

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDA *HAEMOPHILUS*
INFLUENZAE TÜRLERİNİN VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Ebru ÖKSÜN

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Akgün YAMAN

ADANA-2011

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONLARINDA *HAEMOPHILUS*
INFLUENZAE TÜRLERİNİN VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Ebru ÖKSÜN

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Akgün YAMAN

**Bu çalışma TF2007 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri
tarafından desteklenmiştir.**

ADANA-2011

TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Fatih Köksal'a, Prof. Dr. Fügen Yarkın'a, Prof. Dr. Macit İlkit'e;

Tezimin hazırlanmasında benden yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Akgün Yaman'a

Asistanlığım süresince yardımlarını gördüğüm bölüm sekreterimiz Suna Gökmen'e

Hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim anne ve babama, kardeşlerim Esra ve Baran'a, sevgili eşim Dr.Serdar Yılmaz'a ve biricik oğlum Taha Ege'ye sonsuz teşekkür ederim.

Ebru ÖKSÜN

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
KISALTMA LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.Sınıflandırma Ve Cinsin Tanımlanması	2
2.2. Epidemiyoloji Ve Bulaş	3
2.3 Patogenez	4
2.4.Klinik Önemi	6
2.5.Alınması, Taşınması, Saklanması	8
2.6.Tanı	8
2.7. Örneklerin Direkt İncelenmesi	9
2.8. İzolasyon Teknikleri	10
2.9.Antibiyotik Duyarlılığı	11
2.10. Tedavi	11
2.11. Önleme ve Kontrol	12
3.GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1 Klinik Örneklerden İzolasyon	14
3.2. Gram Boyama	15
3.3 Katalaz Testi	15
3.4.Oksidaz Testi	15
3.5.Serotiplenfirme	15
3.6.Vitek 2 Otomatize sistem	16
3.7. Disk Diffüzyon Yöntemi	17

4.BULGULAR	18
4.1.İstatistiksel İnceleme	21
5.TARTIŞMA	23
6.ÖNERİ VE SONUÇ	27
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	35

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. İnsanda hastalık yapan <i>Haemophilus</i> türlerinin özellikleri	5
Tablo 2. <i>H.influenzae</i> 'ın neden olduğu Hastalıkların Klinik Belirtileri	7
Tablo 3. <i>H.influenzae</i> 'ın neden olduğu hastalıklarının laboratuvar tanısı	9
Tablo 4 . <i>H.influenzae</i> solunum yolu hastalıklarının tedavisi	12
Tablo5. <i>H.influenzae</i> Enfeksiyonun Kontrolü	13
Tablo6. Hastaların Cinsiyete Göre Dağılımı	19
Tablo 7. Tanı Amacıyla Kullanılan Örnekler	19
Tablo 8. <i>H.influenzae</i> 'ın Antibiyotiklere Duyarlılıkları	20
Tablo9. <i>H.influenzae</i> 'da Tek Antibiyotiğe Direnç Oranları	20
Tablo 10. <i>H.influenzae</i> 'da Tekli ve Çoklu Direnç Oranları	21
Tablo 11. <i>H.influenzae</i> 'nın Serotiplendirilmesi	21

KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ÜSYE:	Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu
<i>HIB</i>	: <i>Haemophilus Influenzae</i> T1b B
BOS	: Beyin Omirilik Sıvısı
LA	: Latex Aglutinasyon
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AMP	: Ampisilin
SAM	: Ampisilin/sulbaktam
CPR	: Sefprozil
CTX	: Sefotaksim
MEM	: Meropenem
CLR	: Klaritromisin
T/S	: Trimetoprim/sulfametoksazol
CİP	: Siprofloksasin
TET	: Tetrasiklin
İPM	: İmipenem
CEC	: Sefaklor

ÖZET

Solunum Yolu Enfeksiyonların da *Haemophilus Influenzae* Türlerinin ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması

Amaç: Çukurova üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gönderilen üst solunum yolu örneklerinden izole edilen 146 *Haemophilus influenzae* izolatlarında direnç durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Suşların ampisilin (Amp), ampisilin/sulbaktam (SAM), sefprozil (CPR), sefotaksim (CTX), meropenem (MEM), klaritromisin (CLR), trimetoprim/sulfametoksazol (T/S), siprofloksasin (CiP), tetrasiklin (TET), imipenem (IPM), sefaklor'a duyarlılıkları "Haemophilus Test besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine uygun olarak çalışılmıştır. Suşların serotiplendirilmesine bakılmıştır.

Bulgular: *H.influenzae* izolatlarının, 133'si balgam, 13' ü bronkoalveolar lavaj sıvısı, *H.influenzae* izolatlarında ampisilin'e direnç %20, ampisilin/sulbaktam direnç %11, seprozil'le direnç %12, sefotaksim'e direnç %8, meropenem'e direnç %7, klaritromisin'e direnç %10, trimetoprim/sulfametoksazol'a direnç %29, siprofloksasin'e direnç %8, tetrasiklin'e direnç %10, imipenem'e direnç %7 , sefaklor'a direnç %15 olarak görülmüş. 146 hastanın 92'si bütün antibiyotiklere duyarlı bulunmuş. 130 hasta serotiplendirilmesi sonucunda tip b olarak tayin edilmiş. 6'sı a grubu ,6'sı c grubu, 4'i f grubu olarak tiplendirilmiştir.

Sonuç: Yıllara göre direnç dağılımı ampirik tedavi planlanırken göz önüne alınması gereken önemli bir bulgudur. Çalışmamız da en yüksek oranda direnç T/S'a karşı belirlenmiştir. Direnç oranların da diğer çalışmalarla kıyaslandığında yıllara göre farklılık gözlenmiştir. Buna karşın sabit bir artış veya azalma saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Haemophilus influenzae*, direnç, antibiyotik

ABSTRACT

Antimicrobial Susceptibility Pattern And Species of *Haemophilus Influenzae* Strains Isolated at Upper Respiratory Tract Infections

Aim: To determine the resistance rates to various antimicrobial agents in 146 *H.influenzae* isolated from various clinical upper respiratory tract samples at Çukurova University, Balcali Hospital, Central Laboratory

Materials and Methods: Susceptibility to ampicillin (Amp), ampicillin-sulbactam(SAM), cefprozil(CPR), cefotaxime (CTX), meropenem(MEM), Claritromicine(CLR), trimetoprim sulfametoksazol (T/S), ciprofloxacin(CIP), tetracycline(TET), imipenem(IPM), sefaclor(SFC) were determined in *Haemophilus* Test Medium by disc diffusion method according to CLSI criteria.

Results:*Haemophilus Influenzae* strains were isolated from, 133 sputum, 13 bronchoalveolar lavage, samples. Resistance to ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefprozil, cefotaxime, meropenem, claritromicin, trimetoprim sulfametoksazol, ciprofloxacin, tetracycline, imipenem, sefaclor rates were %20,%11, %12, %8, %7, %10, %29, %8, %10, %7,%15 respectively. 92 strains were susceptible to all of antibiotics used in the study. 130 strains resulted in type b, 6 strains resulted in type a, 6 strain resulted in type c, 4 strain resulted in type f were identified as a group.

Conclusion: Resistance rates by year are very important for the clinicians employing empirical therapy in URT infections. In this study, the highest resistance rate was observed for T/S. Diversity in resistance rates according to year was observed. However, a steady increase and decrease in resistance rates was not shown.

Keywords: *Haemophilus Influenzae*, Resistance, Antimicrobial.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Haemophilus influenzae otit, bronşit, pnomoni ve menenjit gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olan bir patojendir¹. *H.influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *S.pneumoniae* üst solunum yolu florasında bulunmakla beraber bazen alt ve üst solunum yolları enfeksiyonlarına, nadiren başka organların lokal enfeksiyonlarına ve sepsiseye yol açabilir. Bu etkenlerin sıklığı ve antipiyotik dirençleri toplumlar arasında farklılık göstermektedir. Sıklıklarının ve direnç kalıplarının saptanması epidemiyolojik olarak gereklidir².

Haemophilus cinsi insan ve hayvanların zorunlu parazitidir. *H.influenzae* yalnız insanda yaşar ve başka konakta doğal olarak bulunmaz. Boğaz ve nazofarenkste yoğun olarak, burun, konjunktivita ve genital sistemde nadiren kolonize olurlar. Kapsülsüz suşlar sık olarak, kapsüllü olanlardan *H. influenzae* tip b (*Hib*) her yaştaki insanın üst solunum yollarında kolonize olurlar³.

H.influenzae için ampicilin direnci ilk kez 1974 yılında bildirilmiştir⁴. Klinik *H.influenzae* izolatları arasında ampicilin'e direnç artmaktadır⁵. *H.influenzae* özel üreme ve antipiyogram koşullarına gerek duyması nedeniyle, ülkemiz de rutin olarak bu tür antipiyotik duyarlılığını inceleyen kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır^{3,7,8}.

H.influenzae antipiyotiklerin çoğuna genellikle duyarlıdır. Ancak diğer bakterilerde olduğu gibi dirençli suşlar'ın ortaya çıkması duyarlılıkların belirlenmesinde alternatif antipiyotiklere ihtiyacın oluşmasına yol açmaktadır. Dünyadaki antipiyotik kullanımı %70 ampiriktir. Ülkemizde de kültür yapma olanağı kısıtlı olduğundan veya kültür sonuçları geç alındığından antipiyotik seçimi elde bulunan verilere dayanmaktadır. Bu nedenle her hastanenin, her bölgenin, hatta her ülkenin direnç haritaları çıkarılarak tedavinin yönlendirilmesi gerekmektedir. Ülkemizde bu konuda yapılmış ayrıntılı çalışmalar ancak belirli merkezlere aittir³.

Bu nedenle, çalışmamızda hastanemize başvuran hastalardan izole edilen *H.influenza*'nın türleri ve antipiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflandırma Ve Cinsin Tanımlanması

Haemophilus influenzae ilk olarak 1892 de Pfeiffer tarafından *influenzae* pandemisi sırasında ölen hastaların balgam ve akciğer dokularından izole edilmiştir. İndol üretimi, üreaz üretimi ve ornitin dekarboksilaz aktivitesi özellikleri temel alınarak sekiz biyotipi (I-VIII) tanımlanmıştır⁹. *Haemophilus* cinsinin üyeleri Gram negatif, aside dirençli olmayan, hareketsiz ve küçük kokobasillerden filamentöz çomaklara kadar değişebilen sporsuz çomaklardır. Yalnızca insan solunum sistemindeki mukoza membranlarına adapte olmuş zorunlu parazitlerdir. *Haemophilus* cinsinde bulunan, hayvan kaynaklı türlerin çoğu *Pasteurella* veya *Actinobacillus* cinslerine transfer edilmiş, *haemophilus* cinsi ve hayvanlarda yeni tanımlanmış birkaç bakteri cinsi *Pasteurellaceae* ailesini oluşturmuşlardır¹⁰.

İnsanlarla ilgili güncel olarak tanımlanmış *Haemophilus* türleri *H.influenzae*, *H.aegyptius*, *H.haemolyticus*, *H.parainfluenzae*, *H.parahaemolyticus*, *H.ducreyi*, *H.aphrophilus*, *H.paraphrophilus*, *H.segnis*, *H.pittmaniae* ve daha zayıf olarak tanımlanmış olan *H. paraaphrophilus* türleridir^{11,12}.

Bütün *Haemophilus* türleri fakültatif anaerobdur. Cins ismi kanda bulunan yardımcı büyüme faktörlerine ihtiyaç duyulan in-vitro üreme gerçeğine atfen konulmuştur: X faktör (hemin; x bilinmeyen için) ve V faktör (NAD; V vitamin için). Diğer türlerin çoğu bu faktörlerden yalnızca birine gereksinim duyarken *H.influenzae* her ikisine birlikte gereksinim duyar. En iyi üreme ısısı 33-37 °C'dir. *Haemophilus* türleri, karbonhidratların bazılarını fermente eder; glikozun fermentasyonu sonucu oluşan son ürünler, süksinik, laktik ve asetik asitlerdir. Bazı türlerin kökenleri fermentasyon besiyerinde gaz oluşturur. Bütün *Haemophilus* kökenleri nitratları indirger ve alkalın fosfataz pozitifdir¹³. *H.influenzae*'nın değişik alt popülasyonları serotip a'dan f'ye kadar tanımlanan altı farklı serotipte kapsül polisakkaridi üretir.

Geleneksel sınıflandırma kriteriyle, yanlış bir şekilde *H.influenzae* ve *H.aegyptius* ayrı türler olarak sınıflandırılmıştır¹².

Bununla beraber ikisini birleştirmeye biçimsel olarak engel olan ise, *H.aegyptius* isminin *H.influenzae* isminden daha önce konulmuş olmasıdır. Ayrıca popülasyon genetik analizleri farklı bakteri popülasyonları oluşturduklarını ve klinik deneyimler, farklı patojenik potansiyellere sahip olduklarını göstermektedir. Hatta bu durumda, *H.influenzae* biyogrup *aegyptius* olarak adlandırılması daha doğrudur^{14,15}.

H.paraphrophilus'un, *H.aphrophilus*'dan ayrı bir tür olarak geçerliliği'de sorgulanmıştır¹⁵. Nükleik asit hibridizasyon çalışmalarına ve 16S rRna dizi homolojilerine göre *H.ducreyi*, her ne kadar *Pasteurellaceae* ailesinin bir üyesi olsa da, *Haemophilus* cinsine ait değildir¹⁰. *Actinobacillus*, *actinomyetemcomitans*, *H. aphrophilus*, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis*'le yakın ilişkilidir^{10,16}. Bununla beraber, *H.influenzae* türüne belirgin bir homoloji göstermediği için, *Actinomyetemcomitans* ve onun *Haemophilus* cinsi içerisinde bulunan yakın akrabaları, *Pasteurellaceae* ailesi içerisinde ayrı bir cins olarak tanımlanır¹⁶.

2.2. Epidemiyoloji Ve Bulaş

Haemophilus bakterileri, sağlıklı insanların üst solunum yolu normal bakteri florası'nın yaklaşık %10'unu oluşturur. Baskın tür, oral kavite ve farensk'teki *Haemophilus* florası'nın dörte üçünü oluşturan *H.parainfluenzae*'dir. Fakat bu tür, nazal kavitede bulunmaz. Baskın olarak biyotip II veya III olan kapsülsüz *H.influenzae* kökenleri, sağlıklı çocukların çoğunun farensinde bulunur, fakat toplam bakteri florası'nın %2'sinden daha azını oluşturur^{15,17}.

H.influenza'nın oluşturduğu nazofaringeal kolonizasyon, ortalama 1,4-2 ay kadar süren taşıyıcılık ile karakterize dinamik bir olaydır^{16,17,18}. Lokal enfeksiyon süresince bir tek *H.influenzae* kolonisi, genellikle farinks ve nazal kavitedeki bakteriyel floraya hakim olur.

Kişinin artan yaşıyla birlikte, üst solunum yolundaki *H.influenzae* taşıyıcılığının sıklığı azalır¹⁵. Üst solunum yolundaki durumun aksine, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalar ise sıklıkla kapsülsüz *H.influenzae*'nin bir veya birçok kolonisiyle inatçı bir şekilde kolonize olur²⁰. Bazı özel popülasyonlar da yüksek oranda bulunabilmesine rağmen, sağlıklı bireylerde aşısız popülasyonların çoğunda, *Hib*taşıyıcılığı, yüksek bulunsa da, yaşamın ilk altı ayı süresince %1'in altındadır. Fakat çocukluk çağıının geri kalan süresinde ortalama %3-5 kadardır¹⁸.

Kalabalık ortamların yüksek taşıyıcılık hızına katkıda bulunduğu düşünülmektedir^{5,18}. Birçok popülasyon da çocukların konjuge aşı ile aşılmasından sonra oluşan antikorlara bağlı olarak, *Hib* taşıyıcılığı belirgin bir şekilde azalmıştır²¹. Fakat bu duruma uymayan açıklanamamış istisnalar da bulunmaktadır^{5,22}.

Haemophilus influenzae tip b ile farengeal kolonizasyon ve hastalığın oluşması ve bulaşı arasındaki ilişki hala tam olarak açıklanamamış değildir. Hastalığın oluşmasında Hib'in virulansı ve kişinin duyarlılığı önemli rol oynamaktadır^{5,23}.

Haemophilus influenzae hariç, *H.parainfluenzae*, *H.aerophilus*, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis* türleri oral kavitenin normal mikro-florasının üyeleridir. *H.aerophilus*, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis* türleri dış yüzeylerindeki biyofilmlere baskın olarak bulunur. Sağlıklı bireylerde *H.parahaemolyticus* ve *H.haemolyticus* taşıyıcılığı nadirdir¹¹.

Veneral patojen olan *H.ducreyi*'nin semptomsuz servikal taşıyıcılığı olabilmektedir. Üst solunum yollarında kolonize olmuş *Haemophilus* cinslerinin yayılımı tipik olarak solunum yolu damlacıkları ile *H.ducreyi*'nin yayılması ise seksüel ilişki ile olmaktadır²⁴.

2.3 Patogenez

H.influenzae damlacık yoluyla ya da solunum salgılarıyla direk temas sonucu bulaşır. Özel bir suşla kolonizasyon haftalar hatta aylarca sürebilir ve bu süre boyunca çoğu kişi asemptomatiktir. Çeşitli bakteriyel faktörler solunum yollarının kolonizasyonun da etkilidir²⁵.

H.influenzae lipopolisakkaridi'nin lipid A komponenti ve olasılıkla düşük molekül ağırlıklı glikopeptitler, sliostaza neden olurlar. Böylece mikosillier temizlemeyi engellerler. Ayrıca pilus ve non-pilus tutunma faktörleri bakterilerin solunum epiteline direk olarak bağlanmasını kolaylaştırır. Başka bazı mukoza patojenleri gibi *H.influenzae* insan IgA₁'i parçalayan ve olasılıkla lokal immün sistemden kaçmasını kolaylaştıran bir IgA₁ proteaz salgılar. Bakteriyel antijenik değişimler de lokal immüniteden kurtulmayı kolaylaştırmaktadır²⁵.

Bazı durumlarda kolonizasyonu, solunum yollarına kontajiyöz yayılma izler ve orta kulak, sinüsler, konjunktiva ve akciğerlerde lokalize hastalıkla sonuçlanır. Anatomik özellikler, bölgesel immün fonksiyonlarda yetersizlik, viral solunum sistemi

enfeksiyonları, sigara ve alerjiler, lokalize solunum yolu hastalıklarına eğilimi artırır. Bazen bakteriler nazofaringeal epitelyum bariyerini aşarak dolaşıma katılır. Bu olayların nedeni tam olarak anlaşılmamıştır²⁵.

Olguların çoğunda genellikle bakteriyemi geçicidir. Bağışık olmayan konakta, özellikle tip b kapsüllü bakteriler bazen kanda yaşayabilir, çoğalabilir ve uzak bölgelere yayılabilirler. Özgül antikorlar yoksa tip b polisakkarid kapsül, serum bakterisidal aktivitesine ve fagositoza direnci sağlar²⁵. *Haemophilus* türlerin üreme için ihtiyaçları ve biyokimyasal özellikler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. İnsanda Hastalık Yapan *Haemophilus* Türlerinin Özellikleri

Organizma	X	V	Hemoliz	Katalaz	CO ₂ ihtiyacı
<i>H.influenzae</i>	+	+	-	+	-
<i>H.parainfluenzae</i>	-	+	-	+	-
<i>H.aphrophilus</i>	+	-	-	-	+
<i>H.paraphrophilus</i>	-	+	-	+	+
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+	+	-
<i>H.parahaemolyticus</i>	-	+	+	+	-
<i>H.segnis</i>	-	+	-	+	-
<i>H.ducreyi</i>	+	-	+	-	+

H.parainfluenzae, *H.paraphrophilus* ve *H.segnis* ayırımı laktoz ve mannoz fermentasyonun’un değerlendirilmesi ile kolayca yapılabilir. *H.paraphrophilus* laktoz ve mannozu, *H.parainfluenzae* sadece mannozu fermente eder ve *H.segnis* hiçbirini fermente etmez²⁵.

2.4.Klinik Önemi

Birçok ülkede, aşılama programları uygulanıncaya kadar *H.influenzae*, tüm dünyada, bakteriyel menenjitin üç ana etkeninden birisiydi^{26,27}. Olguların çoğunluğu 3 ay- 3 yaş arasındaki çocuklarda olup enfeksiyon insidansı 6-7 aylıkken en yüksek zirvesine ulaşmaktadır. Gerçekte hepsi serotip b ile oluşmakta ve çoğunluğu biyotip I'e ait olarak bulunmaktadır. Her iki özellik onları kommensal kökenlerden ayırmaktadır. Aynı özelliklere sahip olan kökenler, septisemi ile ilişkili akut epiglottit'in major etiyolojik ajanlarından^{26,27}.

Amerika Birleşik Devletleri'nde invaziv *Hib* enfeksiyonları'nın yıllık sayısı 100'ün altındadır. Çoğunluk olarak aşılanmamış veya eksik aşılanmış çocuklarda görülür^{26,27}. Bununla birlikte hastalık, hala seçilmiş aşılanmış populasyonlarda da görülmektedir²⁸. Sağlıklı insanların solunum yollarında baskın olarak bulunan kapsülsüz *H.influenzae* suşları çocuklarda sıklıkla enfeksiyonlara neden olur. *Hib* birçok Asya ülkesinde ve gelişmekte olan ülkelerde aşılanmamış veya eksik olarak aşılanmış çocuklarda menenjitin önde gelen nedenidir. Dünya çapında her yıl çocuklarda en az 3 milyon ciddi hastalık olgusu ve 400000-700000 kadar ölümün meydana geldiği tahmin edilmektedir²³.

Bazı invaziv enfeksiyonlar, çoğunlukla altta yatan, kanser, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, alkolizm ve HIV enfeksiyonu gibi önemli hastalığı bulunanlarda kapsülsüz kökenlerle oluşur²⁹. Çocuklarda alta yatan hastalıklar daha azdır. Ve bunlarda pnömoni ve menenjit eşit miktarda ortaya çıkar³⁰. Serotip a,c,d veya e kapsülü taşıyan kökenler, sağlıklı kişilerin solunum florasın da bulunduğu gibi bazen enfeksiyonlarda yol açabilir^{31,32}.

Amerika birleşik devletlerinde serotip a kökeni ile meydana gelen invaziv hastalığın, nispeten yüksek bir insidans'a sahip olduğu gözlenmiş fakat *Hib* ile aşılamadan sonraki periyot'ta bu sayılarda tam bir artış gözlenememiştir³².

H. influenzae'nin kapsüllü kökenlerinin kana karışması sonucunda septik artrit, osteomyelit, sellülit ve perikarditte oluşabilir^{23,31}. Primer *H.influenzae* pnömonileri, hem çocuk hemde erişkinlerde artan oranlarda bulunmaya başlamıştır ve bazen bakteriyemiye yol açabilir^{33,34}.

Yapılan çalışmada *H.influenzae*, Kuzey Amerikada ve Avrupa’da toplumdan kazanılan çocukluk çağı pnömonilerinin % 7’sinde Afrika ve Güney Amerika’da ise %21’inde etiyolojik ajan olarak gösterilmiştir³⁴.

Sağlıklı insanların solunum yollarında bulunan kapsülsüz *H.influenzae* suşları çocuklarda sıklıkla enfeksiyonlara neden olur. Kapsülsüz *H.influenzae* ile meydana gelen enfeksiyonlar genellikle üst solunum yolu ile bulaş sonucu gerçekleşir^{33,35}.

Kapsülsüz *H.influenzae*, *S.pneumoniae*’dan sonra, otitis media’nın en sık pürülan bakteriyel konjunktivit, sinüzit ve kistik fibrozlu veya kistik fibrozsuz hastalardaki alt solunum yolları enfeksiyonlarının akut veya kronik alevlenmesinin önemli nedenlerindendir^{31,33,35}. *H.influenza*’ya bağlı otitis media genellikle nazofarenkste aynı klon’un belirgin derecede artması ile ilişkilidir³⁶. *H.influenzae* bazen doğumla ilgili yeni-doğan enfeksiyonlarına neden olur^{31,36}. Hem *H.influenzae* hem de *H.parainfluenzae* üriner sistem enfeksiyonlarına ve peritonite de yol açabilir.³¹

Kapsülsüz *H.influenzae* kökenleri ile oluşan bazı menenjit olguları, sıklıkla alta yatan ventriküloperitoneal şantları içeren cerrahi müdahalelerle ilişkilidir³⁵. *H.influenzae*’nın neden olduğu hastalıklarda ateş belirgin semptomdur³¹. *H.influenzae*’nın neden olduğu hastalıkların klinik belirtileri tablo 2 ‘de gösterilmiştir.

Tablo 2. *H.influenzae*’nın Neden Olduğu Hastalıkların Klinik Belirtileri

Hastalık	Bulgu ve belirtiler
Menenjit	İrritabilite, letarji, fotofobi, ense sertliği
Epiglottit	Boğaz ağrısı, disfaji, dispne, ağız sulanması
Piyojenik artrit	Eklem ağrısı, şişlik, hareket azalması
Sellülit	Deride eritem, Sıcaklık, Hassasiyet
Otitis media	Kulak ağrısı, Timpanik membranda bombeleşme, sınırların belirsizleşmesi
Sinüzit	Burun akıntısı, ateş, öksürük, başağrısı, fasial hassasiyet
Pnömoni	Öksürük, takipne, oskültasyonda krepitasyon
Akciğer Hastalığı Alevlenmesi	Dispnenin artması, balgam çıkarma, pürülan balgam

2.5.Örneklerin Alınması, Taşınması Ve Saklanması

Mikroorganizmaların canlı kalabilmesi ve hızlı olası tanı için örneklerin hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılması gereklidir. *Haemophilus*'ların izole edilebilmesi amacıyla gerekli materyaller aspire edilmiş sinoviyal sıvı, perikard sıvısı, plevral sıvı, cerahat, nazofaringeal veya boğaz sürüntü örnekleri, balgam, enfekte gözden alınan cerahatli akıntılar, idrar ve bazen vajinal sürüntü örnekleridir³⁷.

Solunum sisteminden örnek alınırken, komensal kontaminasyondan mümkün olduğunca kaçınılarak, enfeksiyona yol açabilecek mikroorganizmaların alınması önemlidir³⁷.

Çocukların çoğu, üst solunum yollarında *H.influenzae*'yı taşıdıkları için, kültürde *H.influenzae* tespiti otitis media'nın etyolojisi açısından çok değerli değildir³⁷.

Örnekler laboratuvara uygun transport besiyerlerinde taşınmalı veya mümkünse direkt olarak uygun agar besiyerine yayılmalıdır. *Haemophilus* bakterilerinin çoğu kuruma sonucu canlılığını hızla kaybeder ve klinik örneklerde birkaç günden fazla yaşayamaz. Bu, özellikle *H.aegyptius* gibi zor üreyen türler için önemlidir³⁷.

Haemophilus izolatları bir agar kültüründen yoğun olarak alınmış kuru pamuklu eküvyonlarla yağı alınmış süte transfer edilirse ve -135⁰C'de liyofilize edildikten sonra oda ısısında yıllarca muhafaza edilebilir. Bir diğer alternatif metot, 24 saatlik sıvı besiyerindeki kültürlerin veya % 10 gliserol içeren sıvı besiyerinde taze olarak üretilmiş kolonilerden hazırlanan süspansiyonların -60⁰C'nin altında dondurulmasıdır. Haftada iki kez agar besiyerine pasaj yapılması birçok kökenin yaşamasını sağlayabilir. Bununla beraber *H.aegyptius* ve *H.ducreyi* kökenleri hızlı bir şekilde canlılıklarını kaybeder³⁷.

2.6. Tanı

Menenjit, pnömoni, pyojenik artrit ve sellülit tanısında, öykü ve fizik muayene son derece önemlidir. göre konulur. İnvaziv *Hib* hastalarının çoğunda kan kültürü pozitifdir. *H.influenzae* sık olarak hastaların eklem sıvısı ve perikard sıvı örneklerinden elde edilir²⁵.

Tip b kapsül polisakkaridi, bakteri üremesi sırasında salgılanır ve serum, BOS ve diğer normalde steril olan vücut sıvılarında kapsül antijeni saptanması tanıyı destekler. Antijen saptama teknikleri: antipiyotik tedavisi almış olan ve kültürleri steril kalan hastalarda son derece önemlidir²⁵.

Ayrıca bu testler, klinik laboratuvarlarda bakteriyel üreme değerlendirilmeden önce tanının doğrulanması ve temas edenlere erken kemoprofilaksi verilmesi açısından da yararlı olabilir²⁵.

Hib konjuge aşılı aşılanmadan günler ve haftalar sonra idrar ve BOS’da pozitif reaksiyona yol açabilir²⁵.

H.influenzae, üst solunum yollarının sık görülen, kommensal bir organizması olması nedeniyle, lokalize solunum yolu hastalığı etkeni olduğunu kanıtlamak zordur. Sinüs aspirasyonu, trakea veya akciğer aspirasyonu, bronkoskopi ve bronkoalveolar lavaj gibi işlemlerle kesin tanıya yardımcı olunur. Yapılan çeşitli çalışmalarda yüzeysel kültürler etyolojik tanıda çok az değer taşıdığı bulunmuştur. Menenjit, epiglotit, sellülit ve septik artritin ön tanısı hikayesi ve klinik bulgularına göre yapılır. Mikrobiyolojik incelemelerle etkenin tanımlanması ve klinik tanının doğrulanması gerekir². *H.influenzae*’nın mikrobiyolojik tanısında kullanılan yöntemler Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. *H.influenzae*’nın Neden Olduğu Hastalıkların Laboratuvar Tanısı

Morfoloji	Kültür	Diğer testler	Seroloji
Pleomorfik, Gram negatif kokobasil	Fildes veya çikolata agar	Steril vücut sıvılarında tip b antijen ölçümü	Mevcut, genellikle yararsız.

2.7. Örneklerin Direkt İncelenmesi:

Solunum yolu örnekleri: polimorfonükleer lökositleri içeren fakat skuamöz epitel hücreleri içermeyen balgam örneklerinde pleomorfik Gram negatif çomakların görülmesi, kuvvetli olarak *Haemophilus* türlerinin etiyolojik etken olduğunu düşündürmeli son karar mutlaka kültür sonucuna göre verilmelidir. Ufak olmalarına veya boyama reaksiyonuna bağlı olarak, *Haemophilus* bakterileri Gram’la boyanmış balgam preparasyonlarında kolaylıkla gözden kaçabilir. Direktt mikroskopi,

bronkoalveolar lavaj veya transtorasik iğne aspirasyonu ile sıvıların toplandığı olgularda da önemli bir tanı aracıdır³⁷.

Boyama yöntemleri olarak; Gram boyama, metilen mavisi, Wayson ve akridin oranj (AO) boyama sayılabilir. Klinik örneklerin direkt Gram boyama ile incelenmesinin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir. Tedavi uygulanmamış *Haemophilus* menenjitli hastalardan alınan BOS örneklerinin %80'inden fazlasında küçük Gram negatif kokobasiller ve pleomorfik bakteriler görülebilir³⁸.

Hib kapsül antijeninin tespiti: BOS ve çeşitli vücut sıvılarında *Hib* kapsül antijeninin hızlı tanımı için kapsül şişme reaksiyonu ve ayrıca lateks aglütinasyonu (LA), enzim immünassay, Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), nükleik asit problemleri ve monoklonal antikorlar kullanılabilir³⁸.

2.8. İzolasyon Teknikleri

Haemophilus türlerinin izolasyonu yapılırken bu grup bakterilerin özel üreme gereksinimleri göz önünde bulundurulmalıdır. İki üreme faktörü hemin (X faktör) ve NAD (faktör V) kan hücrelerinde bulunmakta, fakat konvansiyonel kanlı agarda sadece X faktörü direkt olarak bulunmaktadır. V faktörünün salınması için çikolatamsı agar veya Levintal'in besiyerinde olduğu gibi kan hücreleri kısa bir ısıtma ile parçalanmalıdır. Isı ile muamele V faktörünün salınmasına ek olarak kanda bulunan V faktörü tahrip eden enzimleri de (NADase) inaktive etmektedir. Isı ile muamele otoklavlanmadan sonra hemen yaklaşık 80°C'ye kadar soğutulan besiyerin kan (%5 koyun kanı, sığır veya at kanı) eklenerek uygulanmaktadır³⁹.

Altı temel besiyerinin karşılaştırılması sonucu, %5 koyun kanı ve %1 maya otolizat içeren GC agar besiyerinin, *H.ducreyi* dışında, *H.influenzae*, *H.parainfluenzae* ve insanlardan izole edilebilecek diğer birçok türün izolasyonunda, en iyi üremeyi sağladığı gözlenmiştir. Kan, BOS ve diğer vücut sıvısı örnekleri X ve V faktörleri içeren at veya tavşan kanlı agar ya da Levinthal besiyerlerine ekilir³⁹.

Solunum sistemi örnekleri gibi flora bakterileri içerebilecek klinik materyaller için çikolata agar besiyeri kullanılır. İlk üretim için stafilokok çizgisi tekniği de uygulanabilir³⁹.

Çikolata agarda 1-2mm çapında yuvarlak, saydam, şebnem tanelerine benzeyen kolonilerdeki bakterilerin X ve V faktörlerine gereksinimleri ve biyokimyasal özellikleri

incelenir. İndol üretimi, üreaz ve ornitin dekarboksilaz aktiviteleri araştırılarak biyotipler belirlenir. *H.influenzae* kapsüllü kökenlerin tanımlanması bağışık serumlar kullanılarak lam aglutinasyonu ile yapılabildiği gibi, immunofloresan ve kapsül şişme reaksiyonu uygulanabilir^{25,39}.

2.9. Antipiyotik Duyarlılığı

Haemophilus türlerinin vahşi-tip kökenleri ampisilin, sefalosporinler, kloramfenikol, sülfonamidler, tetrasiklinler ve makrolid-ketolid grubu antimikrobiyalara karşı duyarlıdır. Bununla beraber başlıca yol olarak konjugatif plazmidlerin yayılması nedeniyle, klinik izolatların büyük bir kısmı, ampisilin ve diğer birçok beta laktam antipiyotiğe, kloramfenikole ve tetrasiklinlere karşı dirençlidir^{39,40}.

2.10. Tedavi

Özellikle menenjit ve epiglottit gibi *H.influenzae* enfeksiyonları eğer tedavi edilmezse hızla ölüme yol açabilir. Bu invaziv enfeksiyonlar'ın tedavisinde sefotaksim, seftriakson ve seftazidim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılır. Antipiyotikler hastanın ateşi düşüp enfeksiyonun laboratuvar ve klinik bulguları kayboluncaya kadar ortalama 7-10 gün boyunca uygulanır. *H.influenza* bakterileri menenjitli hastalarada nörolojik sekellerin insidansını azaltmak için tedaviye kortikosteroidler ilave edilir²⁵.

AOM, KOAH alevlenmeleri gibi enfeksiyonlar da oral antipiyotikler kullanılır. Eğer izolat hassas ise ampisilin veya amoksisilin tek başına kullanılabilir. Ancak dünyada çeşitli coğrafi bölgelerde farklılık gösteren ve ülkemizde %7-52,5 arasında amoksisilin+klavulanat kombinasyonu ya da florokinolonlar, makrolidler veya geniş spektrumlu sefuroksim, sefiksim kullanılır^{25,37}. Günde iki kez ve üç kez kullanılan formüllerin her ikisi de uygulanabilir²⁵. Solunum yolu *H.influenzae* hastalıklarının tedavisi ile ilgili seçenekler Tablo.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. *H.influenzae* Lokalize Solunum Yolu Hastalıklarının Tedavisi

	İlaç	Çocuklar	Erişkinler
İlk Seçim	Amoksisilin duyarlı ise	40mg/kg/gün üç eşit doza bölünerek	500 mg günde üç kez
Alternatif seçim	Ampisilin +klavunat	40mg/kg/gün 2 veya üç eşit doza bölünerek	500 mg günde üç kez
	TMP-SMX	8-12 mg TMP/ 40-60 mg SMX/kg/gün iki eşit doza bölünerek	160mg TMP/800 mg SMX günde iki kez
	Oral 2. ve 3.kuşak sefalosporin	Özel ajana bağlı	Özel ajana bağlı
	Eritromisin-sulfisoksazol	40mg/kg/gün 3-4 eşit doza bölünerek	500 mg günde dört kez
	Azitromisin	10mg/kg yükleme dozu, sonra 5mg/kg günde	500mg yükleme dozu, sonra 250mg günde
	Klaritromisin	15mg/kg/gün 2 eşit doza bölünerek	500 mg günde iki kez

11. Önleme Ve Kontrol

Hib kapsülüne karşı gelişen antikorlar tip b organizması için bakterisidaldir ve invaziv hastalığa karşı koruma sağlar. *Hib* aşısı poliribozilribitol fosfat (PRP) adı verilen derivelerini içermektedir. Aşıların immünojenitesini artırmak için, kapsül polisakkaridi immünojenik bir taşıyıcı proteinle konjuge edilmiştir. Polisakkarid büyüklüğü, polisakkarid ve taşıyıcı protein tipi farklı olan dört ruhsatlı konjuge aşı mevcuttur⁽²⁵⁾. *H.influenzae* enfeksiyonun kontrolü Tablo. 5’de özetlenmiştir.

Tablo5. *H.influenzae* Enfeksiyonun Kontrolü

Koruyucu Önlemler	Aşıları mevcuttur, tip b hastalığı için etkindir. Kemoproflaksi: Rifampin,20mg/kg/gün günde bir kez, 4 gün maksimum 600mg/kg/gün veya Amoksisilin, 20 mg/kg/gün veya Sulfisoksazol 50mg/kg/gün, rekürren otitis medialis seçilmiş hastalar için
İzolasyon Önlemleri	Tip b hastalığının tedavisinin ilk 24 saatinde damlacık önlemleri

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez laboratuvarı Mikrobiyoloji biriminde çeşitli klinik ve polikliniklerden gönderilen üst solunum yolu örneklerinden izole edilmiş 146 *H.influenzae* suşu incelemeye alınmıştır. Aynı hastadan birden fazla izole edilen suşlardan sadece bir tanesi çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların ampisilin (10µg), ampisilin/sulbaktam (10/10µg), sefprozil (30µg), sefotaksim (30µg), meropenem (10µg), klaritromisin (15µg), trimetoprim/sülfametoksazol (1.25/23.75µg), siprofloksasin (5µg) ve tetrasiklin (30µg), imipenem (10µg), sefaklor (30µg) duyarlılıkları *Haemophilus* test mediumda disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerin'e uygun olarak çalışılmıştır.

133'ü balgam, 13'ü bronko-alveoler lavajdan izole edilmiştir. İzole edilen *H.influenzae* suşları mikrobank'lere pasajlanarak -20°C'de saklanır. Serotiplendirme amacıyla bu suşlar'dan *H.influenzae* test medium'a pasaj yapıp 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Kültür amacıyla özel *H.influenzae* besiyeri (VCA3 Biomerieux LPT 869795601 Referans 43611) kullanılmıştır. Referans suşu olarak ise *H.influenzae* ATCC 9007 kullanılmıştır. Ön tanı amacıyla öncelikle Koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz, oksidaz testleri kullanılmıştır. *H.influenzae* kapsüller polisakkaritlere dayanarak a, b, c, d, e ve f olmak üzere 6 serolojik grubuna ayrılır. Bunların değerlendirilmesinde antiserum kiti (Denka seiken) kullanıldı. Bizim çalışmamızda tiplendirilebilir suşların insidansı araştırıldı.

3.1 Klinik Örneklerden İzolasyon

Kliniklerden gelen örnekler *Haemophilusa* özgü besiyerine ekim yapıldıktan sonra, ekim yapılan besiyerleri 35-37°C' de 24-48 saat inkübe edildi. *Haemophilus'a* özgü besiyerin de 1-2 mm çapında yuvarlak, saydam, şebnem tanelerine benzeyen koloniler değerlendirilmeye alındı.

3.2. Gram Boyama

Boyama amacıyla lama damlatılan bir damla serum fizyolojik içinde haemiphulus test mediumundan alınan koloniler homojenize edildi. Havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek tespit edildi. Kristal viyole ile iki dakika boyandıktan sonra, üzerine lugol ilave edildi. İki dakika tekrar bekletildikten sonra yıkandı. 5-10 saniye alkolde dekolorizasyon olan sonra tekrar yıkandı ve otuz saniye sulu fuksinle muamele edilerek yıkandı ve havada kurutulan örnekleri immersiyon objektifi ile değerlendirildi.

3.3. Katalaz Testi

Genellikle aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmaların sahip olduğu katalaz enzimi, ortamdaki hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırır. Haemophilus test medium'da üreyen şüpheli kolonilerlamin üzerine damlatılan serum fizyolojik içinde hemolize edildi. Üzerine % 3'lük H₂O₂ damlatılarak katalaz enzimine sahip bakteriler, bundan O₂ açığa çıkartacağı için bunlar gözle değerlendirildi.

3.4.Oksidaz Testi

Sitokrom oksidaz enziminin varlığını arayan bir testtir. Bu enzim demir içeren bir hemoproteindir, nonfermentatif solunuma katılır. . İncelenen bakteride bu enzim bulunuyorsa ayıraç indofenol mavisi'ne oksitler ve mavi-mor renk açığa çıkar. Gordon-McLeod's oksidaz ayırıcı (Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride) veya ticari oksidaz ayıraçları kullanıldı. Biz *Haemophilus* düşündüğümüz koloninin üzerine oksidaz ayırıcı damlatıktan sonra mavi-mor renginoluşması pozitif olarak değerlendirildi.

3.5. Serotiplendirilme

Testleri gerçekleştirmeden önce bütün malzemeleri oda sıcaklığına getirdik. Bütün cam malzemeler ve pipetlerin temiz ve deterjan gibi artıklardan arınmış olmasını sağladık. *Haemophilus Influenzae* Antisera'yı hidrate etmek için, 1 ml steril saf su eklendi çalkalanarak tamamen homojenize edilmesi sağlandı. Ardından sırasıyla aşağıdaki prosedür takip edildi.

Temiz bir lam üzerine bir damla saline çözeltisi damlatıldı ve mikroorganizma homojenize edildi. Bunun üzerine öze ile çikolata agardan haemophilus kolonisi eklendi bir öze dolusu aktarıldı ve organizma emülsifiye edildi homojenize edildi. Lam bir dakika süreyle elde rotasyon hareketleriyle çevrildi ve ardından üzerine antiserum ilave edildi. Hangi serotiple aglütinasyon verdiyse o tip olarak kayda geçirildi. Bu işlemler esnasında birlikte pozitif ve negatif kontroller de test edildi.

3.6. Vitek 2 Otomatize Sistem

Gram pozitif ve negatif birçok bakterinin identifikasyon/duyarlılık sonuçlarının belirlenmesinde kullanılan otomatize bir sistemdir. Sistemde Gram pozitif ve negatif mikroorganizmaların identifikasyon ve duyarlılık kartları farklıdır. Vitek 2 Gram negatif identifikasyon kartı (GN) (Biomérieux) ile önemli Gram negatif bakterinin otomatize sistemele identifikasyonu amaçlanmıştır. GN kart ile identifikasyon, biyokimyasal metodlara ve yeni geliştirilmiş substratlara dayanmaktadır. Sistemde karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktivite ve direnci ölçen 64 biyokimyasal test mevcuttur. Bunların adları ve mg oranları, Arginine ARYLAMIDASE, 0,0324 mg, GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE, 0,0228 mg, L-LYSİNE- ARYLAMIDASE, 0,0228 mg, D-GALACTOSE, 0,3 mg, Leucine ARYLAMIDASE, 0,023 mg, ELLMAN 0,03 mg, Phenylalanine ARYLAMIDASE 0,026 mg, L-Proline ARYLAMIDASE 0,023 mg, L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE 0,018 mg, Tyrosine ARYLAMIDASE 0,0279 mg, Ala-Phe-Pro- ARYLAMIDASE, 0,038 mg, D-GLUCOSE 0,3 mg, GLYCOGENE 0,18 mg, D-MANNOSE 0,3 mg, D-MALTOSE 0,3 mg, SACCHAROSE/SUCROSE 0,3 mg, N-ACETYL-D-GLUCOSEAMİNE 0,3 mg, UREASE 0,15 mg, BETA-GALACTOPYRANOSIDASE Indoxyl 0,006 mg, ORNITHINE DECARBOXYLASE 0,15 mg, ALPHA-ARABINOSIDASE 0,0324 mg, PYRUVATE 0,15 mg, PHOSPHORYL CHOLINE 0,0366 mg, D-MALATE 0,15 mg, MALTOTRIOSE 0,3mg, L-GLUTAMİNE 0,15 mg, PHOSPHATASE 0,05 mg, D-Ribose 2 0,3 mg, Phenylphosphonate 0,024 mg, D-XYLOSE 0,3 mg. Lot numarası :245165810'dır. Referans numarası 21346'dır. İdentifikasyon sonuçları yaklaşık olarak 8 saat içinde verilmektedir.

3.7. Disk Difüzyon Yöntemi

Haemophilus antipiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla en sık kullanılan yöntem olan disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İnokulum yoğunluğu McFarland 0.5 standartına eş değer olacak şekilde hazırlandı. *H.influenzae* besiyerine eküvyon ile ekim yapıldıktan sonra diskler yerleştirildi ve 35°C’de 24-48 inkübe edildi. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibasyon alanı oluşur. Bu alanın çapı mm cinsinden ölçülerek CLSI standartlarına göre duyarlı, dirençli olacak şekilde duyarlılıkları belirlendi. Suşların ampisilin (AMP), ampisilin/sulbaktam (SAM), sefprozil (CPR), sefotaksim (CTX), meropenem (MEM), klaritromisin (CLR), trimetoprim/sulfametoksazol (T/S), siprofloksasin (CiP), tetrasiklin (TET)’, imipenem (IPM), sefaklor’a (CEC) duyarlılıkları “*Haemophilus* Test” besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine uygun olarak çalışıldı ve değerlendirildi. Yukardaki yöntem standartlar doğrultusunda değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez laboratuvarı Mikrobiyoloji birimine gönderilen üst solunum yolu örneklerinden üretilen 146 *H.influenzae* suşları çalışma kapsamına alındı. Bakterilerin izole edildiği 146 hastanın 87'si (%60) erkek 59'u (%40) kadındır (tablo 6). Suşların 133'ü (%91) balgam örneği, 13'ü (%9) broncho alveolar lavaj örneğidir (tablo 7).

Bu çalışmada kullanılan suşlar'ın antipiyotiklere duyarlılıkları sırasıyla verilmiştir. Ampisilin'e 117'si (%80) hassas, 29'u (%20) dirençlidir. Ampisilin/sulbaktam'a 130'u (%89) hassas, 16'sı (%11) dirençlidir. Sefrozil'e 128'i (%88) hassas, 18'i (%12) dirençlidir. Sefotaksim'e 134'ü (%92) hassas, 12'si (%8) dirençlidir. Meropenem'e 136'sı (%93) hassas, 10'u (%7) dirençlidir. Klaritromisin'e 132'ü (%90) hassas, 14'ü (%10) dirençlidir. Trimetoprim/sülfametaksazol 104'ü (%71) hassas, 42'si (%29) dirençli, siprofloksasin'e 134'ü (%92) hassas, 12'si (%8) dirençlidir. Tetrasiklin'e 132'si (%90) hassas, 14'ü (%10) dirençlidir. İmipenem'e 136'sı (%93) hassas, 10'u (%7) dirençlidir. Sefaklor'a 124'ü (%85) hassas, 22'si (%15) dirençlidir (Tablo 8).

Tek ilaca direnç oranları ampisilin'e 2 (%1,3) , ampisilin sulbaktam'a 3 (%2), klaritromisin'e 1 (0,7), trimetoprim/sülfametoksazol'a 18(%12), sefaklor'a 2(%1,3) (tablo 9). Tekli direnç gösteren suş sayısı 26 (%18), çoklu direnç gösteren suş sayısı 28 (%19), tüm antipiyotiklere hassas suş sayısı 92 (%63) dır (Tablo 10).

Serotiplendirme sonuçları suş'ların 130'u (%89) tip b, 6'sı (%4) tip a, 6'sı (%5) tip c, 4'ü (%3) tip f olduğu saptanmıştır (Tablo 11).

İstatiksel sonuçlar Ampisilin ve sefaklor'un direnç oranları birbirine benzemektedir. $P= 0,355$. Trimetoprim/sülfametoksazol kullanılan diğer antipiyotiklerin hepsinden daha yüksek direnç oranına sahiptir. Ampisilin ve sefaklor birbirinden sınırda farklılık gösterir. $P=0,077$. Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor arasında direnç oranları bakımından anlamlı bir farklılık vardır. $P=0,005$. Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor hariç diğer kullanılan antipiyotikler arasında direnç oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

gözlenmemiştir. $P=0,708$. Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor ve bunların dışında kullanılan diğer antipiyotikler arasında anlamlı derecede daha yüksek direnç oranları vermektedir $p < 0,050$ (tablo12). En yüksek direnç trimetoprim/sülfametoksazol da gözlenmiş. En düşük direnç imipenem ve meropenemde saptanmıştır. Tablo 6’da görüldüğü gibi *Haemophilus* izole ettiğimiz solunum yolu enfeksiyonlu hastaların % 60’ını erkek, %40’nı ise kadınlar oluşturur.

Tablo 6. Cinsiyet Oranları

Cinsiyet	Sayı	%
Erkek	87	60
Kadın	59	40

Tablo 7’de de görüldüğü solunum yolu enfeksiyonuna sahip olan hastalardan alınan materyallerden izole ettiğimiz *Haemophilus* izolatları en fazla balgamdan izole edilmiştir (%91). Bunu Bronş Lavaj (%9) örnekleri olarak izlemiştir.

Tablo 7. Kullanılan Örnekler

Örnekler	Sayı	%
Balgam	133	90
Bronş lavaj	13	9
Toplam	146	100

Tablo 8’de görüldüğü gibi *Haemophilus* izolatlarında en hassas antipiyotik % 93’lük oranla karbopenem (meropenem, imipenem) grubu antipiyotiklerde görülmüştür. Bunu %92 ile sefotaksim ve %90 ile klaritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklin izlemiştir

Tablo 8. *Haemophilus Influenzae*'nin Antipiyotik Duyarlılıkları

ANTİBİYOTİKLER	Hassas		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	117	80	29	20
Ampisilin/sulbaktam	130	89	16	11
Sefrozil	128	88	18	12
Sefotaksim	134	92	12	8
Meropenem	136	93	10	7
Klaritromisin	132	90	14	10
Trimetoprim/sülfametaksazol	104	71	42	29
Siprofloksasin	134	92	12	8
Tetrasiklin	132	90	14	10
İmipenem	136	93	10	7
Sefaklor	124	85	22	15

Tablo 9'da da görüldüğü gibi tek ilaca direnç en fazla trimetoprim/sülfametoksazol'de görülmüştür. Bunu üç olgu ile ampisin /sulbaktam ve iki olgu ile de ampisilin ve sefaklor izlemiştir.

Tablo 9. *Haemophilus influenzae* da Tek Antipiyotige Direnç Oranları

Antipiyotikler	Sayı	%
Ampisilin	2	1.3
Ampisilin/sulbaktam	3	2
Klaritromisin	1	0,7
Trimetoprim/sülfametoksazol	18	12
Sefaklor	2	1.3
TOPLAM	26	18

Tablo 10’da görüldüğü gibi tek ilaca direnç 26 (%18) olguda görülmüş. Birden fazla ilaca direnç ise 28 (%19) olguda tespit edilirken, 94 (%63) olgu da tüm antipiyotiklere hassasiyet hesaplanmıştır.

Tablo 10. Tekli Ve Çoklu Direnç Oranları

	n	%
Tekli Direnç Gösteren Suş Sayısı	26	%18
Çoklu Direnç Gösteren Suş Sayısı	28	%19
Tüm Antipiyotiklere Hassas Suş Sayısı	92	%63
Toplam	146	%100

Tablo11’de görüldüğü gibi izole edilen haemophilus suşlarının 130 (%89) ‘u tip b’ye aittir. Bunu 6 (%4)’ sı tip c, 6 (%4) ‘sı tip a ve 4 (%3)’ü tip f olarak serotiplendirilmiştir...

Tablo 11. *Haemophilus Influenzae’nin* Serotiplendirme

Serotiplendirme	Sayı	%
Tip b	130	%89
Tip a	6	%4
Tip c	6	%4
Tip f	4	%3

4.1. İstatistiksel İnceleme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak olarak özetlendi.

Duyarlılıkların karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı. Ampisilin ve sefaklor'un direnç oranları birbirine benzemektedir. $P=0,355$

Trimetoprim/sülfametoksazol kullanılan diğer antipiyotiklerin hepsinden daha yüksek direnç oranına sahiptir. Ampisilin ve sefaklor birbirinden sınırda farklılık gösterir. $P=0,077$

Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor arasında direnç oranları bakımından anlamlı bir farklılık vardır. $P=0,005$

Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor ve bunların dışında kullanılan diğer antipiyotikler arasında anlamlı derecede daha yüksek direnç oranları vermektedir. $P<0,050$

Trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin, sefaklor hariç diğer kullanılan antipiyotikler arasında direnç oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. $P=0,708$

5. TARTIŞMA

H.influenzae, menenjit, sepsis, çeşitli doku enfeksiyonları ve toplum kökenli pnömoniler de etken olarak izole edilen bir bakteridir. *H.influenzae* enfeksiyonların sıklığı ve antipiyotik duyarlılık özellikleri toplumlar arasında farklılık göstermektedir⁴¹

H. influenzae'nin neden olduğu en önemli hastalıklar çocuklar da pnömoni, menejit, bakteriyemi, yetişkinlerde ise toplumdan kazanılmış pnömoni, kronik bronşit, akut otitis media olarak sayılabilir.. *H.influenzae*'ya bağlı invaziv enfeksiyonların tedavisinde antipiyotik tedavisi önemlidir. Bu enfeksiyonlar da ampisilin ilk seçenektir. Ampisiline direnç ilk olarak 1970'li yıllarda bildirilmiştir⁴¹.

H. influenzae, doğal yaşam alanı insan üst solunum yolları olan ve damlacık yolu ya da solunum yolu sekresyonlarına direkt temas sonucu bulaşan bir patojendir. Özellikle, çocukların %40 ile %80'inde nazofarenkste tip b dışı suşlarla asemptomatik kolonizasyon olur. *Hib* ile kolonizasyon nadir görülür. Konjuge aşılarda kullanıma girmesinden önce *Hib* ABD'de çocukluk çağı menenjitinin en sık etkeniyken 1988 yılında aşının kullanıma girmesiyle görülme sıklığı % 95-99 oranında azalmış ve beş yaş altında 1/100 000'in altına inmiştir. Daha önce % 2-5 oranında bildirilen *Hib* ile nazofarengeal kolonizasyon oranı da belirgin olarak gerilemiştir. Konjuge *Hib* aşılı özellikle invaziv *Hib* enfeksiyonları'nın önlenmesinde etkili ve emniyetli aşılar^{42,43}.

İlk olarak ampisilin direnci 1970'li yıllarda tanımlanmış ve bu sorun o günden günümüze kadar artarak gelmiştir⁴¹. Ayrıca *H influenzae* suşlarındaki ampisilin direnci coğrafi bölgelere göre büyük farklılıklar göstermektedir⁷⁵. Avrupa'da Avrupa Araştırma Birliği' tarafından 1986'da *H.influenzae* türlerinin ampisiline direnci araştırılmış ve bu amaçla 9 ülkeye ait 1961 suş incelenmiştir⁴⁴; sonuçlarda ampisilin direncinin ülkelere göre fark gösterdiği ve bazı ülkelerde % 64'lere çıktığı görülmüştür. ampisiline direnci ülkemizde genel olarak düşük düzeydedir^{45, 46, 47}.

Ampisilin direncini Vahaboğlu ve ark. % 25⁴⁸, Kocabeyoğlu ve ark. ampisilin direncini % 23⁴⁹, Yıldız ve ark. % 33,8⁵⁰, Küçük karaaslan ve ark. %52,5⁵¹, Gün ve ark. %20, Çöplü ve ark. %36⁵² Öngüt ve ark. %46⁵⁴.. Gür ve ark. % 8.8⁵⁷. Uraz ve ark. % 27⁵⁸olarak bulmuşlardır. Durmaz ve ark. on suşun üçünü ampisiline dirençli

bildirmişlerdir⁵⁵ Olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamız da ampisilin direnci % 20 olarak bulunmuştur.

H.influenzae kinolon grubu antipiyotiklere duyarlıdır fakat son yıllarda bazı yurtdışı çalışmalarda nadir de olsa dirençli suşlar bildirilmektedir. Ülkemizde siprofloksasine %2.8⁴⁹, %3.1⁵⁹, %6⁶⁰, %21⁵¹, olarak bulunmuş bizim çalışmamızda siprofloksasine direnç % 8 olarak bulunmuştur.

Tetrasiklinin tedavideki seçimi sınırlı olmasına rağmen doksisiklin ülkemizdeki tedavi protokolünde yer almaktadır^{61,62}. Bildirilen direnç oranları genellikle % 2.7⁶³, %7⁶⁴ %4.5⁶⁵, %4.8⁶⁶ gibi oldukça düşüktür. Bizim çalışmamız da tetrasiklin direnci % 10 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda en yüksek oranda direnç (%29) SXT ye karşı belirlenmiştir. SENTRY'nin 1997-99 Yılları arasındaki surveyans çalışmasının sonuçlarına göre SXT direnç oranı A.B.D.'de %14,6, Latin Amerika'da %30,8, Avrupa'da ise %17,8 olarak bildirilmiştir⁷⁴ Uluslar arası çalışmalarda ampisilinden sonra direnç bulunan 2. antimikrobia SXT'dir. Ülkemizde de SXT direnci oldukça yüksektir. Mamal ve ark. SXT direncini % 18.7⁶⁷. Küçükarslan ve ark. %98⁵¹. Mamal ve ark. % 19⁶³. Şener ve ark. %15, Durmaz ve ark. %40⁵⁵, Gür ve ark. %23,5⁵⁷ Dündar ve ark. %22,9⁶⁹, Şener ve ark. %18⁴⁷ olarak SXT direnç oranlarını bulmuşlardır.

Altun ve ark. üst solunum yolu enfeksiyonu etkeni olan *H. influenzae* suşlarında sadece T/S ve TET direnci belirlenirken diğer antipiyotiklere direnç saptamamışlardır. Ampisiline direnç en yüksek oranda kan ve BOS gibi örneklerden diğer örnek izole edilen *H.influenzae*'da görülmüştür. Alt solunum yolu etkeni olarak izole edilen suşlardaki direnç oranlarının, diğer enfeksiyonların izole edilen patojen *H.influenzae* suşlarından daha düşük olduğu belirlenmiştir⁷⁰.

Göz enfeksiyonu ve yumuşak doku enfeksiyon etkeni olan izolatlar da direnç oranları birbirine yakın olduğunu bulmuşlardır⁷⁰.

Baysallar ve ark. üst solunum yolu enfeksiyonu düşünülen 0-6 yaş grubu çocuklardan izole edilen ve % 42.4'ü serotip b olan suşların da klaritromisinin direnç oranını % 50 olarak bildirmişlerdir⁷¹. Diğer çalışmalarda da klaritromisine %2.7 direnç saptanmıştır⁶³ Bizim çalışmamızda klaritromisine direnç % 10 olarak bulunmuştur.

H.influenzae 1.ve 2. kuşak sefalosporinlere yüksek oranda duyarlı^{63,64,66} bulunmasına rağmen, çeşitli çalışmalarda 2. kuşak sefalosporinlerden sefuroksime %

46.6⁵¹, kistik fibrozlu hastalarda sefaklor % 19⁵; 3. kuşak sefalosporinlerden sefotaksime % 3.1⁴⁹, % 6.4⁵⁶, % 10.2⁶⁰, % 19⁵³, % 24⁶⁰, % 40⁵⁵ seftriaksona % 3.1⁽⁵⁹⁾, % 4.8⁵⁶, % 8.5⁷², % 8⁴⁸, % 15⁶ % 22.9⁵¹ oranlarında direnç bildirilmiştir.

Ancak 3. kuşak sefalosporinlere *H.influenzae* suşlarında direncin başka çalışmalarda bildirilmemesi, bu sonuçları ihtiyatlı değerlendirmeyi gerektirmektedir. Bizim çalışmamızda sefaklor direnci %15, sefprozil direnci % 12 olarak bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada dirençli izolatlar arasında % 18.9 oranında çoğul direnç saptanmıştır. Çoğul direncin bir çok antipiyotiğe karşı direnç geninin ampisiline direnç geni ile aynı transpozonda bulunması, ampisiline dirençli izolatlarda artış olduğunda çoğul direncin de artacağını düşündürmektedir⁷⁶.

Haemophilus Influenzae Antiserum Type b performansı Himmelreich, Barenkamp ve Storch tarafından yürütülen bir çalışmada *Haemophilus influenzae* izolatlarının serotiplendirmesi için bir lam aglütinasyon testi diğer dört test ile karşılaştırılmıştır. İzolatların serotiplendirmesinde aynı zamanda başka bir ticari antiserum kullanılarak lam aglütinasyonu, ko-agülasyon, lateks aglütinasyon ve birden çok antiserum ile immünoelektroforez sayacı da kullanılmıştır. Bu çalışmada (80) referans suş kullanılmıştır. Bu izolatlardan 39'u, *Haemophilus influenzae* tip b'dir⁷⁷. Bizim çalışmamızda *Haemophilus Influenzae* suşlarının % 89 tip b olarak bulunmuştur.

Güneş Şenol ve ark. *Haemophilus Influenzae* için Gram boyama ve bakteriyolojik kültür yöntemleri ile çalışılmıştır. Antipiyogramlar NCCLS'e uygun olarak Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. *Haemophilus* türü bakterilerin 19'unun Hib olduğu saptanmıştır. Bütün *Haemophilus* izolatlarının %46'sının ampisiline dirençli, %48'inin eritromisine dirençli olduğu görülmüştür. En düşük direnç ampisilin-sulbaktam ve seftriaksonda izlenmiştir⁷⁸.

Tiplendirilmeyen *H.influenzae* taşıyıcılığın İtalyada Principi ve ark.⁷⁹ %11,9; Hong kong da lau ve ark. farklı çalışmalarda %5.8,%7.8 ve %65.4⁸⁰. Fransada Talon ve ark.%25,5⁸¹. Japonyada Vives ve ark. %27,9⁸². Gwynedd Howard ve ark. %30,5⁸³. Lerman ve ark.%34,2⁸⁴. Portekizde De Lencastre ve ark. ise %72 olarak saptanmış⁸⁵ Türkiyede Berkman İki farklı çalışmada %2.96⁸⁶ ve %21,3 olarak bulmuşlardır⁸⁷.

Yurt dışındaki yayınlarda *H.influenzae* üst solunum yollarında %80'e varan sıklıkta Hib'in de % 3-5 oranında saptandığı ancak kreş gibi yerlerde bu oranın % 60'a ulaştığı bildirilmiştir⁸⁸ *H.influenzae* suşlarının sefaklor, sefuroksim ve sefotaksim

duyarlılıklarında azalma görüldüğünü bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Wooten ve ark. sefuroksime ve sefotaksim duyarlılıklarını sırasıyla % 95 ve % 92 olarak bildirmişlerdir⁸⁹.

Ülkeler arasında trimetoprim-sulfametoksazol direnç prevalansı yönünden de değişiklikler olduğu saptanmıştır. Trimetoprim-sulfametoksazol direnç prevalansı en yüksek ülkenin Kenya da olduğu bildirilmiştir⁹⁰.

Uluslararası çalışmalarda ampisilinden sonra direnç oranı en yüksek bulunan antipiyotik trimetoprim- sulfametoksazoldür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda % 1-98 arasında değişen oranlarda direnç bildirilmiştir⁹⁰. Bizim çalışmamızda %29 direnç oranıyla trimetoprim- sulfametoksazol ilk sırayı almıştır

Sefalosporin direnci kromozomal olup PBP’de meydana gelen mutasyon sonucu ortaya çıkar ve sefaklor (sefuroksim) direnci ile belirlenir. *H.influenzae* 1.ve 2. kuşak sefalosporinlere yüksek oranda duyarlı olduğu tespit edilmiştir.⁹¹

H.influenzae’da çoğul antipiyotik direncinden sorumlu genler büyük konjugatif plazmidler ve transpozonlar üzerine kodlanmıştır. Şener ve ark. kloromfenikole dirençli 4 suşun aynı zamanda ampisilin ve tetrasikline dirençli olduğunu bildirmişlerdir⁹²

6. ÖNERİ VE SONUÇ

H.influenzae insanda ve birçok hayvan türünde normal solunum florasının bir kısmını oluşturur ve kronik solunum yolları enfeksiyonlarından menenjitte kadar birçok hastalığa sebep olabilir. Menenjit ile ilişkilendirilen *H.influenzae* izolatların'ın çoğu serotip b'ye aittir. Tiplendirilme bu açıdan çok önemlidir. Bizim yaptığımız çalışmada ise *H.influenzaesuşlarının* %89 tip b'ye aittir.

Türkiye genelinde tüm direnç oranları karşılaştırıldığında çok farklı sonuçların alındığı hatta bazı çalışmalarda beklenenden çok farklı bulguların elde edildiği görülmektedir. Bu farklılıklar bölge özelliklerine, hasta gruplarına, uygulanan yöntem ve çalışmayı yürüten uzmanın bu konudaki deneyimlerine bağlıdır. İncelenen suş sayılarının 50'den az olamaması çalışmayı etkileyen diğer bir faktördür.

İncelediğimiz antipiyotiklerin yıllara göre direnç oranlarındaki değişime baktığımızda direnç oranlarında yıllara göre farklılık gözlenmiş, buna karşın sabit bir artış veya azalma saptanmamıştır. Serolojik reaksiyonların doğru yorumlanması kültür saflığına, morfolojik özelliklere ve mikroorganizmanın *H.influenzae* olarak tanımlanmasını doğrulayan biyokimyasal reaksiyonlara bağlıdır.

Bizim yaptığımız çalışma en hassas antibiyotik %93'lük oranda karbapenem (meropenem, imipenem) grubu antibiyotiklerde görülmüştür. Bunu %92 ile sefotaksim ve %90 ile klaritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklin izlemiştir. En dirençli antibiyotikler ise % 29 ile trimetoprim/sülfametaksazol bunu sırasıyla %20 ile ampisilin ,%15 ile sefaklor %11 ile ampisilin sulbaktam izlemiştir.

. Antipiyotik direncinin özellikle ampisilin direncinin önemli sorun olduğu diğer çalışmalarda görülmüştür. Fakat Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesin *H. influenzae* suşlarında böyle bir sorunun olmadığı görülmektedir.

H. influenzae çocuklarda görülen invazif enfeksiyonlardan sorumlu olduğundan serotip tayini önemlidir. Biyotip tayini coğrafik dağılım, izolasyon kaynağı ve antipiyotiklere direnç ile ilgileri nedeniyle epidemiyolojik bakımdan önemlidir. Ülkemizde bu konuda yeterli araştırma bulunmamaktadır.

Sonuç olarak ülkemizde ampisilin direncinin düşük, SXT hariç denenen diğeri antipiyotiklere duyarlılığın yüksek olması tedavi açısından olumludur. Güvenilir sonuçların elde edilebilmesi ancak standart yöntemlerin uygulanmasına ve çok merkezli çalışmaların yapılmasına bağlıdır.

KAYNAKLAR

1. **Qin L, Watanabe H, Asoh N** et al: Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Haemophilus influenzae* isolated from patients with respiratory tract infections between 1987 and 2000, including beta-lactamase-negative ampicillin-resistant strains, *Epidemiol Infect* **2006**;134(4):665-8.
2. **Güneş Ş, F.Nur Eriş**: Akciğer enfeksiyonların da *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* suşların izolasyon oranları ve antipiyotiklere direnci *Toraks. Derg.* **2000** ;1:46-49.
3. **Berkiten R**: Türkiye’de *Haemiphulus influenzae*: Beta laktamaz pozitifliği ve Antipiyotiklere direnç, *Ankem Derg.* **2004**;18(1):53-60.
4. **Heilmann KP, Rice CL, Miller AL** et al: Decreasing prevalence of beta-lactamase production among respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae* in the United States, *Antimicrob Agents Chemother* **2005**;49(6):2561-4.
5. **Karlowsky JA, Critchley IA, Blosser-Middleton RS** et al: Antimicrobial surveillance of *Haemophilus influenzae* in the United States during 2000–2001 leads to detection of clonal dissemination of a beta-lactamase-negative and ampicillin-resistant strain, *J Clin Microbiol* **2002**;40(3):1063-6.
6. **Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC**. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin Microbiol Rev* **2007**; 20:368-89.
7. **Gür D, fiener B, Sümerkan B, Koç N, Ünal S**: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae*’ye karşı çeşitli antipiyotiklerinin-vitro etkinliği, *Ankem. Derg* **1995**;9(2):115.
8. **Jansen WTM, Verel A, Beitsma M, Verhoef J, Milatovic D**: Longitudinal European surveillance study of antipiotic resistance of *Haemophilus influenzae*, *J Antimicrob Chemother* **2006**;58(4):873.
9. **Torun M.M, Topçu Willke A., Söyletir G,Doğanay M**, *Haemophilus influenzae* Türleri, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Kitabevi. İstanbul **2008**.
10. **Olsen, L,F.E.Dewhirst, B.J.Paster ve H.-J.Busse.**2005 Family Pasteurellaceae Pohl 1981,382; p.851-856.In D.J.Brenner, N.R.Krieg,J.T.Staley, and G.M. Garrity(ed.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed.,VOL.2 The Proteobacteria, Springer-Verlag,New York, NY.
11. **Kilian,M.** 2005. *Haemophilus* Winslow, Broadhurst,Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1917,561,P.883-904. In D.J.Brenner, N.R.Krieg, J.T.Staley, and G.M. Garrity (ed.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed.,VOL.2 The Proteobacteria, Springer-Verlag,New York, NY
12. **Norskov-Lauritsen,N., B. Bruun ve M. Kilian.** 2005. Multilocus sequence phylogenetic study of genus *Haemophilus* with description of *Haemophilus pittmaniae* sp. Nov.int.J.Syst.Evol. Microbiol.55:449-456.
13. **Kilian,M.**1976.A taxonomic study of the genus *Haemophilus* with the proposal of a species.*J.Gen.Microbiol.*93:9-62.

14. **Grenner,D,J.,L.W.Mayer,G.M.Carlone,L.H.Harrison,W.F.Bibb,M.C.C.Brandileone,F.O.S ottnek,K.IrinoM.W.Reeves,J.M.Swenson,K.A.Birkness,R.S.Weyant,S.F.Berkley,T.C.Wood s,A.G.Steigerwalt,P.A.D.Grimont,R.M.McKINNEY,d.w.Fleming, L.L.Gheesling, R.C. Cooksey, R.J.Akko, C.V Broome** The Brazilian Purpuric Fever Study Group.1988.Biochemical, genetic, and epidemiologic characterization of *Haemophilus influenzae* biogroup aegyptius strains associated with Brazilian purpuric fever. J.Clin. Microbiol. 26:1524-1534.
15. **Kilian, M. Poulsen ve H.Lomholt.2002.** Evolotion of the paralogous hap and iga genes in *Haemophilus influenzae*: evidence for a conseved hap pseudogene associated with microcolony formation in the recently diverged *Haemophilus aegyptius* and *H.influenzae* biogroup aegyptius. Mol. Microbiol.46:1367-1380
16. **Potts, T.V.J.J.Zambon ve R.J.Genco.1985.** reassignment of *Actinobacillus actinomyctemcomitans* to the genus *Haemophilus* as *Haemophilus actinomyctemcomitans* comb. Nov.int.J.Syst. Bacteriol.35:337-341.
17. **Faden,H.L.Duffy,A.Williams,D.A.Krystofik ve J.wolf.1995.** Epidemiology of nasopharyngeal colonization with nontypeable *Haemophilus influenzae* in the first 2 years of life J.infect. Dis.172:132-135.
18. **Raymond ,J.,L.Armand-Lefevre, F.Moulin, H.Dabemat, A.Commeau, D.Gendrel ve P. Berche.2001.** Nasopharyngeal colonization by *Haemophilus influenzae* in children living in an orphanage. Pediatr. infect.Dis.J.20:779-784.
19. **Smith-Vaughan, H.C.,A.J.Leach, T.M.Shelby-James, K.Kemp ve J.D.Mathews.1996.**Carriage of multiple ribo types of non-encapsulated *Haemophilus influenzae* in aboriginal infants with otitis media. Epidemiol Infect. 116:177-183.
20. **Murphy, T.E,A.L.Brauer, A.T.Schinmacher ve S.Sethi.2004.**Persistent colonization by *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. Am.J.Respir.Grit. Care Med.170:266-272.
21. **Takala A.K. ,J.Eskola, M.Leinonen, H.Kayhty, A.Nissinen, E.Pekkanen ve P.H.Makela.1991.**Reduction of oropharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* tybe b children immunized with an Hib conjugate vaccine J.Infect.Dis.164:982-986
22. **Barbour, M.L.1996.** Conjugate vaccines and the carriage of *Haemiphulus influenzae* type b. Emerg. Infect. Dis.2:176-182.
23. **Peltola, H.2000.** Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of disease burden 25 years after the use of the polysaccahirde vaccine and a decade after the advent of conjugates. Clin. Microbiol. Rev.13:302-317
24. **Hawkes, S.,B.West,S.Wilson,H.whittle ve D.mabey.1995.** Asymptomatic carriage of *Haemophilus ducreyi* confirmed by the polymerase chain reaction. Genuorin Med.71:224-227..
25. **Willson.W.R.,Sande .M.A.,Joseph W.St.Gemme III,MD 2004.** *Haemophilus*, *Bordatella* ve *Branhamella* Türleri. Current Lange 56: 587-602
26. **Adams,W.G.K.A.Deaver,S.L.Cochi, B.D Plikaytis, E.R.Zeil,C.V.Broome ve J.D.Wenger.1996.** Decline in childhood *Haemophilus influenzae* type b disease in vaccine era.JAMA 269:221-226.
27. **Morb. M., M. Wkly Centers for Disease Control and Prevention. 1999.** Impact of vaccines universally recommended for children – United States, 1900-1998...Rep.48:243-248
28. **Garner, D. ve V. Weston.2003.** Efectivenness of vaccination for *Haemophilus influenzae* tybe b. Lancet 361:395-396

29. **Parley, M.M.D.S. Stephens, P.S. Brachman Jr., R.C. Harvey, J.D. Smith, J.D. Wenger ve The CDC Meningitis Surveillance Group. 1992.** Invasive *Haemophilus influenzae* disease adults. A prospective, population- based surveillance Ann. Intern. Med. 116:806-812.
30. **Urwin, G.J.A. Krohn, K. Deaver –Robinson, J.D. Wenger, M.M Farley ve the Haemophilus influenzae Study Group. 1996.** Invasive disease due to *Haemophilus influenzae* serotype f: clinical and epidemiological characteristic in the *H. influenzae* serotype b vaccine era. Clin. Infect. Dis. 22:1077-1078.
31. **Turk, D.C. 1984.** The pathogenicity of *Haemophilus influenzae*. J. Med. Microbiol. 18:1-16
32. **Millar, E.V., K.L. O'Brien, J.P. Watt, J. Lingappa, R. Pallipamu, N. Rosenstein, D., R. Reid ve M. Sanstosham. 2005.** Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* type a disease among Navajo and White Mountain Apache children, 188-2003. Clin. infect. Dis. 40:823-830.
33. **Murphy, T.F. 2003.** Respiratory infections caused by nontypeable *Haemophilus influenzae* Curr. Opin. infect. Dis. 16:129-134.
34. **Nascimento – Carvalho, C.M. 2001.** Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. Braz. J. Infect. Dis. 5:87-97.
35. **Falla, T.J., S.R. Dobson, D.W. Crook, W.A. Kraak, W.W. Nichols, E.C. Anderson, J.Z. Jordens, M.P. Slack, D. Mayon-White ve E.R. Moxon. 1993.** population-based study of nontypeable *Haemophilus influenzae* invasive disease in children and neonates. Lancet 341:851-854.
36. **Long, S.S., E.M. Henretig, M.J. Teter ve K.L. McGowan. 1983.** Nasopharyngeal flora and acute otitis media. Infect. Immun. 41:987-991.
37. **Murray, P.R. Baron, Jorgensen, E.H.E. Landry, M.L., Pealler, M.E. Killian, M. 2001.** *Haemophilus* Manual of Clinical Microbiology. 41:636-648.
38. **Shanholtezer, C.J., P.J. Schaper ve L.R. Peterson. 1982.** Concentrated Gram-Stained smears prepared with a cytospin centrifuge. J. Clin. microbiol. 16:1052-1056.
39. **Rennie, R., T. Gordon, Y. Yachuk, P. Tomlin, P. Kibsey ve W. Albritton. 1992.** Laboratory and clinical evaluations of media for the primary isolation of *Haemophilus species*. J. Clin. microbiol. 30:1917-1921.
40. **Barry, A.L., P.C. Fuchs ve M. A. Pfaller. 1993.** Susceptibilities of beta-lactamase-producing and nonproducing ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* to ceftipen, cefaclor, cefuroxime, cefixime, and amoxicillin-clavulmic acid. Antimicrob. Agents Chemother. 37:14-18.
41. **Cerquetti M, Cardines R, Giufre M, Mastrantonio P, on behalf of the Hi Study Group.** Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains isolated from invasive disease in Italy. J Antimicrob Chemother 2004; 54:1139-43.
42. **Singleton R, Hammitt L, Hennessy T et al.** The Alaska *Haemophilus influenzae* Type b Experience: Lessons in Controlling a Vaccine- Preventable Disease. Pediatrics **2006**; 118: 421-9.
43. **Shapiro ED.** Case-control studies of the effectiveness of vaccines: validity and assessment of potential bias. Pediatr Infect Dis J 2004; 23: 127-31.
44. **Machk K, Braveny I, Dabernat H et al:** Distribution and resistance patterns of *Haemophilus influenzae*: A European cooperative study, Eur J Clin Microbiol Infect Dis **1988**; 7:14.

45. **Kansak N, Öksüz L, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K:** *Haemophilus influenzae Moraxella catarrhalis, Streptococcus pneumoniae* suşlarında antipiyotik direnci, *Ankem Derg* **1998**;12:1.
46. **Perente S, Eskitürk A, Söyletir G:** Alt solunum yolu infeksiyonlarında *H.influenzae'nin* yeri, 5.Ulusal infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı s.109, İstanbul (**1995**).
47. **Şener B, Gür D, Sümerkan B :** *Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes'in* çeşitli antipiyotiklere karşı in-vitro duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bülteni* **1996**;30:129.
48. **Vahaboğlu MH, Mülazımoğlu L, Yıldırım, Avkan V, Taşer B:** Nasopharyngeal carriage rate and antimicrobial resistance of *Haemophilus influenzae* in İstanbul-Türkiye, *Marmara Med J* **1994**;7:78.
49. **Kocabeyoğlu Ö, Birinci i, Koşan E:** *Haemophilus influenzae* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve çeşitli antipiyotiklere duyarlılık, *Ankem Derg.* **1996**;10:119.
50. **Yıldız D, Bayraktar B, Özcan N, Öcalmaz M, Seber E:** Kreşe devam eden çocukların boğaz florasında *Haemophilus influenzae* kolonizasyon sıklığı ve direnç oranları, *Ankem Derg* **2003**;17:97.
51. **Küçükaraaslan A, Kocabeyoğlu Ö, Emekdaş G:** Klinik örneklerden *Haemophilus* cinsi bakterilerin izolasyon sıklığı ve antipiyotik duyarlılıklarının araştırılması, *infeksiyon Derg* **1991**;5:181.
52. **Gün H, Hacibektaşoğlu A, Emekdaş G, Baysallar H:** *H.influenzae'da* beta-laktamaz aktivitesi ve ampicilin direnci, 4. Ulusal Klinik Kongresi, Özet kitabı s.78, Diyarbakır (**1990**)
53. **Çöplü N, Aktepe OC, Uluutku S:** *Haemophilus influenzae* suşlarının in-vitro antipiyotiklere duyarlılıkları, *Ankem Derg* **1999**;13:87.
54. **Öngüt G, Gültekin M, Ögünç D, Çolak D, Şekercioğlu AO, Mutlu G:** *Haemophilus* cinsi bakterilerin çeşitli antipiyotiklere in-vitro duyarlılıkları ve beta-laktamaz aktiviteleri, *ANKEMDerg* **1998**;12:118
55. **Durmaz G, Koçoğlu T, Akgün Y:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Haemophilus influenzae* suşları ve antipiyotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bülteni* **1991**;25:305.
56. **Yıldız D, Bayraktar B, Özcan N, Öcalmaz M, Seber E:** Kreşe devam eden çocukların boğaz florasında *Haemophilus influenzae* kolonizasyon sıklığı ve direnç oranları, *ANKEM Derg* **2003**;17:97.
57. **Gür D, Özalp M, Sümerkan B et al:** Prevalence of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes:* results of a multicentre study in Turkey, *Int J Antimicrob Agents* **2002**;19:207
58. **Uraz G, Şimşek H, Çelik B:** Beta-lactamase activities and resistance to antipiotics in *Haemophilus influenzae, H.parainfluenzae* and *H.aphrophilus* strains identified in throat cultures from children, *Drug Metabol Drug Interact* **2000**;16:217.
59. **Aktepe OC, Özçelik U, Çöplü N, Uluutku S, Kiper N, Göçmen A:** Kistik fibrosis olgularında *Haemophilus influenzae:* Bir alt solunum yolu infeksiyonu etkeni, *Flora* **2000**;5:44.
60. **Kocabeyoğlu Ö, Birinci i, Koşan E, Fidan A, Diler M:** *Haemophilus* cinsi bakterilerin sefalosporin ve kinolon grubu bazı antipiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması, *Ankem Dergi* **1995**;9:115.

61. **Arseven O, Özlü T, Aydın G** : Toraks Derneğinin erişkinlerde toplum kökenli pnömöni tanısı ve tedavi rehberi, Toraks Derg **2002**;3(Ek 3):1.
62. **Wayne**, National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 12. Informational Supplement, M100-S12, (2002).
63. **Mamal-Torun M, Alkan E, Altınkum SM, Aksın E, Kulaksız B, Yüksel P**: *Haemophilus influenzae*'de antimikrobiklere direnç sıklığı, Türk Mikrobiyol Cem Dergi **1998**;28:49.
64. **Eşel D, Karaca N, Sümerkan B**: Klinik örneklerden izole edilen *Haemophilus* kökenlerinde antipiyotiklere duyarlılık, ANKEM Dergi **2000**;14:555.
65. **Güvenç Z, Erkan F, Aydın MD, Balkanlı O** : Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olgularından izole edilen *Haemophilus influenzae* suşları, Türk Mikrobiyol Cem Derg **1994**;24:161.
66. **Mamal-Torun M, Alkan E, Karataş A, Bahar H, Altınkum SM**: *Haemophilus influenzae*'de antimikrobik maddelere direnç frekansı, 2.H.influenzae infeksiyonları Simpozyumu, Simpozyum kitabı s.80, Türk Mikrobiyoloji Cem Yayını No.38, İstanbul (2001)
67. **Mamal-Torun M, Özgenç R, Aşıröz S**: *Haemophilus influenzae*'nin antipiyotiklere duyarlılığı, H.influenzae infeksiyonları Simpozyumu, Simpozyum kitabı s.140, Türk Mikrobiyol Cem Yayını No.24, İstanbul (1995).
68. **Şener B, Haşcelik G, Günel A**: Alt solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen *Haemophilus influenzae* suşlarının antimikrobik maddelere in vitro duyarlılıkları ve beta-laktamaz aktiviteleri, infeksiyon Dergi **1998**;12:55.
69. **Dündar G**: *Haemophilus* kökenlerinin antimikrobik maddelere duyarlılıkları ve beta-laktamaz aktiviteleri, 9.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve infeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı s.206, Antalya (1999).
70. **Altun B, Gür D.**, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi'nde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Haemophilus Influenzae* Suşlarının Antipiyotiklere Direnç Durumu (2002-2007). Çocuk Enf Derg **2008**; 2: 50-4
71. **Baysallar M, Küçük karaaslan A, Özyurt M**: *Haemophilus influenzae*'de in vitro makrolit direncinin araştırılması ve yorumlama kriterlerinin değerlendirilmesi, infeksiyon Derg **2002**;16:43
72. **Kocabeyoğlu Ö, Birinci İ, Koşan E**: *Haemophilus influenzae* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve çeşitli antipiyotiklere duyarlılık, Ankem Derg **1996**;10:119
73. **Saydam C, Tünger A, Özinel MA, Tokbaş A**: *Haemophilus influenzae* kökenlerinin serotipleri, beta-laktamaz salgılama özellikleri ve a Ankem Derg **2000**
74. **Hoban DJ, Doern GV, Fluit AC, Roussel-Delvallez M, Jones RN**. Worldwide prevalence of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. CID **2001**; 32(Suppl 2): 81-93.
75. **Karlowsky JA, Draghi DC, Thornsberry C, Jones ME, Critchley IA, Sahm DF**. Antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated in two successive respiratory seasons in the US. Int J Antimicrob Agents **2002**; 20: 76-85
76. **Levy J, Verhaegen G, de Mol P, Couturier M** et al. Molecular characterization of resistance plasmids in epidemiologically unrelated strains of multiresistant *Haemophilus Influenzae*. J Infect Dis **1993**; 168: 177.

77. **Himmelreich, C.A., S.J. Barenkamp and G.A. Storch. 1985.** Comparison of methods for serotyping of *Haemophilus influenzae*. *J. Clin. Microbiol.* 21: 158-160
78. **Güneş Şenol, F. Nur Eriş** Akciğer Enfeksiyonlarında *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* Suşlarının izolasyon Oranları ve Antipiyotiklere Direnci *Toraks Dergisi*, **2000**;1:46-49
79. **Principi N, Marchisio P, Schito GC, Mannelli S.** Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children. *Ascanius Project Collaborative Group. Pediatr Infect Dis J* **1999**; 18: 517-23.
80. **Lau YL, Yung R, Low L, Sung R, Leung CW, Lee WH.** *Haemophilus influenzae* type b infections in Hong Kong. *Pediatr Infect Dis J* **1998**; 17(Suppl 9): S165-9.
81. **Talon D, Leroy J, Dupon MJ, et al.** Antipiotic susceptibility and genotypic characterization of *Haemophilus influenzae* strains isolated from nasopharyngeal specimens from children in day-care centers in eastern France. *Clin Microbiol Infect* **2000**; 6: 519-24.
82. **Vives M, Garcia ME, Saenz P, et al.** Nasopharyngeal colonization in Costa Rican children during the first year of life. *Pediatr Infect Dis J* **1997**;16: 852-8.
83. **Oward AJ, Dunkin KT, Millar GW.** Nasopharyngeal carriage and antipiotic resistance of *Haemophilus influenzae* in healthy children. *Epidemiol Infect* **1988**; 100: 193-203.
84. **Lerman SJ, Kucera JC, Brunken JM.** Nasopharyngeal carriage of antipiotic-resistant *Haemophilus influenzae* in healthy children. *Pediatrics* **1979**; 64: 287-9
85. **De Lencastre H, Kristinsson KG, Brito-Avo A, et al.** Carriage of respiratory tract pathogens and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* colonization in healthy children attending day care centers in Lisbon, Portugal. *Microb Drug Resist* **1999**; 5: 19-29.
86. **Berkman E.** Bogaz kültürlerinde *Haemophilus influenzae* insidansının araştırılması. *Mikrobiyol Bül* **1986**; 20: 76-83
87. **Berkman E.** Çocuklarda akut otit mediada nazofarengeal kiterleri konusunda bir araştırma. *Mikrobiyol Bult* **1976**; 10: 135-47.
88. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC.** *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 1992:279-301
89. **Wooten M, Bowker KE, Janowska A, Holt HA, MacGowan AP:** In-vitro activity of HMR 3647 against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and beta-haemolytic streptococci, *J Antimicrob Chemother* **1999**;44(4):445-53.
90. **Jacobs MR, Felmingham D, Appelbaum PC, Grüneberg RN, Alexander Project Group:** The Alexander Project **1998–2000**: susceptibility of pathogens isolated from community-acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents, *J Antimicrob Chemother* **2003**;52(2):229-46.
91. **Eşel D, Karaca N, Sümerkan B:** Klinik örneklerden izole edilen *Haemophilus* kökenlerinde antipiyotiklere duyarlılık, *ANKEM Derg* **2000**;14:555.
92. **Şener B, Haşcelik G, Günalp A:** Alt solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen *Haemophilus influenzae* suşlarının antimikrobik maddelere in vitro duyarlılıkları ve beta-laktamaz aktiviteleri, *enfeksiyon Derg* **1998**;12:55.

ÖZGEÇMİŞ

Ebru ÖKSÜN 14 Ekim 1978 Erzurum’da doğdu. 1985 yılında Adana Semiha Yücel Akdeğirmen İlkokuluna başladı. 1990’da Adana Ziyapaşa orta okuluna devam etti. 1993 yılında Adana Paksoy lisesine başladı. 2002 yılında Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü bitirdi. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisansa başladı. 2007 yılında aynı bölümde doktora eğitimine devam etti. Evli bir çocuk annesi.