamase activity, determined by the nitrocefin test, revealed a  $\beta$ -lactamase positivity rate of 11.8%. The proportion of  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant (BLNAR) strains was found to be 45.8%. To examine the factors affecting mortality, we evaluated the demographic data of patients, the site from which the pathogen was isolated, and laboratory results from whole blood and serum samples (complete blood count, C-reactive protein level, serum creatinine level, and glomerular filtration rate). Leukocyte count, neutrophil count, creatinine, and glomerular filtration rate were statistically significantly associated with mortality. The data from our study were consistent with the literature, showing that the most common serotype in *Haemophilus influenzae* infections was NTHi and that the distribution of other encapsulated strains could show geographical variation. Moreover, due to the increasing production of  $\beta$ -lactamases and the rise of BLNAR strains worldwide, the use of ampicillin in empirical treatment should be avoided. In conclusion, our study contributes to the literature by identifying the serotype distribution, antibiotic

susceptibility profile, and factors affecting mortality in *Haemophilus influenzae* infections in our region, highlighting the need for a review of empirical treatment approaches.

**Keywords:** *Haemophilus influenzae*, serotype, antibiogram



**İÇİNDEKİLER**

<b>TEŞEKKÜR</b>	iii
<b>ÖZET</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b>	viii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	x
<b>ŞEKİLLER</b>	xii
<b>TABLolar</b>	xiii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. <i>Haemophilus influenzae</i>	4
2.2.1. Mikrobiyolojik Özellikler	4
2.2.2. Kültür Özellikleri	6
2.2.3. Antijenik Yapısı	9
2.2.4. Patogenez ve Virulans Faktörleri	10
2.3. Epidemiyoloji	14
2.4. Risk faktörleri	15
2.5. Haemofilus' ların neden olduğu enfeksiyonlar	16
2.5.1. <i>H. influenzae</i> Enfeksiyonları	16
2.5.2. Diğer Haemophilus' ların neden olduğu enfeksiyonlar	20
2.6. Laboratuvar Tanısı	21
2.7. Tedavi ve Korunma	23

2.7.1. Tedavi	23
2.7.2. Korunma	24
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>27</b>
3.1. Bakterilerin İzolatları	27
3.1.1. Stokların canlandırılması	27
3.1.2. İzole edilen suşların doğrulanması	28
3.2. Antibiyotik duyarlılık testleri	28
3.2.1. Kullanılan antibiyotikler	28
3.2.2. İzolatların hazırlanması	28
3.3. $\beta$ -Laktamaz aktivitesinin belirlenmesi	28
3.4. Moleküler yöntemler	29
3.5. İstatistiksel analiz	30
<b>4. BULGULAR</b>	<b>32</b>
4.1. Örneklerin dağılımı	32
4.2. Hastaların demografik verileri	33
4.3. Serotiplendirme	35
4.4. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları	37
4.5. Mortaliteye etki eden faktörler	39
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>41</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>50</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>52</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT: alanin aminotransferaz

AMC: amoksisilin/klavulanik asit

AMP: ampisilin

APACHE: Acute physiology and chronic health evaluation

AST: aspartat aminotransferaz

AZT: azitromisin

BLNAR:  $\beta$ -laktamaz negatif ampisiline dirençli

BOS: beyin omurilik sıvısı

CAMP: siklik adenozin monofosfat

COVID-19: Coronavirüs disease-19

CRO: seftriakson

CRP: C- reaktif protein

DM: diyabetes mellitus

DNaz: deoksiribonüleaz

DTA: derin trakeal aspirat

ECDC: European Center for Disease Prevention and Control

GFR: glomerüler filtrasyon hızı

GA: güven aralığı

HB: hemoglobin

Hib: *Haemophilus influenzae* tip b

KOAH: kronik obstrüktif akciğer hastalığı

KRE: kreatinin

LENF: lenfosit sayısı

LOS: lipooligosakkarit

LPS: lipopolisakkarit

LVX: levofloksasin

MER: meropenem

MXF: moksifloksasin

NAD: nikotinamid adenin dinükleotit

NADP: nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NÖT: nötrofil sayısı

NTHi: tiplendirilemeyen *Haemophilus influenzae*

PCR: polimeraz zincir reaksiyonu

PLT: platelet sayısı

PRP: poliribozil ribitol fosfatı

RNaz: ribonükleaz

RR: rölatif risk

SXT: trimetoprim/sulfametoksazol

WBC: lökosit sayısı

## ŞEKİLLER

### Şekil

- 3.1.** -80°C’de içerisinde stok solüsyonu olan Cryo tüplerde stoklanan bakteriler. 27
- 3.3.**  $\beta$ -laktamaz test sonucu. 29



## TABLOLAR

### Tablo

1.	<i>Haemophilus</i> Bakterilerinin Fenotipik Özellikleri.	5
2.	<i>H. influenzae</i> ve <i>H. parainfluenzae</i> Biyotiplerinin Özellikleri.	6
3.	<i>H. influenzae</i> 'nin Antijenik Yapıları ve Fonksiyonları.	10
4.	<i>H. influenzae</i> 'nin Virülans Faktörleri.	13
5.	Hib Ve NTHi Suşlarının Bazı Özelliklerinin Kıyaslaması.	14
6.	<i>Haemophilus</i> Türlerine Bağlı Enfeksiyonların Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Hedef Yerleri.	24
7.	Çalışmada PZR için kullanılan primerler.	30
8.	<i>H. influenzae</i> kökenlerinin yıllara göre dağılımı.	32
9.	Suşların örnek tipine göre dağılımı.	32
10.	Hastaların cinsiyete göre dağılımları.	33
11.	Hastaların eşlik eden komorbiditelerinin dağılımı.	33
12.	Enfeksiyon etkenlerinin edinildiği yere göre mortalite.	34
13.	Hastaların klinik özelliklerinin dağılımı.	34
14.	Hastaların laboratuvar sonuçlarının dağılımı.	35
15.	<i>H. influenzae</i> suşlarının serotip tayini.	35
16.	<i>H. influenzae</i> serotiplerinin yıllara göre dağılımı.	36
17.	NTHi ve <i>H. influenzae</i> tip a arasındaki tedavi sonuç dağılımları.	36
18.	<i>H. influenzae</i> suşlarının örnek tipine göre serotip dağılımı.	37
19.	<i>H. influenzae</i> suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.	37
20.	<i>H. influenzae</i> suşlarının serotip dağılımına göre antibiyotik direnç sonuçları.	38

21. *H. influenzae* suşlarının serotip dağılımına göre  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri. 39
22. Mortaliteye etki eden faktörler. 40



## 1. GİRİŞ

*Haemophilus influenzae* ilk olarak 1892'de Pleiffer tarafından tanımlanan, normal üst solunum yolu flora bakterileri arasında yer alan, kokobasil şeklinde, hareketsiz, sporsuz, gram negatif bir bakteridir. Eritrositlerin sağladığı büyüme faktörlerine olan ihtiyacı nedeniyle, *Haemophilus* (kan seven) ismini almıştır. *Haemophilus* türü bakteriler sadece insanlarda enfeksiyon oluşturmaktadır. Üst solunum yolundan ve nadiren genital sistemden izole edilir, insandan insana bulaş havadaki damlacıklar veya salgılarla doğrudan temas yoluyla gerçekleşir [1].

*Haemophilus influenzae* kapsüllü ve kapsülsüz olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmaktadır. Kapsül bulduran suşların, kapsül polisakkarit yapılarına göre a, b, c, d, e ve f olmak üzere 6 farklı serotipi bulunmaktadır. Kapsül buldurmeyen suşlar ise tiplendirilemeyen *Haemophilus influenzae* (NTHi) olarak isimlendirilir [2].

Kapsüllü suşlardan *Haemophilus influenzae* tip b serotipi (Hib), beş yaşından küçük çocuklarda pnömoni, menenjit, bakteriyemi ve epiglottit gibi yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlardan sorumludur [3]. Kapsülsüz suşlar ise erişkinlerde toplum kaynaklı pnömoni, akut otitis media, akut sinüzit ve kronik bronşitin akut alevlenmeleri şeklinde ortaya çıkmaktadır [1].

Dünya genelinde ülkeler arasında farklılıklar gösteren ve ülkemizde 2007 yılında çocukluk aşılama programına dâhil edilen Hib aşısı sonrasında, yaygın etken serotip dağılımında değişiklikler gözlenmiş ve özellikle Hib'in neden olduğu invaziv enfeksiyonların insidansında belirgin bir azalma olmuştur [4,5]. Yaygın etken serotipinin ve antibiyogram sonuçlarının ortaya konması, hem pediatrik yaş grubunda hem de yetişkinlerde *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının yönetimi için önemini korumaktadır.

*Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının tedavisinde, önceki yılların verilerine göre ampisilin ilk seçenek olarak görülse de, tüm dünyada artan  $\beta$ -laktamaz üretimi nedeniyle ampisilin sadece duyarlı olduğu bilinen suşlarda kullanılmalıdır. Ek olarak son yıllarda,  $\beta$ -laktamaz negatif ampisiline dirençli (BLNAR) kökenlerde artış saptanmıştır. Özellikle Japonya ve Avrupa ülkelerinde BLNAR suşlarının arttığı raporlanmıştır [6-8]. Bu nedenle ülkemizdeki yaygın serotip dağılımının ortaya konması ve antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Güncel veriler eşliğinde yapılan tez çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde yoğun bakım ünitelerinde çeşitli örneklerden izole edilen *Haemophilus influenzae* suşlarının serotip dağılımı ve antimikrobiyal direnç sonuçları belirlenerek, tedavi planlamasına yol gösterici verilerin ortaya konması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Robert Koch tarafından 1882 yılında, Mısır’da akut pürülan konjonktivit hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada bir etken tespit edilmiştir [9]. Bu etken daha sonraki dönemde, *Haemophilus aegyptius* olarak adlandırılmıştır. Bu gelişmeyi takiben, 1892 yılında Richard Pleiffer tarafından, Avrupa influenza pandemisi sırasında ölen hastaların otopsi çalışmalarında balgam örneklerinden *Haemophilus influenzae* izole edilmiştir [10]. Ancak etken ilk başta “Bacillus influenzae” veya “Pleiffer’s bacillus” olarak isimlendirilmiştir. 1899 yılında Slawyk ve 1911 yılında ise Cohen tarafından, menenjit kliniği olan vakaların beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden *Haemophilus influenzae* üretilmiştir [11,12].

Amerikan Bakteriyoloji Derneği tarafından 1920 yılında, üretiminde kan faktörlerine ihtiyaç duyulan bu bakterinin *Haemophilus influenzae* olarak isimlendirilmesine karar verilmiştir. İki büyüme faktörünün kandaki varlığı, 1921 yılında Thjötta ve Avery tarafından belirtilmiştir [13]. Margaret Pitmann tarafından 1931 yılında kapsüllü ve kapsülsüz *Haemophilus influenzae* suşları tanımlanmış ve kapsül bulunduran suşların a, b, c, d, e ve f şeklinde 6 farklı serotipinin bulunduğu gösterilmiştir [14]. Aynı çalışmada ayrıca menenjit ve tip b serotip arasındaki ilişki gösterilmiştir. İnflüzanın virüs kaynaklı bir hastalık olduğu ve *H. influenzae'nin* bir sekonder enfeksiyon etkeni olduğu ise 1933 yılında belirtilmiştir [15].

Schneerson ve arkadaşları 1970 yılında Hib polisakkarit kapsül komponenti olan poliribozil ribitol fosfatı (PRP) aşısı immunojeni olarak pürifiye etmiştir [16]. Hib kapsüller polisakkarit aşısının 18 aydan daha küçük çocuklarda bir koruyuculuk geliştirmedeği, 18 ay ve daha büyük çocuklarda ise aşının ardından 1 yıl içerisinde *H. influenzae tip b* bakteriyemisinin meydana gelmediği 1974 yılında belirtilmiştir [17]. Finlandiya’da Peltola tarafından 1977 yılında yayımlanan çalışmada, 18 aydan büyük 100.000 çocukta PRP’nin Hib enfeksiyonuna karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir [17].

Aşısı ile ilgili 1981 yılında yapılan çalışmalarda bir yaşından küçük çocuklarda, immunojeniteyi arttırmak için PRP’nin çeşitli proteinlerle konjugasyonunun yapılabileceği belirtilmiştir [18]. Ruhsatlı ilk Hib konjuge aşısına 1987 yılında difteri toksoidi konjuge edilmiş ve kullanılmıştır [19].

PRP 1989'da, *N. meningitidis* dış membran proteinine konjuge edilerek üretilmiş ve aşının ilk dozda birlikte güçlü bir immün cevap oluşturduğu gösterilmiştir [19].

Yapılan birçok çalışmada aşılama sonrasında Hib hastalığının gelişme oranlarının azaldığı görülmüştür [20]. Ülkemizde Hib aşısı çocukluk çağı rutin aşılama programına 2007 yılında dâhil edilmiştir [21]. Serbest yaşayan organizmalar arasında, genom analizinin ilk yapıldığı etken *H. influenzae* olup tam genom dizilimi Genomik Araştırmalar Enstitüsü'nde Fleischmann ve arkadaşları tarafından 1995 yılında tamamlanmıştır [22].

## **2.2. *Haemophilus influenzae***

### **2.2.1. Mikrobiyolojik Özellikler**

*Haemophilus* türü bakteriler, *Pasteurellaceae* familyası içinde bulunur. *Pasteurellaceae* familyasında ayrıca *Pasteurella*, *Actinobacillus* ve *Aggregatibacter* türleri bulunur. Bu familyanın üyeleri çoğunlukla gram negatif ve aerop/fakültatif anaerop basillerdir [23,24]. *Haemophilus*'lar hareketsiz, küçük (0.5-2 µm x 0.2-0.3 µm), sporsuz, aside dirençsiz, aerop/fakültatif anaerop, pleomorfik yapıda, üremesi zor, gram negatif kokobasil veya kısa basillerdir. *Haemophilus* türleri arasında *Haemophilus influenzae* başta olmak üzere *H. aegyptius*, *H. haemolyticus*, *H. ducreyi*, *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis*, *H. pittmaniae* ve *H. paraphrohaemolyticus* bulunur [25].

*Haemophilus* türlerinin hücre duvarı yapısı, diğer gram negatif basillerle bazı benzerliklere sahiptir. Bununla birlikte, *Pasteurellaceae* ailesinin diğer üyelerine kıyasla daha az miktarda yağ asidi içerir. Ayrıca hücre duvarında 2-keto-3-deoksioktonat içerme oranı da farklı olup bu oran *Salmonella* cinsinde %5-8 arasındayken, *H. influenzae*'da %1'den daha azdır [26]. *Haemophilus* bakterileri üremek için X ve/veya V faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bunlardan X faktörü, hemin biyosentetik yolundaki bir metabolik ara maddedir. V faktörü ise nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) veya nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) şeklinde bilinen iki dehidrojenazdan biridir. X ve V faktörlerinin her ikisi de eritrositlerde yer alır. Üremek için ihtiyaç duyulan faktör ise *Haemophilus* türleri arasında değişmektedir. *Haemophilus* türlerinden *H. influenzae*, *H. haemolyticus* ve *H. aegyptius* üremek için iki faktöre birden ihtiyaç duyar. Diğer türler ise üremek için sadece bir faktöre ihtiyaç duyar. "Para" ön ekine sahip olan *Haemophilus* türleri üremek için sadece V faktörüne ihtiyaç duyarlar [27]. Üreme için uygun koşullar arasında %5-7 CO<sub>2</sub> ve 35-

37°C sıcaklık yer alır. Tüm Haemophilus türleri için siklik adenozin monofosfat (CAMP) reaksiyonu negatiftir [28].

*Haemophilus* bakterileri için çikolata agar en uygun üreme ortamıdır. Besiyerinde 6-8 saat içerisinde küçük kokobasil formu, ardından ise daha uzun basil ve pleomorfik formu baskın yapıdır [29]. Bazı Haemophilus suşları indol üretir ve bu bir kokuya neden olabilir. Haemophilus bakterileri çoğunlukla oksidaz ve katalaz pozitifdir ancak geç oksidaz reaksiyonu meydana gelebilir [30]. Karbonhidrat fermentasyonu yaparlar ve nitratları nitritlere indirgerler. İnsanlarda ve hayvanlarda mukozada kolonizasyon yaparlar [31].

*H. influenzae* suşları, kapsüllü veya kapsülsüzdür. Kapsülsüz suşlar NTHi olarak isimlendirilir. Kapsüllü suşlar ise polisakkarit kapsüldeki antijen yapısına göre a, b, c, d, e ve f şeklinde 6 serotipe ayrılır [32]. a, c, d, e ve f serotiplerinde karbonhidrat alt ünitesi heksoz şekerlerden oluşurken, serotip b’de iki pentoz monosakkaritten oluşur. Serotip b’nin kapsüler antijen yapısı; riboz, ribitol ve fosfodiester bağlarıyla bağlı fosfat içeren lineer bir teikoik asitten oluşan PRP’dır [33]. Kapsüllü Haemophilus suşları mukoid bir görünüme sahip olabilir.

Haemophilus bakterilerinin fenotipik özellikleri Tablo 1’de yer almaktadır. *H. influenzae* ve *H. parainfluenzae* bakterileri indol, ornitin dekarboksilaz ve üreaz özelliklerine göre 8 biyotipe ayrılır [29]. *H. influenzae* ve *H. parainfluenzae* biyotiplerinin özellikleri Tablo 2’de yer almaktadır.

**Tablo 1. Haemophilus Bakterilerinin Fenotipik Özellikleri [28]**

Haemophilus türleri	Faktör		Katalaz	Fermentasyon					İndol	Üre	Ornitin dekarboksi	β-galaktozid	Hemoliz
	X	V		Glukoz	Sükroz	Laktoz	Ksiloz	Mannoz					
<i>H. influenzae</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	D	D	D	-	-
<i>H. aegyptius</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+	+	-	-	D	-	D	+	-	-	+
<i>H. parainfluenzae</i>	-	+	D	+	+	-	-	+	D	D	D	D	-
<i>H. ducreyi</i>	+	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. parahaemolyticus</i>	-	+	D	+	+	-	-	-	-	+	-	D	+
<i>H. pittmaniae</i>	-	+	Z	+	+	-	-	+	B	B	B	+	+
<i>H. paraphrohaemolyticus</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	D	+
<i>H. sputorum</i>	-	+	B	+	B	-	-	-	+	+	-	+	+

+, pozitif; -, negatif; D, değişken; Z, zayıf; B, bilinmiyor.

**Tablo 2. *H. Influenzae* ve *H. Parainfluenzae* Biyotiplerinin Özellikleri [28]**

Türler	Biyotip	İndol üretimi	Üreaz	Ornitin dekarboksilaz
<i>H. influenzae</i>	I	+	+	+
	II	+	+	-
	III	-	+	-
	IV	-	+	+
	V	+	-	+
	VI	-	-	+
	VII	+	-	-
	VIII	-	-	-
<i>H. parainfluenzae</i>	I	-	-	+
	II	-	+	+
	III	-	+	-
	IV	+	+	+
	V	-	-	-
	VI	+	-	+
	VII	+	+	-
	VIII	+	-	-

### 2.2.2. Kültür Özellikleri

*H. influenzae*, aerop/fakültatif anaerop bir bakteri olduğundan adi besiyerlerinde üremez. *H. influenzae* üremek için X ve V faktörlerinin her ikisine birden ihtiyaç duyar. %5 koyun kanlı agar plağına alınan *H. influenzae*, direkt olarak X faktörünü kullanabilir. Buna karşın, eritrositler parçalanarak besiyerine salınmadığından V faktörünü kullanamaz. Bununla birlikte, V faktörü hidrolizasyonu yapan NADaz enzimi koyun kanında bulunur. Bu iki durum nedeniyle koyun kanlı agar besiyerinde *H. influenzae* üremesi gerçekleşmez. Hazırlama sırasında kanın ısıtılması V faktörü inhibitörlerinin yok olmasını sağlar. Yani besiyeri için koyun kanı kullanılacaksa, ısıtılma işlemi V faktörünün *H. influenzae* tarafından kullanılabilmesini sağlar. Dolayısıyla, koyun kanı ile hazırlanan standart çikolata agar, bu ısıtılma işlemi sayesinde *H. influenzae* üretiminde kullanılabilir. Özetle, Haemophilus türlerinin üretilmesi için besiyerine kristal hemin ve NAD eklenmeli veya kan ısıtılarak kandaki eritrositlerin parçalanması sonucunda ortama X ve V faktörlerinin salınması sağlanmalıdır [34].

*H. influenzae* üretiminde kullanılan temel besiyeri ısıyla parçalanmış at kanıyla hazırlanmış çikolata agardır. Çünkü çikolata agar hemin ve NAD içeriği açısından zengin bir kaynaktır. Isıyla

hazırlama işlemi eritrositlerin parçalanmasını ve bunun sonucunda V faktörünün serbest kalmasını sağlar [34].

Bazı Haemophilus cinslerinin üretilmesi nispeten daha zor bir işlemdir. Bunlar arasında yer alan *H. ducreyi* ve *H. aegyptius* üretimi için çikolata agar besiyerine bazı katkı ürünleri eklenebilir. IsoVitaleX™ ve Vitox, bu katkı ürünleri arasında yer alan ticari ürünlerdir. Bu ürünlerin içerisinde adenin, tiamin, vitamin B12, glukoz, sistin, glutamin, guanin, demir ve aminobenzoik asit yer alır [34].

%5 at veya tavşan-kanlı agarda Haemophilus cinsinin hemolize neden olması, bu etkenler için önemli bir ayırıcı özelliktir. *H. influenzae* ve *H. haemolyticus* etkenlerinin ikisi de üremek için X ve V faktörlerinin ikisine birden ihtiyaç duyar. Bunlardan *H. haemolyticus* kanlı agarda hemolize neden olur. İkisi arasında ayırım yapmada bu özellik kullanılabilir. *H. haemolyticus* kolonileri yarı saydam, dışbükey ve S şeklinde meydana gelir. Ayrıca uydu fenomenine neden olmaz. Kanlı agarda beta hemoliz gerçekleşmesine neden olabilir. *H. parahaemolyticus* ve *H. paraphrohaemolyticus*, *H. haemolyticus* ile benzer üreme özellikleri ve koloni morfolojisine sahiptir [34].

Üreme için uygun şartlar arasında 35-37°C, %5-10 CO<sub>2</sub>, 18-24 saat inkübasyon süresi ve besiyeri olarak çikolata agar plağı yer alır. *H. influenzae* kolonileri genellikle yarı saydam, pigmentsiz veya hafif sarı renktedir. Düz ya da dışbükey şekilli, düzgün kenarlı, şebnem tanelerine benzer koloniler olarak görülürler. Koloniler çikolata agarda inkübasyonun ilk 24 saatinde yaklaşık 0.5-0.8 mm, 48 saatte ise 1.0-1.5 mm'lik bir boyuta ulaşır. *H. influenzae*'nin kapsüllü ve kapsülsüz tiplerinin ayırıcı özellikleri arasında, NTHi suşlarının daha büyük (1-3 mm) ve daha mukoid ve ten renginde olması yer alır. Kapsüllü suşlar mukoid bir koloniye neden olurlar [34].

*H. influenzae* ve zor üreyen diğer etkenlerin üretilmesinde çikolata agar dışında Levinthal ve Fildes ticari isimli agarlar da kullanılabilir. Levinthal besiyeri, *H. influenzae*'nin ilk izolasyonunda kullanılır. Görünüm olarak şeffaf ve renksizdir. Levinthal besiyeri kapsülü göstermede kullanışlıdır. Besiyerinde bulunan koloniye açılı bir şekilde gelen ışık altında bakılırken gökkuşağı renklerinde yanardöner bir parlaklık görülmesi etkenin kapsüllü olduğunu gösterir. Koloni yaşlandıkça bu yanardöner parlaklık azalmaya başlar. Hib kolonilerinde daha belirgin bir yanardöner parlaklık görülür. Levinthal besiyerinde kapsüllü olmayan etkenler mavi - yeşil bir renkte görülür. Fildes besiyerinde, enzimatik kan sindirimi aracılığıyla sağlanan X ve V faktörleri

yer alır. Kapsüllü olmayan etkenler Fildes besiyerinde göreceli olarak daha küçük, düşük dışbükey, pürüzsüz ve şeffaf koloniler şeklinde görülür [34].

Solunum yolunda Haemophilus cinsi ile kommensal olarak bulunan organizmalar vardır. Bu nedenle, solunum yolundan alınan numunelerin ekildiği besiyerine basitrasın, vankomisin ve/veya klindamisin kombinasyonunun eklenmesi, solunum yolu florasında bulunan etkenlerin fazla miktarda üremesine engel oluşturarak Haemophilus cinsinin selektif üremesini sağlar. Hemin *H. influenzae* tarafından demir içeren solunum enzimleri, sitokrom, sitokrom oksidaz, katalaz ve peroksidaz sentezinde kullanılmaktadır. Dolayısıyla büyüme işlemi için *H. influenzae* her şartta hemin molekülüne ihtiyaç duyar. Buna karşın anaerobik inkübasyonda daha az hemin molekülüne ihtiyaç duyulur [35].

*H. influenzae* kanlı agar plağında hemolize neden olmaz. MacConkey agarda *H. influenzae* üremez. *H. influenzae*'nin indol üreten suşları âmin benzeri spesifik bir kokuya neden olur. İndol üretmeyen *H. influenzae* suşları ise fare gibi bir kokuya neden olur.

Çikolata agarda *H. parainfluenzae*, *H. influenzae*'dan daha kuru, orta büyüklük veya daha büyük, bronz renk gibi fenotipik özellikler gösterir. *H. parainfluenzae*, tipik olarak kirli beyaz veya sarı renkte bir koloniye neden olur. 24 saatlik inkübasyonun ardından 1-2 mm'lik bir çapa ulaşır. Kolonileri buruşuk veya düzgün meydana gelebilir [35].

*H. parahaemolyticus* ve *H. parainfluenzae* kolonileri görünüm olarak birbirine benzer. Buna karşın, at veya tavşan-kanlı agarda *H. parahaemolyticus* beta-hemolize neden olur. *H. ducreyi* ve *H. aegyptius* daha uzun sürede ürer. Bu süre ortalama 3-5 gün olup diğer etkenlere göre daha uzundur. *H. aegyptius* kolonileri, 48 saatlik inkübasyonun ardından yalnızca 0,5 mm'lik bir boyuta ulaşır. Koloniler dışbükey, yarı saydam ve S şeklindedir. *H. ducreyi* çikolata agarda küçük, düz, pürüzsüz, mukoid olmayan, şeffaf veya opak, ten rengi veya sarı renkte, S şeklinde bir koloni olarak görülür. Kanlı agarda zayıf bir beta hemolize neden olur [35].

Satellitizm, uydu fenomeni olarak da adlandırılır. Bu fenomen, üreme için V faktörü ihtiyacını göstermede kullanılır. %5 koyun kanlı agarda Staphylococcus türleri hemolizin üretir. Üretilen hemolizin çevredeki eritrositlerin parçalanmasına sebep olur. Bu parçalanma sonucunda çevrede V faktörü birikir. Bunun sonucunda, üreme için V faktörüne ihtiyaç duyan Haemophilus türleri, Staphylococcus türlerinin çevresinde üreyerek görülür. Bu durum "satellit" (uydu) veya "süt anne

fenomeni” olarak adlandırılır. *S. aureus* dışında *S. pneumoniae*, *Neisseria* türleri, enterokok, maya gibi organizmalar da uydu fenomeninin görülmesine neden olabilir [35].

Hemolize neden olabilen etkenler arasında bulunan *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus* ve *H. pittmaniae* için çikolata agar kullanılırsa bu etkenlerin hemolitik özellikleri saptanamaz [30].

### 2.2.3. Antijenik Yapısı

*H. influenzae*, endotoksin aktivitesi gösteren lipopolisakkarit (LPS) yapısına sahiptir. Bu yapı hücre duvarında yer alır. Haemophilus cinsi bakterilerde, gram negatif bakterilerde bulunana benzer bir hücre duvarı bulunur. Dış zarlarda ise türe ve kökene spesifik bazı proteinler yer alır. *H. influenzae* 3 temel yüzey antijenine sahiptir. Bu antijenler şunlardır; kapsüler polisakkarit antijeni, lipooligosakkarit (LOS) ve dış zar proteinleri [31].

Kapsül polisakkarit antijeni, *H. influenzae*'nin kapsüllü suşlarının antijenik durumunu belirleyen temel yapıdır. Kapsül yapısı, teikoik asit ve polisakkaritten meydana gelir. Kapsüle bağlı serotiplendirme ilk defa 1930'lu yıllarda Margaret Pitmann tarafından yapılmıştır. *H. influenzae*, kapsülün antijenik özelliklerine göre a, b, c, d, e ve f şeklinde 6 farklı serotipe ayrılır [36]. Bu kapsül negatif yüklü ve hidrofobik bir özellikte olup makrofaj ve fagositoza karşı hücreyi koruma görevi üstlenebilir. Kapsül yapısına sahip bulunmayanlar NTHi olarak adlandırılırlar ve bunlarda polisakkarit yapı bulunmaz [36]. Kapsül yapısına sahip bulunmayan suşlar biyotipleme, dış membran proteini, LOS antijenik farklılıklar ve elektroforetik tiplendirmedeki genetik farklılıklara göre sınıflandırılabilirler [37]. NTHi suşlarının büyük kısmında, kapsüllü suşlara nazaran eşsiz özellikteki dış zar paternleri bulunur ve bu suşlar filogenetik olarak da farklı kabul edilirler [38]. Bu sebeple, tip b kapsül ekspresyonunu kaybetmiş olarak görünen *H. influenzae* izolatları, tiplendirilemeyen sınıf içerisinde bulunmaz. Kapsül ekspresyonu göreceli olarak anstabil kabul edilebilir. Yani, kapsül sentezinde gerekli bulunan genetik materyalin kaybı sebebiyle kapsül ekspresyonu da kaybolur [36]. Tip b kapsülünde, PRP lineer polimeri ile bağlantılı negatif yüklü bir fosfodiester bulunur. Teikoik asit, serotip a, b, c ve f'nin kapsül antijenlerinde bulunur. Serotip d ve e kapsül antijenlerinde fosfat bulunmaz ve bunlar glikozidik olarak bağlantılı polisakkaritlerdir [39].

*H. influenzae*'da yer alan LOS yapısında, gram negatif enterik bakterilerde yer alan LPS yapısından oldukça kısa oligosakkarit yan zincirleri yer alır [40]. Bununla birlikte, *H. influenzae* suşları

arasında LOS yapısı değişkenlik gösterebilir. Öyle ki, LOS yapısı özelliklerine göre en az 10 serotip bulunmaktadır [41]. *H. influenzae*'nin LOS yapısının antijenik farklılığını sağlayan özellikler arasında lipid A, kor polisakkarit ve kısa karbonhidrat yan zincirlerindeki farklılıklar yer alır [42].

*H. influenzae*'da, fonksiyonu bilinen/bilinmeyen çok sayıda yüzey proteini bulunur. Bunlar arasında High Molecular Weight 1 (HMW1), HMW2, P1, P2, P4, P5, P6, Hif A, Hif D, Hif E, Hia (Hsf), IgA proteaz, D15, lipoprotein D, HxuA ve hemopeksin bağlayıcı protein yer alır. Bunlardan P1-P6, majör dış zar proteinleridir. Hemopeksin, bir glikoproteindir ve aynı zamanda hem molekülüne yüksek bir afinite ile bağlanır. Hemopeksinden hem sentezinin anahtarı ise HxuA'dır. *H. influenzae*'nin antijenik yapıları ve fonksiyonları Tablo 3'te yer almaktadır [42].

**Tablo 3. *H. influenzae*'nin Antijenik Yapıları ve Fonksiyonları**

<b>Antijenler</b>	<b>Fonksiyonları</b>
HMW1, HMW2	Adezin
P1, P4, P6	Bilinmiyor
P2	Membran porini
P5	Adezin
Hif A, D	Pilus subuniti
Hif E	Pilus adezini
Hia	Adezin
IgA proteaz	Ig A proteaz
D15	Bilinmiyor
Lipoprotein D	Gliserofosfodiester, fosfodiesteraz
Hemopeksin bağlayıcı protein	Hemopeksin bağlayıcı
HxuA	Hem/hemopeksin bağlayıcı
Pilus	Aderans
Kapsül	Antifagositer özellik
LOS	Membran bütünlüğü

Pilus, antijenik çeşitliliğe katkıda bulunan bir diğer yapıdır [43].

#### **2.2.4. Patogenez ve Virülans Faktörleri**

##### *Kolonizasyon*

Bilinen tek konak insandır. Bulaş damlacık veya direkt temas aracılığıyla gerçekleşir. Kolonizasyon tipik olarak orofarinks ve nazofarenkste meydana gelir. Patogeneze ait süreç, insan

üst solunum yolu mukozasına bakteri kolonizasyonu ile başlar. Bu süreçte yeni bir suş tarafından doğrudan semptomatik solunum yolu enfeksiyonu meydana gelebilir. Bununla birlikte, kolonizasyon gerçekleşmiş yerden doğrudan yayılım gelişerek yakın alanlarda (sinüs, orta kulak ve alt solunum yolu) enfeksiyon meydana gelebilir. Doğrudan yayılım ile enfeksiyon gelişmesinde, kolonizasyon yapmış bakteri yoğunluğu ve biyofilm gerçekleşebilme düzeyi etkilidir. Nazofaringeal kolonizasyon yoluyla veya sinüs veya orta kulaktaki bir enfeksiyon odağı sonucunda menenjit tablosu meydana gelebilir. Etkenlerin tuba auditiva aracılığıyla nazofarinksten orta kulağa direkt ulaşması sonucunda ise otitis media tablosu meydana gelebilir. Solunum sekresyonları ile NTHi suşları konağın eline, buradan da konjonktivaya direkt temas ile bulaşarak konjonktival enfeksiyon gelişebilir [44].

NTHi suşları, mukozal yüzeyde lokal invazyon yaparak hastalık meydana getirir. Komorbid hastalıklar bu süreci kolaylaştırabilir. Örneğin kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) bulunan yetişkinlerin alt solunum yollarında NTHi suşları kronik bir şekilde kolonize durumdadır. Bu suşlar bazı durumlarda hastalık meydana getirebilmektedir. Bu tabloda hastalık meydana gelme riskini arttıran durumlar arasında; konağa yeni bir NTHi suşu bulaşması, suş virülansının yüksek olması, konak immün düzeyinin azalması ve akciğerin sahip olduğu fonksiyon düzeyinin azalması yer alır [44].

Solunum yolu epiteline *H. influenzae* bağlanmasını daha kolay hale getiren çeşitli adhezinler, *H. influenzae* dış zar yapısında yer alır. Bunlar arasında; pili, fimbria, yüksek moleküler ağırlıklı faktörler (HMW1- HMW2) ve Hia yer alır [44].

Bununla birlikte, *H. influenzae* hücre duvarında, solunum yolu siliyer fonksiyonunu bozan ve lokal inflamasyona sebep olan bazı lipoproteinler yer alır. Bu evrede LOS da rol oynar ve kolonizasyon gelişimini kolaylaştırır [45].

#### *IgA proteaz*

IgA proteaz *H. influenzae* tarafından sekrete edilir. Bu enzim, mukozal yüzeyde mevcut olan IgA'nın aglütinasyonuna neden olur. Bu işlem, *H. influenzae*'nin münin içerisinde kalmasını önleyerek bağlanmayı kolaylaştırır. Ayrıca bu işlem ile opsonizasyon daha kolay inhibe edilir. IgA düzeyinin azalması sonucunda ise diğer bakterilerin kolonizasyonu ve çeşitli allerjen maddelerin

penetrasyonu kolaylaştırır. Haemophilus türü içerisinde *H. influenzae*, IgA proteaz enzimini sekrete eden tek bakteridir [46].

### *İnvaziv Enfeksiyonlar*

Haemophilus türü nedeniyle gerçekleşen invaziv enfeksiyonların büyük kısmı Hib tarafından gerçekleştirilir. Bu bakterinin kapsülünde bulunan PRP, çevre dokuya, hematojen yayılıma ve bazen de santral sinir sistemine invazyon gelişmesine neden olacak kadar etkili bir virülans faktörüdür. Kapsüllü diğer suşlardaki glikozilasyon Hib'den farklı olup daha az invazyona neden olur. NTHi suşlarının invaziv özelliği de daha azdır. Bununla birlikte NTHi suşları, epitelyal sıkı bağlantılar aracılığıyla transmural migrasyon veya bağımsız bir hücreler arası mekanizma aracılığıyla vasküler sisteme erişerek invaziv hastalığa neden olabilir [46].

Konak savunması çeşitli yollarla sağlanır. Bunlar arasında; kompleman yolları aktivasyonu, kapsüle karşı oluşan antikorlar, LOS ve dış zar proteinlerine karşı oluşan antikorlar yer alır. Kapsüle karşılık olarak antikorlar meydana gelebilir ve bu antikorlar immünite kazanılmasında birincil rolü oynar. Anti-PRP antikorları, kompleman aracılı bakterisidal ve opsonizasyon gelişimini aktive ederek sistemik bir enfeksiyon gelişimine karşı konağı korumaya çalışır [47,48].

Maternal antikor transferi önemlidir. Yenidoğan bireylerde bulunan maternal antikorlar, enfeksiyon gelişme riskinin daha düşük olmasını sağlar. Bununla birlikte, zamanla bu antikorların düzeyi azalır. Birey iki aylık olduğunda maternal antikorlar anlamlı bir şekilde azaldığından, bu andan itibaren bebekler *H. influenzae* kaynaklı invaziv bir hastalık gelişimi açısından yüksek risk altında kabul edilir [47,48].

Antikorlar aracılığıyla bakteriyel fagositoz ve kompleman aracılı bakterisidal aktivite stimülasyonu gerçekleşebilir. Antikorlar 3 farklı yolla gelişebilir; enfeksiyon, aşı veya maternal transfer. Hastalarda menenjit ve epiglottit gelişme riskini anlamlı bir şekilde arttıran durumlar arasında; anti-PRP antikorunun olmaması, komplemanın olmaması ve splenektomi operasyonu yer alır. Yalnızca *H. influenzae* tarafından sekrete edilebilen IgA proteaz enzimi mukozal yüzey kolonizasyonunu daha kolay hale getirir [47,48].

*H. influenzae*'nin çeşitli virülans faktörleri Tablo 4'te yer almaktadır. Bu noktada *H. influenzae* tarafından ekzotoksin üretilmediği de belirtilmelidir.

**Tablo 4. *H. influenzae*'nin Virülans Faktörleri [48-50]**

Virülans faktörü	Özellik
Kapsül	En önemli virülans faktörü olup opsonizasyon ve fagositozdan bakteriyi korur.
Endotoksin	Solunum yolunda bulunan silli epitel hücrelerine karşı toksik etkilidir.
IgA1 proteaz	Serbest ve antijene bağlı IgA1'i parçalar.
Hemoglobin/demir bağlayıcı proteinler	İnsan transferrininden doğrudan hemini bağlar.
Biyofilm	Koloni gelişimini artırarak kronik enfeksiyon gelişimine neden olur.
<b>Adezinler</b>	
Hemaglutine edici pili	Yapımı <i>hif</i> A-E gen bölgesinde kontrol edilir.
Tip 4 pilus	<i>pilABCD</i> gen kümesi motilite sağlanmasında görev alır.
HMW1 ve HMW2	<i>Bordetella pertussis</i> 'in filamentöz hemaglutinini ile homolog durumdadır. NTHi suşlarının %53-75'inde yer alır.
Hap	IgA proteaz ile homolog durumdadır. Mikro koloni gelişimine neden olur. IgA proteaz ile dizi benzerliğine sahiptir fakat insan IgA1'ini parçalayamaz.
Hia	NTHi suşlarında yer alır ancak HMW1 ve HMW2 ekspresyonu yapabilen suşlarda bulunmaz.
Hsf	Yüzey fibrilleri olup Hib suşlarında yer alır. Hia ile homolog durumdadır.
OMP P5	Fimbrin olarak da isimlendirilir. Müsin'e bağlanır. <i>E. coli</i> 'deki OMP A ile homolog durumdadır
OMP P2	Müsin'e bağlanır.
OMP P6	Genetik çeşitliliği diğer dış zar proteinlerine göre daha düşük durumdadır.
PE bağlayıcı adezin	Fosfatidil etanolamin'e bağlanır.
Protein E	Miyelom IgD ve tip 2 alveolar hücrelerine bağlanır.
LOS	Solunum yolu epiteline bağlanır.

IgA1, İmmunglobulin A1; OMP, dış zar proteini.

Fimbria, kapsüllü ve kapsülsüz suşlarda yer alır. Epitele tutunmada görev alarak kolonizasyon gelişimini kolaylaştırır. Bununla birlikte fimbrialar, eritrosit aglütinasyonu yaparlar [48-50].

Diğer gram negatif bakterilerde de bulunduğu üzere, *H. influenzae*'nin hücre dış zarında LPS bulunur. Bununla birlikte, *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan LPS'den farklı olarak tekrarlayan terminal yan zincirler *H. influenzae*'da bulunmaz. Yani *H. influenzae*'da "O" veya somatik antijen bulunmaz. Kapsüllü ve kapsülsüz *H. influenzae* suşlarının lipid A yapısı birbirinden farklı olabileceğinden, *H. influenzae* suşlarındaki LPS, LOS şeklinde isimlendirilir. LOS yapısı kompleman aracılığıyla bakteri lizisi gelişimini engeller [48-50].

Dış zar proteinleri hücre zarının ana yapılarından biridir. *H. influenzae*'da 25-35 adet dış zar proteini yer alır. P2 ve P6 şeklinde bilinen dış zar proteinleri aşı antijeni olarak çalışılmıştır. Dış zar proteinlerinin yarısından fazlası P2, %1-5'i ise P6'dır [48-50].

Hib suşlarının büyük kısmı tarafından hemosin isimli bir bakteriyosin üretilir. Bakteriyosin üretebilme özelliği kazanılabilir ve kaybedilebilir. Hemosin, DNA sentezinin inhibisyonunda rol alır. Bununla birlikte, mukozal yüzeyde kolonizasyon gelişiminde etkilidir [48-50].

### 2.3. Epidemiyoloji

Üst solunum yollarında asemptomatik kolonizasyon etkeni olarak Hib suşu nadiren görülür. Ancak sağlıklı kişilerin %90' ından fazlasında farenkste ve nazofarenkste NTHi ve *H. parainfluenzae* suşları bulunur. Dolayısıyla Haemophilus türünün bu üyeleri yetişkin bireylerin büyük kısmında belirtilen yerlerin floral mikrobiyotası içerisinde yer alır. Üst solunum yolu floral mikrobiyotasında kapsüllü *H. influenzae* suşları da yer alabilir. Hib ve NTHi suşlarının bazı özellikleri kıyaslanabilir şekilde Tablo 5'te yer almaktadır.

**Tablo 5. Hib Ve NTHi Suşlarının Bazı Özelliklerinin Kıyaslaması**

Özellik	Hib	NTHi
Üst solunum yollarında kolonizasyon oranı	Aşılı bireylerde: <% 1 Aşısız bireylerde: %2-4	%30-80
Kapsül	PRP kapsül	Kapsülsüz
Hastalık	İnvaziv enfeksiyonlar	Lokal enfeksiyonlar
Evrimsel süreç	Klonal	Genetik olarak çeşitli
Aşı	PRP konjuge aşıları	Yok

PRP, Poliribozil ribitol fosfat.

Kolonizasyon gelişiminde solunum yolları etkin bir role sahiptir. NTHi suşlarının solunum yollarına giriş ve çıkışı aynı anda geliştiğinden, suşların alınması ve temizlenmesi dinamik bir süreç olarak devam eder. Doğumla birlikte bir yıl içerisinde nazofarenkste *H. influenzae* kolonisinin gelişimi otitis media gelişme riskini arttırmaktadır [51].

*H. influenzae* için bilinen tek konak insandır. Bulaş damlacık veya direkt temas aracılığıyla gerçekleşir. Yani sadece insandan insana bulaş gerçekleşir ve başka bir doğal konağı yoktur. Doğum anında amniyon sıvısı ve/veya genital akıntılar ile doğrudan temas olması enfeksiyon gelişimine neden olabilir. Bu da neonatal enfeksiyon ile sonuçlanabilir. Dolayısıyla *H. influenzae*

ile karşılaşma riski doğumla birlikte başlar. *H. influenzae* kolonizasyonu bir yaşına kadar bebeklerin tahminen %20'sinde, beş yaşına kadar ise çocukların %50'sinden fazlasında meydana gelir [52].

Çocukluk aşısı programına Hib aşısı eklenmeden önce, dünya genelinde invaziv *H. influenzae* enfeksiyonu gelişiminde en sık görülen etken Hib idi. Hib aşısının kullanıma girmesi ve yaygınlaşması sonucunda Hib menenjitisi insidansı anlamlı bir şekilde düşmüştür [53,54]. Hib aşısı ile invaziv hastalık gelişme riski bütün yaş gruplarında azalmıştır. Aynı zamanda *H. influenzae* taşıyıcılık oranı da aşılarla birlikte azalmıştır [55]. Çocuklarda invaziv Hib enfeksiyonu insidansı aşılanlardan önce 100.000'de 20'den daha yüksek iken, aşılarla birlikte bu sayı 2018'de 100.000'de 0.08 olarak tespit edilmiştir [56]. Günümüzde Hib enfeksiyonlarının büyük kısmı çeşitli komorbid hastalıkları bulunan, genel durumu bozuk yaşlı bireylerde meydana gelmektedir [57].

Hib aşısının kullanıma girmesi ve yaygınlaşması invaziv hastalığa sebep olan etkenlerin oranını da değiştirmiştir. Bütün yaş gruplarında invaziv *H. influenzae* enfeksiyonu gelişimine günümüzde en sık neden olan etken kapsülsüz *H. influenzae* suşlarıdır [58]. Bu oranların değişimi başka çalışmalarda da gösterilmiş ve invaziv *H. influenzae* enfeksiyonlarında NTHi ve *H. influenzae* tip a ve f'nin daha sık görüldüğü tespit edilmiştir [59,60]. Bir başka çalışmada bütün yaş gruplarında invaziv enfeksiyonun en sık görülen etkeni NTHi olarak tespit edilmiştir [61]. Dolayısıyla Hib aşısı ile birlikte epidemiyolojik veriler anlamlı bir şekilde değişime uğramıştır.

Türkiye'de yapılan araştırmalarda *H. influenzae* faringeal taşıyıcılık oranı 5 yaş altındaki çocuklarda %77, 5 yaş üstü çocuklarda ise %59 olarak tespit edilmiştir [62]. Bir başka araştırmada gündüz bakımevlerine giden 0-71 ay arasındaki çocuklarda *H. influenzae* faringeal taşıyıcılık oranı %48,7 olarak tespit edilmiş olup suşlara göre oranın Hib için %7,2, diğer kapsüllü serotipler için %7,6 ve NTHi için %33,9 olduğu belirtilmiştir [63].

#### **2.4. Risk Faktörleri**

İnvaziv enfeksiyon gelişiminde majör etken Hib'dir. Kapsüllü *H. influenzae* tip a ve kapsülsüz suşlar da invaziv enfeksiyon meydana getirebilir. Kapsülsüz suşlar ile invaziv enfeksiyon gelişme riski daha az olup çoğunlukla otitis media, sinüzit ve konjunktivit gibi mukozal tutulumla ait hastalıklar meydana gelir.

Hib enfeksiyonu gelişme riskini arttıran çeşitli faktörler vardır. Bu faktörler genel olarak; etkenle karşılaşmaya neden olan faktörler ve konak faktörleri olarak iki gruba ayrılır. Etkenle karşılaşmaya neden olan faktörler arasında kalabalık ev ortamı, sosyoekonomik düzeyin düşük olması, ebeveynlerin eğitim düzeyinin düşük olması, ebeveynlerin sigara içmesi, okula giden kardeşlerin olması, mevsimler ve gündüz bakımevine gidilmesi bulunur [64,65]. Hib enfeksiyonu gelişme riskini arttıran konağa ait faktörler arasında ise aşıların yapılmamış olması, yaş (<5 yaş ve ≥65 yaş), ırk ve kronik hastalıklar bulunur. Kronik hastalıklar grubunda orak hücreli anemi, fonksiyonel veya anatomik aspleni, HIV enfeksiyonu, immunglobulin eksikliği/yetmezliği, kompleman eksikliği/yetmezliği, malignite, kemoterapi alımı, radyoterapi alımı ve kök hücre nakli bulunur. Yetişkin bireylerde kapsüllü ve kapsülsüz *H. influenzae* suşlarıyla enfeksiyon gelişimini arttıran faktörler arasında komorbid hastalıklar (kistik fibrozis, KOAH, bronşektazi gibi), sigara ve alkol tüketimi ve hamilelik yer alır [66].

## **2.5. Hemofilusların Neden Olduğu Enfeksiyonlar**

### **2.5.1. *H. influenzae* Enfeksiyonları**

#### *Menenjit*

*H. influenzae* enfeksiyonu nedeniyle meydana gelebilecek en önemli ve ciddi hastalıklardan biridir. Menenjit tablosuna neden olan etkenlerin oranı, *H. influenzae* aşısının kullanıma girmesinden önce ve sonra birbirinden farklıdır. *H. influenzae* aşısının kullanıma girmesinden önceki dönemde 1 ay - 2 yaş arası çocuklarda bakteriyel menenjitin en sık görülen nedeni *H. influenzae*'ydi ve hastaların >%90'ında etken serotip b idi [67].

Menenjit tablosundan önce hastalarda genellikle farenjit, sinüzit veya otitis media gibi üst solunum yolu enfeksiyonu kliniği meydana gelir. *H. influenzae* kaynaklı menenjitte meydana gelen klinik tablo diğer pürülan menenjit tablolarına benzer. *H. influenzae* kaynaklı menenjit tablosu günümüzde en çok aşısız kişilerde veya primer immünizasyonu eksik olan küçük bebeklerde meydana gelir. Yetişkinlerde *H. influenzae* kaynaklı menenjit tablosu nadiren meydana gelir ve genellikle hikâyede kafa travması, beyin cerrahisi, paranazal sinüzit, otitis media veya BOS sızıntısı mevcuttur. Yenidoğan grubunda *H. influenzae* kaynaklı menenjit tablosu nadiren meydana gelir. Klinikte ateş ve merkezi sinir sistemi disfonksiyonu sık görülür fakat küçük çocuklarda genellikle ateş ve halsizlik gibi nonspesifik belirtiler görülür. Örneğin klinikte ense sertliği

genellikle görülmez. Nöbet ve koma gibi spesifik klinik tablo, hastalık şiddeti arttıkça meydana gelir [68]. Sık görülen komplikasyonlardan biri subdural efüzyon olup diğer komplikasyonlar arasında beyin apsesi, beyin sapı apsesi, perikardit ve septik artrit yer alır. *H. influenzae* kaynaklı menenjitte bağlı genel mortalite oranı, tedavi alan bireylerde <math><5\%</math>'tir. Buna karşın, mortalite gelişmemiş bireylerin büyük kısmında kalıcı sekel meydana gelmektedir [69].

### *Epiglottit*

Supraglottik dokularda selülit gelişimiyle karakterize bir klinik tablodur. *H. influenzae* kaynaklı enfeksiyonlar arasında ikinci sırada gelir. Hib ile ilişkilidir. Epiglottit hastalığının en sık görülen sebebi *H. influenzae* enfeksiyonudur. *H. influenzae* aşısının kullanıma girmesi, çocuklarda epiglottit insidansının anlamlı bir şekilde düşmesini sağlamıştır. Klinik seyir fulminan olarak başlar. Klinik sürecin sonucunda obstrüktif larengeal ödem gelişebilir. Potansiyel olarak hayatı tehdit eden önemli bir tablo olduğundan pediatrik aciller arasında yer alır. Epiglottit sıklıkla 2-7 yaş grubunda meydana gelir. Klinikte ilk olarak boğaz ağrısı, ateş ve dispne gibi nonspesifik belirtiler meydana gelir. Ancak devamında klinik seyir hızlanır ve disfaji, hırıltılı solunum, oral sekresyonlarda birikme ve ağızdan salya gelmesi gibi semptomlar görülür. Belirtilen yaş grubunda bu ani klinik seyir, epiglottit ile krup ve boğmaca arasında ayırıcı tanı yapılmasında önemlidir. Epiglottit hastaları huzursuz ve kaygılıdır. Bu hastalar hava yolu obstrüksiyonunu azaltmak için boynu ekstansiyona getirerek ve çeneyi öne çıkararak oturur. Kliniğin hızlı bir şekilde bozulması sıklıkla birkaç saat içerisinde oluşur ve uygun tedavi almayan bireylerde mortalite meydana gelir [70].

### *Otitis Media*

Akut otitis media, sıklıkla bir üst solunum yolu enfeksiyonunu takiben meydana gelen, bakteri ve/veya virüslerle oluşan bir enfeksiyon tablosudur. *H. influenzae* ve *S. pneumoniae*, kronik ve akut otitis media tablosuna en sık sebep olan etkenlerdir. NTHi suşları, tüm akut otitis media olgularının %25-35'inde sorumlu etkindir. Bakteriyel akut otitis media olgularının neredeyse üçte biri *H. influenzae* enfeksiyonu ile meydana gelir. *H. influenzae* kaynaklı otitis media olgularının yaklaşık %90'ında etken NTHi suşları, %10'unda ise etken Hib'dir. NTHi suşları, nazofarenks kolonizasyonunun ardından tuba auditiva aracılığıyla orta kulağa ulaşarak enfeksiyon meydana getirir. Klinikte ateş, huzursuzluk ve kulak ağrısı görülebilir. Otitis media gelişimi açısından en fazla riskli olan bireyler bebekler ve küçük çocuklar (6 ay - 5 yaş) olup pik insidans 6-13 ay

arasındaki bireylerde görülür. Küçük çocuklarda tuba auditivaya ait koruyucu mekanizmalar yeterince gelişmemiş olduğundan, akut otitis media gelişimi açısından bu bireyler daha büyük bir risk altındadır [71].

Tanı için pnömatik otoskopi muayenesi yapılır. Altta yatan etiyolojik etkeni belirlemek için timpanosentez yapılabilir ancak bu yöntem rutin olarak yapılan bir işlem değildir. *S. pneumoniae* ile kıyaslandığında, NTHi suşları ile meydana gelmiş otitis media enfeksiyonunda ateş ve otore meydana gelme ihtimali daha düşüktür. Ayrıca NTHi suşları rekürren otitis media, tedavide başarısızlık, komorbid konjonktivit, amoksisilin kullanım hikâyesi ve bilateral otitis media ile ilişkilidir. Bu klinik özellikler altta yatan etken hakkında bilgi verir. Gelişme ihtimali bulunan komplikasyonlar arasında rekürren otitis media, orta kulak efüzyonu, işitme kaybı, mastoidit, menenjit, kronik otitis media, beyin apsesi ve sepsis yer alır [71].

### *Pnömoni ve Ampiyem*

Hib enfeksiyonu kaynaklı primer akciğer enfeksiyonunun çocuklardaki epidemiyolojik verilerini kesin bir şekilde tespit etmek zordur. Bununla birlikte, <2 yaş bireylerde pnömoninin en sık görülen etkenlerinden biri olarak kabul edilir. Tipik olarak 4 ay - 4 yaş grubundaki çocuklarda görüldüğü söylenebilir. Yetişkinlerde ise komorbid hastalıkların varlığında meydana gelir. *H. influenzae* aşısının kullanıma girmesi ile birlikte *H. influenzae* kaynaklı pnömoni insidansı anlamlı bir şekilde azalmıştır. Daha çok lobar pnömoni yapmaya meyillidir. Klinik genellikle şiddetli olur ve hastaneye yatış yapılmasını gerektirir. *H. influenzae* kaynaklı pnömoniyi *S. aureus* ve *S. pneumoniae* kaynaklı pnömoniden ayıran tek klinik özellik, kliniğin daha sinsi bir şekilde başlamasıdır. Klinikte ciddi dispne, taşikardi ve kardiyovasküler yetmezlik bulgularının mevcut olması ise akla perikardit getirmelidir. Perikardit nadiren meydana gelmekle birlikte önemli bir komplikasyondur. Nadiren de olsa, *H. influenzae* kaynaklı pnömoni hastalığı sonrasında bronşektazi gibi bir sekel gelişebilir. NTHi suşları, komorbid akciğer hastalıklarına veya diğer hastalıklara sahip olan yaşlı hastalarda pnömoni gelişmesinin önemli bir sebebidir [71].

### *KOAH*

KOAH tanılı hastalardan alınan balgam ve bronkoskopi numunelerinde en sık görülen patojenler arasında NTHi, *S. pneumoniae* ve *M. catarrhalis* bulunur. Bu durum KOAH gelişimi ile NTHi suşları arasında bir ilişki olduğunu gösterir [72]. Ayrıca kronik bronşit tanılı hastaların alt

solunum yollarında genellikle NTHi suşlarının kolonizasyonu vardır ve bu durum akut KOAH alevlenmelerinin meydana gelmesine sebep olur. Dolayısıyla KOAH hastalarının aralıklı alevlenmelerinde NTHi suşlarının rolü büyüktür [73].

### *Selülit*

Sıklıkla etmoid sinüzitin bir komplikasyonu olarak meydana gelir. *H. influenzae* kaynaklı selülit vakalarının büyük kısmı küçük çocuklarda meydana gelir. Sistemik belirtiler arasında ateş ve halsizlik yer alır. Genellikle bir yanakta veya periorbital bölgede meydana gelir. Lezyon tipik olarak kırmızımsı - mavi renkte ve ciltten kabarıktır. Ayrıca ısı artışı ve hassasiyete sahiptir. Birkaç saat gibi kısa bir sürede yumuşak doku tutulumu şiddetlenir. Hastaların bir kısmında başka septik odaklar da mevcut olabilir. Bu nedenle hastalarda, menenjit gibi *H. influenzae* kaynaklı diğer klinik tablolar araştırılmalıdır [51].

### *Bakteriyemi*

Hib kaynaklı akut menenjit tablosunda sık görülen ve erken meydana gelen bir bulgudur. Buna karşın, özellikle çocuklarda olmak üzere, menenjit veya lokal hastalık belirtisi olmadan da bakteriyemi meydana gelebilir. Yenidoğanlarda perinatal bulaş nedeniyle meydana gelir. Hib, yenidoğan döneminin ardından meydana gelen bakteriyemi olgularının %90-95'inde sorumlu etkidir. Klinikte karakteristik olarak ateş, anoreksi ve letarji bulunur. *H. influenzae* kaynaklı bakteriyemi gelişimi açısından, orak hücreli anemi veya splenektomi operasyonu öyküsü bulunan çocuklar daha duyarlıdır. Ayrıca bakteriyemi alkolizm, kardiyopulmoner hastalık, HIV enfeksiyonu ve malignite bulunan kişilerde daha sık görülür. Tanıda kan kültürü yapılarak etken izolasyonu gerçekleştirilebilir. Bakteriyemi kliniği hızlı bir şekilde ilerleyerek septik şok veya lokalize pürülan odak meydana getirebileceğinden bu hastaların hemen tanınması ve uygun tedavi alması önemlidir [51].

### *Septik Artrit*

Hib, küçük çocuklarda septik artrit en önemli etkenidir. Ayrıca <2 yaş çocuklarda septik artrit en sık görülen sebebidir. Sıklıkla tek eklemi tutar. Genellikle büyük ve ağırlık taşıyan eklemlerde (kalça, diz, vb.) hastalık meydana getirir. Kinik bulgular arasında harekette azalma, hareket esnasında ağrı ve şişlik yer alır. Tedavide sistemik antibiyotik verilebilir. Bu tedavi ile klinikte dramatik ve anlamlı bir iyileşme görülür. Bununla birlikte, hastalar uzun süre takip altında

tutulmalıdır çünkü kalıcı eklem fonksiyon bozukluğu meydana gelme riski fazladır. *H. influenzae* kaynaklı septik artrit yetişkinlerde de meydana gelebilir. Bununla birlikte, Hib ve *S. aureus* kaynaklı septik artrit arasında klinik olarak ayırıcı tanı yapılamaz [51].

### *Sinüzit*

Üst solunum yollarında virüs kaynaklı bir enfeksiyonu takiben, nazofarenkste kolonize olarak bulunan NTHİ suşlarının komşuluk yoluyla yayılması akut ve kronik sinüzit gelişmesine sebep olabilir. Akut maksiller sinüzitin sık görülen sebepleri arasında NTHi suşları yer alır. Klinik bulgular arasında burunda tıkanıklık, pürülan karakterde burun akıntısı, nonspesifik baş ağrısı ve yüz ağrısı yer alır. Bazı hastalarda yüz bölgesinde hassasiyet, ödem ve periorbital solgunluk gelişebilir. Altta yatan etiyolojik etkeni belirlemek için sinüs aspirasyonu yapılabilir ancak bu yöntem rutin olarak yapılan bir işlem değildir [51].

### *Diğer Hastalıklar*

Nadiren de olsa çocuklarda *H. influenzae* kaynaklı osteomyelit meydana gelebilir. Bahsedilen hastalıklar dışında *H. influenzae* enfeksiyonu sonucunda perikardit, orbital sellülit, endoftalmit, üriner sistem enfeksiyonu, neonatal sepsis, şant enfeksiyonu, nekrotizan fasiit, peritonit, skrotal abse, beyin apsesi, poliserozit, tenosinovit, epididimit, akciğer apsesi, periappendiküler apse ve trakeit meydana gelebilir [74]. *H. influenzae* enfeksiyonu nedeniyle çocuklarda sklerit, subkonjonktival apse ve endoftalmit meydana gelebilir. Çocuk yaş grubunda bakteriyel konjonktivit etkenleri arasında en sık görülen etken NTHi suşlarıdır. Çocuk bakımevlerinde ve kreşlerde NTHi suşları kaynaklı konjonktivit bir salgın olarak meydana gelebilir. NTHi suşları kadın hastaların genital kanalında kolonizasyon yaparak obstetrik ve jinekolojik enfeksiyonların meydana gelmesine sebep olabilir [75]. NTHi suşları ile neonatal sepsis gelişebilir ve bu durumda mortalite yüksektir.

## **2.5.2. Diğer Hemofilus'ların neden olduğu enfeksiyonlar**

### *H. parainfluenzae*

Üst solunum yollarında *H. parainfluenzae* kommensal bir şekilde yer almaktadır. Orofarinks floral etkenleri arasında baskın bir şekilde yer alan Hemofilus türüdür. Ayrıca diğer Hemofilus türleri içerisinde de en yaygın görülen patojendir. *H. parainfluenzae* kaynaklı olarak farenjit, epiglottit, otitis media, sinüzit, konjonktivit, dental apse, pnömoni, ampiyem, sepsis, endokardit, septik artrit,

osteomyelit, peritonit, üriner ve genital sistem enfeksiyonları meydana gelebilir [76]. Nadiren de olsa *H. parainfluenzae* kaynaklı menenjit ve beyin apsesi de meydana gelebilir. HACEK grubunun üyeleri arasında yer almaktadır.

### *H. aphrophilus*

Orofarinks kavitesinde ve üst solunum yollarında normal floral etkenleri arasında yer alır. *H. aphrophilus*, endokardit hastalığının gelişmesine sebep olabilir. HACEK grubunun üyeleri arasında yer almaktadır [77].

### *H. segnis*

Farinksin normal floral etkenleri arasında yer alır. Ayrıca diş plağında da yer alır. Endokardit hastalığının gelişmesine sebep olabilir [78].

### *H. aegyptius*

Robert Koch tarafından 1882 yılında, Mısır'da akut pürülan konjonktivit hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir. Daha sonraki dönemde, *H. aegyptius* olarak adlandırılmıştır. Koch-Weeks basili şeklinde de isimlendirilir. Hastalarda akut klinik seyirli ve pürülan karakterli bir konjonktivit tablosuna sebep olur. Ayrıca Brezilya purpurik ateşi denilen bir hastalığa neden olur. Bu hastalık küçük çocuklarda meydana gelir. Klinikte ateş, hızlı ilerleyen purpura, hipotansif şok ve pürülan konjonktivit yer alır. 7-10 gün içerisinde mortaliteye neden olabilen bulaşıcı bir hastalıktır.

### *H. ducreyi*

Cinsel yolla bulaşan şankroid gelişmesine neden olur. Şankroid ilk olarak hassasiyet gösteren bir papül şeklinde başlar. Daha sonra püstüler hale gelir. Son olarak ise ülserleşir. Bu lezyonlar, tek taraflı inguinal lenfadenit ile birlikte daha büyük ülserler meydana getirmek amacıyla birleşir. HIV endemik bölgelerde HIV'in bulaşını kolaylaştırdığından önemli bir etkidir.

## **2.6. Laboratuvar Tanısı**

### *Mikroskopi*

Haemophilus türleri gram boyamada küçük boyutlu, pleomorfik şekilli, gram negatif kokobasil, basil ya da filamentöz şekilde görülür. Pleomorfik şekillerinden dolayı gram boyama görünümleri

*N. meningitidis* gibi diğer gram negatif bakteriler ile karışabilir. Bu nedenle yayma dikkatle incelenmelidir.

*H. influenzae* kaynaklı menenjit şüphesinde tanı için BOS alınarak gram boyamada doğrudan incelenmelidir. Bu inceleme hızlı bir şekilde tanı konulmasını sağlar. Alınan BOS numunesi 1-2 mL'den fazla ise inceleme ve kültür yapılabilir. İnceleme ve kültür işlemi için numune santrifüj edilebilir veya sitosantrifüj cihazında 10 dakika süreyle 10.000 x g'de santrifüj yapılarak sağlanan çökelti kullanılabilir. Santrifüj işlemi, BOS numunesinde bulunan bakteri sayısı az olsa bile bakterinin tespit edilme oranını artırır. Diğer steril vücut salgılarından da yayma yapılmalıdır. Orta kulak sıvısı ve sinüs aspirat numuneleri, sitosantrifüj işlemi yapılmaksızın direkt incelenmelidir. Alt solunum yollarına ait numuneler için balgam, endotrakeal aspirat, transbronşial biyopsi, bronşiyal fırça biyopsi ve torakotomi numuneleri direkt yapılabilir. Buna karşın bronş yıkama ve bronkoalveoler lavaj numuneleri sitosantrifüj işlemi takiben yapılabilir. Eğer hastada klinik olarak menenjit şüphesi yüksekse, BOS sedimentine gram boyama ve metilen mavisi ile boyama yapılmalıdır. Metilen mavisi ile boyama, *H. influenzae* gibi gram negatif organizmaların daha kolayca ayırt edilebilmesini sağlar.

Klinik tablo ve numunenin gram boyama görüntüsü *H. influenzae*'nin olası etken olduğunu düşündürülebilir. Buna karşın gram boyama ile tanımlama gerçekleştirilemez. Ayrıca gram boyamanın *Haemophilus* açısından negatif olması, enfeksiyon varlığını ekarte ettirmez [28].

#### *Antijen Saptama*

Hib enfeksiyonu tanısının hızlı bir şekilde konulmasında BOS, serum ve idrar numunesinde tip b PRP kapsüller antijeni varlığını araştırarak çeşitli teknikler vardır. Ticari olarak var olan teknikler; lateks aglütinasyon, enzim immunoassay, monoklonal antikorlar ve stafilokok protein A koaglütinasyon testleridir. Bu kitler ile vücut salgılarında Hib PRP antijeni ile birlikte *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve grup B streptokok antijenleri tespit edilebilir. Epiglottit teşhisi için ELİSA yöntemi ile IgM ve IgG antikorları araştırılabilir. Bu teknikler ile etken hızlı bir şekilde tanımlanabilir fakat gram boyamayla kıyaslandığında sensitivite ve spesifiteleri daha düşük düzeydedir. Bu sebeple antijen saptamaya yönelik tekniklerin klinik değeri sınırlıdır ve yapılmaları sıklıkla tavsiye edilmez. Antijen saptama teknikleri hastalığa ait prevalans yüksekse, rutin olarak yapılan kültürün yapılması güvenilir değilse ve kaynaklar kısıtlıysa faydalı olabilir [28].

## *Moleküler Teknikler*

Nükleik asit amplifikasyon testleri tanıda kullanılabilir. Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı testler tanı için özellikle kullanışlıdır. Bu testler ile BOS, plazma, serum ve tam kan gibi çok sayıda klinik numuneden direkt olarak *H. influenzae* tespiti yapılabilir. Bu teknikler ile ayrıca menenjit gibi spesifik enfeksiyonların diğer sık görülen bakteriyel etkenleri tespit edilebilir. Bu tekniklere ait sensitivite oranları teknikler arasında birbirinden farklı iken, spesifite oranları sıklıkla yüksektir. Klinik numunelerde organizma sayısı ne kadar az olursa sensitivite oranı da o kadar az olur. Dolayısıyla numunede bulunan organizma sayısı bu teknikler için bir kısıtlayıcı faktördür. Bir başka kısıtlayıcı faktör antimikrobiyal tedavidir. Uygun antimikrobiyal tedavinin ilk dozu verildikten sonra alınan kültür genellikle negatif gelir ancak patojenin temizlenmesinin ardından en az 2 hafta boyunca hastanın kan ve BOS numunelerinde bakteriyel DNA var olabilir. Bu nedenle bu teknikler ile yanlış pozitiflikler görülebilir. Dolayısıyla antimikrobiyal tedavi de bu teknikler için bir kısıtlayıcı faktördür. Bununla birlikte, solunum yolundan alınan numunelerde *Haemophilus* türlerine ait kommensal bakterilerin yaygın olarak yer alması sonuçların yorumlanmasında zorluklara neden olur [28].

## **2.7. Tedavi ve Korunma**

### **2.7.1. Tedavi**

*H. influenzae* kaynaklı enfeksiyonların büyük kısmına empirik olarak tedavi verilir. *H. influenzae*'ya karşı etkinliği bulunan antibiyotikler içerisinde beta-laktamlar (amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, 2. ve 3. kuşak sefalosporinler), florokinolonlar, makrolidler ve tetrasiklinler bulunur. Tedavide sıklıkla ilk olarak beta-laktamlar kullanılır. Antimikrobiyal tedavi ile birlikte tüm hastalara destek tedavisi de verilmelidir.

Otitis media, sinüzit ve KOAH alevlenmesi gibi sistemik olmayan ve hayatı tehdit etmeyen *H. influenzae* enfeksiyonlarının çoğunda empirik tedavi olarak amoksisilin + klavulanik asit verilir [45]. Bu hastalıklarda ayrıca makrolidler veya florokinolonlar da verilebilir.

Uygun şekilde hızla tedavi edilmeyen menenjit veya epiglottit hastalarında mortalite oranı neredeyse %100'dür. Bu nedenle sistemik *H. influenzae* enfeksiyonu bulunan hastalara hızlı bir şekilde uygun antimikrobiyal tedavi verilmelidir. Hib kaynaklı sistemik enfeksiyonların tedavisinde 3. kuşak sefalosporinler verilebilir [79]. Tedavi süresi genellikle 7-10 gündür. Bununla

birlikte endokardit veya osteomyelit gibi komplikasyon gelişmiş ileri düzey enfeksiyonlarda 3-6 hafta süreyle parenteral tedavi verilmesine ihtiyaç olabilir. Sefalosporin tedavisine alternatif olarak florokinolonlar, tetrasiklinler ve karbapenemler yer almaktadır [45]. Ampisilin kullanımına karşı yüksek direnç düzeyleri olabildiğinden, hastada invazif bakteriyel enfeksiyon şüphesi varsa ampisilin yalnız başına verilmemelidir [80]. Hib kaynaklı menenjit düşünülen hastalara ilk tedavide alternatif olarak ampisilin ve kloramfenikol kombinasyonu verilebilir [81]. Bununla birlikte, adjuvan olarak deksametazon tedavisinin verilmesi, Hib kaynaklı menenjit sonrasında sekel meydana gelme riskini azaltır [80].

Hib kaynaklı invaziv enfeksiyon tanısı almış hastalar ile yakın temas içerisinde bulunmuş erişkin bireylere, 4 yaşından küçük çocuklara ve immünkompromize çocuklara profilaktik tedavi olarak rifampin verilmesi tavsiye edilmektedir [48]. Hamilelere bu profilaktik tedavi verilmez.

**Tablo 6. Haemophilus Türlerine Bağlı Enfeksiyonların Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Hedef Yerleri [83]**

<b>Antibiyotik</b>	<b>Hedef</b>
<b>Hücre duvarı sentezini inhibe eden antibiyotikler</b>	
Beta laktamlar	Transpeptidazlar (PBP)
<b>Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler</b>	
Makrolid	Ribozom 50S alt ünite
Tetrasiklin	Ribozom 30S alt ünite
Kloramfenikol	Ribozom 50S alt ünite
<b>DNA replikasyonunu inhibe eden antibiyotikler</b>	
Kinolon	DNA giraz
Rifampisin	RNA polimeraz
<b>Folik asit sentezini inhibe eden antibiyotikler</b>	
Trimetoprim	Dihidrofolat redüktaz (DHFR)
Sulfometoksazol	Dihidropteroat sentaz (DHPS)

## 2.7.2. Korunma

### Aşı

Haemophilus türlerine bağlı enfeksiyonların gelişmesine karşı korunmada aşı büyük öneme sahiptir. Hib kapsüler polisakkarit aşısı ilk olarak 1985 yılında kullanıma girmiştir. Bu aşı 1988 yılına kadar kullanımda kalmıştır. Hib polisakkarit aşısı diğer polisakkarit aşılar ile aynı özelliklere

sahiptir. Aşıya karşı gelişen yanıt T hücresinden bağımsızdır. Aşıya bağlı immünojenite  $\leq 2$  yaş çocuklarda zayıftır. Aşının doz sayısının arttırılması antikor düzeyinde bir yükselme sağlamaz. Meydana gelen antikorlar ise göreceli olarak daha düşük bir afiniteye sahip olan IgM olup IgG üretimine geçiş çok azdır.

Aşıya bağlı immünojenite düzeyini arttırmak için üretilmiş ilk Hib konjuge aşısı 1987 yılında ruhsat almıştır. Konjugasyon, polisakkaritin daha yüksek etkili bir protein taşıyıcıya kovalent bir bağ ile bağlanması işlemidir. Konjugasyon işlemi ile T hücresinden bağımsız bir antijen olan polisakkarit, T hücresine bağımlı olan bir antijene dönüşür. Bu durum, özellikle küçük çocuklarda olmak üzere, immünojenite düzeyinin önemli miktarda artmasını sağlar. Konjuge aşılar ile invaziv hastalık riski ve nazofarengeal taşıyıcılık oranı azalır. Hib konjuge aşılarında PRP bağlanması işleminde tetanoz toksoidi, difteri toksoidi, *N. meningitidis* serogrup B dış membran protein kompleksi ve mutant bir *C. diphtheriae* suşundan elde edilen non-toksik bir difteri toksini proteini kullanılmıştır.

Doğumdan sonra 2. aydan itibaren bütün bebeklere primer seri Hib konjuge aşısı uygulanmalıdır. Primer seride kaç doz aşı yapılacağı uygulanan aşı türüne göre değişmektedir. PRP-T aşıları 3, PRP-OMP aşıları ise 2 doz yapılmalıdır. Primer seride hangi aşı yapılmış olursa olsun, 12-15 ay arasında takviye doz yapılması tavsiye edilmektedir. Ülkemizde uygulanan çocukluk dönemi rutin aşılama takviminde Hib aşısı 5’li karma aşı içerisinde yer alır ve 2, 4, 6 ve 18. aylarda olmak üzere toplam 4 doz olarak yapılır [84].

### *Doğal Bağışıklık*

Maternal olarak geçen PRP antikorları nedeniyle, yenidoğanlarda ilk 3 ay içerisinde *H. influenzae* enfeksiyonu nadiren meydana gelir. Buna karşın bu antikorların düzeyi zamanla azalır. Hemen hemen 18-24 ay döneminde ise antikor seviyesi en düşük konumuna iner. Aşı yapılmamış çocuklarda Hib kaynaklı menenjit insidansı, en yüksek bu yaş grubundadır. Bu da maternal olarak kazanılan antikorların koruyuculuğunu göstermesi bakımından önemlidir. Doğal olarak kazanılmış antikorlar, aşı yapılmamış olsa bile  $>6$  yaş grubunda sistemik hastalığın nadiren meydana gelmesini sağlar.

### *Kemoprofilaksi*

Kemoprofilaksi, enfeksiyon etkeni ile temastan önce, temas sırasında ve temastan hemen sonra verilen antimikrobiyal tedavi ile enfeksiyon gelişiminin önlenmesi işlemidir. Bu bakımdan kemoprofilaksi, enfeksiyon gelişimine karşı bir koruyucu önlemdir. Hib kaynaklı invaziv enfeksiyon tanısı almış hastalar ile yakın temas içerisinde bulunmuş erişkin bireylere, 4 yaşından küçük çocuklara ve immünkompromize çocuklara profilaktik tedavi olarak rifampin verilmesi bir kemoprofilaksi işlemidir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-6431 nolu projesi kapsamında desteklenmiştir.

#### 3.1 Bakterilerin izolatları:

Bu çalışmada, 2014-2022 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesine başvuran ve yoğun bakım ünitelerinde takip edilen, pnömoni tanısı ile izlenen hastaların trakeal ve kan örneklerinden izole edilen 126 suştan, canlandırılabilmiş 87 *H.influenzae* suşu kullanılmıştır. Tez başlangıç süresine kadar izole edilen ve  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de içerisinde stok solüsyonu olan Cryo tüplerde stoklanan bakteriler tekrar üretilerek çalışılmıştır. Her hastadan tek bir örnek çalışmaya dâhil edilmiştir.



Şekil 3.1.  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de içerisinde stok solüsyonu olan Cryo tüplerde stoklanan bakteriler.

#### 3.1.1 Stokların canlandırılması:

2014-2022 yılları arasında  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de stok besiyeri içerisinde stoklanmış suşların, canlandırma işlemi için öncelikle oda ısısında çözülmesi sağlanmıştır. Sonrasında örnekler çikolata agar besiyerine ekilmiştir. %5  $\text{CO}_2$ 'li etüvde 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örnekler değerlendirilmiştir.

### 3.1.2 İzole edilen suşların doğrulanması:

Tüm suşların öncelikle çikolata agar besiyerindeki koloni morfolojisi makroskopik olarak incelenmiştir. *H.influenzae* olabileceğinden şüphelenilen koloniler MALDI TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) yöntemi ile doğrulanmıştır.

### 3.2 Antibiyotik duyarlılık testleri:

*H. influenzae* olarak tanımlanan kökenlerin antibiyotik duyarlılıkları testleri ‘‘European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST-V14.0)’’ önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

#### 3.2.1 Kullanılan antibiyotikler:

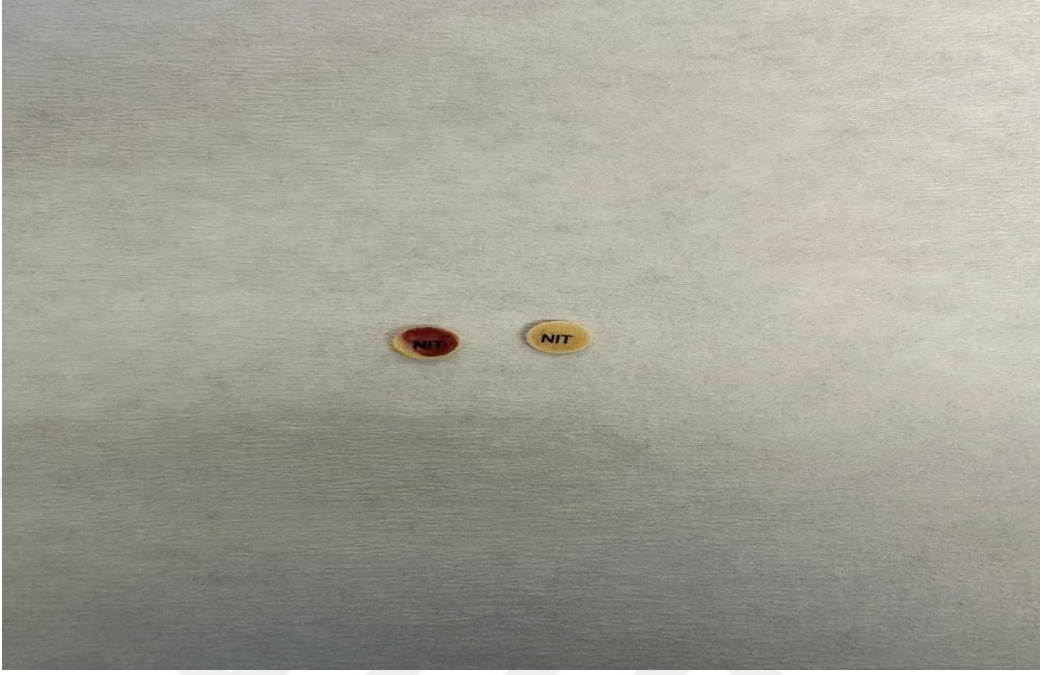
Çalışmada disk difüzyon yöntemi için ampisilin, seftriakson, levofloksasin, moksifloksasin, amoksisilin/klavulanik asit, meropenem, benzil penisilin, nitrosefin, trimetoprim-sulfametaksazol antibiyotikleri kullanılmıştır. Azitromisin için ise E-test ile MIC değerleri saptanmıştır.

#### 3.2.2 İzolatların Hazırlanması:

1. Test edilecek izolatlar çikolata agar besiyerlerine pasajlanmıştır.
2. Disk difüzyon testi ve E-test (Azitromisin) için 0.5 McFarland bulanıklığında ayarlanan bakteri süspansiyonları kanlı Müeller-Hinton besiyerine ekilmiştir.
3. Petriler %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde 35±1°C'de 18-24 saat bekletilerek değerlendirilmeye alınmıştır.

### 3.3. β-Laktamaz Aktivitesinin Belirlenmesi:

1. İzolatların β-Laktamaz aktivitelerinin değerlendirilmesi için Nitrosefin (Bionaliz) kullanılmıştır.
2. Pastör pipeti ile bir damla distile su Nitrosefin diskine damlatıldıktan sonra öze ile bakteri inokülasyonu uygulanmıştır.
3. Kullanım kılavuzunun önerileri doğrultusunda sonuçlar beşinci dakikadan sonra bir saat izlendi, belirlenen sürenin sonunda pembe/mor renk değişimi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3  $\beta$ -laktamaz test sonucu

### 3.4 Moleküler yöntemler:

Her bir kökenin taze kültürleri çukulatamsı agarda hazırlandıktan sonra kökenlerden bakteri süspansiyonu, konsantrasyon 1 McFarland yoğunlukta olacak şekilde 100 ul DNaz RNaz içermeyen suda hazırlanmıştır. Bu süspansiyodan 1 ul direk koloni PZR yöntemi için PZR reaksiyonlarına eklenmiştir. PZR reaksiyonları için SYBR® Green PZR Master Miks (ThermoFisher Scientific, ABBD) kullanılarak 7 ul DNaz RNaz içermeyen su, 10 ul master miks, 1 ul primer F (10 pmol), 1 ul primer R (10 pmol) ve 1 ul örnek içerecek şekilde hazırlanmıştır. Her bir kapsül tipine özgün primer F ve R tablo 7' de sunulmuştur. Ayrıca omp2 geni PZR ve bexA da kapsül üretimini doğrulamak için kullanılmıştır. Reaksiyonlar Biorad CFX 96 cihazında 10 dakika boyunca 95°C ile Taq aktivasyonu gerçekleştirildikten sonra, ardından 15 saniye boyunca 95°C' lik denatürasyon adımı ve 1 dakika boyunca Tablo 7' de belirtilen Tm derecelerinde tip özgü uzama şeklinde 40 döngü olarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünlerinin özgünlüğü PZR sonrası erime eğrisi analizi ile belirlenmiştir.

**Tablo 7:** Çalışmada PZR için kullanılan primerler [116].

İsim	Dizi	Tm
Hia_F	GCAACCATCTTACAACCTTAGCGAATAC	60 °C
Hia_R	GGTCTGCGGTGTCCTGTGTT	
Hib_F	TGTTCGCCATAACTTCATCTTAGC	59 °C
Hib_R	CTTACGCTTCTATCTCGGTGATTAATAA	
Hic_F	TCTGTGTAGATGATGGTTCAGTAG	56 °C
Hic_R	TTAGGATATTTACGCTGCCATT	
Hid_F	TATTGATGACCGATAACAACCTGTTAAA	60 °C
Hid_R	CCAGAAATTATTTCTCCGTTATGTTGA	
Hie_F	GTTGAAAACAAACCGCACTTT	59 °C
Hie_R	ATCTTTAATTACCAGATCCCTTTCAT	
Hif_F	GGATAATCAAATACCACATTGGCTTA	58 °C
Hif_R	GTAGATTAGCCTCAATAACATGTGAATTAA	
bexA_F	CTGAATTRGGYGATTATCTTTATGA	59 °C
bexA_R	ACAATCAAAYTCAACHGAAAGHGA	
ompP2_F	GGTGCATTCGCAGCTTCAG	59 °C
ompP2_R	GATTGCGTAATGCACCGTGTT	

### 3.5 İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analizler yapılırken tanımlayıcı analizlerde kategorik değişkenler için yüzde oranlar (%); sayısal değişkenler için normal dağılıma uyanlarda ortalama  $\pm$  standart sapma; normal dağılıma uymayan sayısal değişkenler için ise ortanca, minimum-maksimum değer ve çeyrekler

arası aralık kullanılmıştır. Kategorik ve oransal değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare ve Fisher testi; sayısal değişkenlerin ikili grup karşılaştırmasında bağımsız gruplar için normal dağılıma uyanlarda Student's T testi, normal dağılıma uymayanlarda Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Risk analizleri için binominal lojistik regresyon analizi uygulanmıştır. Sayısal verilerin normal dağılıma uyup uymadıklarına histogram, varyasyon katsayısı, basıklık-sivrilik ve çarpıklık-asimetri değerlendirmesi, Detrended plot dağılımı, Kolmogrov-Smirnov veya Shapiro-Wilk testlerinin genel değerlendirilmesi sonucunda karar verilmiştir. Post-hoc analizlerde Bonferroni düzeltilmesi yapılmıştır. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık için p değeri  $\leq 0,05$  olarak kabul edilmiş olup istatistiksel analizler SPSS 24.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Örneklerin dağılımı:

Çalışma kapsamına stoklardan canlandırılan ve çeşitli örneklerden izole edilen toplamda 87 izolat dâhil edilmiştir. Suşların yıllara göre dağılımı Tablo 8’de verilmiştir.

**Tablo 8-** *H. influenzae* kökenlerinin yıllara göre dağılımı.

Yıl	n	%
2014	1	1,1
2015	7	8,0
2016	22	25,3
2017	5	5,7
2018	24	27,6
2019	19	21,8
2021	1	1,1
2022	8	9,2
Toplam	87	100

Çalışmaya alınan toplam 87 suşun 69’u (%79,3) derin trakeal aspirat (DTA) örneklerinden, 18’i (%20,7) ise kan örneklerinden izole edilmiştir (Tablo 9).

**Tablo 9-** Suşların örnek tipine göre dağılımı.

Örnek	n	%
Kan	18	20,7
DTA	69	79,3
Toplam	87	100

#### 4.2 Hastaların demografik verileri:

Çalışmaya dâhil edilen hastaların bilgileri toplandığında 87 hastanın 65 (%74,7)' i erkek, 22 (%25,3)' sinin kadın olduğu tespit edilmiştir. En genç hastanın 18, en yaşlısının ise 89 yaşında olduğu ve hastaların ortanca yaşı 60 (çeyrekler arası mesafe: 47-69) olarak saptanmıştır. Örneklerin tamamı yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiştir.

**Tablo 10-** Hastaların cinsiyete göre dağılımları.

Cinsiyet	n	%
Kadın	22	25,3
Erkek	65	74,7
Total	87	100

Hastaların eşlik eden komorbiditeleri incelendiğinde, en sık 27 (%31) hasta ile hipertansiyon, ardından 19 (%21) hasta ile diyabetes mellitus (DM) saptanmıştır. Anatomik aspleni olduğu kaydedilen yalnızca 1 (%1,1) hasta mevcut iken, hiçbir hastada orak hücreli anemiye rastlanmamıştır.

**Tablo 11-** Hastaların eşlik eden komorbiditelerinin dağılımı.

Ek hastalık	n	%
Hipertansiyon	27	31
Diyabetes Mellitus	19	21,8
KOAH-Astım	14	16,1
Koroner Arter Hastalığı	13	14,9
Solid Organ Malignitesi	12	13,8
Kalp Yetmezliği	7	8
Serebrovasküler Hastalık	5	5,7
Kronik Böbrek Hasarı	3	3,4
Hematolojik Malignite	2	2,3
Anatomik Aspleni	1	1,1
Orak Hücreli Anemi	0	0

Hastaların cinsiyet, eşlik eden komorbiditeleri ve örnek alınan yer ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak enfeksiyon etkeninin edinildiği yer ile mortalite arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ( $p=0.04$ ). Elde ettiğimiz veriler sonucunda hastane kaynaklı etkenlerde mortalite, toplum kaynaklı etkenlere göre belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır.

**Tablo 12-** Enfeksiyon etkenlerinin edinildiği yere göre mortalite.

Etkenin edinildiği yer	Ölüm (n, %*)	Taburcu (n, %)	Toplam (n, %)
Toplum	20 (57,1)	44 (84,6)	64 (73,6)
Hastane	15 (42,9)	8 (15,4)	23 (26,4)
Toplam	35 (100)	52 (100)	87 (100)

\*%: Sütun yüzdeleri

Enfeksiyon etkenlerinin edinildiği yere göre  $\beta$ -laktamaz aktiviteleri değerlendirildiğinde, toplum kökenli ve hastane kökenli izolatlar arasında  $\beta$ -laktamaz aktivitesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (%12,7-%9,1,  $p= 1.0$ )

Hastaların yaş, ölüm veya taburculuk günü ve APACHE skoru ile mortalite arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. Hastaların klinik özelliklerinin sonuçları Tablo 13’ te sunulmuştur.

**Tablo 13-** Hastaların klinik özelliklerinin dağılımı.

	Yaş	Ölüm günü	Taburculuk günü	APACHE skoru
Median	60	13	19	20
Minimum	18	2	1	3
Maksimum	89	312	117	31
% 25-75	47-69	9-27	6-40	16-23

Hastaların enfeksiyon etkeninin izole edildiği gün, laboratuvar sonuçları kaydedilmiştir. Laboratuvar sonuçlarının mortaliteye etkisi incelendiğinde lökosit ve nötrofil sayısı, kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmıştır. Sırasıyla p değerleri;  $p=0.04$ ,  $p=0.01$ ,  $p=0.02$ ,  $p=0.03$  olarak bulunmuştur.

**Tablo 14-** Hastaların laboratuvar sonuçlarının dağılımı.

	WBC	NÖT	PLT	HB	LENF	CRP	KRE	GFR
Median	10.8	9.1	194	10.2	0,76	17.7	0.79	96
Minimum	0.28	0.03	0,388	7.3	0,08	0.1	0.30	6
Maksimum	51.14	47.8	461	16.6	6,32	302	7.2	171
% 25-75	8.3-14.6	6.3-13.2	130-252	8.8-11.5	0,55-1,34	10.7-21.2	0.5-1.23	58-113

WBC: lökosit sayısı (BIN/mm<sup>3</sup>), NÖT: nötrofil sayısı (BIN/ mm<sup>3</sup>), PLT: platelet sayısı (BIN/ mm<sup>3</sup>), HB: hemoglobin (g/dL), LENF: lenfosit sayısı (BIN/ mm<sup>3</sup>), CRP: C- reaktif protein (mg/L), KRE: kreatinin (mg/L), GFR: glomerüler filtrasyon hızı (mL/dk/1.73m<sup>2</sup>).

### 4.3 Serotiplendirme:

*H. influenzae* suşlarının moleküler serotiplendirmesi Tablo 15’ te sunulmuştur. Toplam 87 suşun 11’i (%12,6) tip a, 4’ü (%4,6) tip b, 9’u (%10,3) tip c, 2’si (%2,3) tip d, 5’i (%5,7) tip e, 3’ü (%3,4) tip f olarak saptanmış olup kalan 53 (%60,9) suş tiplendirilememiştir.

**Tablo 15-** *H. influenzae* suşlarının serotip tayini.

Serotip	n	%
NTHi	53	60,9
a	11	12,6
b	4	4,6
c	9	10,3
d	2	2,3
e	5	5,7
f	3	3,4
Toplam	87	100

Aşılama programları sonrasında, yıllar içerisinde *H. influenzae* serotiplerindeki dağılım değişmiş ve tiplendirilemeyen *H. influenzae* (NTHi) suşları artmıştır. Çalışmamızda farklı klinik örneklerden elde edilen suşların yıllara göre dağılımı Tablo 16’ da verilmiştir.

**Tablo 16- *H. influenzae* serotiplerinin yıllara göre dağılımı.**

Serotip	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2021	2022	Toplam
NTHi	1	5	16	3	14	8	0	6	53
A	0	0	1	1	5	3	1	0	11
B	0	0	1	0	1	2	0	0	4
C	0	0	3	1	2	2	0	1	9
D	0	0	0	0	1	1	0	0	2
E	0	2	0	0	0	2	0	1	5
F	0	0	1	0	1	1	0	0	3
Toplam	1	7	22	5	24	19	1	8	87

Serotip dağılımları belirlenen *H. influenzae* suşlarının, serotip ve mortalite arasında anlamlı ilişkisi olup olmadığı incelenmiştir. Tüm serotipler değerlendirildiğinde mortalite açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak yapılan analiz sonucunda tiplendirilemeyen (NTHi) ve *H. influenzae* tip a arasında mortalite açısından anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0.042$ ). Diğer serotipler ve NTHi arasında mortalite açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Tedavi sonuç verileri Tablo 17’ de sunulmuştur.

**Tablo 17- NTHi ve *H. influenzae* tip a arasındaki tedavi sonuç dağılımları.**

Serotip	Ölüm (n, %*)	Taburcu (n, %)	Total (n, %)
NTHi	19 (70,4)	34 (91,9)	53 (82,8)
a	8 (29,6)	3 (8,1)	11 (17,2)
Toplam	27 (100)	37 (100)	64 (100)

\*%: Sütun yüzdeleri

*H. influenzae* suşlarının örnek alınan yere göre serotip dağılımı incelendiğinde, tiplendirilemeyen ve diğerleri olarak yapılan sınıflandırmada, örnek tipine göre serotip dağılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p=0.286$ ). Örnek tipine göre serotip dağılımı Tablo 18 ‘ de verilmiştir.

**Tablo 18- *H. influenzae* suşlarının örnek tipine göre serotip dağılımı.**

Serotip	Kan (n, %)	DTA (n, %)	Toplam (n,%)
NTHi	9 (50)	44 (63,8)	53 (60,9)
Diğerleri	9 (50)	25 (36,2)	34 (39,1)
Toplam	18 (100)	69 (100)	87 (100)

\*%: Sütun yüzdeleri

#### 4.4 Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları:

Çalışmaya dâhil edilen 87 suş için disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi çalışılmıştır. İki izolatta 2 kez pasajlanmasına rağmen üreme gözlenmemiştir. Bir izolatta ise azitromisin E-test çalışılmıştır. Ancak inkübasyon süresi 48-72.saatlere uzatılmasına rağmen besiyerinde üreme saptanmamıştır. Bu nedenle 72.saatın sonunda inkübasyon sonlandırılarak azitromisin E-test için etken üretilenmemiştir. Çalışılan suşların direnç oranları sırasıyla; azitromisin %80,9, ampisilin %57,6, amoksisilin-klavulanat (oral) %52,9, amoksisilin klavulanat (iv) %50,5 ve trimetoprim-sulfametoksazol %23,5 olarak bulunmuştur (Tablo 19).

**Tablo 19- *H. influenzae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.**

Antibiyotik	Duyarlı	Dirençli	%
MER	85	0	0
CRO	85	0	0
SXT	65	20	23,5
AMP	36	49	57,6
AMC (IV)	42	43	50,5
AMC (ORAL)	40	45	52,9
LVX	83	2	2,3
MXF	80	5	5,8
AZT	16	68	80,9

AMP: ampisilin, AMC: amoksisilin/klavulanik asit, CRO: seftriakson, LVX: levofloksasin, SXT: trimetoprim/sulfametoksazol, MXF: moksifloksasin, MER: meropenem, AZT: azitromisin.

*H. influenzae* suşlarının serotipe göre antimikrobiyal direnç profilleri her antibiyotik için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, serotipe göre antibiyotik direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. Serotipe göre antibiyotik direnç sonuçları Tablo 20’ de sunulmuştur.

**Tablo 20-** *H. influenzae* suşlarının serotip dağılımına göre antibiyotik direnç sonuçları.

Serotip	MER (n, %*)		CRO (n, %)		SXT (n, %)		AMP (n, %)		AMC (IV) (n, %)		AMC (PO) (n, %)		LVX (n, %)		MXF (n, %)		AZT (n, %)	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
NTHi	52(61.2)	0(0)	52(61.2)	0(0)	41(63.1)	11(55)	24(66.7)	28(57.1)	26(61.9)	26(60.5)	24(60)	28(62.2)	52(62.7)	0(0)	50(62.5)	2(40)	9(56.3)	43(63.2)
a	10(11.8)	0(0)	10(11.8)	0(0)	9(13.8)	1(5)	1(2.8)	9(18.4)	3(7.1)	7(16.3)	3(7.5)	7(15.6)	9(10.8)	1(50)	9(11.3)	1(20)	1(6.3)	9(13.2)
b	4(4.7)	0(0)	4(4.7)	0(0)	4(6.2)	0(0)	3(8.3)	1(2)	4(9.5)	0(0)	4(10)	0(0)	4(4.8)	0(0)	4(5)	0(0)	0(0)	4(5.9)
c	9(10.6)	0(0)	9(10.6)	0(0)	5(7.7)	4(20)	4(11.1)	5(10.2)	4(9.5)	5(11.6)	4(10)	5(11.1)	8(9.6)	1(50)	8(10)	1(20)	4(25)	5(7.4)
d	2(2.4)	0(0)	2(2.4)	0(0)	2(3.1)	0(0)	0(0)	2(4.1)	1(2.4)	1(2.3)	1(2.5)	1(2.2)	2(2.4)	0(0)	2(2.5)	0(0)	0(0)	1(1.5)
e	5(5.9)	0(0)	5(5.9)	0(0)	1(1.5)	4(20)	1(2.8)	4(8.2)	1(2.4)	4(9.5)	1(2.5)	4(8.9)	5(6)	0(0)	4(5)	1(20)	1(6.3)	4(5.9)
f	3(3.5)	0(0)	3(3.5)	0(0)	3(4.6)	0(0)	3(8.3)	0(0)	3(7.1)	0(0)	3(7.5)	0(0)	3(3.6)	0(0)	3(3.8)	0(0)	1(6.3)	2(2.9)
Toplam	85(100)	0(0)	85(100)	0(0)	65(100)	20(100)	36(100)	49(100)	42(100)	43(100)	40(100)	45(100)	83(100)	2(100)	80(100)	5(100)	16(100)	68(100)

\*%: Sütun yüzdeleri

Klinik örneklerden izole edilen *H. influenzae* suşlarında çalışılan antibiyotik dirençlerinin mortaliteye olan etkisi incelenmiştir. Her bir antibiyotik ayrı ayrı incelendiğinde, direncin mortalite üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir sonucu bulunmamıştır.

Çalışılan suşlar içinde toplamda 10 (%11,8) örnekte  $\beta$ -laktamaz pozitifliği saptanmıştır. Bu örneklerin 1'i tip a, 1'i tip e, 2'si tip c ve 6 izolat tiplendirilemeyen olarak kaydedilmiştir.  $\beta$ -laktamaz pozitifliği ve mortalite arasındaki ilişki incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamıştır ( $p=0.512$ ).

Serotip sonuçlarına göre  $\beta$ -laktamaz pozitifliği arasındaki dağılım incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır ( $p=0.876$ ). Serotip dağılımına göre  $\beta$ -laktamaz aktivite Tablo 21' de gösterilmiştir.

**Tablo 21-** *H. influenzae* suşlarının serotip dağılımına göre  $\beta$ -laktamaz aktivite

Serotip	$\beta$ -laktamaz – (n, %*)	$\beta$ -laktamaz + (n, %)	Total
NTHi	46 (61,3)	6 (60)	52 (61,2)
a	9 (12)	1 (10)	10 (11,8)
b	4 (5,3)	0 (0)	4 (4,7)
c	7 (9,3)	2 (20)	9 (10,6)
d	2 (2,7)	0 (0)	2 (2,4)
e	4 (5,3)	1 (10)	5 (5,9)
f	3 (4)	0 (0)	3 (3,5)
Total	75 (100)	10 (100)	85 (100)

\*%: Sütun yüzdeleri

#### 4.5 Mortaliteye etki eden faktörler:

Çalışmamızda toplamda 87 hastanın 52' si (%59,8) yoğun bakım ünitesinden taburcu olurken, 35' i (%40,2) exitus olmuştur. Alınan örneklerin özellikleri, hastaların demografik verileri, etkenlerin serotip sonuçları, antibiyotik duyarlılık test sonuçları, hastaların laboratuvar verileri ve eşlik eden komorbidite durumları ile mortalite arasındaki ilişki incelenmiştir. Veriler tek değişkenli ve çok değişkenli regresyon analizi ile ele alındığında; tek değişkenli analiz sonuçlarında, enfeksiyonun edinildiği yer, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı ile mortalite arasında anlamlı sonuçlar saptanmıştır. Mortaliteyi etkileyen faktörler çok değişkenli regresyon analizi ile doğrulandığında ise, nötrofil sayısı ile hastane kaynaklı etkenlerde diğerlerine göre belirgin olarak daha yüksek mortalite sonuçları belirlenmiştir.

**Tablo 22-** Mortaliteye etki eden faktörler

Karakteristik	Tek değişkenli analiz			Çok değişkenli analiz		
	RR	%95 GA	<i>p</i>	RR	%95 GA	<i>p</i>
Cinsiyet	1.04	(0.39-2.78)	0.94 <sup>a</sup>	0.73	(0.21-2.58)	0.63
Yaş	0.98	(0.95-1.00)	0.77	0.97	(0.94-1.0)	0.063
Enfeksiyonun edinildiği yer	0.24	(0.09-0.66)	0.04 <sup>a</sup>	0.22	(0.07-0.66)	0.007
Serotip	0.63	(0.26-1.51)	0.29 <sup>a</sup>	0.39	(0.14-1.10)	0.075
Nötrofil sayısı	0.88	(0.80-0.96)	0.004	0.87	(0.79-0.95)	0.003
Lenfosit sayısı	1.20	(0.67-2.14)	0.55	1.08	(0.58-2.01)	0.81
Septik şok	0.40	(0.15-1.09)	0.07 <sup>a</sup>	0.47	(0.15-1.49)	0.20
Kreatinin	0.83	(0.52-1.32)	0.42	0.81	(0.50-1.30)	0.38

<sup>a</sup>Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. Hosmer-Lemeshow test *p* değeri= 0,30.

## 5. TARTIŞMA

*Haemophilus influenzae* enfeksiyonları özellikle çocuk, yaşlı ve eşlik eden komorbiditeleri olan popülasyonlarda yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlara neden olabilir [85]. Kapsüllü suşlardan *Haemophilus influenzae* tip b serotipi (Hib), beş yaşından küçük çocuklarda pnömoni, menenjit, bakteriyemi ve epiglottit gibi yaşamı tehdit eden invaziv enfeksiyonlardan sorumludur [3]. Kapsülsüz suşlar ise erişkinlerde toplum kaynaklı pnömoni, akut otitis media, akut sinüzit ve kronik bronşitin akut alevlenmeleri şeklinde ortaya çıkmaktadır [1]. Konjuge aşuların 2007 yılından itibaren ulusal aşı programlarında yer alması ile birlikte, özellikle aşılama oranlarının yüksek olduğu bölgelerde invaziv Hib hastalığının insidansında önemli ve sürdürülebilir bir düşüş gerçekleşmiştir [53,58]. Hib insidansındaki değişiklikler sonrasında tüm ülkelerde yaygın alt tip olarak NTHi görülmektedir. Kapsüllü suşlarda ise coğrafik bölgeye göre farklı serotipler öne çıkmaktadır. *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının tedavisi genellikle empirik olarak uygulanmakta olup ilk basamakta genellikle beta-laktamlar tercih edilmektedir. Önceki yılların verilerine göre ampisilin ön planda ilk seçenek olarak görülse de tüm dünyada artan plazmid aracılı  $\beta$ -laktamaz üretimi nedeniyle sadece duyarlı olduğu bilinen suşlarda ampisilin kullanılmalıdır. Ek olarak son yıllarda,  $\beta$ -laktamaz negatif ampisiline dirençli (BLNAR) kökenlerde, özellikle Japonya ve Avrupa ülkelerinde BLNAR suşlarının arttığı raporlanmıştır [6-8]. Bu nedenle *Haemophilus influenzae* suşlarının tiplendirilmesi ve antimikrobiyal direnç profillerinin ortaya konması, tedaviye ve epidemiyolojik çalışmalara yön vermesi açısından önemini korumaktadır.

Bölgemiz ve hastane verilerimizi ortaya koymak amacıyla yaptığımız çalışmamızda, tiplendirilemeyen *H. influenzae* (NTHi) %60,9, *H. influenzae* tip a %12,6, *H. influenzae* tip b %4,6, *H. influenzae* tip c %10,3, *H. influenzae* tip d %2,3, *H. influenzae* tip e %5,7, *H. influenzae* tip f %3,4 olarak bulunmuştur.

ECDC' nin 2018 yılında Avrupa'da 23 ülkeden topladığı veriler sonucunda yayınladığı epidemiyoloji raporunda doğrulanmış 3.982 invaziv *H. influenzae* örneğinin 2.226'sının (%57) serotip sonucuna ulaşılabilmiş olup; bu vakaların %78'i (n:1.777) NTHi olarak saptanmıştır. %9' u *H. influenzae* tip f, %7' si *H. influenzae* tip b ve %3' ü *H. influenzae* tip e serotipi olarak değerlendirilmiştir. Tüm yaş gruplarında NTHi en yaygın suş olarak saptanmıştır [54]. İngiltere'de Hani ve arkadaşlarının 2024 yılında yaptığı çalışmada 2012/13-2022/23 yılları arasında 6.881 invaziv *H. influenzae* enfeksiyonunun 5.852' sinin serotipine ulaşılmış olup; %83 'ü (n: 4881) NTHi, %10' u *H. influenzae* tip f, %3' ü *H. influenzae* tip e, %2' si *H. influenzae* tip b, %1' i *H. influenzae* tip a olarak saptanmıştır [86]. İngiltere' de Ladhani ve

arkadaşlarının yaptığı diğerk bir çalışmada, 2009-2010 yılları arasında toplam 1.275 invaziv *H. influenzae* enfeksiyonunun serotip dağılımını incelendiğinde %56,1' i (n: 715) NTHi, %5,4' ü *H. influenzae* tip b, %7,8' i *H. influenzae* tip f, %2,6' sı *H. influenzae* tip e olarak saptanmıştır [87]. Collins ve arkadaşlarının İngiltere ve Galler'de 2012-2016 yılları arası tüm yaş gruplarını içeren epidemiyoloji çalışmasında, invaziv *H. influenzae* vakalarının %85' i (n: 2.451) NTHi, %9,5' i *H. influenzae* tip f, %2,9' u *H. influenzae* tip e olarak bulunmuştur [88].

Takla ve arkadaşları tarafından 2001-2016 yılları arasında Almanya' da rutin çocuk aşılama programları sonrası invaziv *H. influenzae* enfeksiyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada 4.044 invaziv *H. influenzae* enfeksiyonu raporlanmıştır. Vakaların %81' i (n: 1545) NTHi olarak raporlanmıştır. Kapsüllü vakaların ise %69' u *H. influenzae* tip f ve %17' si *H. influenzae* tip b serotipi olarak belirlenmiştir [89]. Almanya' da yapılan bir diğerk çalışmada Lâm ve arkadaşları tarafından kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden izole edilen izolatların %84,5' i (n: 1039) NTHi olarak saptanmıştır. En sık ikinci suş %9,8 ile *H. influenzae* tip f olmuştur. *H. influenzae* tip b ve *H. influenzae* tip e %2,4 ile aynı sıklıkta saptanmıştır. *H. influenzae* tip a ise %0,5 oranında belirlenmiştir [90].

Finlandiya' da yapılan bir çalışmada, 2016-2018 yılları arasında 231 invaziv *H. influenzae* enfeksiyonu raporlanmıştır. Vakaların %79,2' si NTHi, %12,6' sı *H. influenzae* tip f, %3,5' i *H. influenzae* tip b ve %3,0' ı *H. influenzae* tip e olarak saptanmıştır [91]. Neri ve arkadaşlarının İtalya' da yaptığı 2017-2018 yılları arasındaki çalışmada, örneklerin %76,1'i NTHi, %11,5' i *H. influenzae* tip b ve %4,6' sı *H. influenzae* tip f şeklinde sonuçlanmıştır [92].

Soeters ve arkadaşlarının Amerika' da 2009-2015 yılları arasında yaptığı çalışmada invaziv *Haemophilus influenzae* enfeksiyonu olan toplam 4.368 vaka raporlanmıştır. %71,6' sı NTHi, %16,3' ü *Haemophilus influenzae* tip f, %5,8' i *Haemophilus influenzae* tip a, %4,5' i *Haemophilus influenzae* tip e, %1,8' i *Haemophilus influenzae* tip b ve %0,1' i *Haemophilus influenzae* tip d olarak bulunmuştur [85]. Ek olarak ABD ve Kanada' da invaziv *Haemophilus influenzae* tip a' nın 2008-2017 yılları arasında insidansının arttığına ilişkin çalışmalar mevcuttur. Amerikan ve Alaska yerlilerinde vaka insidansı diğerk popülasyona göre 17 kat artmış olarak saptanmıştır. *Haemophilus influenzae* tip a' nın artan insidansı nedeniyle aşı geliştirme stratejileri için önerilerde bulunulmuştur [93].

*Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarıyla ilgili dünya genelindeki epidemiyolojik veriler incelendiğinde, Avrupa ve Amerika başta olmak üzere birçok ülkede baskın suşun NTHi olduğu görülmektedir. Avrupa'da kapsüllü suşlar arasında özellikle tip e ve f ön plana çıkarken,

Amerika’da tip f baskın suş olmasına rağmen son yıllarda tip a'nın insidansındaki artış dikkat çekmektedir. Çalışmamızda ise en yüksek oranın NTHi suşlarında, ikinci sırada ise tip a’da olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, Avrupa ve Amerika’daki verilerle karşılaştırıldığında, NTHi suşları yaygınlık açısından literatürle uyumluluk göstermektedir. Kapsüllü suşların dağılımındaki farklılıkların ise çalışmamızın tek merkezli olmasından veya izole edilen örnek sayısının sınırlı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde ise *H. influenzae* serotip insidansı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Hib konjuge aşısı 2007 yılında ulusal aşılama programımıza dâhil olmuştur. Bakır ve arkadaşları tarafından 2000 yılında İstanbul’ da çocuk hasta grubunda farengal kolonizasyon örneklerinden izole edilen 315 *H. influenzae* örneği değerlendirilmiş, izolatların %38’ inin Hib olduğu saptanmıştır [82]. Çocuk hasta grubunda *H. influenzae* tip b’ nin orofarengal taşıyıcılığının değerlendirildiği Arvas ve arkadaşlarının 2008 yılında İstanbul’ da yaptığı bir çalışmada, aşıli grupta %33, aşısız grupta ise %54 oranında orofarengal Hib taşıyıcılığı saptanmıştır ( $p=0.0004$ ) [94]. Torun ve arkadaşları tarafından 2007 yılında kreşe giden ve aşılanmamış çocuklarda farengal taşıyıcılık oranı değerlendirilmiştir. Çalışmaya 195 sağlıklı çocuk hasta dâhil edilmiş, taşıyıcılık oranı %48,7 olarak belirlenmiş olup, bunların %7,2’ si Hib, %7,6’ sı diğer kapsüllü tipler ve %33,9’ u NTHi olarak saptanmıştır [63].

Çalışmamızdaki serotip dağılımı düşünüldüğünde; örneklerimizin 2014-2022 yılları arasında olması ve Hib aşılmasının 2007 yılında aşılama programına alınmasıyla, izole edilen örneklerdeki NTHi artışı ve %4,6’ lık Hib oranının olması literatür ile uyumlu görünmektedir.

*H. influenzae* enfeksiyonlarında serotip ile mortalite ilişkisi değerlendirildiğinde literatürle kısıtlı çalışma mevcuttur. Blain ve arkadaşlarının 2011 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde yaptığı bir çalışmada, 65 yaş ve üzeri yetişkinlerde invaziv *H. influenzae* vakalarında hastalık yükü ve mortalite değerlendirilmiş olup; serotip çeşidine göre mortalitede istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır [61]. Son yıllarda özellikle Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada’ da, Hib konjuge aşılarının uygulanmasından sonra ön plana çıkan *H. influenzae* tip a serotipinin insidansındaki artış dikkati çekmiştir. Tsang ve arkadaşlarının 2017’ de yaptığı bir çalışmada Kuzey Amerika’ daki yerli topluluklarda *H. influenzae* tip a insidansındaki artışı ve *H. influenzae* tip a’ nın genetik yapısına ve hastanın yaşına bağlı olarak %5,6-33 arasında değişen vaka ölüm oranlarıyla menenjit, septisemi, pnömoni ve septik artrit gibi ciddi enfeksiyonlara neden olduğu ortaya konmuştur [95]. Crandall ve arkadaşlarının Utah’ ta 2007-2017 yılları arasında 51 invaziv *H. influenzae* tip a enfeksiyonu olan hastalarda yaptığı bir çalışmada, vakalarda en sık görülen klinik tablonun menenjit (%53), pnömoni (%14) ve septik

artrit (%14) olduğu saptanmış, 22 (%43) hastanın yoğun bakım ünitesinde takip edildiği bildirilmiştir [96].

Çalışmamızda, serotipe dayalı mortalite oranları tek değişkenli analiz kullanılarak karşılaştırılmış ve NTHi ile *H. influenzae* tip a arasında mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Özellikle Kuzey Amerika ve Kanada’ da yapılan çalışmalar doğrultusunda *H. influenzae* tip a’ nın olumsuz sonuçları ile ilgili endişeler çalışmamızın verileri ile de uyumlu görünmektedir.

Çalışmamıza dâhil edilen 85 *H. influenzae* suşunun antimikrobiyal direnç sonuçları değerlendirildiğinde ise; 20’ sinin (%23,5) trimetoprim/sulfametoksazol’ e, 49’ unun (%57,6) ampiciline, 2’ sinin (%2,3) levofloksasine, 68’ inin (%80,9) azitromisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Seftriakson ve meropeneme karşı dirençli suşa rastlanmamıştır.

Ülkemizde yapılan antimikrobiyal direnç çalışmaları incelendiğinde Altun ve arkadaşlarının yaptığı farklı klinik örneklerden 2002-2007 yılları arasında izole edilen *Haemophilus influenzae* (n: 150) suşlarında trimetoprim/sulfametoksazol direnci %23 olarak saptanmıştır [97]. Şener ve arkadaşlarının 2004-2005 yılları arasında yaptığı çalışmada ise trimetoprim/sulfametoksazol direnci %20’ nin üzerinde olarak raporlanmıştır [98]. Uluslararası çalışmalar incelendiğinde ise, Fransa’ da Taha ve arkadaşları tarafından 2017-2021 yılları arasındaki örnekler değerlendirildiğinde trimetoprim/sulfametoksazol direnci %33,2 olarak saptanmıştır [99]. Kiedrowska ve arkadaşları tarafından Polonya’ da yapılan çalışmada %24,7 [100], Çin’ de Zhou ve arkadaşları tarafından 2017-2019 yılları arasında yapılan toplam 13.810 örnekte yapılan çalışmada ise %70,9 olarak saptanmıştır [103]. Bu veriler sonucunda çalışmamızdaki suşlarda saptanan %23,5 oranındaki trimetoprim/sulfametoksazol direnci literatür verileri ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

*Haemophilus influenzae* izolatlarında kinolon direncinin değerlendirildiği ülkemizdeki çalışmalarda Gür ve arkadaşlarının 2020 yılında 480 *H. influenzae* izolatu ile yaptığı bir çalışmada kinolon direnci %1 oranında saptanmıştır [101]. Gönüllü ve arkadaşlarının 2009 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, 140 *H. influenzae* suşu üzerinde yapılan incelemeler sonucunda kinolon direncine rastlanmamıştır [102]. Yurtdışındaki çalışmalar incelendiğinde, Kiedrowska ve arkadaşları kinolon direnç oranını %0,1 olarak rapor etmiş [100], Çin’de yapılan bir çalışmada ise *H. influenzae* suşlarının %90’ından fazlasının kinolonlara duyarlı olduğu bildirilmiştir [103]. Çalışmamızda kinolon grubuna direnç oranı %2,3-5,8 olarak saptanmıştır.

Diğer çalışmalar değerlendirildiğinde direnç oranımızın literatür ile uyumlu olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki 85 *Haemophilus influenzae* suşunun hiçbirinde seftriakson ve meropenem direnci saptanmamıştır. Ülkemizdeki çalışmalar değerlendirildiğinde Kuvat ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada hiçbir etkende seftriakson direncine rastlanmamıştır [104]. Ocaklı ve arkadaşlarının 2012-2018 yılları arasında izole ettiği örneklerde sefotaksim ve meropeneme karşı %1,3 oranında direnç saptanmıştır [117]. Uluslararası literatür değerlendirildiğinde Hachisu ve arkadaşlarının Japonya’ da 2014-2018 yılları arasında izole ettiği örneklerde seftriakson direncine saptanmamıştır [105].

Güncel veriler ışığında *Haemophilus influenzae* izolatlarında seftriakson ve karbapenemlere karşı direnç olmadığı veya çok düşük oranlarda olduğu görülmektedir. Çalışmamızdaki sonuçlar da literatür verileri ile uyumludur. Mevcut veriler ile seftriakson ve karbapenem grubu antibiyotikler, *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının tedavisinde etkin ve güvenli bir şekilde kullanılabilir.

Azitromisin direnci değerlendirilirken, bir izolatta üreme gözlemlenmemiş olup, bu durum nedeniyle yalnızca 84 izolatin sonuçları dâhil edilmiştir. Çalışmamızda azitromisin direnci %80,9 (n: 68/84) oranında saptanmıştır. Bu oran literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında oldukça yüksektir. Ülkemizde son yıllarda azitromisin ile ilgili sınırlı veri mevcut olup; 2015-2017 yılları arasında Torumkuney ve arkadaşlarının [106] yaptığı çalışmada makrolid direnci %5,9-10 saptanmıştır. Uluslararası veriler incelendiğinde Çin’ de Zhou ve arkadaşları tarafından sadece NTHi suşları üzerinde 2022 yılında yapılan bir çalışmada azitromisin direnci %34,2 (67/196) oranında saptanmıştır [107]. İspanya’ da Cadenas-Jiménez ve arkadaşları tarafından azitromisin direnci %2,6 olarak bildirilmiştir [108]. Özellikle Uzak Doğu bölgesinde yaygın antibiyotik kullanımı nedeniyle azitromisin dirençli suşların oranında bir artış gözlemlenmektedir [110]. Çalışmamızda ise elde edilen %80,9’luk azitromisin direnç oranının, diğer çalışmalarda bildirilen oranlardan yüksek olmasının yalnızca uygunsuz antimikrobiyal kullanım ile açıklanamayacağı kanaatine varılmıştır. Bu nedenle, *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarındaki antimikrobiyal direnç oranlarının ülkemizde yapılacak daha fazla araştırmayla ortaya konulmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Ampisilin son yıllardaki artan ampisilin direnci nedeniyle empirik tedavideki önemini yitirmekte olup sadece duyarlı olduğu bilinen suşlarda kullanımı önerilmektedir. Çalışmamızda ampisilin direnci %57,6 olarak saptanmıştır. Amoksisilin-klavulanik asitte ise bu oran %50,5

bulunmuştur. Ampisilin direnci ülkemizde ve tüm dünyada artmakta olup; ülkemizde Torumkuney ve arkadaşlarının [106] yaptığı çalışmada ampisilin direnci %14,9 saptanmıştır. Gazi ve arkadaşları tarafından 2004 yılında ampisilin direnci %20,9 olarak belirlenmiştir [109]. Yurtdışından yapılan çalışmaların verileri değerlendirildiğinde; 2017 yılında Deghmane ve arkadaşları Fransa' da ampisilin direncini %24, 2013-2016 yılları arasında Yamada ve arkadaşları %53,0 [110], İsviçre' de Cherkaoui ve arkadaşları %36 [111], Abavisani ve arkadaşları 2024' te küresel rapor olarak 19.787 izolat için %36 oranında bildirmişlerdir [8]. Ülkemizde ve yurtdışında yapılan çalışmalarda ampisilin direnç verileri değerlendirildiğinde, çalışmamızdaki ampisilin direnç oranı yüksek saptanmış olup, diğer çalışmalardan farklı olarak hasta popülasyonumuzun tamamının yoğun bakım ünitelerindeki kritik düzeyde hastalar olmasının bu sonucu etkilemiş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kritik düzeyde ve yoğun bakım takibini gerektiren bu hasta grubunda, hastane başvurusu öncesindeki antibiyotik kullanımı bilinmemekte olup; antibiyotik kullanım oranının ampisilin direnç verilerine katkı sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

*Haemophilus influenzae*' da ampisilin veya  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direnç plazmid aracılığı ile oluşturulmaktadır. Bu  $\beta$ -laktamazlar TEM-1 ve ROB-1' dir. *Haemophilus influenzae*  $\beta$ -laktamaz üretimi olmadan penisilin bağlayıcı protein 3' ün (PBP3) mutasyonu sonucuyla ampisilin direnci kazanabilir. Bu suşlar  $\beta$ -laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) olarak adlandırılır. Çalışmamızda nitrosefin testi ile 10 (%11,8) izolatta  $\beta$ -laktamaz pozitifliği saptanmıştır.  $\beta$ -laktamaz pozitif saptanan izolatların hepsi ampisilin dirençli bulunmuştur.  $\beta$ -laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) toplamda 39 (%45,8) izolat belirlenmiştir.

Ülkemizde Ocaklı ve arkadaşlarının 2012-2018 yılları arasında yaptığı çalışmada 150 *Haemophilus influenzae* izolatı değerlendirilmiş olup; 18 (%12) izolat  $\beta$ -laktamaz pozitif, 35 (%23,3) izolat ise  $\beta$ -laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) saptanmıştır [117]. Şener ve arkadaşlarının 2004-2005 yılları arasında altı merkezde yaptığı çalışmada ise  $\beta$ -laktamaz üreten *Haemophilus influenzae* izolatlarının yüzdesi %5,5 olarak belirlenmiştir [98]. Uluslararası çalışmalardan İspanya' da Cobos ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada  $\beta$ -laktamaz üreten suşlar %16,9, BLNAR suşları ise %19,2 oranında saptanmıştır [112]. Japonya' da Luo ve arkadaşları tarafından  $\beta$ -laktamaz üretimi %35,8 (705/1967) olarak bildirilmiştir. Yine Japonya' da Yamada ve arkadaşları tarafından 260 *Haemophilus influenzae* izolatında yapılan çalışmada  $\beta$ -laktamaz üretimi %12,6 (n:33), BLNAR suşlarının oranı ise %46,9 (n:122) olarak belirlenmiştir [110]. Daha önceki yayınların verileri incelendiğinde çalışmamızdaki  $\beta$ -laktamaz pozitifliği ve BLNAR suşlarının oranları ülkemizdeki mevcut verilere göre yüksek

saptanmıştır. Uluslararası verilerde coğrafik bölgeye göre oranlar oldukça değişken olup ortalama olarak literatür ile uyumludur. Bu nedenle ülkemizdeki *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında tedavi yönetimi ve epidemiyolojik verilerin ortaya konması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki *Haemophilus influenzae* suşlarının 64' ü (%73,6) toplum kökenli etken olup; pnömoni kliniği nedeniyle yoğun bakım ünitesi ihtiyacı olan hastalardan oluşmaktadır. İzolatların hepsi yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole edilmiştir ve literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde yoğun bakım ünitesinde pnömoni kliniğindeki hastaları temsil eden son derece kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Tayvan' da Jean ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada yoğun bakımda takip edilen 31 *Haemophilus influenzae* izolatında antimikrobiyal duyarlılık sonuçları değerlendirilmiş, ampisilin direnci %55 oranında saptanmıştır [113]. Ancak bu çalışmada hastaların serotip dağılımları ortaya konmamıştır. Çalışmamızda hem yoğun bakım ünitesi takibi gerektiren toplum kaynaklı etkenlerin hem de yoğun bakım ünitesinde takip edilmekteyken izole edilen etkenlerin antimikrobiyal duyarlılık sonuçları, serotip dağılımı ve mortaliteyi etkileyen faktörler ortaya konmuştur. Literatürde, yoğun bakım hastalarında serotiplendirme ve antimikrobiyal direnç oranlarının belirlenmesine yönelik çalışmaların eksikliği dikkat çekmektedir. Bu eksiklik, tedavi stratejilerinin ve klinik yönetimin iyileştirilmesi açısından önemli bir boşluk bırakmaktadır. Çalışmamız, yoğun bakım hastalarında serotip dağılımı, antimikrobiyal direnç oranları ve mortaliteyi etkileyen faktörleri bir arada inceleyerek bu önemli boşluğu doldurmayı amaçlamaktadır. Ayrıca, mortalite ile serotip dağılımı ve antimikrobiyal direnç oranları arasındaki ilişki ortaya konularak, klinisyenlere etkin tedavi yaklaşımlarını yönetme konusunda yol göstereci olması amaçlanmıştır.

*Haemophilus influenzae* suşlarının yıllara göre dağılımı incelendiğinde örnek sayısının yoğunluğu 2016, 2018 ve 2019 yıllarındadır. 2020 yılında enfeksiyon etkeni izolat olmayıp; 2021 yılında sadece 1 izolat çalışmaya dâhil edilebilmiştir. COVID-19 pandemi döneminde uygulanan kontrol ve kısıtlama önlemlerinin *Haemophilus influenzae* insidansındaki azalmada etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu düşüncemizi, Brueggemann ve arkadaşlarının 2021 yılında 26 ülkede yürüttüğü çalışma desteklemektedir. Çalışmada COVID-19 pandemi döneminde *S pneumoniae*, *H influenzae* ve *N meningitidis* enfeksiyonları incelenmiş, bu etkenlerin insidansındaki azalma vurgulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, COVID-19 kontrol politikalarının uygulanmasının *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria meningitidis* bulaşını azaltmış olabileceği ve dünya çapında birçok ülkede yaşamı

tehdit eden invaziv hastalıkların insidansında belirgin bir azalma sağlamış olabileceği düşünülmüştür [114].

Çalışmamızda *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında mortaliteyi etkileyen faktörler değerlendirilmiştir. İstatistiksel veri analiz sonuçlarında mortaliteyi etkileyen faktörler; etkenin hastane kaynaklı olması, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızıdır. Mortaliteyi etkileyen faktörler çok değişkenli analiz ile doğrulandığında ise, nötrofil sayısı ile hastane kaynaklı etkenlerde diğerlerine göre belirgin olarak daha yüksek mortalite sonuçları belirlenmiştir. Tek değişkenli analiz sonuçlarına göre, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, serum kreatinin düzeyindeki artış ve glomerüler filtrasyon hızındaki azalma ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Çok değişkenli regresyon analizinde ise, nötrofil sayısındaki artışın mortalite ile güçlü bir korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, hastane kaynaklı etkenlerin mortalite ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koyduğu tespit edilmiştir. Literatür taramaları sonucunda, lökosit sayısı, nötrofil sayısı ve kreatinin gibi parametreler ile *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarına bağlı mortalite arasındaki ilişkinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ek olarak NTHi ve *Haemophilus influenzae* tip a' nın ikili karşılaştırma sonucunda *Haemophilus influenzae* tip a grubunda istatistiksel olarak mortalite daha yüksek bulunmuştur. Uluslararası çalışmalarda *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında mortaliteyi etkileyen risk faktörleri değerlendirilmiştir. Livorsi ve arkadaşlarının 1999-2008 yılları arasında 4.839 *Haemophilus influenzae* izolatında yaptıkları çalışmada, mortaliteyi etkileyen faktörler; prematürite, sağlık hizmeti ile ilişkili *Haemophilus influenzae* enfeksiyonu, siroz, renal replasman tedavisi, kalp yetmezliği ve hematolojik olmayan maligniteler olarak bildirilmiştir [115]. Carrera ve arkadaşları tarafından 2014-2019 yılları arasında yapılan bir çalışmada, immünsupresif ilaç kullanan ve solid organ malignitesi bulunan bireylerde 30 günlük mortalite oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir [60].

Çalışmamızın kısıtlılıkları değerlendirildiğinde; tek merkezli bir çalışma olması nedeniyle bakterilerin serotip dağılımı, antibiyotik direnç profilleri, hastaların epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörleri sadece hastanemize özgü verileri göstermektedir. Ayrıca literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde *H. influenzae* enfeksiyonlarında hasta gruplarının poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerinden değişken oranlarda alınan örneklerden oluştuğu görülmüştür. Çalışmamızda pnömonisi olan ve bakteriyemi bulunan hastalardaki veriler elde edilmek istenmiştir. Ancak bu gruptaki hasta sayısının az olması nedeniyle çalışmamızdaki örnek sayısı

ve ek olarak enfeksiyon dışı nedenlerin yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların mortalite sonuçlarına etkisi çalışmamızın kısıtlayıcı unsurlarındandır.

Çalışmamızda, *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarındaki mortalite değerlendirilmiş olup, etkenlerin izole edilmesinin ardından hastalarda gelişebilecek ek enfeksiyon odaklarının mortalite sonuçlarına olası etkisi dikkate alınmamıştır. Yoğun bakım ünitelerinde birden fazla enfeksiyon etkeninin bulunması, klinik tablonun karmaşıklığını artırarak mortaliteyi etkileyebilecek önemli bir faktör olabilir. Bu çalışma yalnızca *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının mortaliteye etkisini değerlendirmiş olup, diğer potansiyel enfeksiyon odaklarının katkısını içermemektedir. Bu nedenle, ek enfeksiyonların mortalite üzerindeki etkisini değerlendiren gelecekteki çalışmalarda daha kapsamlı bir yaklaşım benimsenmesi önerilmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Uluslararası ve ulusal yapılan çalışmalarla çalışmamız verileri birlikte değerlendirildiğinde *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında Hib aşılması sonrasında dünya çapında serotip dağılımında değişiklikler olduğu gözlemlenmiştir. Aşılama programlarındaki başarı ülkeler arasında farklılık gösterse de tüm dünyada NTHi suşları çoğunluğu oluşturmaktadır. Artan NTHi insidansı düşünüldüğünde, *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında serotip dağılımının ileri analizlerinin yapılması ve epidemiyolojik verilerin ortaya konması, aşı çalışmalarına destek olması açısından önemlidir.

Hib aşılama programları sonrasında kapsüllü suşların dağılımı coğrafi bölgelere göre değişmektedir. Avrupa’ da *Haemophilus influenzae* tip e ve f yaygınken, Kuzey Amerika ve Kanada’ da *Haemophilus influenzae* tip f daha sık görülmektedir. Son yıllarda özellikle Kuzey Amerika ve Kanada’ da *Haemophilus influenzae* tip a’ nın artan insidansı ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Crandall ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vakaların %53’ ünde menenjit kliniği olduğu ve %43’ ünün yoğun bakım ünitesinde takip edilmesi gerektiği bildirilmiştir [96]. Çalışmamızda NTHi ve *Haemophilus influenzae* tip a’ nın mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunması bu endişeyi desteklemektedir.

Çalışmamıza dâhil edilen örnekler yoğun bakım ünitesi ihtiyacı olan hasta grubundan izole edilmiştir. Literatür verileri incelendiğinde örneklerin genellikle poliklinik veya servis şartlarındaki hastalardan izole edildiği görülmektedir. Çalışmamızda toplum veya hastane kaynaklı suşlarda mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç belirlenmiştir. Ek olarak mortaliteye etki eden faktörler arasında; lökosit sayısı, nötrofil sayısı, kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı bulunmaktadır. Daha önceki yıllarda mortaliteyi etkileyen faktörlerin belirlendiği çalışmalar kısıtlı olup; *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarındaki prognozun öngörülmesi açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

*Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarında önceki yıllarda ilk seçenek olarak ampisilin önerilmekte iken, ülkemizde ve tüm dünyada artan ampisilin direnci nedeniyle, sadece duyarlı olduğu gösterilen ve invaziv enfeksiyon olmadığını düşünülen durumlarda kullanılması önerilmektedir. Ampisilin direnci ise  $\beta$ -laktamaz üretimi veya  $\beta$ -laktamazlar negatif ampisilin dirençli (BLNAR) suşlar ile ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızdaki  $\beta$ -laktamaz pozitif ve BLNAR suşların oranları son literatür verileri ile uyumlu olup empirik tedavide ampisilin kullanılmasının uygun olmayacağı düşünülmektedir. Bu çalışma, *Haemophilus influenzae* enfeksiyonlarının serotip dağılımı, antibiyotik direnç profilleri ve mortaliteyi etkileyen

faktörler hakkında önemli bulgular sunmakta olup; özellikle artan NTHi insidansı ve  $\beta$ -laktamaz üretimi gibi faktörler göz önünde bulundurularak, hekimlerin empirik tedavi protokollerini güncellemeleri ve tedavi yaklaşımlarını daha etkili hale getirebilmeleri için daha kapsamlı ve bölgesel verilerle desteklenmiş araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu önermektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Murphy TF, Haemophilus influenzae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases Part 3 [9th ed.]. Philadelphia, PA 19103-2899, 2020: 2743-2752 p.
2. Slack MPE, Cripps AW, Grimwood K, Mackenzie GA, Ulanova M. Invasive Haemophilus influenzae Infections after 3 Decades of Hib Protein Conjugate Vaccine Use. Clin Microbiol Rev. 2021 Jun 16;34(3):e0002821.
3. Kilian M. Haemophilus. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, ed. Manual of Clinical Microbiology Volume 1 [9th ed.]. Washington DC: ASM Press, 2007: 636-648.
4. Georges S, Lepoutre A, Dabernat H, Levy-Bruhl D. Impact of Haemophilus influenzae type b vaccination on the incidence of invasive Haemophilus influenzae disease in France, 15 years after its introduction. Epidemiol Infect. 2013 Sep;141(9):1787-96.
5. Akçakaya N. Haemophilus influenzae tip b (Hib) Aşısı. Çocuk Enfeksiyon Dergisi 2008; 2: 17-19.
6. Marti S, Puig C, de la Campa AG, et al. Identification of *Haemophilus haemolyticus* in clinical samples and characterization of their mechanisms of antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother. 2016;71:80–84.
7. Andersson M, Resman F, Eitrem R, et al. Outbreak of a beta-lactam resistant non-typeable *Haemophilus influenzae* sequence type 14 associated with severe clinical outcomes. BMC Infect Dis. 2015;15:581.
8. Abavisani M, Keikha M, Karbalaie M. First global report about the prevalence of multi-drug resistant Haemophilus influenzae: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2024 Jan 15;24(1):90.
9. Erwin AL, Munford RS. Comparison of Lipopolysaccharides from brazilian purpuric fever isolates and conjunctivitis isolates of *Haemophilus influenzae* biogroup aegyptius. Journal of Clinical Microbiology 1989; 27:762-767.
10. Pfeiffer R. I.-Preliminary Communication on the Exciting causes of Influenza. Br Med J. 1892 Jan 16;1(1620):128.

11. Carpenter RR, Petersdorf RG. The clinical spectrum of bacterial meningitis. *The American journal of medicine*. 1962;33(2):262-75.
12. Cohen I. La méningite cérébro-spinale septicémique. Université libre de Bruxelles, Faculté de Médecine – Médecine, Bruxelles, 1909.
13. Thjötta T, Avery O. Studies on bacterial nutrition: Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *The Journal of Experimental Medicine*. 1921;34(1):97-114.
14. Pittman M. Variation and type specificity in the bacterial species *Haemophilus influenzae*. *J Exp Med*. 1931 Mar 31;53(4):471-92.
15. Oliver SE, Moro P, Blain AE. *Haemophilus influenzae*. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases The Pink Book: Course Textbook*, 14th ed, Hall E, Wodi AP, Hamborsky J, et al (Eds) Public Health Foundation, Washington, DC. 2021.
16. Schneerson R, Barrera O, Sutton A, Robbins JB. Preparation, characterization, and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-protein conjugates. *J Exp Med*. 1980 Aug 1;152(2):361-76.
17. Peltola H, Käyhty H, Sivonen A, Mäkelä H. *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide vaccine in children: a double-blind field study of 100,000 vaccinees 3 months to 5 years of age in Finland. *Pediatrics*. 1977 Nov;60(5):730-7.
18. King SD, Ramlal A, Wynter H, Moodie K, Castle D, Kuo JS, Barnes L, Williams CL. Safety and immunogenicity of a new *Haemophilus influenzae* type b vaccine in infants under one year of age. *Lancet*. 1981 Oct 3;2(8249):705-9.
19. Gilsdorf JR. Hib Vaccines: Their Impact on *Haemophilus influenzae* Type b Disease. *The Journal of infectious diseases*. 2021;224(Supplement\_4):S321-S30.
20. Berkowitz CD, Ward JI, Meier K, Hendley JO, Brunell PA, Barkin RA, Zahradnik JM, Samuelson J, Gordon L. Safety and immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide and polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccines in children 15 to 24 months of age. *J Pediatr*. 1987 Apr;110(4):509-14.
21. *Haemophilus influenzae* tip b aşısı. 13.10.2020. Available from: <https://asi.saglik.gov.tr/liste/5-haemophilus-influenzae-tip-b-hib-hastal%C4%B1%C4%9F%C4%B1-nedir.html>.

22. Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *science*. 1995;269(5223):496-512.
23. Pr M. rosenthal KS, Pfaller MA, editors. *Medical microbiology* 6th ed Canada: Elsevier. 2009:333.
24. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. *Mandell, douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases: 2-volume set*: Elsevier Health Sciences; 2014.
25. Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover FC, Tenover FC. (2003) *Manual of Clinical Microbiology*. ASM, Washington, DC. 2007.
26. Flesher AR, Insel RA. Characterization of lipopolysaccharide of *Haemophilus influenzae*. *Journal of Infectious Diseases*. 1978;138(6):719-30.
27. Lehman DC. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Mahon CR, Lehman DC, editors. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2019. 949-92 p.
28. Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G. '*Haemophilus*' *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. 2015. p. 667-84.
29. *Haemophilus, Bordetella, Brucella, and Francisella*. In: Jawetz, Melnick, & Adelberg's *Medical Microbiology*. 27th ed. 2016. p. 263–6.
30. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda GS, Koneman GS, Schreckenberger PC, et al. '*Zor Üreyen Çeşitli Gram-Negatif Basiller*' Koneman's *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Türkçe Baskısı)* 7. baskı 2017. p. 475-88.
31. Murray PR, Rosenthal KS. *Medical Microbiology- Tıbbi Mikrobiyoloji*. 6th ed. Başustaoğlu AC, editor. Philadelphia-Ankara: Mosby Elsevier-Atlas Yayıncılık 2010. 343-50 p.
32. *Ulusal Mikrobiyoloji Standartları: Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi*. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Ankara, 2014.
33. Ryan KJ, Tenover FC '*Haemophilus and Bordetella*' *Sherris Medical Microbiology*. 6th Edition. 2014. Chapter 31. p. 551-58.
34. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Diagnostic Microbiology* [12th ed.]. Missouri: Mosby Elsevier, 2007: 403-409.

35. Chapin K, Doern G. Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from specimens contaminated with upper respiratory tract microbial flora. *Journal of Clinical Microbiology*. 1983;17(6):1163-5.
36. Gilsdorf JR. Antigenic diversity and gene polymorphisms in *Haemophilus influenzae*. *Infection and immunity*. 1998;66(11):5053-9.
37. Yenen OŞ, Öngen B. *Haemophilus influenzae* infeksiyonları. In: Gürler B, ed. *Tıbbi Mikrobiyoloji 3*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 111-125.
38. Musser JM, Barenkamp SJ, Granoff D, Selander R. Genetic relationships of serologically nontypable and serotype b strains of *Haemophilus influenzae*. *Infection and immunity*. 1986;52(1):183-91.
39. Gildsorf JR, Marrs CF, Foxman B. *Haemophilus influenzae*: Genetic variability and natural selection to identify virulence factors. *Infection and Immunity* 2004; 72:2457-2461.
40. Gibson BW, Melaugh W, Phillips NJ, Apicella MA, Campagnari AA, Griffiss J. Investigation of the structural heterogeneity of lipooligosaccharides from pathogenic *Haemophilus* and *Neisseria* species and of R-type lipopolysaccharides from *Salmonella typhimurium* by electrospray mass spectrometry. *Journal of bacteriology*. 1993;175(9):2702-12.
41. Campagnari AA, Gupta M, Dudas K, Murphy T, Apicella M. Antigenic diversity of lipooligosaccharides of nontypable *Haemophilus influenzae*. *Infection and immunity*. 1987;55(4):882-7.
42. Apicella MA, Dudas KC, Campagnari A, Rice P, Mylotte J, Murphy T. Antigenic heterogeneity of lipid A of *Haemophilus influenzae*. *Infection and immunity*. 1985;50(1):9- 14.
43. Fournier C, Smith A, Delepelaire P. Haem release from haemopexin by HxuA allows *Haemophilus influenzae* to escape host nutritional immunity. *Molecular microbiology*. 2011;80(1):133-48.
44. Murphy TF. *Haemophilus* Species (Including *H. influenzae* and Chancroid). In: E. Bennett J, Dolin R, J. Blaser M, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases*. 8th ed. Elsevier Saunders; 2015.
45. Yeh S, Torchia MM. Epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and treatment of *Haemophilus influenzae*. UpToDate [Internet]. 2019.

46. Geme III JW St. The pathogenesis of nontypable *Haemophilus influenzae* otitis media. *Vaccine* 2001; 19: S41–S50.
47. A. Lebedoev N, V. Doern G. *Haemophilus*. In: H. Jorgensen J, A. Pfaller M, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. 2015. p. 667–84.
48. Mamal Torun M. Bakteri Enfeksiyonları. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3rd ed. Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 2243–9.
49. Rao VK, Krasan GP, Hendrixson DR, Y SD, St JW, Iii G. Molecular determinants of the pathogenesis of disease due to non-typable *Haemophilus influenzae*. *FEMS Microbiology Reviews*. 1999;23.
50. Pinto M, González-Díaz A, Machado MP, Duarte S, Vieira L, Carriço JA, et al. Insights into the population structure and pan-genome of *Haemophilus influenzae*. *Infect Genet Evol*. 2019;67:126–35.
51. Murphy TF. 'Haemophilus Species, Including *H. influenzae* and *H. ducreyi*' In: E. Bennett J, Dolin R, J. Blaser M, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases*. 8th ed. Elsevier Saunders; 2015. p. 2575-83.
52. Howard A, Dunkin K, Millar G. Nasopharyngeal carriage and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae* in healthy children. *Epidemiology & Infection*. 1988;100(2):193- 203.
53. Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clinical microbiology reviews*. 2000;13(2):302-17.
54. European Centre for Disease Prevention and Control. *Haemophilus influenzae*. In: ECDC. *Annual epidemiological report for 2018*. Stockholm: ECDC; 2020. ECDC Solna.
55. Li KI, Dashefsky B, Wald ER. *Haemophilus influenzae* type b colonization in household contacts of infected and colonized children enrolled in day care. *Pediatrics*. 1986;78(1):15-20.
56. Centers for Disease Control and Prevention. 2018. *Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Haemophilus influenzae 2018*. Available via the internet: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/hi18.pdf>.

57. Collins S, Ramsay M, Campbell H, Slack MP, Ladhani SN. Invasive Haemophilus influenzae type b disease in England and Wales: who is at risk after 2 decades of routine childhood vaccination? *Clinical infectious diseases*. 2013;57(12):1715-21.
58. Whittaker R, Economopoulou A, Dias JG, Bancroft E, Ramliden M, Celentano LP. Epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease, Europe, 2007–2014. *Emerging infectious diseases*. 2017;23(3):396.
59. Centers for Disease Control and Prevention 'Haemophilus influenzae Disease (Including Hib)' [cited 2023 August]. Available from: <https://www.cdc.gov/hi-disease/surveillance.html>
60. Carrera-Salinas A, González-Díaz A, Calatayud L, Mercado-Maza J, Puig C, Berbel D, et al. Epidemiology and population structure of Haemophilus influenzae causing invasive disease. *Microbial Genomics*. 2021;7(12).
61. Blain A, MacNeil J, Wang X, Bennett N, Farley MM, Harrison LH, et al., editors. Invasive Haemophilus influenzae disease in adults  $\geq$  65 years, United States, 2011. *Open forum infectious diseases*; 2014: Oxford University Press.
62. Vahaboğlu M, Mülazimoğlu L, Yıldırım İ, Avkan V, Taşer B. Nasopharyngeal carriage rate and antimicrobial resistance of haemophilus influenzae in İstanbul-Türkiye. *Marmara Medical Journal*. 1994;7(2):78-80.
63. Torun MM, Namal N, Demirci M, Bahar H, Kocazeybek B. Pharyngeal carriage and antimicrobial resistance of Haemophilus influenzae in non-type-b-vaccinated healthy children attending day care centers in Turkey. *Chemotherapy*. 2007;53(2):114-7.
64. Makela PH, Takala AK, Peltola H, Eskola J. Epidemiology of invasive Haemophilus influenzae type b disease. *Journal of infectious Diseases*. 1992;165 (Supplement\_1):S2-S6.
65. Takala AK, Clements DA. Socioeconomic risk factors for invasive Haemophilus influenzae type b disease. *Journal of Infectious Diseases*. 1992;165(Supplement\_1):S11-S5.
66. Centers for Disease Control and Prevention. Erişim Tarihi 06.10.2022. <https://www.cdc.gov/hi-disease>.
67. Hacımustafaoğlu M. Çocuklarda invaziv H. influenzae tip b Enfeksiyonları. *Güncel Pediatri* 2006; 3:114-117.

68. Torun MM, Bektöre B, Kaleli İ, Özyeğen Aslan S, Ögünç D, Dündar D, et al. Zor Üreyen Çeşitli Gram-Negatif Basiller. In: Başustaoğlu A, Us AD, editors. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Mikrobiology. 7th ed. Hipokrat Kitabevi; 2017. P. 473–88.
69. Kim KS. Acute bacterial meningitis in infants and children. *The Lancet infectious diseases*. 2010;10(1):32-42.
70. Bostancı İ, Aral YZ, Atlı Ö, Türkoğlu Ö, Dallar Y. Ülkemizde rutin aşılama programına H. influenzae tip b aşısı eklenmeli mi? Menenjit ve epiglottitli iki olgu sunumu. *Gülhane Tıp Dergisi* 2004; 46:47-49.
71. Öztürk R. Üst solunum yolu enfeksiyonları. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 2007; 55: 99-124.
72. Murphy T, Sethi S. Chronic obstructive pulmonary disease-Role of bacteria and guide to antibacterial selection in the older patient. *Drugs & aging*. 2002;19(10):761-75.
73. Murphy TF, Brauer AL, Schiffmacher AT, Sethi S. Persistent colonization by Haemophilus influenzae in chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;170(3):266-72.
74. Goldenberg D.L. Septic arthritis. *The Lancet* 1998; 351.
75. Aydın D, Ağaçfidan A, Güvener Z, Kadioğlu A, Ang Ö. Bacterial Pathogens in Male Patients With Urethritis in İstanbul. *Sexually Transmitted Diseases*. 1998;25(8):448-9.
76. Bottone EJ, Zhang DY. Haemophilus parainfluenzae Biliary Tract Infection: Rationale for an Ascending Route of Infection from the Gastrointestinal Tract. *Journal of Clinical Microbiology* 1995; 33:3042-3043.
77. Bayraktar M, Onal C, Durmaz B, Yakinci C, Sonmezgoz E. Haemophilus aphrophilus brain abscess in the first decade. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2005; 23:259-261.
78. Bangsberg JM, Tvede M, Skinhoj P. Haemophilus segnis endocarditis. *Journal of Infection* 1988; 16:81-85.
79. Søndergaard A, Nørskov-Lauritsen N. Contribution of PBP3 Substitutions and TEM-1, TEM-15, and ROB-1 Beta-Lactamases to Cefotaxime Resistance in Haemophilus influenzae and Haemophilus parainfluenzae. *Microb Drug Resist*. 2016;22(4):247–52.

80. European Centre for Disease Prevention and Control 'Factsheet about Invasive Haemophilus influenzae disease' [cited 2023 September]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/invasive-haemophilus-influenzae-disease/facts>.
81. Dennis L. Kasper, and Anthony S. Fauci. 'Chapter 47 Haemophilus infections' Harrison's Infectious Diseases, McGraw Hill, 2010.
82. Bakir M, Yagci A, Ulger N, Akbenlioglu C, Ilki A, Soyletir G, Basaran M. Pharyngeal colonization with Haemophilus influenzae type b among healthy Turkish infants and children. *Pediatr Int.* 2002 Aug;44(4):381-6. doi: 10.1046/j.1442-200x.2002.01581.x. PMID: 12139561.
83. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. Enfeksiyon Hastalıklarında Tedavi. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar 1. 3rd ed. Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 219–448.
84. T.C. Sağlık Bakanlığı Aşı Portalı 'Haemophilus influenzae Tip b (Hib) Hastalığı' <https://asi.saglik.gov.tr/liste/5-haemophilus-influenzae-tip-b-hib-hastal%C4%B1%C4%9F%C4%B1-nedir.html>.
85. Soeters HM, Blain A, Pondo T, Doman B, Farley MM, Harrison LH, Lynfield R, Miller L, Petit S, Reingold A, Schaffner W, Thomas A, Zansky SM, Wang X, Briere EC. Current Epidemiology and Trends in Invasive Haemophilus influenzae Disease-United States, 2009-2015. *Clin Infect Dis.* 2018 Aug 31;67(6):881-889. doi: 10.1093/cid/ciy187. PMID: 29509834; PMCID: PMC6181225.
86. Hani E, Abdullahi F, Bertran M, Eletu S, D'Aeth J, Litt DJ, Fry NK, Ladhani SN. Trends in invasive Haemophilus influenzae serotype b (Hib) disease in England: 2012/13 to 2022/23. *J Infect.* 2024 Oct;89(4):106247. doi: 10.1016/j.jinf.2024.106247. Epub 2024 Aug 10. PMID: 39134211.
87. Ladhani SN, Collins S, Vickers A, Litt DJ, Crawford C, Ramsay ME, Slack MP. Invasive Haemophilus influenzae serotype e and f disease, England and Wales. *Emerg Infect Dis.* 2012 May;18(5):725-32. doi: 10.3201/eid1805.111738. PMID: 22515912; PMCID: PMC3358072.
88. Collins S, Litt D, Almond R, Findlow J, Linley E, Ramsay M, Borrow R, Ladhani S. Haemophilus influenzae type b (Hib) seroprevalence and current epidemiology in England and Wales. *J Infect.* 2018 Apr;76(4):335-341. doi: 10.1016/j.jinf.2017.12.010. Epub 2017 Dec 28. PMID: 29289561.

89. Takla A, Schönfeld V, Claus H, Krone M, An der Heiden M, Koch J, Vogel U, Wichmann O, Lãm TT. Invasive *Haemophilus influenzae* Infections in Germany After the Introduction of Routine Childhood Immunization, 2001-2016. *Open Forum Infect Dis.* 2020 Sep 18;7(10):ofaa444. doi: 10.1093/ofid/ofaa444. PMID: 33134416; PMCID: PMC7585332.
90. Lãm T-T, Claus H, Krone M. 2019. Invasive *Haemophilus influenzae* isolates in Germany 2017 and 2018: laboratory surveillance report, abstr PO-017-(EMGM2019-13294), p 26.
91. Toropainen M. 2019. Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease in Finland, 2016–2018, abstr PO-016-(EMGM2019-13238), p 25.
92. Neri A, Giufrè M, Fazio C, Vacca P, Ambrosio L, Palmieri A, Cardines R, Riccardo F, Fabiano M, Caporali MG, Leone P, Cerquetti M, Stefanelli P. 2019. Invasive diseases due to *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae*, abstr PO-014-(EMGM2019), p 23.
93. Soeters HM, Oliver SE, Plumb ID, Blain AE, Zulz T, Simons BC, Barnes M, Farley MM, Harrison LH, Lynfield R, Massay S, McLaughlin J, Muse AG, Petit S, Schaffner W, Thomas A, Torres S, Watt J, Pondo T, Whaley MJ, Hu F, Wang X, Briere EC, Bruce MG. Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* Serotype a Disease-United States, 2008-2017. *Clin Infect Dis.* 2021 Jul 15;73(2):e371-e379. doi: 10.1093/cid/ciaa875. PMID: 32589699; PMCID: PMC9628811.
94. Arvas A, Gur E, Bahar H, Torun MM, Demirci M, Aslan M, Kocazeybek B. *Haemophilus influenzae* type b antibodies in vaccinated and non-vaccinated children. *Pediatr Int.* 2008 Aug;50(4):469-73. doi: 10.1111/j.1442-200X.2008.02591.x. PMID: 19143969.
95. Tsang RSW, Ulanova M. The changing epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease: Emergence and global presence of serotype a strains that may require a new vaccine for control. *Vaccine.* 2017 Jul 24;35(33):4270-4275. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.06.001. Epub 2017 Jun 27. PMID: 28666758.
96. Crandall H, Christiansen J, Varghese AA, Russon A, Korgenski EK, Bengtson EK, Dickey M, Killpack J, Knackstedt ED, Daly JA, Ampofo K, Pavia AT, Blaschke AJ. Clinical and Molecular Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* Serotype a Infections in Utah Children. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2020 Dec 31;9(6):650-655. doi: 10.1093/jpids/piz088. PMID: 31858115; PMCID: PMC10147389.
97. Altun B, Gür D. Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi'nde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Haemophilus Influenzae* Susularinin Antibiyotiklere Direnç Durumu (2002-2007)

/Antimicrobial Resistance in Haemophilus Influenzae Strains Isolated From Various Clinical Samples in Hacettepe University Children's Hospital (2002-2007). *Cocuk Enfeksiyon Dergisi*. 2008;2(2):50.

98. Sener B, Tunçkanat F, Ulusoy S, Tünger A, Söyletir G, Mülazimoğlu L, Gürler N, Oksüz L, Köksal I, Aydın K, Yalçın AN, Oğünç D, Acar A, Sievers J. A survey of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Turkey, 2004-2005. *J Antimicrob Chemother*. 2007 Sep;60(3):587-93. doi: 10.1093/jac/dkm232. Epub 2007 Jun 26. PMID: 17597058.

99. Taha A, Adeline F, Taha MK, Deghmane AE. *Haemophilus influenzae* drug resistance in France from 2017 to 2021: consideration for treatment of otitis media. *J Glob Antimicrob Resist*. 2022 Dec;31:222-227. doi: 10.1016/j.jgar.2022.09.008. Epub 2022 Oct 1. PMID: 36195280.

100. Kiedrowska M, Forys WJ, Gołębiewska A, Waśko I, Ronkiewicz P, Kuch A, Wróbel-Pawelczyk I, Wroczyński M, Hryniewicz W, Skoczyńska A. Antimicrobial resistance among *Haemophilus influenzae* isolates responsible for lower respiratory tract infections in Poland, 2005-2019. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022 Jun;41(6):961-969. doi: 10.1007/s10096-022-04457-w. Epub 2022 May 18. PMID: 35585442.

101. Gür H, Hazırolan G. *Haemophilus influenzae* suşlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin ve beta-laktamaz aktivitesinin araştırılması. *ANKEM Derg*. 2020;34(1):18-24.

102. Gonullu N, Catal F, Kucukbasmaci O, Ozdemir S, Torun MM, Berkiten R. Comparison of in vitro activities of tigecycline with other antimicrobial agents against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in two university hospitals in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy*. 2009;55(3):161-7. doi: 10.1159/000214144. Epub 2009 Apr 22. PMID: 19390189.

103. Zhou M, Fu P, Fang C, Shang S, Hua C, Jing C, Xu H, Chen Y, Deng J, Zhang H, Zhang T, Wang S, Lin A, Huang W, Cao Q, Wang C, Yu H, Cao S, Deng H, Gao W, Hao J. Antimicrobial resistance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric hospitals in Mainland China: Report from the ISPED program, 2017-2019. *Indian J Med Microbiol*. 2021 Oct-Dec;39(4):434-438. doi: 10.1016/j.ijmmb.2021.09.001. Epub 2021 Sep 21. PMID: 34556347.

104. Kuvat N, Öngen B. *Haemophilus influenzae* suşlarında antibiyotik direnci ve ampicilin direncinin moleküler analizi. 1. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Antalya 2011; 292.
105. Hachisu Y, Tamura K, Murakami K, Fujita J, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, Kubota T, Oshima K, Maruyama T, Kasahara K, Nishi J, Abe S, Nakamura M, Kubota M, Hirai S, Ishioka T, Ikenoue C, Fukusumi M, Sunagawa T, Suzuki M, Akeda Y, Oishi K; Adult IHD Study Group. Invasive *Haemophilus influenzae* disease among adults in Japan during 2014-2018. *Infection*. 2023 Apr;51(2):355-364. doi: 10.1007/s15010-022-01885-w. Epub 2022 Jul 28. PMID: 35902511.
106. Torumkuney D, Tunger A, Sancak B, Bıçakçıgil A, Altun B, Aktas Z, Kayacan C, Morrissey I. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2015-17 in Turkey: data based on CLSI, EUCAST (dose-specific) and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) breakpoints. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Apr 1;75(Suppl 1):i88-i99. doi: 10.1093/jac/dkaa086. PMID: 32337598.
107. Zhou Y, Wang Y, Cheng J, Zhao X, Liang Y, Wu J. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Haemophilus influenzae* in Guiyang, Guizhou, China. *Front Public Health*. 2022 Dec 1;10:947051. doi: 10.3389/fpubh.2022.947051. PMID: 36530676; PMCID: PMC9751421.
108. Cadenas-Jiménez I, Saiz-Escobedo L, Carrera-Salinas A, Camprubí-Márquez X, Calvo-Silveria S, Camps-Massa P, Berbel D, Tubau F, Santos S, Domínguez MA, González-Díaz A, Ardanuy C, Martí S. Molecular characterization of macrolide resistance in *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae* strains (2018-21). *J Antimicrob Chemother*. 2024 Sep 3;79(9):2194-2203. doi: 10.1093/jac/dkae214. PMID: 38946313.
109. Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Teker A, Ozbakkaloglu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. *Indian J Med Res*. 2004 Nov;120(5):489-94. PMID: 15591635.
110. Yamada S, Seyama S, Wajima T, Yuzawa Y, Saito M, Tanaka E, Noguchi N.  $\beta$ -Lactamase-non-producing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* is acquiring multidrug resistance. *J Infect Public Health*. 2020 Apr;13(4):497-501. doi: 10.1016/j.jiph.2019.11.003. Epub 2019 Dec 12. PMID: 31839585.
111. Cherkaoui A, Diene SM, Emonet S, Renzi G, Francois P, Schrenzel J. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates in Geneva: serotype, antimicrobial susceptibility, and  $\beta$ -lactam

resistance mechanisms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 Oct;34(10):1937-45. doi: 10.1007/s10096-015-2435-5. Epub 2015 Jul 18. PMID: 26187432.

112. García-Cobos S, Arroyo M, Pérez-Vázquez M, Aracil B, Lara N, Oteo J, Cercenado E, Campos J. Isolates of  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* causing invasive infections in Spain remain susceptible to cefotaxime and imipenem. *J Antimicrob Chemother*. 2014 Jan;69(1):111-6. doi: 10.1093/jac/dkt324. Epub 2013 Aug 13. PMID: 23943391.

113. Jean SS, Hsueh PR, Lee WS, Chang HT, Chou MY, Chen IS, Wang JH, Lin CF, Shyr JM, Ko WC, Wu JJ, Liu YC, Huang WK, Teng LJ, Liu CY. Nationwide surveillance of antimicrobial resistance among *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* in intensive care units in Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009 Aug;28(8):1013-7. doi: 10.1007/s10096-009-0727-3. Epub 2009 Mar 12. PMID: 19280234.

114. Brueggemann AB, Jansen van Rensburg MJ, Shaw D, McCarthy ND, Jolley KA, Maiden MCJ, van der Linden MPG, Amin-Chowdhury Z, Bennett DE, Borrow R, Brandileone MC, Broughton K, Campbell R, Cao B, Casanova C, Choi EH, Chu YW, Clark SA, Claus H, Coelho J, Corcoran M, Cottrell S, Cunney RJ, Dalby T, Davies H, de Gouveia L, Deghmane AE, Demczuk W, Desmet S, Drew RJ, du Plessis M, Erlendsdottir H, Fry NK, Fuursted K, Gray SJ, Henriques-Normark B, Hale T, Hilty M, Hoffmann S, Humphreys H, Ip M, Jacobsson S, Johnston J, Kozakova J, Kristinsson KG, Krizova P, Kuch A, Ladhani SN, Lâm TT, Lebedova V, Lindholm L, Litt DJ, Martin I, Martiny D, Mattheus W, McElligott M, Meehan M, Meiring S, Mölling P, Morfeldt E, Morgan J, Mulhall RM, Muñoz-Almagro C, Murdoch DR, Murphy J, Musilek M, Mzabi A, Perez-Argüello A, Perrin M, Perry M, Redin A, Roberts R, Roberts M, Rokney A, Ron M, Scott KJ, Sheppard CL, Siira L, Skoczyńska A, Sloan M, Slotved HC, Smith AJ, Song JY, Taha MK, Toropainen M, Tsang D, Vainio A, van Sorge NM, Varon E, Vlach J, Vogel U, Vohrnova S, von Gottberg A, Zanella RC, Zhou F. Changes in the incidence of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: a prospective analysis of surveillance data. *Lancet Digit Health*. 2021 Jun;3(6):e360-e370. doi: 10.1016/S2589-7500(21)00077-7. Erratum in: *Lancet Digit Health*. 2021 Jul;3(7):e413. doi: 10.1016/S2589-7500(21)00103-5. PMID: 34045002; PMCID: PMC8166576.

115. Livorsi DJ, Macneil JR, Cohn AC, Bareta J, Zansky S, Petit S, Gershman K, Harrison LH, Lynfield R, Reingold A, Schaffner W, Thomas A, Farley MM. Invasive *Haemophilus influenzae* in the United States, 1999-2008: epidemiology and outcomes. *J Infect.* 2012 Dec;65(6):496-504. doi: 10.1016/j.jinf.2012.08.005. Epub 2012 Aug 15. PMID: 22902945; PMCID: PMC4329643.

116. Maaroufi Y, De Bruyne JM, Heymans C, Crokaert F. Real-time PCR for determining capsular serotypes of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 2007 Jul;45(7):2305-8. doi: 10.1128/JCM.00102-07. Epub 2007 May 16. PMID: 17507524; PMCID: PMC1932976.

117. Ocaklı Aylin İrem, Klinik Örneklerden İzole Edilen *Haemophilus influenzae* Suşlarının İn Vitro Antibiyotik Duyarlılıklarının EUCAST ve CLSI Kriterleri Doğrultusunda Değerlendirilmesi ve Beta-Laktam Direncinin Moleküler Analizi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2023.