



Haemophilus influenzae

Prof. Dr. İştar Dolapçı

AÜTF 2016-2017

D2M1 SUNUM

Öğrenim Amaç ve Hedefleri:

Haemophilus'ların;

- Genel mikrobiyolojik özelliklerini bilme,
- Sınıflandırmalarını yapabilme,

Haemophilus influenzae'nin;

- Virülans faktörleri ve patogenezi öğrenme,
- Oluşturduğu hastalıklar hakkında fikir sahibi olma,
- Laboratuvar tanısını ve ayırıcı laboratuvar tanısını bilme,
- Tedavisi ve korunma yollarını öğrenme,

Haemophilus ducreyi'nin mikrobiyolojik özellikleri ve kliniği hakkında bilgi sahibi olma

Ders İçeriği:

Haemophilus'ların;

- Genel mikrobiyolojik özellikleri,
- Patogenez ve virülans faktörleri,
- Üreme özellikleri,

Haemophilus influenzae'nin;

- Oluşturduğu klinik tablolar,
- Laboratuvar tanısı,
- Tedavisi ve korunma yolları,

Haemophilus ducreyi

Pasteurellaceae ailesinde, hareketsiz, fakültatif anaerob, **gram negatif basildir**. Küçük, bazen pleomorfik; kokobasil ya da uzun iplikler ve filamanlar görünümünde olabilir. Gram boyama işlemi dikkatli yapılmazsa; gram pozitif görünebilir. Balgamdaki uzun şekilli olanları bipolar boyanarak, *Streptococcus pneumoniae* olarak yanlış tanımlanabilir

Bazı suşların yüzeyinde **polisakkarit** yapıda **kapsül** bulunur. Kapsüller antijene göre 6 serotipe (a-f) ayrılırlar. Kapsülsüz olanlar tiplendirilemez. *H.influenzae* tip b aşısı kullanıma girmeden önce bütün invaziv *Haemophilus* enfeksiyonlarının %95'inden fazlasından bu serotip sorumluydu, aşı kullanımından sonra *H.influenzae* invaziv enfeksiyonlarının yarısından fazlasından kapsülsüz suşlar sorumlu hale gelmiştir. Kapsül yapısı laboratuvarında genç kültürlerde gösterilir, tekrarlayan pasajlarla kaybolur.

Kapsüllü *H.influenzae* suşlarının tiplendiriminde;

- Lam aglütinasyonu,
- Stafilkoklar ile koaglütinasyon,
- Tipe özgül antikor ile kaplı lateks partikülleri ile aglütinasyon,

- Kapsül şişme reaksiyonu (Pnömonoklardaki quellung reaksiyonu gibi) ve
- İmmunofloresans yöntemleri kullanılabilir.

Kapsülsüz suşlar;

Hayatın ilk birkaç ayı içerisinde üst solunum yollarına kolonize olur. Sağlıklı çocuk ve erişkinlerin yaklaşık %75'inin nazofarinksinde bulunur. Tek rezervuarı insandır. “**Normal flora**” olarak kabul edilir. Lokal yayılarak, otitis media, sinüzit, bronşit ve pnömoni yapabilir. Dissemine (yaygın) hastalık yapması nadirdir.

Kapsüllü suşlar;

Özellikle serotip b; üst solunum yollarında bulunması olağan değildir. Aşılammış çocuklarda hastalık etkenidir. **Menenjit** (çocuk menenjitlerinin en önemli etkenidir!), **epiglottit**, **obstrüktif larenjit**, **sellülit** yapabilir. Sağlıklı bireylerin yaklaşık %2-7'si üst solunum yollarında geçici olarak *H.influenzae* tip b (Hib) kapsüllü suşlarını taşıyabilirler. Farengial Hib taşıyıcılığı bakterinin bulaşı açısından önemlidir. Günümüzde Hib'e karşı uygulanmakta olan aşılama programlarının bir amacı da; mikroorganizmanın taşıyıcılık oranlarını azaltmaktır.

PATOGENEZ:

Orofarinks epiteline kolonizasyonunu yüzeyel adezinleriyle başlatır. Hem kapsüllü hem de kapsülsüz suşlarda; pili ve dış membran proteinleriyle adezyon başlar. Hücre duvar komponentleriyle (LOS gibi) siliyer aktiviteyi bozar; solunum yolu epiteline hasar verir. Bu aşamadan sonra kapsülsüz suşlar sadece lokal yayılım gösterir. *H.influenzae* tip b'nin major virülans faktörü kapsüldür. Kapsül, riboz, ribitol ve fosfattan oluşur (polyribitol phosphate – PRP). PRP'ye karşı antikorlar; doğal enfeksiyonla, aşı yoluyla ya da anneden pasif transferle kazanılabilir. Kapsüllü suşlar epitel ve endotel hücrelerinden geçerek kana girebilir. Polisakkarit kapsüle karşı spesifik opsonik antikorların yokluğunda, yüksek düzeyde bakteriyemi gelişir. Kapsüler antikor taşımayanlarda menenjit ve epiglottit riski de belirgin oranda yüksektir.

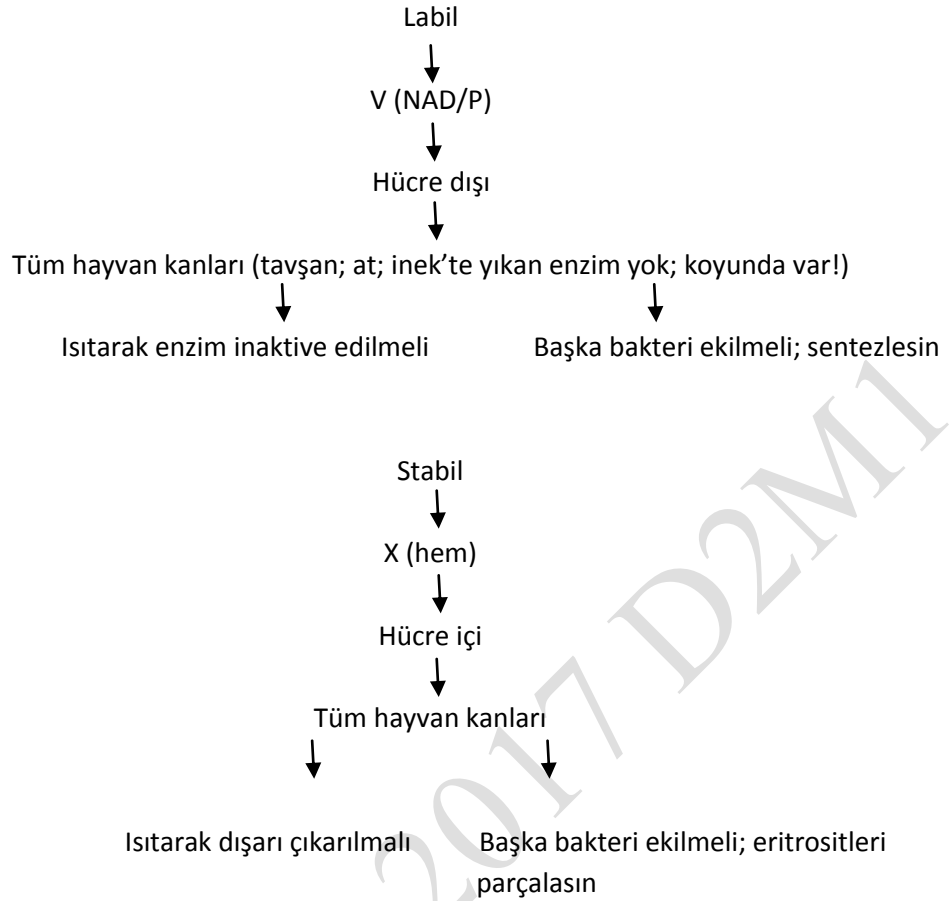
VİRÜLANS:

Kapsül materyali antifagositik ve komplemana bağlı bakteri öldürülmesini önleyici özellikte olduğundan; *H.influenzae* enfeksiyonlarına karşı bağışık savunmanın ana faktörü; antikapsüler antikorlardır. Ekzotoksini yoktur. IgA1 proteaz hem kapsüllü hem de kapsülsüz suşlar tarafından üretilir. Humoral bağışıklığı etkileyerek mikroorganizmanın mukozal yüzeylere kolonize olmasını kolaylaştırır

ÜREME ÖZELLİKLERİ:

Kan içeren zengin besiyeri ister. Bütün hayvan kanları her ikisi de 80°C'de stabil olan 2 adet büyüme faktörü içerirler:

1. “**Labil** faktör” **hücre dışındadır**, ancak koyun kanında bulunan ve ısıya duyarlı bir enzim tarafından parçalanır; aynı enzim tavşan, at ve inek kanında yoktur. **NAD** yapısındaki bu madde **V faktörü** olarak bilinir.
2. “**Stabil** faktör” koyun kanındaki enzimden etkilenmez çünkü / ancak **hücre içi** yerleşimlidir ve ancak 80°C'de salınır. **Hemin** yapısındaki bu madde **X faktörü** olarak adlandırılır.



Çukolata agar; 80°C'de kan ilave edilmesiyle eritrositlerdeki X faktörünün açığa çıkması ve V faktörünü parçalayan NADaz enziminin parçalanması sağlandığı için uygun bir besiyeridir.

Kanlı agarda ise, sadece *Staphylococcus aureus* kolonilerinin yanında ürer, buna "Satellit fenomeni" adı verilir. *S.aureus*'un betalizini eritrositleri parçalar, böylece X faktörü açığa çıkmış olur; V faktörünü de doğrudan *S.aureus* üretir. *Haemophilus influenzae* küçük, saydam, şebnem tanesine benzeyen (!) koloniler oluşturur.

Satellit testi:

Haemophilus influenzae kanlı agarda *Staphylococcus aureus*'un hemolitik zonu içinde ürer. *S.aureus* tarafından metabolik son ürün olarak *H.influenzae*'nin üremesi için gerekli NAD maddesi salınır. NAD *S.aureus* etrafındaki besiyerine difüze olur ve *H.influenzae*'nin üremesini stimüle eder. *H. influenzae* koyun kanlı agarda *S.aureus* hemolitik zonu dışında üreyemez. Bu durum satellit fenomeni olarak adlandırılır.

35-37°C'de; pH 7.6'da ürer. **Kapnofildir**; aerobik ya da %5 CO₂ içeren ortamda üremeyi tercih eder. **Fakültatif anaerobdur**; enerji elde etmek için; O₂ varlığında aerobik solunum, yokluğunda ise fermentasyon veya anaerobik solunum kullanırlar.

H.heamolyticus; *H.influenzae*'nın, **H.paraheamolyticus**; *H.parainfluenzae*'nin hemolitik varyantlarıdır. *H.heamolyticus* ve *H.paraheamolyticus* nadiren insan enfeksiyonu oluştururlar. **H. parainfluenzae** üst solunum yollarında kolonize olur; nadiren endokardit ve bakteriyemi olgularından izole edilir. **H.ducreyi** normal flora elemanı değildir; patojendir. **H. aphrophilus**

subakut endokardit ve beyin apsisi ile seyreden olgularda yaygın olmayan bir etken olarak izlenir. HACEK grubunun bir üyesidir.

İdentifikasyon:	X	V	Hemoliz
<i>H.influenzae</i>	+	+	-
<i>H.heamolyticus</i>	+	+	+
<i>H.parainfluenzae</i>	-	+	-
<i>H.paraheamolyticus</i>	-	+	+
<i>H.ducreyi</i>	+	-	-
<i>H.aphrophilus</i>	+	-	-

KLİNİK:

H.parainfluenzae ve kapsülsüz *H.influenzae* hayatın ilk birkaç ayı içinde üst solunum yollarına kolonize olurlar. Lokal olarak yayılarak otitis media, sinüzit, alt solunum yolu enfeksiyonları (bronşit, pnömoni) yapabilirler. ASYE, genellikle yaşlı özellikle de kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlar ya da alkolizm veya mental hastalıklar gibi aspirasyona yatkın olanlarda izlenir. Yaygın enfeksiyon oluşturmaları nadirdir. Kapsüllü *H.influenzae* (özellikle serotip b) üst solunum yollarında nadirdir ya da çok az sayıda bulunur. Aşılammış çocuklarda; menenjit, artrit, epiglottit, buna bağlı obstrüktif larenjit ve sellülit etkenidir.

MENENJİT:

Tip b pediatrik (3-18 ay) menenjitlerin en sık etkeniyken aşılama şemalarıyla bu durum değişmiştir. Bağışık olmayan kişilerde mikroorganizmanın nazofarinksten yayılmasıyla izlenir; klinik görünümüyle diğer etkenlerden ayırt edilemez. Kişiden kişiye bulaş vardır; epidemiyolojik önlemler alınmalıdır.

EPIGLOTTİT:

Sellülit ve supraglottik dokuların şişmesiyle karakterizedir. Aşılammış 2–4 yaş arası çocuklarda izlenir. Farenjit, ateş, solunum güçlüğü, hızla nefes tıkanıklığı, ölüme götürür. **Fulminan obstrüktif laryngeotrakeit** yapar; epiglot şiş & vişne kırmızısı rengindedir; acil trakeostomi gerektir!

ARTRİT:

H. influenzae tip b bakteriyemisine sekonder gelişir, tek büyük eklem tutulumuyla seyreder. 2 yaş altı çocuklarda izlenir. Aşı uygulamasıyla insidansı büyük oranda azalmıştır. Erişkin ve daha büyük çocuklarda ancak daha önceden eklem hastalıkları ya da immün sistem yetmezlikleri varsa izlenir.

OTİT / SİNÜZİT:

Genellikle pediatrik yaş grubunda izlenmekle birlikte, erişkinlerde de görülebilirler. Akut ve kronik otit ve sinüzit etkenleri arasında ilk iki sırayı *H.influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae* almaktadır.

Diğer *Haemophilus* türleri ve yol açtıkları sendromlar: *H parainfluenzae*, pnömoni ve endokardit; *H ducreyi*, genital şankr; *H aegyptius*, konjonktivit.

LABORATUVAR TANI:

Örneklerin oral sekresyonlarla kontamine olmamasına özen gösterilmelidir. Sinüzit ve otitte; doğrudan iğne aspirasyonu yapılabilir. Pnömonide; alt solunum yollarından gelen balgam örneği alınmalıdır; kan kültürü faydalı olabilir. Üst solunum yolu enfeksiyonlarında kan kültürü genellikle negatiftir. Menenjitte; hem BOS hem de kan kültürü alınmalıdır. Epiglottit ve artrit; kan kültürü alınabilir. Epiglottit şüphesinde posterior nazofarinksten sürüntü örneği **KESİNLİKLE** alınmamalıdır! Öksürüğü stimüle edeceği için, hava yolu tıkanıklığına yol açar.

Mikroskopi:

Eğer dikkatle yapılacak olursa; klinik örnekte *Haemophilus* türlerinin görülmesi anlamlıdır; duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir. Hasta öncesinde antibiyotik tedavisi almamış olmalıdır

Antijen saptanması:

BOS ve idrarda antikor kaplı latex partikülleri yoluyla *H.influenza* tip b PRP antijenleri aranabilir. Sadece tek bir serotip saptanabildiği için kullanımı sınırlıdır.

Kültür:

Çukulata agar, Levinthal agar kullanılabilir. Besiyerleri IsoVitaleX (kimyasal faktörler) ile zenginleştirilebilir. İdentifikasyonda Gram boyama morfolojisine bakılır. İdentifikasyonu ve diğer *Haemophilus* türlerinden ayırımını yapmak amacıyla, üremek için hangi faktöre ihtiyacı olduğu belirlenir; X ve V faktörü emdirilmiş kağıt şeritler arasına ekim yapılır.

BAĞIŞIKLIK:

PRP'ye karşı gelişen antikorlar, bakteriyel fagositoz ve komplemana bağlı bakterisidal aktiviteyi başarılı bir şekilde uyarır ve başlatır. Bu antikorlar, doğal enfeksiyonla, pürifiye PRP ile aşılama sonucunda ya da maternal antikorların pasif transferiyle kazanılabilir. 3 aylıktan küçük yenidoğanlarda maternal antikorlar koruyucu olduğundan, bu dönemde *H.influenzae* enfeksiyonu nadirdir. *H.influenzae* 5 ay - 5 yaş arasındaki bakteriyel menenjitlerin en yaygın nedeni olarak kabul edilir, 3 (6)-18 ay arasında pik yapar. 1990'larda aşı uygulanmaya başlanmasıyla *H.influenzae*'ya bağlı menenjit oranları azalmaya başlamıştır. Menenjit ve epiglottit riski anti-PRP antikorlarını taşımayanlarda ve splenektomi geçirenlerde belirgin oranda yüksektir.

TEDAVİ:

Tedavi edilmeyen *H.influenza*'ya bağlı menenjitlerde ve epiglottitte mortalite %90'lara ulaşmaktadır. Ciddi enfeksiyonlarda seçilecek ilaç, **geniş spektrumlu sefalosporinlerdir**. Daha az ciddi enfeksiyonlarda (sinüzit / otit), **amoksisilin** (%30 kadarı dirençli olabilir), **azitromisin**, **doksisiklin**, **florokinolonlardan biri**, **sefalosporin** verilebilir. Rutinde antibiyograma gerek yok (henüz!).

EPİDEMİYOLOJİ / KORUNMA / KONTROL:

Bulaş solunum yoluyla kişiden kişiye olur. Çocuklarda enfeksiyon "Haemophilus b konjugat aşısı" ile önlenir; Difteri-tetanoz-boğmaca aşısı ile beraber 2–4-6. aylarda ve 12-15. aylar arasında rapel doz olarak 2 aylıktan büyük çocuklara uygulanır. Diğer polisakkaritler gibi Hib PRP de T hücre bağımsız antijen olarak davrandığı için, 2 yaş altı çocuklarda antikor yanıtı düşük olmaktadır. Bu nedenle aşı protein ile konjuge olarak hazırlanmaktadır. Enfeksiyonlu bireyler ile temas ettiği bilinen çocuklar ve sistemik hastalık bildirilen aileler ya da kreşlerde bulunan 2 yaş

altındaki çocuklar gibi *H.influenzae* enfeksiyonu için yüksek risk altındaki çocuklara rifampin profilaksisi önerilir.

Haemophilus ducreyi

Yumuşak şankr (şankroid) etkenidir. Cinsel yolla bulaşan bir hastalıktır. Genital bölgede belirgin şişme ve ağrı ile karakterize düzensiz bir ülserdir. Yumuşak tabanlıdır (ayırıcı tanıda DİKKAT!). Bölgesel ağrılı LAP vardır. Lezyonlarda küçük gram negatif basiller bulunur. Ayırıcı tanıda, sifiliz, *Herpes simplex* enfeksiyonları ve Lenfogradülozma venerum dikkate alınmalıdır. Tanıda; lezyondan Gram boyama yapılır. Kültür ekimi yapılır ancak üremesi 7 gün sürebilir. Sadece X faktörüne ihtiyaç duyar. Örnek; ülser tabanından alınır. IsoVitalax ve vankomisin içeren çukolata agarda, %10 CO₂'li ortamda, 33°C'de inkübe edilir. Vankomisin genital floradaki gram pozitif bakterileri baskılar. Moleküler yöntemler kullanılabilir (PCR). Kalıcı bağışıklık bırakmaz. Tedavide; oral eritromisin, oral TMP-SMZ ve IM seftriakson (2 hafta süre ile) uygulanmalıdır.

Kaynaklar:

- ✓ Medical Microbiology, Murray, Rosenthal, Pfaller, 7th ed, Elsevier Saunders, 2013.
- ✓ Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S, 27th ed, McGraw Hill Lange, 2016.
- ✓ Sherris Medical Microbiology, Ryan KJ, Ray CG (eds), 6th ed, McGraw Hill Education, 2014.

.....