

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

SOLUNUM SİSTEMİ ÖRNEKLERİNDEN *MORAXELLA*
(*BRANHAMELLA*) *CATARRHALIS* İZOLASYONU VE İN-VİTRO
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. İ. Halil ÖZEROL

Dr. Nergis AŞGIN
UZMANLIK TEZİ

91965

MALATYA
2000

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

***Bu çalışma, jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalında UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.***

Başkan:

Üye:

Üye:

Üye:

Üye:

Onay:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen, tüm konularda hoşgörü ve içtenlikle desteklerini sürdüren, engin tecrübeleriyle çalışmalarına ışık tutan danışmanım Doç.Dr.İbrahim ÖZEROL'a,

Bölümümüzde çalışmaların bilimsel ve aynı zamanda samimi bir ortamda yürütülmesini sağlayan bölüm başkanımız Prof.Dr. Rıza DURMAZ'a,

Geniş ufku ile çalışmalarımızda yol göstermenin yanında, bütün sorunlarımızla da ilgilenen hocamız Prof. Dr. Bengül DURMAZ'a,

Örneklerin sağlıklı olarak temin edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Kulak Burun Boğaz ve Göğüs Hastalıkları Anabilim Dallarının değerli elemanlarına,

Laboratuvarımızda ilk kez bu tez çalışmasıyla identifiye edilen *M. catarrhalis* ile ilgili çalışmalarımda, beni her gün yüreklendiren ve meraklı ilgileri ile de motive eden bölüm arkadaşlarıma, sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	7
VİRÜLANS FAKTÖRLERİ	11
Klinik Önemi ve Yaptığı Hastalıklar	15
LABORATUVAR TANISI	20
1) Örnek seçimi	20
2) Direkt mikroskopi	21
3) Kültür	21
EPİDEMİYOLOJİ VE KOLONİZASYON	25
TEDAVİ VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ	27
MATERYAL ve METOD	29
A) ÖRNEKLERİN ALINMASI, EKİMLER VE KÜLTÜRLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	29
B) <i>MORAXELLA CATARRHALIS</i> İZOLASYONUNDA KULLANILAN BESİYERLERİNİN HAZIRLANMASI	30
1) Koyun Kanlı Trypton Soya Agar (OXOID)	30
2) Çikolata agar	31
3) EMB (Eosin Methylene Blue) Agar (BBL)	31
4) <i>Moraxella catarrhalis</i> Selektif Besiyeri	31
C) <i>MORAXELLA CATARRHALIS</i> İDENTİFİKASYONUNDA KULLANILAN TESTLER	32
1) Katalaz Testi	32
2) Oksidaz Testi	32
3) DNA Hidroliz Testi	33
4) Hızlı Karbonhidrat Fermentasyon Testleri	34
5) Nitrat Redüksiyonu	35
6) Tween-80 Hidroliz Testi	36
7) Tribütirin Hidrolizi	37
8) BBL-Crystal NH Sistemi İle İdentifikasyon	37
9) Beta Laktamaz Testi	38
D) ANTİBİYOTİK DUYARLILIK DENEYİ	38
Müller Hinton Agar (BBL)	38
BULGULAR	40
TARTIŞMA	49
SONUÇLAR	59
ÖZET	61
SUMMARY	62
KAYNAKLAR	63

GİRİŞ VE AMAÇ

Son 20 yılda, insan solunum yollarında *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* infeksiyonlarının önemli olduğu ve bu infeksiyonlara sık rastlandığına dair çok sayıda çalışma yapılmıştır. Günümüzde, *Neisseriaceae* familyası içinde *Moraxella* cinsi olarak sınıflandırılan *Moraxella catarrhalis*, ilk kez 1896'da Frosch ve Kolle tarafından pnömoni etkeni olarak tanımlanmıştır ⁽¹⁾. 1902 yılında Ghon ile Pfeiffer balgam ve bronşiyal salgılarda gram negatif kok şeklinde bir bakterinin varlığını saptamışlar ve *Micrococcus catarrhalis* olarak adlandırdıkları bu bakterinin febril bronşite neden olabileceğini bildirmişlerdir ^(1,2). 1919 yılında pnömoni olan Sir William Osler, kendi hastalığında etkenin bu bakteri olabileceğini bildirmiştir ⁽³⁾. 1960'da fenotipik ve ekolojik odak özellikleri *Neisseria*'lara benzediğinden, *Neisseria catarrhalis* olarak adlandırılmıştır. 1970'de yağ asidi içeriği, nükleik asit hibridizasyon çalışmaları, guanin-sitozin miktarı ve genetik transformasyon çalışmaları sonunda farklı bir cins olarak sınıflandırılmış ve bu cinse *Branhamella* adı verilmiştir. Daha sonraki yıllarda, bu bakteriye, günümüzde de en yaygın kabul gören *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* adı verilmiştir ^(1,2,4). Başlıca patojen türü *M. catarrhalis*'tir.

Geçen yüzyılın üçte ikisinde, *M. catarrhalis*'in üst solunum yollarında kommensal olarak bulunduğu kabul ediliyordu. 1970'li yıllardan sonra, birçok araştırma merkezlerinde toplanan verilere dayanarak solunum yollarının sık ve önemli bir patojeni olduğu tespit edildi. Günümüzde, kronik obstruktif akciğer hastalıkları (KOAH)'nın alevlenmesinde ikinci, otitis media ve sinüzit vakalarında ise üçüncü en sık rastlanan patojen olduğu kabul edilmektedir ^(5,6). KOAH alevlenmelerinin %30'unda, Otitis media'lının %15-20'sinde ve sinüzitlilerin %10-15'inde etken olan bir mikroorganizmadır ^(5,7,8). Yapılan bir çalışmada akut otit tanısı alan 355 çocuğun 40'ında (%11) orta kulak sıvısından tek patojen, 21'inde ise (%6) *H. influenzae* veya *S. pneumoniae* ile birlikte izole edilmiştir ⁽⁷⁾. Akut sinüzitli çocukların sinüs aspiratlarından tek başına veya mikst olarak %2-16 oranında izole edilmiştir. Yine kronik bronşitin akut alevlenmelerinde alt solunum yolu örneklerinden *H. influenzae*'dan sonra ikinci sıklıkta izole edilmiştir ⁽⁹⁾.

M. catarrhalis otit, sinüzit ve pnömoni gibi lokalize infeksiyonların dışında diyabet, alkolizm, malignite gibi immüniteyi bozan durumlarda endokardit, menenjit ve sepsis gibi hayatı tehdit eden infeksiyonlara da neden olabilmektedir (^{6,8}).

1980'li yılların ortalarından itibaren literatürde *M. catarrhalis*'e bağlı nozokomiyal infeksiyon epidemileri bildirilmiştir. En sık, solunum ünitelerinde yatan hastalarda solunum yolu infeksiyonlarına neden olduğu bulunmuştur. Yine pediatrik yoğun bakım ünitelerinde endotrakeal tüp ve aspiratörle nozokomiyal olarak taşındığı gösterilmiştir. Bu nedenle artık nozokomiyal bir patojen olarak da kabul edilmektedir (^{3,9,10}).

Önceleri β -laktam antibiyotik duyarlılığı bu tür için genel bir özellik kabul edilirken ilk kez 1977'de β -laktamaz üreten bir suş izole edilmiştir (^{1,2,4,7,10,11;12}). A.B.D.'de 1987/1988 yıllarında β -laktamaz üreten suşların oranı %84.1 olarak bildirilmiştir (⁹). Daha sonra yapılan surveyans çalışmalarında 1992'de %92.1, 1993'te %93.8 ve 1994'te %96.5 olarak tespit edilmiştir (¹³). Ülkemizde yapılan bir çalışmada bu oran %95 olarak bulunmuştur (¹⁴).

M. catarrhalis son yıllarda çocuklar, yaşlılar ve immün supresif hastalar için önemli bir solunum yolu patojeni olarak karşımıza çıkmaktadır. β -laktamaz üretimi gerek dünyada gerekse ülkemizde büyük oranlara ulaşmıştır.

Bu çalışmada amacımız, klinik önemi giderek artmasına rağmen özellikle saprofit *Neisseria*'lara benzemesi nedeniyle çoğunlukla gözden kaçan bu mikroorganizmanın çeşitli klinik örneklerden izolasyonu, identifikasyonu ile antimikrobiyal duyarlılık paternini ve β -laktamaz aktivitesini belirleyerek yöremizdeki durumu tespit etmektir.

GENEL BİLGİLER

Bergey'in "Manual of Systematic Bacteriology" kitabına (1984) göre *Neisseriaceae* familyası dört cinsten oluşmaktadır. *Neisseria*, *Moraxella*, *Kingella* ve *Acinetobacter*. *Moraxella* cinsi ise iki alt cinse ayrılmıştır. *Moraxella* alt cinsi basil şeklindeki bakterileri kapsar ve altı türü vardır. *M. lacunata*, *M.(M.) bovis*, *M.(M.) nonliquefaciens*, *M.(M.) atlantae*, *M.(M.) phenylpyruvica* ve *M.(M.) osloensis*. *Branhamella* alt cinsi ise kok şeklindeki bakterileri kapsar ve dört türü vardır. Bunlar *M.(B.) catarrhalis*, *M.(B.) caviae*, *M.(B.) ovis* ve *M.(B.) cuniculidis* (^{1, 10, 15}).

Bugün için yapılan sınıflandırmalarda, *Neisseriaceae* familyası beş cinsten oluşmaktadır. *Neisseria*, *Moraxella*, *Kingella*, *Acinetobacter* ve *Oligella* (⁵). 1984'deki bu sınıflandırmaya rağmen günümüzde özellikle *M.(B.) catarrhalis* ile diğer *Moraxella* türlerinin nomenklatürü ve taksonomik durumu tartışma konusudur. Rossau ve ark. "Moraxellaceae", Catlin ve ark. ise "Branhamaceae" adında yeni bir familya oluşturulması gerektiğini (^{1, 7}) öne sürmektedirler. Taksonomik olarak adı *Branhamella catarrhalis* olan bu bakteri pek çok klinik mikrobiyolog tarafından *Moraxella catarrhalis* olarak adlandırılmaktadır (¹⁰).

M. catarrhalis, aerob, fakültatif anaerob, oksidaz ve katalaz olumlu, hareketsiz, nonfermentatif bir bakteridir (^{1, 2, 9, 10, 15, 16}). Gram boyamada 0.6-1 µm çapında birbirine bakan yüzleri düz, kahve çekirdeği veya böbrek şeklinde gram negatif diplokoklar şeklinde görülür (Şekil 1). Bu görümleri ile gram boyamada *Neisseria*'lardan ayırt edilemezler. Birbirine dik açı yapan iki düzlemde bölündükleri zaman tetratlar oluşturabilirler. Çoğunlukla hücre dışında, bazen de hücre içinde gram negatif diplokoklar şeklinde bulunurlar. Alkolle dekolorizasyona dirençli olduğundan yanlışlıkla gram pozitif olarak görülebilir (^{1, 2, 7, 9, 15}). Ainsworth ve ark. gram boyamada etanolle dekolorizasyon yapıldığında *M. catarrhalis* suşlarının %35'inin gram pozitif görüldüğünü bildirmişler ve bu nedenle dekolorizasyon için %95 etanol ve saf asetonun 1:1 oranındaki karışımının 20 saniye uygulanmasıyla optimum sonucun elde edilebileceğini göstermişlerdir (¹⁷).

M. catarrhalis kanlı agar, çikolata agar ve daha birçok besiyerlerinde 35-37°C'de ürer. %5-10 CO₂ varlığında ve nemli ortamda üremesi artar (^{1, 2, 10}). Nutrient agar ve 22°C'de üreyebilmesine dair bulgular değişkendir. Önceleri 22°C'de

kanlı/çikolata agarda ve 35-37°C'de nütrient agarda üremesi ayırıcı tanı kriterleri olarak sayılırken, bunun suşlar arasında farklılıklar gösterdiği bulunmuştur (^{10, 15}). 24-48 saatlik inkübasyondan sonra 2-3 mm çapında, beyazımsı-gri renkte yuvarlak, konveks, opak ve nonhemolitik koloniler oluşturur. Koloniler agara yapışık olmadığından öze ile besiyeri yüzeyinde şekli bozulmadan hareket ettirilebilir. Bu özelliğe “**hockey puck**” denir. Yani agar yüzeyinde buz hokeyi topu gibi kaymaları tipiktir (^{1, 2, 4, 7, 15}). Koloni morfolojisine bakılarak *M. catarrhalis*'in *Neisseria*'lardan ayırt edilememesi nedeniyle şüpheli her koloninin *M. catarrhalis* olması ihtimaline karşı incelenmesi gerekir (⁵).

Karbonik anhidraz enzimi, bu bakterilerde nadir bulunmasına rağmen *Neisseria* türlerinin üremesi için mutlak gereklidir. Bu enzim *M. catarrhalis*'te yoktur. Bu nedenle karbonik anhidraz enzim inhibitörü olan asetazolamidin besiyerine ilave edilmesi ile *Neisseria*'ların üremesi engellenebilir. Ancak %5-10 CO₂ içeren ortamda asetazolamidin etkisi nötralize olduğundan besiyeri aerop koşullarda inkübe edilmelidir. Vaneechoutte ve arkadaşları 178 okul çocuğunun tükürük örneklerini selektif (10 µg vankomisin, 5 µg trimetoprim, 2 µg amfoterisin B ve 10 µg asetazolamid), yarı selektif (asetazolamid içermeyen) ve nonselektif (kanlı agar) besiyerlerini kullanarak *M. catarrhalis* izolasyon oranlarını araştırmışlar ve selektif besiyerlerinde %48.9, yarı-selektif besiyerlerinde %12.4 ve nonselektif besiyerlerinde ise %6.2 oranında *M. catarrhalis* izole etmişlerdir (¹⁸). Vankomisin, trimetoprim, amfoterisin B ve asetazolamid içeren bir besiyeri, *M. catarrhalis* izolasyonunda tam bir seçicilik sağlamaktadır (^{1, 9, 10, 19}).

M. catarrhalis, diğer *Neisseria*'lar gibi katalaz ve oksidaz pozitif bir bakteridir. Ancak karbonhidrat fermentasyonu yapmaz. Glukoz, maltoz, laktoz, fruktoz ve sükrozdan asit oluşturmaz (²⁰). Ayrıca tüm suşların DNase ve bütirat esteraz enzimi vardır. *M. catarrhalis* ve *B. ovis* haricinde diğer *Neisseria*'lar bütirat esteraz enzimi üretmezler. *B. ovis* ise koyunlar için patojen olup, insan patojeni değildir (¹⁰). *M. catarrhalis*, nitrat redüksiyonu ve Tween-80 hidrolizi yapar. Jelatin ve üreye etkisi yoktur (Tablo 1).

DNA'nın G+C içeriği, *M. catarrhalis*'te %40-47.5 mol arasında iken *Neisseria*'larda %46.5-53.5 mol'dür. Bu da ayırd edici bir özelliktir (⁴).

Tablo 1. *Moraxella catarrhalis* ve *Neisseria*'ların biyokimyasal ve üreme özellikleri^(5,9).

Türler	Şekerlerden Asit üretimi										
	Glikoz	Maltoz	Sükroz	Laktoz (ONPG)	Früktöz	H ₂ S	Oksidaz	Ekstra CO ₂	22°C'de üreme	Polisakkarit [†]	Pigment [#]
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	+	-	-	-	-	-	+	Çö	-	Ü-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	+	+	-	-	-	-	+	Ö	-	Ü-	-
<i>Neisseria lactamica</i>	+	+	-	+	-	+	+	D	D	-	+S
<i>Neisseria sicca</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-zs
<i>Neisseria subflava</i>	+	+	D	-	D	+	+	-	+	D	+S
<i>Neisseria mucosa</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-zs
<i>Neisseria flavescens</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+S
<i>Neisseria cinerea</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	D	-	G
<i>Neisseria polysacharea</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-zs
<i>Neisseria elongata</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	G/zs
<i>Neisseria weaveri</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-zs
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	D	-	G

[†]: %5 sükrozdan polisakkarit sentezleme

[#]: Löffler besiyerinin eğri yüzeyinde

Kısaltmalar: D: değişken, Çö ve ö: üreme için çok önemli ve önemli, S: sarı, zs: zayıf sarı, G: gri

Diğer *Moraxella* türleri

Moraxella cinsine ait bakteriler nazofarinks dışında, nadiren deri ve ürogenital sistem gibi diğer yerlerden de izole edilebilmektedir. Diğer *Moraxella* türlerine bağlı çeşitli infeksiyonlar bildirilmiştir. Bronşit, pnömoni, ampiyem, endokardit, meningit, konjunktivit, idrar yolu infeksiyonları, septik artrit ve yara infeksiyonlarına neden olabilirler. 1953-1980 yılları arasında Amerika'daki hastalık kontrol ve korunma merkezine (CDC) gönderilen *Moraxella* izolatları ve neden oldukları hastalıklar ile ilgili bir raporun özeti Tablo 2'de verilmiştir. Kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve eklem içi sıvısı gibi normalde steril olan vücut kısımlarından yapılan kültürlerde, en sık *M. osloensis* ve *M. nonliquefaciens* izole edilmiştir. *M. osloensis* en sık kandan, *M. nonliquefaciens* kulak, burun, boğaz (%47) ve balgamdan (%8), *M. canis* (eskiden

Moraxella M-5 adı verilen tür) köpek ısırması ile oluşan infekte yaralardan (%72), *M. lacunata* konjunktivit ve keratitlerden (%70) en sık izole edilen *Moraxella* türüdür ⁽²¹⁾. *M. urethralis* idrar ve genital yollardan daha sık izole edilmiş ve bu nedenle üretritlerle ilişkili *Moraxella* türü olarak bildirilmiştir. *M. phenylpyruvica* ve *M. atlantae* izolatlarının yarısından çoğu normalde steril olan vücut kısımlarından izole edilmiştir. Konjunktivit, keratit ve endoftalmit gibi oküler infeksiyonlara, en sık *M. nonliquefaciens*'in neden olduğu bildirilmiştir ^(22,23).

Table 2. CDC'ye 1953-1980 yıllarında bildirilen diğer *Moraxella* türleri ve infeksiyonları ⁽²¹⁾.

Türler	İzolat sayısı	İzolasyon yeri	İzolasyon sayısı (%)
<i>M. osloensis</i> *	199	Kan	44 (22)
		BOS	18 (9)
		İdrar	17 (9)
		Solunum yolları	24 (12)
<i>M. nonliquefaciens</i>	356	Kan	27 (8)
		BOS	6 (2)
		Solunum yolları	196 (55)
<i>M. canis</i>	74	Köpek ısırığı yarası	53 (72)
M-6	47	Kan, kemik	15 (32)
<i>M. lacunata</i>	33	Konjunktivit, keratit	23 (70)
<i>M. urethralis</i>	28	İdrar	16 (57)
		Genital sistem	3 (11)
<i>M. phenylpyruvica</i>	73	Kan	19 (26)
		BOS	8 (11)
		İdrar	12 (16)
<i>M. atlantae</i>	44	Kan	20 (45)
		BOS	5 (11)

* Bu izolatların bazısı günümüzde yeni bir tür olarak (*M. lincolni*) kabul edilmektedir.

M. catarrhalis dışındaki *Moraxella* türlerinin neden olduğu infeksiyonların klinik özellikleri ve konak özellikleri tam olarak karakterize edilmemiştir. Bu türlerin taksonomisi ve filogenetik ilişkilerine dair genetik çalışmalar devam etmektedir ⁽²⁴⁾. Türler, genellikle biyokimyasal özelliklerine göre ayırdedilmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. *Moraxella*, *Neisseria*, *Oligella*, diğer *Moraxella*'lar ve *Kingella* türlerinin identifikasyonunda kullanılan laboratuvar bulgular (^{5, 9}).

Türler	Motilite	Oksidaz	Katalaz	O/F Glikoz	Serum gereksinimi	Üreaz	İndol	Nitrat	Fenilalanin	Jelatin	MacConkey 'de üreme
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	D
<i>Moraxella lacunata</i>	-	+	+	-	+	-	-	+	D	D	-
<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	-	+	+	-	D	-	-	+	-	-	-
<i>Moraxella osloensis</i>	-	+	+	-	-	-	-	D	D	-	D
<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	-	+	+	-	-	+	-	D	+	-	D
<i>Moraxella atlantae</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Oligella urethralis</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>Neisseria weaveri</i> (M5)	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Neisseria elongata</i> (M6)	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	D
<i>Kingella kingae</i> *	-	+	-	F ⁺	-	-	-	-	-	-	D
<i>Kingella indologenes</i>	-	+	-	F	-	-	+	-	-	-	-
<i>Kingella denitrificans</i>	-	+	-	F	-	-	-	+	-	-	-

*: Türlerin çoğu kanlı agar da β-hemoliz yapar

†: Bazen 3 veya daha sonraki günlerde fermentasyon olur, bazı türlerin serum ihtiyacı vardır

Kısaltmalar: D: değişken, - yok, + var

VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Son 10 yılda, *M. catarrhalis*'in önemli bir insan patojeni olduğunun anlaşılmasından sonra yüzey antijenik yapıları araştırılmıştır. Bu tür çalışmalar; patogenezi mekanizmasının, insan immün sisteminin verdiği cevabın ve aşı geliştirilip geliştirilemeyeceğinin anlaşılmasına yardım etmektedir. *M. catarrhalis*'in yüzeyinde pili, dış membran proteinleri ve lipooligosakkarit (LOS) bulunur. Pililer bakterilerde dış membrandan dışarı doğru uzanan filamentöz çıkıntılar olup, adhezin görevi yaparak epitelyal hücrelerin yüzeylerinde bulunan glikosfingolipid reseptörlere bağlanmayı sağlarlar. *M. catarrhalis*'te iki tip pili vardır. Bunlardan birisi dış yüzeyin her yerinde bulunan kısa pililer olup, mukozal yüzeye adheransta rol oynarlar. Diğeri ise, *N. meningitidis* ve *N. gonorrhoea*'da da bulunan ince uzun Tip IV pililerdir. Bu pili; koloni

morfolojisi, sıvı besiyerinde yüzeyde ince bir köpük tabakası oluşumu ve otoaglutinasyon ile ilişkili bulunmuştur (^{1, 2, 15, 25, 26}).

M. catarrhalis'in dış membran proteinleri (OMP) saflaştırılmış ve 1980'li yılların sonunda sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) yöntemi ile *M. catarrhalis*'in OMP'lerinin, farklı coğrafik bölgelerden ve hastalıklardan elde edilen türler arasında yüksek derecede korunmuş olduğu tespit edilmiştir (^{1, 2, 10, 27, 28, 29}). Bunlardan ilki *UspA*'dır. Fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber konak hücreye adheransta rol oynadığı düşünülmektedir. Helminen ve ark. dış membran yapısındaki LOS ile yakın ilişkili 350-700 kDa ağırlığında *UspA* denilen bu proteinin çalıştıkları tüm izolatlarda var olduğunu bulmuşlardır (¹⁰). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda bu yüzey antijeninin iki farklı proteinden oluştuğu, bunlardan *UspA1*'in *M. catarrhalis*'in epitel hücrelerine tutunmasında ve *UspA2*'nin ise vitronektine bağlanmada ve komplemana direnç oluşturarak bakterinin serumun bakterisidal etkisine direnebilmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (^{30, 31, 32, 33}). *UspA2*, kompleman sistemindeki C1q alt komponentine bağlanarak inaktif kompleman komplekslerinin oluşmasına ve terminal (litik) kompleman komplekslerinin oluşmamasına neden olur (³⁴). *UspA1* ve *UspA2*, SDS-PAGE ile hetero-oligomer halinde ayrıldığı için bu proteinlere HMW-OMP adı verilir. Bir hayvan modelinde, *UspA*'ya karşı geliştirilen monoklonal antikorla pasif olarak aşılanan fareye endobronşiyal olarak *M. catarrhalis* verilmesini takiben pulmoner bakteri klirensinin arttığı saptanmıştır (³⁵). İlaveten *M. catarrhalis* pnömonisi olduğu kültür ile doğrulanan hastaların konvelasan dönemde serumlarında Western blot analizle direkt *UspA*'ya karşı antikor olduğu bulunmuştur. Bu da ilerdeki aşı çalışmaları için ümit vericidir (¹⁰).

Diğer bir yüzey proteini 81 kDa ağırlığındaki *CopB* proteini olup suşların %71'inde tespit edilmektedir. Bakteri yüzeyinde korunmuş epitoplara içerir. Demirin (Fe) kısıtlı olduğu ortamlarda *CopB* ekspresyonu artar. Bu da proteinin demir alımında rol oynadığını düşündürmektedir (¹). Bu proteini eksik olan mutant suşların canlılıklarını kaybettikleri ve farelerde pulmoner infeksiyon yapamadıklarının belirlenmesi, infeksiyon gelişiminde *CopB* proteininin rolü olduğu fikrini desteklemektedir. Ayrıca, bu protein bazı suşların serumun bakterisidal etkisine direncinde de rol oynayabilir (¹⁰).

Patojenik *Neisseria*'lar gibi *M. catarrhalis* de konakta mevcut olan laktoferrin ve transferrin gibi demir taşıyan proteinlere bazı membran proteinleri aracılığıyla bağlanabilmekte, böylece üremesi için gerekli olan demiri konaktan sağlayabilmektedirler (^{10,15}). Bunlardan en önemlileri *CopB* (*OMP B2*) ve *OMP B1*'dir. *OMP B1* ekspresyonu da ortamda bulunan Fe miktarına göre değişmektedir. Bu protein, bir transferrin reseptörü olarak görev yapar (^{36,37}). Sethi ve ark. uzun süredir *M. catarrhalis* ile kolonize 6 bronşektazili hastadan alınan 12 serum örneğinde *M. catarrhalis*'in pürifiye dış membranına karşı direkt oluşan serum IgG antikorlarını immunoblot yöntemi ile araştırmışlardır. Tüm serum örneklerinde en belirgin antikor cevabı, 84-kDa ağırlığındaki dış membran proteini olan *OMP B1*'e karşı tespit edilmiştir (³⁷). Bu bulguya göre, *OMP B1* de ilerde aşı çalışmalarında antijen olarak kullanılabilecektir.

Diğer dış membran proteinlerinden *OMP CD* ve *OMP E'*, ısıtılarak modifiye edilebilen ve suşlar arasında yüksek derecede korunmuş proteinlerdir. Aşı için kullanılabilecekleri düşünülmektedir (^{1,2,29}). *OMP CD*, bir porin proteindir (^{38,39,40}). *OMP E* ise antijenik yapıda, fonksiyonu bilinmeyen bir proteindir (^{41,42}). SDS-PAGE'de 200 moleküler ağırlığında olduğu tespit edilen bir diğer *OMP*'ye 200-kD protein adı verilmekte ve bu proteinin de birçok suшта bulunduğu ve hemaglutinasyondan sorumlu olduğu bildirilmektedir (^{43,44}).

N. gonorrhoea'deki gibi *M. catarrhalis*'in dış membranı da diğer enterik Gram negatif bakterilerden farklıdır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarında, uzun polisakkarit zincirlerinin lipid A'ya bağlanarak oluşturdukları lipopolisakkarit tabakası (LPS) bulunurken *M. catarrhalis*'in dış membranını kısa sakkaritlerin lipid A'ya bağlanarak oluşturdukları lipooligosakkarit (LOS)'lerden oluşur. Yapılan bir serotiplendirme çalışmasında suşların %95'inde 3 LOS serotipi bulunmuştur (⁴⁵). Farklı serotipler, LOS moleküllerindeki terminal şeker kalıntılarından ileri gelir. Diğer bakterilerdeki LOS'ler gibi, *M. catarrhalis*'in LOS'i de patogeneze önemli rol oynar ve virölans faktörü olduğu sanılmaktadır (¹).

1970'li yıllara kadar β -laktam antibiyotik duyarlılığı *M. catarrhalis* için bir grup özelliği olarak bilinirken ilk kez 1977'de β -laktamaz üreten suş izole edilmiştir. Günümüzde suşların %90'dan fazlası β -laktamaz üretmektedir (^{1,2,4,7,10,11,12}).

M. catarrhalis'in izoelektrik fokuslama çalışmaları sonucunda üç tip β -laktamaz enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimlerden BRO-1 (Ravasio tip) β -laktamaz üreten suşların %90'ında, BRO-2 (1908-tip) ise %10'unda bulunmaktadır. BRO-3 enzimi yakın zamanda tanımlanmıştır. Christensen ve ark. bu enzimin hücre ekstraktının papainle muamele edildikten sonra izoelektrik fokuslama ile tespit edilebildiğini göstermişler, Steingrube ve ark. ise bunun farklı bir enzim olmaktan çok, membrana bağlı prekürsör bir molekül olduğunu ileri sürmüşlerdir (^{11;12}).

M. catarrhalis'in β -laktamaz geni olan "bla" geni klonlanmış olup, bunun 945 baz çiftinden (bp) oluştuğu ve potansiyel olarak 314 aminoasitten oluşan bir polipeptidi kodladığı bulunmuştur. BRO-1 ve BRO-2 enzimlerinin nükleotit sekans analizi sonucunda tek bir pozisyonda farklılık olduğu, BRO-2'de 294. pozisyonda aspartik asit yerine glisin olduğu tespit edilmiştir. Bla geninin G+C içeriğinin (%31) *M. catarrhalis*'ten (%41) daha düşük bulunması, bu genin türler arasında horizontal transfer ile aktarıldığını düşündürmektedir. BRO-1 üreten izolatlar, BRO-2 üretenlere göre ampisiline daha dirençlidir. BRO-1 üreten izolatlarda ampisilinin minimal inhibitör konsantrasyonu (MIK) daha yüksek bulunmuştur. Bu da BRO-1'in enzimatik aktivitesinin daha fazla olması ile açıklanmaktadır. Plazmid tarafından kodlanan BRO-1 enziminin varlığı çeşitli raporlarda bildirilmişse de genellikle bu enzimlerin kromozomda lokalize genlerle kodlandığına inanılmaktadır (^{1, 7, 11;12}).

β -laktamaz varlığında ampisilin, amoksisilin gibi β -laktam antibiyotikler hızla hidrolize olur. Birlikte pnömokoksik infeksiyon varlığında ve penisilinin ilk tercih olarak kullanıldığı durumlarda, β -laktamaz enzimi ile penisilini parçalayarak indirekt patojenik etki gösterirler. Bir hayvan modelinde, farelere intranazal *S. pneumoniae* ile beraber β -laktamaz üreten *M. catarrhalis* suşu verildiğinde oral penisilin tedavisine rağmen hayvanların %70'inin öldüğü, penisilin yerine amoksisilin-klavulanik asit verildiğinde hepsinin yaşadığı gösterilmiştir (⁴⁶). *M. catarrhalis* izolatları genellikle ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere, makrolidlere ve β -laktamaz inhibitörü içeren kombinasyonlara duyarlıdır. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) β -laktamaz üreten suş varlığında, in vitro β -laktam antibiyotiklere duyarlı bulunsan bile in vivo dirençli kabul edilmesini ve diğer grup antibiyotiklerin kullanılmasını önermektedir (^{1, 10, 15}).

KLİNİK ÖNEMİ VE YAPTIĞI HASTALIKLAR

Önceleri *Neisseria catarrhalis* günümüzde ise *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* olarak adlandırılan bu bakteri son on yıldır önemli bir insan patojeni olarak kabul edilmektedir (^{10,9}). 1970'den önce *M. catarrhalis*'in insan üst solunum yollarının normal flora elemanı olduğuna inanılıyordu (^{10,8,15,16,47}). Bu bilgi herhangi bir kanıt olmamasına rağmen pek çok kitapta mevcuttur (¹⁰). Ancak hem immunsupresif hem de immunkompetan kişilerde *M. catarrhalis*'e bağlı otit, sinüzit ve KOAH'lı hastalarda infeksiyonların alevlenmesi dışında sepsis, pnömoni, menenjit gibi ciddi infeksiyonlara da neden olduğu tespit edildikten sonra önemi artmıştır. Bugün için, *H. influenzae* gibi üst solunum yollarında bulunabilen ve hem lokal hem de sistemik infeksiyonlara neden olabilen potansiyel patojen bir bakteri olarak kabul edilmektedir.

Otitis media: *M. catarrhalis* akut otitis media vakalarının %15-20'sinde etken patojendir. Akut otitis media (AOM) antimikrobiyal tedavideki ilerlemelere rağmen bebeklerde ve çocuklarda en önemli morbidite nedenlerinden biridir. İlk beş yaştaki doktora başvuran çocukların %20-40'ında akut otit tespit edilir. A.B.D.'de yılda 24 milyondan fazla otit vakası görülmektedir. İnsidansı 6-18. aylarda pik yapar. Greater Boston çalışmasında çocukların %60'dan fazlasının ilk bir yaşta bir veya daha fazla, ilk 3 yaşta %80'den fazlasının bir veya daha fazla, %40'dan fazlasının da ilk üç yaşta üç veya daha fazla AOM atağı geçirdiği bildirilmiştir. Akut infeksiyonu takiben orta kulakta oluşan efüzyon haftalarca sürmekte ve çoğunlukla cerrahi girişim gerekmektedir. Bu da çocukta işitme kaybı ve ilerde öğrenme güçlüğüne neden olabilmektedir (^{48,49}). AOM için en önemli risk faktörleri, ilk atağın erken yaşlarda geçirilmesi, aile öyküsü, sigaraya maruz kalma (pasif içicilik), evde kardeş olması, kreş/gündüz bakımevlerine devam etme olarak bulunmuştur. Efüzyonlu otiti olan hastalarda orta kulaktaki mukosilier aktivite gerek sigara içen erişkinlerde ve gerekse sigaraya maruz kalan çocuklarda belirgin olarak düşük bulunmuştur (⁴⁸). Orta kulak efüzyonunun klirensi mukosilier aktiviteye bağlıdır. Silier motilite bozulursa persistan efüzyon riski artar. Yapılan bir çalışmada, günde 20 veya daha çok sigara içen annelerin çocuklarında AOM riskinin en az dört kat arttığı tespit edilmiştir (⁴⁹). Anne sütü ile beslenmenin AOM'ya karşı koruyucu etkisi olduğu ve anne sütü alan çocuklarda mama ile beslenenlere göre otit riskinin belirgin derecede azaldığı

gösterilmesine rağmen bunun mekanizması tam bilinmemektedir. Ancak anne sütünde bulunan sekretuvar immünglobulin A, lizozim ve laktoferrin'in bakteri ve virusların nazofaringial kolonizasyonunu engellediği düşünülmektedir (⁵⁰). Kreşler, toplu yaşanan yerler olması nedeniyle, solunum yolu patojenlerinin erişkinlerden immün sistemi tam gelişmemiş çocuklara geçişinde evlere göre daha büyük risk oluşturmaktadır. Yine viral üst solunum yolu enfeksiyonunun, AOM için en önemli predispozan faktör olduğu düşünülmektedir. AOM'lı hastaların neredeyse tamamında üst solunum yolu enfeksiyon belirtisi ve bulguları vardır. Viral enfeksiyon sonrası solunum yolu epitelinde konjesyon ve doku hasarı oluşur. Çocuklarda östaki tüpü yatık ve kısadır. Bu da nazofarinkteki bakterilerin östaki tüpü aracılığıyla orta kulak boşluğuna geçmesine zemin hazırlar (⁴⁹). Yapılan prospektif bir çalışmada hayatın ilk yılında çocukların %66'sının, ikinci yıl sonunda ise %77.5'inin *M. catarrhalis* ile kolonize olduğu (⁵¹), yine aynı araştırmacının bir başka çalışmasında AOM'lı kişilerin nazofarinksinde sağlıklı kişilere oranla *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis* sayı ve sıklığının arttığı gösterilmiş ve yüksek nazofaringial kolonizasyon oranları ile otitis media riski arasında bir paralellik olduğu bildirilmiştir (⁵²).

Günümüzde akut otit vakalarının %35'inde *S. pneumoniae*, %25'inde *H. influenzae*, %15-20'sinde ise *M. catarrhalis* etkindir (⁵³). *M. catarrhalis*'e bağlı otit diğer patojenlere bağlı otitlere benzemekle birlikte daha az semptomatiktir (⁵⁴). C-reaktif proteinde belirgin bir artışın olmayışı farklı tek bulgudur (¹).

Orta kulak efüzyonlarının %25'i sterildir. Bu steril sıvıların viruslarla ilişkili olduğu düşünülmeye rağmen bu konuda yeterli bilgi yoktur (⁵³). Yine AOM'lı hastaların %30'unda orta kulak sıvısında, tek başına veya bakteriyel patojenlerle birlikte bazı virusların varlığı tespit edilmiştir. Bunlar en sık *influenzae* virus, rhinovirus ve respiratory syncytial virüs (RSV)'tür (⁴⁹).

Viral enfeksiyonlar ekarte edilmesine rağmen kronik otitis media'lıların (>3 ay süren otitis media) %20-30'unda kültür negatif sonuçlanmaktadır. Ueyama ve ark. 80 kişide yaptıkları bir çalışmada sadece 9 kültür pozitifliğine karşılık PCR ile 49 pozitifliğe rastlamışlardır (⁵⁵). Post ve ark. ise kronik otitli 97 çocukta *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis*'e pozitifliğini PCR ile sırasıyla 29, 53 ve 45 bulurken kültürde 5, 21 ve 5 olarak bulmuşlardır (⁵⁶). Son yıllarda, PCR tekniği ile, ateş ve otalji gibi akut enfeksiyon belirtileri olmadan orta kulak boşluğunda sürekli sıvı bulunması ile

tanımlanan efüzyonlu otitis media (EOM)'lı hastalarda *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis*'e ilaveten dördüncü bir bakteri daha (*Alloiococcus otitis*) tanımlanmıştır (⁵⁷). *Alloiococcus otitis* (bazı yazarlar *Alloiococcus otitidis* adını kullanmaktadır) kanlı agarda, aerob şartlarda, 37°C'de 2-5 günde yavaş üremekte ve mikroskopide gram pozitif, büyük koklar halinde diplokok veya tetradlar yaptığı görülmektedir. Safralı eskülinli agarda ve %6.5 NaCL'de üreyen, katalaz ve hipurat pozitif, tellürit, tetrazolium, piruvat, karbonhidrat fermentasyonları negatif, 45°C'de ve anaerob üremeyen bir bakteridir (⁵⁷). Bu nedenle kronik, tekrarlayan ve efüzyonlu otitlerde etkenleri araştırırken adı geçen 3 bakteriye ilaveten bu bakteriye yönelik çalışmalar da yapılmalıdır (⁵⁸⁻⁶¹).

Sinüzit: Akut sinüzit te sıklıkla viral solunum yolu infeksiyonlarının bir komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Paranasal sinüsler normalde sterildir. Ancak üst solunum yolları ve özellikle ağız boşluğu ve burun normal flora elemanları ile kolonizedir. Allerji, viral infeksiyon, travma ve diğer nedenlerle sinüslerdeki mukosilier drenaj bozulursa sinüs boşluklarında sekresyon birikir ve bu ortam bakteri üremesi için idealdir (⁶²). Sinüzit, A.B.D.'de en sık bildirilen hastalıklardan biridir. Nüfusun %14.7'si sinüzitten etkilenmekte ve bu nedenle her yıl 11.6 milyon adet doktora başvuru olmaktadır. Yanısıra antibiyotik kullanımının beşinci önemli sebebidir (^{63;64}). Bu yüzden, büyük oranda iş ve güç kaybına neden olmaktadır.

Sinüzit etkenleri hastanın yaşına, immün direncine ve klinik durumuna göre değişir. Erişkin ve çocuklarda tespit edilen akut sinüzitlerin en sık üçüncü etkeni, *S. pneumoniae* ve tiplendirilemeyen *H. influenzae*'dan sonra *M. catarrhalis*'dir. Stafilokoklar ve anaeroplara (*Veillonella* ve *Bacteroides* türleri) genellikle kronik infeksiyonlardan izole edilir. İmmün supresif hastalarda aynı patojenler etken olabileceği gibi, mikobakteriumlar (*M. kansasii*, *M. chelonae*), funguslar (*Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Cryptococcus neoformans* vb.) ve protozoanlar (*P. carinii*, *Cryptosporidium* türleri)'da etken olarak izole edilebilir (^{62, 63;64}). Uzun süre nazogastrik veya nazotrakeal entübasyon yapılan hastalarda ortaya çıkan nozokomiyal sinüzitlerde *Enterobacteriaceae* üyeleri etken olarak bulunmuştur (^{62, 63;64}). *P. aeruginosa* ise kistik fibrozisli hastalarda ve nazal polip varlığında sıklıkla etkendir (^{63;64}).

Kronik obstrüktif akciğer hastalarında alt solunum yolu infeksiyonları: *M. catarrhalis* özellikle erişkinler için önemli bir alt solunum yolu patojenidir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığının (KOAH) akut alevlenmelerinde, yaşlı hastaların pnömonilerinde ve son zamanlarda nozokomiyal solunum yolu infeksiyonlarında ön plana çıkmıştır (^{1,3}).

KOAH önemli bir hastalık tablosu olup A.B.D.'de ölümlerin dördüncü önemli sebebidir. ABD'de orta yaş ve üzeri popülasyonda prevalansı %5.1-5.4 civarındadır. İngiltere'de ise daha yüksek olup %16.4 olarak bildirilmiştir. Sigara içimi ve pasif içicilik de insidansı artırmaktadır. Nepal'de kronik bronşit prevalansı %18 olarak bulunmuştur. Ancak sigara içiminden çok, yemek pişirme ve ısınmada odun ve samanın sık kullanıldığı ve ortamda yetersiz bir havalandırmanın neden olduğu tespit edilmiştir (⁶⁵). KOAH için önemli risk faktörleri sigara içimi, α_1 antitripsin eksikliği, mesleki olarak bazı irritanlara uzun süre maruz kalma (asbestozis, silikozis vb.)'dır. KOAH hava yollarında ilerleyici kronik obstrüksiyonla karakterize bir klinik tablodur. KOAH'nın akut alevlenmelerinde solunum zorluğu, öksürük ve bol pürülan balgam görülür. Kış ve erken ilkbahar aylarında pik yapar (⁶⁶). Vakaların %50-75'inde bakteriyel patojenler etkindir. KOAH'nın akut alevlenmelerinde tiplendirilemeyen *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* eskiden beri etken olarak bilinirken, günümüzde *M. catarrhalis* tiplendirilemeyen *H. influenzae*'dan sonra ikinci en sık etken patojen olarak bildirilmektedir. 1990'da A.B.D.'de yapılan bir çalışmada alt solunum yolu infeksiyonlu hastalarda *H. influenzae*'dan sonra ikinci sıklıkla ve %23 oranında izole edilmiştir (¹⁵). 1995'de yapılan bir çalışmada ise balgam örneklerinin %35'inden *H. influenzae*, %42'sinden *M. catarrhalis* ve %10'undan *S. pneumoniae* izole edilmiştir (⁶⁷).

Akut alevlenmeler sırasında KOAH'lı hastalardan alınan balgam ve transtrakeal aspiratların gram boyamasında gram negatif diplokok hakimiyeti, kültürde saf kültüre yakın *M. catarrhalis* izole edilmesi, uygun antibiyotik tedavisi ile hastaların iyileşmesi, bazen hastaların kan ve plevral sıvılarından *M. catarrhalis* izole edilmesi ve hastalarda homolog suşa karşı spesifik antikor cevabının geliştiğinin serolojik olarak gösterilmesi bu bakterinin infeksiyon etkeni olduğunu kanıtlamaktadır. "Veterans Administration Facility" nin yaptığı bir çalışmada KOAH'nın akut alevlenmelerinde *M. catarrhalis* %30 etken patojen olarak tespit edilmiştir (³). Tedavide, gerek *H. influenzae*

gerekse *M. catarrhalis* suşlarının büyük çoğunluğunun β -laktamaz üretmesi nedeniyle ampisilin, amoksisilin yerine β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, ikinci/üçüncü kuşak sefalosporinler veya makrolidler tercih edilmelidir (^{3, 67, 68}). Yine prospektif bir çalışmada yaşlılarda toplum kaynaklı pnömonilerin %10'unda *M. catarrhalis* etken olarak bulunmuştur (³). Bir literatür taramasında *M. catarrhalis*'in etken olduğu alt solunum yolu infeksiyonu olan hastalarının ortalama yaşı 64.8 olarak bildirilmiştir. 60 yaşın altında *M. catarrhalis* taşıyıcılığı %5.4, 60 yaşın üzerinde ise %26.5 olarak tespit edilmiştir. Bu da yaşla beraber *M. catarrhalis*'e bağlı solunum yolu infeksiyon riskinin arttığını göstermektedir. *M. catarrhalis* pnömonisi olan yaşlı hastaların çoğunda altta yatan bir hastalık mevcuttur. KOAH, bronşektazi, konjestif kalp yetmezliği sık görülür (^{3, 16}). Birmingham'da yapılan prospektif bir çalışmada bronşektazili hastaların %28'inden *M. catarrhalis* izole edilmiştir (¹⁶). *M. catarrhalis*'e bağlı pnömoni yaşlılarda sık görülmesine rağmen fulminan seyir nadirdir. Fazla yüksek olmayan ateş, pürülan balgam ve solunum zorluğu vardır. Akciğer grafisinde yama tarzında veya lobar alveoler infiltrasyon görülür. Plevral efüzyon ve ampiyem gibi komplikasyonlar sık görülmez.

Nozokomiyal solunum yolu infeksiyonları: Nozokomiyal infeksiyonlar içinde üriner infeksiyon ve yara infeksiyonlarından sonra pnömoniler üçüncü sıklıkla görülmektedir. Ancak nozokomiyal pnömonilerin mortalitesi oldukça yüksektir. Hastaların yaklaşık yarısı tedaviye rağmen kaybedilir. Nozokomiyal pnömoni insidansı yaklaşık %0.6 iken, solunum ünitelerinde bu oran %20'dir. Nozokomiyal pnömonili hastaların %20-25'inde mekanik ventilasyon gerekmektedir (⁶⁹). 1980'li yılların ortalarından itibaren *M. catarrhalis*'e bağlı nozokomiyal infeksiyon epidemileri bildirilmiştir. En çok solunum ünitelerinde, nozokomiyal solunum yolu infeksiyonlarına neden olur. *M. catarrhalis* infeksiyonlarına eğilimli kardiyopulmoner patolojisi olan hastalarda nozokomiyal *M. catarrhalis* epidemileri daha sık görülmektedir. Yapılan suş analizleri sonucunda *M. catarrhalis*'in insandan insana taşındığı da gösterilmiştir (^{70, 71}). Bu da nozokomiyal epidemilerin önlenmesinde oldukça önemli bir ipucudur. Ayrıca nozokomiyal *M. catarrhalis* suşlarının en sık izole edildiği dönemde Influenza A virüs izolasyon sıklığının da en yüksek oranda olması, viral infeksiyonu takiben *M. catarrhalis* infeksiyonunun daha sık görüldüğü tartışmasını gündeme getirmektedir (⁷¹).

Yaşlılarda toplumsal kaynaklı pnömoni: Avrupa ve Amerika'daki birçok merkezde yapılan çalışmalara göre yaşlılarda görülen toplumsal kaynaklı pnömonilerin %10'undan *M. catarrhalis* sorumludur. Yapılan bir çalışmada, toplumsal kaynaklı pnömoni hastalardan alınan balgamlarda %34, nazofarınjial sürüntülerde %28 oranında *M. catarrhalis* izole edilmiştir (⁷²). Bu hastaların birçoğunda *M. catarrhalis*'e bağlı pnömoniye zemin hazırlayan KOAH, konjestif kalp yetmezliği, diabetes mellitus veya diğer kronik hastalıklar tespit edilmiştir. Yaşlılarda *M. catarrhalis*'e bağlı pnömoni şiddetli olmasına karşılık fulminan değildir (⁵).

Diğer enfeksiyonlar: Akciğer enfeksiyonları dışında *M. catarrhalis*'e bağlı menenjit (⁷³), sepsis (⁷⁴) ve endokardit (⁷⁵) vakaları da literatürde mevcuttur. Son on yılda *M. catarrhalis*'e bağlı invaziv enfeksiyonlarda bir artış olduğu bildirilmektedir (⁷⁴). Bir literatür taramasında son 80 yıl içinde 24 menenjit, 1925-1990 yılları arasında 5 endokardit ve 9 sepsis vakası olduğu bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlar içinde endokardit vakaları mortalitesi en yüksek olan gruptur. Hastaların çoğunda malignite, AIDS, romatizmal kardit gibi altta yatan hastalık olmakla birlikte, hastaların bir kısmının önceden tamamen sağlıklı olması bu bakterinin patojenitesini göstermesi açısından önemlidir (^{1, 9, 10}). Bir başka retrospektif çalışmada ise *M. catarrhalis* sepsisi olarak bildirilen 22 vakanın 14'ünde (%63) altta yatan bir hastalık bulunamamış ve altı tanesi (%27) fatal seyretmiştir (⁷⁶). Yine önceden tamamen sağlıklı 16 aylık zenci bir çocukta nontravmatik preseptal sellüitten sonra sepsis geliştiği ve kandan *M. catarrhalis* izole edildiği bildirilmiştir (⁶⁵). Sepsis vakalarında erişkinlerde deri döküntüsü sık görülmezken, çocuklarda meningokoksemin benzeri peteşi, purpura tarzında döküntülerin genellikle olduğu bildirilmiştir (⁷⁶).

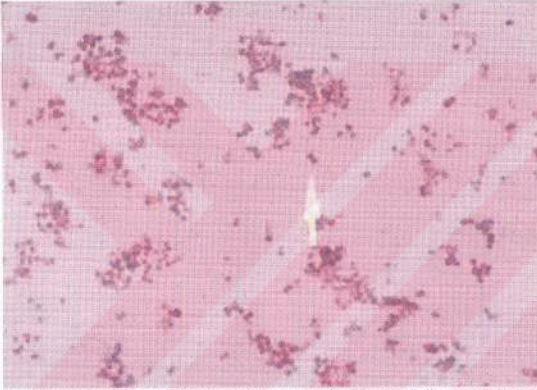
M. catarrhalis'e bağlı septik artrit, osteomyelit, trakeit, peritonit, yara enfeksiyonu, oftalmia neonatorum ve akut üretrit vakaları nadir olsa da literatürde mevcuttur (^{1, 9, 10, 76, 77, 78}).

LABORATUVAR TANISI

1) Örnek seçimi: Otitis media'da timpanosentez sıvısı, sinüzitte ise sinüs aspiratları ideal örnekler olmakla birlikte invaziv girişimler olmaları nedeniyle uygulama güçlüğü söz konusudur. Bu nedenle üst solunum yolu enfeksiyonlarında boğaz ve nazofarinks sürüntü örnekleri incelenebilir. Alt solunum yolu

infeksiyonlarında ise balgam, transtrakeal aspirat ve bronkoalveoler lavaj sıvıları alınabilir. Yine sepsis ve menenjit durumunda kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) yararlıdır (^{1, 7, 10}).

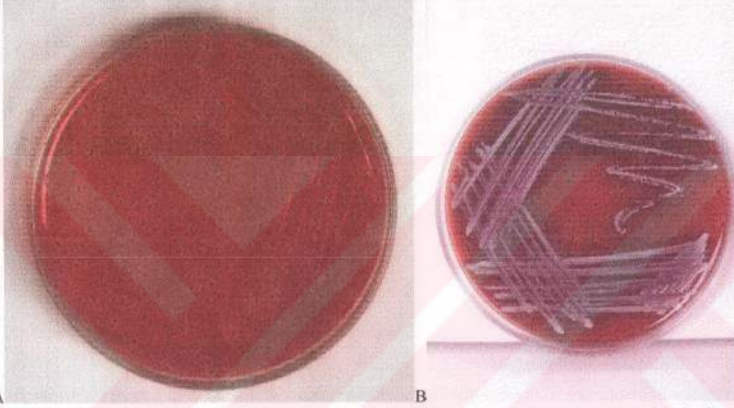
2) Direkt mikroskopi: Örneğin gram boyamasında, çoğunlukla hücre dışında bazen de hücre içinde gram negatif diplokokların görülmesi tanıda yardımcıdır. Ancak *M. catarrhalis* gram boyamada alkolle dekolorizasyona direnç gösterir. Bu nedenle aseton ile alkolün 1:1 oranındaki karışımının 20 saniye uygulanması ile optimum sonuç elde edilmektedir (^{1, 9, 15, 17}).



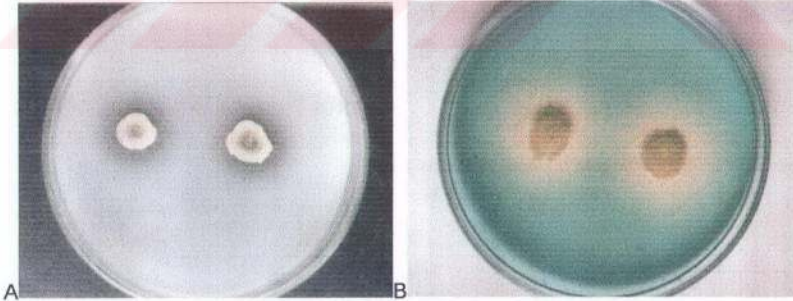
Şekil 1. Kültürden yapılan gram boyamada *Moraxella*'ların görünümü.

3) Kültür: *M. catarrhalis* rutin besiyerlerinde ürer. Kanlı ve çikolata agarda 35°C'de 24-48 saatlik inkübasyondan sonra gri-beyaz, opak "S" tipi nonhemolitik koloniler gözlenir (Şekil 2). Klasik bilgi olarak 35°C'de nütrient agarda, 22°C'de çikolata agarda üreyebildiği söylenmesine rağmen bu değişkendir. %5-10 CO₂'li ve nemli ortamda üremeleri artar. Koloniler agara yapışık olmadığından, agar yüzeyinde öze ile kaydırılabilir. *M. catarrhalis*'in agar yüzeyinde buz hokeyi gibi kayması bu bakteriye özgüdür ve tanıda yardımcıdır. Balgam, nazofarinks gibi florali bölgelerden alınan örneklerin ekiminde selektif besiyeri tercih edilmelidir. Vaneechoutte ve ark. nın önerdiği vankomisin, trimetoprim, amfoterisin B ve asetazolamid içeren besiyeri tam bir selektiflik sağlamaktadır (^{1, 9, 4, 15}). Inkübasyondan sonra şüpheli kolonilerden gram boyama yapılır. Gram negatif diplokokların görülmesinden sonra biyokimyasal testlerle identifikasyona gidilir. Diğer *Neisseria* üyeleri gibi *M. catarrhalis* de katalaz ve

oksidaz pozitifdir. Ancak *M. catarrhalis* karbonhidratlara etki etmez (^{7, 20, 79}). Ayrıca DNase aktivitesi vardır (Şekil 3). Yanısıra bütirat esteraz enzimine sahiptir ve bu enzimle tribütirini hidroliz eder (Şekil 4). Tribütirin dışında 4-methylumbelliferil bütirat (MUB), gliserol bütirat veya indoxyl bütirat gibi substratlar da kullanılabilir. Tribütirin agarı ekim gibi klasik metodun yanında bu substratlardan hazırlanmış ticari testler de mevcuttur. Ancak bunlar hızlı tanıda faydalı olmakla birlikte yeterince özgül değildir.



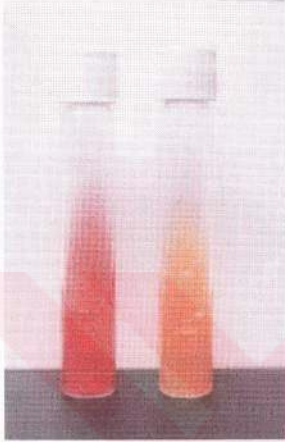
Şekil 2. *Moraxella catarrhalis* – kolonileri : A) 24 saatlik inkübasyondan sonra "tiny" koloniler ve B) 48 saatlik inkübasyondan sonra gri-beyaz, opak "S" tipi nonhemolitik koloniler



Şekil 3. *Moraxella catarrhalis* – DNase testi A) HCl ile B) Metil green'i

M. catarrhalis ayrıca Tween-80 hidrolizi yapar. Bu test polisorbitat 80 ile bağlı nötral red'in bakteriyel esterazlarla ayrıştırılması esasına dayanır (Şekil 5). *M. catarrhalis*'i diğer oksidaz pozitif gram negatif diplokoklardan ayırt etmede kullanılabilen pratik ve ucuz bir testtir (^{1, 60}). Koç ve ark. yaptığı çalışmada Tween-80

hidroliz testini, 148 *Neisseria* suşunun hepsinde negatif ve 35 *M. catarrhalis* suşunun hepsinde pozitif bulmuşlardır. Ayrıca, Tween-80'li ayıraç içine yoğun inokulum yapıldığında 3-4 saatte pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir (⁸¹).



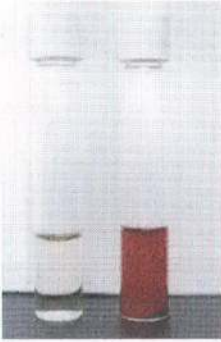
Şekil 4. Moraxella catarrhalis - Tributirin testi



Şekil 5. Tween-80 hidrolizi.

Tanıda kullanılabilecek diğer bir test nitrat redüksiyonudur. Klasik yöntem olarak sıvı nitrat besiyeri kullanılabileceği gibi, ticari olarak hazırlanmış ve nitrat emdirilmiş hazır diskler de kullanılabilir (Şekil 6).

M. catarrhalis pratikte en sık *N. sicca*, *N. subflava*, *N. mucosa* gibi saprofit *Neisseria* larla karışır. Bu da identifikasyon problemlerine yol açar. Catlin ve ark. gram negatif, oksidaz pozitif bakterilerin ayrıcı tanısında nitrat redüksiyonu, DNase testi ve bir esterase testi (İndoxyl asetat, MUB, Tribütirin veya Tween-80)'nin pozitifliği ile *M. catarrhalis* tanısının konulabileceğini bildirmişlerdir (⁸²).



Şekil 6. *Moraxella catarrhalis* – Nitrat redüksiyonu

Bunların dışında yine ticari olarak hazırlanmış multitest identifikasyon sistemleri mevcuttur. Bu sistemler, klasik testlerin modifiye edilmesi ve kromojenik substrat testlerinin eklenmesi ile elde edilmiştir. Bunlardan API NH sistemi, *Neisseria* ve *Haemophilus* türleri ile *M. catarrhalis*'in tanısında kullanılan bir sistemdir. Dört fermentasyon testi (glukoz, fruktoz, maltoz ve sükroz), sekiz enzimatik reaksiyon (ornitin dekarboksilaz, üreaz, lipaz, alkalın fosfataz, prolin arilamidaz, β -galaktozidaz, prolin arilamidaz, γ -glutamil transferaz ve indol üretimi) ve penisilinaz aktivitesi olmak üzere 13 test içerir. İki saatte sonuç verebilen API NH bu grup bakterileri hızlı ve güvenilir bir şekilde identifiye etmektedir⁽⁸³⁾. Ancak yoğun inokulum gerektirdiğinden (McFarland no.4) primer kültür her zaman yeterli olmayabilir ve subkültür gerekir.

BBL-Crystal NH identifikasyon sistemi de aynı prensiple identifikasyon sağlamaktadır. Toplam 29 biyokimyasal/enzimatik reaksiyon test edilmekte olup 4 saatte sonuç alınabilmektedir. *Neisseria*, *Haemophilus* ve *Moraxella* türleri dışında diğer müşkülpesent (zor üreyen) bakteriler de (*Eikenella*, *Kingella*, *Sutonella* vd.) identifiye edilebilmektedir.

M. catarrhalis suşları büyük oranda β -laktamaz üretmektedir. β -laktamaz üretimini tespit için kullanılan çeşitli metotlar vardır. Klinik laboratuvarlarda en sık kromojenik sefalosporin metodu kullanılmaktadır. Ticari olarak hazırlanmış, kromojenik sefalosporin olan nitrosefin emdirilmiş diskler mevcuttur. Disk steril distile su ile ıslatılıp üzerine bakteri inoküle edildikten sonra bakteri β -laktamaz ürettiyse diskin rengi sarıdan pembe-kırmızı rene dönüşür. Bu metotla enterokoklar dahil pek çok bakterinin β -laktamazları tespit edilebilmektedir. Bunun dışında PADAC,

asidometrik ve iometrik metotlar da kullanılabilir. Ancak bunlar *M. catarrhalis*, *Bacteroides* türleri ve enterokokların β -laktamazlarını her zaman tespit edemedikleri için pratikte en sık nitrosetin diski kullanılmaktadır (⁸⁴).

4) Seroloji: *M. catarrhalis* infeksiyonlarının tanısında tek başına serolojik testlerin değeri tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada, *M. catarrhalis* izole edilen pnömonili 6 hastada ELISA ile antikor cevabı araştırılmış ve bu hastaların dördünde yüksek antikor titreleri bulunurken, ikisinde antikor cevabı gözlenmemiştir (^{59,61}). Otitis medialis çocuklarda yapılan bir çalışmada orta kulak sıvısında *M. catarrhalis*'e karşı lokal antikor cevabı belirgin olarak yüksek bulunurken, sistemik antikor cevabı daha düşük bulunmuştur (⁵⁴). Bu nedenle seroloji, infeksiyon tanısını destekler, ancak duyarlılığı düşüktür.

5) Moleküler Yöntemler: *M. catarrhalis* infeksiyonlarının tanısında gram boyama ve kültür yöntemleri dışında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) da giderek popüler hale gelmektedir. Özellikle orta kulak sıvısında multiplex PCR ile bakteriyel patojenlerin tespiti (^{59,61}), balgamdan da *M. catarrhalis*'in tespitinin mümkün olabileceğini düşündürmektedir. PCR metodunun en önemli avantajı duyarlılığının yüksek olması ve hızlı identifikasyon sağlamasıdır. Ancak balgam örneğinin kalitesi bu metodu sınırlamaktadır (³).

Nozokomiyal epidemiler sırasında izole edilen suşların genotiplendirilmesinde ise sıklıkla kullanılan yöntem, genomik DNA'nın restriksiyon endonükleaz analizi (REA)'dir. Son yıllarda REA genomik DNA'ya ait büyük fragmanların "Pulsed Field Gel Electrophoresis" (PFGE) ile gösterilmesi sonucu daha duyarlı bir yöntem haline gelmiştir (¹).

EPİDEMİYOLOJİ VE KOLONİZASYON

M. catarrhalis, üst solunum yollarında normalde bulunabilen potansiyel bir patojendir. Solunum yolu kolonizasyon oranları yaş, mevsim, immün direnç ve coğrafik bölgelere göre değişmektedir. Belçika'da sağlıklı çocuklarda kolonizasyon %50.8, erişkinlerde %5.4 ve 60 yaşın üzeri grupta ise %26.5 olarak bildirilmiştir (⁹). Kolonizasyon çocuklarda ve yaşlılarda, erişkinlere göre daha sıktır. Yine astımlı çocuklarda (%70) aynı yaş grubundaki sağlıklı çocuklara göre (%33) daha yüksek kolonizasyon tespit edilmiştir (¹⁰). Öksürük şikayeti olan 180 çocuğun %66.1'inde, 67

kişilik kontrol grubunun ise %28.3'ünde *M. catarrhalis* izole edilmiştir (⁹). Sağlıklı erişkinlerin yaklaşık %1-5'i *M. catarrhalis* ile kolonizedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 6-7 yaşında sağlıklı çocukların %22'sinde ve 20-22 yaş genç erişkin grubun %5'inde *M. catarrhalis* kolonizasyonu tespit edilmiştir (⁸⁵). Kronik akciğer hastalığı olan erişkinlerde sağlıklı erişkinlere göre daha yüksek oranda solunum yolu kolonizasyonu görülür (⁸⁶). *M. catarrhalis* ile solunum yolu kolonizasyonunun dinamiği iki prospektif çalışmada araştırılmıştır. Faden ve ark., doğumdan iki yaşına kadar izlenen 120 çocuğu izlemiş, bu çocukların nazofaringial kültürlerinden elde edilen suşları genomik DNA'nın restriksiyon endonükleaz analizi ile incelemiş ve çocuklardan *M. catarrhalis* suşları elimine edildikten sonra yeni suşlarla tekrar kolonize olduklarını tespit etmişlerdir. Aynı çalışma grubunun birinci yıl sonunda %66'sının, ikinci yıl sonunda ise %77.5'inin *M. catarrhalis* ile kolonize olduğunu ve yüksek kolonizasyon oranlarının, artmış otitis media riski ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (⁵¹). Klingman ve ark. bronşektazili erişkinlerde prospektif olarak elde edilen suşları PFGE ile incelemiş ve aynı suş ile kolonizasyon süresinin yaklaşık 2.3 ay olduğunu göstermişlerdir. Farklı gruplarla yapılan bu çalışmalardan üst solunum yollarının *M. catarrhalis* ile kolonizasyonunun elimine edilebildiği, ancak yeni suşlarla tekrar kolonizasyonun oluştuğu görülmektedir (³).

Nazofaringial *M. catarrhalis* kolonizasyonu ile otitis media arasında ilişki tespit edilmiştir. Sağlıklı çocuklara göre, nazofaringial *M. catarrhalis* kolonizasyonu otitis media adayı çocuklarda daha sıktır. Ayrıca, erken kolonizasyon, tekrarlayan otitis mediaya neden olmaktadır (^{51, 52, 87}).

Kostarika'da yapılan bir çalışmada, 440 çocuk doğumdan itibaren bir yıl süre ile izlenerek *M. catarrhalis* ile nazofaringial kolonizasyon araştırılmış ve çocukların %95-100'ünün en az bir kez kolonize olduğu, kreşe giden kardeşi olan grupta kolonizasyon oranının anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur (⁸⁸).

M. catarrhalis infeksiyonları kış ve erken ilkbahar aylarında artış gösterir. Yazın ise azalır. Yapılan bir çalışmada, *M. catarrhalis* infeksiyonlarının insidansı Ocak-Nisan aylarında en yüksek bulunmuştur. Yaz ve erken sonbahar aylarında ise en düşük düzeydedir (^{1, 15}). Bu mevsimsel özellik, viral infeksiyonların artışı ile paralellik göstermekle birlikte, arada bir bağlantı olup olmadığına dair bilimsel bir veri mevcut değildir. Ancak, viral infeksiyonun mukozada yaptığı hasarın *M. catarrhalis*

kolonizasyonuna ve infeksiyonuna yol açtığı düşünülmektedir (^{1,2,53}). *M. catarrhalis* infeksiyonları önceki yıllara oranla günümüzde daha yaygındır. Hollanda'da yapılan bir çalışmada *M. catarrhalis*'in tüm solunum patojenleri arasında 1977'de %5, 1982'de %20, 1986'da %26 oranında etken olduğu bildirilmiştir (¹⁵). Bunda bakterinin büyük oranda β -laktamaz üretmesi ve bu nedenle antibiyotiklere direnç göstermesinin yanında, günümüzde bu bakterinin identifikasyonuna yönelik çalışmaların hız kazanmasının da rolü olabilir.

TEDAVİ VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

M. catarrhalis infeksiyonlarının tedavisinde en önemli sorun, izolatların çoğunun β -laktamaz üretmesidir. 1970'li yıllara kadar β -laktam antibiyotik duyarlılığı, bu tür için genel bir özellik olarak kabul edilirken, ilk kez 1977'de β -laktamaz üreten *M. catarrhalis* suşu bildirilmiştir (^{1,2,7,9,10,11,12}). A.B.D.'de yapılan surveyans çalışmaları sonucunda izole edilen suşların 1992'de %92.1, 1993'te %93.8 ve 1994'te %96.5'inin β -laktamaz ürettiği bildirilmiştir (¹³). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise bu oran %95 olarak bulunmuştur (¹⁴).

M. catarrhalis'in β -laktamazları BRO-1 ve BRO-2 olarak tanımlanan fenotipi benzer iki enzimden oluşmakta ve bunlar indüklenebilmektedir (³). Hücre ile sıkı ilişkili olup sefalosporinlerden çok penisilinlere karşı aktiftir ve β -laktamaz inhibitörleri ile inhibe olurlar. BRO-1 içeren suşlar BRO-2 içerenlere göre daha güçlü bir enzim aktivitesine sahiptir. Bu nedenle BRO-1 daha yüksek MİK değerlerine sahiptir (⁸⁹). Fung ve ark. Tayvan'da 12 laboratuvaradan toplanan 271 *M. catarrhalis* suşunun 266'sının (%98.2) β -laktamaz ürettiğini, izoelektrik fokuslama ile 238 izolatın (%88) BRO-1, 32 izolatın ise BRO-2 (%12) enzimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca BRO-1 üreten suşların ampisilin için MİK değerinin enzim üretmeyenlerden 63 kat, BRO-2 üretenlerden ise 6.5 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (⁹⁰). β -laktamaz negatif suşlar, antibiyotiklerin en düşük dozlarında bile inhibe olurken; β -laktamaz üreten suşlarda penisilin ve ampisilin direnci yüksek bulunmaktadır. 1988 yılında NCCLS *M. catarrhalis*'in ampisilin için MİK değerinin ≤ 0.25 $\mu\text{g/ml}$ ise duyarlı, ≥ 0.5 ise dirençli olarak kabul edildiğini bildirmiştir. Buna göre β -laktamaz üreten suşların üçte biri NCCLS kriterlerine göre ampisiline duyarlıdır. Ancak MİK değerleri

düşük olsa bile, pratikte tüm β -laktamaz üreten *M. catarrhalis* suşları penisilin ve ampisiline dirençli kabul edilmelidir (^{1,10,15}). Ayrıca, ampisilin ile antibiyotik duyarlılık testi yapılırken *M. catarrhalis*'in inokulum yoğunluğuna bağlı olarak duyarlı sonuç alınabileceği bildirildiğinden, β -laktamaz üreten suşlarda antibiyogram sonucuna göre duyarlı olsa da ampisilin kullanılmamalıdır (⁵).

BRO enzimleri dışında, bir *M. catarrhalis* suşunda TEM-1 β -laktamaz bildirilmiştir. Aynı suшта aminoglikozidler fosforile eden iki enzim de saptanmıştır (^{2,4,15}). Bunun yanında, 1998'de pnömonili immünsupresif bir hastanın balgam örneğinden levofloksasin dahil pek çok florokinolona dirençli bir *M. catarrhalis* suşunun izole edilmesi, bu bakterinin antimikrobiyal direnç profilinin giderek genişlediğini göstermektedir (⁹¹). Tüm *M. catarrhalis* suşları penisilin, ampisilin, metisilin, vankomisin, trimetoprim ve klindamisine doğal dirençlidir. Trimetoprime dirençli olmalarına rağmen trimetoprim-sulfametoksazol kombinasyonuna oldukça duyarlıdır. Ancak Amerika'da 1994-1995 yılları arasında yapılan 30 merkezli bir surveyans çalışmasında ayaktan tedavi gören hastalardan elde edilen 723 *M. catarrhalis* klinik izolatında %6.5 oranında bir trimetoprim-sulfametoksazol direnci bildirilmiş, aynı çalışmada eritromisin ve tetrasiklin direnci gözlenmemiştir (⁹²). *M. catarrhalis* suşlarının pek çoğu β -laktamaz üretmekle birlikte diğer antibiyotiklere direnç oranı oldukça düşüktür (⁹³). *M. catarrhalis* infeksiyonlarının tedavisinde; ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit gibi β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar; tetrasiklinler; sefiksim, sefpodoksim, sefaklor, lorakarbef, sefuroksim gibi ikinci ve üçüncü kuşak geniş spektrumlu oral sefalosporinler; siprofloksasin, sparfloksasin, ofloksasin, grepafloksasin gibi florokinolonlar ile makrolidler tercih edilmelidir (^{1,2,3,9,10,15}).

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada Ekim 1999-Şubat 2000 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kulak Burun Boğaz polikliniğine başvuran Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu (ÜSYI) ön tanılı 104 hastadan (grup 1) boğaz ve nazofarinks sürüntüsü alındı. Yine aynı dönemde Göğüs Hastalıkları polikliniğine başvuran veya Göğüs Hastalıkları servisinde yatarak tedavi gören alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYI) ön tanılı toplam 108 hastadan (grup 2) alınan balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL) vd. alt solunum yolu örnekleri incelemeye alındı. Balgam örneklerinden direkt mikroskopide hücresel kriterlere uygun bulunanlara mikrobiyolojik kültür yapıldı. Her hasta için, önceden hazırlanmış formlar doldurularak adı, soyadı, yaş, cinsiyet, ön tanı, alışkanlıklar (sigara, alkol), başka bir hastalık varlığı, antibiyotik öyküsü olup olmadığı kaydedildi. Sağlıklı kontrol grubu olarak, 52 erişkin (grup 3) ve kreşe devam eden 56 çocuk (grup 4)'tan oluşan toplam 108 kişiden boğaz sürüntüsü alındı. Alınan örneklerin mikrobiyolojik kültürleri yapıldı.

A) ÖRNEKLERİN ALINMASI, EKİMLER VE KÜLTÜRLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Grup 1'deki hastalardan alınan sürüntü örnekleri en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılarak ekimler yapıldı. Boğaz sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agar ve *M. catarrhalis* selektif besiyerine, nazofarinks sürüntüleri ise koyun kanlı agar, çikolata agar ve *M. catarrhalis* selektif besiyerine ekildi. Çikolata agar %5-10 CO₂'li ortamda, diğer besiyerleri ise normal aerop ortamda inkübe edildi. 24 saat sonunda üreme olmayan veya ince üreme olan plaklar 24 saat daha inkübe edildi.

Grup 2'deki hastalardan alınan balgam ve diğer alt solunum yolu örnekleri, kapaklı steril plastik kaplar içinde laboratuvara ulaştırıldı. Balgam örneklerinden ekimden önce direkt preparat hazırlanıp gram boyama yapıldı. Her sahada 25'ten fazla lökosit veya 10'dan az epitel bulunan örnekler, kültür için uygun bulunarak %5 koyun kanlı agar, EMB agar ve *M. catarrhalis* selektif besiyerlerine ekim yapıldı. Ekim yapılan plaklar, normal aerop şartlarda 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreme olmayan veya ince üreme olan plaklar 24 saat daha inkübe edildi.

Grup 3 ve 4'deki sağlıklı kişilerden alınan boğaz sürüntü örnekleri ise *M. catarrhalis* selektif besiyerine ekildi. Selektif besiyeri 35°C'de normal aerop şartlarda 24 saat inkübe edildi. Üreme olmayan plaklar 24 saat daha inkübe edildi.

Inkübasyon sonunda selektif besiyerinde üremiş gri-beyaz, opak, nonhemolitik, agar yüzeyinde öze ile kaydırılabilen "S" tipi kolonilerden gram boyama yapıldı. Gram negatif diplokok olduğu belirlenen kolonilere katalaz ve oksidaz testleri yapıldı. Katalaz ve oksidaz testi pozitif gram negatif diplokoklara *M. catarrhalis* yönünden diğer testler uygulandı. Bu amaçla karbonhidrat fermentasyon testleri (glukoz, maltoz ve sükroz), DNase testi, nitrat redüksiyonu, Tween-80 ve tribütirin hidroliz testleri yapıldı. Karbonhidratları fermente etmeyen, DNase pozitif, nitrat redüksiyonu yapan, Tween-80 ve tribütirini hidrolize eden bakteriler *M. catarrhalis* olarak değerlendirildi. Ayrıca bu suşlar konfirmasyon için BBL-Crystal NH identifikasyon sistemi ile test edildi. *M. catarrhalis* olduğu tespit edilen suşlara Müller Hinton agarda NCCLS standartlarına uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi antibiyotik duyarlılık deneyi yapıldı (^{94,95}). Suşların β -laktamaz aktiviteleri nitrosefin emdirilmiş çubuklar (OXOID) kullanılarak saptandı. Örneklerde üreyen diğer patojen bakterilerin identifikasyonunda standart yöntemler ve gerektiğinde SCEPTOR (Becton- Dickinson) identifikasyon sistemleri kullanıldı.

B)MORAXELLA CATARRHALIS İZOLASYONUNDA KULLANILAN BESİYERLERİNİN HAZIRLANMASI

1) Koyun Kanlı Trypton Soya Agar (OXOID)

Tryptone	15 gr
Soya pepton	5 gr
Sodium chloride	5 gr
Agar	15 gr

Final pH: 7.3 $\pm$ 0.2

Bu toz karışımdan 40 gram tartıldı ve 1 litre distile su eklenip karıştırıldı. Benmaride tamamen çözünmesi sağlandı. 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Besiyeri 40-45°C'ye kadar soğuyunca 50 ml defibrine koyun kanı aseptik şartlarda besiyerine eklendi. İyice karıştırıldıktan sonra pH metre (MERCK) ile pH ayarı yapıldı

aseptik şartlarda cam petrilere dağıtıldı. Her defasında iki adet besiyeri sterilizasyon kontrolü için 24 saat etüvde inkübe edildi. Daha sonra besiyerleri buzdolabında saklandı.

2) Çikolata agar

Koyun kanlı agar gibi çikolata agar da trypton soya agardan hazırlandı. Yalnız besiyeri otoklavdan çıkarıldıktan sonra daha 70-80°C sıcaklıkta iken 50 ml defibrine koyun kanı eklendi. Bu sıcaklıkta bir süre karıştırılarak eritrositlerin parçalanıp, besiyeri renginin çikolata rengine dönüşmesi sağlandı. 40-45°C'ye kadar soğuyunca aseptik şartlarda steril petrilere dağıtıldı. Yine kontrol plağı etüve konulduktan sonra, besiyerleri buzdolabına kaldırıldı.

3) EMB (Eosin Methylene Blue) Agar (BBL)

Pancreatic Digest of Gelatin	10 gr
Lactose	10 gr
K ₂ HPO ₄	2 gr
Eosin Y	0.4 gr
Methylene Blue	0.065 gr
Agar	15 gr

Bu karışımın 37.4 gramı 1 litre distile su ile karıştırıldı ve benmaride tamamen eritildi. Daha sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika tutularak steril edildi. 45-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere aseptik şartlarda dağıtıldı. Sterilizasyon kontrolünden sonra plaklar buzdolabına kaldırıldı.

4) *Moraxella catarrhalis* Selektif Besiyeri

Özellikle balgam ve nazofarinks gibi floralı bölgelerden alınan örneklerden *M. catarrhalis* izolasyonunda kullanılmak üzere, Vaneechoutte ve ark.'nın önerdiği selektif besiyeri hazırlandı.

Bu besiyerini hazırlamak için 10 mg vankomisin, 5 mg trimetoprim, 2 mg amfoterisin B ve 10 mg asetazolamid solüsyonu hazırlandı. Vankomisinin (SIGMA) 0.05 gramı 1 ml distile suda, trimetoprimum (SIGMA) 0.05 gramı ılık 0.05 N HCl çözeltisinde, amfoterisin B'nin (SIGMA) 0.02 gramı 1 ml distile suda ve

asetazolamidin (SIGMA) 0.01 gramı 1 ml 0.2 N NaOH içinde çözüldü. Bu stok solüsyonlar hazırlandıktan sonra yukarıda belirtilen miktarda, %5 defibrine koyun kanı eklenmiş trypton soya agara 40-45°C sıcaklıkta iken eklendi. İyi karıştırıldıktan sonra pH ayarı yapıp aseptik şartlarda petrilere dağıtıldı. Sterilizasyon kontrolünden sonra besiyerleri buzdolabına kaldırıldı.

M. catarrhalis vankomisin ve trimetoprim'e doğal dirençlidir. Besiyerine, vankomisin, trimetoprim, amfoterisin B ve asetazolamid eklenmesi halinde bu ajanlar sırasıyla floradaki gram pozitif bakterilerin, bazı gram pozitif ve gram negatif bakterilerin, mayaların ve *Neisseria*'ların üremesini engellemektedir. *Neisseria* türleri tarafından üretilen karbonik anhidraz enzimi bu bakterilerin üremesi için gereklidir. *M. catarrhalis*'in bu enzimi yoktur. Besiyerine konulan sodyum asetazolamid sentetik bir sülfonamid 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 asetazolamidin inhibitör etkisi kaybolduğundan, besiyeri normal atmosfer şartlarında inkübe edilmiştir.

C) *MORAXELLA CATARRHALIS* İDENTİFİKASYONUNDA KULLANILAN TESTLER

1) Katalaz Testi (^{96,97}): Bu test, katalaz enzimi olan bakterilerin hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırması temeline dayanır. İncelenecek bakterinin katalaz enzimine sahip olup olmadığını araştırmak amacıyla, hidrojen peroksit (H₂O₂)'ten %3'lük solüsyon hazırlandı. Siyah bir zemine bu solüsyondan birkaç damla damlatıldıktan sonra şüpheli koloniler bu sıvıya inoküle edildi. Hava kabarcıklarının gözlenmesi halinde test pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923, negatif kontrol olarak *E. faecalis* ATCC 25912 suşu kullanıldı.

2) Oksidaz Testi (⁹⁷): Solunumunu oksidatif fosforilasyonla yapan bakterilerin bu reaksiyonlarda kullandıkları son terminal sitokrom, sitokrom oksidaz enzimidir. Oksidaz deneyi bu enzimatik etkinliğin tespitine dayanır. Bu amaçla süzgeç kağıdı üzerine %1'lik N,N,N,N, tetra methyl 1,4 phenylendiamin (MERCK) solüsyonundan (oksidaz ayırıcı) bir miktar döküldü. Test edilecek koloniler steril tahta çubukla alınıp

kağıt üzerine sürüldü. 10-15 saniye içerisinde koyu mor rengin gözlenmesi pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol için *P. aeruginosa* ATCC 27853, negatif kontrol için *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

3) DNA Hidroliz Testi ⁽⁹⁸⁾

1N HCl solüsyonu: %37'lik HCl (Merck) solüsyonundan 83.3 ml alınıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Bu solüsyon 25 °C'de karanlıkta 1 yıl stabil kalmaktadır.

DNase Agar (Acumedia)

Pancreatic digest of casein	15 gr
Papaic digest of soybean meal	5 gr
Sodium chloride	5 gr
Deoxyribonucleic asit	2 gr
Agar	15 gr

Final pH: 7.3± 0.2

Bu besiyerinin 42 gramı 1 litre distile su ile karıştırılıp benmaride tamamen çözünmesi sağlandı. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra 40-45°C'ye soğutuldu ve aseptik şartlarda steril petrilere dağıtıldı. Besiyerinin sterilizasyonunun kontrolünden sonra buzdolabına kaldırıldı. Şüpheli kolonilerden steril eküvyon çubukla besiyeri yüzeyine yoğun spot ekimler yapıp 24-48 saat sonra agar yüzeyini kaplayacak şekilde 1N HCl solüsyonu döküldü. İnoküle edilen bakterinin DNase enzimi varsa besiyerindeki DNA'yı parçalamaktadır. Dökülen 1N HCl besiyerindeki DNA ile birleşerek presipite olduğundan, besiyerinde buğulu mat bir görüntü meydana gelir. Bakteri kolonilerinin etrafında ise DNase enziminin etkisiyle besiyerindeki DNA parçalandığından şeffaf bir zon ortaya çıkar. Bu durumda test pozitif kabul edilmiştir. Koyu bir zemin üzerinde bu, daha net görülür. Ayrıca 48 saatlik inkübasyon sonunda şeffaf zonun daha geniş ve belirgin hale geldiği gözlemlendiğinden bu test için 24 saat yerine 48 saatlik inkübasyonun daha uygun olduğu görüldü. Aynı test, besiyerine 0.1 gr metil green katılarak hazırlandı. Yoğun spot ekimden 48 saat sonra HCl solüsyonu dökülmesi gerekmeden koloniler etrafında şeffaf bir zon oluştuğu gözlemlendi. Bu testte pozitif kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı.

4) Hızlı Karbonhidrat Fermentasyon Testleri (⁹⁷): Bakterilerin şekerlere etkisini incelemek için kullanılır. Bu şekilde bakterinin fermentasyon paterni çıkarılarak identifikasyon sağlanabilmektedir.

%20'lik Karbonhidrat Stok Solüsyonu

Karbonhidrat (Glukoz, maltoz, sükroz)	8 gr
Distile su	40 ml

Glukoz, maltoz, ve sükrozdan sekizer gram tartılıp her biri 40 ml distile suda çözüldü. Maltoz hariç, diğerleri erimeleri için hafifçe ısıtıldı. Eriyen çözeltiler 0.1 µm'lik membran filtrelerden süzülerek steril edildi ve 4'er ml tüplere dağıtıldı. Bu stok solüsyon 4-10°C'de 8 hafta, -20°C'de ise iki yıl stabil kalmaktadır.

Fosfat Tamponlu Tuzlu Su (Stok)

K ₂ HPO ₄	0.4 gr
KH ₂ PO ₄	0.1 gr
KCl	8 gr
Distile su	100 ml
Final pH:7	

Filtrasyon ile sterilize edildikten sonra 4-8°C' de saklanabilir.

%1'lik Fenol Red Solüsyonu

Fenol red	0.5 gr
NaOH, 0.1 N	10 ml
Distile su	40 ml
Filtrasyon ile sterilize edilir.	

0.1 N NaOH çözeltisi

NaOH	0.4 gr
Distile su	100 ml

Çalışma solüsyonu hazırlanırken stok fosfat tamponlu tuzlu sudan 10 ml alınıp 90 ml distile su ile dilüe edildi. İçine %1'lik fenol red solüsyonundan 0.5 ml eklendi. Bu karışım filtre ile steril edildikten sonra 0.3 ml tüplere dağıtıldı. Üzerine 100 µl stok karbonhidrat solüsyonundan eklendi.

Glukoz, maltoz ve sükröz, fermentasyonu için ayrı ayrı şeker solüsyonları bulunan tüplere test edilecek mikroorganizmadan yoğun bir inokülasyon yapıldı. 37°C'lik su banyosunda 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda ortamın renginin kırmızıdan sarıya dönüşmesi pozitif, renk değişiminin gözlenmemesi ise negatif olarak değerlendirildi. Test tüplerinde herhangi bir değişiklik gözlenmeyen örnekler *M. catarrhalis* yönünden incelenmek üzere ayrıldı.

5) Nitrat Redüksiyonu (⁹⁹)

Sülfanilik asit çözeltisi

Sulfanilic acid (MERCK)	8 gr
Acetic acid, 5N	1000 ml

5N Asetik asit

Glacial acetic acid	300 ml
Distile su	1000 ml

Alfa naftol çözeltisi

α - naphthylamin (MERCK)	5 gr
Etanol %95	100 ml

Nitrat broth

Beef extract powder (BBL)	3 gr
Pepton	5 gr
Potassium nitrate (KNO_3)	1 gr
Distile su	1000 ml

Final pH: 7.0 $\pm$ 0.2

Belirtilen miktarlardaki maddeler karıştırılıp benmaride eritildi. Tüplere 4'er ml dağıtılıp 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Tüpler kontrol amacıyla bir gece 37°C'de bekletildikten sonra buzdolabında muhafaza edildi.

Test edilecek bakteriden bir öze dolusu alınıp nitrat broth içine ekildi. 24 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüp içine 1 damla sülfanilik asit ve 1 damla α -naftol çözeltisi eklendi. 1-2 dakika içerisinde kırmızı rengin gözlenmesi halinde test pozitif olarak değerlendirildi. Rengi değişmeyen tüplere kimyasal olarak redüksiyonun gerçekleşmesini sağlamak amacıyla çinko tozu ilave edildi. Bundan sonra tüpte kırmızı rengin gözlenmesi durumunda test negatif, tüpün renginde bir

değişiklik oluşmaması halinde test pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25923 suşu, negatif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

6) Tween-80 Hidroliz Testi (^{100,98})

Sörensen Fosfat Tampon Eriyiği (pH:7)	100 ml
Tween-80 solüsyonu	0.5 ml
Neutral red (%0.1) çözeltisi	2 ml

Sörensen Fosfat Tampon Eriyiği

A eriyiği

Na ₂ HPO ₄	9.46 gr
Distile su ile	1000 ml ye tamamlanır.

B eriyiği

KH ₂ PO ₄	9.073 gr
Distile su ile	1000 ml'ye tamamlanır.

A eriyiğinden 60 ml, B eriyiğinden 40 ml alıp karıştırılır. (pH:7.0)

%0.1'lik Nötral Red Çözeltisi

Neutral red (MERCK)	0.1 gr
Glasial asetik asit (%1 lik)	0.2 ml
Distile su	100 ml

Fosfat tampon solüsyonu, nötral red çözeltisi ve Tween-80 reaktifleri karıştırılıp steril tüplere 4'er ml dağıtıldı. Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. Işıktan uzak olacak şekilde buzdolabında 2-8°C'de 2 hafta süreyle stabildir.

Tween-80 hidrolizi, lipolitik aktivite gösteren *M. catarrhalis*'in identifikasyonunda kullanılan basit, değerli ve çok etkili bir metottur. Tween-80'in (polioksietilen sorbitan monooleat) enzimatik hidrolizi sonucu oleik asit ve polioksietil sorbitol ayrışıp nötral red kompleksini serbest bırakmakta, renk değişikliği oluşturmaktadır. Bu renk değişikliği oleik asit oluşumundaki pH değişikliğinin değil, Tween-80 hidrolizine bağlı olarak nötral red'in serbest kalmasının bir sonucudur (⁸⁴). Tween-80 içeren ayıraç içerisine test edilecek bakteri kolonilerinden bir öze dolusu inoküle edildi. 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda başlangıçtaki oranj rengin kırmızıya dönüşmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise negatif olarak değerlendirildi.

7) Tribütirin Hidrolizi (⁹⁷): *M. catarrhalis* bütirat esteraz enzimi üretir. Bu enzim tribütirini bütirik aside hidroliz eder. Sonuçta oluşan asit pH'da fenol red indikatörünün rengi kırmızıdan sarıya dönüşürse test pozitif kabul edilir.

Tribütirin agar

Casein peptone (ACUMEDIA)	20 gr
L-cystine (SIGMA)	0.5 gr
Sodium chloride (SIGMA)	5 gr
Tributyryn (FLUKA)	20 ml
Sodium sulphide (SIGMA)	0.5 gr
Phenol red (SIGMA)	17 mg
Agar	3.5 gr
Distile su	1000 ml

Final pH : 7.4

Bu karışım benmaride iyice eritildikten sonra vida kapaklı tüplere 3'er ml dağıtıldı. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Yatık olarak soğumaya bırakıldı. Bu besiyeri 2-8°C'de 3 ay stabil kalmaktadır.

Besiyerine şüpheli kolonilerden yoğun ekim yapıp etüvde 24 saat inkübe edildikten sonra renk değişikliği olup olmadığı araştırıldı, bu süre sonunda renk değişikliği gözlenmezse etüvde bir 24 saat inkübe edildi. Besiyerinin rengi kırmızıdan sarıya dönüştüğünde test pozitif kabul edildi.

8) BBL-Crystal NH Sistemi İle İdentifikasyon: Bu sistem, fluorojenik ve kromojenik substratlarla, konvansiyonel metotların modifiye edilmesi ile oluşturulmuş bir multitest identifikasyon sistemidir. Bu sistemle *Neisseria*, *Haemophilus*, *Moraxella* türleri ile diğer fastidious (zor üreyen) mikroorganizmalar (*Eikenella*, *Kingella Oligella*, *Pasteurella*, *Suttonella spp.*, *Cardiobacterium hominis*, vd.) tür düzeyinde identifiye edilebilmektedir.

Panel bir negatif kontrol kuyucuğu ile 29 dehidrate biyokimyasal ve enzimatik substrat içeren toplam 30 kuyucuktan oluşmaktadır. Panel ve inokulum sıvıları 2-8°C'de saklandıklarından çalışmadan önce malzemeler çıkarılıp oda sıcaklığına gelene kadar beklendi. İncelenecek bakterinin 24 saatlik taze kültüründen N/H ID F inokulum tüpüne koloniler alınıp steril eküvyonla süspanse edilerek McFarland No.3 bulanıklığında bir süspansiyon elde edildi. Daha sonra bu sıvı panel üzerine döküldü

ve sıvının tüm kuyucuklarla teması sağlandı. İncelenen bakteri kültürünün saflığını kontrol için inokulum sıvısından bir öze dolusu alınarak kanlı agara ekim yapıldı. Daha sonra panelin kapağı kapatılıp etüve kaldırıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 35-37°C'de 4 saat inkübe edildi. Kuyucuklarda reaksiyon gözlenmediğinde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda paneller 30 dakika içinde BBL Crystal panel Viewer'de okunarak kartlara işlendi ve on basamaklı bir sayı elde edildi. BBL Crystal ID Sytem Electronic Codebook yüklenmiş bilgisayar programına girilerek elde edilen on basamaklı sayı ile hücre morfolojisi yazıldı ve sistemin verdiği sonuç kaydedildi.

9) Beta Laktamaz Testi (84,98): İzole edilen *M. catarrhalis* suşlarının β -laktamaz aktivitesini tespit için ticari olarak hazırlanmış nitrosefin emdirilmiş çubuklar (OXOID) kullanıldı. Çubuğun nitrosefin emdirilmiş ucu steril distile su ile ıslatıldıktan sonra üzerine incelenecek bakteri kolonileri sürüldü. 5-10 dakika içinde çubuğun ucundaki sarı rengin kırmızıya dönüşmesi durumunda bakterinin β -laktamaz ürettiği anlaşıldı.

D) ANTİBİYOTİK DUYARLILIK DENEYİ

Müller Hinton Agar (BBL)

Beef extract	2 gr
Acid hydrolysate of casein	17.5 gr
Starch	1.5 gr
Agar	17 gr
Distile su	1000 ml

Final pH : 7.3 $\pm$ 0.1

Bu karışımın 38 gramı 1 litre distile su ile karıştırılıp benmaride iyice eritildikten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi. 40-45°C'ye kadar soğuyunca 15 mm çapındaki steril petrilere besiyeri kalınlığı 4 mm olacak şekilde (yaklaşık 60-70 ml) dağıtıldı.

Bu çalışmada antibiyotik duyarlılığının tespitinde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanıldı (55). Test edilecek bakterinin 24 saatlik taze kültüründen birkaç koloni alınıp 3 ml steril serum fizyolojik içeren tüp içinde süspanse edildi. Bulanıklığı McFarland 0.5 eşeline (BBL) ayarlandı. Daha sonra steril eküvyon çubuk tüp içine batırıldı. Eküvyon, tüp kenarında burularak fazla sıvının akması sağlandı. Besiyerinin

yüzeyine eküvyonu sürerek ve plağı yavaş yavaş çevirerek tüm yüzeye yaygın ekim yapıldı. Ekimden sonra 20 dakika içinde antibiyotik diskleri, plak kenarından yaklaşık 15 mm ve iki disk arası 25-30 mm olacak şekilde steril pensetle yerleştirildi. 35°C'de 24 saat aerob şartlarda inkübe edildikten sonra, inhibisyon zon çapları cetvelle ölçüldü. Bu çalışmada OXOID'in Ampisilin (10 µg) Amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg), Sefaklor (30 µg), Sefuroksim aksetil (30 µg), Sefiksim (5 µg), Sefotaksim (30 µg), Eritromisin (15 µg), Azitromisin (15 µg), Tetrasiklin (30 µg), Ofloksasin (5 µg), Trimetoprim-sulfametoksazol (1.25/23.75 µg), diskleri kullanıldı. Sonuçlar NCCLS standartlarına göre değerlendirildi (56).



BULGULAR

Bu çalışmada Ekim 1999-Şubat 2000 tarihleri arasında ÜSYİ ön tanılı 104 hastadan alınan boğaz ve nazofarinks sürüntüsü ile ASYİ ön tanılı 108 hastadan alınan alt solunum yolu örneklerinin (100 balgam, 5 BAL, 2 plevral aspirat ve 1 transtrakeal aspirat) *M. catarrhalis* ve diğer patojenler açısından mikrobiyolojik kültürleri yapıldı. Sağlıklı kişilerde *M. catarrhalis*'in orofaringial kolonizasyonu araştırmak için 52 erişkin ve 56 kreş çocuğu çalışmaya dahil edildi.

1) ÜSYİ ÖN TANILI HASTALARA AİT BULGULAR

a) Boğaz Kültür Sonuçları: ÜSYİ ön tanılı 104 hastanın 60'ı kadın, 44'ü erkekti. Yaş ortalaması: 29.9 ± 17.5 idi. 104 hastanın 51'inin (%49) boğaz sürüntüsünde normal flora elemanları üredi. 32 hastada A grubu (22 saf halde, 10 tanesi *M. catarrhalis* ile birlikte), 8 hastada A grubu dışı (7si saf, 1'i *M. catarrhalis* ile birlikte) β -hemolitik streptokok izole edildi. 9 hastada normal flora elemanları ile birlikte *M. catarrhalis* izole edildi. Bunun dışında 2 hastada *Candida spp.*, 1 hastada koagülaz negatif stafilokok (KNS) ve 1 hastada *S. aureus* izole edildi. Sonuçta 104 hastanın 20'sinin (%19.2) boğaz sürüntüsünden *M. catarrhalis* izole edildi. Bunların 10 tanesi A grubu ile, 9'u normal flora ile, 1'i de A grubu dışı β -hemolitik streptokoklarla birlikte idi (Tablo 4).

Tablo 4. ÜSYİ Ön Tanılı Hastaların Boğaz Kültür Sonuçları

	0-15 Yaş		16 Yaş ve Üzeri	
	Kadın (n=21)	Erkek (n=10)	Kadın (n=39)	Erkek (n=34)
NBF (n=51)	12	4	13	22
A grubu β-hemolitik Streptokok (n=22)	6	2	11	3
A grubu dışı β-hemolitik Streptokok (n=7)	0	0	4	3
A grubu + <i>M. catarrhalis</i> (n=10)	0	3	6	1
A dışı + <i>M. catarrhalis</i> (n=1)	0	1	0	0
NBF + <i>M. catarrhalis</i> (n=9)	3	0	4	2
<i>Candida spp.</i> (n=2)	0	0	0	2
<i>KNS</i> (n=1)	0	0	0	1
<i>S.aureus</i> (n=1)	0	0	1	0

NBF: Normal boğaz florası

KNS: Koagülaz negatif stafilokok

b) Nazofaringial Kültür Sonuçları: ÜSYİ ön tanılı 104 hastanın 57'sinin (%54.8) nazofaringial kültürlerinde normal flora elemanları üredi. 35 hastadan (%33.6) *M. catarrhalis* izole edildi. Bunların 17'si (%54.8) çocuk, 18'i erişkin (%24.6) hasta grubundandı ve 24'ü kadın (%40), 11'i erkek (%25) idi. *M. catarrhalis*' i takiben toplam 5 *S. pneumoniae* (%4.8), 3 *K. pneumoniae*, 1 *P. aeruginosa*, 1 *S. maltophilia*, 1 *Candida*, 1 *P. mirabilis*, 1 *S. aureus* ve 1 *KNS* izole edildi (Tablo 5). Enterik bakterilerin çoğunlukla erişkin hastalardan izole edilmiş olması yaşla birlikte floranın bozulduğunu düşündürmektedir.

Tablo 5. ÜSYİ Ön Tanılı Hastaların Nazofaringial Kültür Sonuçları

	0-15 Yaş		16 Yaş ve Üzeri		Toplam	
	Kadın (n=21)	Erkek (n=10)	Kadın (n=39)	Erkek (n=34)	Kadın (n=60)	Erkek (n=44)
Normal flora	6	4	23	22	29	26
<i>M. catarrhalis</i>	12	5	12	6	24	11
<i>S. pneumoniae</i>	3	0	1	1	4	1
<i>K. pneumoniae</i>	0	1	1	1	1	2
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	1	0	1
<i>S. maltophilia</i>	0	0	1	0	1	0
<i>Candida spp.</i>	0	0	0	1	0	1
<i>P. mirabilis</i>	0	0	0	1	0	1
<i>S. aureus</i>	0	0	1	0	1	0
KNS	0	0	0	1	0	1

c) Nazofaringial Kültürlerden İzole Edilen *M. catarrhalis* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları

ÜSYİ ön tanılı hastaların nazofaringial sürüntülerinden toplam 35 *M. catarrhalis* suşu izole edildi. 33 suş β -laktamaz üretmekteydi. Suşların 33'ünde (%94.3) ampisilin, 12'sinde (%34.3) sefaklor, 7'sinde (%20) tetrasiklin, 2'sinde ise (%5.7) trimetoprim-sulfametoksazol direnci tespit edildi. Tüm suşlar Amoksisilin-klavulanik asit, sefuroksim, sefiksim, ofloksasin, eritromisin ve azitromisine duyarlı bulunmuştur (Tablo 6).

Tablo 6. ÜSYİ Ön Tanılı Hastaların Nazofaringial Sürüntülerinden İzole Edilen 35 *M. catarrhalis* Suşunun Antimikrobiyal Duyarlılıkları

	Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	2	5.7	33	94.3
Trimetoprim-sulfametoksazol	33	94.3	2	5.7
Tetrasiklin	28	80.0	7	20.0
Sefaklor	23	65.7	12	34.3
Amoksisilin-klavulanik asit	35	100	0	0
Sefuroksim	35	100	0	0
Sefiksim	35	100	0	0
Sefotaksim	35	100	0	0
Ofloksasin	35	100	0	0
Eritromisin	35	100	0	0
Azitromisin	35	100	0	0

2) ASYİ ÖN TANILI HASTALARA AİT BULGULAR

a) Alt Solunum Yolu Örneklerinden Patojen Mikroorganizma İzole Edilen

Hastaların Özellikleri: ASYİ ön tanılı 108 (78'i ayakta, 30'u yatan) hastanın 54'ünden (35'i ayakta, 19'u yatan hasta) (%50) 60 patojen mikroorganizma izole edildi. İzolasyon oranı ayakta hastalarda %45, yatan hastalarda %65 idi. 20 hastada antibiyotik öyküsü vardı ve bunların 13'ünde patojen mikroorganizma üredi. Alt solunum yolu örneklerinden patojen mikroorganizma izole edilen hastaların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 7'de görülmektedir. Patojen mikroorganizma üreyen 54 hastanın 7'si (%6.5) 15-40 yaş, 19'u (%17.6) 41-60 yaş, 28'i (%25.9) 61 yaş ve üzerinde idi. Hastaların 15'i kadın (%32.6), 39'u (%62.9) erkekti. Erkeklerde en yüksek izolasyon 61 yaş ve üzeri grupta saptandı (%40.3). Aynı yaş grubu kadınlarda ise bu oran oldukça düşük (%6.5) bulundu.

Tablo 7. Alt Solunum Yolu Örneklerinden Patojen Mikroorganizma İzole Edilen Hastaların Cinsiyet Ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

	15-40 Yaş		41-60 Yaş		61 Yaş ve Üzeri		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kadın (n=46)	4	8.7	8	17.4	3	6.5	15	32.6
Erkek (n=62)	3	4.8	11	17.7	25	40.3	39	62.9
Toplam (n=108)	7	6.5	19	17.6	28	25.9	54	50.0

b) Alt Solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen Patojenlerin Cinsiyet Ve

Yaş Gruplarına Göre Dağılımı: ASYİ ön tanılı 108 hastanın 54'ünden 60 patojen mikroorganizma izole edildi. Bunlar sırasıyla 14 *M. catarrhalis* (%12.9), 13 *S. pyogenes* (%12), 9 *Candida* spp. (%8.3), 8 *S. pneumoniae* (%7.4), 4 *Klebsiella* spp. (%3.7), 3 *P. aeruginosa* (%2.8), 3 *E. coli* (%2.8), 2 *S. aureus* (%1.9) ve 4 tane de diğer mikroorganizmalar idi (Tablo 8).

M. catarrhalis izole edilen örneklerin 13'ü balgam 1'i BAL sıvısı idi.

İkisi saf kültür halinde, 7'si normal flora ile birlikte dominant halde, 5 tanesi de mikst olarak izole edildi. (1 *E.coli*, 1 *S.aureus*, 1 *K. pneumoniae*, 1 *S. pneumoniae* ve 1 *Candida* ile birlikte).

Tablo 8. Alt solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen Patojenlerin Cinsiyet ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Patojenler	15-40 yaş		41-60 yaş		61 yaş ve üzeri		TOPLAM		
	K	E	K	E	K	E	K	E	T
<i>M. catarrhalis</i>	1	0	1	3	1	8	3	11	14
<i>S.pyogenes</i>	1	1	3	2	0	6	4	9	13
<i>Candida spp.</i>	1	1	1	2	0	4	2	7	9
<i>S.pneumoniae</i>	0	0	1	2	0	5	1	7	8
<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	0	2	0	2	0	4	4
<i>P.aeruginosa</i>	1	0	1	0	0	1	2	1	3
<i>E.coli</i>	0	0	0	0	1	2	1	2	3
<i>S. aureus</i>	1	0	1	0	0	0	2	0	2
<i>KNS</i>	0	0	1	0	0	1	1	1	2
<i>S. maltophilia</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	1
<i>A grubu dışı β hem.strep.</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	1

c) Alt Solunum Yolu Örneklerinden Patojen Mikroorganizma İzole Edilen Hastalarda Sigara Alışkanlığı: Alt solunum yolu örneklerinden patojen mikroorganizma izole edilen 54 hastanın 39'ü erkek, 15'i kadın idi. Hastaların 34'ünde (%63) sigara öyküsü vardı. Bunların 32'si erkek, 2'si kadın idi. Patojen mikroorganizma izole edilen 39 erkek hastanın 32'sinde (%82.1), 15 kadın hastanın ise sadece 2'sinde (%13.3) sigara öyküsü mevcuttu (Tablo 9). Bu da sigaranın ASYİ için önemli bir predispozan faktör olduğunu göstermektedir.

Tablo 9. Alt Solunum Yolu Örneklerinden Patojen Mikroorganizma İzole Edilen Hastalarda Sigara Öyküsü

Kültürü pozitif hastalar	Sigara öyküsü var		Sigara öyküsü yok	
	Sayı	%	Sayı	%
Kadın (n=15)	2	13.3	13	86.7
Erkek (n=39)	32	82.1	7	17.9
Toplam (n=54)	34	63.0	20	37.0

ç) Alt Solunum Yolu Örneklerinden *M. catarrhalis* İzole Edilen Hastaların Cinsiyet ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımı: *M. catarrhalis* izole edilen hastaların 11'i erkek 3'ü kadındı. İzolasyon oranı erkeklerde %17.7, kadınlarda %6.5 olarak bulundu. Yaş ortalaması ise 51.1±17.2 idi. Hastaların 1'i 15-40 yaş (%3.3), 4'ü 41-60 yaş (%10.5) grubunda idi. 9'u (%24.3) ise 61 yaş ve üzerinde idi. Hem kadınlarda hem de

erkeklerde en yüksek izolasyon oranları 61 yaş ve üzerinde tespit edildi (Tablo 10). Bu sonuçlar ileri yaşlarda *M. catarrhalis*'e bağlı alt solunum yolu infeksiyonlarında artış olduğunu düşündürdü. Erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranda *M. catarrhalis* izole edildi ve erkeklerde sigara alışkanlığının *M. catarrhalis* infeksiyonlarına karşı bir eğilim oluşturduğu tespit edildi ($p<0.001$).

Tablo 10. Alt Solunum Yolu Örneklerinden *M. catarrhalis* İzole edilen Hastaların Cinsiyet ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş Grubu	Kadın			Erkek			Toplam		
	n	Sayı	%	n	Sayı	%	n	Sayı	%
15-40 yaş	15	1	6.6	18	0	0.0	33	1	3.3
41-60 yaş	23	1	4.3	15	3	20.0	38	4	10.5
61 yaş ve üzeri	8	1	12.5	29	8	27.6	37	9	24.3
Toplam	46	3	6.5	62	11	17.7	108	14	12.9

d) Alt Solunum Yolu Örneklerinden *M. catarrhalis* İzole Edilen Hastaların

Klinik Özellikleri: Alt solunum yolu örneklerinden *M. catarrhalis* izole edilen 14 hastanın 3'ü kadın, 11'i erkekti. 12'si KOAH' nın akut alevlenmesi, 1'i akciğer apsesi ve 1'i pnömoni tanısı almıştı (Tablo 11). 2 hasta akciğer kanseri nedeniyle kemoterapi almakta idi. 2 hastada antibiyotik öyküsü vardı. 12 hasta ayaktan, 2 tanesi de yatarak tedavi görmekteydi. 12 hastada (%85.7) ek patoloji varken, iki kadın hastada altta yatan bir patoloji yoktu. Hastaların 9'unda sigara öyküsü vardı. *M. catarrhalis* izole edilen KOAH' lı 12 hastanın 9'unda (%75) sigara öyküsü tespit edildi.

Tablo 11. ASY Örneklerinden *M. catarrhalis* İzole Edilen Hastaların Klinik Özellikleri

Ön tanı	Cinsiyet		Ek Patoloji		Sigara Öyküsü	
	Kadın	Erkek	Var	Yok	Var	Yok
KOAH Alevlenmesi (n=12)	1	11	12	0	9	3
Pnömoni (n=1)	1	0	0	1	0	1
Akciğer Apsesi (n=1)	1	0	0	1	0	1
TOPLAM (n=14)	3	11	12	2	9	5

e) ASYİ Hastalardan İzole Edilen *M. catarrhalis* Suşlarının Antimikrobiyal

Duyarlılıkları: ASYİ hastalardan izole edilen 14 *M. catarrhalis* suşunun tümü β -laktamaz pozitif (%100). Suşların tümü ampisiline (%100), 3'ü sefaklor'a (%21.4), 2'si tetrasikline (%14.3), 1'i trimetoprim-sulfametoksazol'e (%7.1) dirençli bulundu. Amoksisilin-klavulanik asit, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim, ofloksasin, eritromisin ve azitromisine ise tüm suşlar duyarlı idi (Tablo 12).

Tablo 12. ASYİ Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen 14 *M. catarrhalis* Suşunun Antimikrobiyal Duyarlılıkları

	Duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	0	0	14	100
Trimetoprim-sulfametoksazol	13	92.9	1	7.1
Tetrasiklin	12	85.7	2	14.3
Sefaklor	11	78.6	3	21.4
Amoksisilin-klavulanik asit	14	100	0	0
Sefuroksim	14	100	0	0
Sefiksim	14	100	0	0
Sefotaksim	14	100	0	0
Ofloksasin	14	100	0	0
Eritromisin	14	100	0	0
Azitromisin	14	100	0	0

3) SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNUN SONUÇLARI

Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubu olarak kreşe devam eden 56 çocuk ile 52 erişkinden toplam 108 boğaz sürüntü örneği alındı.

56 çocuğun 36'sı erkek, 20'si kız idi. Yaş ortalaması 4.2 ± 1.4 idi. 56 çocukta toplam 17 *M. catarrhalis* (%30.3) izole edildi. Suşların 15'i (%88.2) β -laktamaz üretmekte idi (Tablo 13). Suşların 15'inde ampisilin (%88.2), 2'sinde sefaklor (%10.1), 2'sinde tetrasiklin (%10.1) ve 1'inde trimetoprim-sulfametoksazol (%5.8) direnci tespit edildi. Tüm suşlar amoksisilin-klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı bulundu.

52 erişkinin 27'si erkek, 25'i kadın olup yaş ortalaması 30.8 ± 11.7 idi. Bu gruptan 5 *M. catarrhalis* (%9.5) suşu izole edildi. Suşların 3'ü β -laktamaz pozitif

(Tablo 13). Suşların 3'ünde ampisilin (%60), 1'inde sefaklor (%20), 1'inde trimetoprim-sulfametoksazol direnci tespit edildi.

Tüm suşlar tetrasiklin, amoksisilin-klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı bulundu.

Tablo 13. Sağlıklı çocuk ve erişkin grubunda *M. catarrhalis* Kolonizasyonu ve Suşların β -laktamaz Oranları.

	İzole edilen <i>M. catarrhalis</i>		β -laktamaz üreten suşlar	
	Sayı	%	Sayı	%
0-15 Yaş (56)	17	30.3	15	88.2
16 Yaş ve üstü (52)	5	9.5	3	60.0
Toplam (108)	22	20.3	18	81.7

4)TÜM ÇALIŞMA GRUPLARINDAN İZOLE EDİLEN *M. CATARRHALIS* SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI

Tüm çalışma gruplarından toplam 71 *M. catarrhalis* suşu izole edildi. Bunların 35'i ÜSYİ, 14'ü ASYİ olan hastalara, 22'si de sağlıklı kontrol grubuna aitti. 71 suşun 65'inde (%91.5) β -laktamaz aktivitesi mevcuttu. Suşların 65'inde (%91.5) ampisilin, 5'inde (%7) trimetoprim-sulfametoksazol, 11'inde (%15.4) tetrasiklin ve 18'inde (%25.3) sefaklora direnç tespit edildi. Tüm suşlar amoksisilin-klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı idi (Tablo 14).

Tablo 14. Tüm Çalışma Gruplarından İzole Edilen 71 *M. catarrhalis* Suşunun Antimikrobiyal Duyarlılıkları.

	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Ampisilin	6	8.5	65	91.5
Trimetoprim-sulfametoksazol	66	93	5	7.0
Tetrasiklin	60	84.6	11	15.4
Sefaklor	53	74.7	18	25.3
Amoksisilin-klavulanik asit	71	100	0	0
Sefuroksim	71	100	0	0
Sefiksim	71	100	0	0
Sefotaksim	71	100	0	0
Ofloksasin	71	100	0	0
Eritromisin	71	100	0	0
Azitromisin	71	100	0	0

TARTIŞMA

M. catarrhalis 1970'li yıllara kadar üst solunum yollarının normal flora elemanı olarak kabul edilmekteydi (^{8,10,15,16,47}). Ancak hem immün suprese hem de immün kompetan kişilerde sepsis, menenjit, endokardit gibi ciddi infeksiyonlarda etken olarak gösterilmesi nedeniyle son yıllarda dikkatleri üzerine çekmiştir (⁷⁶). Yanısıra çocuklarda otit ve sinüzit, yaşlılarda pnömoni ve KOAH alevlenmesinde etken olarak karşımıza çıkmaktadır (^{9,10,89}). Amerika, Kanada ve bazı Avrupa ülkelerinde *H. influenza*, *S. pneumoniae* ve *M. catarrhalis*'i kapsayan SENTRY ve ALEXANDER projeleri gibi uluslararası surveyans programları yapılarak, bu üç önemli solunum patojeninin antimikrobiyal direnç profilleri takip edilmekte ve sonuçlar tüm dünyaya bildirilmektedir (^{91,101,102}).

M. catarrhalis, üst solunum yollarında bulunabilmekle birlikte, *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* gibi lokal ve sistemik infeksiyonlara neden olabilen bir potansiyel patojen olarak kabul edilmektedir.

Akut otitis media (AOM) antimikrobiyal tedavideki ilerlemelere rağmen bebeklik ve çocukluk çağının morbiditesi yüksek hastalıklarındandır. İlk 5 yaşta doktora başvuruların %20-40'ının sebebidir (⁴⁹). AOM vakalarının %35'inde *S. pneumoniae*, %25'inde *H. influenzae*, %15'inde ise *M. catarrhalis* etkindir (⁵³). Çocuklarda hayatın ilk yıllarından itibaren *M. catarrhalis* ile yüksek oranda nazofaringial kolonizasyon olduğu gösterilmiştir. Üst solunum yollarında kolonizasyon ile infeksiyon arasında bir ilişki görülse de bu birliktelik henüz tam anlaşılamamıştır (⁸⁹). Faden ve ark. 120 çocuğu doğumdan itibaren iki yıl izlemişler ve hayatın ilk iki yılında %66'sının, ikinci yılında ise %77.5'inin *M. catarrhalis* ile kolonize olduğunu, sağlıklı dönemde kolonizasyon oranı %27.5 iken AOM atağı sırasında bu oranın %62.7 olduğunu bildirmişler ve ayrıca yüksek nazofaringial kolonizasyon oranının, artmış otitis media riski ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (^{51,52}).

Sinüzit de gerek çocuklarda gerekse erişkinlerde sık görülen infeksiyonlardandır. A.B.D.'de nüfusun %17.4'ünün sinüzitten etkilendiği ve her yıl bu nedenle 11.4 milyon adet doktora başvuru olduğu bildirilmiştir (^{63,64}). Akut sinüzit etkenleri otitte olduğu gibi *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis*'tir. AOM'da timpanosentez sıvısı, sinüzitte sinüs aspiratı kültür için ideal örnekler olmakla birlikte

invaziv girişimler olmaları nedeniyle uygulama güçlüğü söz konusudur (^{1,7,10}). Bu nedenle her ne kadar *M. catarrhalis* tonsillit/farenjit etkeni olmasa da kolonizasyon olup olmadığını göstermesi nedeniyle boğaz ve/veya nazofarinks sürüntüleri alınabilir.

M. catarrhalis ile kolonizasyon oranları yaş, mevsim, immün direnç ve coğrafi şartlara göre değişmektedir. Özellikle kış ve erken ilkbahar aylarında *M. catarrhalis*'e bağlı infeksiyonlarda artış olduğu tespit edilmiştir (¹⁰³).

Jakubicz ve ark. solunum yolu infeksiyonlu hastalarda yaptıkları çalışmada *M. catarrhalis*'in yaz dönemine nazaran (Mayıs-Eylül) sonbahar-kış aylarında daha fazla izole ettiklerini bildirmişlerdir (¹⁰⁴). Çocuklarda ve yaşlılarda kolonizasyon oranları, erişkinlere göre daha yüksektir.

Liassine ve ark. 1765 sağlıklı çocuğun boğaz sürüntü örneklerinde bakteriyel patojenlerin prevalansını araştırmış ve bu çocukların 691'inde (%39.1) *H. influenzae*, 112'sinde (%6.3) *S. pyogenes*, 73'ünde (%4.1) *M. catarrhalis* ve 52'sinde (%2.9) *S. pneumoniae* taşıyıcılığı tespit etmişlerdir (¹⁰⁵). Principi ve ark., İtalya'daki 18 şehirde 1-7 yaş arası okula veya kreşe devam eden 1723 sağlıklı çocukta *M. catarrhalis* taşıyıcılığını %4.1 olarak bulmuşlar ve suşların %88.7'sinin β -laktamaz ürettiğini bildirmişlerdir (¹⁰⁶).

De Lencastre ve ark. Lizbon'da Ocak-Mart 1996 tarihleri arasında kreşe devam eden 6 ay-6 yaş arası toplam 586 çocukta *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *M. catarrhalis*'in nazofaringial kolonizasyon oranlarını araştırmışlar ve çocukların %72'sinin *H. influenzae*, %54'ünün *M. catarrhalis* ve %47'sinin de *S. pneumoniae* ile kolonize olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada, *M. catarrhalis* suşlarının %96'sının ve *H. influenzae* suşlarının ise %20'sinin penisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir (¹⁰⁷).

Bizim çalışmamızda kreşe devam eden ve yaş ortalaması 4.2 ± 1.4 olan 56 sağlıklı çocukta %30.3 oranında *M. catarrhalis* taşıyıcılığı belirlendi. Suşların %88.2'si β -laktamaz aktivitesine sahipti. Görüldüğü gibi farklı ülkelerde kreş çocukları üzerinde yapılan çalışmalarda çok farklı kolonizasyon oranları bildirilmektedir. Zaten Literatürde de yaş, mevsim ve coğrafi bölgelere göre kolonizasyon oranlarının oldukça değişken olduğu bildirilmektedir.

Gunnarson ve ark, 1-7 yaş arası 159, 7-15 yaş arası 198 ve 16 yaş ve üzeri 261 sağlıklı erişkinden aldıkları nazofaringial sürüntülerde sırasıyla; *M. catarrhalis*

insidansını %27, %4 ve %2 *S. pneumoniae* insidansını %19, %6 ve %0.8, *H. influenzae* için %13, %6, %3 olarak bildirmişlerdir (¹⁰⁸).

Aslanimehr, sağlıklı çocukların boğaz sürüntü örneklerinden %48.3, erişkinlerden ise %23 oranında *M. catarrhalis* izole etmiş ve suşların %37.5'inde β -laktamaz aktivitesi tespit etmiştir (²⁵).

Şengül, 150 sağlıklı kişinin boğaz sürüntülerinden 29 (%19.3) *M. catarrhalis* izole etmiş. 0-10 yaş grubunda bu oran %48.6, 11-60 yaş arası %6.5, 61 yaş ve üzerinde %23.8 olarak bulunmuş. Suşların %34.4'ünün β -laktamaz ürettiği tespit edilmiştir (¹⁰⁹).

Bu çalışmada, orofaringial *M. catarrhalis*'in taşıyıcılığı; sağlıklı erişkinlerde %9.6, kreş çocuklarında %30.3 ve toplamda %20.3 oranında saptandı. İzole edilen suşların %81.7'sinde β -laktamaz aktivitesi mevcuttu. Ülkemizde önceki yıllarda yapılmış çalışmalara göre, suşların β -laktamaz üretiminde iki katı bir artışın gözlenmesi dikkat çekicidir.

Jakubicz ve ark. solunum yolu infeksiyonlu hastalardan alınan 370 boğaz sürüntüsü ile 114 balgam örneğini *M. catarrhalis* yönünden incelemiş ve toplam 78 *M. catarrhalis* suşu izole etmişlerdir. Boğaz sürüntülerinden izolasyon oranı %15.9, balgam örneklerinde ise %13.2 olarak bulunmuştur. Suşların 52'sinde (%66.7) ampisiline direnç tespit edilmiştir. Hastalarda *S. pyogenes* (%20.2) ve *S. pneumoniae*'dan (%17.1) sonra *M. catarrhalis* üçüncü sıklıkla izole edilmiş ve tüm suşlar amoksisilin-klavulanik asit ve ofloksasine duyarlı bulunmuştur (¹⁰⁴).

Bizim çalışmamızda 104 ÜSYİ hastanın boğaz sürüntü örneklerinden 20 (%19.2), 108 alt solunum yolu örneğinden 14 (%12.9) *M. catarrhalis* izole edildi.

Radosz ve ark. tonsillit/farenjit ön tanılı 158 hastanın boğaz sürüntü örneklerinin %30'undan β -hemolitik streptokok izole edilmiştir (%12 *S. pyogenes*, %10.7 grup C, %4.4 grup B ve %2.5 grup G). Hastaların %70'inden ise potansiyel patojenler (%37 *S. aureus*, %36 *Haemophilus spp.*, %22 *M. catarrhalis*, %17 *S. pneumoniae* ve %17 enterik bakteriler) izole edilmiştir (¹¹⁰).

Çalışmamızda 104 ÜSYİ hastanın 51'inde (%49.0), normal flora elemanları 40'ında (%38.4) β -hemolitik streptokok (32'si A grubu, 8'i A grubu dışı) izole edildi. Hastaların 20'sinde (%19.2) *M. catarrhalis*, 2 sinde *Candida* (%1.9), 1'inde KNS ve 1'inde *S. aureus* izole edildi.

Ejlertsen ve ark. Danimarkalı çocuklardan izole edilen 70 *M. catarrhalis* suşunun 59'unda (%84.3) β-laktamaz enzimi olduğunu, izoelektrik fokuslama çalışması ile enzim üretenlerin 55'inin (%93.2) BRO-1, 3'ünün BRO-2 (%5.1) tipinde olduğu ve bir suşun ise izoelektrik bant oluşturmadığını bildirmişlerdir. Tüm suşlar sefuroksim ve amoksisilin-klavulanik aside duyarlı bulunmuştur (¹¹¹).

1995 yılında Bolatlı ve ark., 0-18 yaş ÜSYİ olan 200 çocuğun boğaz sürüntü örneklerinden %5, 6-7 yaş sağlıklı 100 çocuktan %22, 20-22 yaş sağlıklı 100 kişiden ise %5 oranında *M. catarrhalis* izole etmişler ve ampisilin direncini hasta çocuk grubunda %20, sağlıklı çocuk grubunda %54.5 olarak bildirmişlerdir. Sağlıklı erişkinlerden izole edilen suşlarda ise direnç saptanmamıştır (⁸⁵).

1993 yılında Bal, ÜSYİ olan 120 çocuktan izole edilen 31 (%26) *M. catarrhalis* suşundan 18'inde (%58) ve 80 erişkin hastadan izole edilen 6 (%8) suştan 3'ünde (%50) β-laktamaz'ın pozitif olduğunu bildirmiştir. Sağlıklı 20 çocuktan 12'sinde (%60) ve 20 erişkinden 2'sinde (%10) *M. catarrhalis* izole etmiştir. Çocuklardan izole edilen 12 suşun 10'unun (%83) ve erişkinlerden izole edilen 2 suşun birinin (%50) β-laktamaz ürettiği tespit edilmiştir (¹⁵).

Bu çalışmada ÜSYİ olan 104 hastanın boğaz sürüntü örneklerinden 20 *M. catarrhalis* (%19.2) izole edildi. Bu suşların 10'u A grubu β-hemolitik streptokoklarla, 9'u normal flora ile, 1'i de A grubu dışı β-hemolitik streptokoklarla birlikte izole edildi. Çocuk hastalarda *M. catarrhalis* izolasyon oranı %22.5, erişkin hastalarda ise %17.8 olarak bulundu. 104 hastanın nazofaringial sürüntülerinden 35 (%33.6) *M. catarrhalis* izole edildi. Bunların 17'si çocuk (%54.8), 18'i (% 24.6) erişkin hastalara aitti. İzole edilen 35 *M. catarrhalis* suşunun %94.4'ü β-laktamaz üretmekteydi. Suşlarda %94.4 ampisilin, %34.3 sefaklor, %20 tetrasiklin ve %5.7 oranında trimetoprim-sulfametoksazol direnci tespit edildi.

Fierrek ve ark. Almanya'da üst solunum yolu örneklerinden izole ettikleri 320 *M. catarrhalis* suşunun %77.8'inin β-laktamaz ürettiğini ve suşların eritromisin, ofloksasin ile ampisilin ve sefaklor hariç test edilen diğer beta laktam antibiyotiklere duyarlı olduğunu, suşlarda %2.2 tetrasiklin direnci olduğunu bildirmişlerdir (¹¹²).

Liassine ve ark. ise ÜSYİ hastalardan izole ettikleri 76 *M. catarrhalis* suşunda %78 oranında ampisilin direnci bulmuşlardır (¹⁰⁵). Çalışmamızda 104 ÜSYİ hastanın

nazofarinkslerinden izole edilen 35 *M. catarrhalis* suşunun 33'ünde (%94.3) ampisilin direnci saptandı.

Sağlıklı kişilerde ise; kreşe devam eden 56 çocukta %30.3, 52 erişkinde ise %9.6 oranında orofaringial kolonizasyon tespit edildi. İzole edilen 22 suşun 18'sinde (%81.8) β -laktamaz aktivitesi mevcuttu. Suşların 18'inde ampisilin (%81.8), 2'sinde (%9) tetrasiklin, 2'sinde trimetoprim-sulfametoksazol (%9) ve 3'ünde (%13.6) sefaklor direnci tespit edildi.

M. catarrhalis özellikle erişkinlerde, önemli bir alt solunum yolu patojenidir. KOAH'nın akut alevlenmelerinde ⁽¹¹³⁾, yaşlı hastaların pnömonilerinde ve son zamanlarda nozokomiyal solunum yolu infeksiyonlarında ön plana çıkmıştır ^(1, 3). A.B.D.'de yapılan bir çalışmada alt solunum yolu infeksiyonlu hastalarda *H. influenzae*' dan sonra ikinci sıklıkta ve %23 oranında izole edilmiştir ⁽¹⁵⁾.

"Veterans Administration Facility" nin yaptığı bir çalışmada KOAH'nın akut alevlenmelerinde *M. catarrhalis* %30 oranında etken olarak tespit edilmiştir ⁽³⁾.

Umut ve ark. KOAH'nın akut alevlenmesi olan 106 hastanın balgam kültürlerinden %30.8 *H. influenzae*, %12 *S. pneumoniae*, %7.7 *M. catarrhalis* izole etmişler. Azitromisin, sulbaktam-ampisilin ve siprofloksasinin etkili antibiyotikler olduğunu bildirmişlerdir ⁽¹¹⁴⁾.

Yine prospektif bir çalışmada yaşlılarda toplum kaynaklı pnömonilerin %10'unda *M. catarrhalis* etken olarak bulunmuştur ⁽³⁾. Birmingham'da yapılan prospektif bir çalışmada ise bronşektazili hastaların %28'inden *M. catarrhalis* izole edilmiştir ⁽¹⁶⁾.

Miravittles ve ark. KOAH'nın akut alevlenmesi tanısı alan 91 hastanın balgam kültürlerinden sırasıyla *H. Influenzae* (%22), *P. aeruginosa* (%15), *S. pneumoniae* (%10) ve dördüncü sıklıkla *M. catarrhalis* (%9) izole etmişlerdir ⁽¹¹⁵⁾.

Ndip ve ark. alt solunum yolu infeksiyonlu 204 hastanın balgam kültürlerinden %37 *S. aureus*, %30 *S. pneumoniae*, %21 *H. influenzae* ve %20.9 oranında *M. catarrhalis* izole etmişler. *M. catarrhalis* suşlarının %31.8'inde β -laktamaz aktivitesi saptanmıştır ⁽¹¹⁶⁾.

Ho ve ark. 100 bronşektazili hastanın balgam kültüründen 33 *P. aeruginosa*, 10 *M. catarrhalis*, 6 *S. pneumoniae*, 5 *S. aureus*, 2 *M. catarrhalis*, 1 maya ve 5 diğer enterik bakterilerden izole etmişlerdir ⁽¹¹⁷⁾.

Kenya'da Şubat 1997'den itibaren bir yıllık sürede geri kalmış bir bölgede 5 yaş altı 226 pnömoni tanısı konmuş 128 hastadan 192 patojen mikroorganizma üretilmiş. Patojen üretilen vakaların %61.8'i 1 yaşın altında olup, %31.3 *S. pneumoniae*, %10.4 RSV, %9.9 *Candida* ve %7.8 oranında *M. catarrhalis* izole edilmiştir (¹¹⁸).

Ferrer ve ark. 1992-1993 yıllarında iki yıllık sürede hastaneye yatan hastaların balgam ve/veya trakeal aspiratlarından *M. catarrhalis* izole edilen 52 hastayı retrospektif olarak incelemişler ve 52 hastanın solunum örneklerinden 60 *M. catarrhalis* izole etmişlerdir. Vakaların %17'sinde *M. catarrhalis* gram boyamada gram pozitif olarak görülmüş. 28 örnekte (%46.6) saf kültür halinde, %23'ünde *S. pneumoniae* ve %21'inde *H. influenzae* ile birlikte izole edilmiştir. Suşların 52'sinde (%86.6) β -laktamaz pozitif bulunmuştur. 11 hasta pnömoni tanısı ile izlenmiş. Bunların 8'inde altta yatan kronik bir hastalık varmış. Diğer 24 hasta KOAH'nın akut alevlenmesi, 7 hasta altta yatan hastalığı olmayan akut bronşit vakaları olarak değerlendirilmiş ve dokuz hastada ise *M. catarrhalis* izolasyonu, kolonizasyon olarak değerlendirilmiştir. *M. catarrhalis* özellikle KOAH'nın akut alevlenmelerinde ve immünsupresif hasta gruplarında etiyolojik ajan olarak daha büyük önem arz etmektedir (¹¹⁹).

Bir literatür taramasında *M. catarrhalis*'in etken olduğu alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarının ortalama yaşı 64.8 olarak bildirilmiştir. 60 yaşın altında *M. catarrhalis* taşıyıcılığı %5.4, 60 yaşın üzerinde ise %26.5 olarak tespit edilmiştir. Bu da yaşla beraber *M. catarrhalis*'e bağlı solunum yolu enfeksiyon riskinin arttığını göstermektedir. *M. catarrhalis* pnömonisi olan yaşlı hastaların çoğunda altta yatan bir hastalık mevcuttur. KOAH, bronşektazi, konjestif kalp yetmezliği sık görülür (^{3,16}).

Bizim çalışmamızda alt solunum yolu örneklerinden *M. catarrhalis* izole edilen 14 hastanın yaş ortalaması 51.1 ± 17.2 idi. 9'u (%64.2) 60 yaşın üzerinde idi. 11'i erkek, 3'ü kadındı. 12'si ayaktan 2'si yatarak tedavi görmekteydi. İki hasta akciğer kanseri nedeniyle immünsupresif tedavi görmekteydi. 9'unda (%64.2) sigara, 2'sinde (%14.2) antibiyotik öyküsü vardı. 14 hastanın 12'sinde (%85.7) ek patoloji vardı. 12 hasta KOAH alevlenmesi, 1 hasta pnömoni ve 1 hasta akciğer apsesi tanısı almıştı. *M. catarrhalis* ileri yaş grubunda ve altta yatan kronik hastalığı olanlarda alt solunum yolu patojeni olarak daha sık görülmektedir. Sonuçlarımız Literatürle uyumludur.

Bernstein ve ark 14 aylık sürede bakteriyel trakeit nedeniyle pediatrik yoğun bakım ünitesine yatırılan hastaları incelemişler. Bakteriyel etken olarak genellikle *S. aureus* bilinirken bu çalışmada 45 hastanın bakteriyel kültüründen 12 *M. catarrhalis* (%27) ve 25 viral kültürden 18'inde (%72) Influenzae A izole edilmiştir (¹²⁰).

Güriz ve ark. 325 balgam örneğinden (75'i ayaktan hasta, 250'si yatan hasta) 73 ünde (%22.5) patojen mikroorganizma izole etmişler. Bunlar sırasıyla 16 maya (%21.9), 15 *M. catarrhalis* (%20.5), 11 *Klebsiella spp.* (%5.1), 10 *E.coli* (%13.7), 6 *S.pneumoniae* (%8.2) ve 15 diğer mikroorganizmalardır. İzole edilen *M. catarrhalis* suşlarının 11'inde (%73.4) ampisilin, 2'sinde (%13.3) eritromisin direnci tespit edilmiş, tüm balgam örnekleri içinde *M. catarrhalis* izolasyon oranı ise %4.6 oranında bulunmuştur. *M. catarrhalis* izole edilen vakaların 3'ünde KOAH, 3'ünde diabetes mellitus, 5 hastada malignite, 1 hastada bronşektazi varken 3 hastada altta yatan herhangi bir patoloji tespit edilememiştir (¹²¹).

Koç ve ark., alt solunum yolu infeksiyonlu hastalardan alınan 200 balgam örneğinden 15 *M. catarrhalis* (%10.2) izole etmiş ve bunlardan 11'inin β -laktamaz ürettiğini (%73.3) tespit etmişlerdir (¹²²).

Aslanimehr ve ark., 29'u KOAH'lı, 8'i pnömonili ve 45'i bronşitli olmak üzere toplam 82 hastadan, KOAH'lılarda 9 ve pnömonili hastalarda 1 olmak üzere toplam 10 *M. catarrhalis* (%12.2) izole etmişlerdir. Bronşitli hasta grubundan *M. catarrhalis* izole edilememiştir. 10 *M. catarrhalis* suşundan 9'unun (%90) β -laktamaz ürettiği tespit edilmiştir (¹²³).

Şengül, yaş ortalaması 51 olan 43'ü kadın, 69'u erkek hastadan alınan hücresel kriterlere uygun 270 balgam örneğinden 112'sinde (%41.5) 44 *H. influenzae* (%39.3), 14 *M. catarrhalis* (%12.5), 13 *P. aeruginosa* (%11.6), 12 *S. pneumoniae* (%10.7), 7 *K. pneumoniae*, 5 *S. aureus* ve 17 diğer bakteri izole etmiştir. *M. catarrhalis* izolatlarının 11'i saf, 3'ü mikst halde izole edilmiş (2'si *H. influenzae* ve 1'i de *P. aeruginosa* ile birlikte). İzole edilen 14 *M. catarrhalis* suşundan 12'sinde (%85.7) β -laktamaz aktivitesi tespit edilmiştir (¹⁰⁹).

Aslanimehr'in yaptığı çalışmada hücresel kriterlere uygun 251 balgam örneğinden 99'unda (%39.4) patojen bakteri izole edilmiş ve bakteri izole edilen kültürlerden 6'sında saf, 5'inde mikst halde 11 *M. catarrhalis* izole edilmiştir (²⁵).

Bu çalışmada 104 ASYİ hastanın 54'ünden (%50) patojen mikroorganizma izole edildi. Bu hastaların 39'ü erkek, 15'i kadın idi. 39 erkek hastanın 32'sinde (%82.1), 15 kadın hastanın ise sadece 2'sinde (%13.3) sigara öyküsü mevcuttu.

104 ASYİ hastadan 14 *M. catarrhalis* (%12.9), 13 *S. pyogenes* (%12), 9 *Candida* (%8.3), 8 *S. pneumoniae* (%7.4), 4 *Klebsiella spp.* (%3.7), 3 *P. aeruginosa* (%2.8), 3 *E.coli* (%2.8), 2 *S.aureus* (%1.9) ve 4 tane de diğer patojenler izole edildi.

M. catarrhalis izole edilen örneklerin 13'ü balgam 1'i BAL sıvısı idi. 5'i saf kültür halinde, 4'ü normal flora ile birlikte dominant halde, 5 tanesi de mikst olarak izole edildi (1 *E.coli*, 1 *S.aureus*, 1 *K. Pneumoniae*, 1 *S. pneumoniae* ve 1 *Candida* ile birlikte).

ASYİ ön tanılı hastalardan izole edilen 14 *M. catarrhalis* suşunun hepsi β -laktamaz üretmekteydi. Suşların hepsi ampisiline (%100), 3'ü sefaklor'a (%21.4), 2'si tetrasikline (%14.3), 1'i trimetoprim-sulfametoksazol'e (%7.1) dirençli bulundu. Amoksisilin-klavulanik asit, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim, ofloksasin, eritromisin ve azitromisine ise tüm suşlar duyarlı idi. Blondeau ve ark. Kanada'da çeşitli merkezlerden toplanan 75 *M. catarrhalis* suşunun 64'ünün β -laktamaz ürettiğini (%85.3) ve *M. catarrhalis*'e karşı azitromisin, sefuroksim, sefiksim ve lorakarbef'in etkili olduğunu bildirmişlerdir (¹²⁴).

Gür ve ark. çeşitli klinik örneklerden izole edilen 26 *M. catarrhalis* suşunda E-test yöntemi ile %77 oranında ampisilin ve %8 oranında eritromisin direnci tespit etmişler. Tüm suşlar siprofloksasin, sefaklor ve sefotaksime duyarlı bulunmuştur (¹²⁵).

Felmingham ve ark. 1995-96 kış döneminde İngiltere'de toplum kaynaklı alt solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen 258 *M. catarrhalis* suşundan %94.2'sinin β -laktamaz ürettiğini bildirmişlerdir (¹²⁶).

Amerika'da 1992-1994 yılları arasında çok merkezli (Avrupa'da 10, Amerika'da 5 merkezin birlikte yürüttüğü) Alexander Projesi çerçevesinde toplum kaynaklı alt solunum yolu infeksiyonlarından 1193 *M. catarrhalis* suşu izole edilmiş ve β -laktamaz üretme oranları 1992'de %92.1, 1993'te %93.8 ve 1994'te %96.5 olarak tespit edilmiştir (¹³).

Avrupa'da toplum kaynaklı pnömonilerden izole edilen suşların antimikrobiyal direncini takip için yürütülen SENTRY antimikrobiyal surveyans programı çerçevesinde 1997 Nisan ayından itibaren on aylık sürede Avrupa'daki 20

hastaneden toplum kaynaklı pnömoni vakalarından elde edilen 167 *M. catarrhalis* suşunun penisiline direnç oranı ise %92 olarak bulunmuştur (¹⁰¹).

Torun ve ark. alt solunum yolu infeksiyonlu hastalardan izole ettikleri 25 *M. catarrhalis* suşunun 16'sının (%64) β -laktamaz ürettiğini tespit etmişlerdir (¹²⁷).

Amerika'da 1994-1995 yılları arasında yapılan bir surveyans çalışmasında ayaktan tedavi gören hastalardan elde edilen 723 *M. catarrhalis* klinik izolatında %6.5 oranında bir trimetoprim-sulfametoksazol direnci bildirilmiş iken aynı çalışmada eritromisin ve tetrasiklin direnci saptanmamıştır (⁹²).

Nissinen ve ark. Finlandiya'da 1978-1993 yılları arasında izole edilen 1452 *M. catarrhalis* suşu ile 1988-1990 yılları arasında farklı merkezlerden toplanan 401 izolatın β -laktamaz aktivitelerini retrospektif olarak incelemişler ve 1978 de bu oran %0 iken 1983'te %60'a 1988-1990 yılları arasında ise %80'e ulaştığını bildirmişlerdir (¹²⁸).

1995'te 21 klinikten toplanan 446 *M. catarrhalis* izolatında ise bu oran %96 olarak bulunmuş ve suşlarda %0.7 oranında trimetoprim-sulfametoksazol direnci tespit edilmiştir (¹²⁹). Çekoslovakya'da izole edilen 60 *M. catarrhalis* suşunda %88.1 oranında ampisilin direnci tespit edilmiş ve suşların hepsi amoksisilin-klavulanik asite duyarlı bulunmuştur (¹³⁰).

Bizim çalışmamızda tüm çalışma gruplarından toplam 71 *M. catarrhalis* izole edildi. Bunların 65'inde (% 91.5) β -laktamaz aktivitesi mevcuttu. Suşların %91.5'inde ampisilin, %7'sinde trimetoprim-sulfametoksazol, %15.4'ünde tetrasiklin ve %25.3'ünde sefaklor direnci tespit edildi. Tüm suşlar amoksisilin-klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı idi. Ampisilin ve trimetoprim-sulfametoksazol direnç oranları literatürle uyumludur. Sefaklor ve tetrasiklin direnç oranlarının yüksekliği, suş sayısının fazla olmamasına bağlı olabilir.

Görüldüğü gibi ilk β -laktamaz üreten suşun izole edildiği 1977 yılından itibaren geçen yirmi üç yıl sonunda suşların neredeyse tamamı β -laktamaz üretmektedir. Bunun dışında çeşitli oranlarda tetrasiklin, eritromisin, sefaklor ve trimetoprim-sulfametoksazol dirençleri bildirilmektedir. Yine 1998'de levofloksasin dahil tüm kinolonlara dirençli bir suşun bildirilmesi de oldukça önemlidir (⁹¹). Antibiyotik direnç profilini giderek genişleten bu bakterinin antibiyotik direnç oranları Avrupa ve

Amerika’da 90’lı yıllardan beri sürdürülen ALEXANDER ve SENTRY surveyans programları ile takip edilmekte ve sonuçlar tüm dünyaya bildirilmektedir.



catarrhalis ileri yaş grubunda ve altta yatan kronik hastalığı olanlarda alt solunum yolu patojeni olarak daha sık görülmektedir. Sonuçlarımız da bununla uyumludur.

10) Tüm çalışma gruplarından toplam 71 *M. catarrhalis* izole edildi. Bunların 65'inde (%91.5) β -laktamaz aktivitesi saptandı. Suşların %91.5'inde ampisilin, %7'sinde trimetoprim-sulfametoksazol, %15.4'ünde tetrasiklin ve %25.3'ünde sefaklor direnci bulundu. Tüm suşlar amoksisilin-klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı idi.



ÖZET

M. catarrhalis, 1970'lı yıllara kadar üst solunum yollarının kommensal elemanı olarak kabul edilen bir bakteri idi. Ancak günümüzde hem immünsupresif, hem de immünkompetan hastalarda lokal ve sistemik infeksiyonlardan izole edilmesi nedeniyle önemi giderek artmaktadır.

Solunum yolu örneklerinden *M. catarrhalis*'in izolasyonu, identifikasyonu ve in-vitro antimikrobiyal duyarlılıklarını araştırmak amacıyla bu çalışma yapıldı. Toplam 212 hastadan alınan 316 örnek *M. catarrhalis* açısından incelendi. Üst Solunum Yolu İnfeksiyonlu 104 hastanın boğaz kültürlerinden çocuklarda %22.5, erişkinlerde %17.8 oranında *M. catarrhalis* izole edildi. Kreşe devam eden sağlıklı 56 çocukta %30.3, sağlıklı erişkinlerde %9.6 oranında orofaringial taşıyıcılık tespit edildi. Alt Solunum Yolu İnfeksiyonlu 108 hastanın 14'ünden (%12.9) *M. catarrhalis* izole edildi. *M. catarrhalis* izole edilen hastaların yaş ortalaması 51 idi. %86'sında altta yatan patoloji vardı ve %64'ünde sigara öyküsü mevcuttu. İleri yaş, sigara öyküsü ve altta yatan bir hastalığın varlığı, *M. catarrhalis* infeksiyonlarına zemin hazırladığı tespit edildi.

Tüm çalışma gruplarından toplam 71 *M. catarrhalis* izole edildi. 65 suşta (%91.5) β -laktamaz aktivitesi mevcuttu. Suşların %91.5'inde ampisilin, %7'sinde trimetoprim-sulfametoksazol, %15.4'ünde tetrasiklin ve %25.3'ünde sefaklor direnci tespit edildi. Tüm suşlar amoksisilin- klavulanik asit, eritromisin, azitromisin, sefuroksim, sefiksim, sefotaksim ve ofloksasine duyarlı bulundu.

1977'de β -laktamaz üreten ilk *M. catarrhalis* suşunun bildirilmesinden bu yana suşların β -laktamaz üretimi giderek artmıştır. Günümüzde bu oran %90'ın üzerindedir. Ampisilin ve diğer bazı antibiyotiklere karşı direnç gelişmiş olması bu bakterinin ileriki yıllarda öneminin giderek artacağını düşündürmektedir. Bu nedenle özellikle solunum yolu örneklerinde bu bakterinin izolasyonunun rutin çalışmalara dahil edilmesi yararlı olabilir.

SONUÇLAR

1) Bu çalışmada Ekim 1999-Şubat 2000 tarihleri arasında ÜSYİ ön tanılı 104 hastadan alınan boğaz ve nazofarinks sürüntüsü ile ASYİ ön tanılı 108 hastadan alınan alt solunum yolu örnekleri *M. catarrhalis* yönünden incelendi. Sağlıklı kişilerde *M. catarrhalis*'in orofaringial kolonizasyonu araştırmak için 56 çocuk ve 52 erişkin çalışmaya dahil edildi.

2) ÜSYİ ön tanılı 104 hastanın boğaz sürüntülerinden 20 (%19.2), *M. catarrhalis* izole edildi.

3) İzolasyon oranı çocuk hastalarda %22.5, erişkinlerde ise %17.8 idi.

4) Kontrol grubu olarak kreşe devam eden 56 çocuk ile 52 erişkinden boğaz sürüntüsü alındı. Kreş çocuklarında %30.3, erişkin grubunda ise %9.6 oranında *M. catarrhalis* taşıyıcılığı tespit edildi.

5) ÜSYİ ön tanılı hastalardan aynı zamanda alınan nazofaringial örneklerden 35 (%33.6) *M. catarrhalis* izole edildi.

6) ASYİ ön tanılı 108 (78'i ayaktan, 30'u yatan) hastanın 54'ünün (35'i ayaktan, 19'u yatan hasta) ASY örneklerinden (%50) 60 patojen mikroorganizma izole edildi. İzolasyon oranı ayaktan hastalarda %45, yatan hastalarda %65 idi. 20 hastada antibiyotik öyküsü vardı ve bunların 13'ünde patojen mikroorganizma üredi.

7) ASY örneklerinden 14 *M. catarrhalis* (%12.9), 13 *S. pyogenes* (%12), 9 *Candida* (%8.3), 8 *S. pneumoniae* (%7.4), 4 *Klebsiella spp.* (%3.7), 3 *P. aeruginosa* (%2.8), 3 *E.coli* (%2.8), 2 *S.aureus* (%1.9) ve 4 tane de diğer patojenler izole edildi.

8) *M. catarrhalis* izole edilen örneklerin 13'ü balgam 1'i BAL sıvısı idi. İkiisi saf kültür halinde, 7'si normal flora ile birlikte dominant halde, 5 tanesi de mikst olarak izole edildi (1 *E.coli*, 1 *S.aureus*, 1 *K. pneumoniae*, 1 *S. pneumoniae* ve 1 *Candida* ile birlikte).

9) *M. catarrhalis* izole edilen 14 hastanın yaş ortalaması 51.1 ± 17.2 olup, 9'u (%64.2) 60 yaşın üzerinde idi. 11'i erkek, 3'ü kadındı. 12'si ayaktan 2'si yatarak tedavi görmekteydi. 9'unda (%64.2) sigara, 2'sinde (%14.2) antibiyotik öyküsü vardı. 14 hastanın 12'sinde (%85.7) ek patoloji vardı. 12 hasta KOAH alevlenmesi, 1 hasta pnömoni ve 1 hasta akciğer apsesi tanısı almıştı. İki hasta immünsupresif idi. *M.*

SUMMARY

M. catarrhalis was regarded as a commensal member of upper respiratory tract until 1970. However, its significance has increased recently since it has been isolated from immunocompromised and also immunocompetent patients with local and systemic infections. The aim of this study is investigated to isolation identification and in-vitro antimicrobial susceptibility of *M. catarrhalis* from respiratory tract specimens. Three hundred sixteen specimens obtained from 212 patients were examined for *M. catarrhalis*. Throat swabs were taken from 104 patients who have upper respiratory infections. The isolation rates of *M. catarrhalis* were 22.5%, 17.8% in children and adults, respectively. The control group includes 56 healthy children and 52 healthy adults. The isolation rates of *M. catarrhalis* were 30.3% and 9.6%, respectively. 14 of 108 lower respiratory tract infection patients were isolated *M. catarrhalis* (12.9%). The mean age of these patients were 62. In *M. catarrhalis* positive patients, 86% had underlying diseases and 64% smoking history. Thus, elderly, underlying disease and smoking may predispose to *M. catarrhalis* infections. 71 *M. catarrhalis* strains were isolated from all study groups. 65 of 71 (91.5%) had β -lactamase activity. The resistance rates were 91.5% to ampicillin, 7% trimethoprim-sulfamethoxazole, 15.4% tetracycline and 25.3% cefaclor. All *M. catarrhalis* strains were found to be susceptible to amoxicillin-clavulanic acid, erythromycin, azithromycin, cefuroxime, cefotaxime and ofloxacin. β -lactamase production by *M. catarrhalis* was first reported in 1977 and its number was increasing gradually. Nowadays this rate is more than 90%. The resistance to ampicillin and other antibiotics increased the importance of *M. catarrhalis*. Therefore, it may be useful to include *M. catarrhalis* in routine microbiological culturing of respiratory specimens.

KAYNAKLAR

1. Köseoglu Ö. Branhamella catarrhalis: Genel özellikleri, enfeksiyonları ve laboratuvar tanısı. Mikrobiyoloji Bülteni 1998;32:351-64.
2. Fazlı ŞA. Neisseria ve Branhamella. In: Ustaçelebi Ş, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.baskı. Ankara 383-6: 1999.
3. Murphy TF. Lung infections. 2. Branhamella catarrhalis: epidemiological and clinical aspects of a human respiratory tract pathogen. Thorax 1998;53:124-8.
4. Koç N. Çeşitli Klinik Örneklerden Moraxella Catarrhalis'in İzolasyonu ve İdentifikasyonu. (Uzmanlık Tezi), Kayseri . 1993.
5. Murphy TM. Moraxella (Branhamella) catarrhalis and Other Gram Negative Cocci. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Disease., 5th ed. New York: Churchill Livingstone., 2000.
6. Enright MC, McKenzie H. Moraxella (Branhamella) catarrhalis--clinical and molecular aspects of a rediscovered pathogen. J Med Microbiol 1997;46:360-71.
7. Knapp JS, Rice RJ. Neisseriae and Branhamella. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology 6th ed ASM Press, Washington, DC USA 1995;324-40.
8. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg E, et al. Medical Microbiology 20th ed. Appleton-Lange, USA 1995;222, 249.
9. Gröschel DHM. Moraxella catarrhalis and other Gram negative cocci. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Disease., 4th ed. New York: Churchill Livingstone., 1995.
10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Neisseria Species and Moraxella Catarrhalis. Color Atlas Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Company New York 1997;491-537.
11. Bootsma HJ, van Dijk H, Verhoef J, et al. Molecular characterization of the BRO beta-lactamase of Moraxella (Branhamella) catarrhalis. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:966-72.
12. Bootsma HJ, Aerts PC, Posthuma G, et al. Moraxella (Branhamella) catarrhalis BRO beta-lactamase: a lipoprotein of gram-positive origin? J Bacteriol 1999;181:5090-3.

13. Washington JA. A multicenter study of the antimicrobial susceptibility of community- acquired lower respiratory tract pathogens in the United States, 1992- 1994. The Alexander Project. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996;25:183-90.
14. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-9 Ekim 1998). Kongre Özet Kitabı 1998;12-171.
15. Bal ZÇ. Solunum Sistemi Örneklerinde *Moraxella* (*Branhamella*) *Catarrhalis* Sıklığı (Uzmanlık Tezi), İstanbul. 1993.
16. Barreiro B, Esteban L, Prats E, et al. *Branhamella catarrhalis* respiratory infections. *Eur Respir J* 1992;5:675-9.
17. Ainsworth SM, Nagy SB, Morgan LA, et al. Interpretation of gram-stained sputa containing *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *J Clin Microbiol* 1990;28:2559-60.
18. Vaneechoutte M, Verschraegen G, Claeys G, Van den Abeele AM. Selective medium for *Branhamella catarrhalis* with acetazolamide as a specific inhibitor of *Neisseria* spp. *J Clin Microbiol* 1988;26:2544-8.
19. Sehgal SC, al Shaimy I. *Moraxella catarrhalis* in upper respiratory tract of healthy Yemeni children/adults and paediatric patients: detection and significance. *Infection* 1994;22:193-6.
20. Schreckenberger PC, von Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Methylobacterium*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology* 7th ed ASM Press, Washington, DC USA 1999;539-60.
21. Graham DR, Band JD, Thornsberry C, et al. Infections caused by *Moraxella*, *Moraxella urethralis*, *Moraxella*-like groups M-5 and M-6, and *Kingella kingae* in the United States, 1953-1980. *Rev Infect Dis* 1990;12:423-31.
22. Ebright JR, Lentino JR, Juni E. Endophthalmitis caused by *Moraxella nonliquefaciens*. *Am J Clin Pathol* 1982;77:362-3.
23. Sherman MD, York M, Irvine AR, et al. Endophthalmitis caused by beta-lactamase-positive *Moraxella nonliquefaciens*. *Am J Ophthalmol* 1993;115:674-6.

24. Enright MC, Carter PE, MacLean IA, McKenzie H. Phylogenetic relationships between some members of the genera *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, and *Kingella* based on partial 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol* 1994;44:387-91.
25. Aslanimehr M. Alt Solunum Yolları Enfeksiyonlarında *Moraxella Catarrhalis*'in Prevalansı ve Beta Laktamaz Aktivitesinin Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi), İzmir. 1993.
26. Marrs CF, Weir S. Pili (fimbriae) of *Branhamella* species. *Am J Med* 1990;88:36S-40S.
27. Bartos LC, Murphy TF. Comparison of the outer membrane proteins of 50 strains of *Branhamella catarrhalis*. *J Infect Dis* 1988;158:761-5.
28. Murphy TF, Loeb MR. Isolation of the outer membrane of *Branhamella catarrhalis*. *Microb Pathog* 1989;6:159-74.
29. Murphy TF. Studies of the outer membrane proteins of *Branhamella catarrhalis*. *Am J Med* 1990;88:41S-5S.
30. Aebi C, Lafontaine ER, Cope LD, et al. Phenotypic effect of isogenic *uspA1* and *uspA2* mutations on *Moraxella catarrhalis* 035E. *Infect Immun* 1998;66:3113-9.
31. Lafontaine ER, Cope LD, Aebi C, et al. The *UspA1* protein and a second type of *UspA2* protein mediate adherence of *Moraxella catarrhalis* to human epithelial cells in vitro. *J Bacteriol* 2000;182:1364-73.
32. Aebi C, Maciver I, Latimer JL, et al. A protective epitope of *Moraxella catarrhalis* is encoded by two different genes. *Infect Immun* 1997;65:4367-77.
33. McMichael JC, Fiske MJ, Fredenburg RA, et al. Isolation and characterization of two proteins from *Moraxella catarrhalis* that bear a common epitope. *Infect Immun* 1998;66:4374-81.
34. Cullmann W. *Moraxella catarrhalis*: virulence and resistance mechanisms. *Med Klin* 1997;92:162-6.
35. Maciver I, Unhanand M, McCracken GHJ, Hansen EJ. Effect of immunization of pulmonary clearance of *Moraxella catarrhalis* in an animal model. *J Infect Dis* 1993;168:469-72.
36. Campagnari AA, Ducey TF, Rebmann CA. Outer membrane protein B1, an iron-repressible protein conserved in the outer membrane of *Moraxella*

- (*Branhamella*) *catarrhalis*, binds human transferrin. *Infect Immun* 1996;64:3920-4.
37. Sethi S, Hill SL, Murphy TF. Serum antibodies to outer membrane proteins (OMPs) of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* in patients with bronchiectasis: identification of OMP B1 as an important antigen. *Infect Immun* 1995;63:1516-20.
 38. Hsiao CB, Sethi S, Murphy TF. Outer membrane protein CD of *Branhamella catarrhalis*: sequence conservation in strains recovered from the human respiratory tract. *Microb Pathog* 1995;19:215-25.
 39. Murphy TF, Kirkham C, Lesse AJ. The major heat-modifiable outer membrane protein CD is highly conserved among strains of *Branhamella catarrhalis*. *Mol Microbiol* 1993;10:87-97.
 40. Yang YP, Myers LE, McGuinness U, et al. The major outer membrane protein, CD, extracted from *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* is a potential vaccine antigen that induces bactericidal antibodies. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997;17:187-99.
 41. Bhushan R, Craigie R, Murphy TF. Molecular cloning and characterization of outer membrane protein E of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *J Bacteriol* 1994;176:6636-43.
 42. Bhushan R, Kirkham C, Sethi S, Murphy TF. Antigenic characterization and analysis of the human immune response to outer membrane protein E of *Branhamella catarrhalis*. *Infect Immun* 1997;65:2668-75.
 43. Fitzgerald M, Mulcahy R, Murphy S, et al. A 200 kDa protein is associated with haemagglutinating isolates of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997;18:209-16.
 44. Fitzgerald M, Mulcahy R, Murphy S, et al. Transmission electron microscopy studies of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999;23:57-66.
 45. Holme T, Rahman M, Jansson PE, Widmalm G. The lipopolysaccharide of *Moraxella catarrhalis* structural relationships and antigenic properties. *Eur J Biochem* 1999;265:524-9.

46. Hol C, Van Dijke EE, Verduin CM, et al. Experimental evidence for *Moraxella*-induced penicillin neutralization in pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 1994;170:1613-6.
47. Holmes B, Howard BJ. Nonfermentative Gram Negative Bacteria. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, et al., eds. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. St. Louis, USA: Mosby, 1994.
48. Ruuskanen O, Heikkinen T. Otitis media: etiology and diagnosis. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:S23-S26.
49. Hoppe HL, Johnson CE. Otitis media: focus on antimicrobial resistance and new treatment options. *Am J Health Syst Pharm* 1998;55:1881-97.
50. Aniansson G, Alm B, Andersson B, et al. A prospective cohort study on breast-feeding and otitis media in Swedish infants. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:183-8.
51. Faden H, Harabuchi Y, Hong JJ. Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* in children during the first 2 years of life: relationship to otitis media. *J Infect Dis* 1994;169:1312-7.
52. Faden H, Duffy L, Wasielewski R, et al. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *Tonawanda/Williamsville Pediatrics*. *J Infect Dis* 1997;175:1440-5.
53. Faden H, Duffy L, Boeve M. Otitis media: back to basics. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:1105-12.
54. Faden H, Hong J, Murphy T. Immune response to outer membrane antigens of *Moraxella catarrhalis* in children with otitis media. *Infect Immun* 1992;60:3824-9.
55. Ueyama T, Kurono Y, Shirabe K, et al. High Incidence of *Haemophilus influenzae* in Nasopharyngeal Secretions and Middle Ear Effusions as Detected by PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:1835-8.
56. Post JC, Preston RA, Aul JJ, et al. Molecular analysis of bacterial pathogens in otitis media with effusion [see comments]. *JAMA* 1995;273:1598-604.
57. Faden H, Dryja D. Recovery of a unique bacterial organism in human middle ear fluid and its possible role in chronic otitis media. *J Clin Microbiol* 1989;27:2488-91.

58. Bosley GS, Whitney AM, Pruckler JM, et al. Characterization of ear fluid isolates of *Alloiococcus otitidis* from patients with recurrent otitis media. *J Clin Microbiol* 1995;33:2876-80.
59. Hendolin PH, Markkanen A, Ylikoski J, Wahlfors JJ. Use of multiplex PCR for simultaneous detection of four bacterial species in middle ear effusions. *J Clin Microbiol* 1997;35:2854-8.
60. Hendolin PH, Karkkainen U, Himi T, et al. High incidence of *Alloiococcus otitis* in otitis media with effusion. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:860-5.
61. Hendolin PH, Paulin L, Ylikoski J. Clinically applicable multiplex PCR for four middle ear pathogens. *J Clin Microbiol* 2000;38:125-32.
62. Wald ER. Microbiology of acute and chronic sinusitis in children and adults. *Am J Med Sci* 1998;316:13-20.
63. Evans KL. Diagnosis and management of sinusitis. *BMJ* 1994;309:1415-22.
64. Evans KL. Recognition and management of sinusitis. *Drugs* 1998;56:59-71.
65. Rotta AT, Asmar BI. *Moraxella catarrhalis* bacteremia and preseptal cellulitis. *South Med J* 1994;87:541-2.
66. Madison JM, Irwin RS. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 1998;352:467-73.
67. Bodkin S, Warde D. *Moraxella catarrhalis*--an unusual pathogen in bacterial tracheitis. *Ir Med J* 1993;86:208-9.
68. Sportel JH, Koeter GH, van Altena R, et al. Relation between beta-lactamase producing bacteria and patient characteristics in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Thorax* 1995;50:249-53.
69. Leedom JM. Pneumonia. Patient profiles, choice of empiric therapy, and the place of third-generation cephalosporins. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992;15:57-65.
70. Morgan MG, McKenzie H, Enright MC, et al. Use of molecular methods to characterize *Moraxella catarrhalis* strains in a suspected outbreak of nosocomial infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:305-12.
71. Ikram RB, Nixon M, Aitken J, Wells E. A prospective study of isolation of *Moraxella catarrhalis* in a hospital during the winter months. *J Hosp Infect* 1993;25:7-14.

72. Gabre-Selasie S. Human antibody response to *Moraxella catarrhalis* antigens. *East Afr Med J* 1998;75:175-9.
73. Daoud A, Abuekteish F, Masaadeh H. Neonatal meningitis due to *Moraxella catarrhalis* and review of the literature. *Ann Trop Paediatr* 1996;16:199-201.
74. Thorsson B, Haraldsdottir V, Kristjansson M. *Moraxella catarrhalis* bacteraemia. A report on 3 cases and a review of the literature. *Scand J Infect Dis* 1998;30:105-9.
75. Neumayer U, Schmidt HK, Mellwig KP, Kleikamp G. *Moraxella catarrhalis* endocarditis: report of a case and literature review. *J Heart Valve Dis* 1999;8:114-7.
76. Meyer GA, Shope TR, Waecker NJJ, Lanningham FH. *Moraxella* (Branhamella) *catarrhalis* bacteremia in children. A report of two patients and review of the literature. *Clin Pediatr (Phila)* 1995;34:146-50.
77. Cooke RP, Williams R, Bannister CM. Shunt-associated ventriculitis caused by *Branhamella catarrhalis*. *J Hosp Infect* 1990;15:197-8.
78. MacArthur RD. *Branhamella catarrhalis* peritonitis in two continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1990;10:169-71.
79. Knapp JS, Koumans EH. *Neisseriae* and *Branhamella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology* 7th ed ASM Press, Washington, DC USA 1999;586-603.
80. Weiner M, Penha PD. Evaluation of Bacto TB hydrolysis reagent (Tween 80) for the identification of *Branhamella catarrhalis*. *J Clin Microbiol* 1990;28:126-7.
81. Koç N, Sümerkan B, Fazlı ŞA, Evrensel N. *Moraxella* (Branhamella) *catarrhalis*'in identifikasyonunda Tween-80 hidrolizinin değeri. *Infeksiyon Dergisi* 1995;9:33-6.
82. Singh S, Cisera KM, Turnidge JD, Russell EG. Selection of optimum laboratory tests for the identification of *Moraxella catarrhalis*. *Pathology* 1997;29:206-8.
83. Barbe G, Babolat M, Boeufgras JM, et al. Evaluation of API NH, a new 2-hour system for identification of *Neisseria* and *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* in a routine clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1994;32:187-9.

84. Leitch C, Boonlayangoor S. β -lactamase Tests. In: Isenberg HD. ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992.
85. Bolatlı T, Güriz H. *Moraxella Catarrhalis*'in Salıklı Kişilerde Kolonizasyonu. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:41-4.
86. Klingman KL, Pye A, Murphy TF, Hill SL. Dynamics of respiratory tract colonization by *Branhamella catarrhalis* in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1072-8.
87. Prellner K, Fogle-Hansson M, Jorgensen F, et al. Prevention of recurrent acute otitis media in otitis-prone children by intermittent prophylaxis with penicillin. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1994;114:182-7.
88. Vives M, Garcia ME, Saenz P, et al. Nasopharyngeal colonization in Costa Rican children during the first year of life. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:852-8.
89. McGregor K, Chang BJ, Mee BJ, Riley TV. *Moraxella catarrhalis*: clinical significance, antimicrobial susceptibility and BRO beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:219-34.
90. Fung CP, Lee SC, Liu PY, et al. beta-Lactam resistance and beta-lactamase isoforms of *Moraxella catarrhalis* isolates in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1998;97:453-7.
91. DiPersio JR, Jones RN, Barrett T, et al. Fluoroquinolone-resistant *Moraxella catarrhalis* in a patient with pneumonia: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32:131-5.
92. Doern GV, Brueggemann AB, Pierce G, et al. Prevalence of antimicrobial resistance among 723 outpatient clinical isolates of *Moraxella catarrhalis* in the United States in 1994 and 1995: results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2884-6.
93. Garau J. Clinical implications of resistance in the management of respiratory tract infections. *Can Respir J* 1999;6 Suppl A:23A-6A.
94. NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, sixth edition. approved standard NCCLS document M2-A6 1997;17.

95. NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). M100-S9 1999;19.
96. Pratt-Rippin K, Pezzlo M. Identification of Commonly Isolated Aerobic Gram-Positive Bacteria, Catalase Test. In: Isenberg HD, ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992.
97. Shigei J. Test Methods Used in the Identification of Commonly Isolated Aerobic Gram-Negative Bacteria. In: Isenberg HD, ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992.
98. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı ., İkinci basım ed. Ankara: 1995;582.
99. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Chart 53. Nitrate Reduction: General applications. Color Atlas Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Company New York 1997;1366-7.
100. Silcox VA. Identification test for Mycobacteria. In: Isenberg HD, ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992.
101. Fluit AC, Schmitz FJ, Jones ME, et al. Antimicrobial Resistance among Community-Acquired Pneumonia Isolates in Europe: First Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997. Int J Infect Dis 1999;3:153-6.
102. Amyes S. Ten years of ciprofloxacin: the past, present and future. Antimicrobial susceptibility. Introduction. J Antimicrob Chemother 1999;43 Suppl A:1-2.
103. Baldwin DR, Macfarlane JT. Community-Acquired Pneumonia. In: Armstrong D, Cohen J, Berkley SF, et al., eds. Infectious Diseases, 1st ed. St. Louis, USA: Mosby, 1999; chap. 27.
104. Jakubicz P, Leszczynska K. Occurrence of *Moraxella catarrhalis* in patients with respiratory tract infections. Med Dosw Mikrobiol 1997;49:55-60.
105. Liassine N, Gervaix A, Hegi R, et al. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy children. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:217-20.

106. Principi N, Marchisio P, Schito GC, Mannelli S. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children. Ascanius Project Collaborative Group. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:517-23.
107. De Lencastre H, Kristinsson KG, Brito-Avo A, et al. Carriage of respiratory tract pathogens and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* colonization in healthy children attending day care centers in Lisbon, Portugal. *Microb Drug Resist* 1999;5:19-29.
108. Gunnarsson RK, Holm SE, Soderstrom M. The prevalence of potential pathogenic bacteria in nasopharyngeal samples from healthy children and adults. *Scand J Prim Health Care* 1998;16:13-7.
109. Şengül F. Çeşitli Klinik Örneklerden *Moraxella* (*Branhamella*) *Catarrhalis* İzolasyonu ve Beta Laktamaz Aktivitesinin Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi), Bursa. 1996.
110. Radosz-Komoniewska H, Rogala-Zawada D, Zientara M, et al. Bacterial flora in pharyngitis and tonsillitis. *Med Dosw Mikrobiol* 1998;50:63-8.
111. Ejlersen T, Skov R. The beta-lactamases of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* isolated from Danish children. *APMIS* 1996;104:557-62.
112. Fierek O, Hinniger P, Panzig B. Antibiotic sensitivity of important pathogens of bacterial respiratory tract infections in Northeast Germany. *Med Klin* 1998;93:656-61.
113. Sethi S. Infectious exacerbations of chronic bronchitis: diagnosis and management. *J Antimicrob Chemother* 1999;43 Suppl A:97-105.
114. Umut S, Tutluoglu B, Aydin TG, et al. Determination of the etiological organism during acute exacerbations of COPD and efficacy of azithromycin, ampicillin-sulbactam, ciprofloxacin and cefaclor. Turkish Thoracic Society COPD Working Group. *J Chemother* 1999;11:211-4.
115. Miravittles M, Espinosa C, Fernandez-Laso E, et al. Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. Study Group of Bacterial Infection in COPD. *Chest* 1999;116:40-6.

116. Ndip RN, Obi MC, Obi CL, et al. Antibigram of bacterial isolates from cases of otitis media and lower respiratory tract infections. Afr J Med Med Sci 1995;24:353-7.
117. Ho PL, Chan KN, Ip MS, et al. The effect of *Pseudomonas aeruginosa* infection on clinical parameters in steady-state bronchiectasis. Chest 1998;114:1594-8.
118. Taguchi H, Kamiya Y, Yamaguchi H, et al. Current status of acute respiratory infections in children under five years of age in Nairobi, Kenya. Kansenshogaku Zasshi 1998;72:1289-94.
119. Ferrer MA, Martinez OE, Falco FV, et al. *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*: its isolation in the respiratory secretions of adult patients. An Med Interna 1997;14:554-8.
120. Bernstein T, Brill R, Jacobs B. Is bacterial tracheitis changing? A 14-month experience in a pediatric intensive care unit. Clin Infect Dis 1998;27:458-62.
121. Güriz H, Bolatlı T. *Moraxella Catarrhalis*'in Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarındaki Yeri. Mikrobiyoloji Bülteni 1995;29:142-8.
122. Koç AN, Sümerkan B, Fazlı ŞA, Aydın N. *Moraxella Catarrhalis*'in Alt Solunum Yolları Enfeksiyonlarında İzolasyon Oranı ve Beta Laktamaz Aktivitesi. Enfeksiyon Dergisi 1995;9:37-40.
123. Aslanimehr M, Yüce A, Yuluğ N. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Olanların Balgamlarında *Moraxella Catarrhalis*'in Sıklığı. Mikrobiyoloji Bülteni 1995;29:357-64.
124. Blondeau JM, Suter M, Borsos S. Determination of the antimicrobial susceptibilities of Canadian isolates of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis*. Canadian Antimicrobial Study Group. J Antimicrob Chemother 1999;43 Suppl A:25-30.
125. Gür D, Şener B, Sümerkan B, et al. *Haemophilus Influenzae*, *Moraxella Catarrhalis* ve *Streptococcus Pneumoniae*'ye Karşı Çeşitli Antibiyotiklerin İn-Vitro Etkinliği. Ankem Dergisi 1995;9:115.
126. Felmingham D, Robbins MJ, Tesfaslasie Y, et al. Antimicrobial susceptibility of community-acquired lower respiratory tract bacterial pathogens isolated in the UK during the 1995-1996 cold season. J Antimicrob Chemother 1998;41:411-5.

127. Torun MM, Kulaksız BH. *Moraxella catarrhalis* Kökenlerine Çeşitli Antibiyotiklerin In-Vitro Duyarlılığı. 13 Antibiyotik Ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi 1998;34-120.
128. Nissinen A, Gronroos P, Huovinen P, et al. Development of beta-lactamase-mediated resistance to penicillin in middle-ear isolates of *Moraxella catarrhalis* in Finnish children, 1978- 1993. Clin Infect Dis 1995;21:1193-6.
129. Manninen R, Huovinen P, Nissinen A. Increasing antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in Finland. J Antimicrob Chemother 1997;40:387-92.
130. Harenska K, Janicka G, Wojciechowska D. The penicillin susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus* in persons suffering from upper respiratory tract infections. Przegl Epidemiol 1998;52:199-203.

