

Haemophilus

01. *Haemophilus influenzae*

- 01.01. Genel Bilgiler
- 01.02. Laboratuvar Tanısı
- 01.03. Yaptığı Hastalıklar
- 01.04. Epidemiyoloji ve Korunma
- 01.05. Tedavi

02. *Haemophilus ducreyi*

- 02.01. Genel Bilgiler
- 02.02. Laboratuvar Tanısı
- 02.03. Yaptığı Hastalıklar
- 02.04. Epidemiyoloji ve Korunma
- 02.05. Tedavi

03. Diğer *Haemophilus* 'lar

- 03.01. *Haemophilus parainfluenzae*
- 03.02. *Haemophilus aegypticus*
- 03.03. *Haemophilus paraaphophilus*
- 03.04. *Haemophilus haemolyticus*

04. Kullanılan Besiyerleri

- 04.01. Kanlı Agar
- 04.02. Çikolata Agar
- 04.03. Transport Besiyeri

01. *Haemophilus influenzae*

01.01. Genel Bilgiler

0.3 - 0.5 µm en ve 0.5 - 2.0 µm boyunda koko basil görünümünde, uçları yuvarlak, ikili kısa zincirler halinde veya kümeler yapmış olarak görülür. **Hareketsiz**, sporsuz, kapsüllü ve **Gram** negatiftir. Aerop ve fakültatif anaerop üremeyi seven ve üremesi zor bir bakteridir. Üremesi için kanda bulunan hemoglobine bağlı ve ısıya dayanıklı bir X faktörü (Protoporphyrin IX) ile ısıya dayanıksız bir V faktörünün (Nicotinamide adenin dinucleotid) bulunması gerekir. X faktörü üremeyi kamçılayan kan pigmentidir. Bunun yerine hemoglobin ya da hematin kullanılabilir. V faktörü kandan başka çeşitli bitki ve hayvanların dokularında bulunabilir. Ayrıca başta stafilokoklar olmak üzere birçok bakteri tarafından sentezlenebilir.

37 °C ve pH 7.2 -7.4' de, **% 10 CO₂** 'li ortamda, eskitilmiş Kanlı agar ve Çikolata agar da üreyebilir. Glikozdan asit oluşturur fakat gaz yapmaz . Laktöz ve mannitole etkisizdirler. Bu bakteri kuruluğa, ısıya ve dezenfektanlara dayanıksızdır.

Haemophilus influenzae, kapsül maddesi ve somatik maddelerinin antijenik yapısı ile serovarlara ayrıca biokimyasal özelliklerine göre de biovarlara ayrılarak incelenir.

01.02. Laboratuvar Tanısı

Klinik tabloya göre çeşitli örnekler alınır. Bunlar; nazofarinksten alınan sürüntüler, balgam, beyin omurilik sıvısı ve irinlerdir. BOS her zaman santrifüj edilerek dipteki çökeltisi ile çalışılmalıdır. BOS steril tüplere diğer örnekler Transport yani taşıma ortamı özelliği gösteren besiyeri içine alınmalıdır. Alınan bu örnekler laboratuvara gelince önce preparatları hazırlanır ve Gram veya sulu fuksin boyasıyla boyanarak incelenirler. Gram negatif, tekli, ikişerli veya küçük zincir yapmış kokobasiller varsa kapsül şişme reaksiyon işlemi yapılarak çabuk tanı konulabilir.

Kültür için Çikolata agar, eskitilmiş tavşan veya at kanlı agar kullanılabilir. V faktörüne olan gereksinimleri nedeniyle bu faktörü oluşturan *Staphylococcus aureus* ile birlikte yapılan ekimlerde daha iyi ve çabuk ürerler. Bu nedenle alınan örnekler, kanlı agar besiyeri yüzeyine paralel çizgiler veya sık zikzaklar şeklinde ekilir ve aynı plak yüzeyine bu ekim çizgilerini dik olarak çaprazlayacak şekilde *S. aureus* 'dan bir çizgi ekimi yapılır. *H. influenzae* kolonileri, *S. aureus* 'un üreme çizgisi civarında daha çabuk ve büyük olarak ürer. Bu *S. aureus* 'un meydana getirdiği V faktöründen, *H. influenzae* 'nın süt anne şeklinde yararlanmasıdır. Ayrıca X, V ve X+V faktörlerini taşıyan kağıt diskler besiyerine yerleştirilirse *H. influenzae* X+V diski etrafında ürer.

Küçük, saydam, kenarları düz S formda ve yuvarlak koloniler veya mukoid kolonilerin görülmesi ; antiserumlar ile kapsül şişme reaksiyonu, Stafilokok A proteini b antikoru ile kaplanarak yapılan koagülünasyonlar ve lateks partükülleri ile aglütinasyon reaksiyonları identifikasyonu sağlar. Ayrıca EIA ve PCR yöntemleri ile antijen taraması yapılarak çabuk tanı konulabilir.

Kapsül şişme deneyi için BOS 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edilir ve lam üzerine BOS çökeltisi yayılır ve havada kurutulur. Lam üzerine bir damla *Haemophilus influenzae* tip b antiserumu ve bir damla %1 'lik metilen mavisi solüsyonu konularak karıştırılır. Bu lamel lamın üzerine kapatılarak lamdaki BOS ile karışması sağlanır. Sonra ışık mikroskopunda ve immersiyonlu ortamda inceleme yapılır. Mavi boyalı bakterilerin etrafında kapsüllerin görülmesi, bu bakterinin *Haemophilus influenzae* kapsülü olduğunu gösterir.

Koagülünasyon deneyi için *Staphylococcus aureus* 'un A proteini *H. influenzae* antikoru ile kaplanarak konjuge A protein ayırıcı oluşturulur. Kültürden incelemeye uygun birkaç koloni seçilerek birkaç damla serum fizyolojik içerisinde ezilerek süspansiyon hazırlanır. Bir lam üzerine bu bakteri süspansiyonundan bir damla ve ayıraçtan da bir damla konularak karıştırılır. Aglütinasyonun görülmesi deneyin pozitifliğini gösterir.

01.03. Yaptığı Hastalıklar

Haemophilus influenzae serovar b çeşitli enfeksiyonların etkenidir. Bunlar; menenjit, nazofarınjit, sinüzit, orta kulak iltihabı, epiglottitis, pnömoni, piyoartroz, perkardit' dir.

01.04. Epidemiyoloji ve Korunma

Hastalık yapan kapsüllü b serovar'ıdır. Kapsülsüz şekli normal nazofarinkste bulunur. Hastalık öksürük damlacıklarının solunması ile insandan insana bulaşır.

Kapsül b serovarına karşı yapılmış PRP (Hib aşısı) adı verilen aşı bulunmaktadır. 18 aya kadar bebeklere bu aşı uygulanabilir. Fakat aşı taşıyıcılığı önleyemez. Bu nedenle epidemilerde risk altındaki çocukların tümüne (dört yaş altı) antibiyotik verilerek korunma sağlanmalıdır.

01.05. Tedavi

Antibiyotiklerin bazılarına karşı direnç geliştiği için özellikle sefalosporinler, kloramfenikol ve geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılır.

02. *Haemophilus ducreyi*

02.01. Genel Bilgiler

1.5 –2.0 µm boyunda, 0.6 µm eninde ikili bazen kısa zincirler halinde kokobasildir. Örneklerden yapılan preparatlarda intra veya extra sellüler olarak görülebilir. Sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz, kutupsal boyanma özellikli ve **Gram** negatiftir. Aerop, 37 °C 'de üremeyi seven ve üreyebilmesi için X faktörüne ihtiyaç duyan bir bakteridir. Fiziksel ve kimyasal maddelere karşı çok dayanıksızdır. İrinde uzun süre saklı kalabilir.

02.02. Laboratuvar Tanısı

Haemophilus ducreyi yumuşak şankr adı verilen hastalığı yaptığı için bunun tanısında yara tabanından eküvyon ile veya iltihaplı lenf bezlerinden ponksiyon ile örnek alınır. Alınan örneklerden preparatlar hazırlanarak **Gram**, **Giemsa** veya sulu fuksin ile boyanır. İtra veya extra sellüler ikili veya zincir yapmış Gram negatif kokobasiller görülmesi tanı koydurur.

Kültür; alınan örnekler üremesi zor olduğu için insan veya tavşan kanından yapılmış Kanlı agara veya Çikolata agara ekim yapıldıktan sonra 48 saat 37 °C' de inkübe edilir. Ayrıca PCR ve DNA probe yöntemleri çabuk tanı için kullanılır.

Deri içi test olarak ito-reenstierna reaksiyonu adı verilen test yapılır. Bu testte; öldürülmüş bakterilerden oluşan süspansiyon 0.1 ml olarak deri altına verilir ve 48 saat sonra 1 mm çapında bir papül oluşursa reaksiyon pozitifdir. Böylece kronik vakalar ve geçirilmiş enfeksiyon varlığı belirlenmiş olur.

02.03. Yaptığı Hastalıklar

Cinsel ilişki ile bulaşan, yumuşak şankr, şankroit veya ulcus molle adı verilen hastalığı yapar. Hastalığın etkenini kadınlar vajinalarında taşırlar. Cinsel ilişki sonrasında, 1-3 günlük kuluçka

döneminden sonra erkeklerde penisin birçok bölgesinde, kadınlarda vajina ve serviks de yumuşak tabanlı yara oluşur. Bu durumda bölgesel lenf bezlerinde şişlikler görülür.

02.04. Epidemiyoloji ve Korunma

Hastalık kadınlardan bulaşır. Hastalık geçirildikten sonra bağışıklık bırakmaz. Yayılmasını engelleme taşıyıcı kadınların tespit edilip tedavi edilmesi ile olur. Korunmada; bütün cinsel ilişki ile bulaşan hastalıklarda uygulanan önlemlere uyulması gerekir.

02.05. Tedavi

Geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılır.

03. Diğer *Haemophilus* ' lar

03.01. *Haemophilus parainfluenzae*

Üst solunum yolu ve ağız mukozasında normal flora elamanı olarak bulunur. Üremesi için sadece V faktörüne ihtiyaç duyar. Farenjit ve endokardit etkeni olarak tespit edilmiştir.

03.02. *Haemophilus aegyptius*

Tropikal bölgelerde görülen konjonktivit etkenidir.

03.03. *Haemophilus paraaphrophilus*

Ağız ve boğaz normal flora elemanıdır. Bazı endokardit, beyin abseleri, apandisit, idrar yolları enfeksiyonlarından tespit edilmiştir.

03.04. *Haemophilus haemolyticus*

Normal nazofarinks mukozasında bulunmakla beraber nadiren üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur. Beta hemoliz yapar. Bu özelliği ile beta hemolitik streptokoklarla karıştırılabilir.

04. Kullanılan Besiyerleri

04.01. Kanlı Agar (Merck 1.10886)

Dehidre besiyeri 40 g/l konsantrasyonda olacak şekilde gerekirse ısıtılarak destile su içinde eritilip otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilip, otoklav çıkışında 50 °C 'a soğutulur ve %5 oranında defibrine koyun kanı ilave edilir, karıştırılır ve petri kutularına dökülür. Kan

ilave edilmiş besiyeri buzdolabında en çok 3 ay depolanabilir. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile %5 kan ilave edilmek üzere ve 12,5 ml/petri kutusu hesabı ile 1050 petri kutusu elde edilir.

04.02. Çikolata Agar

Çikolata (chocolate) agar besiyeri yabancı kaynakların da dahil olduğu pek çok literatürde ve pratik uygulamada kaynamış kanlı agar ile aynı anlamda kullanılmakla beraber, bu iki besiyeri bileşim olarak farklıdır. Çikolata Agar bazal besiyeri bileşimi (g/l olarak) Proteose peptone 7.5 g ; Polypeptone 7.5 g ; buğday nişastası 1.0 g ; NaCl 5.0 g ; K₂HPO₄ 5.0 g ; KH₂PO₄ 1.0 g ; Agar 10.0 g ve distile su 1000 ml şeklindedir. Columbia Agar (Merck 1.10455) bu formülasyona çok yakındır ve üretici firma tarafından (Merck KgaA) tarafından Çikolata Agar için kullanılacağı belirtilmektedir. Bileşimden hazırlanmak istenirse yukarıda verilen maddeler, Columbia Agar kullanılırsa doğrudan 42 g/l dehidre besiyeri kaynatılarak eritilir, otoklavda 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklav çıkışı 70 °C 'a soğutulup, %5-10 oranında defibrine koyun kanı ve ISO VITALE X eklenip, petri kutularına 12,5 ml olacak şekilde dökülür. ISO VITALE X ; 1 şişe katkıya 2 ml steril destile su konulup karıştırılır ve 1 litre besiyerine ilave edilir.

04.03. Stuart Transport Medium ; Ringertz' Modification (Merck 1.05417)

Dehidre besiyeri 19 g/l konsantrasyonda olacak şekilde destile su içinde ısıtılarak eritilir, vida kapaklı ya da lastik kapaklı tüplere 7 'şer ml dağıtılıp otoklavda 121 °C 'da 15 dakika süre ile sterilize edilir. Otoklav sonrası bir çubuk üzerine yatırılarak katılaşma sağlanır. Oda sıcaklığında depolanır. Besiyeri aerobik koşullarda depolanırsa 1 – 2 hafta içinde tüpün dip kısmının üst bölmelerinde mavi renkli aerobik zon görülür. Bu renk değişimi dip kısmın yarısına kadar ulaşırsa tüp kaynatılarak yeniden anaerobik ortam sağlanır. Besiyeri bileşiminde azot kaynağı olmaması nedeni ile mikrobiyel gelişme önemli ölçüde engellenir. Buna karşın besiyeri bileşimi mikroorganizmaların yeterli süre canlı kalmasını sağlar. Anaerobik koşullar metilen mavisi redoks indikatörü ile rahatlıkla izlenir. 500 g olan bir kutu dehidre besiyeri ile 7 ml/ tüp olacak şekilde 3759 adet tüp elde edilebilir.