

54746

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ORAK HÜCRE ANEMİLİLERDE H.INFLUENZAE
TİP B ve S.PNEUMONİAE KAPSÜL POLİSAKKARİT
ANTİJENLERİNE KARŞI AŞI İLE UYARILAN
İMMÜN CEVABIN ARAŞTIRILMASI.

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof.Dr.Erol AKAN

Arş.Görv.Dr.Filiz KİBAR
UZMANLIK TEZİ

ADANA/1996

İÇİNDEKİLER

| <u>KONU</u> : | <u>SAYFA</u> : |
|-------------------------------|-----------------------|
| 1. TABLO-ŞEKİL LİSTESİ | I |
| 2. METİN | |
| a. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 - 2 |
| b. GENEL BİLGİLER | 3 - 29 |
| c. GEREÇ ve YÖNTEM | 30 - 36 |
| d. BULGULAR | 37 - 47 |
| e. TARTIŞMA | 48 - 61 |
| f. SONUÇ | 62 |
| 3. ÖZET | 63 |
| 5. SUMMARY | 64 |
| 6. KAYNAKLAR | 65 - 78 |
| 7. ÖZGEÇMİŞ | 79 |

TABLO LİSTESİ

- Tablo-I.** H.influenzae'nın biotiplerinin özellikleri. (Sayfa-6)
- Tablo-II.** Çalışmaya dahil edilen kişilerin yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı.(Sayfa-37)
- Tablo-III.** İmmünizasyon amacı ile aşılanan hasta ve kontrol grubunda yer alanların yaş, uygulanan aşı ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı. (Sayfa-38)
- Tablo-IV.** Act-Hib aşısı uygulanan hastaların aşılama öncesi serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-39)
- Tablo-V.** Act-Hib aşısı uygulanan kontrol grubunun aşılama öncesi serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalaması ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-39)
- Tablo-VI.** Act-Hib uygulanan 40 hastanın aşılama sonrası 1 ve 2. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-40)
- Tablo-VII.** Act-Hib aşısı uygulanan kontrol grubundaki 9 kişinin 1 ve 2. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-40)
- Tablo-VIII.** Act-Hib aşısı uygulanan hasta grubundaki 40 kişinin 6. aydaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-41)
- Tablo-IX.** Act-Hib uygulanan kontrol grubundaki 9 kişinin aşılamadan 6 ay sonraki serum örneklerinde spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri. (Sayfa-42)
- Tablo-X.** Act-Hib aşısı uygulanan 40 hasta ve 9 kontrol vak'asında aşılama öncesi ve aşılama sonrası 1,2 ve 6. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml}$) ve antikor düzeylerindeki artış oranları. (Sayfa-42)
- Tablo-XI.** Pneumo 23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve antikor düzeylerinde aşılamadan sonraki artış oranları.(Sayfa-43)
- Tablo-XII.** Pneumo 23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları (mg/L.) ve antikor düzeylerinde aşılamadan sonraki artış oranları.(Sayfa-44)
- Tablo-XIII.** Pneumo 23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG2 düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve aşılamadan sonra antikor düzeylerindeki artış oranları. Sayfa-45
- Tablo-XIV.** Pneumo 23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG2 düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve aşılamadan sonra antikor düzeylerindeki artış oranları. (Sayfa-46)
- Tablo-XV.** Pneumo-23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG ve IgG2 antikor düzeylerinin geometrik ortalamalarının (mg/L.) karşılaştırılması ve IgG2 fraksiyonunun diğer IgG fraksiyonlarına oranının yüzdesi (IgG2/IgG-IgG2x100). (Sayfa-46)
- Tablo-XVI.** Pneumo-23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG ve IgG2 antikor düzeylerinin geometrik ortalamalarının (mg/L.) karşılaştırılması ve IgG2 fraksiyonunun diğer IgG fraksiyonlarına oranının yüzdesi (IgG2/IgG-IgG2x100).(Sayfa-47)

GİRİŞ ve AMAÇ

Enfeksiyon hastalıkları geliştirmekte olan ülkelerle üçüncü dünya ülkelerinde en önemli sağlık problemlerinin başında yer almaktadır. Özellikle çocukluk döneminde görülen enfeksiyon hastalıklarının morbidite ve mortalite oranları gelişmişliğin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır.

Enfeksiyon hastalıklarına karşı ölümlerin önlenmesi ve enfekte olmamış kişilerin korunabilmesi amacı ile yirminci yüzyılın ilk yarısından itibaren koruyucu tedbirlere yönelik çalışmalara hız verilmiş ve uluslararası sağlık kuruluşları aracılığıyla konağı insan olan mikroorganizmalarla oluşan hastalıkların önlenmesi için immünizasyon çalışmalarına başlanmıştır. Tüm dünyada yaygın olarak başlatılan bu mücadelede çiçek gibi bazı hastalıklar tamamen eradike edilmiş, polio ve boğmaca gibi bazı hastalıklar ise önemli ölçüde önlenmiştir. Gelişmiş ülkeler düzenli aşılama programları uyguladıklarından bunlarda enfeksiyona bağlı çocuk ölüm oranları sıfıra yaklaşmışken, ülkemizin de dahil olduğu pekçok ülkede hala aşı ile önlenemeyen hastalıklara bağlı ölüm oranları yüksek düzeyde seyretmektedir. Bu yaş grubunda ölümün en önemli sebepleri arasında üst solunum yolu (ÜSY) ve gastrointestinal sistem (GIS) enfeksiyonları yer almaktadır. GIS enfeksiyonuna sebep olan mikroorganizmalara karşı immünizasyon çalışması, burada hastalık oluşturan mikroorganizmaların ya noninvaziv oluşları veya antijenik yapılarının konak humoral sistemi tarafından iyi tanınmaması sebebi ile fazla başarılı olamamıştır. Ancak *Campylobacter*'lerde olduğu gibi doğal temasa bağlı olarak sellüler protektif immün cevabın uyarıldığı hallerde lokal protektif immünite ortaya çıkabilmektedir. Oysa ÜSY'da enfeksiyon oluşturan *C.diphtheriae*, *H.influenzae* ve *S.pneumoniae* gibi bakteriler ile üst ve alt solunum yollarında da hastalık oluşturan kızamık, kabakulak, influenza gibi viral ajanlara karşı immünizasyon çalışmaları son derece başarılı sonuçlar vermiştir. Bu gruptaki mikroorganizmaların antijenlerine karşı oluşan immün cevap hem humoral, hem hücresel seviyede olmaktadır.

Total ve parsiyel splenektomi veya otosplenektomili hastalarda dalağın fonksiyonel olmaması, humoral protektif immün cevapta etkili olan bazı immunglobulin subtiplerinin daha az sentez edilmesine yol açmaktadır. Özellikle kapsüllü bakterilerle temas sonrası, normal popülasyonda kısa sürede protektif immün cevap sağlanırken, splenektomili hastalarda sağlanamaması hayatı tehdit eden şiddetli enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Bu sebeple doğal temastan ziyade bu grupta aşılama ile immünizasyon hayati öneme sahiptir.

Bu çalışmamızda orak hücre anemili (dalak disfonksiyonu olan) kişileri kapsüllü mikroorganizmalardan olan H.influenzae tip b ve S.pneumoniae aşısı ile aşılayarak verdikleri immün cevabı araştırmayı, böylece bu tür aşılarda bu popülasyondaki yararını tespit etmeyi amaçladık.

Bu araştırma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TF.92.6 nolu proje olarak desteklenmiştir.

GENEL BİLGİLER

Dalak sentez ettiği spesifik opsonik antikorlar sebebi ile bakteriyemiye yol açan mikroorganizmaların inhibisyonunda büyük öneme sahiptir^(25,100). Normal şartlarda dalak tuftsın ve properdin gibi opsonizan proteinler ve spesifik IgM türü antikorların yapımının yanısıra genel olarak lenfoid hücrelerin olgunlaşması, dolaşımdaki mikroorganizmaların ve kırmızı kan hücrelerinin filtrasyonu ve fetal dönemde kan hücrelerinin yapımı ve sellüler immün cevabın düzenlenmesi gibi önemli hematojenik ve immünolojik fonksiyonları da üstlenir^(25,100). Orak hücre anemili çocuklarda dalakta hayatın ilk yıllarında sık tekrarlayan vasooklusiv episodlar ve takip eden infarktlara bağlı olarak önce splenomegali (6 aylık çocuklarda bile palpe edilebilen fiziki büyüme), arkasından da otosplenektomi olarak tanımlanan atrofi gelişir. Dalağın aşırı büyümesi hematolojik fonksiyonların artmasından ziyade bozulmuş retikuloendotelial aktivitenin sonucudur^(105,116). Böylece ya bir travmaya bağlı olarak dalağın alınması (splenektomi) veya orak hücre anemiye bağlı olarak dalakta fonksiyon bozukluğu meydana gelir (otosplenektomi) ve sonunda kişilerin immunsistemi, özellikle Klebsiella pneumoniae, H.influenzae ve S.pneumoniae gibi kapsüllü mikroorganizmalarla bazı kan protozoanlarına karşı etkisiz hale geçer^(32,58,77,78,81,83,86,110,112,135,140). Özellikle bebek ve çocuklarda orak hücre anemiye bağlı olarak ortaya çıkan dalağın fonksiyon bozukluğunda kapsüllü mikroorganizmalar hızlı seyreden ve sıklıkla yaygın intravasküler koagulopati ile karakterize fulminant, fatal bakteriyel enfeksiyonlara sebep olur. Yapılan çok sayıda çalışmada normal çocuklara göre orak hücre anemili çocuklarda, H.influenzae'ye bağlı menenjit insidansının 116 kat, pnömokoklara bağlı menenjit insidansının da 600 kat daha fazla geliştiği bildirilmiştir^(45,84,105).

Hernekadar yeni çalışmalarda splenektomi halinde akciğer ve karaciğer gibi diğer retikulo endotelial sistem (RES) organlarında makrofaj fonksiyonunun

değiştirilebileceği ve dalağın endotoksin ya da bakteriye karşı konak organ cevabının düzenlenmesinde bir rol oynayabilecekleri ileri sürülmüşse⁽³²⁾ de, bu organın immünolojik prosedürler dışında filtrasyon yolu ile mikrobial temizlenmeyi sağlama özelliği dalağın disfonksiyonu halinde karaciğer, akciğer ve kemik iliği gibi RES'in diğer organları tarafından doldurulamaz^(32,78,105). Ayrıca, orak hücre anemili küçük çocuklarda, büyümüş olan dalağın retiküloendotelial aktivitesinin azalması⁽¹⁰⁵⁾ ve RES hücrelerinin kaybı sonucu immünolojik immatürite periyodu aylardan yıllara kadar uzayabilir^(112,116). Bu sebeple de başta H.influenzae ve S.pneumoniae olmak üzere kapsüllü bakteriler bu gruptaki hastalarda görülen en önemli ölüm sebebidir^(86,151).

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Bu grupta üremeleri için eritrositler tarafından sağlanabilen X ve V faktörleri gibi kan faktörlerine ihtiyaç duyan küçük, hareketsiz, sporsuz bazı suşları kapsüllü bakteriler yer alır. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan bu bakteriler sıklıkla üst solunum yollarında kolonize olurlar. Bu grupta yer alan mikroorganizmalar primer veya sekonder ajan olarak katıldıkları geniş enfeksiyon spektrumuna sahiptirler^(74,76,94).

Tarihçe

İlk defa Pfeiffer (1892) tarafından influenza pandemisinde izole edilen bu mikroorganizmalar pandeminin etkeni olarak düşünülmüşler ve bu sebeple de influenza basillus olarak adlandırılmışlardır. Endemik influenzanın primer ajanı olmadığı ispatlanmış olmasına rağmen bu bakterilere *Haemophilus influenzae* adı verilmiştir⁽⁹⁴⁾.

Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Haemophilus grubunda yer alan bakteriler 0.5-45x0.3 μm . boyutlarında uçları yuvarlak, düzgün kenarlı küçük kokobasillerdir. Klinik numuneden hazırlanan boyalı preparatlarda uzun filamentöz yapılar da görülmektedir. Endospor oluşturmeyen ve hareketsiz olan bakterilerin virulan suşlarında kapsül bulunur. Anilin boyalarla kolay boyanırlar ve Gram negatiftirler. Bazan mavi menekşe renkte boyandıkları da bildirilmiştir^(74,76,94).

Üreme ve Fizyolojik Özellikleri

Bu grupta yer alan bakteriler fakültatif anaerobtur, fakat aerob şartlarda daha iyi ürer. Bununla birlikte virulan suşların ilk izolasyonlarında %5-10 CO₂'li atmosfere ihtiyaç vardır. Aerob şartlarda üremenin sağlanması ortamdaki X ve V faktörü olarak adlandırılan kan ürünlerine bağlıdır. X faktörü protoporfirinleri sağlayan termostabil demir ihtiva eden pigmentlerde bulunur. Termolabil bir koenzim olan faktör V, NAD, NADP veya nikotinamid nükleositten sağlanır. Hücre içi V faktörü metabolit olmadığı için taze dökülmüş kanlı plaklarda yeterli şekilde üremez. Bu sebeple ya eskimiş at veya tavşan kanlı agar kullanılır veya hemoliz oluşturan staphylococcus kolonileri etrafında satelit koloniler oluşturmaları beklenir. At kanlı vasatlarda H.influenzae suşları hemoliz oluşturmazlar. En iyisi eritrositlerin peptik enzimlerle sindirilmesi ile hazırlanan Fildes ekstraktlı veya kan ekstraktlarına sahip Levinthal gibi vasatların kullanılmasıdır. İzolasyon amaçlı vasatlara 300 mg/L bacitracin ilavesi vasata seçicilik kazandırır. pH'sı 7.4 ± 0.2 (6.6-7.8) olan uygun vasatlarda optimal üreme 37°C (25-4°C) de 24-48 saatte gerçekleşir. İlk izolasyonda vasatların %5-10 Co₂'li atmosferde inkübasyonları uygundur. Bu süre sonunda kanlı besiyerlerinde 0.5-1.5 mm. çapında yuvarlak veya kubbe biçiminde opak, saydam, bazen granüllü S tipi koloniler oluştururlar. Kapsüllü suşların kolonileri daha parlak ve mukoiddir^(74,76,94).

H.influenzae suşları glikozdan asit oluştururken sükroz, laktoz, fruktoz ve mannitolü kullanmazlar. ALA (Delta-aminolevulinik asit) porfirin testi negatiftir⁽⁷⁶⁾.

Triptofan, üreaz ve ornitin dekarboksilaz aktiviteleri yardımı ile yapılan sınıflandırmada H.influenzae'nin 8 biotipi tespit edilmiştir Tablo-I). Klinik izolmanlardaki serotip b suşlarının çoğu biotip I'e dahildir^(74,76).

Antijenik Yapısı

H.influenzae antijenik olarak oldukça heterojendir⁽²⁾. Pitman kapsül polisakkarit antijenlerine göre a,b,c,d,e,f olarak isimlendirilen altı serotip tarif etmiştir^(2,48,74). Klinik örneklerden en sık izole edilen tip b'nin polisakkarit yapısı poliriboz fosfattır (PRP) ve esas yapısında riboz, ribitol ve fosfat bulunur. Bu madde antifagositik özelliğe sahip olup tip spesifik antikörlerle opsonize edilebilir ve komplemanı bağlayarak bakteriolizise sebep olur^(47,76,94).

Tablo-I. H.influenzae'nın biotiplerinin özellikleri

| | <u>İndol testi</u> | <u>Üreaz</u> | <u>Ornitin dekarboksilaz</u> |
|--------------|--------------------|--------------|------------------------------|
| H.influenzae | | | |
| Biotip I | + | + | + |
| Biotip II | + | + | - |
| Biotip III | - | + | - |
| Biotip IV | - | + | + |
| Biotip V | + | - | + |
| Biotip VI | - | - | + |
| Biotip VII | + | - | - |
| Biotip VIII | - | - | - |

Kapsül polisakkaritlerinin tiplendirilmelerinde aglütinasyon, presipitasyon, kapsül şişme reaksiyonları ve zıt yönlü immün elektroforez metodları kullanılmaktadır (2,74,78).

H.influenzae'nın kapsülsüz suşları kapsüllü H.influenzae klonlarından genotip olarak daha heterojen ve genetik olarak ta farklıdır⁽⁹⁴⁾.

İmmünite

H.influenzae tip b (Hib) ile geçirilen doğal enfeksiyonlarda immünitenin meydana gelişi tartışmalıdır. Humoral ve sellüler tipte koruyucu immün cevabın oluşumunda mikroorganizma antijenleri kadar konak faktörleri de önemlidir. Hib ile oluşan sistemik veya lokal enfeksiyonların seyri esnasında özellikle kapsül polisakkaritleri, lipopolisakkarit (LPS)'ler ve diğer membran proteinleri gibi somatik antijenlere karşı humoral tipte antikor cevabı gelişir ve bu antikorların koruyucu potansiyeli deneysel enfeksiyonlarla gösterilir⁽⁹⁴⁾. Hib'nin kapsül polisakkaritine karşı oluşan anti-PRP antikorları kompleman aracılığı ile invitro olarak bakterisidal ve opsonik aktiviteyi artırır ve sistemik enfeksiyonlara karşı koruyucu immüniteyi sağlar^(78,94). Ancak, yaşları 18-24 aya kadar olan çocuklarda Hib ile oluşan enfeksiyonlar esnasında serumda bulunan anti-PRP antikorları ya düşük seviyededir veya yoktur⁽⁹⁴⁾. Sistemik enfeksiyonlardan sonra bile PRP'ye karşı oluşan antikorların bu yetersizliği immün toleransa bağlı olarak değil de, T helper hücrelerini aktive

etmeyen çoğunlukla polisakkarit yapısındaki antijenlere karşı yenidoğanların immün cevabındaki doğal gecikmeye bağlıdır_(13,72). Polisakkaritlerin T helper hücrelerine sunulmaları oldukça geç ve zayıftır. Bu antijenler B hücrelerince direkt tanınabilir ve kısa süreli zayıf bir IgM cevabı oluşur. Daha sonra IgG2 sentez eden B hücre klonları ile koruyucu IgG cevabı meydana gelir. Ancak, IgG2 sentez eden B lenfositleri bebeklik devresinde geç oluşurlar_(72,136).

Hib'nin kolonize olmadığı çocuklardaki anti-PRP antikörlerinin oluşumu için antijenik stimulus kros reaktif epitoplara sahip gıdaların alımı ya da kommensal mikroorganizmalara maruz kalma sebebiyle olabilir₍₉₄₎. Anti-PRP antikörlerinin korunmada gerekli olan minimum serum konsantrasyonu 0.04-1.00 mg/ml. olarak tesbit edilmiştir. Normal sağlıklı genç yetişkinler ve yaşlılarla ve yeni doğanda bu seviyeye yakın antikör konsantrasyonu görülürken, 3 ay- 3 yaş arasındakilerdeki antikör cevabı bu seviyenin altındadır. Antikör seviyesindeki bu yetersizlik Hib enfeksiyonlarının epidemiyolojisini izah eder₍₉₄₎.

Hib enfeksiyonlarında immünitinin rolü halen tam olarak bilinmemektedir. Nonspesifik cevabın dalağın filtrasyon özelliği ve mononükleer profesyonel fagositik hücreler tarafından düzenlenmesi sebebiyle asplenik veya dalak disfonksiyonu olan hastalarda Hib'in kandan temizlenmesinin çok yavaş olduğu, bundan dolayı da Hib enfeksiyonlarının bu hastalarda ağır seyrettiği ileri sürülmektedir_(94,105,151).

Polisakkarit antijenlere karşı oluşan antikörlerin çoğunlukla IgG2 subtipinde olması sebebiyle, IgG2 alt sınıf antikörleri için ağır zincir marker'ı olan G2 m(n) allotipine sahip olmayan kişilerde Hib enfeksiyonlarına daha sık maruz kalırlar_(3,48). PRP ve diğer polisakkarit antijenlerine karşı düşük antikör cevabı ile ilişkili diğer bir marker da Km(1)'dir_(48,50,94).

Patogenez ve Klinik Bulgular

H.influenzae'nin insandan başka bilinen doğal konağı yoktur₍₉₄₎. H.influenzae türlerinin sağlıklı bireylerin nazofarinksinde asemptomatik kolonizasyon insidansı (%80) oldukça yüksektir_(76,94).

H.influenzae ile ilk temas doğumda ve bebeklikte başlar ve ilerleyen günlerle birlikte temas edilen suşun sayısı ve türü artar. Anneden bebeğe pasif olarak geçen antikörler kapsüllü virulan suşların kolonizasyonuna ve hastalık oluşturmaya engel

olur, fakat kapsülsüz avirulan suşların ÜSY'ndaki kolonizasyonları devam eder ve bu bireyler sağlıklı portör haline geçerler⁽⁹⁴⁾.

ÜSY'den yapılan kültürlerde (alt solunum yolu değil) H.influenzae'nın varlığı normal bir bulgudur. Çoğu kişide kapsülsüz suşlar kolonize olmuştur ve kapsüllü H.influenzae suşlarının asemptomatik kolonizasyon oranlarının %3-5 civarında olduğu tespit edilmiştir^(16,76,94).

H.influenzae taşıyıcıları genellikle sağlıklı kalırlar ve bunlarda nadiren hastalık gelişir⁽⁹⁴⁾. Çocuklardaki invaziv H.influenzae enfeksiyonlarının çoğu b tipi kapsüllü organizmalar tarafından meydana getirilirken, daha az invaziv H.influenzae enfeksiyonlarının çoğu da kapsüllü olmayan organizmalar tarafından meydana getirilir^(66,76,94).

Hangi faktörlerin H.influenzae kolonizasyonundan sorumlu olduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, nazofarinksin influenzae ve diğer viruslarla enfeksiyonlarının H.influenzae bakteriyemi potansiyelini artırdığı, deneysel olarak ispatlanmıştır. Ayrıca, filamentöz fimbria gibi bakteri adhezinleri, IgA1 proteazlar, invitro şartlarda insan epitel hücrelerinin silier aktivitesini inhibe eden LPS ve glikopeptitler gibi bakteri elemanları da kolonizasyona yardım eder⁽⁹⁴⁾.

Çocuklardaki sistemik H.influenzae enfeksiyonlarının %95'inden fazlasından sorumlu olan Hib, ribozil-ribitol-fosfatın tekrarlayan ünitlerinden meydana gelen bir polisakkarit kapsül (PRP) yapımı ile tanımlanır^(66,94,147). İnvaziv hastalığın patogeneğinde tip b kapsülünün önemli virulans faktörü olarak rolü, infant rat modeli ve genetik tekniklerin kullanımı ile de gösterilmiştir⁽⁹⁴⁾.

Üst solunum yolundaki kapsülsüz H.influenzae suşlarının komşuluk yolu ile sinüslere veya orta kulağa yayılmaları halinde otitis media ve sinüzit oluşabilir^(66,76,94). Koruyucu mekanizmalar iflas ettiğinde kapsülsüz suşların ÜSY'den alt solunum yolu (ASY)'na geçişi kolaylaşır ve kistik fibrozis, bronşektazi, kronik bronşit gibi kronik pulmoner hastalıklarda, akut pürülan alevlenmelerle ilişkili olarak önemli rol oynarlar. Bu kapsülsüz suşlar mukozal bariyerlere penetrasyon determinantlarını kaybettiklerinden, sistemik enfeksiyonlara nadiren sebep olurlar. Oysa kapsüllü tip b suşları invazivdir. Sistemik enfeksiyonlar oluşturabilir, hematojen yolla BOS, eklem ve kemik iliğine metastaz yapabilir^(76,94).

Dalak disfonksiyonu olan veya otosplenektomili (SS anemili) hastalarla,

splenektomi yapılmış kişilerde menenjit, epiglottit ve pnömoni insidansı artmıştır. Çocuklarda görülen major H.influenzae enfeksiyonları menenjit, epiglottit, pnömoni olmakla beraber yeni yayınlarda sellülit, septik artrit ve perikardit'e de dikkat çekilmiştir. Bakteriyemi oluşumunda tip b suşları önde gelmektedir.^(38,76,81,87,89,92,94,105,116,143,151)

H.influenzae 50 yaşın üzerindeki ve ya altta yatan bir hastalığı olan yetişkinlerde giderek artan bir şekilde patojen olarak tanımlanmaya başlamıştır. Bakteriyemik pnömonili yetişkinlerden elde edilen izolatlardaki predominant serotip tip b'dir. Fakat beyin zarı veya kadın genital yolu enfeksiyonlarından sıklıkla tiplendirilemeyen suşlar da izole edilmeye başlanmıştır.^(32,33,41,80)

Epiglottit

Supraglottik dokuların sellüiti sonunda ortaya çıkan, akut solunum yolu obstrüksiyonu ile karakterize, fulminant seyirli, fatal seyredebilen bir hastalıktır. Çocukluk döneminde görülen vak'aların %18-24'ünden H.influenzae tip b sorumludur.⁽⁹⁴⁾

Menenjit

H.influenzae'ya bağlı sistemik enfeksiyonların en yaygın görülen ve sonuçları en ciddi olan formudur. Hastalık daha çok 1 yaş altındakiler olmak üzere 3 ay-3 yaş arasındaki çocuklarda görülür.⁽⁹⁴⁾

Pnömoni

Sıklıkla küçük çocuklarda görülmesine rağmen diabetik ve aşırı düşkünlüğü olan ileri yaş gruplarındaki kişiler ile immuno suppressif tedavi görenlerde ortaya çıkabilir. Çocuklarda genellikle ilkbahar ve kış aylarında ortaya çıkar ve hastahane bakım gerektirecek kadar ağır seyredebilir. H.influenzae pnömoni'leri sıklıkla bir viral enfeksiyon olarak gelişir ve sıklıkla (%43) menenjit, epiglottit gibi komplikasyonlara sebep olur.⁽⁹⁴⁾

Bakteriyemi

Özellikle 6 ay-3 yaş arasındaki çocuklarda lokal hastalık belirtisi olmaksızın

bakteriyemi gelişebilir. Dalak disfonksiyonu olan çocuklarda ve splenektomililerde insidans oranı çok daha yüksektir. Bu kişilerde klinik seyir ağırdır. Septik şok gelişebilir ve ani ölümler ortaya çıkabilir⁽⁹⁴⁾.

Sellülit

Küçük çocuklarda daha fazla görülen, periorbital bölge yada daha sık yanakta lokalize olmuş, yumuşak dokuyu hızla saran, son derece yaygın bir bakteriyeminin eşlik ettiği ve bu sebeple bazı çocuklarda diğer septik odakların (menenjit gibi) meydana geldiği bir enfeksiyondur⁽⁹⁴⁾.

Septik Artrit

H.influenzae 2 yaşın altındaki çocuklarda spastik artrit en yaygın sebebidir⁽⁹⁴⁾.

Tanı

Haemophilus influenzae enfeksiyonlarında tanı laboratuvar bulguları ile konur. Mikrobiyolojik tanı sıklıkla enfekte materyalden H.influenzae'nın izolasyonu ve identifikasyonu veya antijenlerinin tespiti ile konur. Son yıllarda hasta serumunda Hib'nin kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan immün cevabın ölçülebileceği ELISA teknikleri de tanı amacı ile kullanılmaya başlanmıştır^(74,76,94).

Tanıda kullanılacak enfekte materyal klinik tabloya bağlı olarak nasofarinks veya tonsiller sürüntü, balgam, kan, BOS veya çeşitli vücut sıvılarıdır. Bu materyallerden hazırlanan direkt preparatların Gramla boyanarak incelenmesi halinde görülen Gram negatif küçük pleomorfik kokobasil veya basillerin varlığı H.influenzae'yı akla getirir, fakat tanı koydurtmaz. Örneklerin mümkün olduğu kadar kısa sürede bakteri izolasyonu için uygun besiyerlerine inokülasyonu gerekir. Bu amaçla tavşan veya at kanlı çukulata agar, levinthal veya fildes gibi vasatlar kullanılır. Ekim yapılan vasatlar %5-10 CO₂'li atmosferde 37°C'de 48 saat inkübe edilir ve 1-3 mm. çapında gri opak non hemolitik koloniler H.influenzae yönünden araştırılır. İdentifikasyon X ve V faktörlerine duyulan ihtiyaç ve hemoliz özelliği dikkate alınarak yapılır. X ve V faktörlerine ihtiyaç disk diffüzyon tekniği ile yapılabileceği gibi delta-amino levulinik asitten porfirin sentezinin gösterildiği porfirin

testi ile de gösterilebilir^(74,76,94).

Diğer biyokimyasal testlerden sükrözdan asit oluşumu, beta galaktozidaz aktivitesi ve indol yapımı *H.influenzae* ve V faktör (VF) bağımlı *Haemophilus* türlerinin ayırmedici tanısında önemlidir. *H.influenzae*, sükrözdan asit oluşturmaz ve beta galaktozidaz negatiftir. Oysa VF bağımlı suşların %97'si sükrözdan asit oluşturur ve %80'i beta galaktozidaz pozitifdir. *H.influenzae* oksidaz oluşturur, safraya dayanıksızdır ve jelatinde üremez⁽⁷⁴⁾.

Haemophilus izolatlarının serotiplendirimi, özellikle bazı invaziv enfeksiyonların erken tanısında faydalıdır. Serolojik tanı daha çok kapsüllü suşlar için değerlidir. Kapsüler serotipler, lateks partikül aglütinasyon (LPA), kapsül şişme reaksiyonu, zıt yönlü immünelektroforez (CIE), radio immüno assay (RIA) ve enzyeme-immüno assay (EIA) gibi çeşitli deneylerle tayin edilebilir^(74,76,96). Ençok kullanılan metod ticari hazır antiserumlar kullanılarak yapılan lam aglütinasyonudur. Bakteri süspansiyonu, eski kültürlerde kapsül kaybolduğundan 6-18 saatlik kültürlerden %0.5 formalinli normal tuzlu suda hazırlanır. Mevcut antiserumlarda, bazı somatik antijenlere karşı da antikor bulunabileceğinden kapsülsüz suşların çoğu otoaglütinasyon gösterir. Bu yüzden sadece bir dakika içinde beliren kuvvetli reaksiyonlar pozitif kabul edilmelidir⁽⁷⁴⁾.

H.influenzae'nın kapsül polisakkaridine benzer antijenik yapı gösteren bakteriler, *Streptococcus pneumoniae* serotip 6, 15a, 29 ve 35a, *E.coli* K:100, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Lactobacillus plantanum*, *Bacillus alvei* ve *Bacillus pumilus*'dur⁽⁷⁴⁾.

Tedavi

H.influenzae penisilin ve türevleri, makrolitler, sulfonamidler ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere duyarlıdır. Son yıllarda özellikle penisilin ve türevlerine karşı %60'lara varan oranlarda direnç gelişimi bildirilmektedir^(91,94). Bu grupta yer alan antibiyotiklere karşı 1974 yılından itibaren görülmeye başlanan direncin kaynağı bakterinin β -laktamaz aktivitesidir. Bu sebeple izole edilen bakterilere rutin hassasiyet testi yapılmalıdır. Kloramfenikol'e direnç çok nadirdir⁽⁹⁴⁾. Son yıllarda riskli çocuklarda görülen enfeksiyonlarda 3.kuşak sefalosporinlerin İ.V. uygulamaları

teklif edilmektedir. Ayrıca ampisilin + kloramfenicol veya makrolitler + sulfametaksazol kombinasyonlarının, bu ilaçların tek başlarına kullanımlarından daha etkili olduğu bildirilmektedir⁽⁹⁴⁾.

Oral tedavinin uygun olduğu hastalar için sefuroksim aksetil, amoksisilin-klavulonat veya trimetoprim-sulfametoksazol'ün kombinasyonlarından biri verilebilir⁽⁹⁴⁾.

Epidemiyoloji

H.influenzae enfeksiyonlarının tek rezervuarı insandır ve hastalık insandan insana damlacık enfeksiyonu yolu ile geçmektedir. Yetişkinlerin %80'i USY'da H.influenzae'yi taşımaktadır⁽⁹⁴⁾. Enfeksiyon gelişmişlik farkı gözetmeksizin bütün dünyada, özellikle 5 yaşın altındaki çocuklarda giderek artan bir insidansa sahiptir^(34,148). ABD.nde bu yaşlardaki her 200 çocuktan 1'inde sistemik Hib enfeksiyonu görülmektedir. Bu yaş grubundaki çocuklarda anti-PRP antikor cevabının yeterli düzeyde olmaması çocukları sistemik enfeksiyonlara duyarlı hale getirmektedir^(48,94,148). Yine ABD.nde bakteriyel menenjitlerin en önemli sebeplerinden birisi olan H.influenzae'ya bağlı olarak her yıl enaz 12.000 yeni vak'anın görüldüğü, buna karşılık 7500'den fazla da diğer sistemik tutulumların rapor edildiği bildirilmektedir^(127,148). Menenjitli hastaların mortalite oranının %5'ten fazla olduğu, vak'aların en az %30'unda sekel kaldığı tahmin edilmektedir^(35,108,148). Bir başka çalışmada Hib'ye bağlı menenjit insidansının ABD toplumu için 1-24/100.000 olduğu yayınlanmıştır. Özellikle nativ Amerikalılar (Apaçiler, Navajolar, Alaskalılar)^(94,118,145,148), zenciler^(94,145,148), daha evvel Hib enfeksiyonu geçirmiş olan çocuklar⁽¹⁴⁵⁾, İspanyol'lar^(48,148), asplenili hastalar^(48,141), immün yetmezliği olanlar^(10,123,124,141), düşük sosyo-ekonomik seviyeye ait çocuklar^(48,141) AIDS'li yada HIV enfeksiyonlu olanlar⁽¹³⁷⁾ arasında Hib enfeksiyonlarının insidansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir⁽¹⁴¹⁾.

Fonksiyonel aspleni gelişen SS anemili çocuk ve yetişkinlerde, özellikle erken çocuklukta antikor noksanlığına bağlı olarak H.influenzae enfeksiyonlarının mortalite ve morbidite oranı her toplumda yüksek bulunmuştur^(6,32,88,90,115,116). Bu şahıslarda Hib'e bağlı menenjit insidansı normal şahıslara göre 116 kat fazladır. Yine bu grupta yer alan 9 yaş altındaki hasta çocuklarda sepsis gelişme riski 4 kat

artmaktadır^(105,111).

Çocukların kreş ve çocuk bakımevleri gibi toplu olarak birarada yaşadıkları yerlerde özellikle Hib'ye bağlı USY. enfeksiyonlarının insidansı normal popülasyona oranla daha yüksek olmaktadır^(88,148).

Korunma ve Kontrol

İnvaziv H.influenzae enfeksiyonu geçiren hastalarla temas halinde olan risk grubundaki çocuklara profilaktik kemoterapinin etkili olduğu, günde tek doz oral rifampin'in portörlerin eradikasyonunda faydalı olacağı bildirilmektedir. Amerikan Pediatrik Akademisi olarak hücre anemi gibi dalak disfonksiyonu olan riskli ailelerde aile fertlerinin ve bu çocukların devam ettiği okul ve kreşlerdeki diğer öğrenci ve öğretmenlerin de rifampin profilaksisine alınmasının faydalı olacağı şeklinde görüş bildirmişlerdir⁽⁹⁴⁾. Ayrıca konjenital veya kazanılmış immünyetmezliği olan kişilerde hipogamaglobulin riskini ortadan kaldırmak için gamaglobulin profilaksisi tavsiye edilir. Hib enfeksiyonları için özel olarak geliştirilmiş ve normal gamaglobulin preparatlarına göre 10 kat fazla PRP antikoruna bulunan aşılarda (BPIG) pasif immunizasyonda daha etkilidir^(94,131).

Aktif Bağışıklık:

İnvaziv ve yüksek mortalite ile seyreden (%5) veya sekel bırakan (%30) Hib enfeksiyonları özellikle 3 ay-5 yaş arasındaki çocuklarda anti-PRP antikorlarının yeterli düzeye ulaşmadığı dönemlerde yüksek insidans gösterir ve bu sebeple de korunma bu yaş grubunda oldukça önemlidir^(48,94). Pasif immunizasyon ve kemoprofilaksi kısa süreli korunma sağlar. Hib'nin riboz, ribitol ve fosfattan oluşan lineer bir polimer olan kapsül polisakaritinin, virulansın önemli bir determinantı olduğu ve anti-PRP antikorlarının invaziv Hib hastalığına karşı korunmayı sağladığı hayvan deneylerinde ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir^(47,73,121,146). Anti-PRP antikor cevabını stimüle eden aktif bağışıklamada ortaya çıkan koruyucu cevap daha etkili ve uzun ömürlüdür⁽¹⁰⁸⁾. Hib'ye karşı aktif bağışıklamayı sağlamak için ilk kez antijen olarak Hib'nin kapsül polisakariti (PRP)'nden hazırlanan aşılarda denenmiştir^(35,47,121,146).

Finlandiya'da (1970) 18-71 aylıkken PRP aşısı ile immunize edilen 49.000

çocuk arasında %90 oranında koruyucu antikör cevabının geliştiği bildirilmiştir. ABD. PRP'nin antijen olarak kullanıldığı ilk aşya Nisan 1985 tarihinde kullanım lisansı vermiştir^(51,94,142). 18-24 aydan büyük çocuklarda %90 oranında koruyucu immün cevap sağladığı halde Hib'ye bağıli invaziv enfeksiyonlara daha duyarlı olan 18 aydan küçük çocuklarda yeteri kadar immün cevap oluşturmaması ve boster uygulamalarının da immün cevabı artırmaması, bu aşların en önemli dezavantajdır^(6,47,35,52,65,94,107,113,127,136,142). Yine Hib hastalığı için yüksek riskte olan genetik fenotiplere [Km(1) gibi] veya hastalık durumlarına (orak hücre anemisi, malignensiler ve/veya immüno-supressif terapi görenler, IgG2 subklas eksikliğini de içine alan immün yetmezlik hastalıkları) sahip çocuklarda, nativ Amerikan çocuklarında (Apaçiler, Navajolar, Alaskalılar), 24 aydan küçükken Hib enfeksiyonu geçirmiş olan çocuklarda ve bazı zenci popülasyonlarında konvansiyonel PRP aşısı ile başarılı sonuçlar alınamamıştır^(34,65,46,94,108,127). Aşı sadece 2 yaşın üzerindeki çocuklara tavsiye edilmektedir. Aşının birkaç milyon dozluk uygulaması sonunda yan etkisinin olmadığı bildirilmiş olmasına rağmen yüksek oranda aşı yetmezliği tesbit edilmiştir ve bu aşının daha büyük çocuklarda bile optimalden daha düşük immünitesi sebebiyle halk sağlığına faydası umulandan daha düşük olmuştur^(35,94,142).

Konjugat Aşılar

Hib PRP aşılarının polisakkarit antijeninden kaynaklanan yetersizliklerini ortadan kaldırmak için bazı bakteri proteinlerinin taşıyıcı olarak kullanıldığı konjugat aşı hazırlanması fikrini ilk defa Avery ve Goebel ortaya atmıştır^(26,121). Konjugat aşılardaki taşıyıcı proteinler T hücre bağımlı antikör cevabını uyarmaktadır^(103,113). Bu sebeple bu aşılar Hib-PRP'ye göre daha küçük yaşlarda immünojen aktivite göstermekte ve boster uygulama ile artan immün cevap ortaya çıkarmaktadır^(30,49,56,142). Bu aşılarla elde edilen antikörlerin PRP için önemli olan opsonizan ve komplemanı bağlama özellikleri olduğu gösterilmiştir^(54,102). Bu aşların risk gruplarında da Hib PRP aşlarından çok daha başarılı oldukları ispatlanmıştır^(10,46,65,145). Yine PRP aşısı ile elde edilemeyen orofarinksin Hib'den temizlenmesi konjugat aşılarla infantlarda bile sağlanabilmektedir^(13,67,139). Bu sebeple de ACIP (Immunization Practices Advisory Committee) 2 aylıktan itibaren bütün infantlarca lisans verilmiş Hib-PS-protein konjugat aşlarından birinin bir primer

serisinin uygulanmasını ve 12-15. aylarda bir boster dozunu tavsiye etmektedir (F19). Bu aşılarından ticari olarak kullanıma sunulanlar şunlardır:

PRP-D (PRP-Difteri toksoid konjugat, Pro-HİBİT): Aralık 1987 yılında ruhsat alan aşı PRP'nin difteri toksoidine kovalent bağlarla konjugasyonu sonunda elde edilmiştir⁽⁶⁸⁾. Daha küçük çocuklarda immünojenitesi sınırlı olduğundan 15 aylıktan büyük çocuklarda kullanımına izin verilmiştir⁽¹⁴²⁾.

HbOC (Haemophilus-b oligosakkarit konjugat, Hib TİTER): Oldukça potent bir aşıdır. Bu aşıda difteri toksininin nontoksijenik bir mutanlığı olan CRM 197 proteini taşıyıcı olarak kullanılmıştır⁽⁶⁸⁾. ABD'nde infantlarda rutin kullanım için izin verilmiştir. Aşı hayatın ilk altı ayında 2 veya 3 doz uygulanması halinde tam koruyuculuk sağlamaktadır. Rutin uygulama 2.4.6 ve 18. aylarda birer doz aşı şeklinde yapılmaktadır^(24,51,142).

PRP-OMP (Outer membrane protein konjugat): Pedvax-HIB ticari ismi ile kullanılmakta olan aşı N.meningitis suşlarının (B grubu) dış membranından elde edilen proteine PRP'nin konjugasyonu ile edilmekte olup daha yüksek oranda antikor cevabı elde edilmektedir. Boster uygulamaları antikor cevabını belirgin olarak artırmamaktadır ve antikor titreleri önemli ölçüde düşme eğilimindedir^(24,142).

PRP-T (PRP-Tetanus toksoid aşılar): Tetanus toksoidlerinin taşıyıcı olarak kullanıldığı bu aşı FDA (Food and Drug Administration) lisansına (30 Mart 1993) sahiptir. Aşı bütün yaş gruplarında immünojenidir^(22,68,103,113). Rutin uygulama 2.4. ve 6. aylarda birer doz olarak yapılmaktadır. Son uygulamadan sonra 6 aylık infantta 5-10 µg/ml. anti-PRP serum antikor konsantrasyonu elde edilmektedir^(19,23,142).

Tetramune: Difteri, tetanus toksoid ile pertusis aşısı ve Haemophilus-b konjugat aşısının kombinasyonu olan bu aşı Mart 1993 tarihinde FDA'dan lisans almıştır. Aşının avantajı rutin DBT aşısı ile simultan uygulama imkanı bulmuştur^(19,144).

Aşının adı ve türü ne olursa olsun önemli olan uyardığı anti PRP antikorlarının

serum konsantrasyonudur. Aşılammamış bir popülasyon için anti PRP antikörlerinin 0.15 µg/ml.lik konsantrasyonunun hastalıktan korunmak için yeterli olduğu kabul edilmekle beraber yapılan çalışmalar koruyucu immüniteyi sağlayan aşının en az 1 µg/ml. serum PRP antikör konsantrasyonunu sağlaması gerektiğini göstermiştir⁽⁷⁰⁾.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Önceleri Diplococcus pneumonia olarak tanımlanan, son taksonomik düzenlemelerle Streptococcus generisi içerisinde yeniden sınıflandırılan S.pneumoniae suşları, normal şartlarda sağlıklı asemptomatik kişilerde başta Ü.S.Y. olmak üzere, deri, genital sistem ve GIS'de fırsatçı bakteriler olarak görülmektedirler. Özellikle infantlarda ve ileri yaşlılarda primer veya bir viral ajana sekonder olarak eşlik ederek alt solunum yollarına inebilen, yine doğuştan veya kazanılmış immün sistem defektli olanlar, ilaç ve alkol bağımlıları ve splenektomililerde, alt solunum yolları ve merkezi sinir sistemine yerleşerek yüksek mortalite oranlı hastalıklar oluşturabilirler⁽⁹⁵⁾.

Tarihçe

S.pneumoniae ilk defa Fransa'da kuduzlu bir hastanın salyasından Pasteur(1881) tarafından izole edilmiştir. Aynı yıl ABD.'nde Steinberg kendi salyasından bu mikroorganizmayı izole ettiğini bildirmiştir^(2,95). Mikroorganizmanın insanlarda enfeksiyon oluşturduğunu gösteren ilk yayın lobar pnömonili hastalardan S.pneumoniae'yi izole eden Friendlander ve Talamon (1883) tarafından yayınlanmıştır. Frankel ve Weichselbaum (1886) bu hastalara ait bilgileri derlemiş, Neufeld'de (1900-1902) bu mikroorganizmaların bazı fizyolojik ve serolojik özelliklerine ait ilk bilgileri yayınlamışlardır⁽⁹⁵⁾.

S.pneumoniae suşları ile oluşan enfeksiyonlara karşı primitif immünizasyon çalışmaları 1900'lü yılların ilk yarısından itibaren başlamış, özellikle 1915-1945 yılları arasında yapılan çok sayıdaki çalışma ile S.pneumoniae'nin virulansında ve S.pneumoniae'ye karşı oluşan koruyucu immün cevapta kapsül polisakkaritlerinin önemi ortaya konmuştur. Bu konuda Dr.Oswald T.Avery'nin çalışmalarının özel bir önemi vardır. Bu çalışmalara paralel olarak, özellikle son dönemlerde Dr.C.Keefer başta olmak üzere bazı araştırmacılar Penicillin'in pnömokokal pnömoni tedavisinde başarılı bulmaları, immünizasyon çalışmalarını en az 20 yıl geciktirmiştir. Dr.Austrian

immünizasyon çalışmalarını sürdürerek, 30 yıl devam eden bir mücadeleden sonra, pnömokok kapsül polisakkarit aşılarının koruyucu önemini FDA'a kabul ettirmiştir. Böylece 14 valanlı ilk polivalan pnömokokal aşı 1967 yılında deneysel amaçlarla kullanılmaya başlanmış, 10 yıl sonra da genel kullanıma sunulmak üzere lisanslandırılmıştır. Günümüzde 23 valanlı aşılar 1983 yılından beri, özellikle ileri yaş grupları olmak üzere risk gruplarının tümünde immünizasyon amacı ile kullanılmaktadır. Halen konjuge aşı hazırlama çabaları devam etmektedir.⁽⁹⁵⁾

Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Pnömokoklar 0.5-1.25 μm . çapında, tipik olarak lanset biçiminde, sferik veya oval, yanyana duran mum alevi gibi incelen uçlu diplokoklardır. Tek veya kısa zincirler halinde bulunurlar. Hareketsiz ve sporsuz olup Gram pozitif boyanırlar. Uzun süreli inkübasyondan sonra mikroorganizmalar Gram negatif hâl alabilirler.^(31,76,95)

Üreme ve Fizyolojik Özellikleri:

Bu gruptaki mikroorganizmalar fakültatif anaeropturlar. Optimal üreme ısısı 37°C (25-42°C) optimal pH 7.8 (6.5-8.3)'dir. Pnömokok'ların %5-10'u ilk izolasyonlarında %5-10 CO₂'e ihtiyaç duymaları sebebi ile bütün kültürlerin bu atmosfer şartlarında inkübasyonları teklif edilmektedir.^(31,95)

Pnömokoklar relatif olarak müşkülpesent mikroorganizmalar olup izolasyonları için zenginleştirilmiş besiyerleri gereklidir. Serum ve kanın %10 oranında ilave edildiği besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Kanlı agarda, 24-36 saatlik inkübasyon sonunda, 0.5-1.5 mm. çapında düzgün, parlak, düz yada kubbe şeklinde koloniler meydana getirirler.^(31,76,95)

İnkübasyon süresinin 48 saate çıkarılması halinde koloninin ortası otolize bağlı olarak göbek biçiminde çukurlaşarak kollabe olur. Koloniler kanlı agarda eritrositlerin kısmi hemolizine bağlı olarak yeşilimsi bir renk (alfa-hemoliz) oluştururlar. Anaerobik olarak inkübe edildiğinde oksijene hassas pnömolizin aktive olarak beta hemoliz oluşur (Eritrositlerin tamamen lizisine yol açarlar) ^(31,76,95)

Alfa-hemolitik streptokoklardan inülini fermente etmeleri, optokin ve safra tuzlarına duyarlı oluşları ile ayrılırlar. Ayrıca fareler pnömokoklara duyarlı iken alfa-hemolitik streptokoklar dirençlidir.⁽²⁾

Antijen Yapısı

S.pneumoniae'nın kapsül polisakkaritleri (PCP) mikroorganizmanın yüzeyinde yer alan hidrofilik jel biçiminde, kompleks bir yapıya sahiptirler. Kapsül polisakkaritleri güçlü antijenik özellikler gösterirler ve pnömokok serotiplerinin klasifikasyonunda temel antijenik yapıyı oluştururlar. Bilinen 84 serotip ve bunları adlandırmak için iki nomenklatür vardır. Danish sisteminde serolojik olarak yakın tipler subtipler olarak birlikte gruplandırılırken, Eddy sisteminde ayrı tipler birbirini takip eden rakamlarla numaralandırılır^(2,95).

Pnömokokların patojenitesi primer olarak kapsül polisakkaritleri ile ilgilidir. Vak'a fatalite oranı tip 3, tip 2 ve tip 1 gibi bazı özel serotiplerle oluşan enfeksiyonlarda daha yüksektir⁽⁹⁵⁾.

Kapsül polisakkariti aglütinasyon, presipitasyon, kapsül şişme reaksiyonu ve zıt yönlü immün elektroforez (CIE) ile gösterilebilir^(31,76,95).

Türe özel bir karbonhidrat olan polisakkarit C, hücre duvarının major yapı taşıdır. Pnömokokların bir diğer major antijenik komponenti F veya Forseen antijenidir ve C polisakkariti bu antijenin bir parçasını oluşturur. *S.pneumoniae* suşlarında başta A grubu hemolitik streptokoklarda görülen ve antifagositik özelliği bildirilen M proteinine benzer protein yapılar bulunur. Fakat bu antijenik yapıların antifagositik özelliği gösterilememiştir. Ayrıca hücre duvarı üzerinde türe has C polisakkaritine benzer R proteini tesbit edilmiştir⁽⁹⁵⁾.

Patojenite

Pnömokokların konak dokusunda çoğalmaları ve hayatta kalmalarında kapsülleri önemli rol oynar. Kapsüllü pnömokoklar fagositoza dirençli, kapsülsüz bakteriler ise oldukça duyarlıdır. Bunun sebebi fazla miktardaki kapsül antijeninin opsonizan antikoru nötralize etmesi ve böylece bakterileri fagositoza karşı korumasıdır⁽⁹⁵⁾.

Pnömokokların hastalık yapma yeteneklerinin onların fagositoza dirençlerine ve sonuç olarak ta invazyon ve konak dokusunda çoğalabilme özelliklerine bağlı olduğu düşünülür. Pnömokok enfeksiyonlarında, semptomların ani başlaması, çok ciddi toksisite bulguları ve özellikle splenektomili hastalarda görülen dissemine intravasküler kuagülasyonla karakterize ağır klinik seyir, bu mikroorganizmaların

önemli toksik substanslara sahip olduklarını gösterir. Bu toksinlerden nöraminidaz, konak dokuda pnömokokun yayılmasına yardım eder. Bir hemolizin olan pnömolizinin insanlardaki pnömokoklarla oluşan enfeksiyonlardaki rolü bilinmemektedir. Purpura yapan substans deney hayvanlarında purpura ve dermal hemorajiye neden olur⁽⁹⁵⁾.

Bütün bu faktörler pnömokokların patojenliğini tam olarak açıklayamamaktadır. Bazı araştırmacılar, şimdiye kadar identifiye edilemeyen solubl bir toksinin varlığına veya kapsüllü bakterilerle konak arasındaki ilişkilerden açığa çıkan toksik maddelere bağlamaktadır. Yapılan çalışmalar diğer predispoze faktörlerle birlikte solunum yolu virus enfeksiyonlarında, sekonder enfeksiyon olarak pnömokoksik enfeksiyonların geliştiğini göstermiştir⁽²⁾.

Patogenez ve Klinik Belirtiler

Pnömokoklar pnömokoksik pnömoninin etkenidir. Ayrıca, menenjitte ve pnömokoksik pnömoninin komplikasyonu olan plörezi, ampiyem, perikardit, endokardit, sinüzit, mastoidit ve orta kulak iltihabına da sebep olurlar⁽²⁾.

Pnömoni

Pnömokoksik pnömoninin patogenezi, mikroorganizmanın alveolar boşlukta hızla çoğalmasına bağlıdır. Pnömokoksik pnömoni primer enfeksiyon olarak çok az görülür. Sıklıkla humoral ve sellüler immün cevabı bozulmuş veya lokal savunma mekanizmaları deprese hastalarda üst solunum yolu sekresyonlarının aspirasyonundan sonra ortaya çıkarlar. Alkolizm, anestezi, stupor ve alveolde sıvı birikimine sebep olan konjestif kalp yetmezliği akciğer enfeksiyonları için predispozan faktörler arasındadır⁽⁹⁵⁾.

Lokal komplikasyonlar: Ampiyem, pnömokoksik pnömoninin en yaygın komplikasyonudur. Perikardit, günümüzde nadir olarak görülmektedir. Akciğer apseleri sıklıkla tip 3 pnömokoklar tarafından meydana getirilir⁽⁹⁵⁾.

Bakteriyemi: Pnömokoksik pnömonili hastaların yaklaşık %25-30'unda meydana gelir⁽⁹⁵⁾.

Üst Solunum Yollarının Pnömonokok Enfeksiyonları

İnfant ve çocukların yaklaşık %76-95'i, 6 yaşına kadar en az bir otitis media epizodu geçirirler. Pnömonokoklar bakteriyel otitis media vak'alarının yaklaşık yarısından sorumludurlar. Mastoidit ve sinüzit, pnömonokokların sebep olduğu diğer üst solunum yolu enfeksiyonlarıdır^(76,95).

Ekstrapulmoner Pnömonokok Enfeksiyonlar

Pnömonokok menenjit, bakteriyemik pnömoni, mastoidit, sinüzit, endokardit kafatası kırıklarının bir komplikasyonu olarak ortaya çıkabilir. Endokardit, artrit ve peritonit diğer ekstra pulmoner komplikasyonlardır⁽⁹⁵⁾.

Laboratuvar tanısı

Pnömonokoklar müşkülpesent mikroorganizmalar olduklarından, klinik numuneler oda ısısında uzun süre bekletilmemeli, materyaller derhal uygun besiyerlerine ekilmeli veya +4°C'de saklanmalıdır⁽⁹⁵⁾.

Gram boyamada tek tek, ikisi bir arada yada zincir şeklinde görülebilen pnömonokoklar, alkol-aseton gibi renk gidericiler ile kolayca dekolorize olduğundan yanlışlıkla Gram negatif te gözükabilirler^(31,76,95). Klinik materyallerin Gram boyamasında S.pneumoniae görüldüğünde bir kapsül şişme testi yapılmalıdır. Bu test sonuçları pnömonokok pnömonili yetişkinlerin %95'inde kültür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur^(31,76,95).

Kanlı agar kültür için seçilen besiyeridir. Bu besiyerine 5 µg/ml. gentamisin ilavesi, diğer streptokokların üremesini baskılayarak kültürün sensitivitesi ve spesifitesini artırabilir⁽⁹⁵⁾.

Kültür ortamından izole edilen şüpheli kolonilerin identifikasyonunda, sıklıkla optokin disk hassasiyet testi kullanılır. Nadiren safrada erime testi de tanı laboratuvarlarınca identifikasyonda kullanılmaktadır⁽⁹⁵⁾. Çoğu pnömonokok suşlarının inülini fermente etmemesi, buna karşılık özellikle S.sanguis ve bazen de S.mitior gibi başka streptokok türlerinin de bu şekeri fermente ettiğinin gösterilmesi ile eskiden pnömonokokların identifikasyonu için kullanılan inülinin fermentasyonu testinin bugün tanı değerinin olmadığına karar verilmiştir⁽⁷⁶⁾. Pnömonokoklar kanlı agarda alfa-hemoliz yapar. Basitrasine hassasiyetleri değişkendir. Trimetoprim-sulfamethoksazol'e

hassastır. CAMP testi negatiftir. Hippuratu ve PYR'yi hidrolize etmezler. Safra-
eskülin'e duyarlıdırlar. Bütün bu testler pnömokokların identifikasyonunda
kullanılır^(31,76).

Pnömokok polisakkaritlerinden hazırlanmış aşı ile immünize edilmiş kişilerde
oluşan, spesifik anti-kapsüler antikoların RIA ve EIA, yine anti-pnömolizin
antikolarının EIA metodu ile gösterilebilmesine rağmen⁽⁷⁹⁾, bu testler tabii
S.pneumoniae enfeksiyonları esnasında hastalarda oluşan immün cevabın
gösterilmesinde henüz ihtiyaca cevap verecek hız ve sensitiviteye sahip hale
getirilememiştir^(16,62,95,119).

Zıt yönlü immün-elektroforez balgam, BOS, idrar, plevra ve periton mayii gibi
klinik materyallerde kapsüler polisakkarit antijenini aramak için hızlı bir
metoddur^(63,76,109). Daha evvelki antimikrobiyal terapi CIE sonuçlarını etkilemez⁽⁹⁵⁾.
CIE, 84 pnömokok serotipinin antikapsüler antikolarının bulunduğu pnömokokal
omniserum kullanılarak yapılır^(76,95).

Antimikrobiyal Tedavi

Penisilin-G S.pneumoniae enfeksiyonlarının tedavisinde seçilen antimikrobiyal
ajandır. Penisiline allerjisi olan pnömonili hastalarda eritromisin veya diğer makrolidler
ve sefalotin kullanılabilir. S.pneumoniae menenjitlerinde de kloramfenikolün
kullanılabileceği bildirilmiştir⁽⁹⁵⁾. Son yirmi yıl içerisinde dünyanın çeşitli bölgelerinde
penisilin veya çeşitli antibiyotiklere karşı gelişen multipl rezistan S.pneumoniae
suşları izole edilmiştir^(20,91,95). Bu sebeple penisilin ve diğer antibiyotiklere hassasiyet
için S.pneumoniae izolatlarına rutin olarak antibiyotik hassasiyet testlerinin yapılması
gerekir⁽⁹⁵⁾.

Bütün S.pneumoniae izolatları vankomisine hassastır ve bu ajan pnömokokun
nazofaringiyal taşıyıcılığını eradike etmek için kullanılmaktadır. S.pneumoniae suşları
fazla bulaşıcı olmadığı ve sıklıkla antimikrobiyal tedaviye cevap verdiği için,
antimikrobiyal profilaksi önerilmemektedir. Fakat hipogamaglobulinemili veya
splenektomili çocuklara, ciddi kronik obstrüktif pulmoner hastalıklı kişilere profilaktik
olarak Penisilin-G veya ampisilin verilmesi faydalı olabilir^(95,106).

İmmünite

Tabii bağışıklıkta konak savunma mekanizmaları pnömokoksik pnömoniye karşı korunmada önemli rol oynayarak, pnömokokları alveoler sahaya ulaşmadan yakalayıp dışarı atarlar. Bu temizleme mekanizmalarındaki bir bozulma yada azalma, aspire edilen sekresyonların retansiyonuna sebep olup hastalığa zemin hazırlar. Alveolar makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler bakteriyel pnömonide esas fagositik hücrelerdir. Kompleman sisteminin aktivasyonu da pnömokoksik enfeksiyonun prognozunda önemli bir rol oynar. Alternatif kompleman yolunun aktivasyonu fagositozu destekler ve nötrofil kemotaksisini indükleyerek tipe has kapsül polisakkarit antikollarının oluşumundan önce konak savunmasına önemli katkıda bulunur⁽⁹⁵⁾.

Tedavi edilmeyen hastalarda hastalığın 5.-6. günlerinde tipe spesifik antikapsüler antikollar meydana gelir. Tipe has antikapsüler antikolların koruyucu etkisi, aynı tip kapsüllü organizmanın nötrofiller tarafından fagositozunu desteklemektedir⁽⁹⁵⁾.

S.pneumoniae, *K.pneumonia* ve *H.influenzae* gibi polisakkarit kapsüle sahip mikroorganizmalarla oluşan invaziv enfeksiyonlardan sonra gelişen humoral immün cevabın en önemli özelliği, dalakta, az olarak ta kemik iliğindeki B-lenfositlerinde yapıldığı bilinen IgG2 türü antikollardır. Bu antikollar komplemanı zayıf olarak bağlarlar. Fagositik hücrelerdeki Fc reseptörlerine de kuvvetle bağlanmazlar. Bu sebeple de bakteriyi fagositoz için yeteri kadar opsonize edemezler⁽⁹⁶⁾. Dolaşımdaki IgG2 türü spesifik antikolları RIA, ELISA, aglütinasyon ve presipitasyon testleri ile göstermek mümkündür^(96,119).

Enfeksiyonu geçirmek suretiyle veya aşılama sonucu immünize edilen hasta serumlarında kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan antikolların invitro şartlarda yapılan opsanizasyon çalışmalarında bakteriyi fagosite etme yeteneklerinin farklı olduğu gösterilmiştir. RIA ile yapılan çalışmalarda heriki grupta da ölçülebilir antikoll seviyesinin koruyucu immün cevabı sağlayacak düzeyde olmadığı, bunun da artan IgG2 subklas antikollarının opsanizan gücünün zayıf olması ile izah edilebileceği ileri sürülmüştür⁽⁹⁶⁾. Deneysel olarak enfekte edilmiş ve şiddetli pnömoni sonucu ölen tavşanların akciğerlerinde immünglobulinle kaplanmış, fagosite edilmemiş *S.pneumoniae*'lerin varlığı, antikolların opsanizasyondaki yetersizliğini ispatlar⁽⁹⁶⁾.

S.pneumoniae suşlarında bulunan türe has C polisakkaritlerinin, fosforilkolin komponenti ile immünizasyonun fareleri S.pneumoniae enfeksiyonlarına karşı koruduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca, S.pneumoniae'nın polisakkarit antikorlarından ziyade, hücre duvarında bulunan ve iyi tanımlanamamış antijenik yapılara karşı oluşan antikorların daha yüksek koruyucu aktivite gösterdikleri de iddia edilmiştir⁽⁹⁶⁾.

Polisakkaritlere karşı inisiyal antikor üretimi, hücresel immüniteden fazlasıyla bağımsızdır ve küçük çocuklar T hücre bağımsız antijenlere karşı hiç antikor yapmazlar yada çok az antikor oluştururlar^(96,120).

Pnömonokok Tipleri

Kapsül polisakkaritlerine göre tanımlanmış 84 serotipten çok azı insanlar için virulandır. Antibiyotik kullanımından önce serotip 1,2 ve 3'ün bakteriyemi ile seyreden hastalıkların yaklaşık %75'inden sorumlu olduğu bilinirken, günümüzde yetişkinler arasında görülen S.pneumoniae bakteriyemilerinden sıklıkla serotip 1,3,4,7,8,9,12 ve 14, daha az olarak ta serotip 6,18 ve 19 izole edilmektedir⁽⁹⁵⁾.

Çocuklar arasında görülen pnömoni ve bakteriyemilerde ise görülme sıklığına göre serotip 14,6,18,19,23,1,4 ve 9 izole edilmektedir. Bu tipler bu yaş grubunda görülen bütün enfeksiyonların en az %85'inden sorumludur⁽⁹⁵⁾. Çocuklarda lokal ve invaziv enfeksiyonlardan izole edilen serotip 6,14,19 ve 23'ün zayıf immünojenler oldukları tesbit edilmiştir⁽²⁹⁾. Duyarlı şahısları immünize etmek için hazırlanacak yeni polisakkarit-protein konjugat aşuların formülasyonunda çocuklarda ciddi S.pneumoniae enfeksiyonlarına sebep olan serotiplere de yer verilmesi gerekir⁽¹²⁶⁾.

Epidemiyolojik amaçlı serotip takipleri sadece yeni aşı hazırlanmasında kullanılması gereken serotiplerin belirlenmesine yardım etmekle kalmaz, aynı zamanda aşılama veya spontan indüksiyona bağlı olarak toplumda görülen serotip değişimlerinin kaynağını tesbit açısından da önemlidir⁽⁹⁵⁾.

Epidemiyoloji

Yaygın kazanılmış pnömoninin en sık karşılaşılan sebebi olan pnömokoksik pnömoninin ABD'ndeki yıllık insidansı 100.000'de 68-260 vak'adır^(17,37,71,95). Neonatal periyoddan sonraki çocuklarda invaziv bakteriyel enfeksiyonların en yaygın etkeni olan S.pneumoniae, menenjit ve diğer invaziv hastalıklardan, daha benign

superfisiyal enfeksiyonlara kadar değişen çeşitli enfeksiyonlara sebep olur. S.pneumoniae, pnömoni ve otitis media'nın en yaygın etyolojik ajanıdır.^(17,29)

Çocukluk çağı dışında, özellikle 60 yaşın üzerindeki kişilerde sıklıkla primer alt solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olan S.pneumoniae'nin, pnömonilerdeki insidansının yaş gruplarına göre değişmek üzere %11.5-78 arasında değiştiiği bildirilmektedir.^(39,125)

S.pneumoniae'nin sebep olduğu pnömoni vak'alarının %25-29'unda sekonder olarak bakteriyemi gelişir. Bakteriyemi insidansının, askeri birlikler veya yatılı okullar gibi kapalı toplumlarda, boyacı, kaynakçı gibi bazı özel meslek gruplarında ve ABD yerlileri yani kıızılderililerde veya Güney Afrika birliğinde çalışan yerli madenciler gibi idiyatik predispozan faktörlere sahip gruplarda normal popülasyona göre daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir.⁽⁹⁵⁾

Pnömokoksik pnömoni vak'alarına yılın bütün aylarında rastlanmakla birlikte kış aylarında insidans artmakta ve bu dönemde hastahaneye yatırılan hastaların büyük bir kısmını pnömokoksik pnömonili hastalar oluşturmaktadır. Bu hastaların, özellikle ileri yaş gruplarında yer aldıkları, çoğunun aşırı sigara ve alkol bağımlılığının bulunduğu ve beslenme bozukluğuna sahip düşük sosyo-ekonomik seviyedeki gruplardan oldukları belirtilmiştir.⁽⁹⁹⁾ Kış ve ilkbahar başlarında sık görülen ve ağır seyreden S.pneumoniae pnömonileri sıklıkla influenzae virusun sebep olduğu alt solunum yolu enfeksiyonlarında sekonder olarak gelişir.^(39,95,99) S.pneumoniae pnömonileri erkeklerde kadınlardan daha fazla görülür ve 30 yaşın altındaki kişilerle karşılaştırıldığında, 40 yaşından sonra insidans üç-dört kat artmaktadır.^(39,95)

S.pneumoniae pnömonilerini epidemiyolojik yönden ekzojen ve endojen kaynaklı enfeksiyonlar olarak iki başlık altında değerlendirmek mümkündür.

İnsanlarda üst solunum yolunda yaygın olarak bulunan pnömokoklar, normal erişkinlerde %70 oranında nazofaringeal floradan izole edilmektedir.⁽⁹⁵⁾ Asemptomatik taşıyıcılık oranı şehirlerde 6-11 yaş arasındaki çocuklarda %30-35, yetişkinlerde ise %18-19 arasındadır. Çocuksuz yetişkinlerde nazofaringeal taşıyıcılık oranı %5-10'dur.⁽⁹⁵⁾ Şehirli popülasyonundan daha yüksek olan kapalı popülasyonlardaki oranlar, okul ve yetimhanelerde %27-58, kapalı askeri üslerde %50-60⁽⁹⁵⁾, olarak bildirilmiştir. S.pneumoniae, sağlıklı kişilere göre pnömokoksik pnömonili hastaların üst solunum yollarında çok daha yüksek oranda,⁽¹¹⁾ izole

edilmektedir⁽¹¹⁾.

S.pneumoniae taşıyıcılığının süresi, kolonizasyondan evvel düşük antikor seviyelerine sahip kişilerde ve çocuklarda, yetişkinlere göre daha uzundur. Yetişkinlerde nadir olmakla beraber, çocukların %50'sinde, kolonizasyondan sonra tipe has antikorlarda önemli bir artış gözlenmiştir. Ancak, doğal immünitinin gelişmesi ile *S.pneumoniae* taşıyıcılığının ilişkisi tam olarak anlaşılammıştır. Yaygın kazanılmış pnömokoksik pnömoni, pulmoner defans mekanizmalarındaki hasar sonucu bakteriyel klirensin önlendiği taşıyıcılarda genellikle sporadik bir hastalıktır. Pnömokoksik pnömoni sıklıkla endojen bir enfeksiyon olduğundan, hastanede yatan hastaların izolasyonları gerekmez⁽⁹⁵⁾.

Antimikrobiyal tedavideki ilerlemeye ve güvenilir aşuların korunma alanına girmesine rağmen, *S.pneumoniae* enfeksiyonları mortalite ve morbiditenin hala en önemli sebepleri arasındadır⁽²⁹⁾. A.B.D.nde en sık görülen ölüm sebepleri arasında ilk on sırada enfeksiyon hastalıklarından yalnız pneumoniae ve influenzae'nin yer aldığı bildirilmiştir. Pnömokoksik pnömoni tahminen yılda 50.000 ölüme sebep olur ve vak'a fatalite oranı antibiyotiklerin kullanım alanına girmesinden önceki %30'luk oranla karşılaştırıldığında, bugün yaklaşık %5'tir⁽⁹⁵⁾.

S.pneumoniae pnömonilerinde vak'a fatalite oranları bakteriyemi ve özellikle de ekstra pulmoner enfeksiyon odağı mevcut olduğunda yükselir. Bakteriyemik pnömokoksik pnömonide vak'a fatalite oranı %20, santral sinir sisteminin enfeksiyonlarında ise %60'tır^(37,95).

Pnömokoksik pnömoni tek başına 5 yaşından küçük çocuklarda her yıl bir milyonun üzerinde ölüme sebep olmaktadır^(29,125). Pnömokoksik bakteriyemi, özellikle yaşlılar arasında önemli morbidite ve mortaliteye sebep olan, yaygın, hayatı tehdit eden bir hastalıktır⁽³⁷⁾.

Pnömokoksik hastalığın insidansı ve ölüm riski immün yetmezlik sendromlu, splenik disfonksiyonlu, splenektomi yapılmış kişiler^(25,43,78,81,110,135,140), alkolizm, siroz, obstrüktif pulmoner hastalık, konjestif kalp yetmezliği, multipl myeloma ve kronik lenfositik lösemi gibi malignensili⁽¹⁵⁰⁾, HIV enfeksiyonlu, sickle cell hastalığı ve renal yetmezliği olanlar, nefrotik sendromlu hastalar ve kaide kırıkları ile immün sistemi tehlikeye soktuğu bilinen hastalıkları olanlarda artmaktadır^(17,95,123,129,134). Vak'a fatalite oranı tip 3 gibi bazı serotiplerle oluşan enfeksiyonlarda daha yüksek

olabilir^(8,95).

Korunma

S.pneumoniae enfeksiyonlarından korunmada aşı ile immünizasyon infantlar, immün sistem bozukluğu olanlar ve ileri yaşlılarda son derece önemlidir.^(17,57,95,132)

Başlamış *S.pneumoniae* enfeksiyonlarında spesifik kemoterapi tedavinin ilk üç gününde hastalığa bağlı mortaliteyi azaltmamaktadır. Ayrıca, düşük sosyo-kültürel seviyeye sahip gruplarda antibiyotik tedavisinin takibinin imkansızlığı ve yetersiz kullanılan antibiyotiklere bağlı *S.pneumoniae* suşlarında artan direnç, enfeksiyonların antibiyotik ile tedavilerinin yeteri kadar başarılı olamamasına sebep olmaktadır.^(17,125) Gerçekten de bütün modern teknolojik avantajlara ve yeni kullanıma giren geniş spektrumlu antibiyotiklere rağmen *S.pneumoniae*'nin sebep olduğu pnömoni ve bakteriyemiye bağlı %15-40 arasında değişen mortalite oranı, antibiyotik kullanımından önceki mortalite oranından çok düşük değildir.^(7,17,39,95,99,134) Bu sebeple risk gruplarında protektif immün cevabı sağlamak üzere immünizasyon son derece önemlidir. Bu düşünceden hareket eden Maynard ve Lister(1930) endemik suşların kapsül polisakkaritleri ile hazırladıkları polivalan *S.pneumoniae* aşılarını, *S.pneumoniae* pnömonilerinin sık görüldüğü ve yüksek mortalite ile seyrettiği Güney Afrika'daki altın ve elmas madeni işçilerinde denemişlerdir.⁽⁹⁵⁾ Bu çalışmadan önce tüm hücre ekstratlarının kullanıldığı ve birinci jenerasyon aşı olarak tanımlanan bakteri antijenleri, aşı amacı ile kullanılmış, fakat bunların koruyucu değerinin olmadığı görülmüştür.⁽³⁶⁾ Maynard ve Lister'in hazırladığı polisakkarit aşıları bu sebeple ikinci jenerasyon aşılar olarak anılmaktadır.⁽³⁶⁾

Kapsül polisakkaritlerinin tüm hücre antijenlerine göre daha koruyucu olduğunun gösterilmesinden sonra bu antijenlerle yapılan aşı araştırmalarına devam edilmiştir.^(36,98) A.B.D.nde 1964 yılında başlatılan, Ulusal Allerji ve İnfeksiyon Hastalıkları Enstitüsünün desteklediği on metropoldeki halk hastanelerinde yapılan geniş epidemiyolojik araştırma ile enfeksiyona sebep olan en yaygın pnömokok kapsül tipleri identifiye edilmiş ve bu serotiplerin saf kapsül polisakkaritlerini ihtiva eden bir aşı hazırlanmıştır.^(7,36,95) Böylece, 1978 yılında ilk ticari *S.pneumoniae* aşısına lisans verilmiş ve bu aşı "pneumovax-14 valant" adı ile piyasaya sürülmüştür.^(17,95)

14 valantlı, 0.5 ml.lik bir dozluk aşı içerisinde bakteriyel enfeksiyonların yaklaşık olarak %69'undan sorumlu 14 serotipin (tip 1,2,3,4,6A,7F,8,9N,12F,14, 18C,19F,23F,25) herbirinin kapsül polisakkaritlerinden 50 µg. bulunmaktadır^(17,95).

Bu aşının piyasaya sürülmesinden bir süre sonra ABD. ve çok sayıdaki Avrupa ülkesinde görülen enfeksiyonların yaklaşık %90'ından sorumlu 23 serotipin kapsül polisakkaritlerinden hazırlanan 23 valantlı S.pneumoniae aşısına 1983 yılında lisans verilmiştir. Bu aşı da 0.5 ml.lik tek doz halinde kullanılır ve içerisinde her bir serotipin kapsül polisakkaritinden 25 µg. bulunmaktadır^(17,18,61). Bu 23 serotipin Danish sınıflamasına göre dökümü şöyledir. 1(1), 2(2), 3(3), 4(4), 5(5), 6B(26), 7F(51), 8(8), 9N(9), 9V(68), 10A(34), 11A(43), 12F(12), 14(14), 15B(54), 17F(17), 18C(56), 19A(57), 19F(19), 20(20), 22F(22), 23F(23), 33F(70)^(17,95).

Aşılama sonunda oluşan antikor cevabı aglütinasyon, RIA ve EIA gibi serolojik testlerle kalitatif ve kantitatif olarak gösterilebilmektedir⁽⁹⁹⁾. S.pneumoniae'nin kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan 500 ng antikor nitrojen/ml. antikor seviyesinin koruyucu olduğu, aşılamadan sonra da aşılanan kişilerin serumlarında aşıda kullanılan serotiplerin polisakkarit antijenlerine karşı istenen düzeyde antikor cevabı oluştuğu gösterilmiştir⁽⁹⁵⁾.

Aşı ile immünizasyonun başarısının sağlıklı genç yetişkinlerde en yüksek düzeyde olduğu^(1,17,99,104), buna karşılık iki yaş üzerindeki sağlıklı çocuklarla sağlıklı yaşlı kişilerin aşığı iyi tolera etmelerine rağmen daha düşük antikor cevabı oluşturdukları gösterilmiştir^(28,41,82,95).

Bu aşılarda ciddi S.pneumoniae enfeksiyonu için yüksek risk grubunda yer alan iki yaş altındaki küçük çocuklarda koruyucu olmadığı da gösterilmiştir⁽¹²⁶⁾.

İmmün sistem disfonksiyonunun aşının başarısını olumsuz yönde etkilediği^(29,95,130), bu sebeple yüksek risk popülasyonlarında aşının koruyucu etkinliğinin güvenilir olmadığı bildirilmiştir^(48,54,57,102). Bu başlık altında Multipl myeloma, Hodgkin hastalığı, splenektomi, lenfoma, nefrotik sendrom, renal transplantasyon veya hemodiyaliz, siroz, sickle cell anemi (orak hücre anemisi), kemik iliği transplantasyonu ve kazanılmış immün sistem yetmezliği hallerinde aşının yeteri kadar koruyucu cevap oluşturamadığı gösterilmiştir^(1,17,37,41,54,102). Böylece riskli popülasyonlarda aşı kullanımını hala tartışmalıdır^(14,21,37,99,128,133).

Buna rağmen daha önce ağır pnömokoksik pnömoni geçiren yüksek risk

altındaki kişiler ve 50 yaşın üzerindeki kişilerde aşılamanın faydalı olacağı ve *S.pneumoniae* pnömonisine bağlı mortalite ve morbiditeyi düşüreceği birçok araştırmacı tarafından iddia edilmektedir^(18,39).

Kapsül polisakkaritleri ile immünize kişilerde oluşan ölçülebilir seviyedeki antikor cevabının her zaman koruyucu olmadığı⁽⁹⁹⁾, artmış IgG2 antikorlarının komplemanı yeteri kadar aktive edememesi ve opsonizasyondaki başarısızlığının⁽⁹⁶⁾ yükselen titreye rağmen koruyucu cevaptaki başarısızlığının sebebi olabileceği ileri sürülmüştür^(96,99). Bu sebeple IgG2 dışındaki subgrupları da aktive etme yeteneğine sahip, protein polisakkarit konjuge aşılar gibi yeni aşı stratejilerine ihtiyaç olduğunu vurgulanmıştır^(82,96). Günümüzde pnömokok polisakkaritlerinin proteinlere bağlandığı üçüncü jenerasyon *S.pneumoniae* aşılarının klinik denemeleri devam etmektedir^(29,36).

Kapsül polisakkaritlerinin immünsistemi daha az uyardığı, iki yaşın altındaki çocuklarda protein polisakkarit konjuge aşılardaki proteinlerin T helper hücrelerini stimüle edeceği, böylece T hücrelerine bağımlı immün cevabın uyarılarak daha yüksek oranda ve daha uzun süreli total IgG sınıfı antikorların uyarılabileceği ümit edilmektedir^(41,96,125,138).

Farelerle yapılan immünizasyon çalışmalarında *S.pneumoniae* suşlarının yüzeyinde eksprese edilen bazı protein epitoplarına karşı elde edilen monoklonal antikorların koruyucu olduğu gösterilmiş ve bu proteinlerin genetik sequens analizleri yapılarak rekombinant ekspresyonlarının yapılmasına yönelik çalışmalar başlatılmıştır⁽¹²⁵⁾.

Diğer taraftan polisakkarit aşılarda adjuvant kullanımı veya monoklonal anti idiotip antikor aşılarının hazırlanması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir⁽¹²⁵⁾.

Aşılama sonrası antikor kinetiğini tayin amacı ile yapılan çalışmalar birinci yılın sonundan itibaren antikapsüler antikorların tedricen azalmakta olduğunu göstermiştir^(5,17,95). Bu sebeple CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 14 valanlı ikinci kuşak aşı ile immünize edilen ve yüksek risk gruplarında yer alan kişilerin, primer vaksınasyondan altı yıl sonra 23 valanlı aşı ile tekrar immünize edilmelerini tavsiye etmektedir^(17,54,95,102).

Aşının yan etkileri: Primer aşılardan sonra enfeksiyon yerinde hafif endurasyon, aşılananların %1'inden azında da ateş, miyalji ve ciddi lokal deri

reaksiyonlarının geliştiği rapor edilmiştir^(40,54,70,102). Aşıya bağlı anaflaktik reaksiyon riskinin 5 vak'a/milyon doz olduğu ileri sürülmektedir. Hamile kadınlardaki güvenelirliği tam olarak bilinmemekle beraber, aşıya bağlı ciddi kontrendikasyonlar yayınlanmamıştır^(18,54,102).

Aşının endikasyonları: Günümüzde pnömokok aşısının aşığıdaki hallerde mutlak yapılması gerektiği bildirilmiştir.

Bunlar:

1- Orak hücre anemili (SS) veya splenektomi yapılmış cerrahi veya otosplenektomili hastalar, Hodgkin hastalığı da dahil kronik enfeksiyon ve metabolik hastalığı olanlar, immünosupressif tedavi gören hastalar, alkol bağımlıları, karaciğer ve böbrek yetmezliği olanlar ve kafatasında kaide kırığı olan iki yaşı'n üstündeki hastalar^(12,21,37,53,92,93,95,149),

2- Kronik kardiovasküler ve pulmoner hastalığı olan yetişkinler^(12,37,53,149),

3- 65 yaşı'n üstündeki sağlıklı yetişkinler^(12,37,41,149),

4- Semptomatik veya asemptomatik HIV enfeksiyonlu iki yaşı'n üstündeki çocuk ve yetişkinler^(17,18,37,54,59,75,95,102,137),

5- Zenciler ve kızıldirililer gibi genetik predispozisyon tesbit edilen gruplar⁽¹⁷⁾.

Pnömokok aşısı oldukça immünojen, klinik olarak etkili, bazı istisnalar dışı'nda güvenli bir aşı olup yüksek risk grubundaki kişilerde ciddi S.pneumoniae enfeksiyonlarının oluşumunu önlemek için koruyucu hekimliğin önemli bir silahıdır⁽⁹⁵⁾.

GEREÇ ve YÖNTEM

S.pneumoniae ve H.influenzae tip b,kapsül polisakkaritlerine karşı Sickle Cell Anemi (SCA)'li hastalarda immünizasyona bağlı olarak ortaya çıkan immün cevabın kinetiğini ölçmek amacı ile planlanan bu çalışmaya 34'ü kız, 33'ü erkek, toplam 67 hastadan ve 13'ü kız, 5'i erkek toplam 18 sağlıklı kontrolden aşı öncesi ve sonrası alınan serum örnekleri dahil edilmiştir. Hastalar Çocuk Hematoloji ve Dahiliye Hematoloji Anabilim Dallarında takip edilen 1.5-24 (ortalama 11.38) yaş arası kişilerden, kontroller ise 1.5-29 (ortalama 12.8) yaş arası sağlıklı kişilerden seçilmiştir. Hasta ve kontrollerden aşı öncesi 3 cc. venöz kan örnekleri alınmış, daha sonra ya deltoid bölgesine yada uyluğun enterolateral bölgesine Pasteur Merieux firmasından ticari olarak temin edilen Pneumo-23 (Pnömokokal polisakkarit aşısı) ve Act-Hib (Haemophilus influenzae tip b-tetanus toksoid konjugat aşısı) aşıları tek doz olarak deri altı veya kas içi yolla uygulanmıştır. 26 hastaya heriki aşı farklı zamanlarda uygulanırken, 14 hasta ve 9 kontrole sadece Act-Hib, 27 hasta ve 9 kontrole sadece pneumo-23 aşısı uygulanmıştır. Aşılamaı takip eden 1., 2. ve 6. aylar sonunda spesifik humoral immün cevabı ölçmek amacı ile hastalardan tamamından venöz kan örnekleri alınmıştır. Elde edilen serum örnekleri ELISA metodu ile değerlendirilene kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Anti-H.influenzae tip b antikör cevabını ölçmek için "The Binding Site" firmasından ticari isim Human Anti-Haemophilus-B EIA kiti olan (Kat no:D512 ve D504) ve Hib kapsül polisakkaritine karşı IgG türü antikör cevabını ölçen EIA kiti, anti S.pneumoniae'nin kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan (anti-PCP) antikörleri ölçmek için aynı firmadan sağlanan Human functional IgG, IgG2- Anti-PCP (Pneumokokal Kapsül Polisakkarit) EIA kiti (Kat.no:D504,D307,D308,3818) kullanıldı.

Anti Haemophilus B EIA Kiti

Testin prensibi:

Bu test kiti Hib kapsül polisakkaritine karşı spesifik IgG antikorlarını ölçmek için düzenlenmiştir.

Kitin muhtevası:

1- Haemophilus b kaplı mikrokuyular, Hib kapsüller polisakkariti ile kaplı 16'şar kuyu bulunan 6 alüminyum poşet (6x16 = 96 kuyu)

2- Haemophilus B kalibratör ve kontrol: Herbiri 700 µl. stabilize edilmiş insan serumuna sahip iki şişe. Her bir serum referans seruma karşı kalibre edilmiştir (FDA'dan temin edilen, 60.9 µg/ml. IgG anti Hib-PS değeri tesbit edilmiş, H.influenzae tip b serumu ile).

3- Haemophilus B örnek dilüent: Kalibratör, kontrol ve test serumlarının dilüsyonu için içerisinde deterjan bulunan buffer.

4- Haemophilus B konjugat: Horse radish peroksidaz ile konjuge, insan IgG'ye karşı 300 µl. koyun antiserumu,

5- Haemophilus B konjugat diluent: Konjugatın dilüsyonu için içerisinde deterjan bulunan buffer,

6- Haemophilus B yıkama buffer: Kuyuları yıkamak için deterjen içeren buffer.

7- Substrat (TMB): Konjugatın mavi bir reaksiyon ürünü vermesi için, horseradish peroksidaz enziminin substratı olarak fonksiyon gören 10 ml. stabilize edilmiş TMB (3,3',5, 5' Tetramethylbenzidine)'dir.

8- Stop Buffer: Enzim ve substrat arasındaki reaksiyonu durduran ve mavi reaksiyon ürünü sarı renge çeviren içerisinde 13 ml. fosforik asit bulunan bir şişe.

9- Mikrokuyu striplerini yerleştirmek için kullanılan mikrokuyu çerçevesi,

10- İnkübasyon süresince kuyuları kapamak için plate kapağı,

11- Kalibrasyon eğrisini çizmek için grafik kağıdı.

Deney prosedürü:

1- Kitin oda ısısına getirilmesi: Kit kutusundan çıkarıldı ve yaklaşık 30 dakika oda ısısında bekletildi. Stripler, oda sıcaklığına ulaşana kadar alüminyum poşetlerden çıkarılmadı.

2- Örnek dilüent: Her bir strip için 8 ml. örnek dilüent gerekli olduğu için 1.6

ml. örnek dilüent distile su ile 8 ml'ye tamamlanarak gerekli olan miktarda örnek dilüent hazırlandı.

3- Kalibratör: 0.2 ml. kalibratör/0.8 ml. örnek diluent (1/5) ile dilüe edildi. Sonra bunun seri olarak 6 dilüsyonu yapıldı (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320)

4- Kontrol ve serum örnekleri: Kontrol ve aşılama öncesi serum örnekleri örnek dilüentle 1/50, aşılama sonrası serum örnekleri 1/1000 dilüe edildi.

5- Örnek pozisyonu: Kontrol, yedi kalibratör dilüsyonu ve test örneklerinin yeri, plate plan şemasına kaydedildi ve örneklerin tamamı çift olarak çalışıldı.

6- Gerekli sayıda mikrokuyu stripi alüminyum poşetlerden çıkarıldı ve çerçeveye yerleştirildi.

7- Örnek dağıtma ve inkübasyon: Plate planında tesbit edildiği gibi mikrokuyu striplerinin uygun kuyularına her bir serum örneğinden 100 µl. dağıtıldı. Plate kapatıldı ve nemli bir kutuya yerleştirildi, 37°C'de bir saat inkübe edildi.

8- Yıkama bufferı: Her bir strip için gereken 160 ml. yıkama bufferı, 8 ml. konsantrat distile su ile 160 ml.'ye (1/20) tamamlanarak hazırlandı.

9- Konjugatın dilüenti: Konjugat dilüenti distile su ile 1/5 oranında dilüe edildi. Her bir strip için 2 ml. konjugat dilüent hazırlandı.

10- Konjugat dilüsyonu: Şişe üzerinde yazılı olan dilüsyon faktörünü kullanarak, konjugat hazırlanan dilüentle dilüe edildi.

11- Plate yıkama: Bir saat inkübasyondan sonra kuyular otomatik plate yıkama aletinde (buffer volümü = 200 µl.) beş kez yıkandı. Bu işlemde sonra kuyular bir kağıt ped üzerinde hafifçe vurularak kurutuldu.

12- Konjugat dağıtımı ve inkübasyon: Her bir kuyuya 100 µl. konjugat dağıtıldı ve nemli bir kutuda 37°C'de bir saat inkübe edildi.

13- Substrat dağıtımı ve inkübasyon: Tekrar yıkama ve kurutma işleminden sonra her kuyuya 100 µl. TMB (3,3',5,5',Tetramethyl benzidine) substratı hızla dağıtıldı ve oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

14- Reaksiyon sonlandırımı: 30 dakika sonra her bir kuyuya 100 µl. stoping solüsyonu dağıtıldı.

15- Renk ölçümü: Bir mikrokuyu plate okuyucuda her bir kuyunun optik dansitesi (OD) 30 dakika içerisinde, 450 nm.de okundu.

Anti-PCP (Pnömonokokal kapsül polisakkarit) Human Fonksiyonel IgG ve IgG2 EIA Kiti

Testin prensibi:

Bu araştırma kitleri IgG ve IgG2 türü pnömokok kapsül polisakkarit antikorlarını ölçer. Fonksiyonel antikorlar oluşturan hastalar bu antijenlere karşı aktivite gösterir.

Kitin muhtevası:

1- Antijenle kaplı kuyulur: İçerisinde antijenle kaplı 16 kuyu bulunan 6 alüminyum poşet. PCP antijenleri, S.pneumoniae'nin 23 yaygın serotipinden (1,2,3,4,5,6B,7,F,8,9N, 10A,11A,12F,14, 15B,17F,18C,19F,20,22F,23F,33F) pürifiye edilmiştir (Bu serotipler 23 valanlı S.pneumonia aşısındaki serotiplerle aynıdır).

2- Fonksiyonel standart ve fonksiyonel kontrol: Herbiri içerisinde 700 ml. stabilize insan serumu bulunan iki şişe. Her bir serum pürifiye edilmiş PCP insan antiserum preparasyonuna affinitesine göre ayarlanmıştır.

3- Monoklonal antikor: İnsan IgG (Fc) ve IgG2 için fare monoklonal antikorları.

4- Fonksiyonel konjugat: Horseradish peroksidaz ile konjuge, fare IgG'ye karşı içerisinde 300 ml. koyun antiserumu bulunan bir şişe

5- Fonksiyonel konjugat dilüenti: Konjugatın kuyulara nonspesifik bağlanmasını azaltan, 20 kere konsantre, konjugat dilüsyon reageni.

6- Substrat tabletleri: O-phenylenediamine (OPD) tabletleri konjugatın horseradish (yaban turpu) peroksidaz enziminin substratıdır ve sarı renkli bir reaksiyon ürününü meydana getirir.

7- Substrat bufferı: Hem substrat tabletlerini çözmek için bir buffer olarak, hem de bir ko-substrat olarak etki eden tamponlanmış hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonudur.

8- Stop bufferı: Substrat ve enzim arasındaki reaksiyonu sonlandırmak ve renklenmiş reaksiyon ürününü stabilize etmek için bir şişe tampon solüsyonu.

9- Yıkama dilüent bufferı: Fonksiyonel kontrolü, fonksiyonel standartı, serum örneklerine ve konjugatı dilüe etmek ve kuyuları yıkamak için kullanılan protein ve deterjana sahip, 20 kez konsantre edilmiş buffer.

- 10- Stripleri yerleştirmek için mikrokuyu çerçevesi.
- 11- İnkübasyon sırasında kuyuları kapamak için plate kapağı
- 12- Standart eğriyi çizmek için grafik kağıdı.

Deney prosedürü:

1- Kiti oda sıcaklığında ısıtma: Kit kutusundan çıkarıldı ve yaklaşık olarak 30 dakika oda ısısında bekletildi. Stripler, oda sıcaklığına ulaşana kadar alüminyum poşetlerden çıkarılmadı.

2- Yıkama-diluent bufferı. Her bir strip için yaklaşık 160 ml. olmak üzere, plate yıkama ve standart, kontrol ve test serumlarını dilüe etmek için gerekli yıkama dilüent bufferı hesaplandı. Gerekli volüm, 8 ml. konsantrat, distile su ile 160 ml.'ye (1/20 dilüsyon) tamamlanarak hazırlandı.

3- Fonksiyonel standart 0.2 ml. standart 0.8 ml.yıkama dilüent bufferı ile dilüsyon 1/5 dilüe edildi. Bu dilüsyon kullanılarak fonksiyonel standardın dilüsyonları yapıldı (1/10, 1/50, 1/250, 1/1250) ve her bir dilüsyon sulandırımından evvel vortekslendi.

4- Fonksiyonel kontrol ve serum örnekleri: 0.1 ml. kontrol ya da aşılama öncesi serum örnekleri + 4.9 ml. yıkama dilüent bufferı (1/50 dilüsyon) ile hazırlanan örnekler vortekslendi. Aşılama sonrası serum örneklerinin 1/250 dilüsyonu hazırlandı.

5- Örnek pozisyonu: Beş standart dilüsyon, kontrol dilüsyonu ve test örneklerinin yeri, plate plan şemasına kaydedildi

6- Strip ve çerçeve kullanımı: Gerekli sayıda mikrokuyu stripi alüminyum poşetlerden çıkarıldı ve çerçeveye yerleştirildi.

7- Örnek dağıtma ve inkübasyon: Plate planı ile tesbit edildiği gibi mikrokuyu striplerinin uygun kuyuları içine herbir serum örneğinden 100 µl. dağıtıldı. Plate kapatılıp nemli bir kutuya yerleştirildi ve 37°C'de bir saat inkübe edildi.

8- Kuyular otomatik plate yıkayıcı (buffer volumü = 200 ml.) kullanılarak beş kez yıkandı ve plate bir kağıt ped üzerine hafifçe vurarak kurutuldu.

9- Monoklonal antikörlerin dağıtımı ve inkübasyon: Monoklonal antikörler kullanımdan önce vortekslendi. Her bir kuyuya 100 µl. monoklonal antikörler konuldu ve nemli kutuda 37°C'de 1 saat inkübe edildi.

10- Konjugat dilüentin dilüsyonu: Konjugat dilüent, yıkama dilüent buffer ile

1/20 oranında dilüe edildi.

11- Konjugat dilüsyonu: Kitin kullanma kılavuzunda belirtildiği gibi önce konjugat dilüentle konjugatın başlangıç dilüsyonu hazırlandı ve bu dilüsyondan da kılavuzda belirtilen kullanım dilüsyonu hazırlandı. Her bir dilüsyon kullanımdan önce vortekslendi.

12- Konjugat dağıtımı ve inkübasyon: Herbir kuyuya 100 µl. konjugat dağıtıldı, plate'nin üzeri kapatıldı ve nemli bir kutuya yerleştirilerek 37°C'de bir saat inkübe edildikten sonra yıkama basamağı tekrarlandı.

13- Substrat hazırlama: Substrat buffer kullanımdan önce oda ısısında bekletildi. Her bir strip için kullanımdan 10 dakika önce bir substrat tableti 2 ml. substrat bufferda çözüldü.

14- Substrat dağıtımı ve inkübasyon: Bütün kuyulara 100 µl. çözülmüş substrat dağıtıldı ve oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

15- Reaksiyon sonlandırımı: 30 dakika sonra herbir kuyuya 50 µl. stop solüsyonu dağıtıldı.

16- Renk ölçümü: Bir mikrokuyu plate okuyucuda (DENLEY marka) herbir kuyunun optik dansitesi 450 nm.de bekletilmeden okundu.

Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon eğrisi ve kalite kontrolü:

Dilüe kalibratördeki spesifik antikor konsantrasyonları, her test için kit içinden çıkan spesifik kalibratörlerdeki antikor konsantrasyonları, dilüsyon faktörlerine bölünerek hesaplandı.

Grafik kağıdı üzerinde kalibratörün herbir dilüsyonu için spesifik antikor konsantrasyonlarına karşılık gelen optik dansiteler işaretlenerek bu noktalardan geçen kalibrasyon eğrisi çizildi.

Dilüe kontrol serumundaki spesifik IgG, IgG2 konsantrasyonunu hesaplamak için, evvela duplike noktaların ortalama OD'si tesbit edildi. Bu değeri dilüsyon faktörü ile çarparak dilüe edilmemiş kontrol serumundaki spesifik IgG konsantrasyonu hesaplandı. Herbir deney sisteminde kontrolün fonksiyonel antikor konsantrasyonu şişe üzerindeki sabit değer in en fazla %10 altında veya üstünde olabilir. Kontrol serum bu aralıkta sonuç vermezse deneyin tekrarlanması gerekir.

Örnek sonuçları:

Her bir örneğin serum spesifik antikor konsantrasyonunu hesaplamak için duplike noktaların ortalama OD'si hesaplandı. Kalibrasyon eğrisinden dilüe serumdaki spesifik IgG, IgG2 konsantrasyonu okundu. Bu değeri dilüsyon faktörü ile çarparak, hasta serumlarındaki IgG veya IgG2 antikor miktarları hesaplandı. Optik dansitesi en yüksek veya en düşük kalibratör dilüsyonundan yukarı veya aşağı olan dilüe serum örnekleri uygun dilüsyon faktörleri kullanılarak tekrar çalışıldı.



BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dahiliye ve Pediatrik Hematoloji polikliniklerinde takip edilen Orak Hücre (SS) Anemili hastalarla sağlıklı çocuk ve yetişkinlere, pnömokok kapsül polisakkarit aşısı (Pneumo-23) ve/veya Haemophilus influenzae tip b kapsül polisakkarit-protein konjugat aşısı (Act-Hib) uygulayarak yaptığımız ve immünizasyona bağlı olarak ortaya çıkan spesifik antikor cevabının kinetiğini ölçmeyi amaçladığımız bu gruptaki çalışmamızın bulguları aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

34'ü kız, 33'ü erkek toplam 67 hasta ve 13'ü kız, 5'i erkek toplam 18 sağlıklı çocuk ve yetişkine ait serum örnekleri alınmış olup, örnek alınanların yaş ve çalışma gruplarına göre dağılımlarında, hasta grubunda kız ve erkek sayısının yaklaşık aynı, kontrol grubunda ise kızların daha fazla olduğu ve çalışma gruplarındakilerin çoğunlukla 6-12 ve >12 yaş grubunda yer aldıkları görülmektedir (Tablo-II).

Tablo-II. Çalışmaya dahil edilen kişilerin yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı.

| Çalışma Grubu | | YAŞ GRUPLARI (YIL) | | | | | | | | | |
|---------------|-------|--------------------|------|------|-------|------|-------|------|-------|--------|-------|
| | | 1.5-2 | | >2-5 | | 6-12 | | >12 | | TOPLAM | |
| | | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % |
| HASTA | Kız | - | - | 5 | 14.70 | 12 | 35.29 | 17 | 50 | 34 | 50.74 |
| | Erkek | 2 | 6.06 | 3 | 9.09 | 15 | 45.45 | 13 | 39.39 | 33 | 49.25 |
| TOPLAM | | 2 | 2.98 | 8 | 11.94 | 27 | 45.00 | 30 | 44.77 | 67 | 100 |
| KONTROL | Kız | - | - | 2 | 15.38 | 2 | 15.38 | 9 | 69.23 | 13 | 27.77 |
| | Erkek | 1 | 20 | 2 | 49 | 1 | 20 | 1 | 20 | 5 | 72.23 |
| TOPLAM | | 1 | 5.55 | 4 | 22.22 | 3 | 16.66 | 10 | 55.55 | 18 | 100 |

Çalışmamızda 14'ü hasta, 9'u kontrol grubuna ait toplam 23 kişiye sadece Act-Hib aşısı, 27'si hasta, 9'u kontrol toplam 36 kişiye sadece pneumo-23 aşısı ve

14'ü kız, 12'si erkek toplam 26 hastaya da her iki aşı değişik zamanlarda uygulanmıştır. Act-Hib aşısı 40'ı hasta, 9'u kontrol toplam 49 kişiye, Pneumo-23 aşısı ise 53'ü hasta ve 9'u kontrol toplam 62 kişiye uygulanmıştır (Tablo-III).

Tablo-III. İmmünizasyon amacı ile aşılanan hasta ve kontrol grubunda yer alanların yaş, uygulanan aşı ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı.

| Uygulanan Aşı | Cinsiyet | Yaş Grupları | | | | |
|---------------------|----------|--------------|------|------|------|--------|
| | | 1.5-2 | >2-5 | 6-12 | > 12 | Toplam |
| Pneumo-23 | Hasta | - | 1 | 8 | 4 | 13 |
| | Erkek | - | 2 | - | - | 2 |
| | Kontrol | - | 2 | 5 | 7 | 14 |
| | Hasta | - | - | 2 | 5 | 7 |
| | Kız | - | 3 | 13 | 11 | 27 |
| | Kontrol | - | 2 | 2 | 5 | 9 |
| Act-Hib | Hasta | 2 | 2 | 1 | 1 | 6 |
| | Erkek | 1 | - | 1 | 1 | 3 |
| | Kontrol | - | 1 | 2 | 5 | 8 |
| | Hasta | - | 2 | - | 4 | 6 |
| | Kız | 2 | 3 | 3 | 6 | 14 |
| | Kontrol | 1 | 2 | 1 | 5 | 9 |
| Pneumo-23 + Act-Hib | Hasta | - | - | 6 | 8 | 14 |
| | Erkek | - | - | - | - | - |
| | Kontrol | - | 2 | 5 | 5 | 12 |
| | Hasta | - | - | - | - | - |
| | Kız | - | 2 | 11 | 13 | 26 |
| | Kontrol | - | - | - | - | - |

Hasta ve kontrollerden aşılama öncesi, aşılamayı takip eden 1,2 ve 6. aylarda serum örneği alınmış, örnekler EIA yöntemi ile çalışılarak ve kit kalibratörleri ile elde edilen eğri üzerine düşürülerek değerlendirildi (Tablo-IV). Hem hasta, hem de kontrol grubunda yer alanların aşılama öncesi serumlarındaki antikor miktarlarında yaşa paralel olarak artışlar kaydedildi. Hastaların 8(%20)'inde, immünize edilmemiş kişilerde Hib enfeksiyonlarına karşı kazanılmış koruyucu immün cevabın alt sınırı olarak bilinen 0.15 µg/ml.lik spesifik serum antikor ve altındaki değerler tespit edildi. Kontrol grubunda yer alanların hiçbirinde 0.15 µg/ml.'nin altında antikor cevabı

tespit edilmedi. Aşılama öncesi >2-5 yaş arası hasta grubunda yer alan çocukların serum örneklerinin %60'ı, 6-12 yaş serum örneklerinin %21.42'si, 12 yaş üstündekilerin %10.52'si bu koruyucu değerin altında spesifik antikor cevabına sahipti (Tablo-IV,V). Hastaların 21(%52.50)'i, kontrollerin ise 4(%44.40)'ü aşılama öncesi de koruyucu immün cevabı sağlayan 1 µg/ml.'nin üzerindeki antikor cevabına sahipti (Tablo-IV,V).

Tablo-IV. Act-Hib aşısı uygulanan hastaların aşılama öncesi serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları (µg/ml.) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri.

| Yaş (yıl) | Hasta Sayısı | Aşılama öncesi serum anti-PRP antikorları | | | | | | | | |
|-----------|--------------|---|--------------------|-------|-------------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
| | | Geometrik ortalama(µg/ml) | Antikor<0.15 µg/ml | | Antikor<0.5 µg/ml | | Antikor<1 µg/ml | | Antikor>1 µg/ml | |
| | | | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % |
| 1.5-2 | 2 | 6.20 (4.4-8.0) | - | - | - | - | - | - | 2 | 100 |
| >2-5 | 5 | 0.47 (0.11-1.5) | 3 | 60 | 4 | 80 | 4 | 80 | 1 | 20 |
| 6-12 | 14 | 1.77 (0.12-7.5) | 3 | 21.42 | 6 | 42.85 | 6 | 42.85 | 8 | 57.15 |
| >12 | 19 | 3.19 (0.15-22.5) | 2 | 10.52 | 7 | 36.84 | 9 | 47.36 | 10 | 52.64 |
| Total | 40 | 2.50 (0.11-22.5) | 8 | 20 | 17 | 42.50 | 19 | 47.50 | 21 | 52.50 |

Tablo-V. Act-Hib aşısı uygulanan kontrol grubunun aşılama öncesi serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalaması (µg/ml.) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri.

| Yaş (yıl) | Kontrol sayısı | Aşılama öncesi serum anti-PRP antikorları | | | | | | | | |
|-----------|----------------|---|--------------------|---|-------------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
| | | Geometrik ortalama(µg/ml) | Antikor<0.15 µg/ml | | Antikor<0.5 µg/ml | | Antikor<1 µg/ml | | Antikor>1 µg/ml | |
| | | | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % |
| 1.5-2 | 1 | 0.25 | - | - | 1 | 100 | 1 | 100 | - | - |
| >2-5 | 2 | 0.78(0.35-1.2) | - | - | 1 | 50 | 1 | 50 | 1 | 50 |
| 6-12 | 1 | 5.75 | - | - | - | - | - | - | 1 | 100 |
| >12 | 5 | 2.25 (0.20-2.6) | - | - | 1 | 20 | 3 | 60 | 2 | 40 |
| Toplam | 9 | 1.6(0.20-5.75) | - | - | 3 | 33.33 | 5 | 55.55 | 4 | 44.44 |

Hasta ve kontrol grubunda yer alan aşılanmış kişilerde aşılanmadan sonraki

1, 2 ve 6. aylarda alınan serum örneklerindeki antikor miktarı koruyucu antikor miktarlarının üzerine çıkmıştır (Tablo-VI,VII,VIII,IX).

Aşılamadan 1-2 ay sonra hasta ve kontrol grubunda yer alan kişilerin tamamından toplanan serum örneklerinde, hedeflenen 1 µg/ml.'lik serum spesifik antikor düzeyinin üstünde antikor cevapları gösterildi (Tablo-VI,VII).

Tablo-VI. Act-Hib uygulanan 40 hastanın aşılama sonrası 1 ve 2. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları (µg/ml.) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri

| Yaş (yıl) | Hasta sayısı | Aşılamadan 1-2 ay sonraki serum anti-PRP antikorları | | | | |
|-----------|--------------|--|----------------------|------|----------------------|------|
| | | Geometrik ortalama µg/ml. | Antikor > 0.15 µg/ml | | Antikor > 1.0 µg/ml. | |
| | | | Sayı | %'si | Sayı | %'si |
| 1.5-2 | 2 | 47.5 (21-62.5) | 2 | 100 | 2 | 100 |
| >2-5 | 5 | 67.75 (12-130) | 5 | 100 | 5 | 100 |
| 6-12 | 14 | 57.21 (12-130) | 14 | 100 | 14 | 100 |
| >12 | 19 | 47.93 (17.6-90) | 19 | 100 | 19 | 100 |
| Toplam | 40 | 53.63 (12-130) | 40 | 100 | 40 | 100 |

Tablo-VII. Act-Hib aşısı uygulanan kontrol grubundaki 9 kişinin 1 ve 2. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları (µg/ml.) ve spesifik IgG düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri

| Yaş (yıl) | Kontrol sayısı | Aşılamadan 1-2 ay sonraki serum anti-PRP antikorları | | | | |
|-----------|----------------|--|----------------------|------|----------------------|------|
| | | Geometrik ortalama µg/ml. | Antikor > 0.15 µg/ml | | Antikor > 1.0 µg/ml. | |
| | | | Sayı | %'si | Sayı | %'si |
| 1.5-2 | 1 | 41 | 1 | 100 | 1 | 100 |
| >2-5 | 2 | 21.6 (8.8-30) | 2 | 100 | 2 | 100 |
| 6-12 | 1 | 33 | 1 | 100 | 1 | 100 |
| >12 | 5 | 68.3 (17.2-116) | 5 | 100 | 5 | 100 |
| Toplam | 9 | 50.96 (8.8-116) | 9 | 100 | 9 | 100 |

Hasta grubundakilerin hepsi aşılama sonrası 6.ay serum örneklerinde, 1 µg/ml.'nin üstünde antikor miktarlarına sahipti. Aşılamadan sonraki 1 ve 2. aylardaki

antikor titrelerine göre aşılamadan 6 ay sonraki antikor seviyelerinde artış olmadı. Hattâ 1.5-2 yaş grubunda 1 ve 2. aylarda 47.5 $\mu\text{g/ml}$. olan cevabın 6.ayda 26.6 $\mu\text{g/ml}$.’ye > 12 yaş grubunda ise 47.93 $\mu\text{g/ml}$. olan cevabın 43.24 $\mu\text{g/ml}$.’ye gerilediği tespit edildi (Tablo-VIII,X). Böylece, yüksek risk grubu olarak nitelendirilen orak hücre anemili hastalarda, aşılama öncesi Hib’ye karşı koruyucu değerin (0.15 $\mu\text{g/ml}$.) altında olan antikor cevabının, aşılama sonrası 6.ayda bile, aşılamada hedeflenen koruyucu antikor değeri (1 $\mu\text{g/ml}$.)’nin üzerinde kaldığı tespit edildi (Tablo-IV,VIII).

Tablo-VIII. Act-Hib aşısı uygulanan hasta grubundaki 40 kişinin 6. aydaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml}$.) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri

| Yaş (yıl) | Hasta sayısı | Aşılamadan 6 ay sonraki serum anti-PRP antikorları | | | | |
|---------------|--------------|--|---------------------------------|------------|----------------------------------|------------|
| | | Geometrik ortalama $\mu\text{g/ml}$. | Antikor > 0.15 $\mu\text{g/ml}$ | | Antikor > 1.0 $\mu\text{g/ml}$. | |
| | | | Sayı | %’si | Sayı | %’si |
| 1.5-2 | 2 | 26.6 (11.2-42) | 2 | 100 | 2 | 100 |
| >2-5 | 5 | 41.96 (1.5-62.5) | 5 | 100 | 5 | 100 |
| 6-12 | 14 | 38.121 (6.8-70) | 14 | 100 | 14 | 100 |
| > 12 | 19 | 43.24 (5.4-65) | 19 | 100 | 19 | 100 |
| Toplam | 40 | 40.45 (1.5-70) | 40 | 100 | 40 | 100 |

Kontrol grubunda yer alanlarda aşılamadan 6 ay sonra alınan serum örneklerinde spesifik antikor miktarlarının 1 $\mu\text{g/ml}$.’nin çok üstünde kalarak korunduğu görüldü (Tablo-IX).

Tablo-IX. Act-Hib uygulanan kontrol grubundaki 9 kişinin aşılama öncesi ve sonrası elde edilen serum antikor düzeylerinde spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve spesifik IgG antikor düzeylerine sahip olanların sayı ve yüzdeleri

| Yaş (yıl) | Kontrol sayısı | Aşılama öncesi serum anti-PRP antikorları | | | | |
|-----------|----------------|---|----------------------------------|------|---------------------------------|------|
| | | Geometrik ortalama $\mu\text{g/ml.}$ | Antikor > 0.15 $\mu\text{g/ml.}$ | | Antikor > 1.0 $\mu\text{g/ml.}$ | |
| | | | Sayı | %'si | Sayı | %'si |
| 1.5-2 | 1 | 22 | 1 | 100 | 1 | 100 |
| > 2-5 | 2 | 24(22-26) | 2 | 100 | 2 | 100 |
| 6-12 | 1 | 26 | 1 | 100 | 1 | 100 |
| > 12 | 5 | 28.8(14-46) | 5 | 100 | 5 | 100 |
| Toplam | 9 | 26.66(14-46) | 9 | 100 | 9 | 100 |

Act-Hib'le hasta ve kontrol gruplarında, aşılama öncesi ve sonrası elde edilen serum antikor düzeyleri toplam olarak değerlendirildiğinde, her iki grupta da yaşla paralel olarak aşılama öncesi antikor miktarının artış gösterdiği, sadece hasta grubunda 1.5-2 yaş arasında iki çocuğun antikor düzeyindeki yüksekliğin muhtemelen yeni geçirilmiş bir enfeksiyona işaret ettiği kanaatindeyiz. Bunlarda antikor cevaplarının müteakip çalışmalarda yüksek çıktığı görülmüştür. Bunun yanısıra 1,2 ve 6. aylardaki spesifik antikor miktarlarının kontrol grubuna oranla hasta grubunda kantitatif olarak daha yüksek oranda arttığı görülmüştür. Her iki çalışma grubunda da 1 ve 2. aya göre 6.ayda antikor miktarında düşme kaydedilmekle birlikte bu değerlerin aşı öncesi değerlerden en az 4.29 kat daha yüksek olduğu görüldü (Tablo-X).

Tablo-X. Act-Hib aşısı uygulanan 40 hasta ve 9 kontrol vak'asında aşılama öncesi ve aşılama sonrası 1,2 ve 6. aylardaki serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları ($\mu\text{g/ml.}$) ve antikor düzeylerindeki artış oranları

| Yaş (yıl) | Hasta sayısı | Aşı öncesi | Aşı sonrası 1-2.ay | | Aşı sonrası 6.ay | | Kontrol sayısı | Aşı öncesi | Aşı sonrası 1-2.ay | | Aşı sonrası 6.ay | |
|-----------|--------------|------------|--------------------|-------------|------------------|-------------|----------------|------------|--------------------|-------------|------------------|-------------|
| | | | Ab. | Artış oranı | Ab. | Artış oranı | | | Ab. | Artış oranı | Ab. | Artış oranı |
| 1.5-2 | 2 | 6.20 | 47.5 | 7.66 | 26.6 | 4.29 | 1 | 0.25 | 41 | 164 | 22 | 88 |
| >2-5 | 5 | 0.72 | 67.75 | 144.14 | 41.96 | 89.27 | 2 | 0.77 | 21.6 | 28.05 | 24 | 31.16 |
| 6-12 | 14 | 1.78 | 57.21 | 32.14 | 38.12 | 21.41 | 1 | 5.75 | 33 | 5.73 | 26 | 4.52 |
| > 12 | 19 | 3.18 | 47.93 | 15.02 | 43.24 | 13.55 | 5 | 2.25 | 66.3 | 30.35 | 28.8 | 20.37 |
| Toplam | 40 | 2.50 | 53.83 | 21.45 | 40.45 | 18.18 | 9 | 2.08 | 50.96 | 24.5 | 26.66 | 12.81 |

Ab:antikor

Pneumo 23 ile yapılan immünizasyon çalışmalarına dahil edilen 53 hastanın, aşılama öncesi total anti-PCP IgG antikor değerlerinin geometrik ortalamalarının kontrol grubuna göre bütün yaş gruplarında yaklaşık 1/2- 1/3 oranında daha düşük olduğu tespit edildi (Tablo-XI,XII)). Hasta ve kontrol grubunda yer alan kişilerden aşılama öncesi alınan serum örneklerindeki antikor cevabı ile aşılama sonrası 1,2 ve 6. aylarda alınan serum örneklerindeki antikor cevab karşılaştırıldığında 1.32-4.37 arasında değişen artışların olduğu görüldü (Tablo-XI,XII). Total bir değerlendirme ile hasta grubunda yer alanlarda aşılama öncesi ve sonrası serum kantitatif antikor miktarlarında yaşa paralel olarak artışlar vardı. Aşılama öncesi >2-5 yaş grubunda 41.47 mg/L. olan antikor ortalamasının, > 12 yaş grubunda 88.49 mg/L.'ye çıktığı görüldü. Aşılama öncesi anti-PCP antikor miktarı ile aşılama sonrası 6.ayda ulaşılan antikor miktarı arasında en az iki kat artış görüldü. Bu artışın >2-5 yaş grubunda 1 ve 2. aylarda 2.99, 6.ayda ise 4.97 kat olduğu tespit edildi (Tablo-XI). Koruyucu immün cevabı gösteren iki kat üzerinde antikor cevabı, aşılama sonrası 1 ve 2. aylarda hastaların %72.34'ünde, 6. ayda ise %70.83'ünde alınabildi (Tablo-XI).

Böylece hasta grubunun aşılama öncesi 41.47 mg/L ile 88.49 mg/L. arasında değişen serum antikorlarının geometrik ortalamalarının, aşılama sonrası 6. ayda kontrol grubuna yaklaştığı tespit edildi. Aşılama sonrası 6. ayda alınan serum örneklerinde hasta grubundaki serum spesifik antikor miktarları 174.4 mg/L.-353 mg/L. iken, bu değerler kontrol grubunda 173 mg/L.-336.6 mg/L. idi (Tablo-XI, XII).

Tablo-XI. Pneumo 23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve antikor düzeylerinde aşılama sonrası artış oranları.

| Yaş (yıl) | Hasta sayısı | Aşılama öncesi antikor mg/lt. | Aşılama sonrası 1-2 ay | | Aşılama sonrası 6.ay | | Aşılama sonrası 2 kattan fazla artış gösteren hastalar | | | |
|-----------|--------------|-------------------------------|------------------------|-------------|----------------------|-------------|--|-------|----------------------------|-------|
| | | | antikor mg/lt. | Artış oranı | antikor mg/lt. | Artış oranı | Aşılama sonrası 1-2.ay sonra | | Aşılama sonrası 6.ay sonra | |
| | | | | | | | Sayı | % | Sayı | % |
| 2-5 | 5 | 41.47 | 124.2 | 2.99 | 181.3 | 4.37 | 5/5 | 100 | 3/3 | 100 |
| 6-12 | 24 | 74.19 | 160 | 2.15 | 174.4 | 2.35 | 13/19 | 68.42 | 11/16 | 68.75 |
| > 12 | 24 | 88.49 | 246.7 | 2.78 | 352 | 3.97 | 16/23 | 69.56 | 3/5 | 60.00 |
| Toplam | 53 | 77.57 | 198.6 | 2.56 | 262.04 | 3.37 | 34/47 | 72.34 | 17/24 | 79.83 |

Kontrol grubunda yer alanlarda aşılama sonrası 1,2 ve 6. aylarda serum antikor miktarlarında aşılama öncesine göre kantitatif artışlar tesbit edildi. Bu gruptaki artışın birim hesabı ile miktarı 1 ve 2. aylarda ortalama 1.5 kat iken, 6. ayda aşılama öncesine göre antikor artışı 1 ve 2. aylarda elde edilenin üzerine çıkmadı. Aksine önemli olmasa da antikor birim miktarlarının 6.ayda düşme eğilimi içinde olduğu görüldü. Genel olarak kontrol grubunda da hasta grubunda olduğu gibi aşı öncesi ve aşı sonrası örneklerdeki antikor miktarları yaşla paralel olarak artış gösterdi. Mesela >2-5 yaş grubundakilerin aşılama öncesi antikor düzeyi 126.4 mg/L. iken, >12 yaş grubundakilerde bu miktarın 255 mg/L. olması dikkati çekti (Tablo-XII). Kontrol grubunda yer alanlarda aşılama sonrası 1 ve 2. aylardaki artış miktarının 1.53-1.98, 6. aydaki ise 1.32-1.78 kat olduğu görüldü (Tablo-XII).

Tablo-XII. Pneumo 23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG antikor düzeylerinin geometrik ortalamaları (mg/L.) ve antikor düzeylerinde aşılamadan sonraki artış oranları

| Yaş (yıl) | Kontrol sayısı | Aşılama öncesi antikor mg/lt. | Aşılama sonrası 1-2.ay | | Aşılama sonrası 6.ay | | 2 kattan fazla artış gösteren kişiler | | | |
|-----------|----------------|-------------------------------|------------------------|-------------|----------------------|-------------|---------------------------------------|----|-----------------------|---|
| | | | antikor mg/lt. | Artış oranı | antikor mg/lt. | Artış oranı | Aşılamadan 1-2.ay sonra | | Aşılamadan 6.ay sonra | |
| | | | | | | | Sayı | % | Sayı | % |
| 2-5 | 2 | 126.4 | 193.3 | 1.53 | 173 | 1.36 | - | - | - | - |
| 6-12 | 2 | 161.6 | 320 | 1.98 | 288 | 1.78 | 1/2 | 50 | - | - |
| >12 | 5 | 255 | 415 | 1.62 | 336.6 | 1.32 | 1/4 | 25 | - | - |
| Toplam | 9 | 205.66 | 372 | 1.8 | 271.2 | 1.31 | 2/6 | 33 | - | - |

Kapsüllü bakterilerin polisakkarit antijenlerine karşı IgG2 klonlarının spesifik olarak üretildiği, bu antikorları eksprese eden B lenfositlerinin de dalakta proliferasyon olduğu, cerrahi veya otosplenektomili hastalarda, dalak disfonksiyonu sebebi ile IgG2 sentez edilemediği için kapsüllü mikroorganizmaların enfeksiyonlarına bağlı mortalite oranının, kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. IgG2 sekrete eden B hücre klonlarının az miktarda da olsa dalak dışında (kemik iliğinde de) da proliferasyon oldukları, bu sebeple dalak disfonksiyonu olan hastalarda kapsül polisakkaritlerinin kemik iliğindeki B hücre proliferasyonunu aktive ederek, koruyucu seviyede IgG2 oluşturabileceği tartışılmaktadır. Biz hasta ve kontrol grubumuzda

pnömokokların kapsül polisakkariti ile aşıladığımız kişilerden aldığımız serum örneklerini, pnömokok polisakkaritine spesifik IgG2 titreleri yönünden de teste tabi tuttuk (Tablo-XIII, XIV).

Hasta grubunda aşılamadan sonra dalakta proliferen olan spesifik B lenfosit klonları tarafından polisakkarit antijenlere karşı salgılanan IgG2 miktarında 1 ve 2. aylarda 2.27-10.8, 6. ayda ise 2.33-10.1 katlık artışlar oldu. Antikor miktarında iki kat veya üzerindeki artışlar aşılamadan 1 ve 2 ay sonra hastaların %71.4'ünde, 6 ay sonra ise %65.2'sinde tespit edildi (Tablo-XIII). Buna karşılık kontrol grubundaki antikor artış oranının 1 ve 2. aylarda 1.23-2.07 kat, 6.ayda ise 1.05-1.47 kat olduğu görüldü (Tablo-XIV).

Hasta grubundakilerde aşılama öncesi 3.37 mg/L.-32.19 mg/L. arasında değişen spesifik IgG2 antikor ortalamaları, aşılamaya bağlı olarak 1 ve 2. aylarda 34.51 mg/L-82.04 mg/L.ye çıktı. Bu miktarların 6.ayın sonunda da korunduğu görüldü. Hasta ve kontrol grubundakilerde aşılamadan 6 ay sonraki spesifik IgG2 antikor miktarları birbirine yakındı (Tablo-XIII,XIV).

Tablo-XIII. Pneumo 23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG2 düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve aşılamadan sonra antikor düzeylerindeki artış oranları

| Yaş grubu (yıl) | Hasta sayısı | Aşılama sonrası antikor mg/lt. | Aşılama sonrası 1-2.ay | | Aşılama sonrası 6.ay | | 2 kattan fazla artış gösteren hastalar | | | |
|-----------------|--------------|--------------------------------|------------------------|-------------|----------------------|-------------|--|-------|-----------------------|-------|
| | | | antikor mg/lt. | Artış oranı | antikor mg/lt. | Artış oranı | Aşılamadan 1-2.ay sonra | | Aşılamadan 6.ay sonra | |
| | | | | | | | Sayı | % | Sayı | % |
| 2-5 | 4 | 3.37 | 36.43 | 10.8 | 34 | 10.08 | 4/4 | 100 | 4/4 | 100 |
| 6-12 | 23 | 15.19 | 34.51 | 2.27 | 43.23 | 2.84 | 11/16 | 68.75 | 8/15 | 53.33 |
| > 12 | 23 | 32.19 | 82.04 | 2.54 | 76.95 | 2.33 | 15/22 | 68.18 | 3/4 | 75 |
| Toplam | 50 | 22.06 | 59.58 | 2.70 | 28.69 | 1.3 | 30/42 | 71.4 | 15/23 | 65.2 |

Sonuç olarak dalak disfonksiyonu ile karakterize olan orak hücre anemili hastalarda, kapsül polisakkaritlerine karşı meydana gelen doğal immün cevap, kontrol grupları ile mukayese edildiğinde beklenildiği şekilde daha düşük olarak bulundu(Tablo-XI,XII,XIII, XIV).

Tablo-XIV. Pneumo 23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG2 düzeylerinin geometrik ortalaması (mg/L.) ve aşılamadan sonra antikor düzeylerindeki artış oranları

| Yaş (yıl) | Kontrol sayısı | Prevaks antikor mg/lt. | Aşılama sonrası 1-2. ay | | Aşılama sonrası 6. ay | | 2 kattan fazla artış gösteren kişiler | | | |
|-----------|----------------|------------------------|-------------------------|-------------|-----------------------|-------------|---------------------------------------|----|------------------------|----|
| | | | antikor mg/lt. | Artış oranı | antikor mg/lt. | Artış oranı | Aşılamadan 1-2. ay sonra | | Aşılamadan 6. ay sonra | |
| | | | | | | | Sayı | % | Sayı | % |
| 2-5 | 2 | 25.76 | 38.13 | 1.48 | 35 | 1.35 | 1/2 | 50 | - | - |
| 6-12 | 2 | 44.6 | 92.50 | 2.07 | 66 | 1.47 | 1/2 | 50 | - | - |
| > 12 | 5 | 68.38 | 84.28 | 1.23 | 72 | 1.05 | 1/5 | 20 | 1/3 | 33 |
| Toplam | 9 | 53.62 | 75.85 | 1.41 | 62.80 | 1.17 | 3/9 | 33 | 1/3 | 33 |

Hasta grubunda pnömokok kapsül polisakaritlerine karşı meydana gelen diğer IgG fraksiyonlarına göre IgG2 fraksiyonunun önemli oranda yükseldiği görüldü (Tablo-XV).

Tablo-XV. Pneumo-23 aşısı uygulanan hastaların serum spesifik IgG ve IgG2 antikor düzeylerinin geometrik ortalamalarının (mg/L.) karşılaştırılması ve IgG2 fraksiyonunun diğer IgG fraksiyonlarına oranının yüzdesi (IgG2/IgG-IgG2x100)

| Yaş (yıl) | Aşılama öncesi | | | Aşılama sonrası 1-2. Ay | | | Aşılama sonrası 6. Ay | | |
|-----------|----------------|-------|-------|-------------------------|-------|-------|-----------------------|-------|-------|
| | IgG | IgG2 | % | IgG | IgG2 | % | IgG | IgG2 | % |
| 2-5 | 41.47 | 3.37 | 8.84 | 124.2 | 36.43 | 41.03 | 181.3 | 34 | 23.08 |
| 6-12 | 74.19 | 15.19 | 25.74 | 160 | 34.51 | 27.50 | 174.4 | 43.23 | 32.95 |
| > 12 | 88.49 | 32.19 | 57.17 | 246.7 | 82.04 | 49.82 | 362 | 76.95 | 27.97 |

Orak hücre anemili hastalarda aşılamayı takip eden 1. aydan itibaren, sağlıklı kontrol gruplarındaki antikor miktarlarına denk antikor cevabının elde edildi (Tablo-XI,XII,XIII,XIV). Başka bir ifade ile orak hücre anemili hastaların pnömokok kapsül polisakarit aşısı ile aşılanması sonucu IgG2'nin de ön plana çıktığı koruyucu immün cevabı meydana getirebileceği görüldü (Tablo-XI,XII,XIII,XIV,XV,XVI).

Tablo-XVI. Pneumo-23 aşısı uygulanan kontrol grubundaki kişilerin serum spesifik IgG ve IgG2 antikor düzeylerinin geometrik ortalamalarının (mg/L.) karşılaştırılması ve IgG2 fraksiyonunun diğer IgG fraksiyonlarına oranının yüzdesi (IgG2/IgG-IgG2x100).

| Yaş (yıl) | Aşılama öncesi | | | Aşılama sonrası 1-2. Ay | | | Aşılama sonrası 6.Ay | | |
|-----------|----------------|-------|-------|-------------------------|-------|-------|----------------------|------|-------|
| | IgG | IgG2 | % | IgG | IgG2 | % | IgG | IgG2 | % |
| 2-5 | 126.4 | 25.76 | 25.59 | 193.6 | 38.13 | 24.52 | 173 | 35 | 25.36 |
| 6-12 | 161.6 | 44.6 | 38.11 | 320 | 92.50 | 40.65 | 288 | 66 | 29.72 |
| > 12 | 255 | 68.38 | 36.64 | 415 | 84.28 | 25.48 | 336.6 | 72 | 27.21 |

TARTIŞMA

Orak hücre anemili çocuk ve yetişkinlerde kapsüllü bakteriler tarafından meydana getirilen enfeksiyon hastalıklarının insidansının hastalığın lokalizasyonu ve etken patojene göre normal dalak fonksiyonuna sahip olanlardan 116-600 kat daha fazla görüldüğü, bu çocuklarda hayatın ilk beş yılında görülen ölüm olaylarının en az %25'inin bu tür kapsüllü mikroorganizmaların oluşturduğu sepsis ve menenjitlere bağlı olduğu bildirilmektedir^(1,5,45,78,83,84,86,90,105,111,115, 143,151).

Küçük çocuk ve infantlarda *S.pneumoniae* ve *H.influenzae* tip b'ye karşı dolaşımında antikorların bulunmayışı yada düşük oluşu karakteristiktir. Daha sonra bu organizmalara progressiv maruz kalma antikor oluşumunu stimüle eder. Dolaşımında spesifik antikorların bulunmadığında bakterinin klirensi esas olarak bir splenik fonksiyondur⁽¹⁰⁵⁾.

Vücuttaki enfeksiyon etkenlerinin yok edilmesinde dalağın bir filtre gibi mekanik fonksiyon görmesinin yanı sıra, kapsül polisakkaritlerine karşı spesifik IgM ve IgG 2 türü antikorları sentez etmesi sebebi ile immünolojik fonksiyonu da olduğu bilinmektedir^(25,81,100,105). İmmün sistemi henüz tamamen gelişmemiş küçük bir çocukta dalak bu tür antikorları üreterek veya alternatif kompleman yolunu stimüle ederek enfeksiyona karşı vücut savunmasında hayati bir rol oynar^(77,78).

Orak hücre anemili çocuklarda hayatın 3.ayından itibaren dalakta antikor sentez eden retiküloendotelyal hücrelerin fonksiyonunda irreversible yetmezlik başlar. Bu yetmezlik 6 aydan daha büyük orak hücre anemili çocuk ve yetişkinlerde bile 6 aydan küçük normal çocukların seviyesi altındadır. Bu sebebledir ki, fonksiyonel splenektomili olarak kabul edilen orak hücre anemili çocuklar ve yetişkinlerde kapsüllü bakteri enfeksiyonlarına karşı duyarlılık artmaktadır^(1,86,112,116).

Akdeniz iklim kuşağında yer alan ve yakın akraba evliliklerinin yoğun olarak görüldüğü bölgemizde, orak hücreA yüksek morbidite ve mortalite oranı ile seyreden önemli bir tıbbi antitedir.

Subtropikal iklim kuşağında yer alan bölgemizde orak hücre anemi

insidansının yüksekliğine paralel olarak H.influenzae ve S.pneumoniae'ya bağlı hastalıkların dahil olduğu enfeksiyon hastalıklarının görülme riski son derece yüksektir. Bu sebeple orak hücre anemili çocuklarda hastalığın prognozu üzerine son derece önemli etkisi olan enfeksiyon hastalıklarına karşı koruyucu hekimlik çalışmaları konusunda acil yöntemlerin alınması gerekmektedir.^(90,115)

Diggs Memphis'de orak hücre anemili hastalar arasındaki ölümlerin %25'inin kapsüllü mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğunu bildirmiştir. Watson ve Robinson izledikleri 252 orak hücre anemili hastada S.pneumoniae'ye bağlı menenjit insidansının %6 olduğunu, normal çocuklarda bu enfeksiyonun prevalansının ise bölgelerinde %0.2'nin altında olduğunu tesbit etmişlerdir. Barret ve Connor, aynı toplumdaki normal çocuklara kıyasla orak hücre anemili çocuklarda Hib'ye bağlı menenjit insidansının 116 S.pneumoniae'ye bağlı menenjit insidansının ise 600 kat fazla olduğuna işaret etmişlerdir.⁽¹⁰⁵⁾

Powars D. ve arkadaşları ise yine bu gruptaki çocuklarda H.influenzae sepsisi riskinin 4 kat, S.pneumoniae sepsisi riskinin 400 kat arttığını ileri sürmüşlerdir.⁽¹¹¹⁾ Powars ve arkadaşları, orak hücre anemili hastalarda ileri yaşlarda da kapsüllü bakteriler tarafından meydana getirilen enfeksiyonlara karşı riskin devam ettiğini ileri sürerek, 10 yaşın üzerindeki orak hücre anemili hastalarda S.pneumoniae sepsisi riskinin normal kişilerden en az dört kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.⁽¹¹²⁾

Her ne kadar yenidoğan ve bebeklikten başlayarak, ileri yaş gruplarına kadar yaşa paralel olarak bir artış olsa da, orak hücre anemili hastalarda kapsüllü mikroorganizmaların polisakkarit antijenlerine karşı oluşan spesifik antikörlerin normal kontrollere göre oldukça düşük olduğu gösterilmiştir.⁽¹⁰⁵⁾ Bu sebeple ileri yaş gruplarında da bu mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlara duyarlılığın görülmesi normaldir.^(105,112,136)

Sepsisin orak hücre anemili hastalarda sık olarak görülmesinin bir başka önemli sebebi de dalakta üretilen makrofajların, karaciğer ve akciğerdeki humoral ve sellüler immün cevabı modifiye etmeleridir. Bu makrofajların yetersizliği bu organlarda kanın mikroorganizmalardan temizlenme kabiliyetinde yetersizliğe yol açar.⁽¹³⁵⁾

Her ne kadar dalakta üretilen IgG2 türü antikörlerin kapsül polisakkaritlerini opsonize etmede yetersiz olduğunu gösteren yeni çalışmalar varsa da aşılama

çalışmaları ile kapsül polisakkaritlerine karşı oluşturulan immün cevabın diğer IgG subgrupları ile birlikte IgG2 cevabını da önemli ölçüde aktive ettiği ve oluşan cevabın koruyucu olduğu ileri sürülmüştür⁽⁹⁹⁾.

Özetle kapsül polisakkaritleri ile temas halinde dalak dışında, özellikle kemik iliğinin de IgG2'yi sentez etme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak orak hücre anemili hastalarda kapsül polisakkaritleri ile yapılan immünizasyonun koruyucu antikor cevabını uyardığı, aşılamanın koruyucu hekimlik için önemli bir alternatif olduğu ileri sürülmüştür^(5,138).

Aşılama ile korunmanın sağlanmasında hastanın seçiminin son derece önemli olduğu, iki yaşın altındaki çocuklarda polisakkarit antijenlere karşı antikor oluşumu çok zayıf olduğundan polisakkarit aşılarla immünizasyonun bu yaş grubunun üstündekilere yapılması gerektiği vurgulanmaktadır^(30,82,101,116). Bu sebeple kapsül polisakkaritlerinin uygun bir protein ile konjuge edilmesi ile hazırlanan aşılardan, tek başına polisakkaritlerden hazırlanan aşılarla daha yüksek oranda antikapsüller antikor oluşturacağı düşünülerek polisakkarit-protein konjugat aşılardan üretime başlanmış ve çalışmamızda kullandığımız bu tür aşılarla 24 aydan daha küçük çocuklarda bile T hücre bağımlı spesifik immün cevabın indüklendiği gösterilmiştir^(30,60,81,115,138).

Timusa bağımsız bir antijene cevap daha çok IgG2 subklası ile sınırlanmışken, timusa bağımlı bir antijene cevapta predominant subklas IgG1'dir. Buna karşılık IgG2 de makûl miktarlarda üretilir. Ayrıca, timusa bağımlı antijenler infantlarda bile immünojeniktir ve bu antijenler B hafıza hücrelerince tanındıkları için boster dozuna yada doğal reenfeksiyonlara antikor artışı ile cevap verirler^(122,136).

Orak hücre anemili hastalarda aşının verilmiş yolu ve dozu da spesifik immün cevabın indüklenmesinde etkilidir. Subkutan veya intramüsküler yolla verilen antijenlerin istenen miktarda antikor cevabını indüklemesine karşılık, intravenöz olarak uygulanan antijenlerin kısa sürede yıkımına bağlı olarak immün cevabı yeteri kadar indüklemediği gösterilmiştir⁽¹⁰⁵⁾.

Normal dalak fonksiyonuna sahip sağlıklı kişilerde 0.15 µg/ml.lik anti-PRP serum antikor konsantrasyonunun koruyucu olduğu, aşılanmamış sağlıklı popülasyonlarda bu seviyedeki antikor cevabı ile Hib enfeksiyonları arasında ters orantı olduğu gösterilmiştir^(70,81). Doğal immünite için alt eşit olarak kabul edilen

0.15 $\mu\text{g/ml}$. serum konsantrasyonunun, aşılama sonrasında 1 $\mu\text{g/ml}$. düzeyinin üstünde olması gerekli görülmektedir^(70,81).

Asplenik hastalarda koruyucu antikor seviyesinin alt sınırının normal splenik fonksiyonlu kişilere göre en az dört kat daha yüksek olması gerektiği Kristensen K. ve arkadaşlarının⁽⁸¹⁾ splenik ve asplenik ratlarda yaptıkları çalışmalarla gösterilmiştir. Rubin⁽¹¹⁷⁾ de splenektomi yapılmış infant ratlarda yaptığı çalışmada Hib bakteriyemisine karşı doğal koruyucu serum antikor konsantrasyonunun 0.6 $\mu\text{g/ml}$.(0.15 $\mu\text{g/ml}$.x4)'nin üzerinde olması gerektiğini ileri sürmüştür.

Bu bilgilerin ışığında 15 aydan büyük bütün çocuklar için günümüzde bir tek doz Hib konjugat aşı tavsiye edilmektedir. Orak hücre anemili hastalarda tek doz aşı ile normal fonksiyonel dalağa sahip kişilere göre en az dört kat, (1 $\mu\text{g/ml}$.nin üzerinde) antikor cevabı alındığında koruyucu immünitenin sağlanabileceğini söylemek mümkündür⁽⁹⁰⁾.

Perke ve arkadaşları⁽¹⁰³⁾ Hib-TT aşısının menenjit riski taşıyan infantlar için koruyucu antikor seviyesini indüklediğini, aşılama öncesi 0.13 $\mu\text{g/ml}$. olan antikor ortalamasının 4.injeksiyondan sonra 63.4 $\mu\text{g/ml}$. 'ye kadar çıktığını bildirmektedirler. Claeson ve arkadaşları⁽²²⁾ İsveç'te 18-23 aylık çocuklarda yaptıkları bir çalışmada Hib-TT, Hib-alüminyum hidroksit ve tek başına kapsül polisakkaritlerinin kullanıldığı üç tip aşıyı denemişler ve Hib-TT nin bu üç aşı içerisinde en yüksek immünojen özelliğe sahip olduğunu, aşılama öncesi 0.16 $\mu\text{g/ml}$. (0.06-0.34) olan antikor miktarının tek doz aşı ile 26.8 $\mu\text{g/ml}$. (9.67-76.5)'ye kadar çıktığını tesbit etmişlerdir. Aynı çalışma grubu aşılama sonucu IgG1 seviyelerinde önemli artış olduğunu ileri sürmüşlerdir^(22,26). Ferrecio ve ark.⁽³⁵⁾ 278 infantta yaptıkları bir çalışmada bunların Hib TT aşısına iyi tolere edtiklerini ve aşının yüksek derecede immünojen olduğunu bildirmişlerdir.

Robbins ve Schneerson ise Hib-TT injeksiyonu yapılan çocuklarda aşılamaı takip eden birinci yılın sonunda bile oldukça yüksek düzeyde antikor cevabının olduğunu ve IgG1 türü antikorların daha yüksek miktarda bulunduğunu vurgulamışlardır^(69,113). Yapılan çeşitli deneyler IgG1 anti PRP antikorlarının IgG2 antikorlarından daha iyi bakterisidal, opsonik ve ratları koruyucu aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir⁽⁴⁾. Bununla beraber çoğu örneklerde farklar küçük olduğundan muhtemelen IgG1 ve IgG2 anti PRP antikorlarının herikisi de Hib tarafından

oluşturulan hastalıktan korunmayı sağlamada efektiftir⁽⁴⁾.

Kullandığımız Hib-TT'e benzer protein konjuge Hib polisakkarit aşılarının tek başına polisakkarit antijenlerinin (PRP) kullanıldığı aşılarla göre orak hücre anemili hastalarda 6-28 kat daha fazla immünojen olduğu, daha önce tek başına polisakkarit antijenlerinin kullanıldığı aşılarla aşılanan çocuklara yapılması halinde de, istenen miktarın üzerinde serum antikor konsantrasyonları elde edildiği gösterilmiştir^(38,64,101,115).

Kaplan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Hib-TT konjugat aşısının bir tek doz uygulanması ile orak hücre anemili çocuklarda normal çocuklarda elde edilen antikor cevabına eşit immünolojik indüksiyonun sağlandığını, yaş ortalaması 18.3 ay olan 19 orak hücre anemili çocukta aşı öncesi 0.1 µg/ml. olan antikor cevabının aşılama sonrası 4.8 µg/ml.ye çıktığını göstermişlerdir. Aşılama öncesi 19 orak hücre anemili hastanın sadece biri 1 µg/ml. üzerinde serum antikor konsantrasyonuna sahipken, aşılama sonrası 19 orak hücre anemili hastanın 14'ünün sahip olduğunu tespit etmişlerdir⁽⁶⁴⁾.

Sarnaik ve arkadaşları Hib-TT aşısı ile yaptıkları ve 25 orak hücre anemili çocuğu kapsayan immünizasyon çalışmaları sonunda çocukların tamamında bir doz aşı sonrası 1 µg/ml.nin üzerinde antikor cevabı elde edildiğini, aşılama sonrası orak hücre anemili çocuklarla eş zamanlı olarak aşılama normal çocuklardakine eşit antikor cevabı alındığını bildirmişlerdir⁽⁶⁴⁾. Newcomer ve arkadaşları infantlarda (2-11 aylık) ve çocuklarda Hib-N.meningitidis outer membrane protein kompleks (Hib-OMPC) konjugat aşısının, normal çocuklarda olduğu kadar orak hücre anemili çocuklarda da immünojen olduğunu göstermiştir⁽¹⁰¹⁾.

Birçok araştırmacı da PRP- difteri toksini konjugat aşılarının orak hücre anemililerin immünizasyonda yeterli seviyede ve uzun süreli antikor cevabı sağladıklarını bildirmektedirler^(38,101). Gigliotti ve arkadaşları orak hücre anemili 19 çocuğa uyguladıkları PRP-D aşısının aşılama öncesi 0.15 µg/ml.nin altında olan antikor cevabını 1 µg/ml.nin üzerine çıkardığını, antikor titrelerinin 3.5 yıl sonra bile bu seviyenin üstünde kaldığını bildirmişlerdir⁽⁴⁴⁾. Frank ve arkadaşları⁽¹⁴⁵⁾ 18-30 ay arasındaki orak hücre anemili 30 çocuğa uyguladıkları PRP-D aşısının aşılama öncesi 0.2 µg/ml. olan serum antikor seviyelerinin aşılama sonrası 4.9 µg/ml.ye yükseldiğini kaydetmektedirler. Frank ve arkadaşları⁽³⁸⁾ PRP-D aşısının 1.5-6 yaş

arasındaki 69 orak hücre anemili çocukta yeterince immünojenik olduğunu bulmuşlardır.

Marcinak ve arkadaşları⁽⁹⁰⁾ 3-17 aylık orak hücre anemili 30 çocukta yaptıkları immünizasyon çalışmasında bir doz aşidan sonra çocukların en az %90'ında iki kat titre artışı tesbit edildiğini, boster uygulamasından sonra artışın dört kata çıktığını, bu miktarın sağlıklı çocuklardan elde edilen antikor miktarı ile kıyaslandığında iki kat yüksek (orak hücre anemililerde 13.6 $\mu\text{g/ml}$. normal infantlarda 3.76-5.42 $\mu\text{g/ml}$.) olduğunu gördüklerini, bunun da muhtemelen aşı lotu ile açıklanabileceğini ileri sürmüşlerdir ve bu çocuklarda antikor miktarının üç yıl süre ile 1 $\mu\text{g/ml}$.nin üzerinde seyrettiğini belirtmişlerdir.

Kaplan ve arkadaşları⁽⁶⁵⁾, Robbins ve Schenerson⁽¹¹³⁾ ile Jacacki ve arkadaşları⁽⁵⁸⁾ PRP-D aşısının güçlü bir immünojen olduğunu, orak hücre anemili hastalarda da immünojen olduğunu belirtmişlerdir.

Biz Hib-TT aşısı ile immünize ettiğimiz 21'i 12 yaş ve altı, 19'u da 13 yaş ve üzerindeki yaş gruplarına ait olan 40 orak hücre anemili hastanın %47.50 (19/40)'sinde antikor miktarını aşılama öncesinde 1 $\mu\text{g/ml}$.nin altında, %20 (8/40)'sinde ise 0.15 $\mu\text{g/ml}$.nin altında bulunurken aşılama takip eden 1, 2 ve 6. aylarda alınan örneklerin tamamında 1 $\mu\text{g/ml}$. seviyesinin üzerinde bulduk (Tablo-III, V, VII). Losonsky ve arkadaşlarının çalışmasında 55 veya orak hücre anemili 2-20 yaşlar arasındaki 36 çocuğun 20'si (%56) aşılama öncesi 1 $\mu\text{g/ml}$.dan daha az PRP antikor seviyelerine sahipti⁽⁸⁷⁾. Rubin ve arkadaşları da, aşılama öncesi serum PRP antikor konsantrasyonlarının orak hücre anemili 1.5-20 yaş arasındaki 98 çocuğun %23'ünde 0.15 $\mu\text{g/ml}$.nin altında olduğunu tesbit etmişlerdir^(115,116).

Bizim çalışmaya dahil ettiğimiz 1.5-2 yaş grubunda yer alan iki hastada yapılan değişik çalışmalarda aşılama öncesi bulduğumuz spesifik antikor cevabının 1 $\mu\text{g/ml}$.nin üzerinde oluşu dikkate değerdi. Bu iki hasta dışında > 2-5 yaş grubunda yer alan çocukların aşılama öncesi serum anti-PRP antikorlarının geometrik ortalamaları (G.O). 0.47 $\mu\text{g/ml}$.(0.11-1.5) iken, aşılama sonrası 1 ve 2. aylarda alınan serum örneklerindeki antikorların G.O.sı 67.75 $\mu\text{g/ml}$. (12-130). 6.ayda ise 41.96 $\mu\text{g/ml}$.(1.5-62.5) seviyesinde bulundu (Tablo-IV, VI, VIII), Aynı (> 2-5 yaş) yaş grubunda yer alan ve normal dalak fonksiyonuna sahip olduğu için kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilen çocukların aşılama öncesi serum anti-PRP antikorlarının

G.O.sı 0.78 $\mu\text{g/ml}$. iken, aşılama sonrası 1 ve 2. aylardaki antikorlarının G.O.ları 21.6 $\mu\text{g/ml}$., 6. aydaki G.O. ise 24 $\mu\text{g/ml}$. olarak tespit edil (Tablo-V, VII, IX).

Kontrol grubundaki 9 kişinin hiçbiri aşılama öncesi 0.15 $\mu\text{g/ml}$. altında antikor konsantrasyonuna sahip değilken, bunların %55.55'i (5/9) 1 $\mu\text{g/ml}$. altında antikor konsantrasyonuna sahipti. Aşılama sonrası kontrol grubundakilerin tamamı 1 $\mu\text{g/ml}$.nin üzerinde antikor konsantrasyonları gösterdi (Tablo-V).

Buna karşılık 13 yaş ve üzerinde yer alan orak hücre anemili çocukların, aşılama öncesi antikor ortalamalarının 3.19 $\mu\text{g/ml}$. (0.15-22.5 $\mu\text{g/ml}$.) olduğunu "ki bu >2-5 yaş grubundaki çocukların 0.47 $\mu\text{g/ml}$. olan aşılama öncesi ortalamalarından yüksektir", aşılamayı takip eden 1 ve 2. aylarda ise ortalama antikor miktarının 47.93 $\mu\text{g/ml}$. (17.6-90 $\mu\text{g/ml}$)'ye vardığını, 6. ayda 43.24 $\mu\text{g/ml}$. (5.4-65 $\mu\text{g/ml}$.) seviyesine düştüğünü tespit ettik (Tablo-IV,VI,VIII). Aynı yaş grubunda yer alan kontrol grubundaki çocukların aşılama öncesi antikor miktarlarının G.O.sı 2.25 $\mu\text{g/ml}$. iken "ki bu miktar hasta grubunda yer alan çocukların serum örneklerinin 3.19 $\mu\text{g/ml}$. olarak tesbit edilen miktarının altındadır", aşılamadan sonraki 1 ve 2. aylarda alınan serum örneklerindeki antikor miktarı 68.3 $\mu\text{g/ml}$., 6. ayda ise 28.8 $\mu\text{g/ml}$. olarak tespit ettik (Tablo-V, VII, IX).

Bulgularımız literatürle karşılaştırıldığında hasta grubundaki 1.5-2 yaşlarındaki iki çocuk dışında orak hücre anemili çocuklar ve normal kontrollerde spesifik anti-Hib polisakkarit antikorlarının doğal enfeksiyonlar sonucu yaşa bağlı olarak arttığı, aşılama öncesi orak hücre anemili çocuklarda çok düşük seviyede olan antikor cevabının aşılama sonrası 1 $\mu\text{g/ml}$.nin üzerine çıkarak normal kontrol grubundaki çocukların antikor seviyesine çıktığı, hattâ Marcinak ve arkadaşlarının⁽⁹⁰⁾ çalışmasında elde ettiği sonuçlara benzer şekilde kontrollerden daha yüksek seviyede olduğunu gördük.

Aşı uygulanan orak hücre anemililerde antikor katsayısı 1.5-2 yaş grubunda yer alanlarda en düşük ve 6.ayın sonunda 4.31 kat iken en yüksek artış katsayısı 2-5 yaş grubunda 1 ve 2. aylarda 144.14 olarak tespit edilmiştir (Tablo-X). Kontrol grubunda ise en düşük artış katsayısını >5-12 yaş grubunda 4.52 olarak tespit etmişken, 1.5-2 yaş grubunda 1 ve 2. aylarda 164 kat olarak tesbit ettik (Tablo-X).

Hasta grubundaki 1.5-2 yaş içerisinde yer alan çocuklarda aşılama sonrası 1 ve 2. aylarda alınan serum örneklerindeki 7.71'lik artışın kontrol grubunda aynı yaş

grubunda yer alan çocukların serum örneklerindeki 164 katlık artışla mukayesesi, bizim hasta grubundaki iki çocuğun aşılama öncesi ya doğal reenfeksiyona bağlı olarak immünize olduklarını veya bilmediğimiz kros reaktif antikor cevabına sahip olduklarını izah eder ki gerçekten bizim 1 ve 2. aylarda heriki yaş grubunda serum antikor ortalamaları 47.83-41 µg/ml. gibi oldukça benzer miktarlardaydı (Tablo-X). Bu sebeple bizim aşılama öncesi ve aşılama sonrası anti-Hib polisakkarit antikorları ve bu antikorların kinetiğine ait bulgularımız beklenen bulgular olup literatürlerle uyumludur.

Orak hücre anemili veya dalak disfonksiyonu olan hastalarda yaygın olan pnömokokal enfeksiyonlar, bu grupta bakteriyemi ve menenjitin en önde gelen sebebidir.⁽⁹⁵⁾ Bu grupta yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden S.pneumoniae enfeksiyonlarını, özellikle kapsül polisakkaritlerine karşı dalak RES hücreleri tarafından oluşturulan IgG2 eksikliğine bağlayan görüşler vardır. Dalak kapsüllü bakterilerin kapsül antijenlerine karşı oluşturulan IgM antikor cevabının regülasyonunda da önemli bir role sahiptir, fakat orak hücre anemililerde bu fonksiyonunu yerine getirememektedir.^(55,105)

Ayrıca, normal dalak fonksiyonuna sahip sağlıklı bazı kişilerde doğal ve yaşa bağlı olarak artmış anti-S.pneumoniae kapsül polisakkarit (anti-PCP) antikorlarına sahip kişilerde ve splenektomili kişilerde yüksek antikor cevaplarının her zaman opsonik aktivite ile korele olmadığı da tesbit edilmiştir.^(55,99,114) Dalağın IgG2 ve diğer IgG subgruplarının yanısıra, bir bütün olarak nonspesifik immünolojik ve mekanik prosedürlerin yardımı ile bakteri eradikasyonunda karmaşık fonksiyonel aktiviteye sahip olduğu da düşünülmektedir.^(78,105)

Buna rağmen yüksek risk grubunu oluşturan çocuklar, dalak disfonksiyonlu hastalar ve özellikle 65 yaşın üzerindeki kişilerde S.pneumoniae'ye karşı immünizasyonun hayat kurtarıcı olduğunu iddia eden otoriteler de vardır.^(5,15,77,78,104,114,138)

Mevcut pnömokok aşılarının sadece kapsül polisakkarit antijenlerini ihtiva etmesi, T hücrelerine bağımlı immün cevabın indüklenmemesi, bu aşılarla immünizasyondaki yetersizliğin bir sebebi olarak kabûl edilir. H.influenzae da olduğu gibi protein-polisakkarit konjuge aşıları hazırlamak sureti ile T hücrelerine bağımlı cevabın da indüksiyonunu sağlamayı hedef alan yoğun çalışmalar vardır.^(99,125)

Halihazırda *S.pneumoniae*'ya karşı immünizasyonu sağlamak amacı ile ticari olarak ruhsat almış biri 14, diğeri 23 valanlı iki aşı bulunmaktadır.

Bunchanan ve Schiffman 24 ayın altında olan orak hücre anemili 8 çocukta 14 değerli aşının indükleyici gücünü tesbit etmek amacı ile yaptıkları çalışmada, aşılama öncesi hasta çocuklardaki antikor seviyesinin kontrol gruplarına göre çok düşük olduğunu, aşılama sonrası en az iki kat artan antikor seviyeleri tesbit ettiklerini bildirmişlerdir⁽¹⁵⁾.

Ahonkhai ve arkadaşları ise yine 14 valanlı aşı ile immünize ettikleri orak hücre anemili iki çocuğun serum antikor seviyelerinin en az iki kat yükselme meydana geldiğini, bu çocuklarda aşılama takiben *S.pneumoniae* sepsisi ve menenjit geliştiğini bildirerek indüklenen antikorların koruyucu olmadığını ileri sürmüşlerdir⁽¹⁾. Gienbik ve arkadaşları da orak hücre anemili 32 vak'alık bir grupta yaptıkları çalışmada immünizasyon sonrası indüklenen antikorların aşı içerisinde bulunan *S.pneumoniae* suşlarına karşı yeteri kadar opsonik aktiviteye sahip olmadıklarını bildirmişler, fonksiyonel dalağa sahip olan aynı hastalığa sahip kişilerde indüklenen immün cevabın da koruma için yeterli olmadığını göstermişlerdir⁽⁴²⁾.

Buna karşılık Ruben ve Uhrin⁽¹¹⁴⁾ 14 valanlı *S.pneumoniae* aşısı uyguladıkları bir seride aşı öncesi ve aşı sonrası antikor cevabını ölçmüşler ve aşının polisakkarit antijenlere karşı en az iki kat artan titrelerde poliklonal antikor cevabı meydana getirdiğini göstererek risk grupları için aşının faydalı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Douglas ve Miles⁽²⁷⁾ 14 valanlı aşı ile immünize edilen kişilerde solunum yolu hastalığına bağlı ölümlerin %42, *S.pneumoniae*'ya bağlı bakteriyemi'lerin de %8 oranında azaldığını bildirmişler, fakat aşının immünize edilmiş popülasyonlarda *S.pneumoniae* taşıyıcılığını etkilemediğini belirtmişlerdir.

Diğer taraftan Amman ve arkadaşları⁽⁶⁾ yaptıkları çalışmada 14 valanlı aşı uyguladıkları 77'si orak hücre anemili 19'u asplenik olmak üzere 96 dalak disfonksiyonlu hasta ile 82 sağlıklı kişiye ait sonuçları karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada hiç aşı uygulanmayan ve çalışmaya paralel olarak takip edilen orak hücre anemili 106 hastanın 8'inde *S.pneumoniae* enfeksiyonu görülmesine karşılık, bu süre içerisinde immünize ettikleri orak hücre anemili çocukların hiçbirinde *S.pneumoniae* enfeksiyonu gelişmediğini bildirerek aşının sistemik enfeksiyona karşı koruyucu olduğunu belirtmişlerdir.

Gienbik ve arkadaşları⁽⁴³⁾ 13 valanlı pnömokok polisakkariti aşısı verdikleri 1493 kişi arasında aşılanmamış gruplara göre aşıda bulunan serotiplere bağlı *S.pneumoniae* bakteriyemisi insidansında %82, pnömoni vak'alarında ise %79 oranında azalma gördüklerini bildirmişlerdir. Smit ve arkadaşları benzer bir çalışmada 12 valanlı bir pnömokokal polisakkarit aşısını takiben aşısındaki tiplere bağlı pnömokoksik pnömonide %92'lik bir azalma ve 6 valanlı başka bir aşının kullanılması ile de %76'lık bir azalma olduğunu ileri sürmüşlerdir⁽¹³⁴⁾.

Bizim çalışmamızda kullandığımız 23 valanlı *S.pneumoniae* polisakkarit aşısındaki (Pneumo-23) kapsül tiplerini, Jorgensen ve arkadaşları ABD.'nde bir yıllık süre içerisinde (1987-88) toplanan 474 klinik olarak önemli *S.pneumoniae* solunum izolatının serotipleri ile karşılaştırarak, izolatların %74.9'unun aşı tipleri ile aynı olduğunu, aşı tipleri ile serolojik olarak ilişkili olan %13.7 izolatın ise muhtemelen kros reaktiviteden dolayı koruyucu olduğunu ve sonuç olarak da solunum izolatlarının %89'unun ticari olarak mevcut 23 valanlı pnömokokal aşının antijenik spektrumu içerisinde bulunduğunu göstermişlerdir⁽⁶¹⁾.

Konradsen ve arkadaşları farklı sebeplerle splenektomi yapılmış ve yaşları 2-14 arasında değişen 43 çocuğa 14 valanlı aşı uygulamışlar, bu çocuklardan 5 yıl sonra kan nümunesi alarak antikor aranmışlar, antikor cevabı düşük olan çocukları 23 valanlı aşı ile yeniden aşılamışlardır. Bunlarda yan etkiler görülmemiş ve antikor seviyesinde artma gözlenmiştir^(78,130).

Schifman ve arkadaşları aşının koruyucu olabilmesi için aşı kaç valanlı olursa olsun, aşının maksimum fayda sağlaması için kullanılan her polisakkarit antijenine karşı en az 200-300 ng. nitrojen antikor/ml.(1.26-1.9 µg/ml.) antikor cevabının meydana gelmesi gerektiğini vurgulamışlardır^(97,99). Farklı otörler antikor seviyesindeki %50-100'lük artışın anlamlı bir cevabı gösterdiğini⁽⁹⁹⁾ ileri sürmelerine rağmen, pnömokok aşısı ile aşılamadan sonra titredeki iki kat artışı koruyucu olarak düşünmek her zaman doğru olmayabilir ve düşük preimmünizasyon seviyeli infantlarda iki kat artış korunmayı sağlamada yeterli antikor titresiyile sonuçlanmayabilir. Başka bir deyişle immünizasyondan önceki antikor seviyesi yüksek olduğunda iki kattan daha az bir artışla uzun süreli koruma sağlamak mümkündür⁽¹⁵⁾.

Pnömokok aşısı ile aşılanmaya immün cevaplar kişiler arasında büyük

varyasyonlar gösterdiğinden ve ölçülen antikorların bir kısmının gerçekte tipe has olmayıp hücre duvarı komponentlerine karşı olan nonspesifik antikorlar olduğundan bu nonspesifik antikorların pnömokoklarla olan enfeksiyona karşı bir dereceye kadar nonserotipik spesifik koruma sağladığı hayvan deneylerinde gösterilmiştir^(98,99). Aşılamadan sonra fagositoz için opsonizasyon ile Schiffman'ın RIA ile ölçtüğü 200-300 ng. antikor nitrojen/ml. (1.26-1.9 µg/ml.) antikor seviyeleri arasında iyi bir korelasyon olmaması da dikkat çekicidir^(97,99,114).

Bardardottir ve arkadaşlarının sağlıklı yetişkinleri aşılamasından sonra bunlarda S.pneumoniae'nin opsonizasyonu ve IgG subklas cevabını ölçtüğü çalışmada, opsonik aktivitenin IgG1 ile IgG4 miktarlarındaki artış ve total IgG antikor seviyesinden daha iyi korele olduğu ileri sürmüşlerdir⁽⁹⁾. IgG2'deki artışlarla opsonizasyon arasında küçük bir korelasyon vardır. Çünkü IgG2 komplemanı zayıf olarak aktive eder ve nötrofillerdeki Fc reseptörüne iyi bağlanmaz^(9,114,122).

Normal kişiler, orak hücre anemili hastalar ve splenektomili kişilerdeki çalışmalar pnömokok aşısı ile immünizasyonun sıklıkla iki kat ya da daha fazla antikor titre artışı ile sonuçlandığını, antikor titrelerinde ilk yıl bir azalma meydana geldiğini ve 5-8 yıl kadar koruyucu miktarını muhafaza ettiğini göstermektedir⁽¹⁵⁾. Aşılamaya cevapta kişisel bir varyasyon ve antikor konsantrasyonunda zamanla bir azalma meydana geleceğinden fonksiyonel veya anatomik asplenililerde yeterli korunmayı sağlamak için revaksinasyon gerekli olabilir⁽⁷⁸⁾.

Bizim orak hücre anemili hasta grubundaki pneumo-23 aşısı uygulanan 53 hastada aşılama öncesi pnömokokların kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan antikor seviyelerinde, kontrol grubu olarak aşılamaya alınan benzer yaş gruplarındaki 9 kişinin PCP antikor seviyelerine göre önemli miktarda eksiklik vardı (Tablo-XI,XII). Mesela 2-5 yaş grubundaki hasta çocuklarda 41.47 mg/L. olan aşılama öncesi PCP antikor ortalamasının aynı yaş grubundaki kontrollerde 126.4 mg/L., > 12 yaş grubunda 88.49 mg/L'ye olan antikor ortalamasının kontrollerde 255 mg/L olduğunu bulduk (Tablo-XI,XII).

Aşılama öncesi serum antikor miktarlarının hem hasta, hem de kontrol gruplarında yaşa bağlı olarak artışı dikkat çeken bir bulguydu (Tablo-XI,XII).

Aşılamadan sonraki 1 ve 2. aylarda hasta grubundan alınan serum örneklerinde en az 2.15 kat, kontrol grubunda ise 1.53 kat artış kaydettik. Yine

hasta grubunda 6-12 yaş içinde yer alan çocukların 74.19 mg/L. olan aşılama öncesi ortalamaları 160 mg/L.ye, kontrol grubunda 2-5 yaş grubunda yer alan çocukların 126.4 mg/L olan aşılama öncesi ortalamaları aşılama sonrası 193.3 mg/L.ye çıkmıştır (Tablo-XI,XII). Hasta grubundaki en yüksek artışı 2-5 yaş grubunda 2.99 (41.47 mg/L-124.2 mg/L) kat, kontrol grubunda ise yine en yüksek artışı 6-12 yaş grubunda 1.98 (161.6 mg/L.-320 mg/L.) kat olarak tespit ettik (Tablo-XI,XII). 6. ayda ise hasta grubunda en yüksek artış yine 2-5 yaş grubunda 4.37 (41.47 mg/L.-181.3 mg/L) kat, kontrol grubunda ise 6-12 yaş grubunda 1.78 (161.6 mg/L-288 mg/L) kat olarak bulundu (Tablo-XI,XII).

Kaba olarak hasta gruplarında aşı öncesi PCP antikor ortalamaları kontrol grubuna göre oldukça düşük olmasına karşılık, tek doz aşı ile 6.ayın sonunda her iki grupta benzer yaş dilimleri içinde kantitatif olarak birbirine yakın miktarlarda antikor cevabının indüklenmiş olduğunu gördük(Tablo-XI,XII). Meselâ 6.ayın sonunda hasta grubunda yer alan 2-5, 6-12 ve > 12 yaş dilimlerinde sırası ile 173 mg/L, 288 mg/L. 336.6 mg/L olan serum antikor ortalamalarını, kontrol grubunda sırası ile 181.3 mg/L. 174.4 mg/L. ve 352 mg/L. olarak kaydettik (Tablo-XI,XII).

Kapsül polisakkaritlerine karşı dalakta proliferen olan RES hücreleri tarafından sekrete edilen IgG2 türü antikor cevabının total IgG türü antikorlara benzer seyir gösterdiğini gördük. Hasta grubunda aşı öncesi en düşük IgG2 seviyesi 2-5 yaş grubunda 3.37 mg/L. olarak tesbit edilirken, aynı antikor miktarı kontrol grubu için 25.76 mg/L. idi (Tablo-XIII,XIV). Hasta grubunda değerlendirilen serum örneklerinde IgG2 miktarı > 12 yaş gruplarında 32.19 mg/L. ile pik yaparken, kontrol gruplarında da pikin yine > 12 yaş grubunda 68.38 mg/L. ile olduğunu gördük (Tablo-XIII,XIV).

Aşılamadan sonraki 1 ve 2. aylarda alınan serum örneklerindeki anti-PCP IgG2'de hasta grubundaki en yüksek artış 10.8 (3.37 mg/L.-36.43) kat ile 2-5 yaş grubunda tespit edilirken, kontrol grubunda en fazla artış 2.07 (44.6-92.50 mg/L.) kat ile 6-12 yaş grubunda tespit ettik (Tablo-XIII, XIV). 6.ayda alınan serum örneklerinde hasta grubundaki en yüksek artış yine 2-5 yaş grubunda 10.08 (3.37-34 mg/L) kat iken kontrol grubundaki artış 6-12 yaş grubunda 1.47 (44.6-66 mg/L.) kat olarak gerçekleşti (Tablo-XIII, XIV).

Aşılama sonrası anti PCP IgG2 seviyelerinin de hasta ve kontrol gruplarında total anti PCP IgG türü antikorlar gibi aşılama sonrası benzer seviyelere çıktığını

gördük. Mesela 6.ayda alınan örneklerde, hasta grubunda 2-5, 6-12, > 12 yaş gruplarında 34 mg/L., 43.23 mg/L., 76.95 mg/L. olarak tespit edilen antikor miktarlarının kontrol grubunda aynı sıra ile 35 mg/L., 66 mg/L., 72 mg/L. olduğunu gördük. (Tablo-XIII, XIV). Böylece aşının literatürde de belirtildiği gibi mikroorganizmaların PCP'lerine karşı IgG ve IgG2 cevabını, kontrol gruplarında olduğu gibi hasta gruplarında da en az iki kat artırdığı, hattâ kantitatif olarak her iki grupta da benzer miktarda antikor cevabının indüklendiğini gördük.

Bizim Pneumo-23 ile aşıladığımız 53 hasta ve 9 kontrol olmak üzere 62 kişiden aldığımız aşılama öncesi ve aşılama sonrası serum örneklerinde bu bilgiyi doğrular sonuçlar elde ettik. Meselâ aşı öncesi hasta grubunda 2-5 yaş diliminde yer alan çocukların aşılama öncesi IgG2'nin diğer IgG subgruplarına oranı %8.84 iken aşılama sonrası 1 ve 2. aylarda alınan örneklerde bu oran %41.3'e çıkmış, 6. ayda ise %23.08 seviyesinde kalmıştır. Aynı grupta > 12 yaş dilimindeki hastalarda aşılama öncesi 57.17 olan oranın 6.ayın sonunda %27.97'ye düştüğü, yani IgG2 dışındaki diğer subgrupların miktarının IgG2'ye göre daha fazla arttığını tespit ettik (Tablo-XV). Kontrol grubunda ise aşılama öncesi 2-5 yaş grubunda %25.59 olan IgG2 miktarının 6. ayda 1 ve 2 aylara oranla sapma göstermediği (%24.52-25.36), > 12 yaş grubunda da aşılama öncesi %36.64 olan IgG2 oranının 6.ayda hasta grubundaki gibi %27.21'e düştüğünü gördük (Tablo-XVI).

Kanaatimizce orak hücre anemili hastalarda erken yaşlarda dalak disfonksiyonuna bağlı olarak IgG2 sentezinde aynı yaş grubundaki sağlıklı çocuklara göre nisbi bir eksiklik görülmekte, ilerleyen yaşla birlikte reenfeksiyonlara veya reaktivasyonlara bağlı olarak S.pneumoniae kapsül polisakkaritlerine karşı muhtemelen kemik iliği veya diğer RES hücrelerinde IgG2 sentez eden B hücreleri aktive edilmektedir. Bu sebeple de kontrol gruplarında olduğu gibi hasta gruplarında da yaşa paralel olarak IgG2 seviyesinde artış olmaktadır.

İmmünizasyonu takip eden 1-2. aylarda hasta grubundaki IgG2 seviyesi bütün yaş gruplarında kontrol grubuna ulaşmakta, fakat tekrarlayan temaslara bağlı olarak hızla tüketilmektedir. Buna karşılık T hücre bağımlı B hücreler aktive edilerek diğer IgG subgruplarını sentez eden B hücre proliferasyonu artmakta, sonuç olarak ta Tablo-XV, XVI'da görüldüğü gibi aşılanmanın 6.ayında IgG2 subgrupunda diğer IgG subgruplarına göre nisbi bir azalma ortaya çıkmaktadır. Yani IgG2 ile ilgili

sonuçlarımız mantıklı ve beklenen sonuçlardır.

Yüksek antikor konsantrasyonlarına rağmen Homozigot orak hücre anemili hastalarda bu aşılar her zaman korunmayı sağlamayabilir. Bu sebeple de orak hücre anemili hastalarda Hib protein konjugat aşısı ve pnömokok polisakkarit aşısının uygulanması yanında penisilin proflaksisine devam edilmesi uygun bir yaklaşım olarak gözükmektedir.^(1,83,84,112)



S O N U Ç

Orak hücre anemili hastalarla fonksiyonel dalağa sahip kontrol gruplarında Hib ve *S.pneumoniae* kapsül polisakkarit antijenleri ile immünizasyona bağlı olarak ortaya çıkan spesifik antikor cevabının kinetiğini tespit etmek amacı ile 67 hasta ve 18 sağlıklı asemptomatik kişi (Tablo-II) üzerinde yapılan bu çalışmada;

1- Çalışmada kullanılan bütün yaş dilimlerinde kontrol grubuna göre, hasta grubunda aşılama öncesi koruyucu antikor seviyelerinde önemli miktarda eksiklik olduğu (Tablo-IV,V, XI,XII),

2- Aşılamaı takip eden 1. ve 2. aylarda toplanan serum örneklerinde gerek hasta, gerekse kontrol grubunda Hib için tesbit edilen 1 µg/ml.(Tablo-VI,VII,X) ve *S.pneumoniae* için tesbit edilen koruyucu düzeylerden en az iki kat fazla antikor cevabı (Tablo-XI,XII) elde edildiği,

3- Her iki grupta yer alanlardan 6.ayda alınan serum örneklerindeki antikor miktarlarının 1. ve 2. aylarda toplanan serum örneklerindeki antikor miktarlarına yaklaşan düzeyde kaldığı (Tablo-VIII,IX,X,XI,XII),

4- *S.pneumoniae*'ye karşı immünize edilen hasta ve kontrol gruplarında yaşla pozitif korelasyon gösteren aşılama öncesi spesifik IgG2 türü antikor cevabındaki eksikliğin (Tablo-XIII,XIV) aşılama sonrası 1. ve 2. aylarda, özellikle düşük yaş gruplarında yüksek oranlarda artmasına karşılık (Tablo-XIII,XIV) 6.ayda alınan serum örneklerinde bütün yaş gruplarında diğer IgG subgruplarına oranla gerileme gösterdiği (Tablo-XV,XVI) tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak dalak dışındaki diğer RES hücrelerinde de IgG2'nin sentez edildiği, bununla birlikte diğer IgG subgruplarının da kapsül polisakkaritleri tarafından indüklenebildiği sonucuna varılmıştır. Aşılama öncesi IgG2 ve diğer IgG subgruplarında bariz yetersizlik görülen ve buna bağlı olarak ta kapsüllü mikroorganizmalara bağlı ciddi enfeksiyonları çok sık geçiren dalak disfonksiyonu olan hastaların, polisakkarit antijenlerle immünizasyonu sonucu normal sağlıklı kişiler gibi antikor cevabı geliştirebilecekleri görülmüştür.

Ö Z E T

Orak hücre anemili hastalarla sağlıklı fonksiyonel dalağa sahip kişilerdeki *S.pneumoniae* ve Hib kapsül polisakkaritlerine karşı gelişen doğal immün cevap ile bu bakterilerin kapsül polisakkaritlerinden hazırlanmış aşılarda yapılan immünizasyon sonucu ortaya çıkan ve ELISA metodu ile ölçülen spesifik antikor cevabının kinetiğini tesbit etmek amacı ile planlanan çalışmaya 67'si hasta (1.5-24 yaş arası, ort. 11.38 yaş) 18'i kontrol (1.5-29 yaş arası ort. 12.8 yaş) toplam 85 kişi dahil edildi.

Hasta grubunda yer alan kişilerin 14'üne Hib-protein konjugat aşısı (Act-Hib), 27'sine pnömokok polisakkarit aşısı (Pneumo-23) ve 26'sına da farklı zamanlarda her iki aşısı uygulandı. Kontrol grubundaki 9 kişiye Hib-protein konjuge aşısı, 9 kişiye de pnömokok polisakkarit aşısı yapıldı.

H.influenzae tip b protein konjugat aşısı (Act-Hib) ile aşılanan hastaların 8/40'ı (%20) aşılamadan önce 0.15 µg/ml.nin altında, 17/40 (%42.50)'ı da splenektomize hastalar için koruyucu olduğu düşünülen 0.5 µg/ml.nin altında serum spesifik antikor düzeyine sahipken, bu hastalar aşılamadan 1-2 ve 6 ay sonraki serum örneklerinin tümünde koruyucu olarak kabul edilen düzeyin (1 µg/ml.) çok üzerinde antikor cevabına sahipti. Kontrollerden hiçbirisi aşılamadan önce 0.15 µg/ml.nin altında antikor düzeyine sahip değildi ve tamamı aşılamadan 1-2. ve 6. aylarda 1 µg/ml. üzerinde antikor cevabı gösterdi.

S.pneumoniae kapsül polisakkarit aşısı (Pneumo-23) ile aşılanan 53 orak hücre anemili hastanın kontrol grubuna oranla önemli miktarda düşük olan aşılamadan önce serum anti-pnömokokal kapsül polisakkarit (anti-PCP) antikorları, aşılamadan 1,2 ve 6. aylarda alınan serum örneklerinde 2.15-4.37 kat artış göstererek sağlıklı kontrollerle karşılaştırılabilen düzeylere ulaştı.

S.pneumoniae kapsül polisakkarit aşısının hasta ve kontrol gruplarındaki aşılanan kişilerde IgG2 sentezini benzer oranlarda aktive ettiği gösterildi.

Biz hem Act-Hib, hem de Pneumo-23 aşılarının sağlıklı kontrollerde olduğu gibi orak hücre anemili hastalarda da immünojenik olduğunu tespit ettik. İnvaziv Hib hastalığı ve sistemik *S.pneumoniae* enfeksiyonlarına karşı da koruyucu olabileceği sonucuna vardık.

S U M M A R Y

We aimed to determine the natural immune response developed against capsular polysaccharides of *S.pneumoniae* and *H.influenzae* type b (Hib) in the patients with sickle cell anemia (SCA) and healthy controls. We also investigated the kinetic of the specific antibody response (measured by ELISA) occurred by the administration of vaccines that prepared with the capsular polysaccharides of these bacteria.

The study included 67 patients (1.5 to 24 years of age, average 11.38 years) and 18 controls (1.5 to 29 years of age, average 12.8 years). In the patient group, 14 persons received a Hib-protein conjugate vaccine (Act-Hib), 27 persons received a pneumococcal polysaccharide vaccine (Pneumo-23) and 26 persons received both of the vaccines at different times . In the control group, 9 persons received Act-Hib and the other 9 persons received Pneumo-23.

Before immunization with Act-Hib, 8 patients (20%) had antibody response $<0.15 \mu\text{g/ml}$. and 17 patients (42.50%) had antibody response $<0.5 \mu\text{g/ml}$. that could be considered the minimum protective level in splenectomized. Patients with SCA had very higher antibody response than protective level ($1 \mu\text{g/ml}$.) in all of the sera that were taken at 1, 2 and 6 months after vaccination. No controls had lower antibody level than $0.15 \mu\text{g/ml}$. before vaccination, and all of them had antibody response higher than $1 \mu\text{g/ml}$. at 1, 2 and 6 months after vaccination.

Anti-pneumococcal polisaccharide antibody levels of 53 patients were significantly lower than control group before vaccination and these antibody responses increased 2.15 - 4.37 fold and arised to the levels comparable with healthy controls at 1, 2 and 6 months after vaccination. It was shown that pneumococcal polysaccharide vaccine activated similar IgG2 synthesis in both the patients and control group.

We determined that both Act-Hib and Pneumo-23 vaccines were also immunogenic in the patients with SCA as in the controls. We concluded that these two vaccines might be protective against the invasive Hib disease and systemic *S.pneumoniae* infections.

KAYNAKLAR

- 1- Ahankhai Vi, Londesman SH, Fıkrig SM, et al: Failure of pneumococcal vaccine in children with sickle cell disease. N.Engl.J.Med. 301(1):26-27, 1979
- 2- Akan E: Tıbbi Mikrobiyoloji. 2.Baskı, Saray Medikal yayıncılık-İzmir, 1993, p:40-48, 182-189,
- 3- Ambrosino DM, Schiffman G, Gotschlich EC, et al: Correlation between G2 m(n) immunglobulin allotype and human antibody response and susceptibility to polysaccharide encapsulated bacteria. J.Clin.İnvest. 75:1835-1942, 1985
- 4- Amir J, Scott MG, Nahm MH, et al: Bactericidal and opsonic activity of IgG1 and IgG2 anticapsular antibodies to Haemophilus influenzae type b. J.Infect.Dis. 162:163-171, 1990
- 5- Ammann AJ, Addiego J, Wera DW, et al: Polyvalent pneumococcal polysoccheride immünization of patients with sickle cell anemia and patients with splenectomy. N.Engl.J.Med. 297:897-900, 1977
- 6- Anderson P, Smith DH, Ingram DL, et al: Antibody to polyribophosphate of Haemophilus influenzae type b in infants and children: Effect of immünization with polyribophosphate. J.Infect.Dis. 136:57-62, 1977
- 7- Austrian R: Pneumococcal infection and pneumococcal vaccine. N.Engl.J.Med. 297:938-939, 1977
- 8- Austrian R: Prevention of pneumococcal infection by immünization with capsular polysaccharides of streptococcus pneumoniae: Current status of polyvalent vaccines. J.Infect.Dis. 136:538-542, 1977
- 9- Bardardottir E, Johnsson S, Jonsdottir I, et al: IgG subclass response and opsonization of Streptococcus pneumoniae after vaccination of healthy adults. J.Infect.Dis. 162:482-488, 1990
- 10- Barra A, Cordonnier C, Preziosi MP: Immunogenicity of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in allogenic bone marrow recipients.

J.Infect.Dis. 166:1021-1028, 1992

11- Boersma WG, Lövenberg A, Holoway Y, et al: The role of Antigen Detection in pneumococcal carriers: A comparison between cultures and capsular antigen detection in upper respiratory tract secretions. Scand J.Infect.Dis. 25:51-56, 1993

12- Bolan G, Brome CV, Facklem RR, et al: Pneumococcal vaccine efficacy in selected populations in the united states. Ann. Intern. Med. 104:1-6, 1986

13- Borbour ML, Booy R, Crook DWM, et al: Haemophilus influenzae type b carriage and immunity four years after receiving the Haemophilus influenzae oligosaccharide-CRM 197 (HbOC) conjugate vaccine. Pediatr. Infect.Dis.J. 12:478-484, 1993

14- Broome CV, Facklam RR, Fraser DW,: Pneumococcal disease after pneumococcal vaccination. N.Engl.J.Med. 303:549-552, 1980

15- Buchanan GR, Schiffman G,: Antibody responses to polyvalent pneumococcal vaccine in infants with sickle cell anemia. J.Pediatr. 264-266, 1980

16- Burman LA, Trollfors B, Andersson B, et al: Diagnosis of pneumonia by cultures, bacterial and viral antigen detection tests and serology with special reference to antibodies against pneumococcal antigens. J.Infect.Dis. 163:1087-1093, 1991

17- Butler JC, Breiman RF, Campbell JF, et al: Pneumococcal polysaccharide vaccine efficacy: An evaluation of current recommendations. JAMA. 270:1826-1831, 1993

18- Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP): Pneumococcal polysaccharide vaccine usage united states. Ann.Intern.Med. 101:348-350, 1984

19- Centers for Disease Control and Prevention. FDA Approval of use of a new Haemophilus b konjugate vaccine and combined diphtheria-tetanus-pertussis and Haemophilus b conjugate vaccine for infants and children. MMWR, 42:296-298, 1993

20- Centers for Disease Control and Prevention. Penicillin resistant pneumococcal disease. Spain. MMWR, 41:500-501, 1992

21- Chou MY, Brown AE, Blevins A, et al: Severe pneumococcal infection in

patients with neoplastic disease. *Cancer*, 51:1546-1550, 1983

22- Claesson BA, Trollfors B, Lagergard T, et al: Clinical and immunologic responses to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b alone or conjugated to tetanus toxoid in 18-to 23-month-old children, *J.Pediatr.* 112:695-702, 1988

23- Clemens JD, Ferreccio C, Levine MM, et al: Impact of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-tetanus protein conjugate vaccine on responses to concurrently administered Diphtheria-tetanus-Pertussis Vaccine. *JAMA.* 267:673-678, 1992

24- Committee on infectious Diseases American Academy of Pediatrics. Update: *Haemophilus influenzae* Type b conjugate vaccine: Recommendations for immunization of infants 2 months of age and older. *Pediatrics.* 88(1):169-172, 1991

25- Cooper MJ and Williamson RCN, Splenectomy: Indications hazards and alternatives. *Br.J.Surgery*, 71(3):173-180, 1984

26- Decker MD, Edwards KM, Bradley R,: Comparative trial in infants of four conjugate *Haemophilus influenzae* type b vaccines. *J.Pediatr.* 120:184-189, 1992

27- Douglas RM and Miles HB: Vaccination against *Streptococcus pneumoniae* in childhood. Lack of demonstrable benefit in young Australian children. *J.Infect.Dis.* 149:861-869, 1984

28- Douglas RM, Paton JC, Duncon SJ, et al: Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. *J.Infect.Dis.* 148:131-137, 1983

29- Eskola J, Takala AK, Kela E, et al: Epidemiology of invasive pneumococcal infections in children in Finland. *JAMA.* 268:3323-3327, 1992

30- Evenberg D, Hoogerhout P, Boeckel CAA, et al: Preparation antigenicity and immunogenicity of synthetic ribosylribitol phosphate oligomer-protein conjugates and their potential use for vaccination against *Haemophilus influenzae* type b disease. *J.Infect.Dis.* 165:152-155, 1992

31- Facklam RR and Washington JA II,: *Streptococcus* and Related Catalase-Negative Gram Positive Cocci. In: Balows A, et al.: *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth edition. Chapter 29, Washington DC: Am. Society. Microbiol. 238-257, 1991

- 32- Farley MM, Stephens DS, Brachmen PS, and the CDC meningitis surveillance group, invasive Haemophilus influenzae disease in adults. *Ann. Intern. Med.* 116:806-812, 1992
- 33- Farley MM, Stephens DS, Harvey RC, et al: and the CDC meningitis surveillance group. *J. Infect. Dis.* 165(1):42-43, 1992
- 34- Feldman S, Gigliotti F, Shenep JL, et al: Risk of Haemophilus influenzae type b disease in children with cancer and response of immunocompromised leukemic children to a conjugate vaccine. *J. Infect. Dis.* 161:926-931, 1990
- 35- Ferreccio C, Clemens J, Avendano A, et al: The clinical and immunologic response of children infants to Haemophilus influenzae type b polysaccharide-tetanus protein conjugate vaccine coadministered in the same syringe with diphtheria-tetanus toxoids-pertussis vaccine at two, four and six months of age. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 10:764-771, 1991
- 36- Filice GA: Pneumococcal vaccines and public Health Policy:(Editorials): *Arch Intern. Med.* 150, 1373-1375, 1990
- 37- Forrester HL, Johnigen DW, Laforce FM: Inefficacy of pneumococcal vaccine in a high-risk population. *Am. J. Med.* 83:425-430, 1987
- 38- Frank AL, Labotka RJ, Rao S, et al: Haemophilus influenzae type immunization of children with sickle cell diseases. *Pediatrics.* 82:571-575, 1988
- 39- Gable CB, Holzer SS, Engelhart L, et al: Pneumococcal vaccine: Efficacy and associated cost saving. *JAMA,* 264:2910-2915, 1990
- 40- Gabor EP, Seemen M,: Acute febrile systemic reaction to polyvalent pneumococcal vaccine. *JAMA.* 242:2208-2209, 1979
- 41- Gardner P, Schoffner W,: Immunization of adults. *N. Engl. J. Med.* 328:1252-1258, 1993
- 42- Giebink GS, Foker JE, Kim U, Ferald S: Serum antibody and opsonic responses to vaccination with pneumococcal capsular polysaccharide in normal and splenectomized children. *J. Infect. Dis.* 141(3): 404-412, 1980
- 43- Giebink GS, Schiffman G, Krivit W, Quie PG: Vaccine type pneumococcal pneumoniae: Occurrence after vaccination in an asplenic patient. *JAMA,* 241(25):2736-2737, 1979
- 44- Gigliotti F, Feldman S, Wang WC, et al: Serologic follow up of children

with sickle cell disease immunized with a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine during early infancy. *J.Pediatr.* 118:917-919, 1991

45- Gill FM, Sleeper LA, Weiner SJ, et al: Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. *Blood*, 86(2):776-783, 1995

46- Granof DM and Holmes SJ: Comparative immunogenicity of Haemophilus influenzae type b polysaccharide-protein conjugate vaccines. *Vaccine*, 9:30-34, 1991

47- Granof DM and Cates KL, Haemophilus influenzae type b polysaccharide vaccines. *J.Pediatr.* 107:330-335, 1985

48- Granof DM and Munson RS,: Prospects for prevention of Haemophilus influenzae type b disease by immunization. *J.Infect.Dis.* 153:448-461, 1986

49- Granof DM, Murphy TU, Holmes SJ, et al: Comparative immunogenicity of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in infants in Minneapolis, Dalas, and St.Louis. 31 r st. ICAAC. Chicago, 1991

50- Granof DM, Sheckelford PG, Pandey JP, et al: Antibody responses to Haemophilus influenzae type b polysaccharide vaccine in relation to Km(1) and G2m(23) immunoglobulin allotypes. *J.Infect.Dis.* 154:257-264, 1986

51- Greenberg DP, Vadheim CM, Bordenave N, et al: Protective Efficacy of Haemophilus influenzae type b polysaccharide and conjugate vaccines in children 18 months of Age and older, *JAMA*, 265:987-992, 1991

52- Griswold WR, Lucas AH, Bastian JF, et al: Functional affinity of antibody to the Haemophilus influenzae type b polysaccharide. *J.Infect.Dis.* 159:1083-1087, 1989

53- Health and Public policy committee. American college of Physienc, Philadelphia, Pennsylvania. Pneumococcal vaccine. *Ann. Intern. Med.* 104:118-120, 1986

54- Hinmen AR, Orenstein WA, Bart Ki, et al: Immunization (Chapter 296). In: Mandel GL, Douglas RG, Bennet JE, (eds.): Principles and practice of infetious diseases. Third edition, vol, II, Churchill. Livingstone Inc. 1990, P:2320-2333

55- Holdsworth RJ, Mckenzie H, Parratt D. et al: The role of the spleen in the immune response following naturally acquired exposure to encapsulated bacteria. *Int. J.Exp. Path.* 71:835-843, 1990

- 56- Holmes SJ, Murphy TV, Anderson RS,: Immunogenicity of four Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in 17-to 19-month-old children. *J.Pediatr.* 118:364-371, 1991
- 57- Hosea SW, Burch CG, Brown EJ, Berg RA: Impaired immune response of splenectomised patients to polyvalent pneumococcal vaccine. *Lancet*, 804-807, 1981
- 58- Jacacki R, Luery N, Mcverry P, Lange B: Haemophilus influenzae diphtheria protein conjugate immunization after therapy in splenectomized patients with Hodgkin Disease. *Ann. Intern Med.* 112(2):143-144, 1990
- 59- Janoff EN, Douglas JM, Gabriel M, et al: Class-specific antibody response to pneumococcal capsular polysaccharides in men infected with Human immunodeficiency virus type 1. *J.Infect.Dis.* 158:983-990, 1988
- 60- Jelonek MT, Chang SJ, Chiu CY, et al: Comparison of naturally acquired and vaccine-induced antibodies to Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide. *Infect. Immun.* 61:5345-5350, 1993
- 61- Jorgensen JH, Howell AW, Maher LA, et al: Serotypes of respiratory isolates of streptococcus pneumoniae compared with the capsular types included in the current pneumococcal vaccine. *J.Infect.Dis.* 163:644-646, 1991
- 62- Kalin M, Lindber AA: Antibody response against the type specific capsular polysaccharide in pneumococcal pneumonia measured by Enzyme linked immunosorbent. Assay. *Scand J.Infect.Dis.* 17:25-32, 1985
- 63- Kalin M and Lindber AA: Diagnosis of pneumococcal pneumonia: A comparison between microscopic examination of expectorate Antigen Detection and cultural procedures. *Scand J.Infect.Dis.* 15:247-255, 1983
- 64- Kaplan SL, Duckett T, Mahoney DH, et al: Immunogenicity of Haemophilus influenzae type b polysaccharide tetanus protein conjugate vaccine in children with sickle hemoglobinopathy or malignancies, and after systemic Haemophilus influenzae type b infection. *J.Pediatr.* 120:367-370, 1992
- 65- Kaplan SL, Zahradnik JM, Mason EO, et al: Immunogenicity of the Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide conjugate vaccine in children after systemic Haemophilus influenzae type b infections. *J.Pediatr.* 113(2):272-277, 1988

66- Kauppi M, Jaeskelainen J, Leinonen M,: Role of noncapsulated *Haemophilus influenzae* as a respiratory pathogen in children. *Acta Paediatrica*. 81:989-992, 1992

67- Kauppi M, Saarinen L, Kayhty H.: Anti-capsular polysaccharide antibodies reduce nasopharyngeal colonization by *Haemophilus influenzae* type b in infant Rats. *J.Infect.Dis.* 167:365-371, 1993

68- Kayhty H, Eskola J, Peltola H, et al: Antibody responses to four *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines. *Am.J.Dis. Child.* 145:223-227, 1991

69- Kayhty H, Makela O, Eskola J, et al: Isotype distribution and bactericidal activity of antibodies after immunization with *Haemophilus influenzae* type b vaccines at 18-24 months of age. *J.Infect.Dis.* 158:973-982, 1988

70- Kayhty H, Peltola H, Karanko V, et al: The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J.Infect.Dis.* 147:110, 1983

71- Kerttula Y, Leinonen M, Koskela M, et al: The aetiology of pneumonia. Application of bacterial serology and basic laboratory methods. *J.Infect.* 14:21-30, 1987

72- Kılıçturgay K: İmmünolojiye giriş, 3.baskı, Güneş Nobel Tıp Kitabevleri, 1994, S:46-57, 84-91, 163-172.

73- Kim KS, Wong VK, Adler R, et al: Comparative immune responses to *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide and a polysaccharide-protein conjugate vaccine. *Pediatrics.* 85(1):648-650, 1990

74- Kilian M, Haemophilus. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL. et al: *Manual of Clinical Microbiology.* Fifth edition. Washington DC: Society for Microbiology. 1990, 463-470.

75- Klenerman P, Luzzi GA, Peto TEA,: Pneumococcal disease and HIV infection. *Ann.Intern.Med.* 118:393-394, 1993

76- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology,* fourth edition, J.B. Lippincott Company, 1992, 279-301, 431-466

77- Konradsen HB and Henrichsen J: Pneumococcal infections in

- splenectomized children are preventable. *Acta Paediatr. Scand.* 80(4):423-427, 1991
- 78- Konradsen HB, Pedersen FK, and Henrichsen J: Pneumococcal revaccination of splenectomized children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 9:258-263, 1990
- 79- Koskela M and Leinonen M,: Comparison of ELISA and RIA for measurement of pneumococcal antibodies before and after vaccination with 14 valent pneumococcal capsular polysaccharide vaccine. *J. Clin. Pathol.*, 1981; 34:93-98, 1981
- 80- Kristensen K,: *Haemophilus influenzae* type b infections in adults. *Scand J. Infect. Dis.*, 21:651-653, 1989
- 81- Kristensen K,: Antibody response to a *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide tetanus toxoid conjugate vaccine in splenectomized children and adolescents. *Scand J. Infect. Dis.* 24(4):629-632, 1990
- 82- Laforce FM and Eickhaff TC,: Pneumococcal vaccine; An emerging consensus. *Ann. Intern. Med.* 108:757-759, 1988
- 83- Lane PA,: The spleen in children. *Curr. Opin Paediatr.* 7(1):36-41, 1995
- 84- LeBlanc W, Salah H, Khakoo Y: Group A beta hemolytic streptococcal bacteremia in a patient with sickle cell anemia on penicillin prophylaxis. *J. Natl. Med. Assoc.* 87(5):347-8, 1995
- 85- Lindberg K, Freijd A, Dagöö BR, et al: Anti pneumococcal antibody activity in nasopharyngeal secretions in Healthy adults and children. *Acta otolaryngol (Stockh)* 113:673-678, 1993
- 86- Lobel JS, Bove KE: Clinicopathologic characteristics of septicemia in sickle cell disease. *Am. J. Dis. Child.* 136:543-548, 1982
- 87- Losonsky GA, Luddy RE, Schwarz AD, et al: Evaluation of the need to immunize children with sickle cell disease with *Haemophilus influenzae* type B (Hib) vaccine. *Pediatrics. Res.* 21:301 A, 1987
- 88- Makela PH, Takala AK, Peltola H et al: Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* type b disease. *J. Infect. Dis.* 165(1):S2-S6, 1992
- 89- Marcinak JF, Frank AL, Labotka RL, et al: *Haemophilus influenzae* type b vaccine in children with sickle cell disease: antibody persistence after vaccination at age one and one half to six years. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 10:157-159, 1991
- 90- Marcinak JF, Frank AL, Labotka RL, et al: Immunogenicity of

Haemophilus influenzae type b polysaccharide-diphtheria toxoid conjugate vaccine in 3-to 17 month old infants with sickle cell diseases. *J.Pediatr.* 118:69-71, 1991

91- Mastro TD, Noman NK, Ishaq Z, et al: Use of nasopharyngeal isolates of *St.pneumoniae* and *H.influenzae* from children in Pakistan for surveillance for antimicrobial resistance. *Pediatr.Infect. Dis.J.* 12:824-830, 1993

92- Mcelroy PJ, Henderson FI, Brown DL: Immune status and response to immunization with polysaccharide vaccines of a healthy, congenitally asplenic woman. *Clin. Exp.Immunol.* 78:402-405, 1989

93- McMahan BJ, Parkinson AJ, Bulkow L, et al: Immunogenicity of the 23 valent pneumococcal polysaccharide vaccine in Alaska Native chronic alcoholics compared with nonalcoholic native and non-native controls. *Am.J.Med.* 95:589-594, 1993

94- Moxon E: *Haemophilus influenzae*. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennet JE, (eds), *Principles and practice of infectious diseases*. Third edition, Churchill Livingstone Inc.1990, 1722-1729,

95- Mufson MA: *Streptococcus pneumoniae*: In Mandel GL, Douglas RG, Bennet JE, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. Third edition, Churchill Livingstone Inc, 1990, p:1539-1550

96- Musher DM, Chapman AJ, Goree A, et al: Natural and vaccine related immunity to *streptococcus pneumoniae*. *J.Infect.Dis.* 154:245-256, 1986

97- Musher DM, Luchi MJ, Watson DA, et al: Pneumococcal polysaccharide vaccine in young adults and older bronchitics: Determination of IgG responses by ELISA and the effect of adsorption of serum with non type specific cell wall polysaccharide. *J.Infect.Dis.* 161:728-735, 1990

98- Musher DM, Watson DA, Baughn RE,: Does naturally acquired IgG antibody to cell wall polysaccharide protect human subjects against pneumococcal infection. *J.Infect.Dis.* 161:736-740, 1990

99- Musher DM, Watson DA, Dominguez EA, *Pneumococcal vaccination: Work to date and future prospect.* *Am.J.Med.* 300:45-52, 1990

100- Musser G, Lazar G, Hocking W, Busuttill R, Splenectomy for hematologic disease. *Ann. Surgery*, 200(1):40-45, 1984

101- Newcomer W, Santoshom M, Bergston S, et al: Immunogenicity of

Haemophilus influenzae type b polysaccharide and Neisseria meningitidis outer membrane protein complex conjugate vaccine in infants and children with sickle cell disease. *Pediatr. Infect.Dis. J.* 12:1026-1027, 1993

102- Orenstein WA, Hinman AR, Bert KJ, et al: Immunization. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and practice of infectious diseases. Fourth edition, Churchill Livingstone Inc, New York, 1995, S:2770-2790.

103- Parke JC, Schneerson R, Reimer C, et al: Clinical and immunologic responses to Haemophilus influenzae type b tetanus toxoid conjugate vaccine in infants injected at 3,5,7, and 18 months of age. *J.Pediatr.* 118:84-90, 1991

104- Paton JC, Toogood IR, Cockington RA, et al: Antibody response to pneumococcal vaccine in children aged 5 to 15 years. *Am.J.Dis.Child.* 140:135-138, 1986

105- Pearson HA: Sickle cell anemia and severe infections due to encapsulated bacteria. *J.Infect.Dis.* 136:925-930, 1977

106- Pegelow CH, Armstrong Fd, Light S. et al: Experience with the use of prophylactic penicillin in children with sickle cell anemia. *J.Pediatr.* 736-738, 1991

107- Peltola H, Kayhty H, Sivonen A, et al: Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide vaccine in children: A double-Blind field study of 100.000 vaccinees 3 months to 5 years of age in finland. *Pediatr.* 60:730-737, 1977

108- Peltola H, Kayhty H, Virtanen M, et al: Prevention of Haemophilus influenzae type b bacteremic infections with the capsular polysaccharide vaccine. *N.Eng. J.Med.* 310:1561-1566, 1984

109- Perlino CA, Laboratory diagnosis of pneumonia due to streptococcus pneumoniae. *J.Infect.Dis.* 150:139-144, 1984

110- Pinna AD, Argiolu F; Marongiu L. Pinna DC: Indications and results for splenectomy for beta thalassemia in two hundred and twenty-one pediatric patients. *Surgery, Gynecology and Obstetrics,* 167:109-113, 1988

111- Powars D, Overturf G, Turner E: Is there an increased risk of Haemophilus influenzae septicemia in children with sickle cell anemia. *Pediatrics.* 71(6):927-931, 1983

112- Powars D, Overturf GD, Wilkins J: Commentary: Infections in sickle cell and SC disease. *J.Pediatr.* 103(2):242-244, 1983

- 113- Robbins JB, Schneerson R: Polysaccharide-protein konjugates: A new generation of vaccines. J.Infect.Dis. 161:821-832, 1990**
- 114- Ruben FL and Uhrin M: Specific immünglobülin class antibody responses in the elderly before and after 14-valent pneumococcal vaccine. J.Infect.Dis. 151: 845-849, 1985**
- 115- Rubin LG, Voulaes D, Carmody L: Immunogenicity of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in children with sickle cell disease. Am.J.Dis.Child. 146:340-342, 1992**
- 116- Rubin LG, Voulaes D, Carmody L: Immunization of children with sickle cell disease with Haemophilus influenzae type b polysaccharide vaccine. Pediatrics. 84:509-513, 1989**
- 117- Rubin LG,: Anticapsuler antibody requirements for protection against experimental Haemophilus influenzae type b bacteremia after splenectomy. Infect.Immun. 56:984-986, 1988**
- 118- Santoshom M, Reid R, Ambrosino DM, et al: Prevention of Haemophilus influenzae type b infections in high-risk infants treated with bacterial polysaccharide immün globülin. N. Engl. J.Med. 317(15): 923-929, 1987**
- 119- Schaffner A, Hader CM, Yeginsoy S,: Detection of capsular polysaccharide in serum for the diagnosis of pneumococcal pneumonia clinical and experimental evaluation. J.Infect.Dis. 163:1094-1102, 1991**
- 120- Schiffman G: Immune response to streptococcus pneumoniae. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL.: Manuel of Clinical Laboratory immunology. Am.Soc.Microbiol. Washington, 1986, 343-345.**
- 121- Schneerson R, Barrera O, Sutton A, et al: Characterization and immünogenicity of Haemophilus influenzae type b polysaccharide protein conjugates. J.Exp. Med. 152:361-376, 1980**
- 122- Schur PH,: IgG subclasses-a review. Ann. Allergy. 58:89-96, 1987**
- 123- Shackelford PG, Granoff DM, Polmer SH, et al: Subnormal serum concentrations of IgG2 in children with frequent infections associated with varied patterns of immunologic dysfunction. J.Pediatr. 116:529-538, 1990**
- 124- Shackelford PG, Polmer SH, Mayus JL, et al: Spectrum of IgG2 subclas deficiency in children with recurren infections: prospective study. J.Pediatr.**

108(1):647-653, 1986

125- Shann F: Modern vaccines; Pneumococcus and influenzae. *Lancet*, 335:898-901, 1990

126- Shapiro ED, Austrian R: Serotypes responsible for invasive streptococcus pneumoniae infections among children in connecticut. *J.Infect.Dis.* 169:212-214, 1994

127- Shapiro ED, Berg AT: Protective Efficacy of Haemophilus influenzae type b polysaccharide vaccine. *Pediatrics.* 85:643-647, 1990

128- Shapiro ED, Clemens JD,: A controlled evaluation of the protective efficacy of pneumococcal vaccine for patients at high risk of serious pneumococcal infections. *Ann.Intern. Med.* 101:325-330, 1984

129- Sherida JF, Tutschka PJ, Sedmak DD, et al: Immunoglobulin G subclass, deficiency and pneumococcal infection after allogenic bone marrow transplantation. *Blood*, 75:1583-1586, 1990

130- Siber GR, Schur PH, Aisenberg AG, et al: Correlation between serum IgG2 concentrations and the antibody response to bacterial polysaccharide antigens. *N. Eng.J.Med.* 303:178-182, 1980

131- Siber GR, Thompson C, Reid GR et al: Evaluation of bacterial polysaccharide immune globulin for the treatment or prevention of Haemophilus influenzae type b and pneumococcal disease. *J.Infect.Dis.* 165(1):129-133, 1992

132- Simberkoff MS, Cross AP, Ibrahim MA, et al: Efficacy of pneumococcal vaccine in high risk patients. *N.Eng.J.Med.* 315:1318-1327, 1986

133- Sims RV, Steinmann WC, Mcconville JH, et al: The clinical effectiveness of pneumococcal vaccine in the elderly. *Ann. Intern. Med.* 108:653-657, 1988

134- Smit P, Oberholzer D, Smith SH, et al: Protective efficacy of pneumococcal polysaccharide vaccines. *JAMA.* 238:2613-2616, 1977

135- Spaeth G, Specian RD, Berg RD, Deitch E: Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation. *J.Travma.* 30(10):211-271, 1990

136- Stein KE: Timus dependent and timus independent respons to polysaccharide antigens. *J.Infect.Dis.* 165(1):49-52, 1992

137- Steinhart R, Reingold AL, Taylor F, et al: Haemophilus influenzae

infections in men with HIV infection. *JAMA*, 268(23):3350-3352, 1992

138- Sullivan JL, Schiffman G, Miser J, et al: Immune response after splenectomy. *Lancet*, 28:178-181, 1978

139- Takalo AK, Eskola J, Leinonen M, et al: Reduction of oropharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) in children immunized with an Hib conjugate vaccine. *J.Infect.Dis.* 164:982-986, 1991

140- Vebber SA, Sendor GGS, Patterson MWH, et al: Immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in children with congenital asplenia. *J.Infect.Dis.* 167:1210-1212, 1993

141- Vella PP, Staub JM, Ellis RW: Biological activity of Hib conjugates. *Vaccine*, 9(supp):S26-S29, 1991

142- Ward J. Prevention of invasive *Haemophilus influenzae* type b disease. *Vaccine*, 9(supp):17-24, 1991

143- Ward J, Smith AL.: *Haemophilus influenzae* bacteremia in children with sickle cell disease, *J.Pediatr.* 88:261-262, 1976

144- Watenberg N, Dagan R, Arbelli Y, et al: Safety and immunogenicity of *Haemophilus* type b tetanus protein conjugate vaccine, mixed in the same syringe with diphtheria-tetanus-pertussis vaccine in young infants. *Pediatrics. Infect.Dis.J.* 10:758-761, 1991

145- Weinberg GA, Granoff DM, Immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide protein conjugate vaccines in children with conditions associated with impaired antibody responses to type b polysaccharide vaccine. *Pediatrics*, 85:654-661, 1990

146- Wenger JD, Pierce R, Deaver KA, et al: *Haemophilus influenzae* vaccine efficacy study group, efficacy of *haemophilus influenzae* type b polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in US children aged 18-59 months, *Lancet*, 338:395-398, 1991

147- Wenger JD, Pierce R, Deaver KA, et al: Invasive *Haemophilus influenzae* disease: A population-based evaluation of the role of capsular polysaccharide serotype. *J.Infect.Dis.* 165(1):S34-S35, 1992

148- Wilfert CM, Epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b infections. *Pediatrics*, 85:631-634, 1990

149- Williems JS, Sanders CR, Riddiough MA, et al: Cost effectiveness of vaccination against pneumococcal pneumonia. N.Engl.J.Med. 303:553-559, 1980

150- Ziemiński JM, Rudowski WJ, Jaskowiak W, et al: Evaluation of early postsplenectomy complications. Gynecology and Obstetrics, 165:507-513, 1987

151- Zorkowsky HS, Gallagher D, Gill FM, et al: Bacteremia in sickle hemoglobinopathies. J.Pediatr. 109:579-585, 1986



Ö Z G E Ç M İ Ő

1964 yılında Hatay'ın Dört Yol ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Dört Yol'da tamamladıktan sonra 1981 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 1987 yılında mezun oldum. 1987-1989 yılları arasında iki yıl Konya Ereğli ilçesinde mecburi hizmetimi yaptım. TUS sınavını kazanarak Ocak 1991 tarihinde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

Evli ve bir çocuk sahibiyim.

Arş.Görv.Dr.Filiz KİBAR
Ç.Ü.Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı