

31141

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Danışman : Doç. Dr. Ayşe YÜCE

ALT SOLUNUM YOLLARI
ENFEKSİYONLARINDA MORAXELLA
CATARRHALİS'İN PREVALANSI VE BETA
LAKTAMAZ AKTİVİTESİNİN SAPTANMASI

Biyolog : Masoumeh ASLANİ MEHR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilim Uzmanlığı (MS)

İZMİR - 1993

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince yetişmemde büyük katkısı bulunan, bilimle birlikte tüm yaşamımda geçerli olacak eğitimi de esirgemeyen değerli danışmanım Doç.Dr. Ayşe YÜCE'ye, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Nuran YULUĞ'a ve diğer hocalarım Sayın Prof.Dr. Vedat ORHAN'a, Doç.Dr. Nedim ÇAKIR'a, Doç.Dr. İ.Hakkı BAHAR'a teşekkürü bir borç bilip saygılarımı sunarım. Ayrıca bu çalışmada emeği geçen herkese ve aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa
No

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	2-12
GEREÇ VE YÖNTEMLER	13-22
BULGULAR.....	23
Tablo 1. Balgam örneklerinin hücresel kriterlere göre uygunluğu ve kültür sonuçları.....	23
Tablo 2. Balgam kültürlerinden patojen mikroorganizma izole edilen hastaların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı.....	24
Tablo 3. Kültürlerinden patojen bakteri izole edilen hastaların sigara alışkanlıklarına göre dağılımı.....	26
Tablo 4. Klinik tanı ile sigara içme alışkanlığı arasındaki ilişki.....	27
Tablo 5. İzole edilen mikroorganizmaların klinik tanıya göre dağılımı	29
Tablo 6. İzole edilen mikroorganizmalar ile hastaların genel özellikleri arasındaki ilişki.....	30
Tablo 7. Patojen bakteri izole edilen 99 balgam kültüründe mikroorganizmaların dağılımı.....	31
Tablo 8. M.catarrhalis izole edilen 11 olgunun genel özellikleri.....	34
Tablo 9. Balgam örneklerinden M.catarrhalis izole edilen 11 hastanın kardiyopulmonar hastalıkları	34
Tablo 10. İzole edilen M.catarrhalis izolatlarında beta laktamaz aktivitesi penisilin ve sefotaksim zon çaplarına göre BRO enzimlerin durumu..	35

Tablo 11. M.catarrhalis izolatların antibiyotik duyarlılıkları	36
Tablo 12. Sağlıklı kişilerde M.catarrhalis kolonizasyon oranı ve betalaktamaz aktivitesi	37
Tablo 13. Sağlam kişilerde M.catarrhalis kolonizasyon oranının yaş ve cinsiyete göre dağılımı	38
Tablo 14. Hasta ve sağlam kişilerde izole edilen M.catarrhalis izolatları arasında beta laktamaz aktivitesinin dağılımı.....	40
Tablo 15. Sağlam kişilerde izole edilen ve beta laktamaz üreten M.catarrhalis izolatlarının penisilin ve sefotaksim zon çaplarına göre BRO enzimlerinin durumu	40
Tablo 16. Sağlam kişilerin orofaringeal sekresyonlarından izole edilen M.catarrhalis izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları	41
TARTIŞMA	43-51
ÖZET	52
SUMMARY	53
KAYNAKÇA	54-62

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde hava kirliliği ve kişilerin sigara kullanma alışkanlığının artışına bağlı olarak kronik obstrüktif akciğer hastalığına giderek fazla sıklıkta rastlanmaktadır. İtalya ve Amerika'da erkeklerin %10-20'sinde kronik bronşit saptandığı bilinmekte olup, bu grup hastalarda; solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı, morbidite ve morta litesinin daha yüksek bulunduğu açıklanmaktadır (1, 2). Bunun ya nısıra epidemiyolojik çalışmalar, sigara içen sağlıklı kişilerin de alt solunum yolları enfeksiyonlarına çok daha duyarlı olduklarını gös termektedir (2).

Yıllarca üst solunum yollarının bir kommensalı olarak bilinen *Moraxella catarrhalis*, bronkopulmonar enfeksiyonlarda özellikle kronik akciğer hastalığı olanlarda çok iyi tanınmış bir patojendir bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyonlarda predispozan faktörler arasında pulmonar ağacın veya akciğer parankimasının temel hastalıkları, özellikle KOAH'ın yer aldığından, bu enfeksiyonlar için toplumlarda çok yüksek bir potansiyel mevcut olduğu gözlen mektedir (2-4, 6-13)

Klinik olarak önemli olan enfeksiyonlarda *M.catarrhalis*'in beta laktamaz üreten suşlarını prevalansında bir artış gözleendiği saptamıştır. Beta laktamaz üreten suşların giderek artması, solunum yolu enfeksiyonlarında bu bakterinin daha fazla yer almasında, yardımcı bir faktör olduğu açıklanmıştır (6, 14).

Türkiye'de alt solunum yolları enfeksiyonlarında *M.catarrhalis*'in sıklığı bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada alt solunum yolu enfeksiyonlarında *M.catarrhalis* sıklığı, bu mikroorganizma ile diğer patojenler arasındaki ilişkisi, *M.catarrhalis*'in beta laktamaz aktivitesi anti mikrobial ajanlara karşı duyarlılığı ve sağlam kişilerde *M.catarrhalis*'in taşıyıcılık oranının saptanması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Enfeksiyöz etkenlerin akciğer dokusuna çok çeşitli yollarla ulaştığı bilinmektedir. Enfeksiyöz partiküller içeren havanın direkt inhalasyonu, nazo-orofarinksten gelen sekresyonların aspirasyonu, hematojen yayılım ve nadiren komşuluk yolu ile etken mikroorganizmalar akciğer dokusuna penetre olabilirler. Bu olasılıklardan en yaygın olanı nazofarinks sekresyonlarının aspirasyonudur (15). Normal kişilerde faringeal sekresyonların uyku sırasında alt solunum yollarına girdiği kanıtlanmış olup, bu kişilerin %45'i, bayılmış kişilerin ise %70'inin akciğerlerinde faringeal sekresyonların varlığı saptanmıştır. Orofaringeal sekresyonlar yüksek yoğunlukta bakteri içerir ve bunların çok küçük bir hacmi bile anlamlı bir bakteri inokülasyonuna neden olabilir. Orofaringeal sekresyonlarda yaklaşık 10^7 /ml bakteri bulunduğu ve 0.01 ml sekresyon aspirasyonu ile akciğerlere 10^5 bakteri ulaştığı düşünülmektedir (16). Bunlara rağmen genelde akciğerlerin ilk büyük bronşial bölümden sonra steril olduğu gösterilmiştir. Bu da solunum sisteminde çok etkili bir savunma mekanizmasının varlığını ortaya koymaktadır (15-17).

1- Solunum Sisteminin Savunma Mekanizmaları :

Egiplot ve mukozanın örtücü epitel hücrelerinin sıkı bir apikal birleşme göstermeleri gibi anatomik engeller, glotisin kapanma refleksi ve bronş darlığı, solunan havanın üst solunum yolu ve pulmonar ağacın dallanmalarında aerodinamik filtrasyonu, öksürük refleksi, mükosiliyer transport sistemi, opsoninler, makrofajlar ve lenfositlerin etkinlikleri gibi çok çeşitli hücrelerin yaptığı savunma mekanizmaları mikroorganizmaların akciğer dokusuna ulaşarak hastalık yapmasını önlemektedir. (15, 18).

1-1 Filtrasyon ve Havayolu Refleksleri:

Inhalasyonla alınan tanecikler sıkışarak kümeleşme, sedimentasyon, brown hareketleri, türbülant hareketler ve çok daha küçük

ölçüde elektrostatik kuvvetler nedeniyle solunum yollarında çökerler. Ayrıca bronş darlığı ve öksürük solunum yollarının direncini artırarak yabancı maddelerden temizlenmesinde büyük önem taşır (18).

1-2 Mükosilyer Transport Sistemi :

Büyük hava yolları silli-pseudosratifiye bir epitel ile örtülü olup müküs bezleri ve goblet hücreleri içerir. Hava yollarını kaplayan müküs örtüsü iki tabakadan meydana gelir. Bunlardan birisi 5µm kalınlığındaki perisilyer alt tabaka, diğeri ise bu tabakanın üstünde yer alan ve viskoelastitesi daha fazla olan 2 µm kalınlığındaki üst tabakadır. Üst tabakadaki müküsün, goblet hücreleri ve müküs bezlerinden geldiği bilinmekle birlikte alt tabakadaki müküsün orjini tam olarak belli değildir. Sillerin uç kısımları üst müküs tabakayla temas halinde olup, bu viskoz tabaka; epitel ile perisilyer müküsü kurumaktan, toksik maddelerden ve iyon değişikliklerinden korumaktadır. Ayrıca immunglobulin A gibi immunoglobulinler ve lizozim içerdiğinden yüksek ölçüde bakterisittir. Sil hareketi müküs örtüsü olmadığı durumlarda çok yavaşlar veya tamamen durur. Siller bölümler halinde ardarda belirli yönde dakikada 1000-1500 defa titreşerek üzerindeki müküsü üst solunum yollarına doğru iterler (18).

1-3 Opsoninler :

Bakteriler alveol yüzeyine ulaştıklarında fagositler tarafından fagosite edilirler. Ancak mikroorganizmanın opsonize olması fagositozu, yaklaşık 10 kat artırır. İmmun opsoninler ve immün olmayan opsoninler olmak üzere iki türlü opsonin valığı bildirilmektedir.

a) İmmun olmayan opsoninler; alveolar sıvı tabaka içerisinde bulunan maddeler olup alveolar makrofajlar tarafından üretilen veya intravasküler kaynaklı olan fibrolektinler büyük glikoprotein

parçaları, tip II pnömositler tarafından üretilen lipoprotein surfaktantlardan oluşur.

b) İmmun opsoninler; bu grup içerisinde Ig G antikorlayıcı ve C₃b faktörü yer alır. Bu opsoninler ya bölgesel olarak üretilirler veya sistemik humoral yanıtın bir parçası olarak üretilip akciğerlerde serbest bırakılırlar. C₃b; spesifik plazma membran reseptörlerine bağlamayı artırır. IgG₂ alt sınıfında solunum patojenlerinin polisakkaritlerine, gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritlerine ve S. aureus'un teikoik asidine karşı oluşan antikorlar bulunur. Sito-filik immunoglobulinler IgG₁ ve IgG₄ alt sınıfından olup alveolar makrofajların plazma membranlarının üzerine yapışıkır. Makrofaj Fcγ reseptörleri IgG₃ için çok sayıda, IgG₁ için ise daha az sayıda mevcut olup IgG₁, IgG₂ ve IgG₄ için membranda örtülmüş veya gömülü haldedir (15).

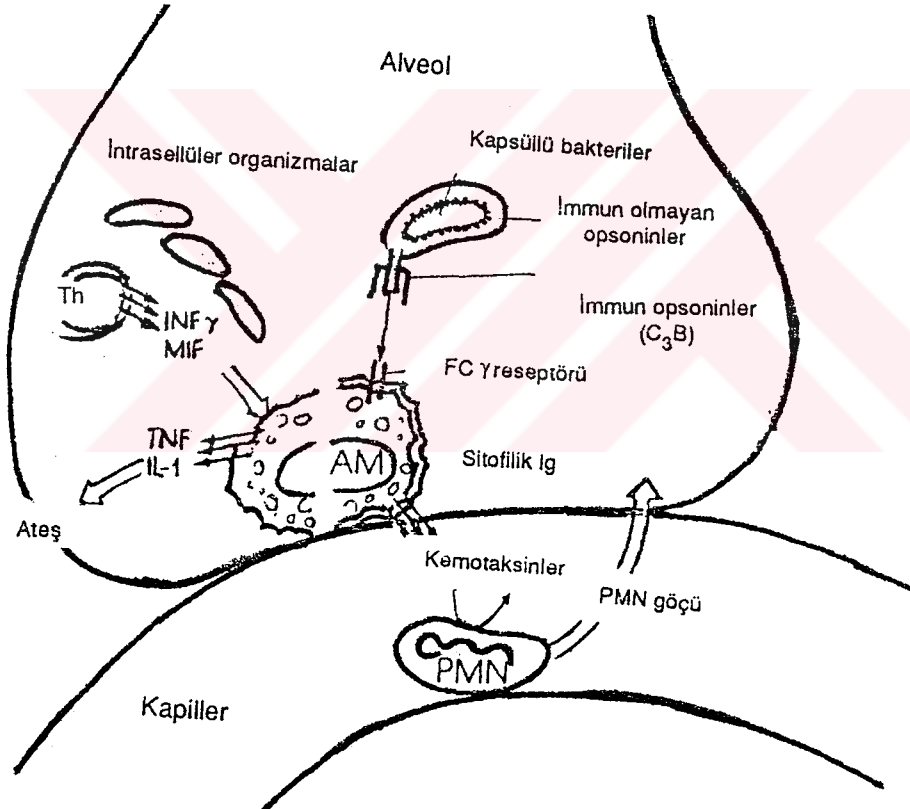
Hava yollarında kompleman sistemi yalnızca alternatif yoldan aktive olur ve bu olayın sonucunda ya opsonik C₃b komponentinin üretimi veya duyarlı mikroorganizmanın lizizi gerçekleşir (15).

Sağlıklı insanlarda dahi üst ve alt solunum yollarının immunoglobulinlerinde farklılıklar mevcuttur. Üst ve orta bölümlerde daha çok IgA üreten hücreler bulunurken alt solunum yollarında çeşitli antijenlere karşı, daha çok IgG yanıtı oluşur (18).

1-4 Makrofaj ve Lenfosit Etkileşimleri:

Makrofajlar, fagositozun yanı sıra antijenik materyelleri alveolar lenfositlere sunarak spesifik immün yanıtın başlatılmasında rol alan uzun ömürlü doku hücreleridir. Makrofajlar tarafından salınan Tümör nekrotizan faktör (TNF), interlukin 1 (IL-1) gibi pek çok salgı ürünü immün sistemi etkileyen önemli maddeler olup, sonuçta bu maddeler kronik inflamasyon, fibrojeniz ve granülom oluşmasına yardımcı olurlar. Makrofajlar ayrıca bir yandan direkt antikor yanıtı oluştururken diğer yandan uyku halindeki sitotoksik len-

fositlerin aktivasyonunda da rol alırlar. Makrofajların aktivasyonu ile birlikte myeloperoksidaz tarafından süperoksit ve H_2O_2 üretimi artar ve fagositoz olayı hız kazanır. Normal alveol hücrelerini yaklaşık %10'unu lenfositler, bunların %70'ini de T lenfositler oluşturur. Bu lenfositlerin majör alt gruplarının oranı periferel kandaki gibidir. T lenfositler MAF, MİF, γ interferon gibi pek çok sitokinler salgılayarak bir yandan makrofajları, öte yandan killer hücrelerini aktive eder (15). Genel olarak ekstrasellüler bakterilere karşı temel spesifik immun yanıt humoral bağışıklık şeklinde iken, intrasellüler bakterilere karşı temel koruyucu spesifik immun yanıt, kazanılmış hücresel immunitedir (19).



Alveolar savunma mekanizması: AM: Alveolar makrofaj; PMN: Polimorf nüveli lökosit; Th: Yardımcı T hücreleri INF γ = γ interferon; MIF: Migrasyon inhibe edici faktör; TNF: Tümör nekrotizan faktör, IL-1: İnterlokin 1.

Alt Solunum Yolu Enfeksiyon Etkenleri :

Akciğerlerin bu denli güçlü savunma mekanizmaları, çeşitli durumlarda bozulabilir. Aşırı soğuğa mağruz kalma, alkol intoksikasyonu, anormal akciğer dolaşımı (ödem, emboli), anestezi ve morfin gibi uyuşturucu maddeler, sigara kullanımı, tahriş edici gazların inhalasyonu, üst solunum yolları enfeksiyonları, diğer akciğer enfeksiyonları, dengesiz beslenme, diabetes gibi metabolik bozukluklar, göğüs travmaları, bronş tıkanması ve yabancı cisim aspirasyonu v.s. gibi. Alkol, lökosit fonksiyonlarını bozarak ve mukosilyer transportu yavaşlatarak, sigara dumanı ve aşırı soğuk sillerin titreşme hızını azaltıp koordinasyonu bozarak bu savunma mekanizmalarının etkisini azaltır (18). Ayrıca uzun yıllar sigara kullananlarda alveolar makrofajların fonksiyonunun inhibe olduğu, muküs bezlerinde hipertrofi ve hiperplazi meydana geldiği deneysel olarak gösterilmiştir (1). Virüs ve mycoplasma enfeksiyonları da akciğerlerin özellikle mukosilyer transportunu aylar boyunca bozarak sekonder bakteriyel pnömoni oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca %7.5 konsantrasyonda CO₂ ve %100 konsantrasyonda O₂ solunmasının mukosilyer transportu yavaşlattığı bildirilmektedir (2, 15, 18). Pulmoner enfeksiyonlar; savunma mekanizmalarının çeşitli nedenlerle bozulması, akciğerlere alışılmışın dışında büyük miktarlarda mikroorganizmanın inokülasyonu veya nazofarinkte virulan yeni bir suşun bulunması ile meydana gelmektedir (15, 18). Alt solunum yollarında enfeksiyon yapan başlıca mikroorganizmaların; Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Enterobacteriaceae üyeleri, Pseudomonas aeruginosa, Mycoplasma pneumoniae, Chlamidia pneumoniae, Chlamidia psittaci ve Legionella pneumophila gibi çeşitli bakteriler, Adenovirus, İnfluenza virus, Respiratory syncytial virus gibi viruslar, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis gibi bazı mantarlar ve Pneumocystis carinii, Toxoplasma gondii gibi bazı parazitler olduğu bilinmektedir.

1980'li yıllara kadar üst solunum yollarının patojen olmayan, kommensal bir flora bakterisi olarak değerlendirilen *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*'in son yıllarda özellikle solunum fonksiyonları bozuk olan erişkinlerde pnömoni, akut bronşit, kronik bronşitin alevlenmesi gibi önemli alt solunum yolu enfeksiyonları, çocuklarda ise sinüzit, otitis media gibi lokal enfeksiyonların yanı sıra menenjit ve endokardit gibi sistemik ve enfeksiyonlara da neden olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (2, 4, 6, 20-26)

Dünyanın değişik yerlerinde yapılan çeşitli epidemiyolojik çalışmalar *M catarrhalis*'in bronkopulmoner enfeksiyonlardan giderek artan oranlarda izole edildiğini, ayrıca suşlar arasında beta laktamaz aktivitesinin hızla yayıldığını göstermektedir (13, 14, 27, 28). 1970'li yıllardan önce kullanılan tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu bilinen *M catarrhalis*'de beta laktamaz varlığı ilk kez 1976 yılında Amerika'da 1977'de Avrupa'da saptanmış olup bugün Avrupa ve Amerika'da beta laktamaz üreten suşların %85 civarında olduğu bildirilmektedir (7, 14, 28, 29).

Moraxella catarrhalis :

İlk kez 1882'de Alman araştırmacı O. Seifert, *Micrococcus catarrhalis* ile oluşan bir purulan trakeobronşit olgusu bildirdi. 1886'da yine bir Alman araştırmacı olan Pfeiffer bu mikroorganizmanın çocuklarda ve erişkinlerde pnömoniye neden olduğunu belirledi. 1902'de Ghon ve Pfeiffer akut bronşitli bir hastanın balgamında gram negatif koklar gördüklerini ve kanlı agardaki üreme özellikleri ile daha önce açıklanan *Micrococcus catarrhalis*'e uygunluk gösterdiğini açıkladılar. 1921'de Amerikalı bir araştırmacı olan Gordon, *Micrococcus catarrhalis*'in normal boğaz florasında bulunduğunu ve ender olarak insan akut üst solunum yolu enfeksiyonlarında da rol oynadığını açıkladı. 1928'de Mackic ve Maccartney ile

birlikte Muir ve Ritchie, *Micrococcus catarrhalis* yerine *Neisseria catarrhalis* terimini kullanarak organizmayı *Neisseria* genusu içine yerleştirip bu organizmanın boğaz ve burun florasının kommensal bir üyesi olduğunu açıkladılar ve 1970'lere kadar mikroorganizma *Neisseria* genusunun bir üyesi olarak kabul edildi. 1970'-lerde Catlin nükleik asit hibridizasyon deneyleri, G-C içerik oranları ve genetik transformasyon deneyleri ile *Neisseria catarrhalis*'i *Branhamella* genusunun bir üyesi olarak değerlendirdi (5) ve 1974'de yayınlanan Bergey's manual of bacteriology'de *Branhamella catarrhalis* olarak yer aldı (30). Daha sonradan yapılan çalışmalarda Bovre, *Moraxella* genusunun seçilmiş üyeleri ile *Branhamella catarrhalis* arasındaki fizyolojik ve genetik ilişkilere dayanarak *Branhamella*'yı *Moraxella*'nın bir sub genusu olarak yeniden sınıflandırdı (31) ve 1984'de yayınlanan son Bergey's manual of bacteriology'de *Branhamella*, *Moraxella*'nın bir sub genusu olarak yerini aldı (32). *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* en doğru taksonomik adlandırma olduğu halde birtakım karışıklıklara neden olması ve gereksiz şekilde uzun olması nedeni ile bugün *Moraxella catarrhalis* terimi en yaygın biçimde kullanılmaktadır (5, 6).

M. catarrhalis üst solunum yolları ve bazen de kadın vajen florasında bulunan, birleşme yanları düz dekolorizasyona dirençli gram negatif koklardır. Hücre bölünmesi birbirine dik 2 doğrultuda olup bu nedenle zincir oluşmaz. Penisilin gibi bazı antibakteriyel ajanların subletal konsantrasyonlarında bölünme baskılandığından yılan benzeri hücreler oluşurmaz. Bu özellik *M. catarrhalis*'i; *Moraxella* ve *Acinetobacter* türlerinden ayırmada tanısal öneme sahiptir (6, 57).

M. catarrhalis'in DNA G-C oranı %41-43 moldür. Optimal üreme ısısı 37 °C olup bazı suşlar 22 °C'de de üreme gösterirler. Bakteri aerob, hareketsiz ve kapsüllüdür. Endospor oluşturmaz. Genelde nutrient agarda ürer. Kanlı agarda nonhemolitik, yuvarlak,

grimsi-beyaz, opak, konveks, 48 saatte çapı 2 mm'den büyük koloniler oluşturur. Koloniler itildiğinde sağlam kalıp, buz üzerindeki hokey topu gibi plak boyunca kayar (6, 24, 32)

Moraxella catarrhalis'in hücre duvarı diğer gram negatif bakterilere benzer (6). Molekül ağırlıkları 21.000-98.000 arasında değişen A-H'ye kadar adlandırılan 8 majör dış membran proteinine sahiptir (33). *M.catarrhalis*'te değişik virulans faktörleri saptanmıştır. Bunlardan biri pililer olup mukozal yüzeylere bağlanmayı hızlandırır. *M. catarrhalis*'te 2 çeşit pili bulunur. Bunlardan birisi bakteri dış duvarının tüm kısımlarında bulunan kısa pililer, diğeri ise *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* gibi pek çok patojen bakteride bulunan ince uzun yapıda ve bakterinin kutuplarında lokalize olmuş Tip 4 pilileridir. Bu pili DNA transformasyonunda otoaglutinasyon, pellikül oluşturma, koloni morfolojisi gibi fenotipik özelliklerden sorumludur (6, 34). Bakteri filamentöz yapıda bir kapsüle sahip olup bu kapsülün virulansta rol oynadığı yapılan deneylerle açıklanmıştır (6, 35). *M. catarrhalis* periferdeki dokulara endotoksin yayılmasını sağlayan dış membran veziküllerini spontan olarak serbest bırakma özelliğine sahiptir. Sayılan bu virulans faktörlerden başka bazı suşlar histidinden histamin oluşturarak alt solunum yolları enfeksiyonlarının patogenizinde rol alması, insan kaynaklı laktoferin ve transferinleri bağlayan proteinlere sahip olması ve bu demir kaynaklarını kullanabilmesi gibi çeşitli virulans faktörlerine de sahiptir (6). Beta laktamaz varlığı *M. catarrhalis*'te ilk kez 1976'da, diğer *Moraxellalar*da ise 1978'de bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada hemen hemen aynı zamanda beta laktamaz üretimi meydana geldiği açılanmıştır. Suşlar arasında beta laktamaz üretimi artmasının, ya dirençli bir genin hızla yayılmasından (14) veya tedavide kullanılan beta laktamaz antibiyotiklerin seçici etkisinden dolayı olabileceği belirtilmektedir. (6, 7, 13, 36). Bu beta laktamaz üretimindeki artışın; *M. catarrhalis*'in solunum yolu enfeksiyonla-

rında giderek daha fazla yer almasında yardımcı bir faktör olduğu açıklanmaktadır. (14). *M. catarrhalis* suşlarının %10'unda plazmid bulunduğu fakat bu plazmidin beta laktamaz aktivitesi ile ilişkisi olmadığı, bu aktivitenin kromozoma bağlı ve tanısıl proteinler olan BRO₁, BRO₂ ve BRO₃ olmak üzere 3 enzim ile yürütüldüğü saptanmıştır (14, 27, 37, 38). BRO₁ içeren *M. catarrhalis* suşlarının beta laktam antibiyotiklere karşı, BRO₂ içeren suşlara göre daha dirençli oldukları saptanmış, ancak invitro deneylerde BRO₁ ve BRO₂'nin aynı aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. BRO₁ içeren suşların genelde BRO₂ içeren suşlardan yaklaşık 2 kat daha fazla enzim ürettikleri gösterilmiştir. BRO₁ enziminin daha fazla üretimi invivo koşullarda iki enzim arasındaki aktivite farklılığını açıklamaktadır (14, 27). BRO₃'ün varlığı son çalışmalarla ortaya konmuş olup bu konudaki çalışmalar devam etmektedir (38). BRO enzimlerinin, *M. catarrhalis* suşları arasında konjugasyon ve transformasyon ile aktarıldığı, oysa bu suşlar ile *Moraxella sub* genusuna ait *M.nonliquefaciens* ve *M.lacunata* arasında yalnızca konjugasyon ile transfer edildiği açıklanmıştır (14, 37).

M.catarrhalis; pnömoni,akut bronşit, kronik bronşitin alevlenmesi, trakeit, amfizem gibi alt solunum yolları enfeksiyonlarına neden olur (6). Bu enfeksiyonlarda klinik tablo çoğu kez akut bronşitteki gibidir. Başlangıçtan 2-3 gün sonra pürülan balgam miktarındaki artış, düşük ateş veya ateşin olmaması tipiktir. Pnömoni daha seyrek görülür ve diğer bakteriyel pnömonilere benzer (4-6). immun baskılanmış kişiler dışında ılımlı seyreder. *M.catarrhalis*'in alt solunum yolu enfeksiyonları oluşturmada bronşial ağacın veya akciğer parankimasının temel hastalıkları özellikle KOAH, kemoterapötik ajanların kullanımı, immun sistem anomalilerine bağlı immun yetmezlikler, yaş ilerlemesi, RSV gibi viral enfeksiyonlara bağlı epitel harabiyetinin predispozan faktörler olarak rol oynadığı bildirilmektedir (3, 4, 6, 8, 22, 23).

M.catarrhalis'e bağı olan solunum yolu enfesiyoları ve kolonizasyon oranı tipik bir mevsimsel dağılım göstermektedir. Bu oran yaz aylarında en düşük, kış aylarında ise en yüksek miktara ulaşır (5, 8, 13, 39, 40).

M. catarrhalis tarafından oluşturulan maksiller sinüzit, akut bronkopulmonar enfeksiyonlar ve akut otitis mediada, bu mikroorganizmaya karşı hasta serumlarında antikor yanıtının oluştuğu gösterilmiştir. Bu hastaların birçoğunun serumunda antikor titresi akut ve nekahat fazları arasında yükselmektedir (6, 41-43). Moraxella catarrhalis, insan B lenfositlerinde DNA sentezini stimüle eden, T hücrelerinden bağımsız bir mitojen olarak tanımlanmaktadır (6).

Biyokimyasal Özellikler ve Ayırıcı Tanı Kriterleri :

	Katalaz	Oksidaz	Karbonhidratlardan Asit üretimi				Sukrozdan Poli-sakarit üretimi	Nitrat redüksiyon	Hidroliz			
			Glukoz	Maltoz	Laktoz	Sukroz			DNA	Tributirin	γ GNA (b)	Tween 80
M. catarrhalis	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	+
N.cinerea	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N.flavescens	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
N.gonorrhoeae	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N.meningitidis	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	0

+ : (suların > % 90'ı pozitif reaksiyon verir)

o : (Negatif reaksiyon)

b : γ GNA, N- γ Glutomyl- β - nephthylamide.

M.catarrhalis % 0.85 NaCl çözeltisinde spontan aglutinasyon verdiğinden tanıda klasik aglutinasyon testleri başarısız bulunmuştur. Buna karşın presipitasyon ve immunodifüzyon testleri yardımcı olabilir (6). Ayrıca bakteri yüzeyinde yeralan tripsine duyarlı, ısıya dayanıklı olan P antijenine karşı spesifik antikorların oluşmasına bağlı olarak identifikasyon da geliştirilen EIA yöntemlerden yararlanmak mümkündür (6, 41). Bunlara ilaveten M. catarrhalis için %100 spesifik olan kromozomal kaynaklı bir DNA prob geliştirilmiş olup, bu şekilde mikroorganizmanın primer kültürden identifikasyonunu mümkün kılar (6)

GEREÇ VE YÖNTEMLER:

Bu çalışmada Mart 1992 ile Temmuz 1992 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına alt solunum yolları enfeksiyonu kuşkusunu ile gönderilen 148'i kadın 227'si erkek olmak üzere toplam 375 hastadan alınan balgam örneğinden, hücresel kriterlere göre uygun bulunan 251 balgam örneği, *M.catarrhalis* yönünden incelendi. Örneklerin uygunluğu; gram boyalı yaymalarda %100'lük büyüme ile her sahada en az 25 lökosit ve 10'dan az yassı epitel hücresi bulunması ile saptandı.

Kolonizasyon oranını araştırmak için 48'i kadın 52'si erkek olmak üzere toplam 100 sağlıklı kişiden orofaringeal sekresyonlar (tükürük örnekleri) alındı (44). Son bir ay içerisinde antibiyotik kullanan veya üst solunum yolu enfeksiyonu geçirmekte olan kişilerden örnek alınmadı (3). Alınan örnekler yine *M.catarrhalis* yönünden incelendi.

Örneklerin Alınması, Ekimler ve Kültürlerin Değerlendirilmesi:

Steril petri kutuları içerisinde toplanan balgam örnekleri uygun koşullarda laboratuvara ulaştırıldı. Balgam örneklerinden hazırlanan yayma preparatlar gram boyama yöntemi ile boyanarak hücresel kriterler ve bakteri dominansı yönünden incelendi. *M.catarrhalis* dekolorizasyona dirençli olduğundan dekolorizasyon işlemi 1:1 oranında aseton ve % 95'lik etanol karışımı ile 20 saniyede gerçekleştirildi (6). Mikrobiyolojik inceleme ile her sahada 25'-den fazla lökosit bulunan balgam örneklerinin pürülan kısımlarından pamuklu ekivyonla alınan örnek %5 kanlı agar, çikolata agar ve EMB agar besiyerine inokule edilip tek koloni düşürme yöntemi ile ekildi (46). EMB agar plakları normal atmosferde, kanlı ve çiko-

lata agar plakları %5-10 CO₂ içeren desikatörde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonucunda üreme görülmeyen pakların inkübasyonu 48 saate tamamlandı. Kolonizasyon oranını araştırmak üzere toplanan tükürük örnekleri, laboratuvarında M.catarrhalis için seçici besiyeri olan ve 10 ug/ml trimetoprim, 2 ug/ml amfoterisin B, 10 µg/ml sodium asetazolamid, %5'lik defibrine koyu kanı içeren brucella agar plaklarına ekilerek 37 °C'de normal atmosferde 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süreleri sonunda gerek balgam, gerekse tükürük kültürleri incelendi. Koloni morfolojileri göz önünde tutularak katalaz ve oksidaz testleri pozitif olan gram negatif diplokoklar, Moraxella catarrhalis identifikasyonuna alındı. İleri identifikasyonda glukoz, sukroz, maltoz ve laktozdan asit oluşturmeyen, nitratı redükte eden ve DNaz pozitif olan koloniler M.catarrhalis olarak değerlendirildi. Bu izolatların beta laktamaz aktiviteleri asidometrik yöntemle, antibiyotik duyarlılık testleri kuru disk yöntemi ile yapıldı. İzole edilen diğer bakterilerin identifikasyonları rutin laboratuvar standartlarıncı yapıldı (24, 48, 49).

Çalışmamızda Kullanılan Testler :

a) Katalaz Testi:

Kuşkulu kolonilerden bir öze dolusu alınarak lam üzerine konulup üzerine bir damla %3 H₂O₂ ilave edildi. Hemen oluşan hava kabarcıkları pozitif olarak değerlendirildi.

b) Oksidaz testi:

Kuşkulu kolonilerden bir öze dolusu alınarak kurutma kağıdı üzerine konuldu. Üzerine taze hazırlanmış %1'lik tetra metil para fenilen diamin hidroklorid solusyonundan bir damla damlatıldı. 10-15 saniye içinde koyu mor rengin gözlenmesi pozitif olarak değerlendirildi.

c) Karbonhidratların hızlı fermentasyon testi:

Glukoz, sukroz, maltoz ve laktoz fermentasyonu için ayrı ayrı şeker solusyonları konmuş 4 tüpün içine test edilecek mikroorganizmadan yoğun bir inokülasyon yapılarak, 37 °C'de 4 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda ortamın renginin, kırmızıdan sarıya dönüş-mesi pozitif olarak değerlendirilirken renk değişimi gözlenmemesi negatif olarak kabul edildi.

d) Nitrat redüksiyon testi:

% 0.1 KNO₃ içeren beyin kalp sıvı besiyeri içerisine test edilecek mikroorganizmanın bir gecelik kültüründen bir öze dolusu inoküle edilerek 48 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ortama birer mililitre sülfanilik asit ve naftol çözeltisi ilave edilerek 1-2 dakika içerisinde kırmızı rengin gözlenmesi pozitif olarak değerlendirildi. Rengi değişmeyen tüplere kimyasal olarak redüksiyonun gerçekleşmesini sağlamak amacı ile çinko tozu ilave edildi. Tüpte kırmızı rengin gözlenmesi durumunda test negatif olarak, çinko tozu ilave edildikten sonra, tüpün renginde bir değişiklik gözlenmemesi durumunda test pozitif olarak değerlendirildi.

e) DNA hidroliz testi :

% 0.2 DNA içeren ticari DNase test agar üzerine test edilerek bakterinin ekimi yapıldı ve 48 saat 37 °C'de inkübe edildi. Bu sürenin sonunda plak üzerine 1 N HCl ilave edildi. DNA, hidroklorik asit ile presipite olduğundan DNaz üreten bakterilerde koloninin çevresinde saydam zonlar oluşurken, plağın diğer kısımları opak bir görünüm alır. Bu testte saydam zonun oluşması pozitif olarak değerlendirildi.

f) Beta laktamaz testi :

Asidometrik Yöntem

0.1 ml % 0.5 fenol kırmızı solusyonu 0.83 ml steril distile su ile dilue edilerek 1.000.000 ünite penisilin G flakonlarına ilave edildi. pH 8.5'e ayarlanması için 1 M sodyum hidroksit damla damla ilave edilerek solusyonun rengi mora dönüştürüldü. Fenol kırmızısı penisilin solusyonundan 0.1 ml küçük tüplere aktarıldı. Test edilecek M. catarrhalis izolatlarının bir gecelik kültüründen bir öze dolusu alınarak tüplere yoğun bir süspansiyon elde edilecek şekilde inoküle edildi. 30 dakika içerisinde sarı renk değişimi pozitif beta laktamaz aktivitesi olarak kabul edildi (48, 50).

g) Antibiyotik duyarlılık testleri :

Bu çalışmada antibiyotik duyarlılığının saptanmasında kuru disk (Kirby-Bauer) yöntemi kullanıldı. Test edilecek bakteri kültüründen öze ile 5-6 koloni seçilip sıvı besiyerine aktarılıp 5-6 saat in-kübe edildikten sonra oluşan bulanıklık Macfarland 0,5'e eşdeğer bulanıklığına göre ayarlandı. Steril eküvyon sıvı besiyeri içine batırılıp kullanılacak katı besiyeri (çalışmamızda D.S.T.) yüzeyine sürülerek ekim yapıldı. Antibiyotik diskleri plak kenarından yaklaşık 15 mm ve birbirinden 25-30 mm uzakta olacak şekilde steril bir penset ile yerleştirildi. Bir gece boyunca plaklar 35-37 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra duyarlılık durumu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonu ölçülerek değerlendirildi. Dirençlilik ve duyarlılık NCCLS'in son standartlarına göre verilmiştir. Penisilin ve ampisilinin inhibisyon zon çapları ≤ 29 mm olduğu takdirde dirençli kabul edilmiştir (51).

h) BRO Enzimlerinin Tiplendirilmesi:

Beta laktamaz üreten *M.caterrhalis* izolatlarının BRO enzimlerinin kaynak 51'den yararlanılarak penisilin ve sefotaksim diskleri ile oluşturdukları zon çaplarına göre belirlenmiştir (51).

Moraxella catarrhalis soyutlanması için kullanılan besiyerleri :

1) Selektif besiyeri :

Brucella agar (Himedia)

Tryptone	10.0 g.
Peptone	10.0 g.
Dexrose	10 g.
Yeast Extract	2.0 g.
Sodium Chloride	5.0 g.
Sodium Bisulphite	0.1 g.
Agar	15.0 g.

Final pH (2  C) 7.0   0.2

Bu karışımdan 43 gram alınarak 1 litre distile su ile su banyosunda karıştırılarak eritildi. pH ayarı yapıldıktan sonra 121  C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. 45-50  C'ye kadar soğutulduktan sonra %5 defibrine koyu kanı, 10  g/ml vankomisin, 5  g/ml trimetoprim, 2  g/ml amfoterisin B ve 10  g/ml sodyum asetazol amid ilave edilerek, aseptik şartlarda petrilere dağıldı. Sterilite kontrolü için, hazırlanan besiyerleri 24 saat 37  C'de bekletildikten sonra buzdolabında muhafaza edildi.

Neisseria türleri tarafından üretilen karbonik anhidraz enzimi bu bakterilerin üreme ve çoğalması için gereklidir. Besiyerine konulan sodyum asetazolamid sentetik bir sulfonamid olup normal atmosferde karbonik anhidraz enzimini inhibe etmekte böylece Neisseria türlerinin üremesini baskılamaktadır. M.catarrhalis'te bu enzim bulunmadığı için besiyeri seçici bir özellik kazanmaktadır. CO₂'den zengin ortamda sodyum asetazolamid tarafından enzim inhibisyonu gerçekleşmemekte ve besiyerinin seçici özelliği kaybolmaktadır (44)

2) Kanlı Agar (Base No: 2) (Himedia)

Peptose pepton	15 g.
Liver Digest	2.5 g.
Yeast Extract	5 g.
Sodium Chloride	5 g.
Agar	15 .

pH: 7.4

Bu karışımın 42.5 gramı 1 litre distile suda su banyosunda karıştırılarak eritildi. 15 dakika 121 °C'de otoklavlandıktan sonra 40-45 °C'ye kadar soğuduğunda, %5 defibrine steril koyun kanı elendi. İçerik yavaşça karıştırılıp aseptik şartlarda petri kaplarına dağıtıldı. 37 °C'de bir gece boyunca kontrole bırakıldı.

3) DNase test Agar (Oxoid)

Tryptose (Oxoid (47)	20.0 g.
Deoxyribonucleic acid	2.0 g.
Sodium Chloride	5.0 g.
Agar No.3 (Oxoid 43)	12.0 g.

pH: 7.3

Bu karışımdan 39 gram 1 litre su ile su banyosundan kaynatılarak çözünmesi sağlandı. 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Aseptik koşullarda petri kaplarına dağıtıldı. Sterilite kontrolü için hazırlanan besiyeri 24 saat 37 °C'de bekletildikten sonra buzdolabında muhafaza edildi.

4) Nitrat redüksiyon testi için kullanılan temel besiyeri :

Beyin Kalp İnfüzyon buyyon (Himedia)

Calf Brain Infusion Form	200.0 g.
Beef Heart Infusion Form	250.0 g.
Proteose peptone	10.0 g.
Sodium Chloride	5.0 g.
Disodium Phosphate	2.5 g.
Dextrose	2.0 g.

Final pH (25 °C): 7.4 ± 0.2

Bu karışımdan 37 gram alınarak 1 litre distile su ile su banyosunda eritildi. İçine 1 gram KNO₃ ilave edildi. Tüplere dağıtılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Tüpler kontrol amacıyla bir gece 37 °C'de bekletildikten sonra buzdolabında muhafaza edildi.

5) Karbonhidratların hızlı fermantasyonu için kullanılan temel besiyeri:

%20'lik Karbonhidrat Solüsyonu :

Carbohydrate (glucose, maltose, sucrose, lactose) Difco)	8 g.
Distilled water	40 m.

Glikoz, sukroz, laktoz ve maltozun 8 gramı 40 ml distile suya konularak maltoz hariç erimesi için hafifçe su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra çözeltiler önce kaba filtreden daha sonra çapı 0.2 µm'lik filtrelerden süzülerek steril edildi ve 4'e ml olmak üzere tüplere dağıtıldı. Bu stok solüsyon 2-8 °C'de 8 hafta, -20 °C'de ise 2 yıl kullanabilmek üzere muhafaza edildi.

Buffer: pH: 7

Dipotassium phosphate	0.4 g.
Monopotassium phosphate	0.1 g.
Potassium Chloride	8 g.
Phenol red solution, %1	3 ml
Distilled water	1 lt.

Fenol kırmızı hariç diğer maddeler eklenerek elde edilen çözelti 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Daha sonra mikrofiltrasyon ile steril edilmiş fenol kırmızısı çözeltisi ilave edildi. Bu solüsyondan 30'ar ml'lik miktarlarda tüplere dağıtıldı. Bu stok solüsyonlar 2-8 °C'de 8 hafta, -20 °C'de ise 2 yıl kullanmak üzere muhafaza edildi. Yaklaşık 100 küçük karbonhidrat tüpü hazırlamak için 4 ml stok karbonhidrat solüsyonu, 30 ml'lik stok buffer solüsyonu ile karıştırıldı ve 0.3 ml miktarlarda yaklaşık 100 tüpe dağıtıldı. Bu solüsyonlar -20 °C'de 8 ay kadar kullanmak üzere stoklandı.

Ayıraçlar

a) %1'lik fenol kırmızısı :

Phenol red	0.5 g.
Sodium hydroxide, 0.1 N	10 ml
Distilled water	40 ml

Bu karışım çapı 0.2 µm olan mikrofiltre ile steril edildi.

b) 0.1 N sodyum hidroksit :

Sodium hydroxide	0.4 g.
Distilled water	100 ml

c) %5'lik fenol kırmızısı :

Phenol red	0.25 g.
Sodium hydroxide, 0.1 N	10 ml
Distilled water	40 ml

Bu karışım çapı 0.2 µm. mikrofiltre ile steril edildi.

d) DNase reagent (1 N HCl) :

HCl. Concentrated	2.8 ml
Distilled water	97.2 ml

e) Sulfanilik asit çözeltisi :

Sulfanilic acid	8 g.
Acetic acid, 5 N	1 lt.

f) 5 N Asetik Asit (% 30) :

Glacial acetic acid	300 ml
Distilled water q.s. to	1 lt.

g) Alfa naftol çözeltisi

Alfa naftol	5 g.
Etanol 95 %	100 ml.

h) 1 N Sodyum hidroksit :

Sodyum hidroksit	4 g.
Distilled water	100 ml

ı) Oksidaz ayıracı :

Tetramethyl paraphenylene diamine hydrochloride	1 g.
Distilled water	100 ml.

%1'lik oranında ve her seferinde taze hazırlanarak kullanıldı.

j) Katalaz ayıracı :

% 3 H₂O₂ kullanıldı.

Bu çalışmada besiyeri ve testlerin kontrolü için *M.catarrhalis* KÜEN 880 *Streptococcus fecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 5633 ve beta laktamaz pozitif bir *Staphylococcus aureus* suşu kullanıldı.

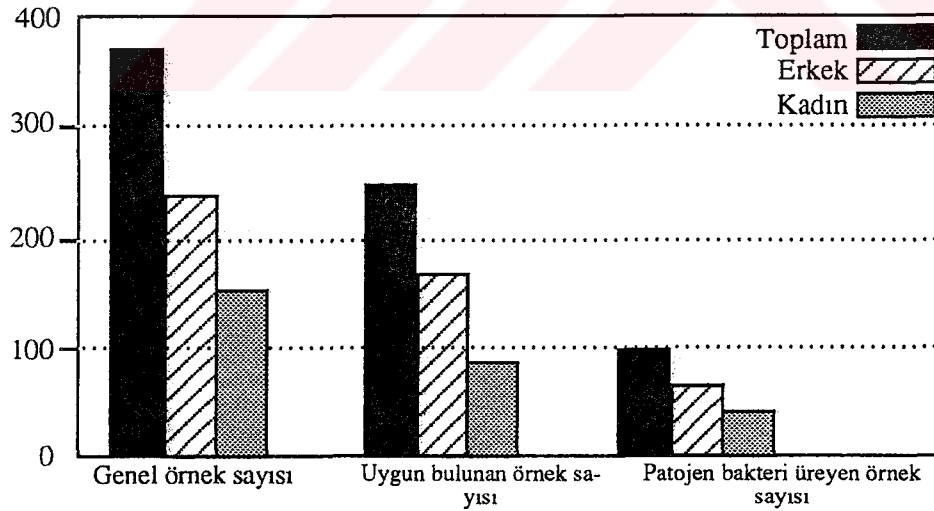
BULGULAR

Mart-Temmuz 1992 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na alt solunum yolu enfeksiyonu kuşkusu ile gönderilen 375 balgam örneğinden hücresel kriterler göz önüne alarak 251 örnek uygun bulunarak kültüre alınmıştır. Bu uygun örneğin 99 (% 39.4)'undan patojen bakteri izole edilmiştir. Balgam örneklerinin hücresel kriterlere göre uygunluğu ve kültür sonuçları Tablo ve Şekil 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Balgam örneklerinin hücresel kriterlere göre uygunluğu ve kültür sonuçları.

	Gelen örnek sayısı	Hücresel kriterlere göre uygun bulunan örnek sayısı	Kültüründen patojen bakteri izole edilen örnek sayısı
Kadın	148	87 (% 58.8)	43 (%49.4)
Erkek	227	164 (%72.2)	56 (%34.1)
Toplam	375	251 (%66.9)	99 (%39.4)

* Parantez içindeki yüzdeler uygun balgam örneklerine göre verilmiştir.



Şekil 1. Balgam örneklerinin hücresel kriterlere göre uygunluğu ve kültür sonuçları

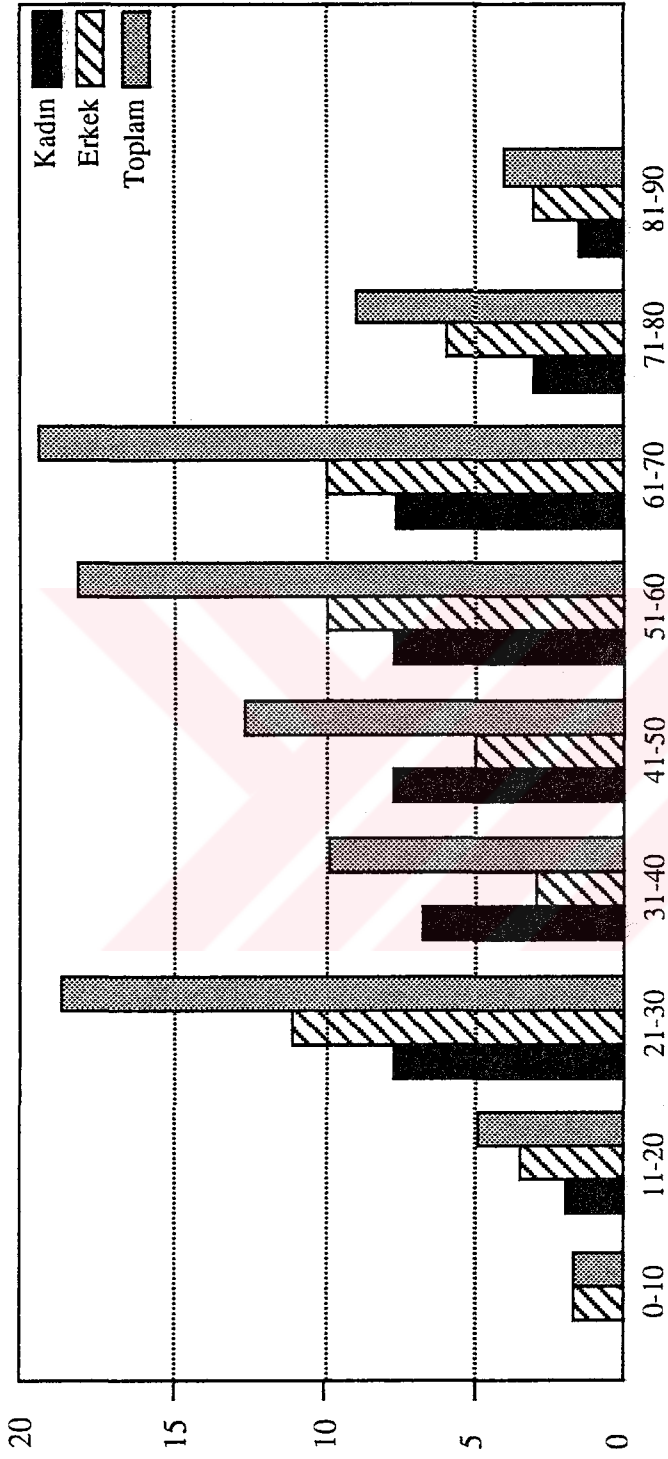
Tablo ve Şekil 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi gelen örneklerin 148'i kadın 227'si ise erkek olmak üzere toplam 375'dir. Hücresel kriterlere göre 251 (%66.3)'i uygun bulunmuş olup bunların 99 (%39.4)'unda patojen bakteri saptanmıştır.

Tablo ve Şekil 2'de balgam örneklerinden patojen mikroorganizma izole edilen hastaların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı görülmektedir. Buna göre patojen bakteri izole edilen 99 hastanın 43 (%43.4)'ü kadın 56(%56.4)'sı erkek olup yaş ortalaması 56'dır.

Tablo 2: Balgam kültürlerinden patojen mikroorganizma izole edilen hastaların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı:

Yaş Cinsiyet	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90
Kadın n=43	0	2	8	7	8	8	6	3	1
Erkek n=56	2	3	11	3	5	10	13	6	3
Erkek n=99	2	5	19	10	13	18	19	9	4

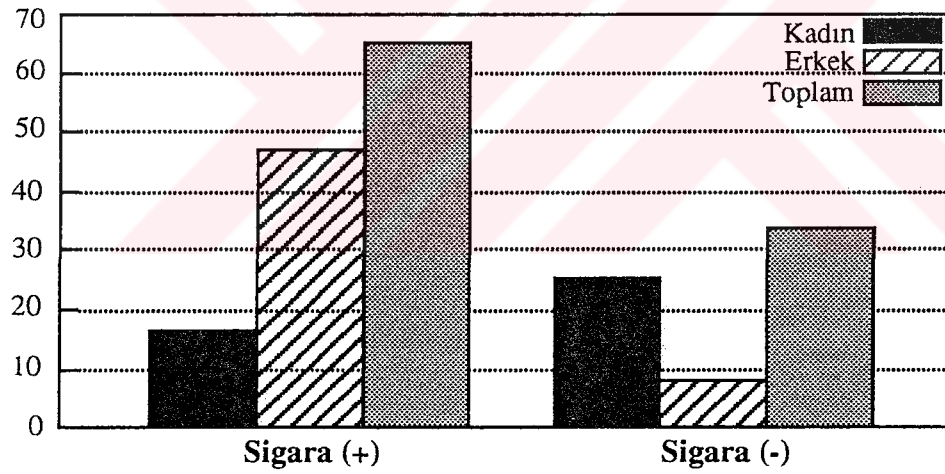
Tablo ve Şekil 3'te ise kültürü pozitif olan hastaların cinsiyetlerine ve sigara içme alışkanlıklarına göre dağılımı görülmektedir. Buna göre 43 kadın hastanın 17 (%39.6)'sı sigara kullanan ya da henüz bırakmış hastalar, 26 (%60.4)'sı ise sigara alışkanlığı olmayan kişiler olduğu görülmektedir. 56 erkek hastada ise 48 (%85.7)'i sigara kullanan kişiler iken yalnızca 8(%14.3)i sigara kullanmayan kişilerden oluşmaktadır.



Şekil 2. Balgam kültürlerinden patojen mikroorganizma izole edilen hastaların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılım.

Tablo 3: Kùltürlerinden patojen bakteri izole edilen hastaların sigara alışkanlıklarına göre dağılımı:

Cinsiyet	Sigara içme durumu	Sigara kullanma alışkanlığı olan hastalar		Sigara kullanma alışkanlığı olmayan hastalar	
		n	%	n	%
Kadın n=43		17	(39.6)	26	(60.4)
Erkek n=56		48	(85.7)	8	(14.3)
Toplam		65	(65.6)	34	(34.4)



Şekil 3. Kùltürlerinden patojen bakteri izole edilen hastaların sigara alışkanlıklarına göre dağılımı.

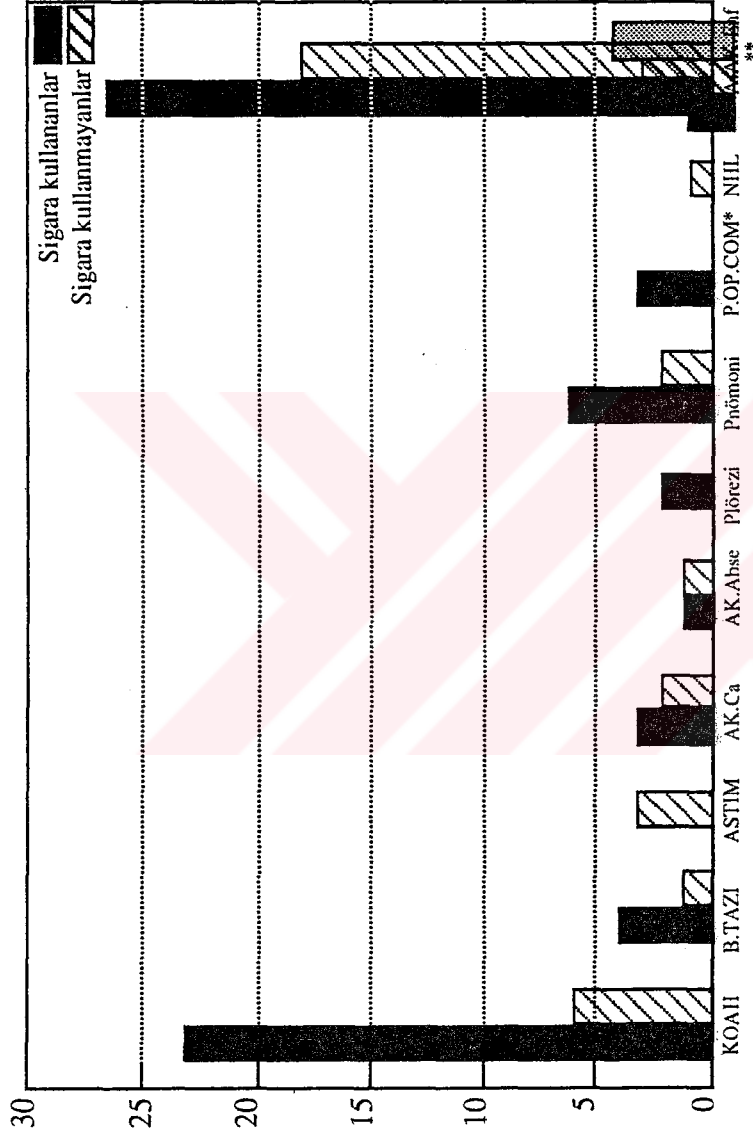
Balgam örneklerinden patojen bakteri izole edilen hastaların ve klinik tanısı ile sigara alışkanlığı arasındaki ilişki Tablo ve Şekil 4'te görülmektedir. Bu verilerden sigara içme alışkanlığının akciğer hastalıklarında önemli bir faktör olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4. Klinik tanı ile sigara içme alışkanlığı arasındaki ilişki

Klinik Tanı		Sigara alışkanlığı olan hastaların sayısı		Sigara alışkanlığı olmayan hastaların sayısı	
		n	%	n	%
KOAH *	n=29	23	79.3	6	20.7
Bronşiktezi	n=5	4	80	1	20
Astım	n=3	0	0	3	100
Ak.kanseri	n=5	3	60	2	40
Ak. absesi	n=2	1	50	1	50
Pnömoni	n=8	6	75	2	25
Plörezi	n=2	2	100	0	0
Ameliyat sonrası komplikasyon	n=3	3		0	
NHL **	n=1	0	0	1	100
Akut ak. enfeksiyonu	n=45	27	60	18	40

* Kronik obsrükatif akciğer hastalığı

** Non hodgkin lenfoma



* Ameliyat sonrası komplikasyon

** Akut akciğer enfeksiyonu.

Şekil. 4: Klinik tanı ile sigara içme alışkanlığı arasındaki ilişki.

Tablo 5'te klinik tanılara göre izole edilen mikroorganizmalar görülmektedir. Buna göre KOAH'ın alt solunum yolu enfeksiyonu oluşturan patojenlere ve özellikle *M. catarrhalis* enfeksiyonlarına zemin hazırlayan en önemli temel akciğer hastalığı olduğu görülmektedir.

Tablo 5. İzole edilen mikroorganizmaların klinik tanıya göre dağılımı.

	KOAH n=29	Bronşektazi n=5	Astım n=3	Ak.kanserli n=5	Ak.absesi n=2	Prömeni n=8	NHL n=1	Plörezi n=2	Post.op. komplikasyon n=3	A.Akciğer enfeksiyonu n=45
<i>S.pneumoniae</i>	4	1	1	2	0	4	0	1	0	7
<i>S.aureus</i>	4	0	1	1	0	3	0	0	2	6
<i>P.aeruginosa</i>	4	3	0	0	0	1	0	0	0	7
<i>Klebsilla sp.</i>	2	1	0	0	1	1	0	0	0	8
<i>M.catarrhalis</i>	9	1	1	1	0	3	0	0	0	0
GABHS	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Alfa hem.strep	4	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>S.epidermidis</i>	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1
<i>Acinetobacter</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
<i>Enterobacter sp.</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
<i>M.nonliquefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Citrobacter sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Proteus sp.</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C.albicans</i>	3	0	0	0	1	1	0	0	1	4
Toplam	39	6	4	5	3	13	1	3	3	54

Tablo 6'da ise izole edilen mikroorganizmalar ile hastaların genel özellikleri arasındaki ilişki görülmektedir.

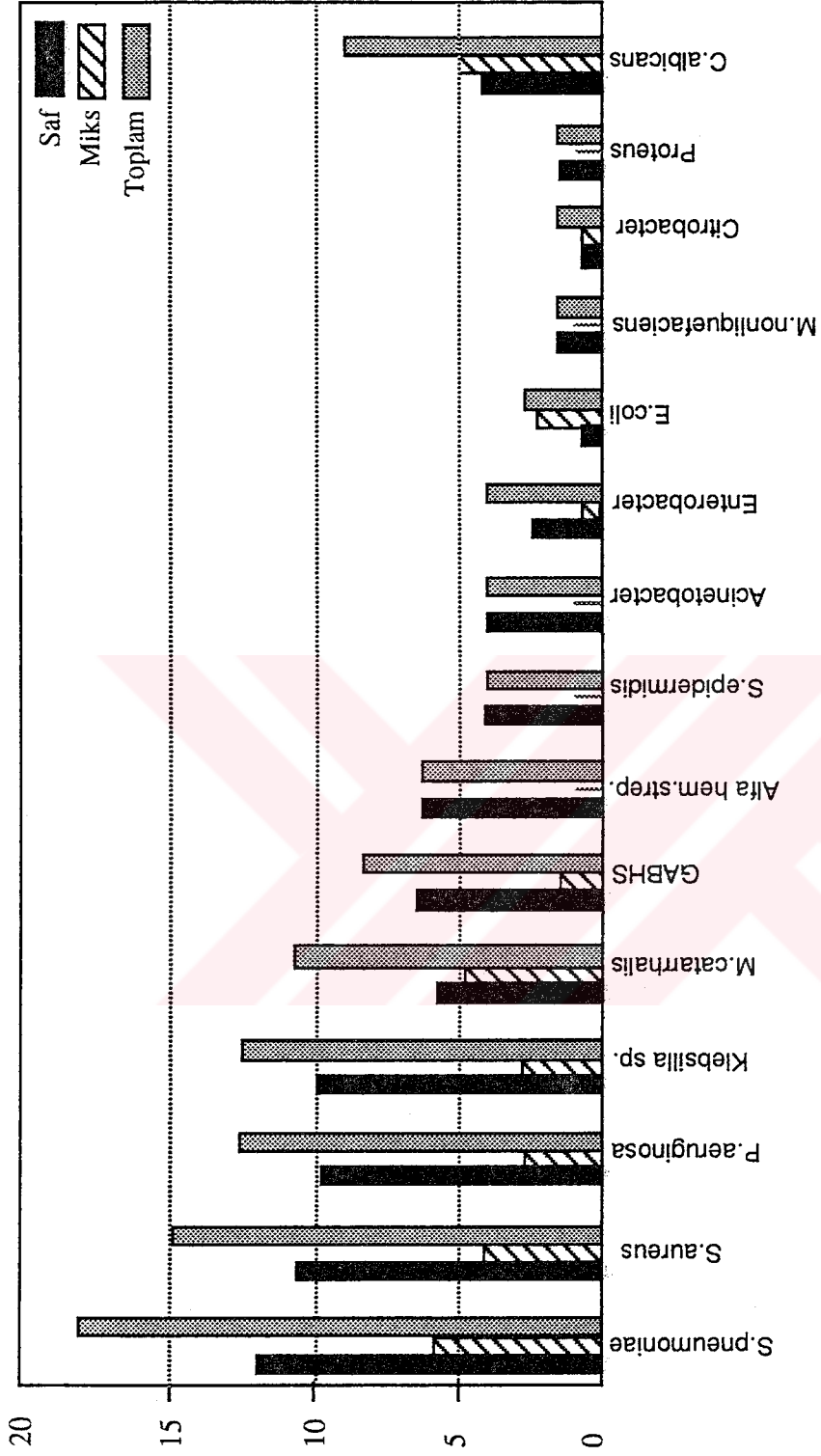
Tablo 6. İzole edilen mikroorganizmalar ile hastaların genel özellikleri arasındaki ilişki.

Mikroorganizmalar	Kadın n %	Erkek n %	Sigara Kul- lananlar n %	Sigara Kul- lanmayanlar n %	Ortalama yaş
1-Streptococcus pneumoniae(n=18)	10 55.5	8 44.5	11 61.7	7 38.8	48.5
2- Staphylococcus aureus (n=15)	5 33.4	10 66.6	10 66.6	5 33.4	60.8
3- P.acrognisa (n=3)	6 46.2	7 58.8	9 69.3	4 30.7	39.0
4-Klebsiella sp. (n=13)	4 30.7	9 69.3	9 69.3	4 30.7	50.3
5- Moraxella catarrhalis (n=11)	5 45.5	6 54.5	8 72.7	3 27.3	51.5
6- GABHs (n=9)	7 77.7	2 22.3	6 66.6	3 3.4	43.5
7- Alfa hemolitik strop. (n=7)	3 42.8	4 57.2	5 71.5	2 28.5	47.8
8- S.epidermidis (n=4)	1 29	3 75	3 75	1 25	44.5
9- Acinetobacter sp. (n=4)	4 100	0 0	2 50	2 50	41.2
10- Enterobacter sp. n=4	1 50	1 50	1 50	1 50	60.5
11- Escherichia coli (n=3)	1 50	1 50	1 50	1 50	58.5
12- M.nonlique-faciens (n=2)	2 50	2 50	3 75	1 25	57.2
13- Citrobacter sp. (n=2)	2 50	1 33.4	2 66.6	1 33.4	46.6
14- Proteus sp. (n=2)	2 66.6	1 50	1 50	1 50	62
15- Candida albicans (n=9)	4 44.4	5 55.5	5 55.5	4 44.4	40.5

İzole edilen mikroorganizmaların saf ya da miks halde dağılımı Tablo 7 ve Şekil 5'te görülmektedir. Buna göre toplam 16 izolatin 84 (% 72.4)'ü saf halde bulunurken 32 (%27.6)'sı miks halde saptanmıştır.

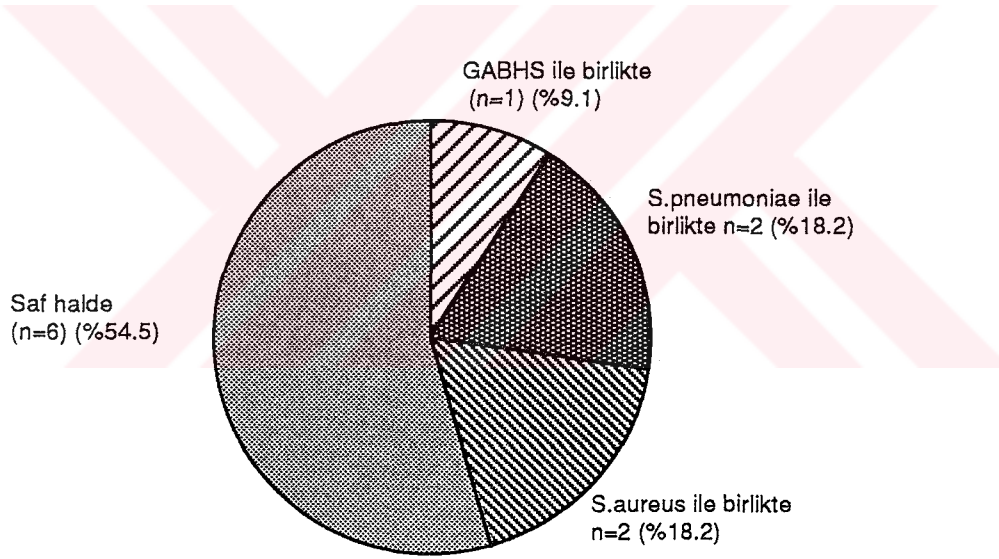
Tablo 7. Patojen bakteri izole edilen 99 balgam kültüründe mikroorganizmaların dağılımı.

Mikroorganizmalar	Saf halde		Miks halde	
	n	%	n	%
1- Streptococcus pneumoniae n=18	12	66.6	6	33.4
2- Staphylococcus aureus n=15	11	73.3	4	26.7
3- Pseudomonas aeruginosa n=13	10	76.9	3	23.1
4- Klebsiella sp. n=13	10	76.9	3	23.1
5- Moraxella catarrhalis n=11	6	54.5	5	45.5
6- GABHS n=9	7	77.7	2	22.3
7- Alfa hem.strep. n=7	7	100	0	0
8- S.epidermidis n=4	4	100	0	0
9- Acinetobacter sp. n=4	4	100	0	0
10- Enterobacter sp n=4	3	75	1	25
11- Escherichia coli n=3	1	33.4	2	66.6
12- Moraxella nonliquefaciens n=2	2	100	0	0
13- Citrobacter sp n=2	1	50	2	66.6
14-Proteus sp n=2	2	100	0	0
15- Candida albicans n=9	4	44.4	5	55.5
Toplam 116	84	72.4	32	27.6



Şekil 5. Patojen bakteri izole edilen 99 balgam kültüründe mikroorganizmaların dağılımı.

Tablo 8 ve Şekil 6'da *M.catarrhalis* izole edilen 11 olgunun genel özellikleri görülmektedir. Olgularımızın yaş ortalaması 51.5 olup 6'sı erkek 5'i kadındır. Bunlardan 8'i değişik süreler için 5-60 adet sigara içme alışkanlığı olan kişilerdir. 9'unda temel kardiyovasküler hastalık KOAH+Kır bronşit olarak belirlenmiştir. Bunların 6 (% 54.5)'sında *M.catarrhalis* saf halde izole edilmişken 2 (% 18.2)'sinde *S.aureus*, 2 (% 18.2)'sinde *S.pneumoniae*, 1(% 9.1)'rinde GABHS ile birlikte saptanmıştır. Hastaların 3'ünde pnömoni de mevcuttur. Böylece çalışmamızda yer alan ve balgam kültürleri pozitif olan 29 KOAH'lı hastanın 9 (%31)'unda *M.catarrhalis* izole edildiğini görülmekte olup, bu grup hastalarda *M.catarrhalis* en sık izole edilen patojendir.



Şekil 6. *M.catarrhalis*in miks enfeksiyonlarının durumu

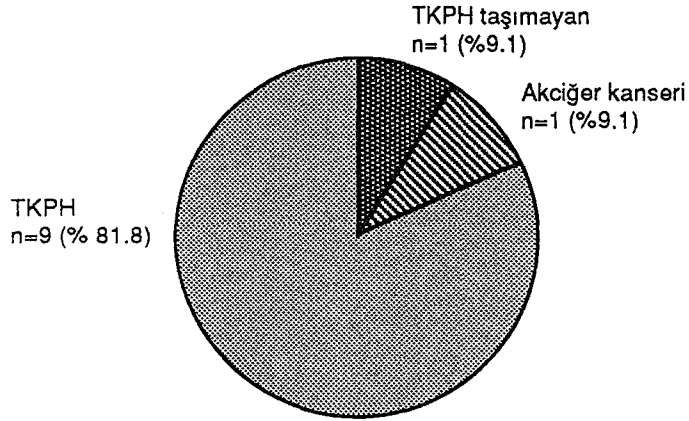
Tablo 8. M.catarrhalis izole edilen 11 olgunun genel özellikleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Yaş (51.5)	65	50	63	62	65	63	48	20	52	56	23
Cinsiyet	E.	K.	E	K	K	E	E	E	E	K	K
Sigara	30 yıl 3 pk/gün bırakmış	1 pk gün	30 yıl 5-10 gün bırakmış	Ø	Ø	25 yıl 10/gün	33 yıl 1 pk/gün	10-15/gün	20 yıl 1 pk/gün	30 yıl 1-2 pk/gün	Ø
Klinik	Ak.Ca kemoterapi	Kalp hastası KOAH	KOAH	KOAH bronşektazi Kr. Astım	K.bronşit. Kr.laranjit	Pnömoni Kr.bronşit	KOAH	Pnömoni	Kr. bronşit	Pnömoni KOAH	Astım Kr.bronşit
Kültür	M.cat.+ S.speum.	M.cat.	M.cat.	M.cat. + S.spem.	M.cat. + S.aureus	M.cat.	M.cat.	M.cat.+ S.aureus	M.cat.	M.cat.+ s.pneum.	M.cat.

Tablo 9 ve Şekil 8'de M.catarrhalis izole edilen 11 hastanın temel kardiyopulmonar hastalıkları görülmektedir. Bu hastalıklar arasında KOAH'nın 9 (%81.8) oranı ile ilk sırada olduğu dikkati çekmektedir.

Tablo 9. Balgam örneklerinden M.catarrhalis izole edilen 11 hastanın Kardiyopulmonar hastalıkları.

Temel Hastalık	n	%
KOAH	9	81.8
Astım	2	18.2
Akciğer kanseri	1	9.1
Bronşektazi	1	9.1
Kalp hastalığı	1	9.1



TKPH (Temel Kardiyo Pulmonar hastalık; KOAH, Astım, Bronşektazi, kalp hastalığı)

Şekil 8. M.catarrhalis izole edilen 11 hastanın temel kardiyo pulmonar hastalıkları.

TABLO 10. İzole edilen M.catarrhalis izolatlarında beta laktamaz aktivitesi, penisilin ve sefotaksim zon çaplarına göre BRO enzimlerinin durumu

İzolatlar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Penisilin zon çapı	33	15	12	15	13	31	14	9	11	23	14
Sefotaksim zon çapı	36	32	31	28	29	39	30	32	29	42	31
Betalaktamaz üretimi	Ø	+	+	+	+	Ø	+	+	+	+	+
BRO enzimlerin tipi	Ø	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	Ø	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₂	BRO ₁

BRO enzimler Luman ve arkadaşlarının (51) çalışmalarından yararlanarak değerlendirilmiştir. Buna göre penisilin zon çapı 11.6 ± 4.8 , sefotaksim zon çapı 32.5 ± 4.6 olanlar BRO₁ ve penisilin zon çapı 22.7 ± 2.5 , sefotaksim zon çapı 41.0 ± 2.7 olanlar BRO₂ enzime sahip olabileceği bildirilmektedir. İzole edilen 11 M.catarrhalis izolatının 2'si beta laktamaz negatif olup dolayısıyla penisiline duyarlı 9'u ise beta laktamaz üretmekte olup zon çaplarına göre 8'inin BRO₁, 1'inin BRO₂ enzimi taşımakta olduğu düşünülmektedir.

Tablo 11'de ise M.catarrhalis izolatlarının değişik antibiyotiklere duyarlılığı görülmektedir. Buna göre beta laktamaz aktivitesi taşımayan 2 izolat tüm antibiyotiklere duyarlı olmalarına karşın beta laktamaz aktivitesi bulunan 9 izolat penisilin ve ampisiline dirençli diğer antibiyotiklere duyarlı olarak bulunmuştur.

Tablo 11. M.catarrhalis izolatların antibiyotik duyarlılıkları.

	Penisilin		Ampisilin		Amoksisilin + Klavulanik asit		Sulbaktam + Ampisilin		Siprofloksasin		Trimetoprim + Sulfametaksazol		Eritromisin		Sefaklor		Ofloksasin		Sefotaksim	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	2	18.2	2	18.2	11	100	11	100	11	100	11	100	11	100	11	100	11	100	11	100
Dirençli	9	81.8	9	81.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

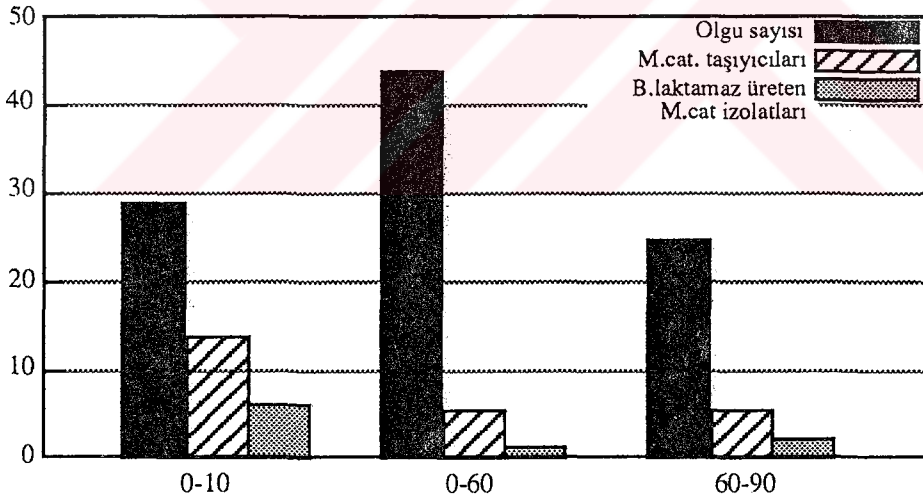
Sağlıklı biriylerde M.catarrhalis kolonizasyon oranını saptamak amacı ile 48'i kadın, 52'si erkek toplam 100 kişiden alınan tükürük örneklerinin kültür sonuçları, yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları Tablo 12'de görülmektedir. 0-10 yaş arası toplam 29 çocukta 14 (%48.3). M.catarrhalis saptanmış olup en yüksek kolonizasyon oranı bu grupta gözlenmektedir.

İzole edilen *M.catarrhalis* izolatlarının beta laktamaz aktivitesi Tablo 12 Şekil 9'da görülmektedir 0-10 yaş arası çocuklardan izole edilen 14 *M.catarrhalis* izolatının 6 (%42.9)'sında beta laktamaz akitvitesi saptanmış iken, 10-60 yaş arası 45 olgunun yalnızca 4 (% 8.9)'ünde *M.catarrhalis* saptanmış olup bunun da yalnızca 1'inde beta laktamaz üretimi gözlenmiştir.

Tablo 12. Sağlıklı kişilerde *M.catarrhalis* kolonizasyon oranı ve beta laktamaz aktivitesi.

	Alınan örnek sayısı	<i>M.catarrhalis</i> izolatların sayısı	Beta laktamaz üretimi
0-10	29	14 (%48.3)	6(%42.9)
10-60	45	4 (%8.9)	1 (%25)
60-90	26	6(%23.1)	2(%33.3)
Toplam	100	24(%24)	9(%37.5)

* Parantez içindeki sayılar o yaş grubunda izole edilen *M.catarrhalis* izolatların sayısına göre verilmiştir.

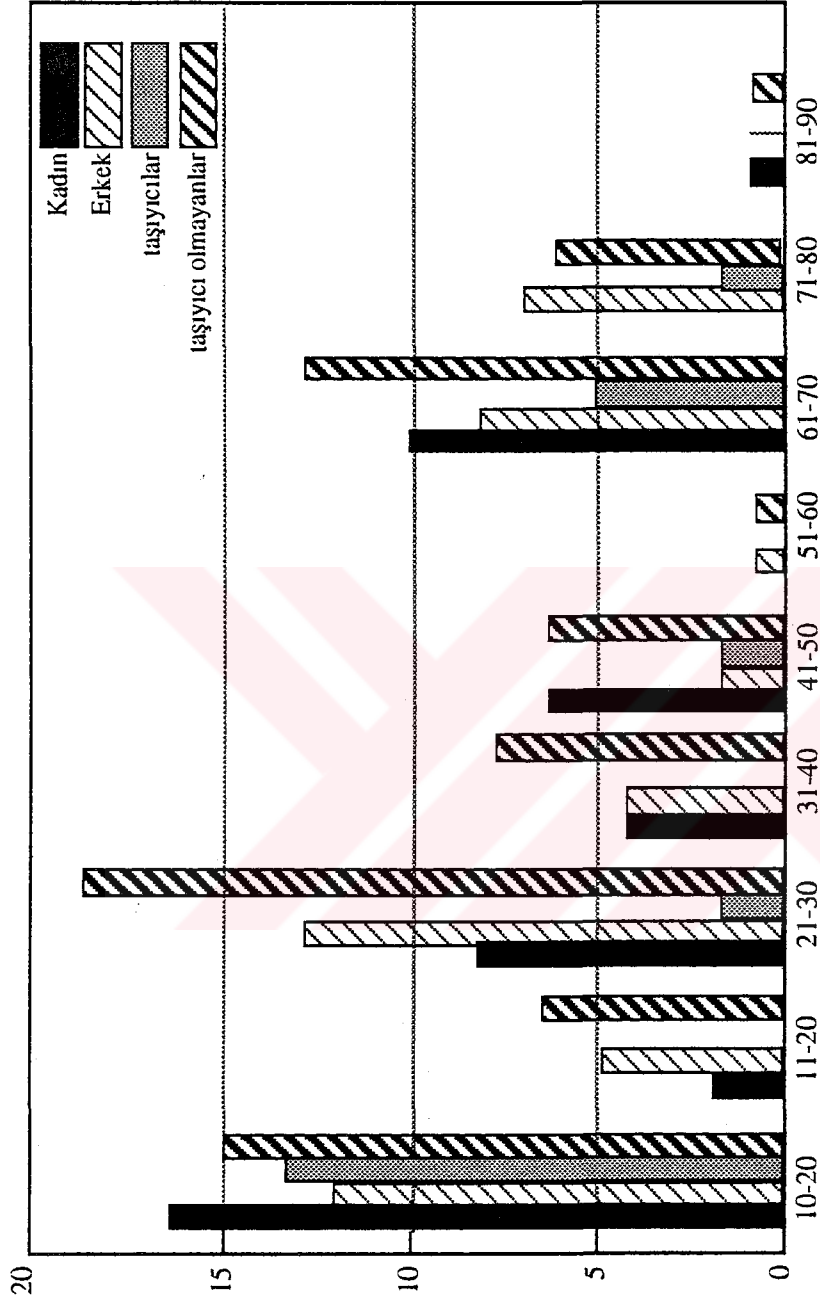


Şekil 9. Sağlıklı kişilerde *M.catarrhalis* kolonizasyon oranı ve beta laktamaz aktivitesi.

60 yaşın üstündeki 26 olgunun 6 (%23.1)'sında *M.catarrhalis* izole edilmiş olup 2(%33)'sinde beta laktamaz üretimi saptanmıştır. Görüldüğü gibi gerek kolonizasyon oranı gerekse beta laktamaz üretimi daha çok 0-10 yaş arasındaki sağlam çocuklardadır. Toplam 100 olgunun 24 (%24)'ünde *M.catarrhalis* izole edilmiş olup bunların 9(%37.5)'unda beta laktamaz aktivitesi bulunduğu gözlenmiştir.

Tablo 13. Sağlam kişilerde *M.catarrhalis* kolonizasyon oranının yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90
Kadın n=48	17	2	8	4	6	0	10	0	1
Erkek n=52	12	5	13	4	2	1	8	7	0
<i>M.catarrhalis</i> taşıyıcısı olan n=24	14	0	2	0	2	0	5	1	0
<i>M.catarrhalis</i> taşıyıcısı olma- yan n=76	15	7	19	8	6	1	13	6	1
Olgu sayısı n=100	29	7	21	8	8	1	18	7	1



Şekil 10. Kolonizasyon oranını saptamak için alınan sağlam 100 kişinin yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı.

Tablo 14'de alt solunum yolu enfeksiyonu bulunan hastaların balgam örneklerinden izole edilen *M.catarrhalis* ile sağlam kişilerin orofarinks sekresyonlarından izole edilen *M.catarrhalis* izolatlarının beta laktamaz üretimi yönünden farklılığı görülmektedir.

Tablo 14. Hasta ve sağlam kişilerden izole edilen *M.catarrhalis* izolatları arasında beta laktamaz aktivitesinin dağılımı.

	İzole edilen <i>M.catarrhalis</i>	Beta laktamaz aktivitesi
Alt solunum yolu enfeksiyonu olan 99 hasta	11	9 (81.8)
Sağlam 100 kişide Kolonizasyon oranı	24	9 (%37.5)

Tablo 15'te sağlam kişilerden izole edilen ve beta laktamaz üreten 9 *M. catarrhalis* izolatının penisilin ve sefotaksim zon çaplarına göre (51) BRO enzimlerinin durumu görülmektedir. Bunların 8'inin BRO₁, 1'inin ise BRO₂ enzimi taşıdığı düşünülmektedir.

Tablo 15. Sağlam kişilerden izole edilen ve beta laktamaz üreten *M.catarrhalis* izolatlarının penisilin ve sefotaksim zon çaplarına göre BRO enzimlerinin durumu.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Penisilin zon çapı (mm)	15	16	26	11	14	16	15	13	14
Sefo taksimzon çapı (mm)	31	32	42	29	31	33	33	29	32
BRO tipi	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₂	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁

Tablo 16'da ise 24 M. catarrhalis izolatının değişik antibiyotiklere duyarlılıkları görülmektedir. Beta laktamaz taşımayan 15 izolat tüm antibiyotiklere duyarlı iken beta laktamaz taşıyan 9 izolat penisilin ve ampisiline dirençli diğer antibiyotiklere duyarlıdır.

Tablo 16. Sağlam kişilerin orofarinks sekresyonlarından elde edilen M.catarrhalis izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları.

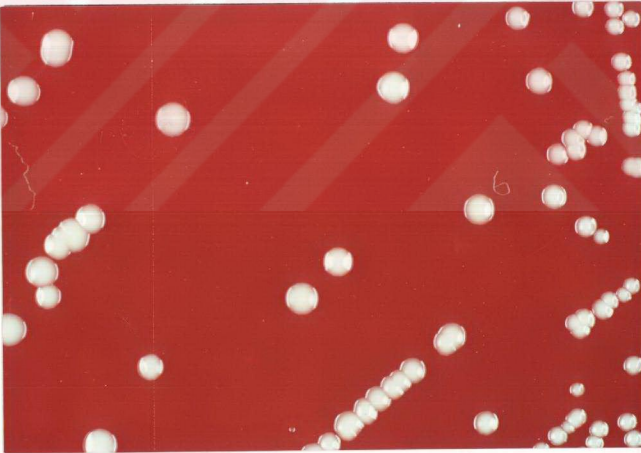
n=24	Penisilin		Ampisilin		Amoksisilin + Klavulanik asit		Sulbaktam + Ampisilin		Siprofloksasin		Trimetopirim + Sulfametaksazol		Eritromisin		Sefaklor		Ofloksasin		Sefotaksim	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	15	62.5	15	62.5	24	100	24	100	24	100	24	100	24	100	24	100	24	100	24	100
Dirençli	9	37.5	9	37.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Resim1: Uygun bir balgam örneğinin gram boyalı preparatında lökosit ve gram negatif diplokoklar. (Büyütme: 6.5x100)



Resim 2: Kanlı agarda *M.catarrhalis*'in kültürü.



Resim 3: Kanlı agarda *M.catarrhalis*'in kolonileri.

TARTIŞMA

Alt solunum yolu enfeksiyonları tanısında kullanılan balgam, transtrakeal aspirasyon, bronkoskobik lavaj sıvıları veya biyopsi materyalleri gibi örneklerden son üçünün invaziv girişimlerle elde edilmesi, hastaya rahatsızlık vermesi ve profesyonel elemanlara gereksinim duyulmasından dolayı pratik yöntemler olarak kabul edilmediği bildirilmektedir (6, 15) Yıllar boyunca balgam örneklerinin faringeal flora bakterileri ile kontamine olduğu düşünüldüğü için bronkopulmoner enfeksiyonların tanısında tercih edilmiyordu (4, 6, 20-22). Oysa bugün değişik çalışmalar kaliteli balgam örneklerinin kültürü ile transtrakeal aspirasyon kültürleri arasında çok iyi bir uyum olduğunu ortaya koymuştur (6, 52, 53).

Kaliteli balgam örneklerinin gram boyalı yaymalarının 100'lük büyütme ile her sahada en az 25 lökosit ve 10'dan az yassı epitel İçerdiği bildirilmektedir (3, 6, 47, 54). Tablo I'de görüldüğü gibi çalışmamızda 375 balgam örneğinden hücrel kriterlere göre 251 (%66.9)'i kaliteli bulunmuş olup bunların 99 (%39.4)'ünde patojen bakteri izole edilmiştir. Davies ve Haesen (13), yaptıkları çalışmada, uygun örneklerden patojen bakteri izolasyon oranının %33.6 ile % 46.6 arasında değiştiğini açıklamışlardır. Shonheyder ve Ejlersen (47), 2.021 hastadan aldıkları balgam örneklerinden 1016 (%50)'sının uygun olduğunu ve kaliteli balgamlardan bakteri izolasyonunun daha yüksek olduğunu, Pollard ve arkadaşları (55) 4180 uygun balgam örneğinin 1921 (%46)'inden patojen bakteri izole ettiklerini bildirmektedirler.

Alt solunum yolu enfeksiyonlarına zemin hazırlayan faktörlerden en önemlileri; ileri yaş, sigara kullanımı, temel kardiyopulmoner hastalıklar, viral enfeksiyonlar vs. dir. (1, 2, 18, 56). Çalışmamızda balgam kültürleri pozitif olan 99 hastanın yaş ortalaması 56 olup, bu hastaların 65 (% 65.6)'nın ise sigara kullandığı saptanmış-

tır (Tablo 2, 3). Sigara kullanımı ile klinik tablo arasındaki ilişki Tablo 4'te gösterilmiştir; KOAHlı 29 hastanın 23 (%79.3)'ünde, bronşektazili 5 hastanın 4 (%80)'ünde, Pnömonili 8 hastanın 6 (%75)'sında ve akut akciğer enfeksiyonlu 45 hastanın 27 (%60)'sinde sigara içme alışkanlığı bulunduğu görülmektedir. bu sonuçlar sigara içme alışkanlığının gerek KOAH'ında gerekse pnömoni ve akut akciğer enfeksiyonlarında önemli bir faktör olduğunu vurgulamaktadır. Cazzola (2) yaptığı bir çalışmada 50 yaşın üstünde sigara içen erkeklerde kronik bronşitin %15'e kadar çıktığını ve sigara alışkanlığı ile alt solunum yolu enfeksiyonları arasında ilişki olduğunu bildirmektedir. Erişkin popülasyonlarının %10-%25'inin kronik bronşitli olduğu, erkeklerde ve 40 yaşın üstündeki kişilerde daha çok görüldüğü belirtmektedir. Hastalık etiyolojisinde en önemli faktörün sigara kullanma alışkanlığı olduğu saptanmıştır (57). Sigara içenlerde kronik bronşit ve amfizem olma riskinin sigara içmeyenlere göre 10 kat daha fazla olduğu belirtmektedir (2). Bunun yanısıra epidemiyolojik veriler, gerek KOAH'lı gerekse sigara içen sağlıklı kişilerin sigara içmeyenlere göre alt solunum yolu enfeksiyonlarına daha duyarlı olduklarını göstermektedir (1, 2). Amerika'da KOAH'ın morbiditesinde en önemli etkeninin sigara kullanımı olduğu ve bu hastaların %80-90'ının sigara içtikleri açıklanmaktadır (2).

Çalışmamızda 99 olgunun balgam örneklerinden patojen bakteri izole edilmiş olup, bunların 45 (%45.5)'inde akut akciğer enfeksiyonu bulunduğu saptanmıştır. En yüksek bakteri izolasyonu 54 izolat ile bu grupta gerçekleşmiştir. Bunu takiben hastaların 29 (%29.9)'u KOAH'lı olup 39 bakteri izolasyonu ile 2. sırada yer almaktadır. 29 KOAH'lı hastanın 9 (%31)'unda M.catarrhalis izolasyonu gerçekleşmiştir. Bu hastalarda en sık izole edilen bakterinin M.catarrhalis olduğu görülmektedir. Yapılan değişik çalışmalarda M.catarrhalis'in özellikle KOAH'lı kişilerde en sık izole edilen bak-

terilerden biri olduğu, ayrıca kronik bronşitli ve KOAH'lı hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonlarının morbidite, mortalite ve sıklık açısından yüksek oranda bulunduğu vurgulanmaktadır (1, 2, 4, 8, 20, 55).

Çalışmamızda klinik tanıya bakılmaksızın kültürü pozitif olan 99 hastadan izole edilen patojen bakteriler sırası ile *S.pneumoniae*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *klebsiella* sp. ve *M.catarrhalis*, vs.'dir. 99 pozitif kültürün 11 (%11.1)'inde *M.catarrhalis* izole edilmiş olup bunların 6 (%54.5)'si saf halde, 5 (%45.5)'i miks halde bulunmuştur. Miks halde üreyen *M.catarrhalis* izolatlarının 2'si *S.pneumoniae*, 2'si *S.aureus* ve 1'i GABHS ile birlikte bulunmuştur.

Pollard ve ark. (55) 1921 pozitif balgam kültüründe 220 (%11.5) *M.catarrhalis* izole ettiklerini, bunların 124 (%56.3)'ünün saf halde, 96 (%43.7)'sinin miks halde bulunduğunu, Di Giovanni ve ark. (69) Avustralya'da kültürü pozitif olan 3340 balgam örneğinin 239 (% 7.2)'unda *M.catarrhalis* izole ettiklerini bildirmektedirler. Davies ve Maesen (13), Güney Hollanda'da 1977-1986 arasında balgam kültür sonuçlarını incelemişler, yılda ortalama 1700 pozitif kültürün 1977'de %65'inin *H.influenzae*, %17'si *S.pneumoniae* ve %5'ini *M.catarrhalis* oluştururken 1986'da sırasıyla %37 *H.influenzae*, %27 *S.pneumoniae*, %26 *M.catarrhalis* izole ettiklerini ve *M.catarrhalis*'in giderek daha yaygın olan 3. patojen olduğunu belirtmişlerdir. Ejlersen ve arkadaşları (28): 1986-89 yıllarında 0-15 yaş grubu alt solunum yolu enfeksiyonu taşıyan Danimarkalı çocukların transtrakeal ve translaringeal aspirasyon örneklerini incelemişler, 1986'da 756 örneğin 139 (%18.4)'unda, 1989'da ise 723 örneğin 211 (%29.2)'inde *M.catarrhalis* izole ettiklerini bildirmektedirler. Serabbi ve arkadaşları (8): 1986-1989 arasında 16027 balgam, naso trakeal aspirasyon, transtrakeal aspirasyon ve bronkoskobik lavaj örneğinin 457 (%2.7)'sinde saf veya

miks halde *M.catarrhalis* izole ettiklerini, bu izolatların %53'ünün saf halde, %22'sinin *H.influenzae*, %10'uun *S.pneumoniae* ve %15'inin gram negatif basiller ile birlikte bulunduğunu ve *M.catarrhalis*'in ikinci en yaygın patojen olduğunu vurgulamaktadır. Majer ve arkadaşları (4): 1976-1986 yılları arasında akciğer enfeksiyonlarından izole edilen 429 *M.catarrhalis* izolatının %61.2'sinin saf halde, %38.8'inin *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, gram negatif basiller, *S.aureus*, mayalar ve koagülaz negatifstafilkoklar ile birlikte bulunduğunu, Konishi ve arkadaşları (58): 12'si akut bronşitli, 14'ü pnömonili ve 14'ü kronik akciğer enfeksiyonu taşıyan toplam 40 hastadan *M.catarrhalis* izole ettiklerini, bu izolatların 17 (%42.5)'sinin saf halde 23 (% 57.5)'ünün *S.pneumoniae* ve *H.influenzae* ile birlikte bulunduğunu, Nicolas ve arkadaşları (59), akut veya kronik akciğer enfeksiyonu taşıyan toplam 40 hastanın 7 (%17.5)'sinden *M.catarrhalis* izole ettiklerini ve bu izolatların hepsinin miks halde bulunduğunu açıklamışlardır.

Çalışmamızda *M.catarrhalis* izole edilen 11 olgumuzun yaş ortalaması 51.5, sigara içme alışkanlığı olan hastaların sayısı 8 (% 72.7), KOAH'lı olan hasta sayısı 9 (%81.8)'dur. *M.catarrhalis* ile oluşan alt solunum yolu enfeksiyonları daha çok ileri yaşlarda, sigara içenlerde, temel kardiyopulmoner hastalığı olanlarda ve immun sistemi baskılanmış ya da immun anomalilerine bağlı immun yetmezliği olan kişilerde daha çok görülmektedir. *M.catarrhalis* ile oluşan bronkopulmoner enfeksiyonları arasında en belirgin klinik tablo kronik bronşitin alevlenmesidir (3, 6, 10, 11, 22, 23, 39, 69).

Vaneechoutte ve arkadaşları (20): 450 hastanın balgam örneklerinden 31 (% 6.9)'inde *M.catarrhalis* izole ettiklerini ve bu oranın 10 yaşın altı ile 10-60 yaş arasındaki hastalarda %5.6, 60 yaşın üstündeki hastalarda ise %8.1 olduğunu saptadıklarını, ve alevlenen

kronik bronşitte en sık izole edilen 3. patojen olduğunu belirtmektedirler.

Wright ve arkadaşları (3), 1982-1988 yılları arasında *M.catarrhalis* ile oluşan 52 pnömoni olgusunu incelemişler, bu hastaların % 55'inin 65 yaşın üstünde olduğu, % 98'inde ise çeşitli kardiyopulmonar hastalıklar bulunduğunu, bu hastaların 22 (%52.3)'sinde KOAH, 10 (%23.8)'unda KOAH ve akciğer kanseri, 2 (%4.8)'sinde diğer kanserler ve 8 (% 13.1)'inde başka temel akciğer hastalıklarının saptandığını, hastaların % 69'unda beslenme yetersizliği ve % 83'ünde sigara kullanma alışkanlığı olduğunu açıklamışlardır. Di Giovanni ve arkadaşları (39), çalışmalarında balgam kültürlerinden *M.catarrhalis* izole ettikleri hastaların %83'ünün 60 yaşın üstünde ve % 71'inde sigara kullanma alışkanlığı olduğunu, ayrıca bu hastalarda en fazla KOAH ve daha az oranda diğer kardiyopulmonar hastalıkların görüldüğünü açıklamışlardır. Nager ve arkadaşları (4), *M.catarrhalis* ile oluşan alt solunum yolu enfeksiyonlu 429 hastayı incelemişlerdir, bu hastaların ortalama yaşlarının 64.8 olduğunu, %78'inin sigara kullandıklarını ve hastaların % 84'ünde kardiyopulmonar hastalık bulunduğunu, bu hastaların % 5.4'ünde KOAH, %10'unda astım, % 5.7'sinde bronşektazi, % 5.5'inde kalp hastalığı ve % 6.7'sinde akciğer kanseri görüldüğünü bilirmişlerdir. Barrerio ve arkadaşları (61), Brooke ve arkadaşları (12), Freeston ve Farmsay (53), Pollard ve arkadaşları (55) yaptıkları benzeri çalışmalarda *M.catarrhalis* izole edilen hastaların pek çoğunda temel bir kardiyopulmonar hastalık bulunduğunu, ileri yaş ve sigara içme alışkanlığının önemli bir predispozisyon faktörü olduğunu saptamışlardır.

Bulgularımıza göre 11 *M.catarrhalis* izolatından 9 (%81.8)'unun beta laktamaz üretmekte olduğu, bunlardan 8'inin BRO₁, 1'inin BRO₂ enzimini taşıdığı düşünülmektedir. Bilindiği gibi,

M.catarrhalis suşları arasında beta laktamaz üretimi ilk kez 1976'da saptanmış olup, bu tarihten önce mikroorganizmanın tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu belirtmektedirler. Yapılan çalışmalarda 1983'te Amerika'da M.catarrhalis suşları arasında beta laktamaz üretme oranı %75 civarında iken, bu oranın Avrupa'nın değişik ülkelerinde %50-70 arasında saptandığı bildirilmektedir (14). Beta laktamaz üreten M.catarrhalis suşlarının yaklaşık % 90'ında BRO₁, geri kalan %10'unda ise BRO₂ enziminin varlığı ortaya konulmuştur (14, 27). Bu enzimlerin her ikisinin de klavulanik asidin düşük konsantrasyonlarında inaktif olduğu bildirilmektedir (62, 63). Christensen ve arkadaşları (38), 33 beta laktamaz üreten M.catarrhalis suşunun 28 (%84.8)'inde BRO₁, 2 (%6.1)'sinde BRO₂ ve 3 (%9.1)'ünde BRO₃ saptadıklarını, BRO₃ üreten suşların beta laktamaz üretimlerinin çok zayıf olmalarına bağlı olarak normal elektroforez yöntemleri ile saptanmasının mümkün olmadığını açıklamaktadırlar. Ejlartsen ve arkadaşları (28) alt solunum yolu enfeksiyonu bulunan çocuklardan izole ettikleri M.catarrhalis izolatlarında beta laktamaz aktivitesini araştırmışlar ve beta laktamaz üreten M.catarrhalis izolatlarının oranının 1986'da %55.6 bulunurken, 1989'da %80.1'e yükseldiğini, böylece beta laktamaz prevalansının Avrupa'da da Amerika seviyesine ulaştığını bildirmişlerdir. Davies ve Measen (13), 1977'de %5, 1980'de %16, 1989'da %26 M.ca-tarrhalis izole ettiklerini, bu izolatlardan beta laktamaz aktivitesinin 1980'de %7 iken giderek yükseldiğini ve 1986'da %63'e ulaştığını vurgulamaktadırlar. Doern ve Tubert (50), Jargensen ve arkadaşları (64), Powell ve arkadaşları (35), yaptıkları benzeri çalışmalarda M.catarrhalis suşları arasında beta laktamaz üretim oranını sırasıyla %78.4, %84.1 ve %80.1 olduğunu belirtmektedirler.

Alt solunum yolu enfeksiyonlu hastalardan izole ettiğimiz 11 M.catarrhalis izolatından beta laktamaz üreten 9'u penisilin ve am-

pisiline dirençli, amoksisilin-Klavulanik asit, sulbaktam-ampisilin, sefotaksim, trimetoprim-sulfametaksazol, eritromisin, sefaklor ve siproflaksasine karış duyarlı bulunmuştur. Beta laktamaz üretmeyen diğer 2 izolat ise tüm bu antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Literatür ışığında konu incelendiğinde; M.catarrhalis vankomisin ve trimetoprim gibi küçük bir grup antibiyotiğe karşı doğal dirence sahiptir (27). 1976'lara kadar bu mikroorganizmada kazanılmış direnç saptanmadığı, ancak 1976'dan sonra penisilin, ampisilin ve amoksisiline karşı direnç meydana geldiği ortaya konulmuştur (14, 27, 64-66). Değişik beta laktam antibiyotiklerin karşılaştırmalı bağıl duyarlılıklarına dayanarak, M.catarrhalis'in beta laktamazlarının penisilinlere karşı; sefalosporin türlerine nazaran daha duyarlı olduğu öne sürülmüştür (65). M.catarrhalis izolatlarının amoksisilin-klavulanik aside dirençli olmadıkları saptanmıştır (64, 65, 67). Ancak son zamanlarda Amerika'da eritromisin ve tetrasikline karşı, İspanya'da aminoglikozitlere ve trimetoprim-sulfametaksazole karşı direnç geliştiği bildirilmektedir (27, 68). Benzeri bir çalışmada M.catarrhalis suşlarının tamamının klindamisin ve trimetoprim-sulfametaksazolun serum konsantrasyonları ile inhibe olduğu açıklanmıştır (65).

Çalışmamızda ayrıca sağlam 100 kişinin orofaringeal sekresyonlarında M.catarrhalis kolonizasyonu araştırıldı. Tablo 12'de görüldüğü gibi bu oran 0-10 yaş grubunda en yüksek 14 (%49.3), 10-60 yaş grubu arasında 4 (%8.9) ve 60 yaşın üstündeki grupta ise 6 (%23.1) olarak saptandı. Bu bulgular literatür bulguları ile uyum göstermektedir. M.catarrhalis kolonizasyonun yaş, solunum yolu enfeksiyonu ve mevsimler ile değiştiği bilinmektedir (21, 40). Di Giovanni ve arkadaşları (39), 20-60 yaş grubunda 123 kişiden aldıkları nazofarinks örneklerinde %2.4 oranında, Lundgren ve Ingvarsson (45), ise 8 yaşın altındaki 180 çocuktan aldıkları nazofa-

rinks örneklerinde %36 oranında *M.catarrhalis* kolonizasyon saptadıklarını açıklamaktadırlar. Vaneechoutte ve arkadaşları (44), *M.catarrhalis* kolonizasyon oranını saptamak amacıyla en iyi besiyerinin brucella agar, 10 µg/ml vankomisin+5 µg/ml trimetoprim+2 µg/ml amfotrisin B+10 µg/ml sodyum asetozolamid olduğunu, en iyi örneğin ise orofaringeal sekresyon (tükürük) olduğunu açıklamışlar ve 3-12 yaş arasındaki 178 çocuktan %48.9 oranında, Van Hare ve arkadaşları (40), 2 ay ile 8 yaş arasındaki 120 çocuğun %33'ünde *M.catarrhalis* izole ettiklerini belirtmektedirler. Yine Vaneechoutte ve arkadaşları (20), *M.catarrhalis* izolasyon oranını 3 değişik yaş grubunda araştırmışlar ve 10 yaşın altındaki 187 çocukta %10.8, 10-60 yaş arasındaki 331 kişide %5.4, 60 yaşın üstündeki 34 kişide %24.5 oranında kolonizasyon saptadıklarını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda alt solunum yolu enfeksiyelerinden izole edilen 11 *M.catarrhalis*'in 9 (%81.8)'u beta laktamaz üretirken sağlıklı popülasyonda beta laktamaz aktivitesi sırası ile 0-10 yaş grubunda %42.9, 10-60 yaş grubunda %25, 60 yaşın üstündeki grupta ise %33.3 olarak bulunmuş olup ve toplam 100 kişiden izole edilen 24 *M.catarrhalis* izolatında beta laktamaz üretim oranı %37.5 olarak saptanmıştır (Tablo 14).

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar fazla olmadığından alt solunum yolu enfeksiyonlu hastalardan ve sağlıklı kişilerden izole edilen *M.catarrhalis* izolatları ile beta laktamaz aktiviteleri arasındaki ilişkiyi saptayabilmek için daha ileriki çalışmaların yapılması gereklidir.

Sağlıklı 100 kişiden izole edilen 24 *M.catarrhalis* izolatından, beta laktamaz üretçen 9 izolat penisilen ve ampisiline dirençli diğer antibiyotiklere duyarlı, beta laktamaz üretmeyen 15 izolat ise tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur (Tablo 16).

1970'li yıllara kadar alt solunum yollarının flora bakterisi olarak kabul edilen *M.catarrhalis* balgam kültürlerinden izole edildiği zaman, balgamın faringealflora bakterileri ile kontamine olduğu düşünüldüğünden normal boğaz florası olarak rapor edilirdi (4, 6, 20-23). Oysa günümüzde *M.catarrhalis*'in tüm dünyada yaygın bir alt solunum yolu patojeni olduğuna ilişkin çeşitli yayınlar mevcuttur. *M.catarrhalis*'in özellikle yaşlılarda sigara kullananlarda ve KOAH gibi temel bir kardiyopulmonar hastalığı olan kişilerde ikinci ve üçüncü sıklıkta izole edilen önemli bir patojen olduğu ve oluşturduğu en önemli klinik tablonun kronik bronşitin alevlenmesi olduğu bildirilmektedir (4, 8, 20, 55).

M.catarrhalis'in solunum yolu enfeksiyonlarından başka özellikle immun sistem baskılanmış kişilerde sepsis, menenjit, endokardit gibi ciddi enfeksiyonlara da neden olduğu bilinmektedir (6, 21-26).

Günümüzde tanınmış bir patojen olarak değerlendirilen *M.catarrhalis*'in önemli bir özelliği hızlı bir şekilde beta laktamaz aktivitesinin yayılması sonucunda beta laktam antibiyotiklere direnç kazanması ve penisilin ile tedavi edilen primer enfeksiyonlarda, penisilin dirençli suşlar ile sekonder enfeksiyonlara sebep olmasıdır (69).

O nedenle özellikle ileri yaşlarda ve predispozan faktörlere sahip hastaların balgam örneklerinden *M.caarrhalis* izole edildiğinde patojen bir bakteri olduğunun bilinmesi, o şekilde rapor edilmesi ve uygun bir antibiyotik tedavisine başlanması tanı ve sağlıtımdaki başarı oranını yükseltecektir.

ÖZET

Çalışmamızda Mart 1992-Temmuz 1992 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına alt solunum yolu enfeksiyonu kuşkusu ile gönderilen 375 balgam örneğinden hücresel kriterlere göre 251 balgam örneği uygun bulunmuş ve kültüre alınmıştır. Bu kültürlerin 99'undan patojen mikroorganizma izole edilmiştir. Klinik tanıya bakılmaksızın *M.catarrhalis*; *S.pneumoniae*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Klebsiella* türlerinden sonra en yaygın patojen olarak bulunmuştur. Kültürü pozitif bulunan 99 hastadan 29'u KOAH'lı olup bu hastalardan en sık izole edilen patojen *M.catarrhalis*'dir. Balgam kültürlerinden *M.catarrhalis* izole edilen 11 hastanın yaş ortalaması 51.5 olup, bu hastaların %72.7'sinde sigara kullanma alışkanlığı, %81.8'inde KOAH bulunmaktadır. *M.catarrhalis* izolatlarının %81.8'i beta laktamaz üretmekte olup penisilin ve ampisiline dirençli bulunmuştur.

Kolonizasyon oranını araştırmak amacıyla toplam 100 sağlıklı kişiden orofaringeal sekresyon (tükürük) alınmış ve 0-10 yaş grubunda kolonizasyon oranı en yüksek 14 (%48.3), 10-60 yaş grubunda 4 (%8.9) ve 60 yaşın üstündeki grupta 6 (%23.1) olmak üzere toplam 100 kişide 24 (%24) olarak saptanmıştır. Sağlıklı popülasyondan izole edilen *M.catarrhalis* izolatlarının beta laktamaz aktivitesi 0-10 yaş grubunda %42.9, 10-60 yaş grubunda %25, 60 yaşın üstündeki grupta ise %33.3 bulunmuş olup toplam 100 kişiden elde edilen 24 *M.catarrhalis* izolatında beta laktamaz üretim oranı 9/24 (%37.5) olarak saptanmıştır. Bu izolatlar penisilin ve ampisiline dirençli bulunurken beta laktamaz üretmeyen izolatlar test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

SUMMARY

In this study, between March 1992 and July 1992 375 sputum samples, with were lower respiratory tract suspected infection accepted at Department of microbiology, Faculty of Medicine Dokuz Eylül University according to cellular criteria 251 of these were chosen and cultured. In 99 of these cultures pathogenic microorganism was isolated. Not take into consideration patients clinical feature; *M.catarrhalis* is the most frequent pathogen culture was after *S. pneumoniae*, *S.aureus*, *P.aeruginosae* and *Klebsiella* sp. Culture was positive in 99 patients and 29 of these patients had chronic obstructive pulmonary disease. In these, 29 patients we solated *M.catarrhalis* as the most frequent pathogen.

Age rate of 11 patients with in *M.catarrhalis* isolation was 51.5, in these patients smoking rate was :72.7, COLD rate was 81.8% and 81.8% of *M.catarrhalis* isolates were β -lactamase positive and resistant to penicillin and ampicillin.

To investigate the colonization ratio, we collected oropharyngeal secretion (saliva) from 100 healthy persons. The colonization rates were as follows; 48.3% between 0-10 ages, 8.9% between 10-60 ages, %23.1 in 60 and over group. Total rate was 24% in 100 patients. β -lactamase activities of *M.catarrhalis* that isolated from healthy people were 42.9% in 0-10 age group, 25% in 10-60 age group and 33.3% in 60 years and over group. In total 100 healthy persons β -lactamase production ratio was 9/24 (37.5%). These stains were resistant to penisillin and ampicillin and beta laktamaz negative isolates were sensitive tested to all antibiotics.

KAYNAKÇA

- 1- Roland H. and Ingram J.R.: Chronic Bronchitis, Emphysema and Airways Obstruction. Harrison's Principles of Internal Medicine, 12 th. ed. Wilson, Braunwold, Isselbacher, Peersdorf, Martin Mc Grow-Hill/Inter, American. DİE Espana, 1991 Vol 1, Part 7. chap 210 1074-1080.
- 2- Cazzola M. et al: Bacterial Isolates and Cigarette Smoking in Patients with Chronic Bronchitis: Results from an Italian Multicenter Survey. Clinical Therapeutics 1990 Oct.: 105-117.
- 3- Wright P.W., Wallace R.J., Shepherd J.R.: A Descriptive Study of 42 Cases of Branhamella Catarrhalis Pneumonia. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 15A): 2s-8s.
- 4- Hager. H. et al: Branhamella catarrhalis Respiratory Infections. Rev. Infect. Dis. 1987; 9 (6): 1140-1149.
- 5- Berk S.L.: From Micrococcus to Moraxella The Reemergence of Branhamella catarrhalis. Arch intern Med. 1990 Nov; 150: 2254-2257.
- 6- Catlin B.W.: Branhamella catarrhalis: an organism Guining Respect as a Pathogen. Clin. Microbial Rev. 1990. Oct; 293-320.
- 7- Eliasson J., et al. Emergence and Persistence of beta-Lactamase-Producing Bacteria in The Upper Respiratory Tract in Children Treated with Beta-Lactam Antibiotics. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A): 51s-55s.
- 8- Sarubb F.A, et al: Respiratory Infections Caused by Branhamella catarrhalis. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A): 9s-14s.

- 9- Nicorta B. et al: *Branhamella catarrhalis* as a Lower Respiratory Tract Pathogen in Patients With Chronic Lung Disease. *Arch Intern Med.* 1986 May: 890-893.
- 10- Verghese A. and Berk S.L.: *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *Infect. Dis. clin. North. Am.* 1991 sep; 5(3): 523-538.
- 11- Von Hare G.F. and Shurin P.A.: The Increasing Importance of *Branhamella catarrhalis* in Respiratory Infections. *Ped. Infect. Dis J.* 1987; 6:92-94.
- 12- Burray P.R., Drew W.L., Kobayashi G.S., Thompson J.H.: *Medical Microbiology International Student Edition* Published, Wolfe Pub. Ltd. LISA. 1990 chap. 7: 85-97.
- 13- Davies B.I., Maesen F.P.: The Epidemiology of Respiratory Tract Pathogens in Southern Netherlands. *Eur. Respir. J.* 1988; 1: 415-420.
- 14- Wallace R.J. et al. BRO β -Lactamases of *Branhamella catarrhalis* and *Moraxella* subgenus *Boraxella*, Including Evidence for Chromosomal β -lactamase Transfer by Conjugation in *B. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens*, and *M. lacunata*. *Antimicrobial Agents and Chemo Therapy* 1989 Nov; 18:1845-1854.
- 15- Reynolds H.Y.: Pneumonia and Abscess. *Harrison's Principles of Internal medicine*, 12 th. ed. Wilson, Braunwald, Isselbacher, Petersdorf, Martin Mc. Graw-Hill/Inter-Americana. DIE Espana, 1991 vol 1. Part 7. Chap 207 1064-1072.
- 16- Toews G.B. and Hansen E.J.: Pulmonary Host Defenses and Oropharyngeal Pathogens. *Am. J. Med.* 1990 May; 88 (Suppl 5A): 20s-24s.

- 17- Isenberg H.D. and D'Amato R.F: Indigenous and pathogenic Microorganisms of Humans. Manual of Clinical Microbiology. Balows., Housler, Hermann, Isenberg, Shadomy. American Society for Microbiology Washington 1991 Chapt 2; 2-13.
- 18- Vidinel I. Akciğer Hastalıkları 3. baskı Ege Ü. Basımevi 1989-İZMİR
- 19- Abbas A.K., Lichtan A.H., Pober J.S.: Cellular and Molecular Immunology W.B. Saunders Company 1991 chap. 15: 302-314.
- 20- Vaneechoutte M., et al.: Respiratory Tract Carrier Rates of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* in Adults and Children and Interpretation of the Isolation of *M.catarrhalis* from sputum. J.Clin. Microbiol. 1990 Dec: 2674-2680.
- 21- Marchant C.D.: Spectrum of Disease Due to *Branhamella catarrhalis* in children With Particular Reference to Acute Otitis Media. Am.J.Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A) 15s-19s.
- 22- Feleke G. and Khan F.A.: *Branhamella* Infections . Post Graduate Medicine. 1989 Marh; 85(4): 379- 386.
- 23- Wallace R.J. and Musher D.m.: In Honor of Sarah Branham, A Star Is Born, The Realization of *Branhamella catarrhalis* as a Respiratory Pathogen Rev. Chest. 1986 Sep; 90(3): 447-450.
- 24- Morello J.A., Janda W.M., Janda W.M., Doren G.V., Neisseria and *Branhamella* Manual of Clinical Microbiology. Balows., Housler, Hermann, Isenberg, Shadomy. American Society for Microbiology Washington 1991; Chap 30: 258-276.

- 25- Gröschel D.H.M.: Other Gram-Negative cocci Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, Bennett. 9.th.ed. Churchill Livingstone USA. 1990; 1, Part 3, Chap 191: 1632-1635.
- 26- Un Hanand M., et al.: Pulmonary Clearance of *Moraxella catarrhalis* in an Animal Model. J. Infect. Dis. 1992; 165: 644-650.
- 27- Wallace R.J., et al: Antibiotic Susceptibilities and Drug Resistance in *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A): 46s-50s.
- 28- Ejlersen T., Schonheydes H.c., Tisted E.: Beta-Lactamase Production in *Branhamella catarrhalis* Isolated From Lower Respiratory Tract Secretions in Danish Children: An Increasing Problem. Infection 1991; 19(5): 328-330.
- 29- Cooksey R.c.: Mechanisms of Resistance to Antimicrobial Agents. Manual of Clinical Microbiology. Balows., Housler, Hermann, Isenberg, Shadomy. American Society for Microbiology Washington 1991, Chap 109: 1099-1104.
- 30- Reyn A.: Gram Negatif Cocci and Coccobacilli, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8 th. ed. 1974; Part 10: 427-439.
- 31- Doern G.V: *Branhamella catarrhalis*: Phenotypic. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A): 33s-35s.
- 32- Bove K.: Genus II. *Moraxella*. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9 th. ed. 1984. Part 4:296-303.
- 33- Murphy T.F.: Studies of The Outer Membrane Proteins of *Branhamella catarrhalis*. Am. J. Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A) 41s-45s.

- 34- Marrs C.F., Weir S., Arbor A.: Pili (Fimbriae) of Branhamella species Am J.Med. 1990 May; 88 (Suppl 5A): 36s-40s.
- 35- Ahmed K., Rikitom N., Ichinose A., Matsumoto K.: Possible Presence of a Capsule in Branhamella catarrhalis Microbiol-Immunol. 1991; 35(5): 361-366.
- 36- Molstad s. et al: Production of Beta Lactamase by Respiratory Tract Bacteria in children: Scand J. Prim. Health. Care. 1992 Mar; 10(1): 16-20.
- 37- Kamme C., Vang M., Stahl S.: Intragenetic and Intergeneric Transfer of Branhamella caarrhalis β -Lactamase Production. Scand.J. Infect Dis 1984; 16: 153-155.
- 38- Christensen J.J., et al: Recognition of a New Branhamella catarrhalis β -Lactamase; BRO₃ J.Antimicrob. Chemother 1991 Nov; 28(5): 774-775.
- 39- Di Giovanni C., et al.: Respiratory Tract Infections Due to Branhamella catarrhalis: Epidemiological Data From Western Australia. Epidem. Infect. 1987; 99, 445-453.
- 40- Van Hare G.F., et al: Acute Otitis Media Caused by Branhamella catarrhalis, Biology and Therapy.Rev. infect. Dis. 1987. Feb; 9(1) 16-27).
- 41- Chi D.S., et al: Antibody Response to P-Protein in Patients with Branhamella catarrhalis Infections. Am. J.Med. 190 May; 88(Suppl 5A): 25s-27s.
- 42- Leinoen M., et al: Serologic Evidence for a Pathogenic Role of Branhamella catarrhalis. J. infect. Dis. 1981; 144 (6): 570-574.

- 43- Chapman A.J. et al: Development of Bactericidal Antibody During Branhamella catarrhalis Infection. J. Infect. Dis. 1985 May; 151(5): 878-882.
- 44- Vaneechoutte M., et al: Selective Medium for Branhamella catarrhalis with Asetozolamide as a Specific Inhibitor of Neisseria spp. J. Clin. Microbiol. 1988 Dec; 26(12): 2544-2548.
- 45- Lundgren K. and Ingvarsson L.: Acute Otitis Media in Sweden Role of Branhamella catarrhalis and The Rationale for Choice of Antimicrobial Therapy. Drug. 1986; 31 (Suppl.3): 125-131.
- 46- Ainsworth S.M. et al: Interpretation of Gram Stained Sputa containing Moraxella (Branhamella) catarrhalis. J. Clin. Microbiol 1990 Nov; 28(11): 2559,2560.
- 47- Schonheyder H. and Ejlersen T.: Branhamella catarrhalis in Lower Respiratory Tract Secretions in Adult. Eur. J. Clin. Microbiol. infect. Dis 1989; 8(4): 299-300
- 48- Howard J. Barbara, clinical and Pathogenic Microbiology C.V. Mosby Company. 1987.
- 49- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı 1. baskı, Barış Yayınları, İzmir, 1992.
- 50- Doern G.V. and Tubert T.A.: Detection of β -Lactamase Activity Among Clinical Isolates of Branhamella catarrhalis with Six Different β -Lactamase Assay. J. Clin. Microbiol 1987 Aug; 25(8): 1380-1383.
- 51- Luman I., et al: Disk Diffusion Susceptibility of Branhamella catarrhalis and Relationship of β -Lactam Zone Size to β -Lactamase Production. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1986 Nov; 30(5): 774-776.

- 52- Aitken J.M. and Thornley P.E.: Isolation of Branhamella catarrhalis From Sputum and Trakeal Aspirate. J.Clin. Microbiol. 1983. Nov; 18(1): 1262-1263.
- 53- Thornley P.E., et al.: Branhamella catarrhalis Infection of The Lower Respiratory Tract: Reliable Diagnosis by Sputum Examination. British Medical. J. 1982 Nov; 285: 1537-1538.
- 54- Isenberg H.D., Washington II. J.A., Doren G.V. Amsterdam. D., Specimen Collection and Handling. Manual of Clinical Microbiology. Balows., Housler, Hermann, Isenberg, Shadomy. American Society for Microbiology Washington 1991. Chap 3: 15-28.
- 55- Pollard J.A., et al: Incidence of Branhamella catarrhalis in The Sputa o Patients with chronic Lung Disease. Drug. 1986; 31(Suppl. 3): 103-108.
- 56- Akova M., Ünal S., Akalın H.e.: Bakteriyel Pnömoniler İnfeksiyon Hastalıkları. Kanra, Akalın, 1. Baskı Ocak 1991; 92-109.
- 57- Reynolds H.Y: Chronic Branchitis and Acute Infectious Exacerbations. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, Bennett 3 Th. ed. Churchill Livingstone USA 1990 Part II Chap II 331-535.
- 58- Konishi M., et al: Clinical Study of Respiratory Infection Due to Branhamella catarrhalis Using Transtracheal Aspiration. 1992 May; 30(5): 886-891.
- 59- Nicolas G.M. et al: Branhamella catarrhalis and Respiratory Tract Infecion. 1991 66(1-2): 79-95.
- 60- Dyson C., Poonyth H.D., Watkinson M., Rose S.J.: Life Threatening Branhamella catarrhalis, pneumonia in Infants J. Infect. 1990; 21, 305-307.

- 61- Barreiro Bo. et al: *Branhamella catarrhalis* Respiratory Infections. Eur. Respir. J. 1992, Jun; 5(6): 675-679.
- 62- Farmer T. and Reading C.: β -Lactamases of *Branhamella catarrhalis* and Their Inhibition by Clavulanic acid. Antimicrobial Agents and chemotherapy. 1992 March; 21 (3): 506-508.
- 63- Cooper C.E., Slocomb. B., White R.A. Effect of Low Concentrations of Clavulanic Acid on The In-vitro Activity of Amoxycillin Against β -Lactamase-Producing *Branhamella catarrhalis* and *Haemophilus Influenzae* J. Antimicrobial. Chemotherapy 1990; 26: 371-380.
- 64- Jorgensen J.H., et al Antimicrobial Resistance Among Respiratory Isolates of *Haemophilus Influenzae*; *Moraxella catarrhalis*, and *Streptococcus pneumoniae* in The United States. Antimicrobial Agents and chemotherapy 1990 Nov; 34(11): 2075-2080.
- 65- Doern G.V., et al: Antibiotic Susceptibility of Beta-Lactamase Producing Strains of *Branhamella* (*Neisseria*) *catarrhalis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1980, Jan; 17(1) 24-29.
- 66- Nasrallah H.A., Freed W.J., Rogol A., Wyatt J.: Pathogenicity of and β Lactamase Production by *Branhamella* (*Neisseria*) *catarrhalis*. Lancet 1977 Dec; 3, 1 175.
- 67- Powell M. et al: Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae* and *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* Isolated in The UK From Sputa. J. Antimicrob. Chemother 1991 Aug; 28(2): 249-259.

- 68- Robledano L., Rivera M.J., Ota I., Gomez-Lus R. Enzymatic Modification of Aminoglycoside Antibiotics by *Branhamella catarrhalis* Carrying an R Factor Drugs. Exptl. Clin R. 1987 XIII (3) 137-143.
- 69- Simon C.: *Branhamella catarrhalis* as a Disease Pathogen Fort Schr.Med. 1991 Jul. 30; 109 (22): 447-448.

