

T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

BEYİN OMURİLİK SIVISI VE ORTA KULAK
EFÜZYONU ÖRNEKLERİNDEN HAEMOPHİLUS
İNFLUENZA'NIN SAPTANMASINDA
KÜLTÜR VE PZR'NİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Öznur DAĞCI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Candan ÖZTÜRK

MERSİN-2009

**T.C
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI**

**BEYİN OMURİLİK SIVISI VE ORTA KULAK
EFÜZYONU ÖRNEKLERİNDEN HAEMOPHİLUS
İNFLUENZA'NIN SAPTANMASINDA
KÜLTÜR VE PZR'NİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Öznur DAĞCI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Candan ÖZTÜRK

Bu tez BAP-TF TTB (ÖD) 2007–1 TU kodlu proje olarak Mersin
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.

MERSİN–2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a ve başta tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Candan ÖZTÜRK olmak üzere değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Gönül ASLAN, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU ve Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ'a eğitim ve öğretimime katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar ortamında sonsuz destek ve katkılarını gördüğüm tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Öznur DAĞCI

İÇİNDEKİLER

ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ VE AMAÇ	7
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. <i>Haemophilus</i>	9
2.2. <i>Haemophilus influenzae</i> (<i>H. influenzae</i>)	10
2.2.1. Tarihçe	10
2.2.2. Epidemiyoloji	10
2.2.2.1. Risk Faktörleri	12
2.3. Mikrobiyolojik Özellikler	14
2.4. Antijenik Yapı	16
2.5. Patogenez ve Virulans	17
2.6. Klinik	19
2.6.1. <i>H. influenzae</i> Tip B	19
2.6.2. <i>H. parainfluenzae</i>	20
2.6.3. <i>H. arophilus</i>	20
2.6.4. <i>H. paraaprophilus</i>	20
2.6.5. <i>H. aegyptius</i>	20
2.6.6. <i>H. haemolyticus</i> ve <i>H. parahaemolyticus</i>	20
2.6.7. <i>H. haemoglobinophilus</i>	21
2.6.8. <i>H. paraphrohaemolyticus</i>	21
2.6.9. <i>H. pleuropneumonia</i>	21
2.6.10. <i>H. segnis</i>	21
2.6.11. <i>H. ducreyi</i>	21
2.7. Tedavi	21
2.8. Korunma	24
2.8.1. Doğal İmmünite	25
2.8.2. Aktif İmmünizasyon	25
2.9. Menenjit	26
2.9.1. Etiyoloji	27
2.9.2. Epidemiyoloji	29

2.9.3. Patogenez	31
2.9.4. Klinik	32
2.9.5. Tanı	34
2.9.6. Tedavi	37
2.10. Efüzyonlu Otitis Media (EOM)	38
2.10.1. Etiyoloji	38
2.10.2. Epidemiyoloji	39
2.10.3. Patogenez	40
2.10.4. Klinik	41
2.10.5. Tanı	42
2.10.6. Tedavi	43
2.10.7. Korunma	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Gereçler	44
3.1.1. Çalışma Grubu ve Örnekler	44
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler	44
3.2. Örneklerin Kültürü ve identifikasyonu	46
3.2.1. BOS Kültürü	46
3.2.2. Orta Kulak Efüzyonu Kültürü	46
3.2.3. İdentifikasyon	46
3.2.4. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Besiyerleri ve Boyalar	47
3.2.4.1. Kanlı agar	47
3.2.4.2. Thayer Martin agar	47
3.2.4.3. Gram Boyama	48
3.2.5. DNA İzolasyonu	49
3.2.5.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar	50
3.2.5.2. Elektroforetik Analiz Solusyonları	50
3.2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniği (PZR)	51
3.2.7. Elektroforez	52
4. BULGULAR	53
4.1. Kültür ve PZR Sonuçları	55
5. TARTIŞMA	59
6. Sonuç ve Öneriler	63

7. KAYNAKLAR	64
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	77
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	78
TABLolar DİZİNİ	79

ÖZET

BEYİN OMURİLİK SIVISI VE ORTA KULAK EFÜZYONU ÖRNEKLERİNDEN HAEMOPHILUS INFLUENZA'NIN SAPTANMASINDA KÜLTÜR VE PZR'NİN KARŞILAŞTIRILMASI

Effüzyonlu otit (EOM) çocukluk çağının en sık hastalıklarından biridir. Orta kulak efüzyonlarında en sık karşılaşılan bakteriyel ajanlar olarak *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), ve *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* türleri tespit edilmiştir. Menenjit, beyni çevreleyen meningeal zarların ve spinal kordun enflamasyonu olup ciddi mortalite ve morbiditeye neden olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Günümüzde menenjit vakalarının büyük bir kısmından *H. influenzae*, *S. pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) sorumlu tutulmaktadır.

Çalışmamızda bakteriyel DNA'yı saptamak ve klasik kültür yöntemini altın standart kabul ederek PZR tekniğinin tanısal değerini belirlemek amacıyla 117 beyin omurilik sıvısı (BOS) ve 36 orta kulak efüzyonu örneğine kültür ve PZR yöntemleri uygulandı. BOS örneklerinin 117'sinin 3'ü (% 2.5) hem kültür hem PZR sonucu pozitif bulunurken örneklerden 1'i (% 2.8) kültürde negatifken PZR'de pozitif olarak saptandı. 36 orta kulak efüzyonu örneğinin hiçbirinde üreme olmadı. Ancak örneklerden 1'i PZR'de pozitif (*H. influenzae*) olarak saptandı.

Yaptığımız çalışma sonucunda BOS örneklerinin kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında PZR'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.12, Pozitif Kestirim Değeri % 75 ve Negatif Kestirim Değeri % 100 olarak hesaplandı. Orta kulak efüzyonu örneklerinde PZR'nin özgüllüğü % 97.22 olarak saptandı. Kültürde üremeyen veya zor üreyen menenjit ve EOM etkenlerinin saptanmasında, PZR yönteminin kültürü destekleyici bulgular sunduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar sözcükler: BOS, EOM, Kültür, Menenjit, PZR Tekniği.

ABSTRACT

COMPARISON OF CULTURE AND PCR TECHNIQUES IN DETECTION OF *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* IN CEREBROSPINAL FLUIDS AND MIDDLE EAR EFFUSIONS

Otitis media with effusion (EOM) is one of the major diseases of childhood. It is detected that *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), ve *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* are the common bacterial pathogens in EOM. Meningitis is inflammation of the meninges, the lining surrounding the brain and the spinal cord. It is an infection disease causing serious mortality and morbidity. *H. influenzae*, *S. pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) are common pathogens of meningitidis cases.

In our study, 117 (% 2.5) Cerebrospinal fluid (CSF) and 36 (% 2.8) EOM samples were studied by PCR and conventional culture methods to detect the significant diagnostic value of PCR technique compared to conventional culture method as a gold standard. Three of CSF samples were detected positive both conventional culture methods and PCR technique but only one sample was found negative by conventional culture methods contrary to positive by PCR. None of the EOM samples were culture positive. But only one sample found positive (*H. influenzae*) by PCR.

As a result of our study, it was estimated that sensitivitiy and specificity of PCR were % 100 and % 99.12, positive predictive value % 75, negative predictive value % 100 in CSF samples. The specificity of PCR was found % 97.22 in EOM samples. PCR technique could bring supportive findings in the detection of bacterial meningitidis and EOM factors that are growing fastidious bacterias in culture.

Key Words: CSF, Culture, EOM, Meningitidis, PCR technique.

GİRİŞ VE AMAÇ

Efüzyonlu otitis media (EOM) çocukluk çağıının en sık hastalıklarından biridir (1). EOM sıklıkla viral üst solunum yollarıyla yakın ilgisi olan akut otitis media'yi (AOM) takip eder ve çocukluk çağıının en sık işitme kaybı nedenlerinden biridir (2). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 2.2 milyon EOM atağının teşhis edildiği ve bunun yıllık 4 milyar Amerikan Doları harcamaya neden olduğu bildirilmiştir (3).

Ülkemizde bu hastalığa sıkça rastlanmaktadır (4,5,6). Yapılan çalışmalarda EOM prevalansının % 5 ile % 18 arasında olduğu saptanmıştır (7,8,9). EOM çok sık rastlanan bir hastalık olmasına rağmen etiyopatogenezi halen tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (10,11,12). Daha önceki yıllarda EOM'nin tamamen inflamatuvar bir süreç olduğu ve efüzyonun steril olduğu düşünülmüştür (13). Fakat 1958'de Senturia ve arkadaşlarının efüzyondan yaptıkları kültürlerde bakteri tespit etmesiyle EOM'nin enfeksiyöz etiyoloji sonucu oluştuğu belirlenmiştir (14). Ancak orta kulak efüzyonlarının kültür pozitifliği % 20-40 arasında tespit edilmiştir (15). Günümüzde EOM tedavisinde tam bir görüş birliği sağlanamamıştır. Hastalığın tedavisi medikal veya cerrahi olabilmekte ancak tedavide her ikisi birlikte de uygulanmaktadır.

Hastalığın takibi komplikasyonların önlenmesi açısından da gerekli olduğu için mikrobiyolojik tanı önemlidir. Böylece etkene yönelik tedavi ile direnç gelişimi gibi sorunların en aza indirgenmesi ve komplikasyonların önüne geçilmesi amaçlanmaktadır. Tanıda klasik yöntemlerden olan kültür ve orta kulak efüzyonlarında bakteriyel DNA tespit etmeye yönelik moleküler tabanlı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerle bakteri DNA'sını pozitif elde etme oranının % 80 (% 50- % 77.23) kadar çıktığı bildirilmiştir (16,17). Günümüzde kültür ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) sonuçlarına göre orta kulak efüzyonlarında en sık karşılaşılan bakteriyel ajanlar olarak *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), ve *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* türleri tespit edilmiştir (18).

Menenjit, beyni çevreleyen meningeal zarların ve spinal kordun enflamasyonu olup ciddi mortalite ve morbiditeye neden olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Bakteri, virus ve mantarlar gibi pek çok mikroorganizma menenjite yol açabilir. Günümüzde menenjit vakalarının büyük bir kısmından *H.*

influenzae, *S. pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) sorumlu tutulmaktadır. *H. influenzae* oldukça hassas bir bakteri olup kuruluğa, yüksek ve düşük ısıya dayanıksızdır (19). Bu nedenle bu bakterinin klasik yöntemlerle saptanmasında sırasında yanlış negatif sonuçlarla karşılaşmaktadır. Günümüzde kullanılan moleküler biyolojik yöntemlerle bakterinin izolasyonunun mümkün olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.

Bakteriyel menenjit ve EOM'den sorumlu olan etkenler arasında yer alan *H. influenzae* klasik kültür yöntemleriyle zor elde edilmektedir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında bakteriyel DNA'yı saptamak ve klasik kültür yöntemini altın standart kabul ederek Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğinin tanısal değerini belirlemek amacıyla beyin omurilik sıvısı (BOS) ve orta kulak efüzyonu örneklerinde kültür ve PZR uygulanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Haemophilus*:

Haemophilus'lar *Pasteurella* ve *Actinobacillus*'larla birlikte *Pasteurellacea* ailesi içinde yer alırlar. *Haemophilus* kökenlerinin insanda yerleşen ve bu türler içerisinde insanda yerleşen önemli olan 9 türü vardır. Bunlar başta *H. influenzae* olmak üzere *H. aegyptius*, *H. haemolyticus*, *H. ducreyi*, *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. aphrophilus*, *H. paraaphrophilus*, ve *H. segnis*'tir (20).

Hemofil grubu bakteriler çok zor üreyen ve gelişebilmek için kan ve kan faktörlerine gereksinimi olan (Haemo=kan, philus=seven) küçük, pleomorfik, Gram negatif, sporsuz, hareketsiz aerop ve fakültatif anaerob, çoğunlukla üst solunum yollarında yerleşen kokobasil şeklinde mikroorganizmalardır. Bu bakteriler, çoğalabilmeleri için ısıya dayanıklı X faktörüne ve ısıya duyarlı V faktörüne gereksinimlerine göre birbirinden ayrılır (Tablo 1). İnsanlarda enfeksiyona neden olan en önemli tür *Haemophilus influenzae*'dir (21).

Mikroorganizma	Üreme Faktörü		CO ₂ Bağımlılığı	Hemoliz	Katalaz
	X	V			
<i>H. influenzae</i>	+	-	+	-	+
ve <i>H. segnis</i>	-	+	-	-	(+)/(-)
<i>H. aphrophilus</i>	+	-	+	-	-
<i>H. paraaphrophilus</i>	-	+	+	-	(+)/(-)
<i>H. parainfluenzae</i>	-	+	-	-	+
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	-	+	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	-	+	-	+	+
<i>H. ducreyi</i>	+	-	(+)/(-)	(+)/(-)	-

Tablo 1. Farklı *Haemophilus* Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri

2.2. *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*)

H. influenzae yalnız insanda yaşar ve başka bir konakta doğal olarak bulunmaz. Boğaz ve nazofarenkste yoğun olarak bulunurken, burun, konjunktiva ve genital sistemde nadiren kolonize olmaktadır (20).

2.2.1. Tarihçe

Robert Koch 1882'de ilk olarak konjunktiva materyalinde bugün *Haemophilus aegyptius*'ta denilen bakterileri saptamıştır (22). Pleiffer 1892'deki Avrupa İnfluenza pandemisi sırasında ölen hastaların balgam örneklerinden ve akciğer dokularından *H. influenzae*'yi izole etmiştir. Ancak etken o dönemde "İnfluenza-Bacillus" olarak isimlendirilmiştir (23). 1899'da Slawyk ve 1911'de Cohen menenjitli hastaların beyin omurilik sıvılarından *H. influenzae*'yi üretmiştir. 1917'de Amerikan Bakterioloji Derneği, çoğalmak için kan faktörlerine gereksinim duyan bu bakterinin ismini, *H. influenzae* olarak değiştirmiştir (24). Bu dönemde influenza etkeni olarak kabul edilen *H. influenzae*'nin 1933'te İnfluenza virusunun keşfinden sonra, ancak ikincil bir etken olabileceği anlaşılmıştır. Pitmann 1931'de kapsüllü ve kapsülsüz *H. influenzae* suşlarını tanımlamış ve kapsül antijenlerine göre gruplandırmıştır (25). 1976'da Kilian tarafından biyokimyasal özelliklerine göre biyotip I-IV bildirilmiştir. Daha sonra bunlara biyotip V-VIII eklenmiştir (26,27). *H. influenzae*'nin tarihçesi ile ilgili önemli gelişmeler Tablo 2'de verilmiştir.

2.2.2. Epidemiyoloji

H. influenzae, insan solunum yollarında yaygın olarak bulunan kommensal bir mikroorganizmadır. Bakteri nadir olarak konjunktiva mukozasında ve genital yolda kolonize olmaktadır. *H. influenzae* yalnızca insan patojenidir ve başka bir doğal konak bilinmemektedir (3).

Çocukların pek çoğu yaşamın ilk ayından itibaren kapsülsüz kökenlerle kolonize olmaya başlarlar. Küçük çocukların üst solunum yollarında % 50-80'e varan taşınma oranları yaş ilerledikçe düşer. *H. influenzae*'nin kapsüllü şekillerinin taşınma oranı nadiren % 5'i geçer. Özellikle tip b'ye (Hib) küçük

Yıllar	Gelişmeler
1883	Koch tarafından konjuktivitte kokobasiller gözlemlendi.
1892-1893	Pleiffer "influenza-bacillus" şeklinde tanımladı ve kan kullanarak kültürde üretti.
1917	Amerikan Bakterioloji derneği <i>H. influenzae</i> olarak isimlendirdi.
1931	Pittman tarafından kapsüllü (a-f) ve kapsülsüz suşlar serotiplendirildi, serotip b ile menenjit ilişkisi belirlendi.
1953	Solunum yolu hastalıkları ile kapsülsüz suşların ilişkisi ortaya konuldu.
1972	Anti-kapsüler antikoların koruyuculuğu gösterildi.
1974	<i>H. influenzae</i> tip b'nin hayvan modeli oluşturuldu.
1974	Finlandiya'da ilk üçlü polisakkarit aşısı geliştirildi.
1986	İlk üçlü polisakkarit-protein konjugat aşısı geliştirildi.
1990	Almanya, İngiltere, İrlanda, Hollanda ve diğer Avrupa ülkelerinde konjugat aşısı uygulaması yapıldı.

Tablo 2. *H. influenzae*'nin Tarihsel Gelişimi

çocuklarda % 3-4 oranında rastlanmakta ve ileri yaşlarda bu oran daha da düşmektedir (28).

Ülkemizde *H. influenzae* enfeksiyonları insidansı hakkında kesin bilgiler mevcut değildir (29,30). Mamal T ve arkadaşları Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine başvuran, üst solunum yolu enfeksiyonu bulunan 100 çocuğun nazofarenks salgısı örneklerini incelemişler, kız çocuklarının % 40.9'unda, erkek çocukların % 53.6'sında *H. influenzae* saptamışlardır. (31). Yücel ve arkadaşları bir ilkokulun anasınıfı öğrencileri arasında çıkan bir rinit salgınında 35 çocuğa ait burun ve boğaz salgısı örneklerini incelemişler, burun salgısı örneklerinin % 48.6'sında, boğaz salgısı örneklerinin % 97'sinde Hib'in bulunduğunu tespit etmişlerdir (32).

Konjuge aşuların yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından önce, çocukların nazofarenksindeki Hib taşıma oranları % 3.4 iken aşuların kullanılması ile birlikte Hib'in nazofarenksteki kolonizasyon oranı giderek azalmış ve Hib ile oluşan invaziv enfeksiyonlar önlenmeye başlanmıştır (28).

H. influenzae insandan insana damlacık yoluyla veya salgılarla doğrudan temas yoluyla bulaşır. Bu damlacıklar veya salgılardaki 10^6 bakteri sayısı bulaşma için yeterlidir. Anneden neonatal bulaşma olabilir.

İnvaziv Hib enfeksiyonlarının inkübasyon süresi bilinmemektedir. Organizmalarla nispeten uzamış asemptomatik kolonizasyonunun önemli olduğu bildirilmektedir.

H. influenzae enfeksiyonlarının iki ana tipi tanımlanmıştır:

1. *H. influenzae*'nin primer patojen olduğu, sıklıkla bakteriyemi ile gelişen akut ve ciddi enfeksiyonlar: Bunlar genellikle 3 ay–4 yaş grubundaki çocuklarda görülür. Erişkinlerde invaziv hastalık kapsülsüz suşlarla gerçekleşir.

2. *H. influenzae*'nin primer etken olmadığı, ancak daha önce hasar görmüş dokuya kolonize olarak önemli bir sekonder rol oynadığı enfeksiyonlar: Bu enfeksiyonlar kronik bronşit, bronşektazi, kistik fibrozis, pnömoni, sinüzit, orta kulak iltihabı ve konjunktivittir. Buradaki bakteriler genellikle kapsüllü değildir. Hastalar sıklıkla erişkindir ve enfeksiyon nadiren bakteriyemi sonucu gelişir. Kapsülsüz organizmalar erişkinlerde menenjitte yapabilir. Olguların çoğunda predispozan faktörler (kafa travması, orta kulak iltihabı, sinüzit) mevcuttur (21).

2.2.2.1. Risk Faktörleri

H. influenzae enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde yaş, aile özellikleri, kalabalık ortamlarda bulunma, cinsiyet, mevsimler ve farklı coğrafik bölgelerde olma gibi faktörler önemlidir.

H. influenzae enfeksiyonlarının epidemiyolojisinde önemli olan risk faktörleri:

1. Konak faktörleri

- Yaş
- Cinsiyet
- Irk/etnik grup
- Diğer (malignite, orak hücreli anemi, kemoterapi vb)

2. Çevre faktörleri:

- Ailenin kalabalık olması
- Kardeş sayısı ve yaşı
- Okula giden kardeşlerin bulunması
- Ebeveynin sigara içmesi
- Anne-babanın eğitimi

- Sosyoekonomik durum
- Yuvaya devam etme
- Mevsimler

Epidemiyolojik risk faktörleri arasında yaş önemlidir. Yenidoğanlar, Hib enfeksiyonlarına karşı anneden geçen antikorlarla pasif olarak korunurlar. Bununla birlikte yaşamın ilk birkaç ayından sonra Hib enfeksiyonlarının sıklığı 6-11 ay arasında dramatik bir şekilde artar. Doğal antikorların gelişmeye başlaması ile yavaş yavaş bu sıklık azalır, yaklaşık 2 yaş civarında keskin bir düşme gösterir ve beşinci yaşla birlikte yaşa spesifik bir sıklık başlar. Cinsiyete göre dağılım genelde aynıdır (1).

Alaska Eskimo'ları, Amerika Kızılderili'leri ve Avusturalya yerlileri gibi bazı etnik gruplarda 5 yaşın altındaki her 100.000 çocuktan 400 kadarı (% 1-2) hastalığa yakalanabilmektedir. Kapsüle karşı koruyucu antikorların bulunmaması çok önemli bir risk faktörüdür. IgG sentezinde yetersizlikler, orak hücreli anemi, splenektomi risk faktörleri arasındadır.

H. influenzae enfeksiyonlarında ailenin kalabalık olması, kardeşlerin sayısı ve yaşı, ilkokula giden kardeşlerin bulunması da risk faktörleri arasındadır. Yedi yaşından küçük olan çocuklar en yüksek nazofarengeal Hib taşıyıcılığı oranına sahiptirler.

H. influenzae menenjitli bir çocuk ile aynı evde bulunan çocuklarda sekonder enfeksiyon riski % 2-4 oranındadır. Kapsülsüz *H. influenzae* ile oluşan orta kulak iltihabı bulunan kardeşlerde yapılan araştırmalar, aynı evdeki çocuklar arasında kapsülsüz *H. influenzae* kökenlerinin kişiden kişiye geçebileceğini göstermiştir. Yuvaya devam etme durumu Hib'de dahil olmak üzere pek çok patojen mikropla karşılaşma riskini arttırmaktadır (3).

Hib enfeksiyonlarının düzenli bir şekilde izlendiği Finlandiya ve Avusturalya gibi ülkelerde insidansta yıldan yıla çok küçük farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Ancak mevsimlere bağlı insidansta daha önemli farklılıkların olduğu bildirilerek Hib enfeksiyonlarının Ekim-Kasım ve Mart-Mayıs dönemlerinde en yüksek oranda saptandığı belirtilmiştir.

Ülkemizde *H. influenzae* enfeksiyonları ile ilgili araştırmalar yeterli değildir (29).

2.3. Mikrobiyolojik Özellikler

H. influenzae solunum yolu normal florasında bulunan çocukluk çağında menenjit, orta kulak iltihabı, üst solunum yolu enfeksiyonu ve pnömoni gibi hastalıkların etkenleri arasında yer alan bir bakteridir. *H. influenzae* 0.5 – 2 µm uzunluğunda 0.3 – 0.5 µm genişliğinde uçları yuvarlak bir kokobasildir. Birbirine paralel kümeler oluşturur, kısa zincirler yapar, bir kısmı fagosite edilmiş şekilde lökositler içindedir. Etken hareketsiz, sporsuz, Gram negatif basildir. Bazik fuksin ile iyi boyanmakta olup Loeffler'in metilen mavisi ile 5 dakikada, 1/10'luk karbol fuksinle 10 dakikada boyanmaktadırlar (21).

Virulan *H. influenzae* 6-8 saatlik buyyon kültüründe ve 4-8 saatlik katı besiyerlerinde kapsül oluşturur. Kapsül, katı besiyerinde pırlıtlı renk gösteren kolonilerin varlığı ile anlaşılır. Ayrıca kapsül varlığı tipe özel antiserumlarla yapılan kapsül şişme reaksiyonu ile de gösterilebilir. *H. influenzae* aerop ve fakültatif anaerob bir bakteridir. 37°C de pH 7.4 – 7.6 da ürer. Bazı suşları % 5-10 karbondioksitli ortama gereksinimi olabilir. Üreyebilmesi için kanda bulunan hemoglobine bağlı ve ısıya dayanıklı bir X faktörü (Protoporphyrin IX) ile ısıya dayanıksız bir V faktörünün (nicotinamide adenin dinucleotide) bulunması gereklidir (20). X faktörü bir grup ısıya dirençli tetrapirrol bileşiğinden oluşur. Bu tetrapirrol bileşiklerinin kaynağı hemin ve hematin gibi demir içeren pigmentlerdir. Bu bileşikler bakteri tarafından demirli solunum enzimleri, sitokrom oksidaz, katalaz ve peroksidazin sentezinde kullanılır. *Haemophilus* türlerinin çoğu nicotinamide adenin dinucleotide (NAD) (koenzim 1) ve nicotinamide adenin dinucleotide fosfat (NADP) (koenzim II)'den oluşan V faktörüne ihtiyaç duymaktadır. Koenzim I ve II'de bulunan ısıya duyarlı bu faktör, 120 ° C' de 15-30 dakika ısıtmakla parçalanır. V faktörünü *Stafilokoklar*, *Neisseria*, *Sarcina lutea*, *C. diptheriae*, *S. pneumoniae*' de üretmekte olup bu faktörü besiyerine difüze ederler. *H. İnfluenzae*, besiyerinde V faktörü üreten bakterilerin yanında gelişir (satellit veya süt anne fenomeni) (20).

Kanlı agar besiyeri *H. influenzae*'nin üretilmesi için uygun değildir. Çünkü bu besiyerinde V faktörü bulunmadığı için bakteri üreyememektedir. Bu nedenle

çikolata agara ekim yapılır. Çikolata agar'da eritrositlerdeki V faktörü serbest haldedir ve bu faktör aynı zamanda kanda bulunan NADaz'ı inaktive eder. NAD'yi inaktive eden maddelerin yapısının ve ısıya duyarlılığının kanın elde edildiği hayvana göre değiştiği bildirilmiştir. Koyun, keçi, sığır ve insan kanında NAD'yi inaktive eden maddeler belirlenmiştir. Fakat fare, tavşan ve kobay kanında bulunmadığı bildirilmiştir. At kanın da NADaz enzimi içermediği için *Haemophilus* cinsi bakterilerin üremesi için uygun olduğu saptanmıştır.

Haemophilus türlerinin biyokimyasal özellikleri Tablo 3 ve 4' de özetlenmiştir (33,34).

Türler	X	V	CO ₂	İndol	Üreaz	Ornitin dekarboksilaz	H ₂ S	Beta galaktosidaz	Porfirin testi	Hemoliz
<i>H. influenza</i>	+	+	-	D	D	D	-	-	-	-
<i>H. parainfluenza</i>	-	+	-	D	D	D	+	D	+	-
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	-	D	+	-	+	-	-	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	-	+	-	+	-	-	?	-	+	+
<i>H. aphrophilus</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>H. paraaphrophilus</i>	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>H. paraprahaemolyticus</i>	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>H. aegyptius</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>H. pleuropneumonicus</i>	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+
<i>H. haemoglobinoph</i>	+	-	-	+	-	-	D	D	-	-
<i>H. avium</i>	-	+	-	-	-	?	?	?	+	-
<i>H. parasius</i>	-	+	-	-	-	?	?	?	+	-
<i>H. segnis</i>	-	+	-	-	-	-	-	D	+	-
<i>H. ducreyi</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	D
<i>H. paracuniculus</i>	-	+	+	+	+	?	?	?	+	-

Tablo 3. *Haemophilus* Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri 1

Türler	Katalaz	Oksidaz	A.F	Nitrat Redüktaz	Glikoz	Laktöz	Sükroz	Mannitol	Ksiloz
<i>H. influenza</i>	+	+	+	+	+	-	D	-	+
<i>H. parainfluenza</i>	D	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	D
<i>H. parahaemolyticus</i>	D	+	?	+	+	-	+	-	-
<i>H. aphrophilus</i>	-	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>H. paraaphrophilus</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>H. paraprohaemolyticus</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>H.aegyptius</i>	+	+	?	+	+	-	D	-	-
<i>H. paragallinarum</i>	-	-	-	+	+	-	D	-	-
<i>H. pleuropneumonicus</i>	D	D	+	+	+	-	+	+	+
<i>H. haemoglobinoph</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	+
<i>H. avium</i>	+	-	+	+	+	D	+	D	+
<i>H. parasius</i>	+	-	?	+	+	D	-	-	-
<i>H. segnis</i>	D	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>H. ducreyi</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-

Tablo 4. *Haemophilus* Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri 2

2.4. Antijenik Yapı

Haemophilus cinsi bakterilerin hücre duvarları Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarına benzemektedir. Bazı *H. influenzae* kökenlerinde kalın bir hücre duvarı bulunduğu bildirilmektedir. Bazı *H. influenzae* kökenleri, kendilerini makrofaj ve nötrofillerin fagositozundan koruyan 0,25 µm kalınlığında bir kapsüle sahiptir. Kapsül negatif yüklü ve hidrofobiktir. Kapsül bulunmayan kökenler tiplendirilemeyen (=nontypable) kökenler olarak adlandırılırlar. Kapsül, polisakkarit ve teikoik asitten yapılmıştır. Kapsül antijenlerinin yapısına göre kapsüllü kökenler 1931'de Pittman tarafından altı serotipe (a-f) ayrılmıştır. Altı antijenik kapsül tipinden her biri disakkarit alt ünitelerinden lineer bir polimerden oluşur. Tip b kapsülü negatif yüklü bir fosfodiester ile bağlantılı poliribozil ribitol fosfat lineer polimerini içermektedir. Serotip a, b, c ve f'nin kapsül antijenleri, teikoik asit içermektedir. Fosfat içermeyen serotip d ve e kapsülleri glikozidik olarak bağlantılı polisakkaritlerdir. Tip b kapsül antijeni *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecium* ve *Esherichia coli* K100 ile çapraz reaksiyon verir (35).

2.5. Patogenez ve Virulans

H. parainfluenzae ve kapsülsüz *H. influenzae* olmak üzere *Haemophilus* türleri bütün bireylerde yaşamlarının ilk birkaç ayı içinde üst solunum yolunda kolonize olmaktadır. Bu bakteriler lokal olarak yayılıp lokal enfeksiyona veya sistemik hastalıklara yol açmaktadır. Ancak yaygın hastalıklar nadiren görülmektedir. *H. influenzae* serotip b'nin üst solunum yolunda seyrek olarak bulunduğu fakat epiglottit ve pedyatrik menenjitlerin sık rastlanılan etkenlerinden biri olduğu bildirilmiştir. Bu mikroorganizmalar nazofarengeal submukozaya girip meninks ve distal kısımlara yayılarak kan dolaşımına geçmektedirler (33).

H. influenzae'nin patogenezinde rol oynayan etmenler aşağıda sıralanmıştır.

1. Kapsül: *H. influenzae*'nin sebep olduğu sistemik hastalıkların büyük bir kısmı kapsüllü suşlar tarafından oluşturulmaktadır. Kapsül yapısı fagositozu önleyerek kompleman aktivasyonunu azaltmaktadır.

2. İmmunoglobulin A (IgA) Proteaz: *H. influenzae*'nin ürettiği IgA proteaz insan IgA1'i parçalayarak musin içinde bakterilerin tutunmasını önler. Bunun sonucunda meydana gelen IgA yetmezliği diğer bakterilerin kolonizasyonu yanında çeşitli alerjenlerin penetrasyonuna da kolaylık sağlamaktadır.

3. Bakteriyosin: Bakteriyosin yapma yeteneği kaybedilip kazanılabilir. Hemosin adlı bakteriyosin *H. influenzae* tip b tarafından üretilmektedir. Hemosin DNA sentezini inhibe etmektedir. Bazı tiplendirilemeyen suşların Hemosin yaptığı saptanmıştır. Ayrıca diğer kapsüllü ve kapsülsüz *Haemophilus* serotipleri ve bazı enterik bakteriler bu bakteriyosine duyarlıdır.

4. Endotoksin ve Glikopeptid: *H. influenzae* silier aktiviteyi inhibe eden iki madde salgılamaktadır. Glikopeptid ısıya dirençli ve düşük molekül ağırlıklıdır. Endotoksin ise lipopolisakkarit yapıdadır.

5. Fimbrialar: Fimbria ağız ve üst solunum yolu epiteline ve insan adenoid epiteline tutunmada rol oynamaktadır. Ayrıca bu yapı eritrositleri aglütine etmektedir.

6. Lipooligosakkaritler ve Dış membran Proteinleri: Lipopolisakkarit kanda ve nazofarenkste ortaya çıkar ve silier aktiviteyi inhibe etmektedir. Dış membran proteinleri immün yanıtta etkilidir.

7. Nöraminidaz: Bu enzim polimorf lökositlerin kemotaktik aktivitesini inhibe etmektedir.

8. Histamin: *H. influenzae* ve bazı *H.parainfluenzae* kökenlerinin histamin sentezlediği belirlenmiştir. Bu madde inflamasyona ve akciğerlerde bronkokonstriksiyona neden olmaktadır.

9. Transferin Bağlama Yeteneği: *H. influenzae* tip b, *H. parainfluenzae* ve *H. paraaerophilus*'da saptanmıştır. Demir, *Haemophilus*'lar için gerekli bir elementtir. Demir muköz membranlarda düşük konsantrasyonda bulunmakta olup, konağın direncini sağlamaktadır.

10. Plazmidler ve Transpozonlar: *H. influenzae*'da plazmidler tanımlanmıştır. Büyük (c 60 kb) konjugatif plazmidler çoklu antibiyotik direncinden sorumludur. Ampisilin ve tetrasiklin direnç genlerini taşıyan TnA veya Tn10-benzeri transpozonlar plazmidler üzerinde bulunurlar. Küçük (< kb 10) sitoplazmik ve konjugatif olmayan plazmidlerde kodlanan TEM-1 betalaktamazı ile ampisilin direnci, 4.4 kb sitoplazmik plazmid aracılığı ile ROB-1 betalaktamazının üretimi sağlanır.

11. Bakteriofajlar: *H. influenzae*'nin HP1 (mutantları C1 ve C2), HP3, S2 ve N3 olmak üzere dört bakteriofajı vardır. Ayrıca UV radyasyonuna bağlı mutant fajlar Rb ve Rd bulunmaktadır (36,37).

Solunum yoluyla 10^6 miktarında alınan *Haemophilus*'lar, mukus engelini aştıktan sonra ürettiği faktörlerle titrete tüylerin hareketini bozmaktadır. *H. influenzae* hem fimbriyal hem de fimbria olmayan yüzey adezinleri ile nazofarenksteki epitel hücrelerine yapışarak burada çoğalır ve kolonize olurlar. Nazofarenksteki kolonizasyon sonucu çoğunlukla taşıyıcılık gelişir. Bazen hafif bir solunum yolu enfeksiyonu gelişebilir. Bazen de bu bölgedeki kolonizasyon *H. influenzae b*'nin kan dolaşımına geçmesi ile sonuçlanabilir. Epitel hücrelerinin bağlanma yerlerindeki bozulma ve kirpikli epitelin dökülmesi ile belirlenen bir sitotoksosite gelişir. Bunun sonucunda mukoza yüzeylerinde hücrelerarası invazyon meydana gelir (38,39).

2.6. Klinik

2.6.1. *H. influenzae* Tip B

Menenjit; 1 ay–2 yaş arasındaki çocuklarda görülen bakteriyel menenjitin en yaygın sebebidir. 6 yaşından büyük çocuklarda görülme sıklığı azalmaktadır. Menenjit, *H. influenzae* tip b hastalığının en ağır tipidir. Küçük çocuklarda immün sisteminin olgunlaşmasının tamamlanmamış olması nedeni ile prognoz oldukça kötüdür. İmmünize olmayanlarda hastalık nazofarenksten kaynaklanan bakteriyemik yayılma sonucu oluşur. Olguların % 10-20'sinde sellülit, artrit ya da pnömoni gibi eşlik eden başka bir enfeksiyon odağı mevcuttur. Erişkinde *H. influenzae* menenjiti altta yatan bir hastalık veya bir predispozisyona bağlı olarak gelişir ve genellikle komşu bir enfeksiyon odağından organizmanın direkt invazyonu ile ortaya çıkar.

Epiglottit; *H. influenzae* enfeksiyonları içinde ikinci sırayı alır. *H. influenzae* epiglottitin en sık nedenidir.

Bakteriyemi; Sık ve erken görülen bir klinik tablodur. Yeni doğanlarda perinatal bulaşma sonucu ortaya çıkmaktadır. Yeni doğan döneminden sonra görülen bakteriyemi vakalarının % 90-95'i tip b kökeni tarafından oluşturulmaktadır.

Pnömoni; Daha sıklıkla çocuklarda görülmesine rağmen, erişkinlerde altta yatan hastalık durumlarında görülür. Sistemik enfeksiyonlarla birlikte görüldüğünde etken *H. influenzae* tip b'dir.

Sellülit; Özellikle iki yaş altındaki çocuklarda görülür. Yanaklar ve periorbital bölgeye yerleşir. Bu vakalarda birlikte menenjit ve bakteriyemi bulunabilir.

Septik artrit; İki yaş altındaki septik artritin en sık nedenidir. Genellikle tek ve ağırlık taşıyan büyük eklemleri tutar. Artrit daha büyük çocuklar ve yetişkinlerde tespit edilmekle birlikte çok nadirdir ve genellikle önceden mevcut harabiyeti olan eklemlerde veya immün komprez hastalarda ortaya çıkar (37).

Osteomyelit; *H. influenzae* çocuklarda nadiren osteomyelite neden olur.

Perikardit, orbital sellülit, endoftalmit, üriner sistem enfeksiyonları, neonatal sepsis, beyin omurilik sıvısı şant enfeksiyonları, nekrotizan fasiit,

piyomiyozit, peritonit, skrotal abse, beyin absesi, poliserozit, tenosinovit, epididimit, akciğer absesi, periappendiküler abse ve bakteriyel trakeit *H. influenzae* tip b tarafından oluşturulan diğer enfeksiyonlardır (39).

2.6.2. *H. parainfluenzae*

Diğer *Haemophilus* türleri arasında en sık görülen patojen *H. parainfluenzae*'dir. Enfeksiyonları *H. influenzae*'ya benzer. *H. parainfluenzae* farenjit, epiglottit, otitis media, konjuktivit, diş abseleri, pnömoni, ampiyem, sepsis, endokardit, septik artrit, osteomyelit, peritonit, menenjit, beyin absesi, üriner ve genital sistemi tutan enfeksiyonlara yol açar.

2.6.3. *H. aphrophilus*

Sinüzit, otitis media, epiglottit, pnömoni, ampiyem, bakteriyemi, endokardit, osteomyelit, yumuşak doku abseleri, yara enfeksiyonları, nekrotizan fasiit, menenjit ve beyin abselerine yol açabilir.

2.6.4. *H. paraaphrophilus*

Larenjit, endokardit, beyin abseleri, osteomyelit ve paronişia'ya yol açar.

2.6.5. *H. aegyptius*

Pembe göz denilen, bulaşıcı akut konjuktivite (Koch-Weeks konjuktiviti) yol açabilir

2.6.6. *H. haemolyticus* ve *H. Parahaemolyticus*

Üst solunum yolu florasında bulunurlar. Nadiren endokardit, kronik bronşit, pürülan orofarenjit, karaciğer ve pankreas abseleri, sellülit ve ampiyeme yol açarlar. *H. parahaemolyticus*; ağız boşluğu ve farinksin normal florasında bulunur. Bazı endokardit vakalarında rol oynadığı bildirilmiştir (40).

2.6.7. *H. haemoglobinophilus*

İnsanlarda herhangi bir enfeksiyona yol açtığı bildirilmemiştir.

2.6.8. *H. paraaphrohaemolyticus*

İnsanların boğaz sekresyonları, balgam ve üretra salgılarından izole edilmiştir. Nadiren endokardit, kronik bronşit, pürülan orofarenjit, karaciğer ve pankreas abselerine, sellülite ve ampiyeme yol açar.

2.6.9. *H. pleuropneumonia*

İnsanlarda herhangi bir enfeksiyona yol açtığı bildirilmemiştir.

2.6.10. *H. Segnis*

Farinks normal florasında ve özellikle diş plağında bulunur.

2.6.11. *H. ducreyi*

İnsanda şankroid (yumuşak yara) etkenidir. HIV 1, HIV 2 enfeksiyonu ile birlikte sık görülür (41).

2.7. Tedavi

H. influenzae oldukça farklı klinik tablolardan sorumlu olabilen, tedavisinde yine çok farklı antimikrobiyal ajanlardan yararlanan patojendir. Özellikle *H. influenzae* tip b, tedavi edilmediğinde fatal sonlanabilen ağır enfeksiyonlara neden olur. Bu durum özellikle küçük çocuklarda görülen menenjit ve epiglottit için geçerlidir (42).

Yenidoğan döneminde ağır *H. influenzae* enfeksiyonu saptanırsa tedaviye parenteral yoldan üçüncü kuşak sefalosporinlerle başlanır. *H. influenzae*'ya karşı etkin olan ve beyin omurilik sıvısına penetrasyonu iyi olan bir sefalosporin

seçilmelidir. Bu özellikler göz önüne alındığında en sık seçilen ajanlar sefotaksim ve seftriasoksundur (43).

Bu sefalosporinler sık rastlanılan menenjeal patojenlere karşı in-vitro etkinlikleri ve BOS'ta bakterisidal etkileri açısından diğerlerinden daha üstündürler. Ancak daha eski antibiyotik rejimleriyle karşılaştırıldıklarında BOS kültürlerinin daha kısa sürede negatifleşmesi ya da olguların fatalite oranları açısından daha avantajlı değildirler.

Seçilen rejime bakılmaksızın antibiyotik tedavisi, hastanın ateşinin düşmesi ve enfeksiyonun klinik ve laboratuvar bulgularının kaybolmasından 3-5 gün sonrasına kadar sürdürülür. Tedavinin süresi genellikle 7-10 gün kadardır. Endoftalmit, endokardit, perikardit ve osteomyelit gibi komplikasyonlu hastalarda tedavinin üç-altı hafta sürdürülmesi gerekebilir. Geçmiş yıllarda *H. influenzae* enfeksiyonu tedavisinde ampisilin ile de çok iyi sonuçlar alınmaktayken, Amerika Birleşik Devletleri'nde 1973 yılında ampisiline dirençli kökenler bildirilmeye başlanmıştır. Günümüzde ampisilin direnci, giderek artarak yaygın bir sorun haline gelmiştir (3).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1997-1998 yıllarında izole edilen *H. influenzae* kökenlerinde beta laktamaz salgılama oranı % 38 olarak bulunmuş, kökenlerden ancak birkaçının beta laktamaz negatif ampisiline (BLNR) dirençli olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda beta laktamaz pozitif kökenlerin prevalans artışı nedeniyle, daha önceleri ilk seçilecek ajanlar arasında yer alan ampisilinin kullanımı kısıtlanmış ve tedavide beta laktamaz enzimiyle inaktive olmayan daha güçlü ajanlara gereksinim ortaya çıkmıştır (44, 45, 46).

H. influenzae enfeksiyonlarının tedavisinde, o kökenin duyarlı olduğu kesin olarak saptanmadıkça ampisilin kullanılmamalıdır. Tedavide ampisilin kullanıldığında da intra venöz yoldan 200-300 mg/kg verilmeli, bu günlük doz 6 saat arayla 4'e bölünerek uygulanmalıdır. Penisiline alerjisi olan hastalarda kloramfenikol 75–100 mg/kg/gün, 6 saat arayla 4 eşit doza bölünerek uygulanabilir (47,48). Kloramfenikol kullanımı sırasında doza bağımlı olarak, reversibl kemik iliği toksisitesi ortaya çıkmaktadır. Bu etki oldukça seyrek rastlanılan bir sorundur, ancak yine de yeni doğanlarda ve karaciğer hastalığı gibi ciddi hepatoksisite gelişebilecek olgularda, kloramfenikol kullanımı sırasında çok dikkatli davranılmalıdır. Kloramfenikol kullanımına bağlı olarak

gelişebilen diğer bir yan etki de irreversibl kemik iliği aplazisidir. Bu durum iyi tanımlanmış olmasına rağmen seyrek görülür (48).

Menenjitin akut döneminde kloramfenikolün oral yoldan uygulanması önerilmez. Bulantı, kusma ve konvülziyon tedaviyi aksatabilir. Akut dönemdeki semptomlar geriledikten sonra aynı tedavi rejiminin aynı dozda oral yoldan verilmesi etkilidir.

H. influenzae enfeksiyonlu çocukta antibiyotik tedavisi için ancak bir bölümüdür. Destek tedavisi de oldukça önemlidir. Ağır enfeksiyonlarda olaya hipotansiyon ve asidoz görülür. Tedavi sırasında ventilasyon ve sıvı tedavisi ile dokuların yeterli perfüzyonu sağlanmalıdır. Aksi takdirde anti diüretik hormonun uygunsuz sekresyonu olayın seyrini ağırlaştırır ve sıvı kısıtlanması gerekebilir. *H. influenzae* menenjitinde konvülziyon gelişebilir, bu durumda akla elektrolit dengesizliği ya da subdural efüzyon olasılığı getirilmelidir.

Birçok çalışmada *H. influenzae* tip b menenjitli hastalara kortikosteroid verilmesinin nörolojik sekel insidansını azalttığı gösterilmiştir. Buradaki mekanizma, kortikosteroidin inflamasyonu azaltmasıdır. İki aylıktan büyük çocuklara 0.6 mg/kg günlük deksametazon dozunun intra venöz yoldan ve dörde bölünerek, dört gün süreyle verilmesi önerilmektedir (49, 50).

Tiplendirilemeyen *H. influenzae* kökenlerinin neden olduğu otitis media ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) alevlenmeleri gibi enfeksiyonların birçoğu oral antimikrobiyal ajanlarla tedavi edilebilir. *H. influenzae* kökenlerinde beta laktamaz salgılama oranı sürekli bir artış göstermektedir. Tiplendirilemeyen kökenlerin yaklaşık % 25'inde beta laktamaz üretimi bulunmakta ve kısa sürede kökenlerin yarısından çoğunun beta laktamaz salgılama özelliği kazanacağı düşünülmektedir. Bu nedenle ampisilin ve amoksisilin ancak duyarlı olduğu saptanmış olan izolatların tedavisinde kullanılmalıdır (47).

Klinisyenler otitis media ve KOAH alevlenmelerinin tedavisinde anitibiyotikleri ampirik olarak başlamak zorunda kalırlar. Bu durumda *H. influenzae* yanı sıra *S. pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis*'e karşı da etkin olduğu düşünülen ajanlar seçilmelidir (46).

Tiplendirilemeyen *H. influenzae* kökenlerine karşı etkin oral antimikrobiyal ajanlar arasında trimetoprim sulfametoksazol, eritromisin-sulfisoksazol, amoksisilin klavulonat; siproflaksisin, klaritromisin gibi yeni makrolitler ve

sefiksim, sefpodoksim, sefaklor, lorakarbef, sefuroksim gibi geniş spektrumlu sefalosporinler sayılabilir (45).

Tiplendirilemeyen *H. influenzae* kökenleri tarafından oluşturulan daha ağır enfeksiyonlarda parenteral antibiyotik tedavisi endikedir. Bu durumda parenteral kullanılacak etkin antimikrobiyal ajanlar ise seftriakson, sefuroksim, seftazidim, sefotaksim, gibi yeni sefalosporinler; ampisilin sulbactam, florokinolonlar ve azitromisindir.

Bağışıklık sistemlerinde yetmezlik olan kişilerde, tiplendirilemeyen *H. influenzae* enfeksiyonlarına karşı artmış bir duyarlılık söz konusudur. Bu kişiler İM ve İV yoldan verilen immunglobulin preparatlarından yarar görürler. Bu şekilde immunglobulin takviyesi yapılması bu kişilerde tiplendirilemeyen *H. influenzae* sistemik enfeksiyonlarının hem insidansını hem de alt ve üst solunum yolu enfeksiyon epizotlarının sayısını azaltır. (49)

2.8. Korunma

Hib çocukluk yaş grubunda menenjit, pnömoni ve epiglottitin önemli bir sebebidir. Tüm dünyada beş yaş altı çocuklarda her yıl iki milyondan fazla invaziv hastalığa sebep olmaktadır. Bunların 300.000'nin ölümle sonuçlandığı saptanmıştır. Hib enfeksiyonu oranı, Hib konjugat aşı uygulamalarıyla azalmıştır. A.B.D.'de on yıllık Hib konjugat aşı uygulaması sonrası, beş yaş altı çocuklarda yıllık Hib menenjiti sayısı 10.000 olgudan 200'ün altına düşmüştür. Aşının, Hib invaziv hastalığın önlenmesinin yanı sıra nazofarengeal kolonizasyonu azaltmada da etkili olduğu bulunmuştur. Hib taşıyıcılığını azaltabileceği için Hib kolonizasyonun invaziv hastalığa dönüşme riski azalmış olmaktadır. Bütün bu nedenlerden dolayı Hib enfeksiyonlarının önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Hib'e karşı korunmada doğal immünite, kemoprofilaksi ve aktif immünizasyon önemli rol oynamaktadır (50).

2.8.1. Doğal İmmünite

Hib'e karşı doğal immünite, immün sistemin muköz membran immünitesi, humoral immünite, inflamatuvar cevabın aktivasyonu, fagositoz ve hücrel immünite gibi birçok faktöre bağlıdır.

2.8.2. Aktif İmmünizasyon

İnvaziv Hib enfeksiyonlarına karşı immünite, purifiye yüksek moleküler ağırlıklı *H. influenzae* tip b polisakkaritiyle oluşur. Hib'de kapsül, riboz ve ribitol moleküllerinin fosfat bağları ile bağlanmasının tekrarından oluşan poliribozitol fosfat'tan (PRP) meydana gelir. *H. influenzae* tip b enfeksiyonlarına karşı bakterisidal etkiden sorumlu olan ve bağışıklık sağlayan antikolar kapsül polisakkaritine karşı oluşmaktadır. PRP'nin 18 aydan büyük çocuklarda koruyucu olduğu bildirilmiştir. Yardımcı T hücrelerinin immünolojik yanıt oluşmasında ve rapel aşılamalara daha çabuk yanıt vermesinde rolü vardır. Bu nedenle T'den bağımsız immünojen denilen polisakkaritleri küçük çocuklarda yeterli bir bağışıklık cevabı, antikor yapımı ve daha sonra yapılacak rapellere veya doğal yoldan alınan enfeksiyonlara karşı immün bellek oluşmaz. Polisakkarit antijenler spesifik B hücrelerinin olgunlaşması, farklılaşması ve çoğalmasında rol oynayan yardımcı T hücrelerini 2 yaşın altında aktive edemezler. Ancak ciddi Hib enfeksiyonlarının büyük kısmı 2 yaşın altındaki çocuklarda görülmektedir. Bu nedenle asıl korunması gereken bu yaşın altındaki çocuklardır (48).

Birinci jenerasyon PRP aşısının 18 ayın altındaki çocuklarda etkisiz olması ikinci jenerasyon aşılarda geliştirilmesine yol açmıştır. PRP'nin taşıyıcı proteinlerle konjugasyonu ile konjuge PRP aşılarda geliştirilmiştir. Tablo 5'te bu aşılarda özetlenmiştir. Proteinlerle kovalen olarak PRP'nin konjugasyonu aşılara karşı T hücrelerine bağlı immünite oluşmasına yol açarak PRP antijenine karşı gelişen immünolojik cevabı artırır (51).

Aşı	Ticari İsim	Polisakkarit	Taşıyıcı protein	Önerilen Doz (10 µg)
PRP-T	Act HIB (Pasteur Merieux)	Native PRP	Tetanoz toksoidi	10
HbOC	HibTITER (Lederle-Praxis)	Oligosakkarit	Mutant Difteri Toksin Proteini	10
PRP-OMPC	PedvaxHIB (Merck Sharp)	Native PRP	<i>N. meningitidis</i> dış membran proteini	15
PRP-D	ProHIBiT (Connaught Lab.)	PRP'nin bir bölümü	Difteri toksoidi	25

Tablo 5: Lisans Alan Konjuge Hib Aşıları⁴⁸

Başlangıçta PRP aşısı daha sonra konjuge aşıların kullanılması nedeniyle invaziv Hib enfeksiyonlarının 4 yaş altı çocuklarda sıklığı büyük oranda azalmıştır. Konjuge Hib aşısı kullanılmasıyla üst solunum yollarının Hib'le kolonizasyonu azalmaktadır ve çoğu menenjit ve pnömonileri engellediği belirlenmiştir. Ayrıca konjuge aşıların, orta kulak enfeksiyonlarına karşı koruyucu olup olmadığı bilinmemektedir. Hib aşısı'nın diğer tip *Haemophilus*'lara karşı koruyuculuğu yoktur (49).

2.9. MENENJİT

Beyin ve spinal kordu çevreleyen pia ve araknoid zarın inflamasyonuna menenjit denir. İnflamasyon sonucu araknoid zardaki kılcal damarların bütünlüğünün bozulması ile kan-beyin bariyerinin geçirgenliği artar, sıvı, protein ve lökositlerin beyin omurilik sıvısına geçmesi kolaylaşır. Bu arada beyin omurilik sıvısına geçen bakteriler, savunma mekanizmasının olmamasından faydalanarak hızla çoğalırlar. Sonuç olarak % 10-60 ölümlerle sonuçlanabilecek, akut ciddi serebral enfeksiyon tablosu ortaya çıkar (51).

2.9.1. Etiyoloji

Menenjitlerin etiyolojik dağılımı; yaş gruplarına, coğrafi farklılıklara, mevsimlere, toplumun çeşitli etkenlere karşı aşılı olup olmamasına göre farklılık göstermektedir. Toplumun genetik yapısı ve sosyoekonomik koşulları da, toplumdaki hastalıklardan topluma sık görülen etkenlerin farklı olmasında etkili olmaktadır.

Menenjit esas olarak bir pia-araknoidit'tir. Menenjit çok çeşitli mikroorganizmalar ile oluşabildiği gibi enfeksiyon dışındaki hastalıkların bir belirtisi de olabilir. Menenjite neden olan enfeksiyon ve enfeksiyon dışı nedenler Tablo 6' da sınıflandırılmıştır.

1)İnfeziyöz Etkenler

A) Bakteriler

Neisseria meningitidis
Haemophilus influenzae
Streptococcus pneumoniae
Listeria monocytogenes
Streptococcus agalactiae
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Enterococcus faecalis
Aerobik gram negatif basiller (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,
Pseudomonas aeruginosa)
Salmonella spp
Brucella spp
Nocardia spp
Actinomyces spp
Mycobacterium tuberculosis

B)Viruslar

Nonpolio enteroviruslar (Echo, Coxsackie viruslar)
Arboviruslar (St. Louis ensefalit virus, Kalifornia ensefalit virusları, Doğu, Batı ve Venezuela beygir ensefalit virusları ve Kolarodo kene ateşi)
Kabakulak virusu
Herpes viruslar (Herpes Simpleks virus (HSV) tip 1 ve 2, Varisella Zoster virus (VZV), Sitomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), Human Herpes virus (HHV 6 ve 7)
Lenfositik koriomenenjit virus
Human immunodeficiency virus (HIV)
Adenovirus
İnfluenza A ve B virus, Parainfluenza virus
Rubella virus
Poliovirus
Rota virus

C) Mantarlar

Candida spp
Cryptococcus neoformans
Aspergillus spp
Histoplasma capsulatum
Coccidioides immitis
Blastomyces dermatitidis
Sporothrix schenckii
Pseudallescheria boydii
Cladosporium spp
Zygomycetes spp

D) Spiroketler

Treponema pallidum
Borrelia burgdorferi
Leptospira spp
Borrelia recurrentis
Spirillum Minus

E) Riketsiyalar

Rickettsia rickettsii, *Coxiella burnetti*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi*, *Rickettsia tsusugamushi*

F) Protozoer ve Helmintler

Naegleria fowleri
Acanthamoeba spp
Toxoplasma gondii
Taenia solium
Trichinella spiralis
Trypanosoma spp
Paragonimus spp
Echinococcus granulosus
Strongyloides stercoralis
Schistosoma spp
Entamoeba histolytica

G) Diğer İnfeksiyöz Durumlar

Parameningeal enfeksiyonlar (beyin absesi, otit, sinüzit, mastoidit, subdural abse, epidural abse, venöz sinüs tromboflebiti, kraniyal osteomyelit), İnfektif endokardit
Bakteriyel toksinler (Streptokoksik farenjit, kızıl, toksik şok sendromu, difteri, boğmaca)
Viral postenfeksiyöz sendromlar
Aşı sonrası (kabakulak, kızamık, polio, boğmaca, kuduz aşılıarı)

2) Enfeksiyon Dışı Nedenler**A) Sistemik Hastalıklar**

Sistemik lupus eritematozus
Sarkoidoz
Behçet hastalığı
Sjögren sendromu
Mikst konnektif doku hastalığı
Romatoid artrit
Polimiyozit
Wegener's granulomatosis
Lymphomatoid granulomatosis
Poliarteritis nodosa
Granulomatöz anjiit
Ailevi akdeniz ateşi
Kawasaki sendromu

B) İlaçlar

Antimikrobiyal ajanlar (trimetoprim-sulfamethoxazol, siprofloksasin, penisilin, izoniazid)

Nonsteroid antiinflatuar ilaçlar (ibuprofen, naproksen)

Azathioprine

Cytosine arabinoside

Carbamazepine

İmmunglobulin

Phenazopyridin

C) Çeşitli Uygulamalar

Postnöroşürjik işlemler

Spinal anestezi

İntratekal injeksiyonlar

D) İntrakraniyal Tümör ve Kistler

E) Maligniteler

F) Diğerleri

Serum hastalığı

Yumuşak metal zehirlenmesi

Tablo 6 : Menenjit Neden Olan Etkenler

Bakteriyel menenjitte patojenik veya non-patojenik bakteriler neden olmaktadır. Çocuklarda çeşitli yaş gruplarında etkili olan bakteriler Tablo 7’de verilmiştir (51).

Yenidoğan	1–3 ay	3 ay–15 yaş	15- 50 yaş	> 50 yaş
B grubu streptokoklar <i>E. coli</i>	B grubu streptokoklar <i>S. pneumoniae</i> <i>Salmonella</i> türleri <i>L. monocytogenes</i> <i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>M. tuberculosis</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>L. monocytogenes</i> Gram negatif çomaklar

Tablo 7: Menenjit Etkenlerinin Yaşa Göre Dağılımı

2.9.2. Epidemiyoloji

Dünyada, bakteriyel menenjit insidansının 100 bin kişide % 4.6-10 olduğu bildirilmiştir. Tüm olguların % 70 kadarının beş yaş altı çocuklarda görüldüğü bildirilmiştir (52). A.B.D.’inde 1978–1981 yılları arasında 27 eyalette yapılan bir araştırmada, bakteriyel menenjit olgularında % 80 oranında *H. influenzae*, *N. meningitidis* ve *S. pneumoniae* saptanmıştır. Ancak son 15 yıl içerisinde bakteriyel menenjitin epidemiyolojisinde büyük değişiklikler meydana gelmiştir. 1995 yılında yapılan bir çalışmada bakteriyel menenjit insidansında bir azalma olduğu izlenmiştir. Bu düşüşün en önemli nedeni konjugatif *H. influenzae tip b (Hib)* aşısının rutin aşılama programına dahil edilmesidir. Hib aşılamaından

sonra bakteriyel menenjit insidansının yarı yarıya azaldığı bildirilmiştir. Aşılamanın bir diğer etkisi olguların yaş dağılımında izlenmiştir. Hib aşılamasından önce olguların 2/3'ü ilk beş yaş içinde görülürken artık çoğunluğu erişkin yaş grubunda gelişmektedir (49).

Sosyoekonomik koşulların menenjit insidansı üzerine etkisi iyi bilinmektedir. Yoksulluk, kalabalık yaşam, sağlık hizmetlerine ulaşmadaki güçlük ve ebeveynlerin düşük eğitim düzeyi, menenjit insidansını artıran faktörler olarak belirlenmiştir (51).

Ülkemizde menenjitte ilgili yapılan az sayıdaki çalışmada, akut menenjit olgularında *Haemophilus influenzae* izolasyonunun, düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak olguların kayıtlarının sistematik bir şekilde yapılmaması gösterilmiştir. Akut bakteriyel menenjit olguları daha çok sonbahar sonu, kış ve ilkbahar başlangıcında görülmektedir.

H. influenzae bebeklerle birlikte, humoral immünitesi zayıf olan (diabetis mellitus, splenektomi yapılanlar, hipogamaglobulinemi bulunan) büyük çocuklarda da oldukça sık görülmektedir (52).

S. pneumoniae yetişkin menenjitlerinde önemli bir etkindir. Pnömonokok menenjit, pnömoni, otitis media, mastoidit, sinüzit, endokardit gibi pnömonokok enfeksiyonlarının seyri sırasında komşuluk veya kan yoluyla uzak bir odaktan kaynaklanabilir. Splenektomi, multipl myeloma, hipogamaglobulinemi, malnütrisyon, kronik karaciğer ve böbrek hastalığı olanlarda enfeksiyon ciddi seyretmektedir (53).

N. meningitidis menenjiti epidemilere neden olabilmesi ile diğer etkenlerden ayrılır. *N. meningitidis* A grubu, epidemilerin çoğundan; B,C,Y grubu ise sporadik olgulardan sorumludur. Meningokok menenejitinin diğer adı "epidemik menenjitdir". Ancak askeri birlikler, okul yatakhaneleri ve hapishane gibi toplu yaşanan yerlerde lokal epidemiler çıkabilir. Son 15 yılda bakteriyel menenjit epidemiyolojisindeki bir diğer önemli değişiklik adolesan ve genç erişkin yaş grubunda meningokokal menenjit vakalarında insidansın yükselmesidir (54).

L. monocytogenes enfeksiyonunun yenidoğanlarda çok yaygın olduğu bildirilmiştir. Gebelerin genital sistemi ve rektumunda asemptomatik olarak bulunabilmektedir. Vakaların % 10'nun yeni doğanlarda görüldüğü bildirilmiştir. Yaşlılar, alkolikler, kanserli hastalar, immunosuprese bireyler, diabet hastaları,

kollajen vasküler hastalığı olan kişiler, kronik böbrek ve karaciğer hastalığı olanların, *L. monocytogenes* menenjitine yakalanma açısından risk grubunda oldukları bildirilmiştir (55).

Streptococcus agalactiae, asemptomatik gebe kadınların % 15-40'ının vajinal veya rektal kültürlerinde izole edilmiştir. Anneden bebeğe etken bu yolla geçmektedir. Altta yatan hastalığı olan yetişkinlerde de görülebileceği bildirilmiştir (56).

Gram negatif aerobik bakteri menenjitleri, kafa travması veya nöroşirurjik operasyonlar sonrası ve yaşlı, immunsupresif bireyler, Gram negatif bakteri sepsisli hastalarda sık görülmektedir. *Staphylococcus aureus* menenjiti, genellikle nöroşirurjik işlemler ve travma sonrasında görülmektedir (57, 58).

Tüberküloz menenjit, toplumda tüberkülozun yaygınlığına paralel olarak görülmektedir. Çocukluk çağında, özellikle ilk 5 yaşta sıkça görüldüğü ve genellikle primer enfeksiyonun komplikasyonu olarak geliştiği belirlenmiştir. Erişkin yaş grubunda her yaşta görülebilir, en fazla 25–45 yaşları arasında rastlanmaktadır (59, 60).

Viruslar aseptik menenjitin en önemli nedeni olarak kabul edilmektedirler. A.B.D.'de aseptik menenjitlerin yılda 10.9/100.000 kişide görüldüğü bildirilmiştir. Aseptik menenjit olgularının % 80-85'inden enteroviruslar ve bütün aseptik menenjit olgularının % 0.5 -3'ünden HSV tip 1 ve tip 2 sorumludur (51).

2.9.3. Patogenez

Menenjitler çok sık olmamalarına rağmen, halen normal konakta gelişen en ciddi enfeksiyonlardır. Mortalite ve morbidite oranları çok yüksektir; her 10 menenjit vakasından biri kaybedilmekte ve her 7 vakadan birinde ciddi sekeller kalmaktadır. Bakteriyel menenjitin gelişmesi için patojen mikroorganizmaların subaraknoid boşluğa kadar ulaşması gereklidir. Genellikle bakterilerin, korunma mekanizmalarının oldukça sınırlı olduğu bu vücut boşluğuna geçişleri, hematojen yolla olur. Özellikle nazofarenkste kolonize olan bakterilerin çeşitli nedenlerle (sıklıkla viral üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra) dolaşıma geçişleri ile hematojen yayılımları gerçekleşir (52,53).

Menenjit gelişimi için mikroorganizmaların dört ana aşamayı gerçekleştirmesi gerekir. Bunlar; kolonizasyon ve mukozal invazyon, dolaşıma geçiş ve vücut savunma mekanizmalarından kurtulma, kan-beyin engelini geçiş, BOS içinde yaşamını sürdürme ve çoğalma olmak üzere dört aşamada gerçekleşmektedir. Bu basamaklara karşı avantajlı morfolojik veya fonksiyonel özelliği olan mikroorganizmalar daha sık menenjit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (58).

Bakteriyel menenjitlerin en sık etkeni olan *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*'in nörotropik potansiyelleri konakçının defansından kurtulma yeteneği ile ilişkilidir. Etken patojen, konakçının mukozal epitelinde kolonize olduktan sonra intravasküler boşluğa geçer ve orada canlı kalır, daha sonra da kan-beyin bariyerini geçerek BOS içinde yaşamaya başlar (52).

Patojen mikroorganizmanın konakçı mukozasına yerleşmesinden BOS içinde çoğalmasına kadar gelişen bakteriyel nörotropizm mekanizması tablo 8'de gösterilmiştir (53).

Nörotropik Durum	Konağın Savunması	Patojenin Stratejisi
Kolonizasyon veya Mukozal invazyon	Sekretuar IgA Silier aktivite Mukozal epitelyum	IgA proteaz sekresyonu Siliostaz Adeziv pili
Intravasküler yaşama	Alternatif kompleman yolu	Polisakkarid kapsül
Kan-beyin bariyerinin geçilmesi	Serebral endotel	Adeziv pili
BOS içinde yaşama	Zayıf opsonik aktivite	Bakteri çoğalması

Tablo 8: Bakteriyel Nörotropizmin Patogenetik Mekanizması

2.9.4. Klinik

Klinik belirti ve bulgular hastanın yaşı ve hastalığın şiddetine göre oldukça değişiklik gösterir. Erken dönemde tanı ve tedavi, prognoz açısından son derece önemli olduğundan bulguların çok dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bakteriyel menenjitin başlangıcı genellikle ani ve yavaş olarak iki şekilde görülür. Ani başlangıç gösteren şekilde, semptomlar akut olarak ortaya çıkar ve hızlı bir seyir gösterir. Hastalarda genellikle beyin ödemi, transtentoriyal ve serebellar herniasyon vardır. Yavaş başlangıç gösteren hastalarda ise semptomlar 1-7 gün içinde ortaya çıkar. Sıklıkla üst solunum yolu

enfeksiyonunun bazı semptomları da birlikte bulunur. Daha nadir olmak üzere semptomlar bazı hastalarda solunum yolu hastalıklarından 1–3 hafta sonra ortaya çıkar (61).

Yeni doğanlarda menenjit non-spesifik bulgularla seyretmektedir. Nörolojik bulgular silik ya da yoktur. Ateş olmayabilir. Genellikle süt emmeme, kusma, huzursuzluk, ağlama, uyuklama, solunum düzensizlikleri ile sepsise benzeyen tablo vardır. Yeni doğanda sepsis düşünülen her durumda lomber ponksiyon yapılmalıdır. Büyük çocuklar ve yetişkinlerde akut bakteriyel menenjit genellikle ateş, titreme, şiddetli baş ağrısı, kusma ve fotofobi ile prodromsuz başlamaktadır. Konvulziyonlar menenjitin ilk işareti olabilir. Menengial irritasyon bulguları (ense sertliği, Brudzinski belirtisi, Kernig belirtisi, tüfek tetiği biçiminde yatış, opistotonus) çoğunlukla pozitifdir. Reflekslerin şiddeti değişebilir, patolojik refleksler (Babinski belirtisi, Gordon belirtisi, Oppenheim belirtisi, Chadock belirtisi, Schaefer belirtisi) ortaya çıkabilir. Menenjitte kafa içi basıncın artması önemlidir. Baş ağrısı, projektal kusmalar, bradikardi, bradipne, epileptiform konvulziyonlar, respiratuvar aritmler ve papil ödemi basınç artışının klinik belirtilerini oluşturabilirler. Hastalarda motor ve mental bozukluklar da (konvulziyon, ajitasyon, konfüzyon, stupor, koma) ortaya çıkabilir. Bakteriyel menenjitte % 5- 40 oranında işitme kaybı görülür. En ciddi işitme kaybı sıklıkla pnömokok menenjitinde gözlenir. Ayrıca meningokok menenjitli olguların hemen hemen yarısında makulopapüller, peteşiyel, purpürik döküntüler görülebilir. Adrenokortikal nekroz gelişirse deride yaygın kanamalar oluşabilir. Yüksek ateş ve karın ağrıları ile birlikte şok (Waterhouse-Friederichsen sendromu) gelişebilir. Birçok bakteriyel menenjitli hastada, aşırı antidiüretik hormon salınımına bağlı olarak hiponadremi ile birlikte uygunsuz antidiüretik sendromu gelişebilir (52).

Viral menenjitlerde başlangıç akut olmakla beraber menenjit belirtileri ortaya çıkmadan önce, hastalarda prodromal grip benzeri bir sendrom bulunabilir. Menengeal irritasyon bulguları vardır. Klinik tablo bakteriyel menenjitlere göre daha hafiftir (51).

Tüberküloz menenjiti bazı farklarla klinik olarak diğer menenjitlere benzerlik gösterir. Sinsi bir gelişim gösterir. Çoğu olgunun kendisinde veya ailesinde tüberküloz öyküsü bulunur. (60)

2.9.5. Tanı

Ateş, baş ağrısı, bulantı-kusma ve bilinç değişikliği olan bir hastada menenjit düşünerek hareket etmek bir zorunluluktur. Tanı LP yapılarak alınan BOS'un incelenmesi ile konur. Dikkatli yapılan LP'nin kontrendikasyonları oldukça azdır. Her LP yapılışında mutlaka önce basınç ölçülmeli, sonra hücre sayımı, biyokimyasal inceleme (şeker, protein) ve mikrobiyolojik incelemeler için örnekler alınmalıdır (61).

Menenjitte BOS renginin bulanık olması, şekerin düşük olması ve parçalı nüveli lökositlerden zengin pleositoz olması temel bulgulardır. BOS normalde berrak görünümündedir. Kan glukoz düzeyi normal (70-120 mg/dl) olduğunda normal BOS/serum glukoz oranı 0.6'dır. BOS/kan glukoz oranının 0.5'den küçük olması anormal kabul edilir. Bakteriyel menenjitlerde bu değer genellikle 0.3'den küçüktür. BOS protein düzeyinin 50 mg/dl üzerinde olması anormal kabul edilir. LP travmatik olduğunda BOS'taki her 1000 eritrosit için 1 mg/dl protein artışı olduğu göz önüne alınmalıdır. Çocuklarda BOS'ta 0-5 mononükleer hücre (lenfosit ve monosit) olabilir. Normalde BOS'ta polimorfonükleer lökosit (PMNL) yoktur. Bakteriyel menenjitli vakaların % 90'ında BOS'ta lökosit sayısı 100/ml'den, % 65-70'inde 1000/ml' den fazladır ve PMNL hakimiyeti (total hücrenin % 75-95'i PMNL'dir) vardır. Hastalığın erken döneminde lenfosit hakimiyeti görülebilir. Viral menenjitli vakaların % 20-75'inde de hastalığın erken döneminde PMNL hakimiyeti görülür. Yenidoğan, çocuk ve erişkinlerdeki normal BOS bulguları tablo 9'da gösterilmiştir (62,63).

Bazen hastalığın erken döneminde BOS bulguları normal olabilir; bu sebeple şüpheli durumlarda 12-18 saat sonra yeniden LP yapılarak değerlendirilmesi faydalı olur. Tablo 10'da menenjitli hastalardaki BOS bulguları verilmiştir (52).

Görünüm	Berrak, Su Gibi
Renk	Renksiz
Dansite	1.006-1.008
pH	7.31
Hücre sayısı	0-5 Lenfosit/Mm ³
Protein	Lomber 20-40 Mg/Dl, Sisternal 15-25 Mg/Dl, Ventrikül 5-10 Mg/Dl
Albumin	% 50-55, Gama globulin % 8-10, 6 Günlüğe Kadar Olan Çocuklarda 70 Mg/Dl, 4 Yaşına Kadar Olan Çocuklarda 24-25 Mg/Dl
Glukoz	Açlık Kan Şekerinin 1/2-2/3 Kadarı. 45-60 Mg/Dl. Diabetlilerde Daha Yüksektir
Klorür	113-127 Meq/L
Sodyum	117-137 Meq/L
Potasyum	2.3-4.6 Meq/L
Kalsiyum	2.3 Meq/L
Magnezyum	2.2 Meq/L
Üre	8-28 Mg/Dl
Laktik dehidrogenaz	8-50 Ünite/L

Tablo 9 : Normal Beyin Omurilik Sıvısının Özellikleri

	Akut bakteriyel	Viral aseptik	Tbc menenjit
Görünüm	Bulanık	Berrak opakt	Berrak opakt
Renk	Samani, yeşilimsi	Renksiz	Ksantokromik
Lökosit sayısı	>1000/mm ³	< 1000/mm ³	< 1000/mm ³
Lökosit tipi	PMNL	Lenfosit	Lenfosit
Protein	100-400mg/dl	45-100mg/dl	100-500mg/dl
Glukoz	< 40mg/dl	Normal	< 40mg/dl

Tablo 10: Menenjitli Hastalarda BOS Bulguları

Akut bakteriyel menenjitli bir hastada ilk 12 saatte BOS bulanık olmayabilir. Tüberküloz menenjitli hastaların BOS'larını da her zaman ksantokromik renkte görmek mümkün olmayabilir. Bazı aseptik viral menenjitli hastaların BOS'unda ilk etapta PMNL'lerin çoğunlukta olduğu görülebilir. Aksine listeria, brusella akut bakteriyel menenjitlerinde BOS'ta lenfositler PMNL'lerden fazladır, görünüm bulanık değildir. Glukoz konsantrasyonu normal kalabilir (62). BOS alındıktan sonra ilk yapılması gereken işlemlerden biri de 1 ml BOS'un santrifüj edilerek tüpün dibinden yayma yapıp, Gram boyası ile boyanmasıdır. BOS'ta bakteri görünme oranı bakteri sayısına bağlıdır. Direkt boyalı preparatlarda bakteriyi görme şansı % 50–80 civarındadır. Akut bakteriyel menenjitli hastalarda BOS'un rutin olarak ekilebileceği en uygun besiyeri, çikolata agar veya Thayer-Martin agar'dır. *Haemophilus influenzae*'nin üremesini sağlamak için aynı besiyerine hematin ve nikotinamid içeren "Haemophilus supplement" eklenmesi yeterlidir. İnkübasyonun % 10 karbondioksit içeren ortamda yapılması *N. meningitidis* ve *B. abortus*'un üremesini kolaylaştırır, diğer bakterilerin üremesini ise engellemez. *N. meningitidis* kolayca otolize uğrayacağından BOS bekletilmeden ekim yapılmalıdır (52). Akut bakteriyel menenjitli hastalarda tüm enfeksiyonlarda olduğu gibi tam kan, idrar, dışkı ve balgam incelemeleri indirekt olarak tanıya yardımcı olur. Bakteriyel menenjitte genellikle lökositoz ve sola kayma vardır. Hastalığın ilk 48 saati içinde lökositoz görülmeyebilir. Uygunsuz antidiüretik hormon (ADH) salınımı olan hastalarda hiponatremi, serum ozmolaritesinde azalma, idrarla sodyum kaybında artma ve yüksek idrar ozmolaritesi görülür. BOS'ta yapılan özel tetkikler Counter immunelektroforez ve lateks partikül aglütinasyon testi ile kapsüler polisakkarit antijenlerinin aranması, BOS'ta akut faz reaktanlarının, LDH ve laktik asit düzeylerinin saptanması olarak sayılabilir. Bir diğer özel tetkik PZR'dir. PZR özellikle kültür negatif bakteriyel menenjitlerde etkenin tespiti için kullanılabilir. Ayırıcı tanıda, viral aseptik menenjit ve ensefalitler, fungal menenjit, amip meningoensefalitleri, subaraknoid kanama, intraserebral anevrizma perforasyonu ilk düşünülmesi gereken hastalıklardır. Ayrıca nörosifiliz, Lyme hastalığı, MSS belirtilerinin ağır seyrettiği tifo, enfeksiyöz mononükleozis, riketsiya enfeksiyonları akut bakteriyel menenjitleri taklit edebilir. BOS bulguları herhangi bir infektif menenjite uymayan hastalarda serebral lösemik tutulum, menengeal karsinomatozis, glioma sarkoidozis,

vaskülit, infektif endokarditli hastada septik emboli hatırlanması gereken diğer hastalıklardır (63).

2.9.6. Tedavi

Antimikrobiyal ajanlarla menenjitlerin mortalitesinde belirgin düşüşün sağlanmasına rağmen, morbiditesi bugün için de ciddi problem olmaya devam ettiği için tedaviye erken dönemde başlanması önemlidir.

Akut bakteriyel menenjit tedavisinde antibiyotikler intravenöz yoldan uygulanmalı, bakterisidal antibiyotikler tercih edilmelidir. Altta yatan hastalığı, immun yetersizliği olanlarda, travmatik ve postoperatif gelişen menenjitlerde ampirik tedavide daha geniş antibakteriyel spektrum sağlayacak antibiyotik kombinasyonu düşünülmelidir ve BOS'a iyi geçtiği bilinen antibiyotikler tercih edilmelidir. İyi bir menenjit tedavisi için kullanılan antibiyotiğin, üretilen bakteri için saptanan minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin 10–30 kat konsantrasyonu BOS'ta elde edilebilmelidir. Genel olarak kabul görmüş tedavi sürelerinden önce tedavi kesilmemelidir (64).

BOS, metilen mavisi ve Gram boyası ile boyandıktan sonra mikroskopta görülen bakteriye göre antibiyotik seçimi aşağıdaki şekilde yapılabilir.

1-Gram pozitif diplokok (*S. pneumoniae*): Vankomisin+Seftriakson veya Sefotaksim.

2-Gram negatif diplokok (*N. meningitidis*): Kristalize Penisilin G veya ampisilin. Penisilin alerjisi olanlarda kloramfenikol.

3-Gram pozitif basil (*L. monocytogenes*): Ampisilin (veya Kristalize Penisilin G)+Gentamisin.

4-Gram negatif kokobasil (*H. influenzae*): Sefotaksim veya Seftriakson.

5-Gram negatif basil: (*Enterobacteriaceae*) Seftazidim+Amikasin veya gentamisin olabilir (65).

Aşağıda BOS kültüründe üreyen bakteriye göre antibiyotik seçim ilkeleri verilmiştir:

I- *S. pneumoniae*: Vankomisin+Seftriakson veya Sefotaksim.

II-*N. meningitidis*: Kristalize Penisilin G kristalize veya ampisilin.

III-*H. influenzae*: Seftriakson, veya sefotaksim (Ampisilin+kloramfenikol uzun yıllar kullanılmıştır).

IV-*L. monocytogenes*: Ampisilin+gentamisin.

V-B grubu streptokok: Ampisilin+gentamisin.

VI-*Enterobacteriaceae*: Seftriakson veya sefotaksim (alternatif: sefepim, meropenem).

Akut bakteriyel menenjitin tedavisinde kortikosteroidler kullanılmaktadır. Kortikosteroidlerin akut bakteriyel menenjitteki kullanımında amaç, subaraknoid bölgedeki inflamasyonu önleyerek beyin dokusunda oluşabilecek zedelenmeyi engellemek, mortaliteyi ve nörolojik sekelleri azaltmaktır (64).

2.10. EFÜZYONLU OTİTİS MEDIA (EOM)

Efüzyonlu otitis media (EOM) orta kulak boşluğunda seröz veya mukoid bir sıvının birikmesi sonucu işitme kaybı ile karakterize olan bir hastalıktır. Günümüzde EOM'nin etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. EOM çocuklarda üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık görülen enfeksiyondur. Gerçek insidans aşırı tanı konulmasına veya tanının gözden kaçırılması gibi nedenlerle her zaman doğru olarak saptanamamaktadır. Akut inflamasyon (Akut otitis media) sonrasında uygun tedavi almış çocuklarda bile orta kulak efüzyonu belirli bir süre devam eder, bu nedenle bir süre izlem gerekir (3).

2.10.1. Etiyoloji

Otitis media (OM); akut otitis media (AOM), efüzyonlu otitis media (EOM) veya kronik efüzyonlu otitis media (KEOM), kronik supuratif OM (KSOM) (koleastomalı veya koleastomasız) gibi adlar alabilir. AOM etkenleri sıklıkla nasofarinkste kolonize bakterilerden kaynaklanır. Bunlar arasında en önemlileri; *S. pneumoniae* (pnömokok, olguların % 30–50), *H. influenzae* (% 20–30) ve *M. catarrhalis* (% 10-20)'dir (65). Daha sonra grup A streptokok (yaklaşık % 5), *S. aureus* (< % 1) ve diğer etkenler gelir. Yenidoğanda Gram negatif ve grup B streptokoklar önemlidir. AOM' ların % 10–40'ında etken izole edilemediği için bundan viral etkenlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Viral etkenler arasında özellikle Respiratuvar Sinsitial Virus, Rinovirus, Adenovirus, ve İnfluenza virus önemlidir (66).

Kronik efüzyonlu otitis media etkenleri AOM ile aynıdır ama izolasyon oranı daha düşüktür ve sıklık sırası değişkendir; *H.influenzae* (% 12-13), *M. catarrhalis* (% 6-9), *S. pneumoniae* (% 6-8) etkendir. Steril veya patojen saptanamama oranı AOM'dan daha yüksektir (% 25-66). KSOM ; perfore kulak zarından 6 haftayı geçen purulan akıntıyla karakterizedir. Drenaj mikrobiyolojisi, sıklıkla polimikrobik olup Gram negatifler ön plandadır. *Pseudomonas spp* (% 64), *S.aureus* (% 18), anaeroblar (% 33–70), izole edilebilir. Anaerobların AOM, OME, KEOM ve KSOM patogenezindeki rolleri kesin belirlenmemiştir (67) .

2.10.2. Epidemiyoloji

AOM'ye en sık 3 ay- 3 yaş arası çocuklarda rastlanmaktadır; 7 yaşına kadar % 84 bir kez AOM geçirilir. Olguların 1/3'ünde birden fazla atak meydana geldiği belirlenmiştir (3).

OM tanılarının çoğu AOM şeklindedir. Bebek ve küçük çocuklarda risk en fazladır, pik dönem 6-13 aylar arasındadır, insidans 6 yaştan sonra azalır. Sık OM geçiren çocuklarda (6 yaşına kadar 6 ve üzerinde atak) otite meyilli (otitis prone) tanımlaması yapılmıştır. Orta kulak efüzyonu, AOM atağından sonra çocukların % 40'ında 4 hafta, % 10'unda 3 ay persiste eder. İnsidansı arttıran risk faktörleri; erkek cinsiyet, yarı damak veya diğer kraniofasial anomalilerin mevcudiyeti, kreş-yuva gibi kalabalık ortamlarda bulunma, pasif sigara içimi, anne sütü almama, ailede (kardeşler veya ebeveyn) OM öyküsü varlığı sayılabilir (Tablo 11). Üst solunum yolu enfeksiyonu atakları (viral veya bakteriyel), AOM riskini arttırdığı için üst solunum yolu enfeksiyonlarının sık görüldüğü kış mevsimlerinde OM riski artar. Viral etiyolojiyle komplike olmuş bakteriyel otitlerde semptomlar daha uzun devam etmektedir (68).

Gelişmiş ülkelerde toplum sağlığı ve ülke ekonomisi üzerindeki etkileri göz önüne alınarak EOM prevalansı ve risk faktörleri ile ilgili yapılan çalışmalarda EOM'lu çocukların oranının % 14 ile % 40 arasında değiştiği bildirilmektedir. Ülkemizde bütün ülke çapında EOM prevalansını gösteren ya da kümülatif insidans bildiren çalışmalar mevcut değildir. Ancak yapılan çalışmalarda EOM prevalansı % 11.2 ile % 18.3 arasında değişmektedir (67,69).

Doğumda Mevcut Risk Faktörleri	Edinsel Risk Faktörleri
Kraniofasyal anomali Östaki tüp anomalisi Ailede rekürren AOM öyküsü İmmün yetmezlik Erkek cinsiyet	Allerji Anne sütü almama/biberonla besleme Kreş/yuva vs gidişi İlk atağın erken geçirilmesi Östaki tüp disfonksiyonu Solunum yolu viral enfeksiyonu Kardeş sayısı Pasif sigara içimi

Tablo 11: EOM Risk Faktörleri

2.10.3. Patogenez

AOM veya rekürren OM insidansının artışı; özellikle östaki tübü disfonksiyonu ve rekürren solunum yolu enfeksiyonuna duyarlılığın arttığı durumlar olmak üzere, birçok faktörün kombinasyonuna bağlıdır. Çocuklarda östaki borusu daha kısa, daha horizontal ve nazofarengeal yerleşimlidir. Adenoid vejetasyon veya viral enfeksiyonlar sırasında geçici gelişen nazofarengeal lenfoid hiperplazi östaki ağzını mekanik olarak tıkar. Adenoidit; ödem ve enfeksiyonun yayılabilmesi açısından da risk oluşturabilir. Östaki borusunun sağlıklı çalışması orta kulak sağlığı açısından çok önemlidir. Östaki borusu; istirahatte normalde kapalı olup, yutkunma ile M. tensorveli palatini kasının yardımıyla açılır. Östaki borusu normalde nazofarengeal sekresyonların orta kulağa ulaşmasını engeller, ayrıca orta kulak sekresyonlarının nazofarenkse iletilmesini (drenajını) sağlar ve orta kulak havalanmasının atmosfer ile dengelenmesine yardımcı olur. Östaki borusunun mekanik veya fonksiyonel obstruksiyonu, orta kulakta negatif basınç ve tüp disfonksiyonuna yol açar. Mekanik obstruksiyon; allerji, enfeksiyona bağlı ödem gibi faktörlere bağlı olarak intrensek olabilir veya adenoid veya enfeksiyona bağlı lenfoid hiperplazi gibi faktörlere bağlı olarak ekstrensek olabilir. Fonksiyonel obstruksiyon; özellikle küçük bebek ve çocuklarda sık olup, tüpün gerginliğini sağlayan kartilajın yeterince gelişmemesine bağlıdır, ayrıca kafa kaidesi ve yarık damakla birlikte giden malformasyonlarda östaki tübünün fonksiyonu etkileyen kaslardaki sorunlar nedeniyle fonksiyonel obstruksiyon gelişebilir (66).

Negatif basınç devam ederse transüda niteliğinde orta kulak efüzyonu gelişir. Efüzyonun nazofarenkse drenajı, mukosilyer aktivitenin bozukluğu ile veya artan orta kulak negatif basıncıyla ilişkili olarak inhibe olabilir. Tüp inkomplet tıkalı ise, nazofarenksten orta kulağa sekresyon reflüsü olabilir. Bu reflüyü kolaylaştıran etkenler arasında; timpanik membranda delik veya tüp varlığına bağlı reflü, negatif orta kulak basıncına bağlı aspirasyon veya ağlama, burun çekme, hapşırma veya burun tıkalı iken yutkunma gibi durumlardaki havanın orta kulakta artması sayılabilir. Pasif sigara içimi; respiratuvar epitele irritan etki, silyer fonksiyon inhibisyonu gibi etkilerle risk oluşturabilir. Allerjisi olan çocuklardaki OM insidansının non-allerjiklerle benzer bulunmasına rağmen alerjinin bireysel bazda kolaylaştırıcı etkileri olabilir. İmmunolojik immaturite özellikle küçük bebeklerde kolaylaştırıcı bir faktör olabilir (70).

2.10.4. Klinik

İlk şikayet devamlı ve ciddi kulak ağrısıdır. İşitme kaybı olabilir. Çocuklarda ateş, bulantı, kusma ve ishal meydana gelir. Birlikte ÜSYE, 6 aydan küçüklerde bronşiolit ve pnömoni görülebilir. Ateş, 40.5°C'ye kadar yükselebilir (% 30–60 olguda ateş olmayabilir, özellikle iki aydan küçük çocuklarda ateşe sık rastlanmaz). Süt çocuğu ve küçük çocukta bulantı, kusma, ishal, irritabilite, aşırı ağlama yakınmaları vardır. Timpanik membran eritemli ve dışı doğru şişkinlik yapar; anatomik sınırlar belirsizleşir. Timpanik membranın spontan perforasyonunu sonunda kanlı, serosanginöz veya pürülan otere görülür (39).

Otitis Media, orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile östaki borusunu kaplayan mukozanın enfeksiyonudur. Orta kulak ve bunun ile irtibat halinde bulunan boşlukların enfeksiyonu ile karakterize olan pek çok klinik tablo vardır ve bu tablolar zaman içinde birbirine dönüşebilirler. Hastalığın başlangıç tarzına ve süresine göre OM' leri akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırmak mümkündür:

1- Akut

Ani olarak başlayan ve 3 hafta içinde sonlanan OM' ler akut otitis media olarak tanımlanır. AOM'nin evreleri; Hiperemi, eksüdasyon, süpürasyon, rezolüsyon, koalesans ve mastoidit ve komplikasyondur.

2- Subakut

Üç hafta ile üç ay arasında devam eden OM' lerdir. Üç hafta içinde iyileşemeyen AOM'ler, AOM atağı sonrasında devam eden orta kulak efüzyonları bu grupta değerlendirilir.

3- Kronik

Orta kulak ve bağlı boşluklarının mukozasının, üç aydan daha fazla devam eden enfeksiyon ve enflamasyonlarını ifade eder. Kronik OM' ler iki ana gruba ayrılır:

a) Kronik Süpüratif OM (KOM): AOM atağı sonrasında ortaya çıkan perforasyon ve enfeksiyon-enflamasyon bulgularının üç aydan daha fazla devam etmesidir.

b) Kronik Efüzyonlu OM (SOM): AOM atağı sonrasında veya AOM atağı olmaksızın oluşan efüzyonun üç aydan daha fazla devam etmesidir (23).

2.10.5. Tanı

Pnömotik otoskopi ile yapılan muayenede, timpanik membranın hiperemik, bombe, mat ve hareketsiz görülmesiyle tanı konulur. Pnömotik otoskopun, AOM tanısında sensitivitesi % 90, spesifitesi yaklaşık % 80'dir (68,71). Pnömotik otoskopi etkili olarak kullanılmıyorsa timpanometriden, timpanik membran kompliansını ölçmek ve orta kulakta sıvı varlığını göstermek amacıyla yararlanılabilir (70). AOM'nin mikrobiyolojik tanısı; orta kulaktan timpanosentez ile alınan sıvının kültürünün yapılmasıdır. Uygun antibiyotik tedavilerine ısrarla yanıt vermeyen olgularda, çok şiddetli ve toksik tablonun varlığında, mastoidit gibi süpüratif komplikasyonların varlığında, yeni doğanlar ve bağışık yetmezlikli hastalar gibi etkenin kestirilemediği durumlarda timpanosentez yapılması önerilir (61).

Günümüzde EOM'den sorumlu etkenlerin izole edilmesinde moleküler biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Multipleks, Nested, PZR ve hibridizasyon yöntemlerinden faydalanılarak EOM'nin major etkenleri olan *H. influenzae*, *S. pneumoniae* ve *M. catarrhalis* saptanabilmektedir (16,17,72,73,74).

2.10.6. Tedavi

Medikal tedavide, en önemli faktör antibiyotiklerdir. Oral amoksisilin öncelikle seçilecek ilaçtır. Tedaviye cevap alınamaması durumunda sefuroksim aksetil, sefaklor, klaritromisin, sulbaktam-ampisilin, amoksisilin-klavulanat verilebilir. Tedaviye 10 gün devam edilmeli ve iyileşme açısından kontrol yapılmalıdır. Oral veya topikal dekonjestan veya antihistaminikler medikal tedavide kullanılmaktadır. Analjezik ilaçlar da kullanılır (3).

Cerrahi tedavide, Akut otitis medianın kapalı bir boşlukta abse bulgularına sahip olduğu düşünülerek, eksüdasyon safhasında pürülan materyalin drenajını sağlamak için parasentez yapılmalıdır. Ayrıca medikal tedaviyle düzelmeyen ve immün yetmezliği olan kişilere de uygulanabilir (67).

2.10.7. Korunma

İyi beslenme (süt çocukluğu döneminde anne sütünün yeterli süre verilmesi), uygun ağız hijyeni, ÜSYE'nin uygun tedavisi ve evde sigara içilmemesi EOM'den korunmada ilk basamakları oluşturmaktadır. İmmün yetmezliği olanlara profilaktik antibiyotik; amoksisilin, 10-20 mg/kg/gün verilir. İlk yaşta iki atak veya altı ayda üç atak veya bir yılda dört atak varsa 20 mg/kg amoksisilin günde bir kez veya sulfisaksazol 50 mg/kg yararlı olabilir. Hib polisakkarit aşısı, proteinle birleştirilmiş *S. pneumoniae* aşısı ve sonbahar aylarında influenza aşısı uygulanması yararlı olmaktadır (42).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışma Grubu ve Örnekler

Çalışmamızda, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi kliniklerinden (Kulak-Burun-Boğaz AD, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD) Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen 117 BOS ve ortak kulak efüzyonu 36 örnek incelenmiştir.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

- **Otomatik Pipetler**
 - Tek kanallı 20 µl, 200 µl ve 1000 µl lik Eppendorf (Eppendorf Reference, Germany) marka pipetler, kullanıldı. Steril pipet ucu olarak 2 µl, 10 µl, 200 µl ve 1000 µl'lik filtreli plastik pipet (Eppendorf Reference, Germany) uçları kullanıldı.
- **Thermal Cycler**
 - PZR işlemlerinin yapılmasında programlanabilen üst kapak ısıtmalı otomatik thermal cycler (Eppendorf, Mastercycler Gradient 22331, Germany) kullanıldı.
- **Elektroforez Tankı ve Güç Kaynağı**
 - Agaroz jel elektroforez (Biometra) işlemlerini gerçekleştirmek amacıyla kullanıldı.
- **Jel Görüntüleme ve Analiz Sistemi**
 - UV translüminatörlü (Salubris-technica) bilgisayarlı jel dokümantasyon sistemi elde edilen jeldeki bantların görüntülenmesinde kullanıldı.
- **Hassas Terazî**
 - Kimyasal maddelerin tartımında hassas terazî (Scaltec) kullanıldı.

- **Vorteks (Mekanik Karıştırıcı)**
 - PZR işlemleri sırasında örneklerin ve PZR komponentlerinin karıştırılması için Vorteks (Nüve) cihazı kullanıldı.
- **Soğutmalı Santrifüj**
 - Örneklerin santrifüj edilmesi ve PZR işlemleri sırasında santrifüj işleminin gerekli olduğu durumlarda çözelti ve karışımların çöktürülmesi amacıyla soğutmalı santrifüj cihazı (Hettich) kullanıldı.
- **İnkübatör**
 - Ekimi yapılan besiyerlerinin inkübasyonu için inkübatör (Memmert) kullanıldı.
- **Otoklav**
 - Besiyerlerinin ve solüsyonların sterilizasyonu için otoklav (Nüve) kullanıldı.
- **Steril laminar akımlı güvenlik kabini**
 - Ekimlerin, besiyerlerinin steril bir biçimde hazırlanması, aynı şekilde DNA ekstraksiyonu, PZR ve kesim reaksiyonunun steril bir ortamda gerçekleştirilebilmesi için steril laminar akımlı güvenlik kabini (Heraeus, Germany) kullanıldı.
- **Benmari**
 - Ben-mari (Memmert), DNA ekstraksiyonunda ve hazırlanan solüsyonların ısı ile çözülmesinde kullanıldı.
- **Mikroskop**
 - Gram boyama ile yapılan preparatların incelemesi ışık mikroskopunda (Olympus) yapıldı.
- **Mikrodalga Fırın**
 - Elektroforezde kullanılan agarozun tampon solüsyonu içerisinde eritilmesinde mikrodalga fırın (Beko, MD 1500) kullanıldı.
- **Derin Dondurucu**
 - DNA ekstraksiyonu, PZR ve kesim sonucu elde edilen örneklerin saklanması için derin dondurucu (- 20 °C, Uğur, 2005) kullanıldı.

3.2. Örneklerin Kültürü ve İdentifikasyonu

3.2.1. BOS Kültürü

BOS örnekleri steril tüp içerisine alındıktan sonra laboratuara gönderilmiştir. Gelen örnekler kanlı ve çikolata agara inoküle edildi. Örneklerin geri kalan kısmı moleküler analizlerde kullanılmak üzere steril ependorfa alınarak – 70 C° de saklandı. Ekim yapılan petriyer 24–48 saat süreyle 37 °C' de hem aerob ortamda hem de % 5 CO₂'li ortamda inkübe edildi.

3.2.2. Orta Kulak Efüzyonu Kültürü

Orta Kulak Efüzyonu örnekleri, steril tüp içerisine alındıktan sonra laboratuvara gönderildi. Gelen örnekler, kanlı ve çikolata agara ekildi. Örneklerin geri kalan kısmı, moleküler analizlerde kullanılmak üzere, 0,5 ml steril serum fizyolojik ile süspanse edilerek steril ependorfa alınıp ve – 70 C° de saklandı. Ekim yapılan petriyer, 24–48 saat süreyle 37 °C'de hem aerob ortamda hem de % 5 CO₂'li ortamda inkübe edildi.

3.2.3. İdentifikasyon

İdentifikasyonda, *H. influenzae* ATCC 49247 suşu kontrol olarak kullanıldı. Üreme olan kültürlerdeki şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı. Gram negatif kokobasiller, serum fizyolojikte süspanse edildikten sonra X ve V faktör disklerinin yerleştirildiği çikolata agara ekildi. *S. pneumoniae* identifikasyonunda, Gram boyama yapıldı. Gram pozitif diplokoklar, serum fizyolojikte süspanse edildikten sonra % 5 koyun kanlı agara ekildi. Kültür pozitif örneklere Optokin testi yapıldı, optokine duyarlı örnekler *S. pneumoniae* olarak tanımlandı.

3.2.4. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Besiyerleri ve Boyalar:

3.2.4.1. Kanlı Agar (Biomerieuks 825273801):

Bu besiyerinin içeriği aşağıdaki şekildedir.

Distile su	1 L
Blood agar	40 g
Kan	40ml (Besiyeri otoklavlanıp 42 °C'ye geldikten sonra eklenir)

3.2.4.2. Thayer Martin Agar (Fluka 1152133):

Bu besiyerinin içeriği aşağıdaki şekildedir.

Proteaz pepton	15g
Buğday nişastası	1 g
K ₂ HPO ₄	4g
KH ₂ PO ₄	1g
NaCl	5g
Agar	10g
Saf su	500 ml

Thayer-Martin Supplement I (Fluka 44051)

Vankomisin	1,5 g
Colistin methane sulphanate	3,75 mg
Trimethoprim	2,5 mg
Niyastin	6'250 ünite

Thayer-Martin Supplement II (Fluka 90541)

Vitamin B12	0,1 mg
L-Glutamin	100 mg
Adenin sülfat	10 mg
Guanin hidroklorid	0,3 mg
Paraaminobenzoik asit (PABP)	0,13 mg

L-Sistein	11 mg
NAD (Koenzim)	2,5 mg
Kokarboksilaz	1 mg
Ferrik nitrat	0,2 mg
Tiyamin Hidroklorid	0,03 mg
Sistein Hidroklorid	259mg
Dekstroze	1g
Distile su	10 ml

3.2.4.3. Gram Boyama

Gram boyamada kullanılan kimyasallar ve içerikleri aşağıda verilmiştir.

Kristal Viyole (Merck ZC255240)

Kristal viole	20 g
Amonyum oksalat	8 g
% 96 Etil alkol	200 ml
Saf su	800 ml

Lugol

Stok Lugol

İyod (Merck B962361)	5 g
Potasyum iyodür (Merck B339840)	10 g
Saf Su	100 ml

Sulu Fuksin

Bazik fuksin (Merck ZC262337)	2 ml
Distile su	18 ml

3.2.5. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için Fenol-Kloroform yöntemi kullanıldı (75)

- a) Bunu için 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere;
 - 100 µl örnek (BOS/orta kulak efüzyonu örneği)
 - 300 µl lizis buffer
 - 0,5 µl proteinaz K eklenmiştir (stok 100 mg/ml).
 - Benmari'de 56 °C' de 4 saat inkübasyon yapıldı.
- b) Toplam hacmin iki katı fenol-kloroform çözeltisi eklendi.
- c) + 4 °C'de 30 dakika bekletildi.
- d) Karışım + 4 °C'de 15.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra supernatant steril bir eppendorfa aktarıldı.
- e) Supernatant üzerine hacmin iki katı fenol-kloroform eklenerek vortekslenip, + 4 °C'de 30 dakika bekletildi ve 15.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi.
- f) Supernatant steril bir eppendorfa aktarılıp ve hacmin iki katı kloroform eklendi. Alt-üst edilip karıştırıldıktan sonra 4 °C'de 15.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi.
- g) Supernatant steril bir eppendorfa aktarılıp üzerine 1000 µl etil alkol (%99'luk) eklenmiştir ve 1 gece – 20 °C'de bekletildi.
- h) – 20 °C'den çıkarılan örnekler 4 °C'de 15.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi.
- i) Etil alkol içeren supernatant atılıp DNA pelleti 37 °C'de kurumaya bırakıldı.
- j) Kuruma işlemi bittikten sonra sediment üzerine 25 µl steril distile su eklenerek süspanse edilip, ekstraktlar PZR işleminde kullanılmak üzere – 20 °C'de muhafaza edildi.

3.2.5.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasallar

- **Sıvı Fenol (Sigma- 125K0707) :**
- **Proteinaz-K (10mg/ml):** Hazır olarak alınan liyofilize 10 mg Proteinaz-K (Sigma) 1 ml steril distile su ile çözülerek 10 mg/ml'lik konsantrasyona getirildi. 50 µl'lik porsiyonlara ayrıldı. -20 °C'de saklandı.
- **Fenol-Kloroform (100ml için):** 1:1 olacak şekilde 50 ml fenol ve 50 ml kloroform karıştırıldı. Karışım ekstraksiyon işleminin gerçekleştirileceği gün hazırlandı.
- **% 70'lik etil alkol (100 ml için):** 70 ml absolu etil alkol 30 ml distile su ile karıştırıldı ve +4 °C'de saklandı.
- **% 95'lik etil alkol (100 ml için):** 95 ml absolu etil alkol 5 ml distile su ile karıştırıldı ve +4 °C'de saklandı.

3.2.5.2. Elektroforetik Analiz Solüsyonları

a) 10 X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Stok solüsyonu

- 108 g Tris-base(Sigma T-1503, USA) (0,9 M)
- 55 g Borik asid (Merck 2993665, USA) (0,9 M)
- 8,3 g EDTA (Sigma E-6788, USA) pH 8,0 (20mM)
- Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda çözülerek pH 8,0'e ayarlandı.
- Otoklavda sterilizasyon yapılarak oda ısısında saklandı (75).

b) 1X TBE (Çalışma solüsyonu)

- 100 ml 10 X TBE üzerine, 900 ml distile su eklendi.
- Elektroforez tankına konularak kullanıldı.

c) Etidiyum Bromid Solüsyonu (10mg/ml)

- 0,1 g Etidiyum bromid (Sigma E-9884, USA) 10 ml distile su içinde çözüldü.

- Işığa hassas olduğu için alüminyum folyo ile sarılarak + 4 ° C' de saklandı.

d) Yükleme tamponu (6X) (86):

- 1 X TBE
- % 40 Sukroz (Sigma S–7903, USA)
- % 0,025 Brom fenol mavisini (Sigma B–0126, USA) .

e) Bromtimol mavisini:

- 0,4 gr bromtimol (Merck 64271, Darmstad, Germany) mavisini 100 ml distile su içerisinde çözüldü.

3.2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği

PZR ile forward ve reverse primerler kullanılarak *H. influenzae*'ya ait gen bölgesi çoğaltıldı. PZR koşullarının standardizasyonu amacıyla ön denemeler yapıldı. PZR karışımı kontaminasyonun önlenmesi amacıyla steril, temiz kabinlerde hazırlandı. PZR karışımı 50 µl olacak şekilde steril distile su, tampon (1X) (promega), MgCl₂ (2.5 mM) (promega), dNTP (200 µl) (promega), primerler (Forward (HI-I): 5V ACT TTTGGC GGT TAC TCT GC 3', Reverse (HI-II): 5V TGT GCCTAA TTT ACC AGC AT 3'), Taq polimeraz (2.5 U/µl) (Promega) ve ekstrakte edilen DNA' sını konularak hazırlandı (76). Amplifikasyonda kullanılan PZR programı Tablo 12'de verilmiştir.

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5	1
Denatürasyon	94	1	35
Primer Bağlanması	56	1	
Zincir Uzaması	72	1,5	
Son Uzatma	72	5	1

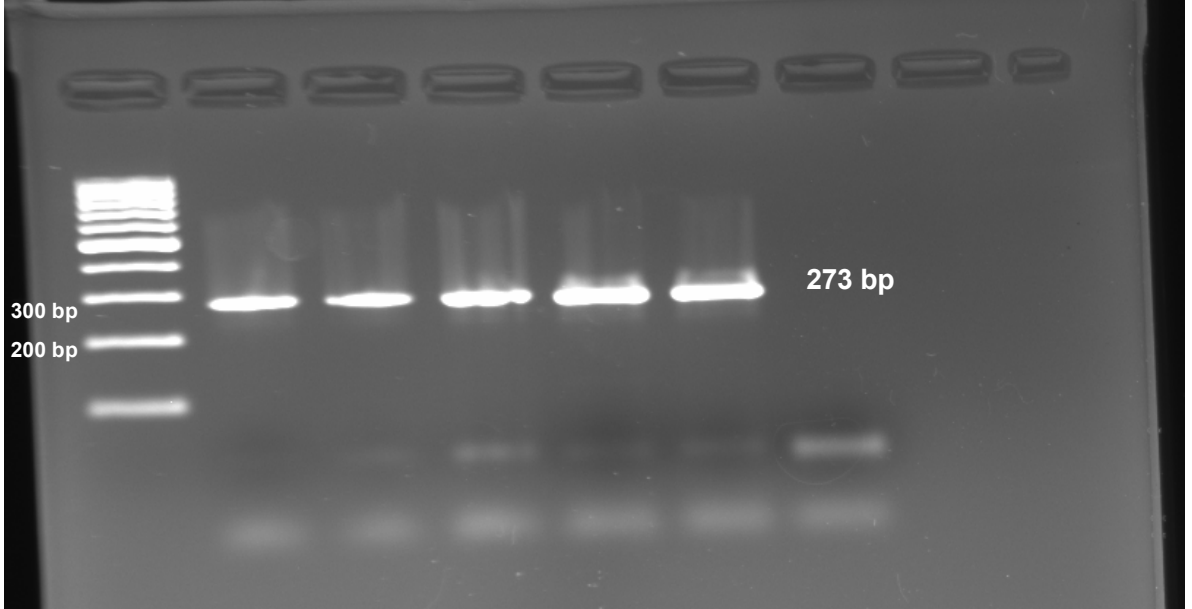
Tablo 12: PZR Programı

PZR ile çoğaltılan bölgelerin amplifikasyon ürünleri % 2'lük agaroz jelle yüklenerek elektroforez yapıldı. Örnekler agaroz jelle yürütülerek elde edilen

bant uzunlukları moleküler ağırlık markera göre pozitif ve negatif kontrollerle karşılaştırılarak identifikasyon yapıldı.

3.2.7. Elektroforez

PZR programı tamamlandıktan sonra amplifiye olan bölgeler % 2'lik agaroz jelde analiz edildi. % 2'lik agaroz jel içerisine 0,5 mg/ml etidiyum bromür eklendi. Daha sonra, PZR reaksiyonu ürünlerine 6X yükleme tamponundan 1/5 oranında (1 hacim yükleme tamponu, 5 hacim PZR reaksiyonu ürünü) eklendi. Örnekler agaroz jele yüklendikten sonra 100 mA, 70 Volтта 35 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Elektroforez sonucu, UV translüminatörlü (Salubris-technica) bilgisayarlı jel dokümantasyon sistemi ile fotoğrafı çekilerek yorumlandı. Primerlerin çoğalttığı bölge 273 bç'lik olup, beklenen bant uzunluğu, moleküler marker (Roche'dan DNA 100 base pair ladder (katalog no:1721933) yardımıyla yorumlandı.

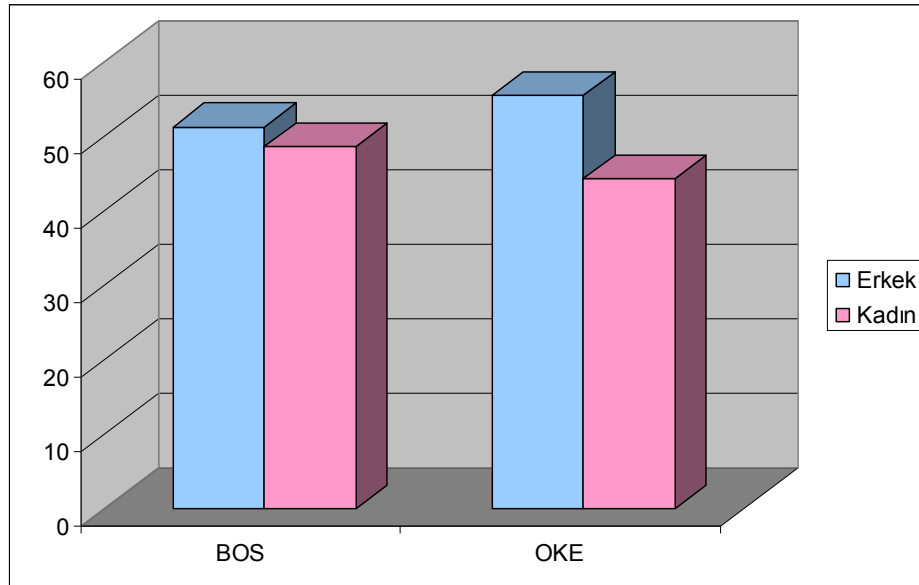


Şekil 1: Elektroforez Görüntüsü

4. BULGULAR

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına, EOM tanısı konan hastalardan alınan 36 orta kulak efüzyonu örneği ile menenjit öntanısı alan hastalardan alınan 117 BOS örneği çalışmamıza dahil edildi.

Çalışılan 153 hastanın 80'i erkek (% 52,3) ve 73'ü (% 47,7) kadındır. 117 BOS örneğinin 60'ı (% 51,3) erkek ve 57'si (% 48,7) kadındır. 36 OKE örneğinin ise 20'si (% 55,6) erkek ve 16'sı (% 44,4) kadındır (Şekil 2).



Şekil 2: Cinsiyete Göre Örneklerin Dağılımı

153 hastanın yaşları 1–87 arasında olup yaş ortalaması 19,91 olarak bulundu. 117 BOS örneğinin yaşları 1–87 (ort: 19,64) ve 36 OKE örneğinin yaşları 2–55 (ort: 20,78) arasındadır.

153 örneğin 69'u (% 45,1) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, 1'i (%0,7) Psikiyatri AD, 25'i (% 16,3) Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD, 13'ü (% 8,5) Acil Tıp AD, 7'si (% 4,6) Nöroloji AD, 2'si (1,3) Nöroşirurji AD, 28'i (% 18,3) Kulak-Burun-Boğaz AD ve 8'i (% 5,2) Mersin Devlet Hastanesi'nden alındı. 117 BOS örneğinin 69'u (%59,0) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, 1'i (%0,9) Psikiyatri AD, 25'i (%21,4) Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD,

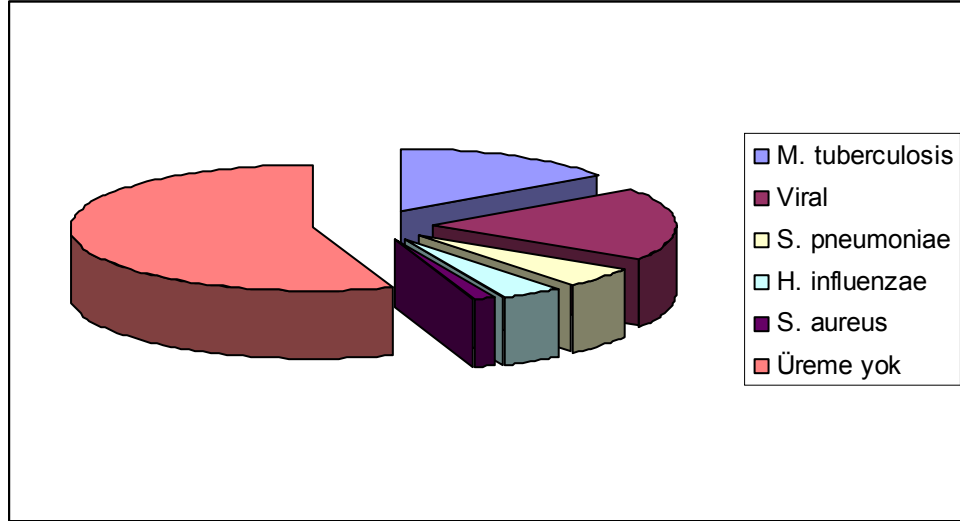
13'ü (% 11.1) Acil Tıp AD, 7 (% 6) Nöroloji AD, 2 (% 1.7) Nöroşirurji AD'dan alındı. 36 OKE örneğinin ise 28'i (%77,8) Kulak-Burun-Boğaz AD'dan ve 8'i (% 22,2) Devlet hastanesinden alındı.

153 örneğin 11'i (%7,2) Ocak, 18'i (%11,8) Şubat, 18'i (% 11.8), 12'si (% 7.8) Mart, 21'i (% 13.7) Nisan, 7'si (% 4.6) Mayıs, 9'u (% 5.9) Haziran, 4'ü (% 2.6) Temmuz, 1'i (% 0.7) Ağustos, 15'i (% 9.8) Eylül, 12'si (% 7.8) Ekim, 16'sı (% 10.5) Kasım, 27'si (% 17.6) Aralık aylarında toplandı. BOS ve OKE örneklerinin aylara dağılımı tablo 13'de verilmiştir

Grup	Ay	Frekans	Yüzde (%)	Grup	Ay	Frekans	Yüzde (%)
BOS	Ocak	6	5.1	OKE	Ocak	5	13.9
	Şubat	9	7.7		Şubat	9	25.0
	Mart	7	6.0		Mart	5	13.9
	Nisan	18	15.4		Nisan	3	8.3
	Mayıs	7	6.0		Temmuz	3	8.3
	Haziran	9	7.7		Eylül	3	8.3
	Temmuz	1	0.9		Ekim	2	5.6
	Ağustos	1	0.9		Kasım	4	11.1
	Eylül	12	10.3		Aralık	2	5.6
	Ekim	10	8.5				
	Kasım	12	10.3				
	Aralık	25	21.4				
	Toplam	117	100.0		Toplam	36	100.0

Tablo 13: Örneklerin Aylara Göre Dağılımı

117 BOS örneğinden, 43'üne (% 36,8) Menenjit dışı tanılar konmuştur. Menenjit tanısı konulan 74 hastanın 41'inde (% 55,4) hiçbir üreme olmadı. Diğer örneklerden ise 3'ünde (% 4,1) *H. influenzae*, 11'inde (%14,9) *M. tuberculosis*, 4'ünde (% 5,4) *S. pneumoniae*, 1'inde (% 1,4) Metisiline Dirençli *S. aureus* üretti. Ayrıca BOS örneklerinin 14'üne (%18,9) aseptik menenjit tanısı kondu.



Şekil 3: BOS Örneklerindeki Etkenlerin Dağılımı

4.1. Kültür ve PZR Sonuçları:

Bu çalışmada 117 BOS örneğinin 3'ünde (% 2.5) *H. influenzae* üredi. BOS örneklerinin 117'sinin 3'ü hem kültür hem PZR pozitif bulunurken örneklerden 1'i kültürde negatifken PZR'de pozitif olarak saptandı. Ayrıca örneklerin 113'ü kültür ve PZR'de negatif olarak bulundu. Kültürün pozitif, PZR'nin negatif olduğu örnek saptanmadı.

36 orta kulak efüzyonu örneğinin hiçbirinde üreme olmadı. Ancak örneklerden 1'i PZR'de pozitif (*H. influenzae*) olarak saptandı. 35 orta kulak efüzyonu örneği kültür ve PZR'de negatif olarak bulundu.

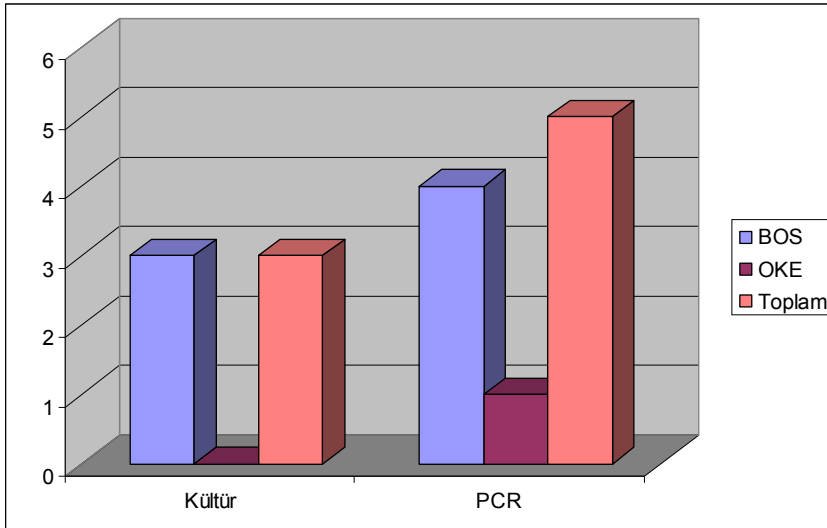
Çapraz tablolardan yararlanarak BOS örneklerinin kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında PZR'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.12, Pozitif Kestirim Değeri (PKD) % 75 ve Negatif Kestirim Değeri (NKD) % 100 olarak hesaplandı.

Orta kulak efüzyonu örneklerinin hiçbirisi kültürde üremedi ancak 1 örnek PZR ile pozitif olarak bulundu ve orta kulak efüzyonu örneklerinde PZR'nin özgüllüğü % 97.22 olarak saptandı.

BOS ve orta kulak efüzyonu örneklerinde kültürlerde elde edilen çalışma dışı etkenlere tablolarda ve istatistiksel hesaplamalarda yer verilmedi.

			Kültür			Duyarlılık	Özgüllük	PKD	NKD
			Pozitif	Negatif	Toplam				
PCR	BOS	Pozitif	3	1	4	100,00 (30,48– 100,00)	99,12 (95,19– 99,85)	75,00 (20,34– 95,88)	100,00 (96,76– 100,00)
		Negatif	0	113	113				
		Toplam	3	114	117				
	OKE	Pozitif	0	1	1	-	97,22 (85,42– 99,54)	0,00 (0,00– 83,45)	100,00 (89,90– 100,00)
		Negatif	0	35	35				
		Toplam	0	36	36				
	TOPLAM	Pozitif	3	2	5	100,00 (30,48– 100,00)	98,67 (95,26– 99,80)	60,00 (15,40– 93,51)	100,00 (97,51– 100,00)
		Negatif	0	148	148				
		Toplam	3	150	153				

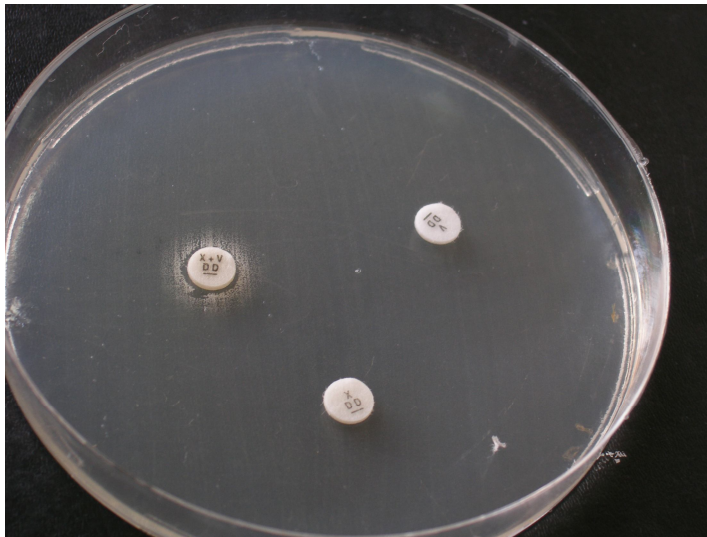
Tablo 14: Kültür ve PZR Sonuçları



Şekil 4: Kültür ve PZR Sonuçları



Şekil 5: Çikolata Agar'da Üreyen Haemophilus Kolonileri.



Şekil 6: Mueller-Hinton'da XV Disklerinin Etrafında Üreyen *Haemophilus influenzae* Kolonileri.

Çalışma grubunun demografik özelliklerinin sunumunda tüm örnekler için ve BOS ile OKE grupları için ayrı ayrı olmak üzere tanımlayıcı istatistikler hesaplandı. Demografik özelliklerin sunumunda sürekli değişkenler için minimum, maksimum değerler ve ortalama \pm standart sapma kullanıldı. Kategorik verilerin özetlenmesi amacıyla ise frekans ve yüzdeler tablo halinde verildi. Kültür ve PCR yöntemlerinin karşılaştırılmasında çapraz tablolardan yararlandı. Çapraz tablolardan yararlanarak Duyarlılık (Sensitivity), Özgüllük (Specificity), Pozitif Kestirim Değeri (Positive Predictive Value, PPV) ve Negatif Kestirim Değeri (Negative Predictive Value, NPV) hesaplandı. İstatistik analizler MedCalc v.10.0.1 ve SPSS v.11.5 paket programları kullanılarak yapılmıştır. Grafik çizimlerinde ek bir araç olarak Microsoft Office Standard Edition for Students and Teachers, Microsoft® Office Excel 2003 modülünden yararlandı.

5. TARTIŞMA

Vücutta büyük yıkımlara yol açan bakteriyel menenjit gibi hastalıklarda, mortalite ve morbiditeyi önlemek için, erken tanı ve tedavinin önemi büyüktür. Menenjitlerin tanısı için birçok yöntem geliştirilmiştir. Semptom ve klinik bulgular tanıda önemli olmakla birlikte, BOS'un rutin biyokimyasal ve mikrobiyolojik tetkikleri tanıyı koydurabilir. Ancak bazen BOS'un rutin tetkikleri tanı için yeterli olmayabilir. Bu nedenle, BOS'un moleküler biyolojik yöntemlerle değerlendirilmesi gerekmektedir (51). Menenjit oluşturan etkenler; bakteriler, virüsler, mantarlar, spiroketler, riketsiyalar, protozoa, helmintler ve diğer etkenler olabilir. Akut bakteriyel menenjit olgularının, % 80–85 kadarından *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* sorumlu olmasına karşın, belli yaşlarda ve bazı durumlarda etkenlerin görülme sıklığı değişir. Yeni doğanlarda B grubu *Streptokoklar*, menenjitin birincil etkeniyken, 3–15 yaş arasında en sık *H. influenzae*, 15 yaş üzerinde ise *S. pneumoniae* yer almaktadır (52).

Çocukluk çağı orta kulak hastalıkları arasında, sık görülen ve genel anlamıyla orta kulakta sıvı toplanmasıyla karakterize olan, efüzyonlu otitis media'nın etiyolojisi, patogenezi, tanı ve tedavisi yönünden hala tartışmaya açık pek çok yönü bulunmaktadır. Çocukluk çağının en sık işitme kaybı sebeplerinden biri olan EOM'nin, gerek medikal gerek cerrahi tedavisi, sosyoekonomik açıdan önemli olup, yeni tedavi protokolleri, özellikle aşı ile önleme gibi girişimlere her geçen gün ilgi artmaktadır. EOM'den sorumlu olan veya patogeneizde rol oynayan mikroorganizmaların, prevalansı hakkında edinilecek bilgiler, en uygun antibiyotiğin seçilmesine ve dolayısıyla cerrahi gerektiren komplikasyonların azaltılmasına yardımcı olabilecektir (3).

Günümüzde, gerek kültür gerekse PZR gibi yöntemlerle, EOM mikrobiyolojisi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar için önemli sonuçlar elde edilmiştir (16). Önceden enfeksiyöz kabul edilmeyen, bu hastalığın etyopatogenezi, kültür yöntemleriyle orta kulak efüzyonlarında % 20–30 arasında üreme saptanmasıyla büyük oranda aydınlatılmıştır (17). Moleküler biyolojik yöntemler içerisinde yer alan, PZR'nin OKE'de bakteriyel DNA'yı saptama oranları % 75'e kadar çıkmıştır. Kültür ve PZR ile orta kulak efüzyonunda en sık saptanan patojenler *H. influenzae* başta olmak üzere *S. pneumoniae* ve *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*'tir (73).

Bu çalışmada 117 BOS örneğinden, 43'üne (% 36,8) Menenjit dışı tanılar konmuştur. Menenjit tanısı konulan 74 hastanın, 41'inde (% 55,4) hiçbir üreme olmamıştır. Diğer örneklerden ise 3'ünde (% 4,1) *H. influenzae*, 11'inde (%14,9) *M. tuberculosis*, 4'ünde (% 5,4) *S. pneumoniae*, 1'inde (% 1,4) Metisiline Dirençli *S. aureus* üredi. Ayrıca BOS örneklerinin 14'üne (%18,9) aseptik menenjit tanısı kondu.

Çalışmamızda, 117 BOS örneğinin 3'ünde (% 2.5) *H. influenzae* üredi. Bu örnekler PZR ile de pozitif bulunurken, örneklerden 1'i kültürde negatifken PZR'de pozitif olarak saptandı. Ayrıca örneklerin 113'ü kültür ve PZR'de negatif olarak bulundu. Kültürün pozitif, PZR'nin negatif olduğu örnek saptanmadı. BOS örneklerinde, kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında, PZR'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.12 olarak belirlendi.

36 orta kulak efüzyonu örneğinin hiçbirinde üreme olmadı fakat örneklerden 1'i PZR'de pozitif (*H. influenzae*) olarak saptandı. 35 orta kulak efüzyonu örneği, kültür ve PZR'de negatif olarak bulundu. Orta kulak efüzyonu örneklerinde, PZR'nin özgüllüğü % 97.22 olarak saptandı. BOS ve orta kulak efüzyonu örneklerinde, kültürlerde elde edilen çalışma dışı etkenlere tablolarda ve istatistiksel hesaplamalarda yer verilmedi.

Hotomi ve arkadaşları, EOM'li hastalarda yaptıkları çalışmada, *H. influenzae*'yi orta kulak efüzyonu örneklerinde major patojen olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada, *H. influenzae* EOM'li hastaların örneklerinin kültüründe negatif olup PZR'de saptanmıştır ve PZR'nin duyarlılığının yüksek olduğu bildirilmiştir (16).

Hendolin ve arkadaşları, 25 hastanın EOM örneklerinde *Alloiococcus otitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* patojenlerini multipleks PZR ve kültür yöntemleriyle araştırmışlardır. 25 örneğin 2'si hem PZR hem kültür pozitif, 11'i sadece PZR pozitifken kültür negatif, 4'ü hem kültür hem PZR negatif olarak bildirilmiştir. Hastaların kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında, *H. influenzae* için 2 (% 8) hastanın kültürü pozitif olarak belirlenmiş olup buna karşın 13 (% 52) hastanın PZR'si pozitif olarak saptanmıştır (17).

Ueyama ve arkadaşları'nın 80 hastanın orta kulak efüzyonu örneğinde yaptığı çalışmada, örneklerin 9'unda (% 11) *H. influenzae* ürerken, PZR'de 9

örneği pozitif olarak saptamıştır. Ancak kültürün negatif olduğu, 71 hastanın (% 89) 37'si PZR ile *H. influenzae* pozitif olarak bildirilmiştir (77).

Rayner ve arkadaşları, 93 orta kulak efüzyonu örneğinin, 11'ni (% 11.8) hem kültürde hem de PZR'de *H. influenzae* pozitif olarak bulurken, kültür negatif 29 (% 31.2) örneğin PZR sonucu, *H. influenzae* pozitif olarak belirlenmiştir (78).

Post ve arkadaşları, 97 EOM 'li hastanın örneğinin, 28'inde (% 28.9) hem kültür hem PZR ile *H. influenzae*, *M. catarrhalis* ve *S. pneumoniae* etkenlerini saptamışlardır. Bu çalışmada, her üç mikroorganizma açısından 97 örneğin 47'si (% 48.0) PZR pozitifken, kültür negatif olarak bildirilmiştir (18).

Liederman ve arkadaşları, çocuklarda kültür negatif olan 19 orta kulak efüzyonu örneğini PZR ile incelediklerinde, 15 örneği pozitif olarak bulmuşlardır. 15 örneğin 5'i *Haemophilus influenzae* olarak saptanmıştır (79).

Matar ve arkadaşları, efüzyonlu otitis media tanısı konmuş 47 çocuğun, orta kulak efüzyonu örneğini kültür ve PZR ile çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, kültür pozitif 10 örneğin, 9'u (% 90) *H. influenzae* pozitifken PZR ile 35 örneğin 33'ü (% 94.3) pozitif olarak belirlenmiştir (80).

Kalcioğlu ve arkadaşları, medikal tedaviye yanıt vermeyen 32 çocuğun, 54 orta kulak efüzyonu örneğinde, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* ve *S. pneumoniae* etkenlerini araştırmışlardır. Kültürde *H. influenzae* üretilmemiştir ancak PZR ile 7 örnekte pozitiflik saptanmıştır (81).

Gök ve arkadaşları, işitme kaybı olan 20 çocuğun 37 orta kulak efüzyonu örneğini *H. influenzae*, *M. catarrhalis* ve *S. pneumoniae* bakterileri açısından PZR ve kültür yöntemleriyle incelemiştir. 2 (% 22.2) örnekte *H. influenzae* ürerken 11 (% 31.4) örnek PZR ile pozitif olarak bulunmuştur (82).

Yukarıda verilen çalışmaların sonuçlarına paralel olarak yaptığımız çalışmada, orta kulak efüzyonu örneklerinin, sadece 1'i PZR ile pozitif olarak bulundu. Günümüzde konvansiyonel kültür yöntemleri altın standart olarak kabul edilmektedir. PZR ile *H. influenzae* gibi nazlı üreyen bakteriler hızlı ve duyarlı bir şekilde saptanabilmektedir. Ancak, PZR hem canlı hem de ölü bakterileri saptayabildiği için, aktif enfeksiyonun belirlenmesinde hala yeterli değildir.

Kanra ve arkadaşları tarafından, akut bakteriyel menenjitli çocuklarda görülen *H. influenzae*'nin ve diğer mikroorganizmaların sıklığı Gram boyama, kültür ve lateks aglütinasyon yöntemleriyle araştırılmıştır. Örneklerin % 64.4'ü

kültür pozitif bulunmuş olup, *H. influenzae*'nin sıklığı % 10.3 olarak belirlenmiştir (83).

Jang-Jih Lu ve arkadaşları, bakteriyel menenjit tanısı konmuş 150 hastanın BOS örneğininin, kültüründe (13 örnek) *E. coli*, *A. baumannii*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. tuberculosis*, *B grubu streptokoklar*, *P. aeruginosa* etkenlerini saptamışlar ve aynı zamanda PZR pozitif olarak belirlemişlerdir. Ancak *H. influenzae* kültürde ürememiş fakat PZR pozitif olarak bulunmuştur (84).

Corless ve arkadaşları, menenjit ön tanılı ve sepsisli 4113 hastanın sadece birinde PZR ile *Haemophilus influenzae*'yi belirleyebilmişlerdir. Bu hastanın kültürü negatif olup bu çalışmada PZR'nin menenjitli hastalarda erken tanıda yol gösterici olabileceği vurgulanmıştır (85). Benzer sonuç farklı araştırmacılar tarafından da doğrulanmış olup kültürün altın standart olmasına rağmen, PZR'nin duyarlılığının ve özgüllüğünün bu olgularda yüksek olduğu bildirilmiştir (86,87,88).

Shoma ve arkadaşları tarafından, BOS örneklerinde yapılan çalışmada, *H. influenzae* kültür pozitif 15 örnek, PZR ile de pozitif bulunurken, kültür negatif 8 örnek PZR ile pozitif olarak saptanmıştır. Ancak BOS ile PZR sonuçları karşılaştırıldığında, 8 hastanın kültür sonucu negatif olduğu için PZR pozitifliği yanlış pozitiflik olarak değerlendirilmiştir (89).

Pandit ve arkadaşları, 43 BOS örneğinin 21'ni PZR ile pozitif olarak saptamışlardır. Menenjitli hastaların 7'sinde, *M. tuberculosis*, 4'ünde *H. influenzae* PZR ile tespit edilmiş olup, kültürde *Haemophilus influenzae* ürememiştir (90).

Jbara ve arkadaşları tarafından, BOS ve orta kulak efüzyonu örneklerinde yapılan çalışmada, 53 BOS örneğinin sadece 1'nin kültüründe *S. pneumoniae* ürerken, *H. influenzae* ürememiştir ve PZR negatiftir. Daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak, kültür altın standart olarak kabul edilerek PZR'nin zor üreyen bakteriyel menenjit etkenlerinin tanısında, hızlı ve duyarlı olduğu belirlenmiştir (91).

Çalışmamızda BOS örneklerinde kültür ve PZR sonuçlarını karşılaştırdığımızda, PZR'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.12 olarak bulundu. Bulduğumuz sonuçlar daha önce farklı araştırmacılar tarafından yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD laboratuvarına, EOM tanısı konan hastalardan alınan 36 orta kulak efüzyonu örneği ile menenjit öntanıli hastalardan alınan 117 BOS örneği kabul edildi. Bu örneklere, kültür ve PZR yöntemleri uygulandı.

BOS örneklerinin, 117'sinin 3'ü hem kültür hem PZR pozitif bulunurken, örneklerden 1'i kültürde negatifken PZR'de pozitif olarak saptandı. 36 orta kulak efüzyonu örneğinin hiçbirinde üreme olmadı. Ancak örneklerden 1'i PZR'de pozitif (*H. influenzae*) olarak saptanırken, 35 orta kulak efüzyonu örneği kültür ve PZR'de negatif olarak bulundu.

Yaptığımız çalışma sonucunda, BOS örneklerinin kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında, PZR'nin duyarlılığı % 100, özgüllüğü % 99.12, Pozitif Kestirim Değeri (PKD) % 75 ve Negatif Kestirim Değeri (NKD) % 100 olarak hesaplandı. Orta kulak efüzyonu örneklerinde, PZR'nin özgüllüğü % 97.22 olarak saptandı.

Günümüzde, menenjit ve EOM'ye neden olan bakteriyel etkenlerin izolasyonunda ve tiplendirilmesinde, kültür altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak kültürde *Haemophilus influenzae* gibi etkenlerin zor üremesi ya da ürememesi nedeniyle zaman zaman negatif sonuçlar elde edilmektedir. Özellikle kültür negatif olan olgularda ortamda bulunan bakteri sayısı düşük olduğunda, PZR gibi moleküler yöntemlerle etkenlerin saptanması mümkün olmaktadır. Ancak, birçok çalışmada, moleküler yöntemlerin en önemli dezavantajının, yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar olduğu bildirilmiştir. PZR'de ortaya çıkan yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların, yöntemin standardize olmamasından, ortamda bulunan inhibitör, kontaminant maddeler ve DNA izolasyonundan kaynaklanan hatalardan olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, PZR yönteminin, yukarıda bahsedilen dezavantajlarından dolayı, günümüzde kültürün altın standart olarak yerini koruduğunu ve kültürde üremeyen veya zor üreyen menenjit ve EOM etkenlerinin saptanmasında, PZR yönteminin kültürü destekleyici bulgular sunduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/113/5/1412>.Erişim Tarihi 25/01/2009.
2. Langan LA, Sockalingam RS, Caissie R, Corsten G. Occurrence of otitis media and hearing loss among first nations elementary school children. *Canadian Journal of Speech-Language Pathology and Audiology*. 2007; 31 (4): 178–185.
3. Rosenfeld R.M, Culpepper L, Doyle KJ, Grundfast KM, Hoberman A, Kenna MA, Lieberthal AS, Moheney M, Wahl RA, Woods CR Jr, Yawn B. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Otitis Media with effusion: American Academy of Family Physicians; American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. Clinical Practice Guideline. Otitis Media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130:95–118.
4. Özkarakaş H. Kocaeli ilkokullarında bölgelere göre EOM prevalansı (+) (Ön Çalışma Raporu). *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 1995; 3: 99-101.
5. Hidayet A, İnci E, Korkut N, Ada M, Kaytaz A Devranoğlu İ. Okul öncesi kreş çocuklarında efüzyonlu otitis media. *Türk Otolarengoloji Arşivi*. 2002; 40(1): 53-57.
6. Kara OC, Dağlı Ő, Ensari S, Dere H, Akalın Y, Özdem C. Efüzyonlu otitis media pathogenezinde adenoid doku mast

hücre miktarının önemi. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 1994; 2 (3): 183-187.

7. Okur E, Yıldırım I, Kılıç MA, Güzelsoy S. Prevalance of otitis media with effusion among primary school children in Kahramanmaraş, in Turkey. *International Journal Pediatric Otolaryngolog*. 2004;68: 557-562.
8. Kılıç R, Özdek A, Emir H, Tarhan E, Şafak MA, Samim E. Efüzyonlu otitis media tedavisinde farklı antibiyotiklerin etkinliklerinin karşılaştırılması: Ön rapor. *Otoscope*. 2004; 2:49-53.
9. Şenol G, Eriş NF. Akciğer enfeksiyonlarında *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis* suşlarının izolasyon oranları ve antibiyotiklere direnci. *Toraks Dergisi*. 2000; 1: 46-49.
10. Yücel E, Sennaroğlu G. Efüzyonlu otitis media'nın ilkökul çağı çocuklarının gelişimine etkisi. *KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 1997;5: 161-164.
11. Şener B, Tunçkanat F, Ulusoy S, Tunger A, Söyletir G, Mülazimoğlu L, Gürler N, Öksüz L, Köksal İ, Aydın K, Yalçın AN, Ögünç D, Acar A ve Sievers J. A survey of antibiotic resistance in *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, 2004-2005. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 60: 587-593.

12. Egeli E, Kutluhan A, Kırış M, Çankaya H, Akaya S, İnalkaç E. Kronk otitis media nedeniyle opere edilen 92 vakanın retrospektif analizi. *Türk Otolaringoloji Arşivi* 1998;36 (3-4): 122-125.
13. Vayısoğlu Y, Söken H. Güzelyalı Askeri Hastanesinde Mayıs-Eylül 2007 döneminde rutin sağlık muayenesi yapılan erlerde kronik süpuratif otitis media prevalansı. *Gülhane Tıp Dergisi*. 2008; 50:238-240
14. Senturia BH, Gessart CF, Carr CD, Baumann ES. Studies concerned with tubatympanities. *Annals Otology Rhinology & Laryngology*. 1958; 67: 440–467.
15. Sutton et al. Resitant bacteria in the middle ear fluid at the time of tympanostomy tube surgery. *Annals Otology Rhinology & Laryngology*. 2000;109: 24-29.
16. Hotomi M, Tabata T, Kakiuchi E, Kunimoto M. Detection of *Haemophilus influenzae* in middle ear of otitis media with effusion by polymerase chain reaction. *International Journal of Pediatric Otolrhinolaryngology*. 1993;27: 119–126.
17. Hendolin P, Markanken A, Ylioski J, Wahlfors J. Use of multiplex PCR for simltenous detection of four bacterial species in middle ear effusion. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997;35: 2854–2858.

18. Post J, Preston RA, Aul JJ, Larkins-Pettigrew M, Rydquist-White J, Anderson KW, Wadowsky RM, Reagan DR, Walker ES, Kingsley LA . Molecular analysis of bacterial pathogens in otitis media with effusion. *The Journal of American Medical Association*. 1995; 273: 1598–1604.
19. De Gans J, Van de Beek D. European Dexamethasone in Adulthood Bacterial Meningitis Study Investigators. Dexamethasone in adults with bacterial meningitis. *New England Journal of Medicine*. 2002; 347: 1549–1556.
20. Bilgehan H. Klinik bakteriyoloji, Özel bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (Uygulama konuları ile). İzmir, 10. Baskı, 2000: 149–150
21. Leibovitz E, Jacobs MR, Dagan R. *Haemophilus influenzae* infections. *Immunology*. 2004; 113 (2): 163-74.
22. Erwin AL, Munford RS. Comparison of Lipopolysaccharides from brazilian purpuric fever isolates and conjunctivitis isolates of *Haemophilus influenzae* biogroup aegyptius. *Journal of Clinical Microbiology*. 1989;27: 762--767.
23. Jin Z, Romero-steiner S, Carlone GM, Robbins JB, Schneerson R. *Haemophilus influenzae* type a infection and its prevention. *Infection and Immunity*. 2007; 75: 2650-2654.
24. http://www.jaypeebrothers.com/pdf/his_med_bio.pdf. Erişim tarihi: 15/12/2008
25. <http://www.emedicine.com/ped/topic910.htm> Erişim tarihi: 15/12/2008.

26. Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov. and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006; 56: 2135–2146.
27. Kilian, M. A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. *Journal General Microbiology*. 1976; 93: 9–262.
28. Akçakaya N, Mamal Torun M, Söylemez Y, Serme R, Çokuğraş H, Ergin E, Pinçe O, Eşkazan G. Incidence of H. Influenzae in a day-care center. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 1997; 38:289-293.
29. Mamal Torun M. Haemophilus influenzae enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve Türkiye'deki durumu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Simpozyum Kitabı*. İzmir, No:38, 2001;38: 17-27.
30. Akçakaya N. *Haemophilus influenzae* tip b (Hib) Aşısı. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*. 2008; 2:17-19.
31. Mamal Torun M, Akçakaya N, Sevme R, Ergin S, Çokuğraş H, Tüysüz B. Cerrahpaşa tıp fakültesi çocuk sağlığı ve hastalıkları polikliniği'ne başvuran üst solunum yolu enfeksiyonu bulunan çocuklarda *Haemophilus influenzae* aranması. *İnfeksiyon Dergisi*. 1992; 6 (1):27-30.

32. Yücel A, Mamal Torun M, Ergin S, Sevme R. Anasınıfı öğrencilerinde *Haemophilus influenzae* tip b ile oluşan rinit salgını. *İnfeksiyon Dergisi*. 1993;27: 7 (1-2):27-30.
33. Kilian M, Sorensen I, Frederiksen W. Biochemical characteristics of 130 recent isolates from *Haemophilus influenzae* meningitidis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1979; 9: 409–412.
34. Mamal Torun M. Haemophilus. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Simpozyum Kitabı*. İzmir, No:38, 2001;38: 7–13.
35. Gildsorf JR, Marrs CF, Foxman B. *Haemophilus influenzae*: Genetic variability and natural selection to identify virulence factors. *Infection and Immunity*. 2004; 72: 2457-2461.
36. Öneş Ü. *Haemophilus influenzae* enfeksiyonları. *Klimik Derg*. 1990; 3: 119–122.
37. Joseph WS. The pathogenesis of nontypable *Haemophilus influenzae* otitis media. *Vaccine*. 2001;19;41-50.
38. Schilfgaard M, Ulsen P, Eijk P, Brand M, Stam M, Kouame J, Alphen L, Dankert J. Characterization adherence of nontypeable *Haemophilus influenzae* to human epithelial cells. *Infection and Immunity*. 2000: 68(8); 4658-65.
39. Öztürk R. Üst solunum yolu enfeksiyonları. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*. 2007; 55: 99-124.
40. <http://www.hpa-standardmethods.org.uk>. Erişim Tarihi: 12/01/2009.

41. Mandell, Bennett and Dolin. Principles and practice of infectious species. 6 th ed. Livingstone. 2005; 2752-2668.
42. Hausdorff PW, Hajjeh R, Al-Mazrou A, Shibl A, Soriano-Gabarro M. The epidemiology of pneumococcal, meningococcal and Haemophilus disease in the Middle East and North Africa (MENA) Region-Current status and needs. *Vaccine*. 2007; 25: 1935–1944.
43. Jacobs RM, Bajaksouzian S, Zilles A, Lin G, Pankuch GA, Appelbaum PC. Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to 10 oral Antimicrobial agents based on pharmacodynamic parameters:1997 U.S. surveillance study. *Antimicrobial agents and Chemotheraphy*. 1999; 43:1901–1908.
44. Küçükaraaslan A, Kocabeyoğlu Ö, Emekdaş G. Klinik örneklerden Haemophilus cinsi bakterilerin izolasyon sıklığı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 1992; 6 (2): 87-90.
45. Burke A, Cunha MD. Antibiotic resistance. *Medical Clinics of North America*. 2000; 84(6): 1-20.
46. Berkiten R. Türkiye’de *Haemophilus influenzae*: Beta-laktamaz pozitifliği ve antibiyotiklere direnç (1987–2002). 2004; 18(1): 53-60.
47. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A. Infectious diseases society of America/American Thoracic society consesnus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clinical Infectious Disease*. 2007; 44: 27–72.

48. Velipaşaoğlu S. ocukluk ağı bakteriyel pnomonilerinden korunma. *Aknem Derg.* 2004; 18: 62–64.
49. Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* Type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clinical Microbiology Reviews.* 2000; 13: 302–317.
50. www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hib. Erişim Tarihi: 12.10.2008
51. Mehta N. Meningitidis. *Hospita Pharmacist.* 1999; 6: 256-263.
52. Tlek N, Fışgın NT. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. Blm 7: 100. Akut Bakteriyel Menenjitler. Nobel Tıp Kitabevleri Cilt 2. 2002: 1390-1402.
53. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit I: Etiyopatogenez. *ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2003; 46:57-66.
54. Özgüneş N, Aksoy Y, Doğru A, Aydın ř, Yeşilkaya G. Pnokok menenjiti ile başvuran iki HIV/AIDS olgusu. *Klimik Dergisi.* 2003; 16 (3): 140-142.
55. Schuchat A, Robinson K, Wenger JD. Bacterial meningitidis in the United States. *New England Journal of Medicine.* 1997; 337: 970-976.
56. Salman N. Çocuklarda bakteriyel menenjite yaklaşım. *ANKEM Dergisi.* 2005; 19: 142–144.

57. Arda B, Yamazhan T, Sipahi OR. Meningitidis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Review of 10 cases. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005; 25: 414-418.
58. Parlak M. Akut Bakteriyel menenjitler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum dizisi. 2008; 61: 151-164.
59. Şengöz G. Sekseniki tüberküloz menejitli olgunun değerlendirilmesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2005; 53 (1): 50-55.
60. Kaptan F. Tüberküloz menenjit. *İnfeksiyon Dergisi*. 2005; 19 (1): 129-138.
61. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit II: Klinik bulgular tanı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2003; 46:128-138.
62. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit III: Tedavi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2003; 46: 217-223.
63. Bonsu BK, Harper MB. Fever interval before diagnosis, prior antibiotic treatment, and clinical outcome for young children with bacterial meningitis. . 2001; 32: 566-572.
64. Kara A. Menenjit tedavisi. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*. 2007; 1:40-44.
65. Sheldon L, Kaplan MD. Management of pneumococcal meningitidis. *Pediatr Infect Dis J*. 2002; 21: 589-591.

66. Ramakrishnan K, Sparks AR, Berryhill EW. Diagnosis and Treatment of otitis media. *American Family Physician*. 2007;11:1650-1658.
67. Hacımustafaoğlu M. İnvaziv H. influenzae Tip B Enfeksiyonları; Klinik ve Tedavi. *Güncel Pediatri*. 2004; 2:112-115.
68. Coorbel L. What is new in otitis media. *Eur J Pediatr*. 2007; 166(6): 511-9.
69. İnanlı S, Özer E. Öztürk Ö, Bekiroğlu N, Batman C, Tutkun A, Üneri C, Şehitoğlu MA. İstanbul'da Okul Öncesi ve Okul Çağındaki Çocuklarda Sekretuar Otitis Media Prevalansı ve Risk Faktörleri. *Otolarengoloji Arşivi*. 2000;38 (1):9-16.
70. Seçmeer G, Devrim İ. Üst solunum yolu enfeksiyonlarında medikal tedavide yenilikler. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2006;37:194-201.
71. Ulusoy S. Üst solunum yolu enfeksiyonlarında tetkik gerekli mi? *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*. 2008; 61: 67-70.
72. Hassan M, Baldeh I, Adegbola R. Detection of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* DNA in blood culture by single PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 1996; 34 (8): 2030-2032.
73. Bilal D, Hotomi M, Suzumoto M. Rapid identification of nontypeable and serotype b *Haemophilus influenzae* from nasopharyngeal secretions by the multiplex PCR. *Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2007; 71: 269-274.

74. Yadav MC, Chakraborti A, Ray P. Rapid detection of *Haemophilus influenzae* by *hel* gene polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*. 2003; 37: 190-195.
75. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd Ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989: 1-9.
76. Martin-Menezes LP, Meneze-Martins JJ, Michaelsen MS, Aguiar BB, Ermel T, Machado DC. Diagnosis of parapneumonic pleural effusion by polymerase chain reaction in children. *Journal of Pediatric Surgery*. 2005;40:1106–1110.
77. Ueyama T, Kurono Y, Shirabe F, Takeshita M, Mogi G. High incidence of *Haemophilus influenzae* in nasopharyngeal secretions and middle ear effusions as detected by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995;33(7): 1835-1838.
78. Rayner MG, Zhang Y, Gorry MC. Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *Journal of American Medical Association*. 1998;279(4):296-299.
79. Liederman EM, Post JC, Aul JJ, Sirko DA, White GJ, Buchman CA, Ehrlich GD. Analysis of adult otitis media: polymerase chain reaction versus culture for bacteria and viruses. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998; 107 (1):10-16.
80. Matar GN, Sidani N, Fayad M, Hadi U. Two-Step PCR-based Assay for identification of bacterial etiology of otitis media with effusion in infected Lebanese children. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; 36(5): 1185-1188.

81. Kalcioğlu MT, Öncel S, Durmaz R, Özerol İH, Özturan O. Kronik efüzyonlu otitis medialı çocuklarda orta kulak efüzyonu, nazofarenks ve dış kulak yolu florasında bakteriyoloji: *Alloiococcus otitis*'in araştırılması. *Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi*. 2001;8(2): 113-117.
82. Gök Ü, Bulut Y, Keleş E, Yalçın Ş, Doymaz MZ. Bacteriological and PCR analysis of clinical material aspirated from otitis media with effusions. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2001; 60:49-54.
83. Kanra G, Akan O, Ecevit Z, Ceyhan M, Seçmeer G. Microorganisms involved in acute bacterial meningitidis in children and the role of *Haemophilus influenzae*. *Turk J Pediatr*. 1996; 38(4): 407-412.
84. Lu JJ, Perng CL, Lee SY, Wan CC. Use of PCR with universal primers and restriction endonuclease digestions for detection and identification of common bacterial pathogens and cerebrospinal fluid. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(6): 2076-2080.
85. Corless CE, Guiver M, Borrow R, Edwards-Jones V, Fox AJ, Kaczmarek EB. Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* in suspected cases of meningitidis end septicemia using real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001;39(4): 1553–1558.
86. Chatelet IP, Traore Y, Gessner BD. Bacterial meningitis in Burkino Faso: surveillance using field-based polymerase chain reaction testing. *Clinical Infectious Disease*. 2005; 40:17-25.

87. Backman A, Lantz PG, Radström P, Olcen P. Evaluation of extended diagnostic PCR assay for detection and verification of the common causes of bacterial meningitidis i CSF and other biological samples. *Molecular and Cellular Probes*. 1999; 13: 49-60.
88. Margall M, Sancehez MM, Roig C. Evaluation of the polymerase chain reaction technique fort he diagnosis of meningitidis caused by Neisseria meningitidis and Haemophilus influenzae. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999; 17 (1):3-8.
89. Shomo S, Rahman M, Yasmin M. Rapid detection of Haemophilus influenzae type b in bangladashi children with pneumonia and meningitidis by PCR and analysis of antimicrobial resistance. *J Health Popul Nutr*. 2001;19(4):268–274.
90. Pandit L, Kumar S, Karunasagar I. Diagnosis of partially treated culture-negative bacterial meningitidis using 16SrRNA universal primers and restriciton endonuclease digestion. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005;54:539-542.
91. Jbara I, Baysallar M, Kılıç A, Yetişer S, Unay B, Açikel C, Yapar M, Doğancı L. Comparison of culture and polymerase chain reaction methods fort he detection of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Morexella catarrhalis* in cerebrospinal fluids and middle ear effusions. *Mikrobiyol Bul*. 2007; 41(4):495–502.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

EOM	Efüzyonlu otitis media
AOM	Akut otitis media
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
Hib	Haemophilus influenzae tip b
IgA	İmmunglobulin A
HIV	Human Immundeficiency Virus
PRP	Poliribozil-Ribitol-Fosfat
LP	Lomber ponksiyon
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
PKD	Pozitif Kestirim Değeri
NKD	Negatif Kestirim Değeri

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1: Elektroforez Görüntüsü	52
Şekil 2: Cinsiyete Göre Örneklerin Dağılımı	53
Şekil 3: BOS Örneklerindeki Etkenlerin Dağılımı	55
Şekil 4: Kültür ve PZR Sonuçları	56
Şekil 5: Çikolata Agar'da Üreyen <i>Haemophilus</i> Kolonileri	57
Şekil 6: Mueller-Hinton'da XV Disklerinin Etrafında Üreyen <i>Haemophilus influenzae</i> Kolonileri	57

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Farklı <i>Haemophilus</i> Türlerinin Ayırt Edici Özellikleri	9
Tablo 2. <i>H. influenzae</i> Tarihçe	11
Tablo 3. <i>Haemophilus</i> Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri I	15
Tablo 4. <i>Haemophilus</i> Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri II	16
Tablo 5: Lisans Alan Konjuge Hib Aşıları	26
Tablo 6: Menenjitte Neden Olan Etkenler	27
Tablo 7: Menenjit Etkenlerinin Yaşa göre Dağılımı	29
Tablo 8: Bakteriyel Nörotropizmin Patogenetik Mekanizması	32
Tablo 9: Normal Beyin Omurilik Sıvısının Özellikleri	35
Tablo 10: Menenjitli Hastalarda BOS Bulguları	35
Tablo 11: EOM Risk Faktörleri	40
Tablo 12: PZR Programı	51
Tablo 13: Örneklerin Aylara Göre Dağılımı	54
Tablo 14: Kültür ve PZR Sonuçları	56