



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA 2.BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi

ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYON BULGULARI İLE
BAŞVURAN ÇOCUKLARIN BOĞAZ SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDE
CORYNEBACTERIUM DIPHThERIAE, *CORYNEBACTERIUM*
ULCERANS VE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*
SUŞLARININ ARAŞTIRILMASI

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzman Dr. Zeynep Gökçe Gayretli Aydın

ANKARA
2016



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA 2.BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi

ÜST SOLUNUM YOLU ENFEKSİYON BULGULARI İLE BAŞVURAN
ÇOCUKLARIN BOĞAZ SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDE *CORYNEBACTERIUM*
DIPHtherIAE, *CORYNEBACTERIUM ULCERANS* VE
CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS SUŞLARININ
ARAŞTIRILMASI

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzman Dr. Zeynep Gökçe Gayretli Aydın

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gönül TANIR

ANKARA
2016

TEŞEKKÜRLER

Yan dal uzmanlık eğitimim süresince katkı ve desteklerinden dolayı hastane yöneticimiz Sayın Uzman Dr. Eyüp Sarı' ya teşekkür ederim.

Yan dal uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden bugüne bizden gülyüzünü bir an olsun esirgemeyen, yüksek bilgi birikimi ve tıbbi tecrübesi ile her an öğrendiklerimize yenisini öğretmek için hiç yorulmadan, bıkmadan büyük bir özveri ve sabırla emek sarfeden, tüm yaşamımda kişiliği ve hekimliğini örnek alacağım saygıdeğer hocam Doç. Dr.Gönül TANIR' a, sonsuz saygı, sevgi ve şükran borçluyum.

Yan dal uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım sevgili arkadaşlarım Dr. Türkan AYDIN TEKE, Dr. Gülsüm İclal BAYHAN, Dr. Fatma Nur ÖZ, Dr. Özge METİN AKCAN ve Dr. Ayşe KAMAN 'a,

Tanıştığımız günden beri her zaman yanımda olan, her konuda beni destekleyen ve sabır gösteren çok sevdiğim eşim Dr. Altan AYDIN' a ve onlar ile birlikteyken tüm sıkıntılarımı unuttuğum çok sevdiğim çocuklarım Göktuğ ve Kerem' e

Hayatımın her aşamasında beni büyük özveri, sabır ve anlayışla destekleyen, sevgileri ve emekleriyle daima destek olan ve bugünlere getiren annem, babam ve kardeşime;

En içten şükran, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Zeynep Gökçe GAYRETLİ AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜRLER.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Corynebacterium diphtheriae.....	3
2.2. Epidemiyoloji	6
2.3. Patogenez	10
2.4. Klinik Belirti ve Bulgular	12
2.4.1. Solunum Yolu Difterisi.....	12
2.4.2. Kütanöz Difteri.....	13
2.4.3. Diğer Bölgelerin Enfeksiyonu	14
2.4.4. Toksik Miyokardit	15
2.4.5. Toksik Nöropati	15
2.7. Prognoz	16
2.5. Vaka Tanımları	17
2.6. Tanı Testleri.....	17
2.5. Tedavi.....	18
2.5.1. Antitoksin	18
2.5.2. Antibiyotik Tedavisi	19
2.5.3. Diğer Önlemler	20
2.5.4. Temaslı Kişiler.....	21
2.6. Korunma	23
2.6.1. AŞI	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Klinik örnekleme	26
3.2. Mikrobiyolojik inceleme.....	27

3.2.1. Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yürütülen incelemeler.....	27
3.2.2. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarında yürütülen incelemeler	27
4. BULGULAR.....	33
5 TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR	40
7. ÖZET	42
8. SUMMARY.....	44
KAYNAKLAR.....	46
EKLER	50
Ek 1. Bildirimi Zorunlu Hastalıklar Fişi.....	50

SİMGE VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AGβHS	: A grubu beta hemolitik streptokokların
BCG	: Bacille Calmette-Guerin Aşısı
BOS	: Beyin Omurilik Sıvı
CTBA	: Sistin-Tellürit-Kanlı Agar
DaBT-İPA	: Difteri, aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif PolioAşısı
DaBT-İPA-Hib	: Difteri, aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif Polio,
DBT	: Difteri, Boğmaca, Tetanoz
DIPNET	: Diphtheria Surveillance Network”
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DT	: Çocuk Difteri, Tetanoz Aşısı
DTX	: Difteri Ekzotoksini
DtxR	: Difteri Toksin Represörü
EF	: Elongasyon Faktörü
EKG	: Elektrokardiyografi
	Hemofilus influenza tip b Aşısı
KKK	: Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak Aşısı
KPA	: Konjuge Pnömonokok Aşısı
NTTB	: ‘non-toxigenic tox gene-bearing strains’
OPA	: Oral Polio Aşısı
R	: Pekiştirme
RNA	: Ribonükleik Asit
Td	: Erişkin tipi Difteri, Tetanoz
Tdap	: Tetanoz- erişkin tip difteri, aselüler boğmaca
ÜSYE	: Üst Solunum Yolu Enfeksiyon

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Rutin çocukluk dönemi aşıları ile birlikte difteri toksoidi içeren aşılar	24
Tablo 2. <i>Corynebacterium</i> lar için biyokimyasal tanımlamada kullanılan özellikler.....	29



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil.1. DSÖ Avrupa Bölgesi, Rusya ve Ukrayna'dan 1980-1993 yılları arasında bildirilen difteri vakaları	8
Şekil 2. Türkiye'de 1970-2001 yılları arasında bildirilen difteri vaka ve ölüm sayıları	9
Şekil 3. Difterinin tanısı için klinik örneklerin kültürlerinden izolasyon ve tanımlama akış şeması	32



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Rutin difteri aşılmasının başlamasını takiben dünyanın pek çok bölgesinde hastalığın görülme sıklığında belirgin azalma olmasına rağmen, difteri vakaları nadir de olsa bildirilmektedir. Difteri başta tonsiller, farinks, larinks ve burun olmak üzere deri, konjonktivalar ile genital bölgede yerleşim gösterebilen akut bakteriyel bir hastalıktır. Difteri aerob, gram pozitif bir bakteri olan *Corynebacterium diphtheriae*'nin toksijenik gravis, mitis veya intermedius biyotiplerinden biri ile ortaya çıkar. Toksin üreten diğer bazı *Corynebacterium* türleri de (*C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*) difteriye neden olabilir. Toksijenik olmayan *C.diphtheriae* suşları da difteriye neden olabilmesine rağmen toksik miyokardit ve toksik nörite sadece toksin üreten suşlar neden olur (1).

Avrupa Bölgesi' nde 2000' e kadar yerli difteri vakalarının eliminasyonu hedeflenmesine rağmen halen Litvanya, Ukrayna ve Rusya Federasyonu başta olmak üzere bazı Avrupa ülkelerinde difteri vakaları vardır. Eliminasyon hedeflerine ulaşılamamasının en önemli nedeninin, aşılama ile kazanılan bağışıklığın zaman içinde azalması olarak düşünüldüğü bildirilmiştir (2). Türkiye' de 1960' ların ortalarında sistematik bir aşılama programının uygulamaya konulması ile difteri insidansında çok hızlı bir düşüş izlenmiş, 1980' de 86 vaka ile yıllık en düşük sayıya ulaşılmıştır. Bu tarihten sonra ise Avrupa' da kaydedilmiş olan iki epidemi (1982-85 ve 1990-95) Türkiye' yi de etkilemiş ve önceki yıllarla kıyaslandığında belirgin vaka artışı olmuştur. Ülkemizde, en son 2011' de kaydedilmiş bir erişkin difteri vakası dışında, 2002' den bu yana hiç vaka görülmemiştir (3).

Aşılammış toplumlarda yeni vakaların ortaya çıkması toplumda toksijenik suşların dolaştığının göstergesidir. Böyle toplumlarda patojenin hiç aşılanmamış veya rapelsiz duyarlı bireylere geçişinde asemptomatik taşıyıcılık durumu önemli bir rol oynar (3). Toksijenik ve toksijenik olmayan suşlar ile özellikle aşıllı bireylerde klasik psödomembranın gözlenmediği ve streptokok farenjitine benzer bir tablo şeklinde ortaya çıkabilen ılımlı difteri vakaları da duyarlı bireylere bulaşta rol oynar. Ayrıca nontoksijenik suşlar *tox* geni ile birlikte bakteriyofaj tarafından liyojenize olarak toksijenik forma dönüşebilir. Difteri aşısı asemptomatik taşıyıcılığa ve nontoksijenik *C.diphtheriae* kolonizasyonuna karşı da koruyucu değildir (4, 5, 6).

Çocukluk çağı rutin aşılama oranının yüksek olduğu, yeni difteri vakalarının çok nadir ortaya çıktığı ülkemizde, zamanla antitoksin antikörlerin düzeyinin düşmesine ve erişkin aşılamasında aksamalar olmasına bağlı olarak difteri salgınları ortaya çıkma riski vardır. Ayrıca uluslararası seyahat ve göçmen hareketlerinde artış bulaş riskini artırır. Ülkemizde rutin olarak toksijenik ve nontoksijenik *C.diphtheriae* sürveyansı yapılmamaktadır. Bu çalışmada, mikrobiyolojik sürveyans gereksinimine ışık tutmak, halk sağlığı uzmanları, mikrobiyologlar ve klinisyenler arasında bu organizmalar hakkında farkındalık yaratmak amacıyla, ılımlı difteri ile karışabilecek üst solunum yolu enfeksiyon (ÜSYE) bulguları ile başvuran çocuklarda *C.diphtheriae*, *C.ulcerans* ve *C.pseudotuberculosis* suşlarının varlığı araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

Hipokrat zamanından beri bilinen, belki de insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olan difteri; başta tonsiller, farinks, larinks ve burun olmak üzere üst solunum yolu, deri ve bazen de konjunktivalar ile genital bölgede yerleşim gösterebilen akut bakteriyel bir enfeksiyon hastalığıdır. Onaltıncı ve 17. Yüzyıl' larda İspanya'da, 18. Yüzyıl' da İngiltere' de ve 19. Yüzyıl' da İngiltere, Avusturya, Almanya ve Danimarka' da epidemiler kaydedilmiştir. Klinik bir fenomen olarak tanımı ilk kez 1826' da Bretonneau tarafından yapılmış ve enfeksiyonun seyri esnasında tonsillerde membran oluşumundan dolayı hastalığa Yunanca' da deri/kaplama anlamına gelen “**diphthérite**” adı verilmiştir.

Organizma ilk kez 1884' te Loeffler tarafından kültürde üretilmiştir. Takibeden birkaç yıl içinde, von Behring, Kitasato ve diğerlerinin çalışmaları hastalıktan ölümleri önemli ölçüde azaltan tedavi amaçlı bir antitoksinin üretimiyle sonuçlanmıştır. Hastalığın elimine edilebileceğini müjdeleyen en önemli adım ise 1930'lu yıllar boyunca difteri toksoidi ile aktif immünizasyonun geliştirilmesidir.

2.1. *Corynebacterium diphtheriae*

Corynebacterium diphtheriae, difteri hastalığının etkeni olan *Coryneform* bakteriler grubundan, kapsülsüz, sporsuz, hareketsiz, pleomorfik, gram pozitif bir basildir. Bakteri ismini genellikle uçlarında bulunan şişlikler nedeniyle lobuta benzediği için Yunanca' da lobut anlamına gelen “**corynee**” ve tonsillofaringeal bölgede oluşturduğu sert zardan dolayı kösele anlamına gelen “**diphthérite**” sözcüklerinden almıştır (1,7). En iyi metilen mavi boyası ile görülen karakteristik

metakromatik granüller ve birbirlerine paralel, dik açılarla duran, polimorfizm gösteren, X, V, L, Y ve Çin harflerine benzer morfolojik görünüm *C. diphtheriae*' yı diğer corynebacterilerden ayırır (1). 1884' de Loeffler, kendi oluşturduğu besiyerinde ilk kez difteri basilini izole etti. Löffler besiyeri olarak adlandırılan bu besiyeri, bir hacim %1 glikozlu buyyon ve üç hacim sığır serumundan oluşur. Optimum üreme ısısı olan 35-37 °C' de ve optimum üreme pH' sı olan 7,6 civarında 48 saatte ürer. *C. diphtheriae* kanlı agarda da ürer, fakat laboratuvar muhtemel tanı konusunda uyarılmadıkça saptanması güçtür. Kanlı agarda *C. diphtheriae* kolonileri; küçük taneli, düzensiz kenarlı ve gri renktedir (1,7). Besiyeri olarak modifiye Tinsdale gibi bir seçici potasyum tellürit agar kullanılabilir. Böylece normal boğaz florası inhibe edilerek ve tellürit indirgenerek kahverengi/siyah koloniler etrafında kahverengi bir hale oluşturan *C. diphtheriae* ve *C.ulcerans* saptanır(1).

Corynebacterium diphtheriae'nin dört ayrı biyotipi vardır. Bu biyotipler; *gravis*, *intermedius*, *mitis* ve *belfanti*' dir. Bu biyotiplendirme, tellüritli agardaki koloni morfolojileri, fermentasyon reaksiyonları ve hemolizlerine göre yapılmıştır (1, 7). Hem nontoksijenik, hem de toksijenik *C. diphtheria* suşları vardır. Toksijenik suşlar koloni tipi, mikroskopi veya biyokimyasal testlerle ayırt edilemez (7). Toksin A ve B alt ünitelerinin genlerini saptayabilen polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testleri direk olarak toksin üretimini kanıtlamadığı için sadece araştırma amaçlı kullanılır. Modern moleküler teknikler salgınlardaki farklı suşları belirlemek için daha duyarlıdır. Multilokus dizi analizi hızlı ve ucuz alternatif moleküler teknik olarak umut vaat etse de ribotiplendirme suşları ayırt etmede altın standarttır (1).

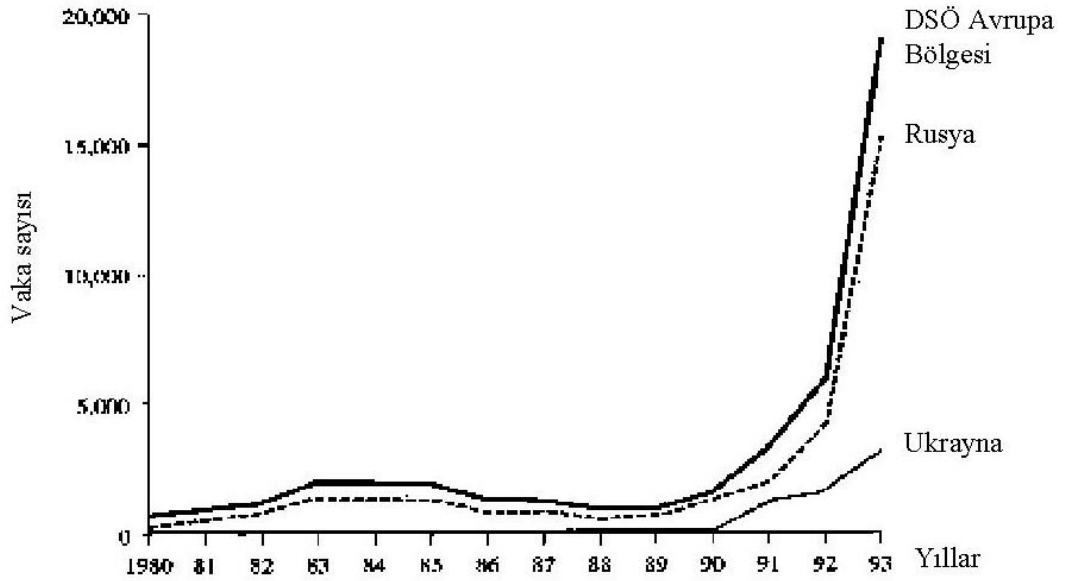
C. diphtheriae suşlarının toksijenitesi, memeli hücrelerinde protein sentezini inhibe eden çok potent bir ekzotoksinin (DTX) ekspresyonuna bağlıdır. Ave B subünitelerinden oluşan yapısal gen (*tox*), bir lizojenik corynebakteriyofaj tarafından taşınır ve kromozomal olarak kodlanan regülatör difteri toksin represörü (DtxR) tarafından düzenlenir. *tox* geni taşıyan bakteriyofajların bakteriyel genoma integrasyonu, toksijenik olmayan suşları, toksijenik ve virülan suşlara çevirebilir. Lizojenik fazda, fajın sirküler DNA' sını konak bakterinin genetik materyaline profaj olarak eklenir ve toksin sentezi için gerekli geni eksprese eder. Ultraviyole ışığı gibi uyarılarla uyarıldığında, faj litik döngüye girer, konak hücreyi öldürür ve yeni fajlar salar. Toksin üretiminin kontrolü için en önemli faktör kültür ortamındaki inorganik demirdir. Düşük demir düzeyinde, lizojenize olmuş *C.diphtheriae'* nin toksin üretimi artar. Toksin üretemeyen lizojenik fajı olmayan *C. diphtheriae* suşları, laboratuarda lizojenik *tox*⁺ faj ile enfekte edilerek (lizojenizasyon) toksijenik hale dönüştürülebilir. *C. ulcerans* ve *C.pseudotuberculosis* de faj taşıyıp difteri toksini üreterek difteri benzeri hastalık yapabilir (1, 8, 9). Salgın zamanında yapılan moleküler çalışmalarda tek bir toksijenik *C. diphthteria*e vakası sonrasında, toksijenik olmayan *C. diphthteria*e suşlarının toksijenik hale geldiği gösterildi (10). Toksijenik olmayan *C.diphtheriae* suşlarında *tox* geni olmamasına rağmen, bazı suşların genotipik olarak bu geni taşıması ancak toksin eksprese etmediği saptanmıştır. Bunlara 'non-toxigenic *tox* gene-bearing strains' (NTTB) denir. NTTB izolatlarının moleküler analizi *tox* gen blokajına yol açan iki mekanizmanın varlığını düşündürür. Bu mekanizmalar, ikisinde *tox* geninin A subünitesine yerleşen; bir çerçeve kayması ile sonuçlanan bir tek baz delesyonu (52-55 bp) ve bir insersiyon elementinin varlığıdır (9).

2.2. Epidemiyoloji

Corynebacterium diphtheriae' nın doğadaki tek rezervuarı insandır. Hastalık başlıca boğaz ve burun kaynaklı solunum yolu damlacıkları ile yayılır. Deri difterisi ise, enfekte lezyonların akıntılarıyla kirlenmiş eşyalarla temas sonucu bulaşır. Bulaşmanın olabilmesi için genellikle bir hasta veya taşıyıcı ile yakın, yüz yüze temas gereklidir. Asemptomatik veya konvelesan dönemdeki taşıyıcılar bulaş için önemli kaynaklardır. Tedavi edilmemiş hastalar 2-3 hafta boyunca bulaştırıcı olurlar ve bulaştırıcılık genellikle antibiyotik tedavisi başladıktan sonraki 24 saat içinde sona erer. Endemik bölgelerde toksijenik suşların asemptomatik taşıyıcılığı %3-5, endemik olmayan bölgelerde ise çok nadirdir (1, 7).

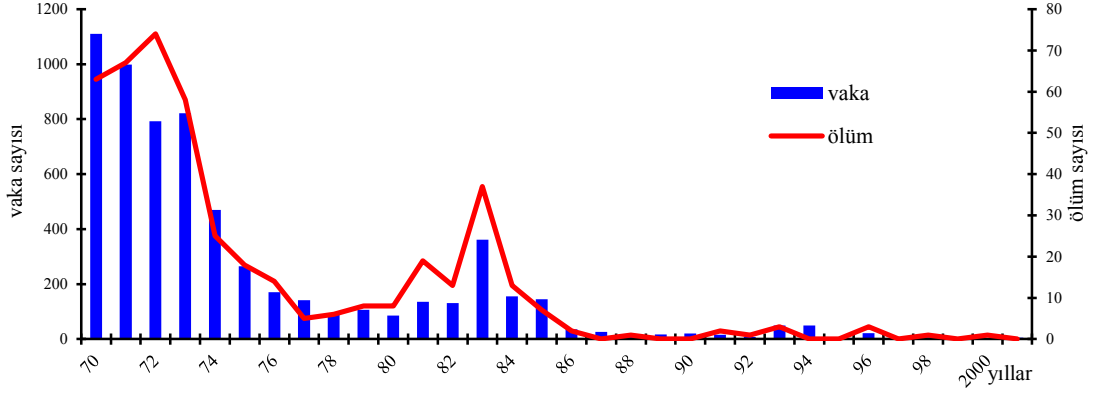
Difteri halen dünyanın hemen her yerinde görülen bir hastalıktır. Ilıman iklimlerde, kalabalık yaşam koşullarında, sosyoekonomik durumu düşük olan toplumlarda, bağışıklama düzeyinin yetersiz olduğu toplumlarda insidansı yüksektir. Endemik bölgelere seyahat difteri riskini artırır. Difteri toksoidi ile rutin bağışıklamanın başlamasını takiben pek çok bölgede hastalığın görülme sıklığında belirgin azalma olmuştur. Avrupa'da 1940' larda başlayan yaygın bağışıklama programları ile bir çok ülkede hemen hemen eliminasyon noktasına gelinmiştir. 1980' de tüm zamanların en düşük vaka sayısına ulaşılmış ve Avrupa' dan yalnızca toplam 683 vaka rapor edilmiştir. Takip eden süreçte ise; birincisi 1982-85 arasında diğeri ise 1990-95 arasında iki epidemi yaşanmıştır. Bu epidemiler Rusya ve Ukrayna başta olmak üzere özellikle eski Sovyet Cumhuriyetleri' nde etkisini göstermiştir (Şekil 1). Aynı dönemde birçok Avrupa ülkesinden bildirilen vakaların %95' ini de Rusya ve Ukrayna kökenli olgular oluşturmaktadır. Rusya' daki epideminin gelişimi incelendiğinde vaka sayılarının

1991' den 1993' e hızlı bir artış gösterdiği, insidansın 100.000' de 10.2' ye ulaştığı anlaşılmaktadır. Bu epideminin özellikleri; bütün yaş grupları etkilemesi, sağlık personelinin, toplu taşımacılık personelinin, evsizlerin ve alkoliklerin daha yüksek risk altında olmasıdır. Doğu Avrupa' da patlak veren bu son epidemi için başlıca nedenler arasında; bebek ve çocuklarda aşılama oranlarının düşmesi, erişkinlerde immünite azalması, göçmen hareketinde ve risk gruplarında artış, pediyatristler ve diğer hekimlerin hastalığın ciddiyetinden, vakaların uygun tanısı için gerekli bilgiden ve yakın temaslı takibinden yeterince haberdar olmayışları gösterilmiştir. Diğer Avrupa ülkelerinde difteri daha çok erişkinlerin sporadik hastalığı şeklinde ortaya çıkar. Olguların çoğu tropikal bölgelere seyahat ile ilişkilidir. Zaman zaman sınırlı yerel yayılım gözlenebilmektedir. 1980' lerde İsveç, Almanya ve Portekiz'den küçük salgınlar bildirilmiştir (6). Doğu Avrupa' da 1990' lardaki bu difteri salgını sırasında ve sonrasında NTTB suşların yaygın olarak dolaştığı gözlenmiştir. Rusya' nın farklı bölgelerinde 1994 - 2002 arasında, yaklaşık %10' u NTTB olan, 828 toksijenik olmayan *C. diphtheriae* suşunun izole edildiği bildirilmiştir. Hepsi *C. diphtheriae* biovar mitis olan, bu izolatların bazıları şiddetli respiratuvar hastalığı olan hastalardan izole edilmiştir (9).



Şekil 1. DSÖ Avrupa Bölgesi, Rusya ve Ukrayna'dan 1980-1993 yılları arasında bildirilen difteri vakaları (6)

Ülkemizdeki duruma bakıldığında; 1960' ların başlarında difteri morbiditesinin 100.000' de 20 dolayında olduğu, 1999 itibarıyla ise 100.000' de 0.01' e kadar gerilediği görülmektedir. Türkiye' de difteriye karşı aşılamanın başlangıcı tek doz ile 1937' de, sistematik bir aşılama programının uygulamaya konması 1960' ların ortalarındadır. Bu tarihten itibaren de difteri insidansında çok hızlı bir düşüş izlenmiştir. Avrupa örneğinde olduğu gibi ülkemizde de 1980' de 86 vaka ile en düşük sayıya ulaşılmıştır. Bu tarihten sonra ise Avrupa' da kaydedilmiş olan her iki epideminin (1982-85 ve 1990-95) Türkiye' yi de etkilediği; önceki yıllarla kıyaslandığında, belirgin vaka artışı olduğu gözlenmektedir (5) (Şekil 2).



Şekil 2. Türkiye’de 1970-2001 yılları arasında bildirilen difteri vaka ve ölüm sayıları (5)

DSÖ Avrupa bölgesi’nde 2000’ e kadar yerli difteri vakalarının eliminasyonu, yani bu bölgede toksijenik *C. diphtheriae*’nin neden olduğu yerli vaka bulunmaması hedeflenmişti. Tek kaynağın insan olması, güvenli ve etkin bir difteri toksoidi aşısının olması ve salgın kontrolüne katkıda bulunan mevsimsellik göstermesi nedeniyle difterinin eliminasyonu mümkündür. Ancak aşılama ile kazanılan bağışıklığın yaşam boyu sürmemesi, pekiştirme dozu yapılmadığında bağışıklığın kaybedilmesi ve toplum aşılmasına rağmen ortaya çıkabilen asemptomatik taşıyıcılık durumu eliminasyonda zorluklar yaratır. Serolojik araştırmalarla difteriye karşı, özellikle erişkin popülasyonda %50’ ye varan oranda immünite azalması olduğu ortaya konulmuştur. Epidemiyolojik amaçlar için bir serum örneğinde difteri antitoksininin minimum koruyucu düzeyi, 0.01 IU/mL olarak kabul edilmiştir. Kişinin yeterince korunabilmesi için 0.1 IU/mL veya daha yüksek antikor düzeylerine ulaşılması gereklidir. Ayrıca ılımlı difteri vakalarına yanlış tanı konabilmesi insidans verilerinin güvenilir olmamasıyla sonuçlanır. Eliminasyon hedefine ulaşılabilmesi

için bağışıklık düzeyinin çocuklarda en az %90, erişkinlerde ise %75 olması öngörülür (1, 5, 6).

Bir ülkede toksijenik *C.diphtheriae*' nin neden olduğu yerli vaka bulunması, eliminasyon hedefine ulaşamadığının bir göstergesidir. Yerli vaka ortaya çıktığında olasılıklar:

- 1- Kişi aşılanmamış olabilir.
- 2- Aşılanmış ancak yeterli immun yanıt gelişmemiş olabilir.
- 3- Soğuk zincir bozulmuş, uygulanan aşı etkinliğini kaybetmiş olabilir.

Bir vakadan toksijenik *C.diphtheriae* izole edilmesi halinde, o bölgede potansiyel bir duyarlı popülasyonun varlığı göz önüne alınarak; başka hastaların da olabileceği ya da asemptomatik taşıyıcılık durumunun araştırılması gerekir. Bu nedenle hastaların klinik örneklerinden toksijenik *C.diphtheriae* izole edilmesi; yürütülen sörveyans programının etkinliğinin değerlendirilmesi açısından önemli bir bulgudur. Ayrıca sörveyans ile elde edilen izolatların, difteri vakasından elde edilen izolatlar arasındaki moleküler ve epidemiyolojik olarak bağlantının araştırılması sörveyans programının önemli bir aktivitesidir (5).

2.3. Patogenez

C. diphtheriae invazif bir organizma değildir. Genellikle solunum yolu mukozasında ve derinin yüzeysel tabakasında lokal olarak hafif bir enflamatuvar reaksiyon oluşturur. Memeli hücrelerinde protein sentezini inhibe eden ekzotoksin *C. diphtheriae*' nin en önemli virulans faktörüdür. Molekül ağırlığı: 62 000 Da olan difteri toksini, iki zincirden oluşur. A zinciri ekzotoksinin aktif zinciridir. B zinciri duyarlı hücrelerin özel reseptörlerine bağlanır. Bağlı molekölün proteolitik ayrılması ile A zinciri hücre sitoplazmasına girer ve ökaryotik hücrede bulunan,

bakteri hücrelerinde bulunmayan transfer ribonükleik asit (RNA) translokaz, Elongasyon Faktörü (EF) -2" yi inhibe eder. Bu enzimin inhibisyonu messenger RNA and transfer RNA arasındaki etkileşimi bozarak polipeptit zincire aminoasit eklenmesini durdurur (1). Protein sentez inhibisyonuna ek olarak bağımsız bir sitoliz mekanizması tanımlanmıştır. Kalsiyum ve magnezyum varlığında difteri toksini sitolizle sonuçlanan DNA fragmentasyonuna neden olan nükleaz benzeri aktivite gösterir (8).

Enfeksiyon bölgesindeki toksin üretimi kan ve lenfatikler yolu ile tüm vücuda yayılır. Toksinin yayılımı farinks ve tonsil difterik membran ile kaplandığında çok daha hızlı meydana gelir. Toksin vücuttaki tüm hücreleri etkiler, fakat en önemli etkileri kalpte miyokardit, sinirlerde demyelinizasyon ve böbreklerde tübüler nekrozdur. Difteri toksini oldukça potenttir. Tek bir molekül birkaç saat içinde hücredeki protein sentezini durdurabilir. 0.1 µg/kg duyarlı hücreleri öldürebilir (7, 8).

Solunum yolu enfeksiyonunun ilk birkaç gününde lokal olarak fibrin, lökosit, eritrosit, ölü solunum yolu epiteli ve organizmanın oluşturduğu yoğun nekrotik pıhtı gelişir. Bu yapışık gri-kahverengi psödomembranın kaldırılması ile kanamalı ödemli submukoza açığa çıkar. Membran tonsilde, farinkste, burunda lokal kalabildiği gibi farinks ve trakeobronşiyal ağaca yayılabilir. Altta yatan yumuşak doku ödemi ve servikal adenit, özellikle havayolları orantısız olarak daha küçük olan çocuklarda, solunum sıkıntısına ve boğa boynu görünümüne neden olabilir. Hem çocuklarda hem erişkinlerde membranın aspirasyonu sonucu boğulma, ölümün en sık nedenidir (1).

2.4. Klinik Belirti ve Bulgular

C. diphtheriae enfeksiyonunun semptomları, hem solunum yolu ve deride invazif olmayan enfeksiyona bağlı olarak lokal, hem de difteri toksininin emilim ve diseminasyonuna bağlı uzak bölgelerde gelişir. Nadiren *C. diphtheriae* deriden ve solunum yolundan dissemine olup bakteremi, endokardit, artrit gibi sistemik enfeksiyona neden olur. Birden fazla anatomik bölge eş zamanlı tutulabilir (8).

2.4.1. Solunum Yolu Difterisi

Tonsil veya farinksin tutulduğu solunum yolu difterisi, difterinin en sık görülen klinik şeklidir. Bunu takiben burun ve larinks, ikinci en sık tutulan bölgedir. İki - 4 günlük inkübasyon sonrası enflamasyonun lokal belirti ve bulguları ortaya çıkar. Ateş düşük derecededir veya yoktur. Sıklıkla bebeklik döneminde görülen burun difterisi burun deliğinin ön kısmında gelişir. Burun akıntısı başlangıçta seroanjinoz vasıfta olup, takiben membran oluşumu ile birlikte eroziv rinite ilerler. Burun deliklerinin dışında ve üst dudakta yüzeysel ülserasyon karakteristiktir. Boğaz ağrısı tonsiller veya faringeal difterinin erken semptomudur. Sadece %50 hastada ateş, %50' den azında disfaji, ses kısıklığı, halsizlik veya baş ağrısı vardır. Hafif faringeal tutulumu takiben tek veya bilateral tonsiller membran oluşumu gözlenir. Tonsiller dokudaki membran uvula, yumuşak damak, posterior orofarinks, hipofarinks ve glottik alana ilerleyebilir. Yumuşak doku ödemi ve lenf nodlarının büyümesi servikal şişliğe (boğa boynu) neden olur. Toksin yayılımının derecesi bitkinlik, servikal şişlik, hava yolu daralması ve sonrasında uzak organlarda toksin aracılı komplikasyonların gelişmesi ile direk ilişkilidir. Laringeal difterili hasta, lokal

ödem ve membran oluşmasına bağlı olarak hava yolu daralması nedeniyle öne doğru çok eğilir. Suni hava yolu açılması ve psödomembranların uzaklaştırılması hayat kurtarıcı olabilir (7).

Tonsiller bölgenin arkasına uzanan deri benzeri yapışık psödomembran varlığı, rölatif olarak ateş ve disfajinin olmaması, difteriyi *Streptococcus pyogenes*, adenovirus ve Epstein–Barr virus' e bağlı eksüdatif farenjitlerden ayırır. Ağız mukozası ve dil dışında başka yerde ekzantem ve ülser olmaması da difteriyi diğer viral nedenlerden ayırır. Larinksin, trakeanın veya bronşun difterik enfeksiyonu faringeal enfeksiyondan sonra primer veya sekonder yayılımı sonucu gelişir. Ses kısıklığı, stridor, dispne ve kaba öksürük görülebilir. Bakteriyel epiglottitten, ağır laringotrakeobronşitten ve stafilokokkal veya streptokokkal trakeitten diğer semptomların azlığı ve larigobronkoskopi ve entübasyon sırasında psödomembranların görülmesi ile ayrılır (7).

2.4.2. Kütanöz Difteri

Faringeal difterinin aksine ılıman iklimlerde daha sık meydana gelen kütanöz difteriye daha çok toksijenik olmayan *C. diphtheriae* suşları neden olur. Uganda, Tanzanya, Sri Lanka ve Samoa gibi tropikal iklim bölgelerinde deri lezyonu olan çocukların %60' ında *C. diphtheriae* izole edildiği bildirilmiştir. Kütanöz difteri solunum yolu difterisinden çok daha bulaşıcıdır. Difteretik organizmaların insandan insana bulaşında önemli bir kaynak olan kütanöz difteri, kalabalık halinde yaşayan ve hijyeni zayıf olan topluluklarda da salgınlara neden olabilir (8).

Kütanöz difteri ağrısız, ilerlemeyen, iyileşmeyen gri-kahverengi membranlı yüzeysel ülserle karakterizedir. Streptokokkal veya stafilokokkal impetigo ile karışan difterik deri lezyonları, sıklıkla da impetigo ile birlikte

bulunur. Ekstremiteler, gövde veya baştan daha sık etkilenir. Ağrı, hassasiyet, eritem ve eksuda tipiktir. Lokal hiperestezi veya hipoestezi olabilir. Kütanöz difterili hastaların küçük bir kısmında solunum yolu kolonizasyonu veya enfeksiyonu ve yanı sıra toksik komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Spontan iyileşme genellikle 6-12 haftayı bulur fakat bir yıl kadar devam eden lezyonlar bildirilmiştir (7, 8).

2.4.3. Diğer Bölgelerin Enfeksiyonu

C. diphtheriae nadiren kulak (eksternal otit), göz (primer palpebral bölgeleri tutan pürülan ve ülseratif konjunktivit), genital organlar (pürülan ve ülseratif vulvovajinit) gibi diğer mukokütanöz bölgelerin enfeksiyonlarına neden olabilir. Klinik olarak, ülserasyon, psödomembran oluşumu ve submukozal kanama kütanöz difteriyi diğer bakteriyel ve viral nedenlerden ayırır. Nadiren ortaya çıkan *C. diphtheriae*' ye bağlı septisemi çoğunlukla fataldir. İntravenöz ilaç kullananlarda gruplar halinde endokardit vakaları ortaya çıkar. Endokardit endemik bölgede yaşayan çocuklarda nadiren görülür. Erişkin ve çocukta toksijenik olmayan suşlara bağlı piyojenik artrit sporadik olarak bildirilmiştir. Piyojenik artrit ile ilişkili agresif kalp kapağı hasarı, büyük vejetasyonlara bağlı majör vasküler komplikasyonlar önemli klinik özellikler arasında görülür. Komplikasyonların çoğu genellikle toksijenik olmayan suşlardan kaynaklanır. Çoğu hastanın solunum yolu semptomları yoktur. Deri lezyonları olmamasına rağmen *C. diphtheriae*' nin muhtemel giriş yeri deridir. Steril vücut bölgelerinden izole edilen difteroidler dikkatli bir değerlendirme yapılmadan kontaminasyon kabul edilmemelidir. İnvazif hastalıkla ilişkili ise de tiplendirilmelidir. *C. diphtheriae* izole edilmişse toksijenite çalışmaları yapılmalı ve temaslılara profilaksi önerilmelidir (7).

2.4.4. Toksik Miyokardit

Difterili hastaların %10-25' inde görülen toksik myokardit ölümlerin %50-60' ından sorumludur. Toksik myokardit riski eksüdatif orofaringeal hastalığın yaygınlığı ve antitoksin tedavinin gecikmesi ile direk ilişkilidir. Hastalığın ikinci üçüncü haftasında faringeal hastalık iyileşirken myokarditin ilk belirtilerinin farkına varılır. İlk haftada ortaya çıkarsa genellikle fatal seyreden myokardit, sinsice altıncı haftaya kadar da gecikebilir. Ateşsiz taşikardi toksik myokarditin ve otonom sinir sistemi disfonksiyonunun bir bulgusudur. Konjestif kalp yetmezliği sinsi veya akut olarak ortaya çıkabilir. Uzamış P-R aralığı, ST segment T dalga değişiklikleri elektrokardiyografideki (EKG) sık bulgulardır. Birinci, ikinci, üçüncü derece kalp blokları, atrioventriküler dissosiyasyon ve ventriküler taşikardi gibi kardiyak aritmiler ortaya çıkabilir. Ekokardiyografide de sıklıkla dilate veya hipertrofik kardiyomiyopati görülür. Serum aspartat aminotransferaz düzeyinin yükselmesi kardiyak miyonekrozla çok yakın ilişkilidir. Ciddi aritmiler ölüm riskinin yüksek olduğunu gösterir. Postmortem histopatolojik bulgular akut enflamatuar yanıtla birlikte minör anormallikler veya yaygın miyonekroz gösterir. Kalıcı iletim defekti olan ciddi aritmilerden kurtulanların dışında, toksik myokarditten iyileşme genelde tamdır (7).

2.4.5. Toksik Nöropati

Primer enfeksiyonun yaygınlığı ile paralel olan nörolojik komplikasyonlar, başlangıçta multifaziktir. Orofaringeal enflamasyonun başlangıcından iki üç hafta sonra hipoestezi ve yumuşak damağın lokal paralizisi ortaya çıkar. Posterior faringeal, laringeal ve fasiyal sinirlerde güçsüzlük gelişmesine bağlı olarak ses kısıklığına, yutma güçlüğüne ve aspirasyona bağlı ölüme neden olur.

Akomodasyon güçlüğü, bulanık görme ve strabismusla kendini gösteren okulomotor ve siliyer paralizi ile giden kraniyal nöropatiler genelde beşinci haftada ortaya çıkar. Simetrik polinöropatiler, orofaringeal enfeksiyonun başlangıcından 10 gün ile 3 ay sonrasında başlar. Motor kusur ve derin tendon reflekslerinde kayıp görülür (1, 7).

Ekstremitelerin hem proksimal kas güçsüzlüğü distale ilerler, hem de distal kas güçsüzlüğü proksimale ilerler. Diyafram paralizi görülebilir. Klinik ve beyin omurilik sıvı (BOS) bulguları Gullian Barre sendromundan ayrılamaz. Tam iyileşme olasıdır. Nadiren hastalık başlangıcında iki üç hafta sonra vazomotor merkezin disfonksiyonuna bağlı olarak hipotansiyon veya kalp yetmezliği gelişebilir (1, 7).

2.7. Prognoz

Difterinin prognozu organizmanın virülansına, yaşa, aşı durumuna, enfeksiyon bölgesine, komplikasyon varlığına ve komplikasyonun şiddetine, antitoksin tedavinin verilmiş zamanına bağlıdır. Laringeal veya boğa boynuna bağlı havayolu obstrüksiyonu ve miyokardit komplikasyonları ölümlerin büyük kısmından sorumludur. Tedavi başında ağır difterili vakalarda klinik olarak miyokardit olsun veya olmasın ventriküler ektopi varlığının fatalite ilişkisi %100 sensitif ve spesifiktir. Solunum yolu difterisinde %10 olan minimum vaka fatalite oranı 50 yıldır değişmemiştir. 1980' lerdeki İsviçre salgınında mortalite %18, 1990' lardaki Eski Sovyetler Birliği' ndeki salgında mortalite %23 olarak bildirilmiştir. İngiltere' den yapılmış retrospektif bir çalışmada mortalite sadece aşılanmamış bireylerde ve %33 olarak bulunmuştur (7).

2.5. Vaka Tanımları

Klinik tanımlama

Bir kişide;

-Larenjit veya farenjit veya tonsillit ve

-Tonsil, farinks ve/veya burunda psödomembran görülmesi ile karakterize

hastalıktır.

Tanı için laboratuvar kriterleri

Boğaz sürüntüsü, burun sürüntüsü, psödomembran gibi klinik örneklerin kültürlerinden toksijenik *C.diphtheriae*'nin izolasyonu

Vaka sınıflaması

Olası vaka: Klinik tanımlamaya uyan vaka

Kesin vaka: Laboratuvar tarafından doğrulanmış olası vaka veya

Bir kesin vaka ile epidemiyolojik bağlantısı olan olası vaka

(NOT: Kültüründen toksijenik *C.diphtheriae* izole edilen, ancak klinik tanımlamaya uymayan kişiler (asemptomatik taşıyıcılar) olası veya kesin difteri vakası olarak bildirilmezler.) (11).

2.6.Tanı Testleri

Difteri hastalığı tipik belirtileri ile kolaylıkla tanınabilir. Hastalığın kesin tanısı ancak laboratuvar yöntemleriyle konulur. Erken tanı ve tedavi difteri prognozu üzerinde oldukça önemlidir.

Kültür için örnek burun, boğaz veya herhangi bir enfekte mukokütanöz bölgeden alınmalıdır. Test için membranın bir kısmı ve altta yatan eksüda değerlendirilmelidir. Neissee veya Löffler metilen mavisi ile boyanıp

metakromatik granüller için değerlendirilmelidir. Örnek laboratuvara gönderilirken mutlaka *C. diphtheriae* izolasyonu için özel besiyeri kullanımı açısından laboratuvar çalışanlarını uyarmak gerekir. Örneğin laboratuvara ulaşması 24 saatten uzun sürerse transport besiyeri kullanılmalıdır. Uzak bölgelerde sürüntü örneği silika jel paketine yerleştirilip referans laboratuvara gönderilebilir. Sürüntü örneğinin direk Gram boyama veya özel floresan antikor kullanarak değerlendirilmesi çok güvenilir değildir. Steril vücut sıvılarından veya şüpheli vakaların veya temaslıların mukokütanöz bölgelerinden coryneform bakteri izole edildiğinde organizma tür düzeyinde tespit edilmeli, *C. diphtheriae* *isolatlarının* toksijenitesi ve antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılmalıdır. *C. diphtheria* tanısında günümüzde ticari olarak kullanılan testler sadece kültür ve toksijenite testleri iken Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi toksin üretimi için regülatuar test ve difteri toksin geni (*tox*) tespit eden PZR testini geliştirdi. Bu test tanıyı destekler fakat doğrulama için yeterli değildir. Özellikle klinik örnekte cansız organizma varsa kullanışlıdır. Serum toksin antikor ölçümü bazı laboratuvarlarda yapılmaktadır fakat antitoksin tedavi verilmeden önce yapılırsa tanı olasılığını değerlendirirken faydalı olabilir (7).

2.5.Tedavi

2.5.1. Antitoksin

Spesifik antitoksin sadece serbest toksini nötralize eder, bu nedenle klinik bulgular ve epidemiyolojik veriler tanıyı destekliyorsa antitoksin kültür sonucu beklenmeden hızlıca verilmelidir. Antitoksin ilk gün verilen hastalarda mortalite

<%1 iken, dördüncü güne kadar uzayan uygulamalarda mortalite riski 20 kat artar (5).

İnsan kaynaklı antitoksin bazı ülkelerde mevcuttur. Ülkemizde difteri antitoksini atlardan üretilen bir hiperimmün serumdur. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından 3000 ünite ve 10.000 ünite şeklinde iki ayrı dozda üretilen ve periferik sevk edilen difteri antiserumu, sahada Sağlık Müdürlüklerinden temin edilerek kullanılmaktadır (5). Uygulanacak antitoksinin dozu; difteritik membranın yeri ve yaygınlığına, toksisitenin düzeyine ve hastalığın süresine bağlı olarak belirlenir. İntravenöz kullanım önerilir. Deri difterisinde antitoksin uygulamasının muhtemelen bir değeri yoktur. Bununla birlikte bazı uzmanlar tarafından deri difterisinde de toksik komplikasyonlar görülebildiği, bu nedenle bu tür olgulara da antitoksin verilmesi önerilmektedir (5).

At antitoksini verilen hastaların %8' inde serum hastalığı gelişir. Hastaların yaklaşık %10' unda at proteinine karşı önceden gelişmiş hipersensitivite mevcuttur. Çok hasta olanlara infüzyon öncesi test yapılmalı, hızlı reaksiyon gösterenlere desensitizasyon protokolü ile antitoksin verilmelidir. Difteri toksinine karşı preperattan preperata değişen titrede antikor içerdiği için intravenöz immün globülin kullanımı önerilmez. Antitoksin tedavisi asemptomatik taşıyıcılar için önerilmez (5).

2.5.2. Antibiyotik Tedavisi

Antitoksin tedavisinin alternatifi olmayan ve yerine geçmeyen antibiyotik tedavisi; devam eden toksin üretimini sınırlandırmak, organizmanın yerleştiği bölgeden uzaklaştırılması ve yayılımının önlenmesi için gereklidir. *C. diphtheriae* genellikle penisilin, eritromisin, yeni makrolidler (klaritromisin,

azitromisin), klindamisin, rifampin, florokinolon, tetrasiklinlere in vitro duyarlıdır. ABD' nde kütanöz difteri salgınında eritromisin direnci gösterildiği bildirilmiştir. Prospektif araştırmalarla tedavi seçeneği olan antibiyotikler eritromisin ve penisilin olarak belirlenmiştir. Nazofarinfeal taşıyıcılık eradikasyonu için eritromisin penisiline üstündür. Eritromisin oral veya parenteral (40 to 50 mg/kg/gün, maksimum 2 g/gün); veya aköz kristalize penisilin G intramusküler veya intravenöz (100,000-150,000 U/kg/gün, 4 dozda); veya prokain penisilin intramusküler (25,000-50,000 U/kg/gün, 2 dozda) önerilir. Tedavi süresi 14 gündür. Kütanöz difteride tedavi süresi 7-10 gündür. Tedavi bitiminden 24 saat sonra burun, boğaz ve gerekiyorsa deriden en az iki kültür alınarak organizmanın eliminasyonu gösterilmelidir. Eğer kültür pozitifliği devam ediyorsa eritromisin tedavisi tekrarlanmalıdır (1, 5, 7).

2.5.3. Diğer Önlemler

Faringeal difterili hastalar için damlacık izolasyonu, kütanöz difterili hastalar için temas izolasyonu önerilir. İzolasyona tedavi kesiminden sonraki burun, boğaz ve varsa deri lezyonundan en az iki negatif kültür oluncaya kadar devam edilmelidir. Kütanöz yaralar su ve sabunla iyice temizlenmelidir. Hastalığın akut döneminde yatak istirahati önerilir. Fiziksel aktiviteye, toksisite düzeyine ve kardiyak tutulumu bağlı olarak izin verilir. Orofaringeal ve laringeal difteride hava yolu obstrüksiyonu ve aspirasyon komplikasyonları dikkatle takip edilmeli ve preemtif olarak yapay hava yolu açılmalıdır. Konjestif kalp yetmezliği ve malnutrisyon açısından hastalar yakın takip edilmelidir (7).

Enfeksiyon sonrası kalıcı bağışıklık tüm hastalarda gelişmediği için hastalar taburcu edilmeden önce aşılmalıdır. Önceden aşılanmamış bireylere hemen bir doz, difteri toksoidi içeren bir aşı (yaşa göre difteri-boğmaca-tetanoz

(DBT) veya erişkin tipi difteri-tetanoz (Td) aşısı) yapılmalı ve daha sonra üç dozdan az olmamak üzere primer aşılama şeması tamamlanmalıdır. Eksik aşıli kişilerde primer şema tamamlanmalıdır. Tam aşıli kişilere ise eğer son dozdan sonra beş yıldan uzun süre geçmişse bir pekiştirme dozu uygulanmalıdır (7).

2.5.4. Temaslı Kişiler

Temaslılarda sekonder vakaların gelişmesini önlemek, indeks vakayı ve taşıyıcıları belirleyerek duyarlı kişilere yayılmasını önlemek için temaslı kişilerin araştırılması gerekir. Ev halkı temaslılarda taşıyıcılık oranı %0 - %25 arasındadır. Difteri vakası ile temas eden ev halkında difteri gelişme riski yaklaşık %2 iken benzer şekilde taşıyıcı ile temas sonrası da %0.3' tür (5).

2.5.4.1. Asemptomatik Temaslı Kişiler

Toksijenik *C.diphtheriae* ile enfekte bir difteri olgusu ile son yedi gün içinde her kim yakın temasta (ev içi temaslılar, yakın solunum ve fiziksel temasta bulunanlar) bulundu ise risk altında olduğu kabul edilir. Nontoksijenik *C.diphtheriae* veya *C.ulcerans*' in (toksik *C.ulcerans* da dahil) izole edildiği olguların yakın temaslıları risk altında değildir (5, 7).

Bütün yakın temaslılar difterinin klinik semptom ve bulgularını gösterip göstermedikleri yönünden sorgulanmalı, vaka ile en son temas tarihinden sonraki yedi gün boyunca günlük takibe alınmalıdır. Günlük takipte boğazda membran varlığı araştırılmalı, membran gelişirse burun, boğaz, deri bölgelerinden kültür alınmalıdır. Bütün temaslıların bağışıklanma durumları sorgulanmalıdır. Aşılama durumuna bakılmaksızın antimikrobial profilaksi için oral eritromisin (40-50 mg/kg/gün 7-10 gün, maksimum 2 g/gün), eritromisini tolere edemeyenlere tek doz intramüsküler benzatin penisilin G (<6 yaş için

600.000 U, ≥ 6 yaş için 1.2 milyon U) önerilir. Yararlı olduğu tahmin edilen antimikrobiyal profilaksinin yararı kanıtlanmamıştır. Klaritromisin ve azitromisin gibi yeni makrolidlerin *C. diphtheriae* taşıyıcılığının eradikasyonunda etkinliği bilinmemektedir (5, 7).

Geçmişte üç dozdan daha az difteri toksoidi ile aşılanmış bütün yakın temaslılara veya aşılanma durumu bilinmeyen her kişiye hemen bir doz aşı uygulanmalı ve sonra ülkemizde önerilen aşı şemasına göre immünizasyon tamamlanmalıdır. Geçmişte üç doz aşılama yapılmış olan temaslılara da, eğer son 12 ay içinde bir dördüncü doz uygulanmamış ise, hemen bir pekiştirme dozu uygulanmalıdır (5, 7).

2.5.4.2. Asemptomatik Taşıyıcılar

Temaslı durumu bilinmeyen kişilerin taşıyıcılık oranları son derece düşük olduğu için rutin olarak taraması önerilmez (5, 7). Ancak temaslı taramasında asemptomatik taşıyıcı saptandığında, 7-10 gün antimikrobiyal profilaksi verilir. Son 1 yıl içinde pekiştirme uygulanmamış ise bir doz aşı uygulanmalıdır. Tedavi bitiminden 24 saat sonra en az iki kültürde *C. diphtheriae* açısından negatifleşene kadar solunum yolu kolonizasyonu için damlacık izolasyonu, deri kolonizasyonu için temas izolasyonu uygulanmalıdır. Tedavinin tamamlanmasından en az iki hafta sonra hastalardan ve taşıyıcılardan kültür tekrarlanmalıdır. Pozitif saptanırsa ek 10 gün oral eritromisin tedavisi verilip kontrol kültür alınmalıdır. Taşıyıcılığı %100 eradike edecek antimikrobiyal tedavi yoktur. At serumunun yan etkilerinden ve antimikrobiyal profilaksiye üstünlüğü gösterilemediğinden dolayı, aşı şeması tamamlanmamış olan yakın temaslılara ve asemptomatik taşıyıcılara antitoksin önerilmemektedir. Pekiştirme dozu ile antitoksin düzeylerinde hızlı bir artış sağlanır. Modern hastanelerde difterinin

bulaşması nadirdir. Titiz el yıkama ve sekresyonların uzaklaştırılması zorunludur (1, 5, 7).

2.6. Korunma

Koruyucu antitoksin düzeyi sağlamak ve toplumda *C.diphtheriae* dolaşımını azaltmak için tek etkin kontrol önlemi difteri toksoidi içeren aşilar ile bağışıklamadır. Vero hücre kültüründe veya tavşan derisinde toksin nötralizasyon testi ile veya hemaglutinasyon ile ölçülen serum antitoksin düzeyleri kabaca eşittir. Koruyucu antikor düzeyi tam olarak bilinmemesine rağmen, 0.01-0.1 IU/mL konsantrasyon minimum koruyucu düzey olarak belirlenmiştir. Salgınlarda klinik olarak hasta olanların %90'ının antitoksin düzeyleri <0.01 IU/mL, asemptomatik taşıyıcıların %92'sinin >0.1 IU/mL saptandığı bildirilmiştir (12).

2.6.1. AŞI

Ülkemizde, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı' nın uygulanmasını önerdiği aşilar ve uygulama zamanları Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1: Rutin çocukluk dönemi aşıları ile birlikte difteri toksoidi içeren aşılar

AŞILAR	Doğumda	1. Ayın sonunda	2. Ayın sonunda	4.Ayın sonunda	6.Ayın Sonunda	12.Ayın sonunda	18. Ayın sonunda	24. Ayın Sonunda	İlköğretim 1. sınıf	İlköğretim 8. sınıf
Hepatit B	I	II			III					
BCG			I							
DaBT-İPA-Hib			I	II	III		R			
KPA			I	II	III	R				
KKK						I			R	
DaBT-İPA									R	
OPA					I					
Td										R
Hepatit A							I	II		
Su Çiçeği						I				

BCG	Bacille Calmette-Guerin Aşısı
DaBT-İPA	Difteri, aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif PolioAşısı
DaBT-İPA-Hib	Difteri, aselüler Boğmaca, Tetanoz, İnaktif Polio, Hemofilus influenza tip b Aşısı
Td	Erişkin Tip Difteri, Tetanoz Aşısı
KKK	Kızamık, Kızamıkçık, Kabakulak Aşısı
KPA	Konjuge Pnömonokok Aşısı
OPA	Oral Polio Aşısı
R	Pekiştirme

Ülkemizde de olduğu gibi, genellikle difteri toksoidi, tetanoz toksoidi ve boğmaca aşısı ile birlikte kombine aşı olarak uygulanır. Yedi yaşın altında bulunan çocuklara; DBT karma aşısı, difteri-tetanoz-asellüler boğmaca (DaBT) karma aşısı veya Td karma aşıları uygulanır. Bu karma aşıların 0,5 ml' sinde 6,7-25 Lf ünitesi difteri toksoidi bulunmaktadır (7).

Dünya Sağlık Örgütü' nün (DSÖ) önerileri doğrultusunda, doğumdan sonra 2. 3. ve 4. aylarda birer doz DBT olmak toplam üç doz, 16. ve 18. aylar

arasında DBT aşısı ile dördüncü doz ve en az üç yıl sonra yani 4-6 yaşlarında da DT (çocuk difteri-tetanoz aşısı) şeklinde uygulamayla, toplam beş doz aşı ile bağışıklama gerçekleştirilir. 1998' den itibaren ilköğretim 1. ve 8. sınıf öğrencilerine DT aşısı yerine Td aşısı birer doz olarak uygulanmaya başlanmıştır (7, 13). Tüm aşılı bireylere erişkin dönemde Td aşısı 10 yıllık aralarla uygulanmalıdır. Günümüzde 11 yaş ve daha büyük olanlar ve son 10 yılda Td yapılmamış olanlara ilk pekiştirme dozu tetanoz- erişkin tip difteri, aselüler boğmaca (Tdap) aşısı olarak önerilir. Ağır immünsüprese ve uzun dönem hemodiyaliz olanlara aşı yanıtları beklenenden az olsa da, standart aşı takvimi uygulanmalıdır (8, 14).

Yetişkinlerde ve yedi yaş üzeri çocuklarda bağışıklama, DBT yerine Td kullanılır. Çünkü DBT aşısında bulunan boğmaca aşısı, bu yaş grubu ve üzerindeki için çeşitli yan etkiler oluşturmaktadır. Td aşısının her 0,5 ml' si 2 Lf ünitesinden daha düşük oranda difteri toksoidi içermektedir. 0,5 ml Td 4-8 hafta aralıklarla intramuskuler yoldan en az üç defa uygulanır. Bundan sonraki her 10 yılda bir pekiştirme dozu yapılmalıdır (7).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi çocuk polikliniklerine ÜSYE semptomları ile başvuran 2-18 yaş arası 503 olgudan 1 Şubat- 22 Mart 2016 tarihleri arasında *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* kolonizasyonunun araştırılması amacıyla tonsillofarinks sürüntü örnekleri alındı. Olguların hiçbirinde kronik hastalık, immün osüpresif tedavi ve son 15 gün içinde antibiyotik kullanım öyküsü yoktu. Tüm olguların difteri toksoidi içeren aşilar ile aşılama öyküsü alındı.

3.1.Klinik örnekleme

Klinik örnek alınması aşamasında öncelikle vaka bilgi formu (Ek-1) doldurulmuş ve ardından tonsillofarinks örneği aşağıda belirtildiği şekilde alınmıştır (15).

Ağız içi ve farinks net olarak görülecek şekilde bir ışık kaynağı ile aydınlatılmıştır.

- ✓ Dil, bir dil basacağı ile bastırılmış ve steril rayon uçlu eküvyon çubuğu tonsillalar üzerine döndürülerek sürülmüştür. Bu işlem sırasında eküvyonun yanak iç kısımlarına ve dile değdirilmemesine özen gösterilmiştir.
- ✓ Tonsillalar üzerinde membran, beyaz noktalar veya yangılı/hiperemik alanlar görülüyorsa eküvyon özellikle bu kısımlara hafifce bastırılıp, döndürülmüştür. Membran varsa kenarından kaldırılmış; eküvyon membranın altına itilerek derinde yerleşim gösteren bakterilerin alınması sağlanmıştır.

3.2. Mikrobiyolojik inceleme

3.2.1. Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yürütülen incelemeler

3.2.1.1. Boğaz kültürü

Klinik örnekler %5 koyun kanlı agara tek koloni ekim yöntemi ile ekilmiş, plaklar aerob koşullarda 37⁰C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün plaklar A grubu beta hemolitik streptokokların (AGβHS) varlığı açısından incelenmiştir. Plaklar, üçlü paketlenme esaslarına göre ambalajlandıktan sonra vaka bilgileri ile birlikte kurye ile oda ısısında Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.2.2. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarında yürütülen incelemeler

3.2.2.2. Spesifik difteri kültürü

Bu kapsamda Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarına gönderilen koyun kanlı agar plaklarındaki kolonilerin hepsi steril rayon uçlu eküvyonlar ile toplanmış, eküvyonların herbiri triptik soy broth içinde 37⁰C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Takiben sistin-tellürit-kanlı agar (CTBA) ve %5 koyun kanlı agara tek koloni ekimi yapılmış; aerob koşullarda 37⁰C' de 18-48 saat inkübe edilmiştir. CTBA' da tellüriti indirgeyen kolonilerden (periferinden merkeze doğru koyulaşan gri-siyah koloniler) Tinsdale agara pasaj yapıp 37⁰C' de tam 24 saat inkubasyonun ardından ortası kahverengi-siyah çevresinde kahverengi hale yapmış sistinaz pozitif,

şüpheli koloniler seğilmiştir. Sistinaz pozitif bulunan bütün kolonilerden saf kültür elde etmek için %5 koyun kanlı agara pasaj yapılmış, 24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2.3. Biyotiplendirme

Saf kültürlerden Gram boyama yapılmış, katalaz, pirazinamidaz, üre hidrolizi, nitrat redüksiyonu, glikoz, maltoz, sukroz ve nişasta fermentasyon testleri ile CoryneAPI (Biomeriueux, France) uygulanmıştır. *Corynebacteriumlar*'ın biyokimyasal tanımlaması için kullanılan temel zellikler Tablo 2' de belirtilmiştir (3).



Tablo 2: *Corynebacterium*lar için biyokimyasal tanımlamada kullanılan özellikler

Mikroorganizma	CY S	PY Z	nitr at	üre az	Gli koz	mal toz	suk roz	niş ast a	tre hal oz	Jel atin erit me
<i>C.diphtheriae</i>									U	
var gravis	+	-	+	-	+	+	-	+	U	U
var mitis	+	-	+	-	+	+	-	-	U	U
var intermedius	+	-	+	-	+	+	-	-	U	U
var belfanti	+	-	-	-	+	+	-	-	U	U
<i>C.ulcerans</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	25°C'de +
<i>C.pseudotuberculosis</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	25°C'de -
<i>C.pseudodiphthericum</i>	-	+	+	+	-	-	-	-	U	U
<i>C.xerosis</i>	-	+	+	-	+	+	+	-	U	U
<i>C.striatum</i>	-	+	+	-	+	-	+/-	-	U	U

CYS, Tinsdale besiyerinde sistinaz üretimi; bir gece inkübasyondan sonra karakteristik kahverengi hale ile çevrili siyah koloni oluşumu POZİTİF olarak değerlendirilir.

PYZ, Pirazinamidaz aktivitesi; 4 veya 24 saatlik tüp test; reagen eklenmesi ile reaksiyon sonucu turuncu renk oluşumu POZİTİF olarak değerlendirilir.

U, uygulanmaz

3.2.2.4. Toksikite testleri

C.diphtheriae olarak izole edilen suşların toksin üretip üretmediğini araştırmak amacıyla toksikite testleri (ELEK, PZR) yapılmıştır. Kalite kontrol suşları olarak *C.diphtheriae* variant gravis NCTC10648 (toksin üreten pozitif kontrol suşu), *C.diphtheriae* variant gravis NCTC3984 (zayıf toksin üreten pozitif kontrol suşu), *C.diphtheriae* variant mitis NCTC10356 (toksin üretmeyen negatif kontrol suşu) kullanılmıştır (3).

ELEK test

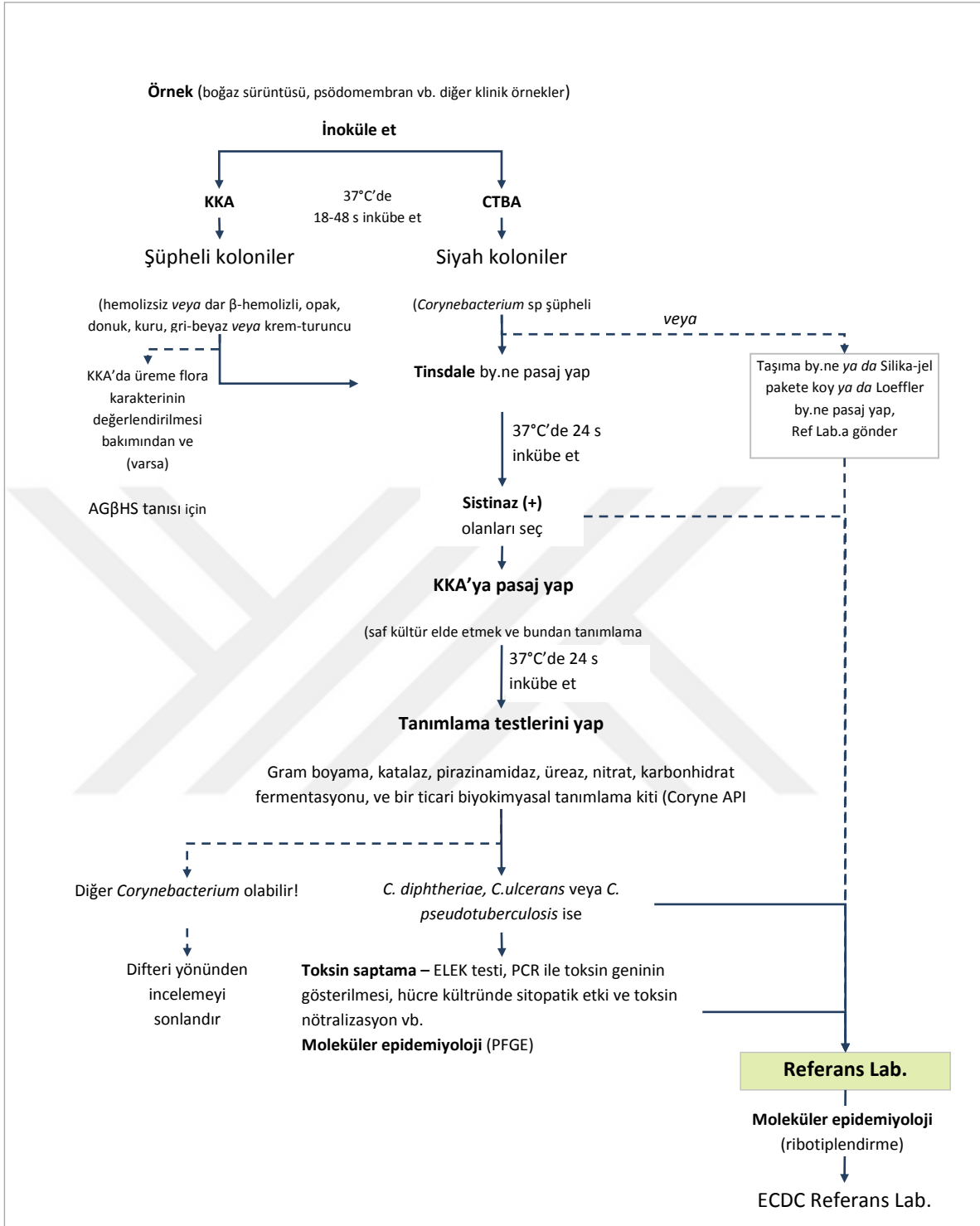
Test edilecek izolatın ve standart suşların taze pasajlarından laboratuvar yapımı Elek besiyeri plağına ekim yapılmıştır. Özel filtre kağıdından hazırlanan ve 1000 IU difteri antitoksini emdirilmiş şeritler, ekim çizgilerine dik olacak şekilde (tam olarak 90° açı ile) yerleştirilmiştir. Plaklar 37°C' de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Ekim çizgilerine 45° açı ile karakteristik presipitasyon çizgilerinin oluşması test edilen izolatın toksin üreten köken olduğunu göstermiştir. Söz konusu karakteristik presipitasyon çizgilerinin gözlenmesi ise izolatın toksin üretmediğinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir (3).

PZR

Difteri toksin geninin 248bp' lik biyolojik olarak aktif bölgesinin (A fragmanı) ve A+B fragmanlarının varlığı PZR ile araştırılmıştır. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarında Ulusal Mikrobiyoloji Standartları doğrultusunda uygulanmakta olan izolasyon ve identifikasyon yöntemini özetleyen akış diyagramı Şekil 3' te gösterilmektedir (3).

C.diphtheriae, *C.ulcerans* ve *C.pseudotuberculosis* risk grubu 2 organizmalardır. Bu nedenle laboratuvar incelemeleri, biyogüvenlik düzeyi 2 laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmiştir (3).





Şekil 3. Difterinin tanısı için klinik örneklerin kültürlerinden izolasyon ve tanımlama akış şeması

AGβHS, A grubu beta-hemolitik streptokok; PFGE, pulsed field gel electrophoresis; ECDC, European Center for Disease Prevention and Control

KKA: Koyun Kanlı Agar

4. BULGULAR

Çalışmaya ÜSYE semptomları ile başvuran 2-18 yaş arası 503 hasta dahil edildi. Hastane kayıt sisteminde verilerine ulaşılamayan üç hasta çalışma dışı bırakıldı. Hastaların 260' ı kız (%52), 240' ı (%48) erkekti. Hastaların yaş ortancası 76 ay (min:21 ay, max: 213 ay) olarak bulundu. On dört hasta yabancı uyruklu idi. Dört yaş 5 aylık Suriyeli erkek çocuk dışında tüm hastalar tam aşılı ve rapelli idi. Hiçbir hastaya Tdap yapılmamıştı. Hastaların 99' unda (%19.8) ateş, 263' ünde (%52.6) boğaz ağrısı, 246' sında (%49.2) öksürük, 113' ünde (%22.6) burun akıntısı, 488' inde (%97.6) tonsillerde hiperemi, 318' inde (%63.6) tonsillerde hipertrofi, 123' ünde (%24.6) tonsillerde kript, 5' inde (%1) tonsillerin üzerinde membran vardı. Hastaların 66' sının (%13.2) boğaz kültüründe AGβHS üredi. Boğaz sürüntü kültüründe AGβHS saptanan hastalar tedavi edildi. Hastaların ÜSYE semptom süresi ortancası 2 gün (min: 1gün, max: 10 gün), ateş süresi ortancası 1gün (min:0 gün, max: 7 gün) olarak saptandı.

Üç hastanın boğaz sürüntü örneklerinde *tox* geni taşımayan *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptandı. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların ikisi (%66.7) kız, biri (%33.3) erkekti. Bu hastaların yaşları; 181 ay, 108 ay ve 76 ay ve üçü de tam aşılı ve rapelli idi. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların hepsinin muayenesinde tonsiller hiperemik, hipertrofikti. Bir hastada tonsillerde kript vardı. Hiçbirinin tonsilleri üzerinde membran yoktu. Hiçbirinin boğaz kültüründe AGβHS üremesi olmadı. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastalarda ÜSYE semptom süresi ve ateş süresi 1,1,3 gündü.

5. TARTIŞMA

Difteri toksoidi aşısı ile yeterli toplumsal bağışıklığın sağlanamamış olduğu popülasyonda *C. diphtheriae*' nın kolonizasyonu durumunda, difteri toksini klonal olarak bakterinin maksimum üremesini sağlayacak lokal doku değişikliği oluşturur. Böylece *C. diphtheriae*' nın aşısız bireylere bulaşı ve özellikle antikor düzeyi düşmüş ve erişkin aşılması uygulanmamış bireylerde difteri ortaya çıkabilir (17, 18). Dünyada rutin çocukluk çağı bağışıklamasının uygulandığı pekçok bölgede hastalığın görülme sıklığında belirgin azalma olmasına rağmen, difteri vakaları halen dünyanın hemen her yerinden bildirilmektedir. Avrupa'da 1940' larda başlayan yaygın bağışıklama programları ile bir çok ülkede hemen hemen eliminasyon noktasına gelmiştir. 1980' de tüm zamanların en düşük vaka sayısına ulaşılmış olmasına rağmen, 1982-85 ve 1990-95 arasında Rusya ve Ukrayna başta olmak üzere özellikle eski Sovyet Cumhuriyetleri'nde iki epidemi yaşanmıştır. 1980' lerin sonlarında tarihe karıştığı varsayılan ve gerek klinik özellikleri gerekse laboratuvar tanısı unutulmaya yüz tutmuş bir hastalık olarak değerlendirilen difteri sonraki yıllarda gerek epidemiler, gerek sporadik vakalar olarak gündeme gelmiştir (2, 6). 2007-2008 yılları arasında Baltık ülkeleri (Estonya, Letonya, Litvanya), Kuzey Avrupa (Finlandiya), Batı Avrupa (İrlanda, İngiltere), Güney Avrupa (İtalya, Yunanistan) ve Doğu Avrupa (Bulgaristan, Türkiye) olmak üzere 10 ülkenin katıldığı, "Diphtheria Surveillance Network" (DIPNET) tarafından koordine edilen yeni bir sürveys çalışmasında ÜSYE semptomları olan 26.821 hastanın boğaz sürüntü örneklerinde *C. diphtheriae* araştırıldı. İki Letonya' dan, dördü Litvanya' dan, iki taşıyıcı, dört difteri vakasında altı toksijenik *C. diphtheriae* suşu saptandı. Bütün toksijenik suşlar biotip gravis, ribotiplendirme yapılamayan

Litvanya suşu dışında hepsi Sankt-Petersburg moleküler tipi olarak belirlendi. Araştırmacılar böylece 1990' larda eski Sovyetler birliğinde dolaşan suşun halen dolaşımında olduğu sonucuna vardı. Bu çalışmaya dahil olan ülkemizden, 12 merkezden gönderilen 2771 boğaz sürüntü örneğinde, çalışmamıza benzer olarak toksijenik *C. diphtheriae* suşu saptanmadı (2). Bunun nedeni toplumda aşılama oranının yüksek (%96) olması olarak düşünüldü.

C. diphtheriae toksijenik suşlarının günümüzdeki düşük insidansına rağmen, antikor düzeyi düşük olan veya aşısız bireyler eradike edilemeyen organizmanın rezervuarı haline gelirler. Taşıyıcılarda yeterli sayıda toksijenik suş ortaya çıktığında enfeksiyonun duyarlı kişilere yayılması artar. Avrupa'da yapılan çalışmalar, difteri epidemisini önlemek için gereken antikor düzeyinin popülasyonda koruyucu eşiğin altında olduğunu ve yaşla ters orantılı olarak azaldığını göstermiştir (19).

Corynebacterium diphtheriae' nin major virülans faktörü toksinidir. Difteri toksoid aşısı faj aracılı toksine karşı etkili, enfeksiyona ve toksijenik olmayan suşlara karşı etkili değildir (1, 7). Toksijenik *Corynebacteriae* enfeksiyonları çocukluk çağı aşılması ile üç doz DBT uygulanması kapsamı yüksek olan ülkelerde iyi kontrol edilmiş olmasına rağmen, bu ülkelerin bazılarında, toksijenik olmayan *C. diphtheriae* enfeksiyonları bildirilmiştir (20). DİPNET tarafından koordine edilen Avrupa sürveyans çalışmasında, toksijenik olmayan organizmaların taşıyıcılık oranı 0 (Bulgaristan, Finlandiya, Yunanistan, İrlanda, İtalya) ile 4.0 / 1000 (Türkiye) bulunmuştur. ÜSYE semptomları olan 26.821 hastanın boğaz sürüntü örneklerinde toplam 28 (26 *C. diphtheriae*, bir *C. ulcerans*, bir *C. pseudotuberculosis*) nontoksijenik suş bulunmuştur. Bu çalışmada Türkiye' den gönderilen 2771 örnek arasında beşi biovar mitis, altısı

biovar gravis olan 11 nontoksijenik *C. diphtheriae* suşu saptanmıştır (2). Çalışmamızda da benzer oranda ve hepsi biovar gravis *C. diphtheriae* suşu bulunmuştur. 2003-2012 arasında Londra' daki DSÖ referans laboratuvarında izole edilen 108 nontoksijenik *C. diphtheriae* biovar mitis suşu arasında beş NTTB suşu saptanmıştır (9). Bu suşların sirkülasyonunun, toplumda *tox* gen rezervuarı olarak ve spontan reversiyon veya farklı corynebakteriyofajlar arasında homolog rekombinasyon yoluyla toksijenik suşlara dönüşebilme potansiyeli ile difteri riskini artırdığı düşünülür. Çalışmamızda saptanan *C. diphtheriae* biovar gravis suşlarında *tox* geni olmadığından hiçbiri NTTB olarak değerlendirilmemiştir.

C. diphtheriae' nin toksin dışında hastalığa yol açan adezin, fimbrial proteinler gibi virülans faktörlerinin, toksijenik olmayan *C. diphtheriae*' ye bağlı enfeksiyonlardan sorumlu olduğu düşünülmüştür (21, 22). Toksin üretimi olmadığına bile *C. diphtheriae*' nin bakteremiye ve *C. diphtheriae* bakteremisinin menenjit, endokardit, osteomyelit, septik artrit, hepatit, periferik embolik hastalık gibi sistemik komplikasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (20, 23, 24, 25, 26). Toksijenik olmayan suşlarla invazif enfeksiyonlar için risk grupları; immün yetersizliği olanlar, evsizler, alkolikler, intravenöz ilaç bağımlıları, diyabetikler, sirozu olanlar, yapısal veya valvüler kalp hastalığı olanlardır. Diş çürüklerinin *C.diphtheriae* ile invazif enfeksiyon için giriş yolu olduğu düşünülmüştür (8, 20). Diğer önemli bir giriş yeri de deridir. Gelişmekte olan ülkelerde *C. diphtheriae* ' nin klasik kolonizasyon bölgesi deridir. Deri bütünlüğünün bozulduğu durumlarda bakterinin kana geçtiği düşünülür. Toksijenik olmayan *C. diphtheriae* ile kalça septik artrit geliştiği bildirilen, dört doz DBT aşıllı 27 aylık bir çocukta, alt ekstremitesindeki deri lezyonlarının giriş

yolu olduğu düşünölmüştür (8). Toksikjenik olmayan *C. diphtheriae* varyant *mitis* ile bakteremi geliştiiği bildirilen 7 vakayı kapsayan bir çalışmada, hastaların çoğunda eş zamanlı ülser, püstöl, diyabetik ayak ülseri gibi deri lezyonları saptanmıştır (21). Kronik lenfositik lösemisi olan bir hastada toksijenik olmayan *C. diphtheriae* sepsisine bağı splenik ve dalak absesi geliştiiği bildirilmiştir (8). Toksikjenik olmayan suş ile invazif enfeksiyon vakalarında mortalite oldukça yüksektir (%36-41). Nontoksijenik suşlar ile ciddi solunum sistemi enfeksiyonları çok nadir olmasına rağmen immünsüpresyonu olan hastalarda ortaya çıkabilir. Nontoksijenik *C. diphtheriae* ile ilişkili nekrotizan epiglottit gelişen ve akut lenfoblastik lösemi tanısı alan 3 yaşında bir çocuk hasta, afebril pnömoni gelişen 60 yaşında amyotrofik lateral sklerozlu bir hasta bildirilmiştir (21). Çalışmamızdaki boğaz sürüntü örneğinde toksijenik olmayan *C. diphtheriae* saptanan vakalar, sadece ÜSYE semptomu olan sağlıklı çocuklardı. Risk grubunda olmayan bu vakalarda invazif enfeksiyon gelişmedi.

Çocukluk çağı rutin aşılması, hastalığın insidansında belirgin azalma ve müteakiben toksijenik *C. diphtheriae* rezervuarında azalmaya yol açtı. Ancak yaşla birlikte giderek azalan ve koruyucu düzeyin altına düşen serum difteri antitoksin serum düzeyleri ile nazofarinkste corynebacteria taşıyıcılığı arasında güçlü bir ilişki olduğı gösterilmiştir. Beşyüz sağlıklı erişkinden alınan faringeal ve nazal sürüntü örneklerinin 93' ünde toksijenik olmayan *C. diphtheriae*'nin ürediğı ve bu asemptomatik kişilerin serum difteri antitoksin düzeyi difteriye karşı koruyucu düzeyin altında olduğı bildirilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu olarak alınan taşıyıcı olmayan 407 kişinin difteri antitoksin düzeyi difteriye karşı koruyucu olarak bulunmuştur (27). Tam aşılı ve rapelli olan çocuk yaş grubundaki çalışmamızda toksijenik olmayan *C. diphtheriae* taşıyıcısı

saptanması beklenen bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Erişkin aşılama oranları, bebek ve çocuklara göre daha az olması ve uygun pekiştirme dozu aşı ile yeterli immünitinin devamlılığı sağlanamaması, >40 yaş insanlarda antikor düzeyi düşmesi nedeniyle taşıyıcılık kadar, difteri riski de artar. Erişkinlerde immünitinin devamlılığı için, her 10 yılda bir pekiştirme aşılama gereklidir (8).

Sonuç olarak; nontoksijenik *C. diphtheriae* suşları ile kolonizasyonun, özellikle risk gruplarında ve immün sistemi baskılanmış kişilerde bakteremi ve invazif enfeksiyonların ortaya çıkmasına yol açabilmesinin yanında, bu suşların duyarlı kişilerde toksijenik suşlara dönüşerek difteriye yol açabilme potansiyeli vardır. Toplumda difteri toksoidi ile aşılama oranı düştüğü zaman, yani duyarlı bireylerin sayısı arttığında, nontoksijenik suşların toksijenik suşlara dönüşme ve duyarlı kişilerde difteri vakalarının ortaya çıkma riski nedeniyle, ülkemizdeki yüksek aşılama kapsamının sürdürülmesi önemlidir. Rutin çocukluk çağı aşılama kapsamının aksamadan devamının yanında, zamanla antitoksin antikorların düzeyinin düşmesine bağlı olarak erişkinlerin duyarlı hale gelmesi ve toplumda yeniden difteri ortaya çıkma riski nedeniyle, erişkinlere her 10 yılda bir pekiştirme aşılama gerekliliği düşünülmüştür. Çalışma grubumuzda düşük bir oranda da olsa nontoksijenik *C.diphtheriae* kolonizasyonu bulunması; çalışmamıza benzer düzenli kesitsel çalışmaların veya rutin tarama yapılmasının, unutulmaya yüz tutmuş bu organizma hakkında hem epidemiyolojik, hem mikrobiyolojik uyanıklık yaratacağını düşündürmüştür. Çalışmamızda *tox* geni taşıdığı halde toksin üretmeyen ancak toksin üretme yeteneği kazanabilen NTTB suşu saptanmamasına rağmen, bu suşların Avrupa ülkelerinde dolaşımda olması da tarama çalışmalarının önemini düşündürmüştür. Nontoksijenik *C. diphtheriae* suşlarının, toksijenik suşlara

dönüştüğü zaman, pseudomembran olmadan ılımlı difteri vakalarına yol açabildiği bilindiği için, ÜSYE semptomları olan çocukları dahil ettiğimiz çalışmamızda saptanan suşların üçü de toksin üretmediği için böyle bir vaka ile karşılaşılmamıştır.



6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya ÜSYE semptomları olan 2-18 yaş arası 500 hasta dahil edildi.
2. Hastaların 260' ı kız (%52), 240' ı (%48) erkekti.
3. Hastaların yaş ortancası 76 ay (min:21 ay, max: 213 ay) idi.
4. Bir hasta dışında tüm hastalar tam aşılı ve rapelli idi.
5. Hiçbir hasta Tdap aşısı ile aşılanmamıştı.
6. Hastaların 99' unda (%19.8) ateş, 263' ünde (%52.6) boğaz ağrısı, 246' sında (%49.2) öksürük, 113' ünde (%22.6) burun akıntısı, 488' inde (%97.6) tonsillerde hiperemi, 318' inde (%63.6) tonsillerde hipertrofi, 123' ünde (%24.6) tonsillerde kript, 5' inde (%1) tonsillerin üzerinde membran vardı.
7. Hastaların 66' sının (%13.2) boğaz kültüründe AGβHS üredi.
8. Hastaların ÜSYE semptom süresi ortancası 2 gün (min: 1gün, max: 10 gün), ateş süresi ortancası 1gün (min:0 gün, max: 7 gün) idi.
9. Üç hastanın boğaz sürüntü örneklerinde *tox* geni taşımayan *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptandı.
10. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların ikisi kız, biri erkekti.
11. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların yaşları; 181 ay, 108 ay ve 76 ay
12. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların üçü de tam aşılı ve rapelli idi.
13. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların hepsinin muayenesinde tonsiller hiperemik, hipertrofikti.

14. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastalardan birinde tonsillerde kript vardı. Hiçbirinin tonsilleri üzerinde membran yoktu.
15. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların hiçbirinin boğaz kültüründe AG β HS üremesi olmadı.
16. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastalarda ÜSYE semptom süresi ve ateş süresi 1,1,3 gündü.



7. ÖZET

Giriş ve Amaç: Rutin difteri aşılmasının başlamasını takiben dünyanın pek çok bölgesinde hastalığın görülme sıklığında belirgin azalma olmasına rağmen, yeni vakaların ortaya çıkması toplumda toksijenik suşların dolaştığının göstergesidir. Difteri aşısı asemptomatik taşıyıcılığa ve nontoksijenik *C.diphtheriae* kolonizasyonuna karşı da koruyucu değildir. Nontoksijenik *C. diphtheriae* suşları ile invazif enfeksiyonların ortaya çıkması ve ayrıca nontoksijenik suşların toksijeniğe dönüşerek difteri kliniğine yol açtığı bilinmektedir. Zamanla antitoksin antikörlerin düzeyinin düşmesine ve erişkin aşılmasında aksamalar olmasına bağlı olarak difteri salgınları ortaya çıkma riski vardır. Ülkemizde rutin olarak toksijenik ve nontoksijenik *C.diphtheriae* sürveyansı yapılmamaktadır. Bu çalışmada, mikrobiyolojik sürveyans gereksinimine ışık tutmak, halk sağlığı uzmanları, mikrobiyologlar ve klinisyenler arasında bu organizmalar hakkında farkındalık yaratmak amacıyla, ılımlı difteri ile karışabilecek üst solunum yolu enfeksiyon (ÜSYE) bulguları ile başvuran çocuklarda *C.diphtheriae*, *C.ulcerans* ve *C.pseudotuberculosis* suşlarının varlığı araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: 1 Şubat- 22 Mart 2016 tarihleri arasında Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi çocuk polikliniklerine üst solunum yolu enfeksiyon bulguları ile başvuran çocukların boğaz sürüntü örneklerinde *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* suşları araştırıldı.

Sonuçlar: Çalışmaya 500 hasta dahil edildi. Hastaların 260' ı kız (%52), 240' ı (%48) erkekti. Hastaların yaş ortancası 76 ay (min:21 ay, max: 213 ay) olarak bulundu. Bir hasta dışında tüm hastalar tam aşı ve rapelli idi. Hastaların

99' unda (%19.8) ateş, 263' ünde (%52.6) boğaz ağrısı, 246' sında (%49.2) öksürük, 113' ünde (%22.6) burun akıntısı, 488' inde (%97.6) tonsillerde hiperemi, 318' inde (%63.6) tonsillerde hipertrofi, 123' ünde (%24.6) tonsillerde kript, 5' inde (%1) tonsillerin üzerinde membran vardı. Hastaların 66' sının (%13.2) boğaz kültüründe AG β HS üredi. Üç hastanın boğaz sürüntü örneklerinde *tox* geni taşımayan *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptandı. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların ikisi kız, biri erkekti. *C. diphtheriae* varyant *gravis* saptanan hastaların hepsinin muayenesinde tonsiller hiperemik, hipertrofikti.

Tartışma: Çalışmamıza benzer düzenli kesitsel çalışmaların veya rutin tarama yapılmasının, unutulmaya yüz tutmuş bu organizma hakkında hem epidemiyolojik, hem mikrobiyolojik uyanıklık yaratacağı düşünülmektedir.

8. SUMMARY

Introduction: Although a significant reduction in the incidence of the disease in many regions of the world following the routine *diphtheriae* immunization, the emergence of new cases indicates that toxigenic strains circulate in the community.

Diphtheria vaccine is not protective against asymptomatic carriage and colonization of non-toxigenic *C. diphtheriae*. It's reported that occurrence of invasive infections with non-toxigenic *C. diphtheriae* strains and also leading to diphtheriae by non-toxigenic strains converted to toxigenic strain. There's a diphtheriae outbreak risk depending on the decline in the level of antitoxin antibodies and disruption in the adult vaccination. In our country there is no routine surveillance of toxigenic and non-toxigenic *C.diphtheriae*. In the present study in order to highlight to requirement of microbiological surveillance, create awareness about this organism among public health experts, microbiologists and clinicians, the presence of *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* and *C. pseudotuberculosis* were investigated that might interfere with moderate diphtheriae in children presenting with symptoms of upper respiratory tract infections,

Methods: Between 1 February- 22 March 2016, children presenting with symptoms of upper respiratory tract infections admitted to Dr. Sami Ulus Maternity and Children's Health and Diseases Educational and Research Hospital involved in the study.

Results: Five hundred patients were involved in the study. Two hundred and sixty (52%) of the patients were girls and 240 (48%) were boys. The mean age of the patients was 76 months (min:21 months-max:213 months). Except

one patient all patients were full vaccinated with booster. Fever (19.8%), sore throat (52.6%), cough (49.2%), tonsillar hyperemia (97.6%), *tonsillar crypt* (24.6%), membrane over tonsill (1%) were common presenting symptoms. Group A streptococcus was yielded on sixty six of patients throat swab culture. Three case of genotypically *tox* negative *C. diphtheriae* varyant *gravis* was identified. Two of the patients were girl, one of them is boy. Tonsillar were hyperemic, hypertrophic in all patients with *C. diphtheriae* varyant *gravis*.

Conclusion: It' s expected to compose similar to our study routine screening or regular 'snapshot' studies highlight both epidemiological and microbiological vigilance about this organism which have almost forgotten.

KAYNAKLAR

1. MacGregor RR. *Corynebacterium diphtheriae* (Diphtheria), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease (2015). 8. baskı, bölüm 206, 2366-2372.
2. Wagner KS, White JM, Neal S, Crowcroft NS, Kuprevičiene N, et al. Members of the Diphtheria Surveillance Network, Efstratiou A. Screening for *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* in patients with upper respiratory tract infections 2007-2008: a multicentre European study. Clin Microbiol Infect. 2011;17:519-25.
3. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi Cilt I. B-MT-02 Difterinin Mikrobiyolojik Tanısı. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, ISBN: 978-975-590-489-4, Ankara, 2014. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/bakteriyoloji/UMS-B-MT-02-Difteri.pdf>
4. Burkovski A. Diphtheria and its etiological agents. *In*: Burkovski A (ed). *Corynebacterium diphtheriae* and Related Toxigenic Species. Springer, ISBN 978-94-007-7624-1, e-book.
5. Difteri Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Ankara-2003.
6. Begg N. Diphtheria: Manual for the management and control of diphtheria in the European region. Expanded Programme on Immunization in the European Region of WHO, Copenhagen. 1994.
7. Daskalaki I. *Corynebacterium diphtheriae*. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (2012). 4. Baskı. 130. Bölüm, 754 -759.

8. Fisher RG. *Corynebacterium* and *Rhodococcus*. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases (2014) 7.baskı. 100. Bölüm,1423- 1428.
9. Zakikhany K, Neal S, Efstratiou A. Emergence and molecular characterisation of non-toxigenic tox gene-bearing *Corynebacterium diphtheriae* biovar mitis in the United Kingdom, 2003–2012. *Euro Surveill*. 2014;19:pil=20819.
10. Pappenheimer AM, Murphy JR. Studies on the molecular epidemiology of diphtheria. *Lancet*. 1983; 2:923-926.
11. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 27893. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (son erişim tarihi: 01.08.2016).
12. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of pertussis, tetanus and diphtheria among pregnant and postpartum women and their infants. *MMWR Recomm Rep* 2008; 57(RR-4):1–51.
13. Arısoy, E. S. Ergenlerde Aşılama. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, (2007). 1: 11-4.
14. American Academy of Pediatrics. Red Book: 2015 Report of the Committee on Infectious Diseases. David W. Kimberlin, Ed. 30. Baskı. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics, 325-329.
15. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıkların Araştırılmasında Sahada Çalışan Hekimler için Laboratuvar Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 964, ISBN: 978-975-590-511-2,

- Ankara, 2014. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/D/Difteri.pdf>
(erişim tarihi 01.06.2016)
16. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Laboratuvar Güvenliği Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 937, ISBN: 978-975-590-487-0, Ankara, 2014.
<http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/laboratuvar-guvenligi.html> (erişim tarihi 01.06.2016)
 17. Eskola J, Lumio J, Vuopio-Varkila J. Br Med Bull. Resurgent diphtheria--are we safe? 1998,54(3):635-45.
 18. Kolodkina V, Titov L, Sharapa T, Grimont F, Grimont PA, Efstratiou A. Molecular epidemiology of *C. diphtheriae* strains during different phases of the diphtheria epidemic in Belarus. BMC Infect Dis. 2006,15;6:129.
 19. Divino-Goes KG, Moraes-Pinto MI, Dinelli MI, Casagrande ST, Bonetti TC, et al. Prevalence of diphtheria and tetanus antibodies and circulation of *Corynebacterium diphtheriae* in São Paulo, Brazil. Braz J Med Biol Res. 2007; 40:1681-7.
 20. Zasada AA. *Corynebacterium diphtheriae* infections currently and in the past. Przegl Epidemiol. 2015;69(3):439-44, 569-74.
 21. Lake JA, Ehrhardt MJ, Suchi M, Chun RH, Willoughby RE. A Case of Necrotizing Epiglottitis Due to Nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. Pediatrics. 2015 ;136:242-5.
 22. Romney MG, Roscoe DL, Bernard K, Lai S, Efstratiou A, Clarke AM. Emergence of an invasive clone of nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae* in

- the urban poor population of Vancouver, Canada. *J Clin Microbiol.* 2006, 44: 1625-9.
23. Holthouse DJ, Power B, Kermod A, and Golledge C. 1998. Non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*: two cases and review of the literature. *J. Infect.* 37:62–66.
 24. El-Hazmi MM. Late-onset prosthetic valve endocarditis caused by nontoxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*. *J Infect Dev Ctries.* 2015, 29; 9:905-9.
 25. Rizvi M, Khan F, Raza A, Shukla I, Sabir AB. Emergence of coryneforms in osteomyelitis and orthopaedic surgical site infections. *Australas Med J.* 2011;4:412-7.
 26. Hirata Jr R, Pereira GA, Filardy AA, Gomes DL, Damasco PV, et al. Potential pathogenic role of aggregative-adhering *Corynebacterium diphtheriae* of different clonal groups in endocarditis. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41:986-91.
 27. Bergamini M, Fabrizi P, Pagani S, Grilli A, Severini R, Contini C. Evidence of increased carriage of *Corynebacterium* spp. in healthy individuals with low antibody titres against diphtheria toxoid. *Epidemiol Infect.* 2000;125:105-12.

EKLER

Ek 1 BİLDİRİMİ ZORUNLU HASTALIKLAR FİŞİ

Form No 014

(U.Hıfzıssıhha Kanunu Mad. 57-64)

İlçe Grup Başkanlığına / İl Sağlık Müdürlüğüne

GÖNDERENİN

Adı Soyadı :

Mesleği :

Kurum / İş Adresi :

HASTANIN KİMLİK BİLGİLERİ			HASTALIK DURUMU		
Cinsiyeti	E	K	Hastalığın Adı	Olası	Kesin
T.C. Kimlik No					
Soyadı					
Adı			Teşhisi		
Baba Adı			Başladığı Tarih		
Doğum Tarihi					
Mesleği			Hastanın yattığı klinik adı/adresi		
ADRESİ:					
İli					
İlçesi					
Muhtarlığı			Ölmüşse tarihi:		
Sokağı			DÜŞÜNCELER		
Ev No.					
Ev/Cep Tel:					