

Yetişkinlerde Uzun Süren Öksürüğün *Bordetella pertussis* Enfeksiyonu ile İlişkisi: Kültür, PCR ve Serolojik Yöntemler ile Kesitsel Bir Değerlendirme

The Association of Prolonged Cough in Adults with Bordetella pertussis Infection: A Cross-Sectional Assessment Using Culture, PCR, and Serological Methods

Pınar Yürük Atasoy^{*}, Cumhuriyet Artuk^{**}, Cemile Sönmez^{***}, Selin Nar Ötgün^{****}, Meral Turan^{*****}, Selçuk Kılıç^{*****}

* Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Türkiye

** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Türkiye

*** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Aşı ile Önlenebilir Bakteriyel Hastalıklar Seroloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

**** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

***** Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

***** Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Savunma Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi, Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer Savunma Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Atf/Cite as: Yürük Atasoy P, Artuk C, Sönmez C, Nar Ötgün S, Turan M, Kılıç S. Yetişkinlerde uzun süren öksürüğün *Bordetella pertussis* enfeksiyonu ile ilişkisi: Kültür, pcr ve serolojik yöntemler ile kesitsel bir değerlendirme. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):40-48.

Öz

Amaç: Boğmaca, *Bordetella pertussis*'in neden olduğu yaygın aşılama rağmen tüm yaş gruplarını etkileyebilen bulaşıcı bir solunum yolu enfeksiyonudur. Bu çalışmada 18 yaş ve üzeri bireylerde *B. pertussis* enfeksiyonuna bağlı uzamış öksürük şikayetlerinin kültür, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve serolojik testler kullanılarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem: Bu çalışma, Ankara'da bir üçüncü basamak hastanede, 18 yaş ve üzeri yetişkinlerde iki hafta veya daha uzun süre öksürük şikayeti olan bireyler üzerinde yürütüldü. Çalışmaya iki haftadan uzun süre öksürük şikayeti olan 68 yetişkin ve öksürük semptomu olmayan 65 kontrol bireyi dahil edildi. Katılımcılardan alınan nazofaringeal sürüntü örnekleri, kültür ve PCR yöntemleri için kullanıldı. Ayrıca, hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlar, *B. pertussis*'e karşı oluşmuş antikorların varlığını belirlemek için serolojik testlerle değerlendirildi.

Bulgular: Kültür yöntemi ile *B. pertussis* tespiti yapılamamıştır. Ancak hastaların %22'sinde PCR testi pozitif bulunmuş ve %13'ünde Anti-Pertussis Toksin IgG düzeyi pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Kültür yöntemi, boğmaca tanısında altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, bu çalışmada PCR'nin kültüre göre daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Yetişkinlerde uzun süreli öksürük şikayetlerinin ayırıcı tanısında boğmaca enfeksiyonunun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Ayrıca boğmaca konusunda daha fazla farkındalık yaratılması ve geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Bordetella pertussis*, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Seroloji

ABSTRACT

Objective: Pertussis is a contagious respiratory tract infection caused by *Bordetella pertussis* that can affect all age groups despite widespread vaccination. The aim of this study was to evaluate the complaints of prolonged cough due to *B. pertussis* infection in individuals aged 18 years and older using culture, polymerase chain reaction (PCR) and serologic tests.

Methods: This study was conducted at a tertiary hospital in Ankara, focusing on individuals aged ≥ 18 years who reported coughing symptoms lasting for two weeks or longer. The study included 68 adults with coughing symptoms persisting for more than two weeks and 65 control individuals without coughing symptoms. Nasopharyngeal swab samples collected from the participants were used for culture and PCR. Additionally, sera derived from the blood samples of patients were evaluated using serological tests to ascertain the presence of antibodies against *B. pertussis*.

Alındığı tarih / Received:

18.10.2023 / 18.October.2023

Kabul tarihi / Accepted:

29.12.2023 / 29.December.2023

Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

ORCID Kayıtları

P. Yürük Atasoy 0000-0001-7769-247X
C. Artuk 0000-0003-0827-990X
C. Sönmez 0000-0002-3725-6451
S. Nar Ötgün 0000-0003-4762-1202
M. Turan 0000-0003-1414-231X
S. Kılıç 0000-0002-4993-650X

✉ pinaryuruk@windowslive.com

Results: Detection of *B. pertussis* in culture was not possible. However, 22% of the patients tested positive for PCR, and 13% were found to have positive Anti-Pertussis Toxin IgG levels. The average age of the patients with positive diagnostic test results was 38.5, while the average age was determined as 36.8.
Conclusion: Although the culture method is considered the gold standard for the diagnosis of pertussis, PCR was found to be more sensitive than culture in the present study. Pertussis should be considered in the differential diagnosis of prolonged cough symptoms in adults. Furthermore, there is a need to raise awareness regarding pertussis and conduct broader studies.

Keywords: *Bordetella pertussis*, Polymerase Chain Reaction (PCR), Serology

GİRİŞ

Boğmaca, *Bordetella pertussis* tarafından tetiklenen ve tüm yaş gruplarını etkileyebilen akut, bulaşıcı bir solunum yolu enfeksiyonudur. Hastalık, özellikle çocuklarda ciddi bir seyir izleyebilir⁽¹⁾. 1950'lerden itibaren uygulanan ulusal aşılama programı sayesinde boğmaca insidansı büyük ölçüde azalmıştır. Ancak, boğmaca endemik olarak döngüler halinde görülmeye devam etmektedir çünkü aşı veya doğal enfeksiyon sonucu oluşan immün yanıt ömür boyu koruma sağlamamaktadır. Bu durum, boğmacanın yalnızca çocukluk çağına değil, her yaş grubunda görülme potansiyelini artırmaktadır⁽²⁾.

Son on yılda, yeniden canlanan boğmaca özellikle genç yetişkin ve yetişkin grupları etkilemektedir ve bu hastalardaki yükü henüz tam olarak bilinmemektedir. Hastalık çocukluk çağına özgü bir hastalık olarak düşünüldüğünden, bu yaş gruplarında göz ardı edilebilmektedir. Sağlık çalışanlarının farkındalığını artırmak, gerçek epidemiyolojik durumu araştırmak, ülke çapında verileri paylaşmak ve halkı eğitmek ihtiyacı bulunmaktadır.

Aşılansız çocuklar, gençler ve yetişkinlerde boğmaca genellikle atipik ve asemptomatik seyir izler. Uzun süreli öksürük şikâyeti olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda, boğmaca %13-20 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Bu nedenle, iki haftadan uzun süre öksürük şikâyeti olan çocuk ve gençlerde *B. pertussis* enfeksiyonunun laboratuvar testleriyle araştırılması tavsiye edilmektedir^(1,3-9).

Ülkemizde boğmaca hastalığı "Genişletilmiş Bağışıklama Programı" kapsamında izlenmektedir⁽¹⁰⁾. "Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği"ne göre boğmaca; insandan insana bulaşabilen bildirimi zorunlu solunum yolu hastalıklarındandır⁽¹¹⁾. Bu çerçevede güncel vaka

linik tanımlaması; en az iki hafta süren öksürüğü olan hastalarda, paroksizmal veya iç çekmeli öksürük, öksürük sonrası kusma, hekim tarafından boğmaca olduğunun düşünülmesidir. Özellikle bir yaş altındaki hastalarda siyanozun eşlik ettiği ya da etmediği apne görülür. Epidemiyolojik olarak laboratuvar tarafından doğrulanmış kesin insan vakası ile bulaşma olasılığı olacak şekilde temas etmek insandan insana bulaş gösterir. *B. pertussis*'in laboratuvar tanısında; kültür izolasyonu ve identifikasyonu, nükleik asidinin saptanması, ELISA örneklerinde IgG de dört kat titre artışı veya tek serum örneğinde anti PT IgG titresinin ≥ 100 IU/ml saptanması olarak tanımlanır.

Sağlık Bakanlığı Rehberi'ne göre; "olası olgu", iki haftadan uzun süren öksürük ile (özellikle paroksizmal öksürük), inspiratuvar whoop ve öksürük sonrası kusma belirtilerinden en az birini gösteren hastalardır. "Kesin olgu" ise, en az bir laboratuvar testi ile *B. pertussis* varlığının gösterilmesi ve kesin olgu ile epidemiyolojik bağlantısı olan hastalardır⁽¹²⁾. Ancak bu kriterlere rağmen, anamnez ve fizik muayene bulgularına dayanarak konulan tanıları yanıltıcı olabilir. Bu nedenle, klinik tanı mutlaka laboratuvar testleriyle doğrulanmalıdır.

Çalışmamız, laboratuvar testleri aracılığıyla yetişkinlerde boğmaca hastalığının varlığını belirlemek, kronik öksürüğün bir nedeni olarak boğmaca hastalığını gündeme getirmek ve *B. pertussis* enfeksiyonunu daha sık göz önünde bulundurmamızı teşvik etmeyi amaçlamaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; GATA Etik Kurulu tarafından (18.05.2015 tarih ve EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000 sayı; 17.02.2016 tarih ve ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450 sayı) onaylanmıştır.

Bu çalışma, Ankara'da bulunan bir üçüncü basamak hastanede, iki hafta veya daha uzun süre öksürük semptomları olan 18 yaş ve üzeri yetişkinler arasında gerçekleştirildi. *B. pertussis* enfeksiyonunun varlığı, kültür, PCR ve serolojik teknikler kullanılarak araştırıldı⁽¹³⁻¹⁵⁾. Çalışma, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları iş birliği ile yürütüldü.

Çalışmaya katılan hasta grubu, Şubat-Temmuz 2016 tarihleri arasında Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve iki haftadan uzun süre öksürük semptomları olan 68 yetişkin (49 erkek, 19 kadın) bireyden oluştu. Kontrol grubu ise, öksürük semptomu bulunmayan 65 yetişkin (45 erkek, 20 kadın) bireyden oluştu. Kronik öksürüğe neden olabilecek hastalıkları olan bireyler (astım, tüberküloz, kronik bronşit, reaktif hava yolu hastalığı, gastroözofageal reflü, ACE inhibitörü kullanımı, malignite vb.) çalışmaya dahil edilmedi.

Katılımcılardan nazofaringeal sürüntü örneği (NFS) ve kontrol amaçlı kan örnekleri alındı. NFS örnekleri, özel eküvyon çubukları (Transwab Pernal, Medical Wire Equip Co Ltd, Birleşik Krallık) kullanılarak toplandı, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı'nda spesifik kültür ve PCR yöntemleri uygulandı⁽¹⁶⁾. *B. pertussis*'in kültür yöntemi ile primer izolasyonunda 10 mg/L sefalekssin ve %20 oranında at kanı içeren laboratuvar yapımı Bordet Gengou Agar (C-BGA) besiyeri kullanıldı. Ekim yapılan kültür plakları 36°C'de nemli ortamda, aerob koşullarda 7-10 gün inkübe edildi. İnkübasyon süresi boyunca, C-BGA plakları belirli özelliklere sahip şüpheli kolonilerin varlığı açısından dikkatlice incelendi. Düzgün kenarlı ve düz yüzeyli, yaklaşık 1 mm çapında transparan, konveks koloniler gözlenmesi durumunda bakterinin oksidaz, Gram boyanma, koyun kanlı agarda üreme, üre hidrolizi gibi özelliklerinin araştırıldığı temel tarama testleri uygulandı. Kesin tanımlama için *B. pertussis* faz I antiserumla (Becton Dickinson) lam aglütinasyonu yapıldı⁽¹⁶⁾.

Nazofaringeal sürüntü örnekleri, kültür için ekim yapıldıktan hemen sonra, PCR yöntemi için -20°C'de saklandı. Genomik DNA izolasyonu, QIAamp DNA

Blood Mini Kit (Qiagen, ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Laboratuvar yapımı konvansiyonel PCR yönteminde *B. pertussis*'in pertussis toksin promotör (*ptxA-Pr*) gen bölgesine (191 bp) özgül PTP1 ve PTP2 primer çifti kullanıldı. Test, 50 mikrolitre reaksiyon karışımında (5 µl 10X PCR buffer, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.26 pmol/µl primer ve 1.3 U polimeraz (5 U/µl, MBI Fermantas); 4 µl kalıp DNA bulunacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon; 95°C'de 5 dakikalık ilk denatürasyonu takiben, 94°C'de 45 sn denatürasyon, 57°C'de 45 sn bağlanma ve 72°C'de 45 sn uzama adımlarından oluşan 35 siklus ve 10 dk 72°C'de son uzama olacak şekilde (Touchgene Techne, İngiltere) gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri 0.5 µg/ml etidyum bromür eklenmiş %2.5'lik agaroz jel (3:1Nusieve agarose; FMC BioProducts, ABD; BioRad, İtalya) kullanılarak görüntüledi.

Laboratuvar yapımı konvansiyonel PCR yönteminin geliştirilmesi, optimizasyonu, geçerli kılınması aşamaları ulusal referans laboratuvarımız tarafından daha önce yayımlanan çalışmalarda tanımlanmıştır. Söz konusu çalışmalarda temsili nitelikteki klinik örneklerde PTP1/PTP2 primerleri ile en düşük saptanan sınır değeri 6.9 x 10² cfu/ml olarak bulunmuştur⁽¹⁷⁾.

Laboratuvar çalışmalarında yöntemlerin kalite güvencesinin sağlanması amacıyla kontrol suşları olarak *B. pertussis* Tohama I, *B. pertussis* ATCC 9797, *Bordetella parapertussis* ATCC 15311, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617 kullanıldı⁽¹⁶⁾.

Hastalardan alınan kontrol amaçlı kan örneklerinden elde edilen serumlar -80°C'de saklandı. Pertussis Toksin (PT) IgG antikoru, daha önce standardize edilmiş olan "in-house" kantitatif indirekt ELISA testi ile incelendi⁽¹⁸⁾. Düz tabanlı 96 godeli mikropakların (Greiner, Almanya) antijenle kaplanması aşamasında, saflaştırılmış "Pertussis Toxin" (10 µg PN/ampul, Japonya) kullanıldı. Test günü %0.5 sığır serum albumini ile bloke edildi. Plaklar üç kez %0.05 Tween 20 içeren PBS ile yıkandı ve bu işlem her inkübasyondan sonra tekrarlandı. Referans serum ve hasta serumları iki kat artan sekiz seri dilüsyonda hazırlandı ve plaklar bu aşamada ve takip eden aşamalarda

22°C'de bir saat inkübe edildi. Konjugat aşamasında; "Fc-specific alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human IgG" (Seikagaku, Kogyo, Japonya); substrat aşamasında dietanolamin tamponda 1 mg/ml, pH: 9.6 sulandırılmış "p-nitrophenyl phosphate" (Sigma N2765); durdurma aşamasında ise 3M NaOH uygulandı. Mikroplaklar ELISA okuyucusu (Labsystem, Finlandiya) kullanılarak 405/630 nm dalga boylarında okutuldu. Anti-PT IgG antikor seviyeleri "paralel line assay" ile boğmaca referans serum (anti-PT için 250 EU/ampul) ile karşılaştırma yapılarak hesaplandı ve ELISA ünitesi/ml (EU/ml) şeklinde ifade edildi. Bu testte saptanabilen en düşük anti-PT antikor düzeyi 1.0 EU/ml'dir⁽¹⁸⁾. Anti-PT için ≥ 100 EU/ml antikor düzeyi, akut/son zamanlarda geçirilmiş *B.pertussis* enfeksiyonu olarak değerlendirildi^(19,20).

Veri analizi, IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Ver 22.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, veri sayısı, yüzdesi, ortalama, medyan, minimum ve maksimum değerler ile standart sapma olarak hesaplandı. Verilerin normal dağılım uyumluluğu, Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar, kategorik değişkenlerde Pearson ki-kare testi ve sürekli değişkenlerde Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler arasındaki bağlantı, Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi, %95 güven aralığı ve %5 hata payı göz önünde bulundurularak, $p < 0.05$ değeri ile belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hasta grubunda 68 kişinin nazofarengeal sürüntü örneklerinde *B. pertussis* enfeksiyonunun kültür yöntemi ile belirlenmesi mümkün olmamıştır. Ancak, 15 hastada (%22) PCR pozitifliği, dokuz (%13) hastada Anti-PT IgG 100 EU/ml üzerinde, dört hastada da PCR VE ELISA pozitif bulunmuştur. Bu laboratuvar sonuçlarına dayanarak, öksürük semptomu olan hastaların %29'unda (20 hasta) *B. pertussis* enfeksiyonu doğrulanmıştır.

Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde pozitif tanısal test sonucu bulunmamıştır.

Hasta grubundaki 68 hastanın 49'u (%72) erkek, 19'u (%28) kadındı. Kontrol grubunda 65 kişinin 45'i (%69) erkek, 20'si (%31) bayandı. Hasta grubunun yaş ortalaması 35.3 ± 19.4 iken, kontrol grubunda ise yaş ortalaması 35 ± 17 idi. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş yönünden dağılımı arasından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Hasta grubunun, %80'i evli, %20'si bekar ve %55'i ise sigara kullanıcısıdır.

Hastaların tümü yaşına uygun aşılama durumunu bilmemekteydi. Hasta grubunun 17'si başvuru öncesi antibiyotik tedavisi almıştı ve pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların antibiyotik kullanım hikayesi yoktu.

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların çoğunda paroksizmal öksürük, öksürük sonrası kusma, inspirasyonda hişilti, nefes darlığı, ateş, burun akıntısı ve göz yaşarması gibi klinik bulgular gözlenmiştir. Bu bulguların oranları, negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalarda daha düşük bulunmuştur. Pozitif ve negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalar arasında klinik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.05$).

Hasta grubunda Anti-PT IgG düzeyi 0.38-209.6 EU/ml arasında olup ortalama 42.4 EU/ml iken; kontrol grubunda 0.53-56.2 EU/ml olup ortalama değer 16.6 EU/ml olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında Anti-PT IgG düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$).

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip hastaların öksürük süresi ortalaması 5.3 (± 2.1) hafta olarak bulunmuştur. Öksürük süresi ile Anti-PT IgG düzeyleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p = 0.004$). Ancak, öksürük süresi ile PCR sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p = 0.149$; Tablo 1).

Tablo 1. Hasta grubunda öksürük süresi; PCR VE Anti-PT IgG düzeylerinin ilişkisi

Öksürük süresi	PCR* pozitif	PCR* negatif	Anti-PT IgG (EU/ml) ortalama**	Anti-PT IgG (EU/ml) ortanca**	Anti-PT IgG (EU/ml) en düşük – en yüksek
14-29 gün	10	25	16.7	13.0	0.38 – 144.0
30 gün ve üzeri	5	28	55.6	43.1	2.09 – 209.67
Toplam	15	53	-	-	-

* PCR için $\chi^2=2.02$, $p=0.149$; **: Anti-PT IgG için Mann-Whitney U $p=0.004$

Tablo 2. Hasta ve Kontrol Grubu Anti-PT IgG Düzeyleri

Grup (N)	Anti-PT IgG (EU/ml) ortalama**	Anti-PT IgG (EU/ml) ortanca**	Anti-PT IgG (EU/ml) en düşük – en yüksek
Hasta (68)	42.1	21.65	0.38 – 209.67
Kontrol (65)	16.69	11.67	0.53 – 56.51

Mann-Whitney U; $p=0.001$

Hasta ve kontrol grubu arasında, Anti-PT IgG düzeyleri açısından da anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$; Tablo 2).

Pozitif tanısal test sonuçlarına sahip vakaların %40'ı son bir ay içinde antibiyotik kullanıldığını, negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakaların ise %20'si son bir ay içinde antibiyotik kullanıldığını belirtmiştir. Antibiyotik kullanımı açısından pozitif ve negatif tanısal test sonuçlarına sahip vakalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.071$). Yine herhangi bir tanısal test sonucu pozitif olan vakaların ikisinde aile içinde de benzer şikayetlerin olduğu, üçünde aynı koşutta kalma hikayesi olduğu saptandı. Hastaların yaşlarına uygun aşılamada durumu bilinmemektedir.

TARTIŞMA

Boğmaca, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre aşı ile önlenirken, kontrolü en zor hastalıklardan biridir. Aşılamadan önce, boğmaca özellikle 10 yaş altı çocukları etkilerken, aşılamadan sonra adolesan ve yetişkinler arasında da görülmeye başlamıştır⁽¹³⁾. Özellikle hastalığın mortalite ve morbidite olarak ağır seyrettiği aşısız veya eksik aşıli infantlar için, enfekte adolesanlar ve yetişkinlerin taşıyıcı rol oynadığı düşünülmektedir.

Boğmaca enfeksiyonunun gerçek prevalansını belirlemek; hastalığın semptomlarının birçok solunum yolu enfeksiyonu ile benzerliği, patojenin kültürde üretilmesinin güçlüğü ve tanı testlerine erişim kısıtlılığı nedeni ile zordur. Çoğu ülkede, boğmaca için vaka tabanlı ulusal bir izleme sistemi mevcut olmasına rağmen, genel görüş bildirilen vaka sayısının gerçek vaka sayısından çok daha düşük olduğu yönündedir.

Boğmaca tanısında kültür yönteminin altın standart olduğu ancak duyarlılığının hastalığın evresi, hastanın yaşı, aşı ve bağışıklık durumu, uygulanan antimikrobiyal tedavi ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Kültür, *B. pertussis* tanısında en özgül (%100) yöntemdir fakat duyarlılık oranı değişkenlik göstermekle birlikte nispeten düşüktür^(9,13). Kültür pozitifliği; hastalığın asemptomatik olduğu inkübasyon periyodundan itibaren başlamaktadır. Bu pozitiflik semptomların gözlenmeye başladığı 1-2. haftalardan (kataral evre) öksürük nöbetlerinin yaygınlaştığı 4. haftaya (paroksizmal evre) kadar devam etmektedir⁽²¹⁾. Hasta grubumuz öksürük şikâyetinin başlamasından en az iki hafta sonra bize başvurmuş olup hastaların 17'si spesifik antimikrobiyal tedavi almıştır. Herhangi bir tanısal test sonucu pozitif gelen hastalarda antimikrobiyal tedavi hikayesi yoktu.

Bordetella pertussis tanısında, kültürün sınırlılıklarından dolayı hızlı, duyarlı ve güvenilir bir yöntem gerekmektedir. PCR metodları, DNA ekstraksiyonu ile hızlı sonuç verme ve hastalığın ilk dört haftasında yüksek özgüllük (%86-100) ve duyarlılık (%70-99) sağlama avantajları nedeniyle öne çıkmaktadır^(6,22).

PCR pozitifliği; hastalığın asemptomatik olduğu inkübasyon periyodundan itibaren başlamaktadır. Bu pozitiflik semptomların gözlenmeye başladığı 1-2. haftalardan (kataral evre) öksürük nöbetlerinin yaygınlaştığı 3-8.hafta sonuna (paroksizmal evre) kadar devam etmektedir⁽²¹⁾.

Çalışmamızda, 68 hastadan 15'inde (%22) PCR pozitifliği saptanmıştır. Bu bulgular, PCR'ın kültüre kıyasla daha duyarlı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Öksürük süreleri ile PCR pozitifliği arasında istatistiksel anlamda bir fark bulunmadı ve PCR pozitif hastaların dokuzu ilk dört hafta içerisindeki başvuranlar arasından tespit edilmiştir. Yine ülkemizde uzamış öksürüğü olan hastalarda yapılan çalışmalarda; Yetişkinlerde yapılan bir çalışmada⁽³⁾ boğmaca seroprevalansı %9.7, adolesan ve yetişkinleri içeren bir diğer çalışmada⁽²³⁾ ise %7 olguda boğmaca PCR pozitif olduğu ileri sürülmüştür. Benzer bir çalışmada da 257 hastada semptomların ilk dört haftasında alınan 162 örneğin 41'inde; dört haftadan sonra alınan 95 örneğin 11'inde pozitiflik saptamışlardır⁽²⁴⁾. Çünkü hastaların öksürük süreleri uzadıkça, PCR ile pozitif hasta tespit etme olasılığımız azalmakta, fakat hastalar hala klinik olarak boğmaca hastası olabilmektedir.

Paroksizmal ve konvalesan dönemde, serolojik testler özellikle adolesan ve yetişkinlerde boğmaca tanısında avantajlı olmuştur. DSÖ boğmaca serolojisi için ELISA yöntemini önermektedir ve Anti-PT IgG seviyesinin 100-125 EU/ml üzerinde olmasını yakın zamanda bakteri maruziyeti açısından anlamlı kabul etmektedir^(3,15,25). Türkiye'de 6 ay-60 yaş üstü 2085 olguda yapılan çalışmada %12.5 hastada Anti-PT IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde bulmuş ve bunların çoğu 6-9 yaş ve 50-59 yaş arası

hastalarda saptanmıştır⁽²⁶⁾. Yine ülkemizden 0-85 yaş arası hastalarda seropozitivite oranı %39.5 bulunmuştur⁽²⁷⁾. Yine yetişkin yaş grubunda (18-87 yaş arası) 538 hastanın %9.7'de Anti-PT IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde, bu hastaların da %82.7'de Anti-FHA IgG düzeyini 100 EU/ml üzerinde bulmuşlardır⁽³⁾. Singapurda 18-45 yaş arası erişkinlerde yapılan bir çalışmada seropozitivite %97 gibi oldukça yüksek bir değer saptanmıştır⁽²⁸⁾. Bizim çalışmamızda ise serolojik tanı için "in-house" kantitatif Anti-PT IgG ELISA yöntemi kullanılarak, semptomatik hasta serum örneğinde 100 EU/ml'nin üzerinde Anti-PT IgG titresi *B. pertussis* enfeksiyonunun serolojik kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Buna göre dokuz (%13) hastada serolojik olarak *B. pertussis* enfeksiyonu düşünülmüştür. Ayrıca bu hastaların dördüne (%6) aynı PCR pozitifliği de eşlik etmiştir.

Çalışmamızda serolojik testleri pozitif olan hastaların ortalama öksürük süreleri 52 gün, PCR testi pozitif olan hastaların ortalama öksürük süreleri ise 24-45 gün olarak tespit edilmiştir. Öksürük süresi uzun olan hastalarda sadece serolojik olarak *B. pertussis* saptanması, hastalığın ilerleyen dönemde serolojinin PCR göre üstün olduğu yönündeki literatür bilgilerini desteklemektedir^(29,30).

Çalışmamızda boğmaca prevalansı %29.4 olarak hesaplanmıştır. Literatürde dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, uzun süreli öksürüğü olan ergen ve yetişkinler arasında boğmaca prevalansı %5-32 arasında değişmektedir^(3,4,31-33). Çalışmalarda gözlenen prevalans farklılıklarının en önemli nedeni kullanılan tanı yöntemlerinin farklılıklarıdır.

Boğmaca aşısı ile önlenemeyen hastalıklardan birisi olmasına rağmen, aşısı veya doğal enfeksiyon ile gelişen immün yanıtın ömür boyu koruyuculuğu yoktur. Bu da hastalığın her yaşta ortaya çıkmasına neden olur. Bu yüzden yaygın aşılama rağmen rağmen *B. pertussis* elimine edilememiş ve özellikle yaş gruplarına göre olan insidansında değişiklik gözlemlenmiştir. Hastalığın adolesan ve yetişkin yaş grubunda oluşturduğu yük tam olarak

bilinmemektedir. Boğmaca ile ilişkili en önemli halk sağlığı sorunu, enfekte erişkinlerin henüz aşılınmamış bebekler için bulaş kaynağı olabilesidir. Bu nedenle doktorların bu konudaki farkındalığını arttırmaya ve hastalığın gerçek epidemiyolojisini araştırmaya ihtiyaç vardır. Ülkeye ait sürveyans verileri ülke çapında paylaşarak, adolesan ve yetişkinlere boğmaca hakkında eğitimler verilerek, hastalığın tanınması ve farkındalığı artırılabilir. Tüm bunlar için *B. pertussis* seroprevalansını belirleyecek daha geniş kitleleri içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma, yetişkin yaş grubunda boğmaca enfeksiyonunun sıklığı ve klinik özelliklerini araştıran nadir çalışmalardan biridir. Bulgularımız, yetişkinlerde boğmaca enfeksiyonunun yaygın olabileceğini, ancak tanısının zor olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, yetişkinlerde uzun süreli öksürüğün ayırıcı tanısında boğmacayı dikkate almak ve laboratuvar yöntemleri ile doğrulamak önemlidir. Ayrıca, yetişkinlerde boğmaca enfeksiyonunun bebek ve küçük çocuklara bulaşmasını önlemek için aşılama programlarının gözden geçirilmesi ve güncellenmesi gerekmektedir.

Çalışmanın sınırlılıkları arasında, örneklem büyüklüğünün ve kullanılan metodların genel boğmaca prevalansının tam olarak belirlenmesine izin vermemesi ve hastaların öksürük belirtilerinin başlamasından en az iki hafta sonra araştırmaya katılmış olmaları yer alır. Bu durum özellikle *B. pertussis* kültürünün duyarlılığını etkilemiş olabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma; GATA Etik Kurulu tarafından (18.05.2015 tarih ve EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000 sayı; 17.02.2016 tarih ve ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of GATA Ethics Committee (05.18.2015; EĞT.ÖĞT.50687469-1491-375-15/1648.4-1000_02.17.2016; ETİK.KRL.50687469-1491-141-16/1648-450).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Gopal DP, Barber J, Toeg D. Pertussis (whooping cough). BMJ. 2019;364:l401. <https://doi.org/10.1136/bmj.l401>
2. World Health Organization (WHO). Pertussis vaccines: position paper. WHO. 2015. [http://www.who.int/publications/i/item/WHO-WER9035] (Erişim tarihi: 25. Temmuz. 2023).
3. Sönmez C, Çöplü N, Gözalan A, et al. Uzamış öksürüğü olan erişkinlerde *Bordetella pertussis* enfeksiyonunun serolojik olarak değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2016;50(3):361-70. <https://doi.org/10.5578/mb.27692>
4. Pimentel AM, Baptista PN, Ximenes RA, et al. Pertussis may be the cause of prolonged cough in adolescents and adults in the interepidemic period. Braz J Infect Dis. 2015;19(1):43-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.09.001>
5. Kafes Dindar F, Aslan G, Yarpuzlu M, Kuyucu N, Emekdas G. Adolesan ve genç erişkin bireylerde *Bordetella pertussis* seroprevalansının belirlenmesi. J Pediatr Inf. 2013;7(4):136-42. <https://doi.org/10.5152/ced.2013.1464>
6. Gürsel D, Aslan A, Sönmez C, et al. Uzamış öksürüğü olan çocuklarda kültür, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve seroloji ile *Bordetella pertussis* enfeksiyonunun araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2012;46(2):211-24.
7. Kurugöl Z. Türkiye’de boğmaca epidemiyolojisi: Pekleştirme aşı dozları gerekli mi? J Pediatr Inf. 2009;3(1):14-8.
8. Harnden A, Grant C, Harrison T, et al. Whooping cough in school age children with persistent cough: prospective cohort study in primary care. BMJ. 2006;333(7560):174-7. <https://doi.org/10.1136/bmj.38870.655405.AE>
9. Cherry JD, Grimprel E, Guiso N, Heininger U, Mertsola J. Defining pertussis epidemiology: clinical, microbiologic and serologic perspectives. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(5 Suppl):S25-34. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000160926.89577.3b>
10. T.C. Sağlık Bakanlığı. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi. 25.02.2008(2008/14). [https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/1117,gbp genelge2008.pdf.pdf] (Erişim Tarihi: 25. Haziran. 2023).

11. T.C. Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete. 25.07.2020(20200422-7). [https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/04/20200422-7.htm] (Erişim Tarihi: 10.Haziran.2023).
12. T.C. Sağlık Bakanlığı. Boğmaca Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. TSHGM/RSHMB Aydoğdu Ofset, Ankara: 2003.
13. Mattoo S, Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. Clin Microbiol Rev. 2005;18(2):326-82. https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.326-382.2005
14. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, et al. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. Lancet Infect Dis. 2011;11(7):557-70. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70007-X
15. Mertens PL, Stals FS, Steyerberg EW, Richardus JH. Sensitivity and specificity of single IgA and IgG antibody concentrations for early diagnosis of pertussis in adults: an evaluation for outbreak management in public health practice. BMC Infect Dis. 2007;7:53. https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-53
16. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Boğmacanın Mikrobiyolojik Tanısı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934, Ankara: 2014. [http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/bakteriyoloji/UMS-B-MT-01-Boğmaca.pdf] (Erişim Tarihi: 10.Haziran.2023).
17. Güldemir D, Akbaş E, Nar Ötgün S, Tekin A, Esen B. Boğmacanın moleküler tanısı için laboratuvar yapımı bir PCR yönteminin geliştirilmesi ve optimizasyonu. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):632-45.
18. Coplu N, Esen B, Kurtoglu D, Gozalan A, Miyamura K, Yoshida I. Laboratuvarımızda hazırlanan Elisa testinin boğmaca serolojisinde standardizasyonu ve seroepidemiolojik bir çalışmada kullanılması. Mikrobiyol Bul. 2005;39(3):281-9.
19. Fedele G, Bianco M, Ausiello CM. The virulence factors of *Bordetella pertussis*: Talented modulators of host immune response. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2013;61(6):445-57. https://doi.org/10.1007/s00005-013-0242-1
20. Strelbel P, Nordin J, Edwards K, et al. Population-based incidence of pertussis among adolescents and adults, Minnesota, 1995-1996. J Infect Dis. 2001;183(9):1353-9. https://doi.org/10.1086/319853
21. Fry NK, Campbell H, Amirthalingam G. JMM Profile: *Bordetella pertussis* and whooping cough (pertussis): Still a significant cause of infant morbidity and mortality, but vaccine-preventable. J Med Microbiol. 2021;70(10):001442. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001442
22. Kösters K, Reischl U, Schmetz J, Riffelmann M, Wirsing von König CH. Real-time LightCycler PCR for detection and discrimination of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1719-22. https://doi.org/10.1128/JCM.40.5.1719-1722.2002
23. Karagul A, Ogunc D, Midilli K, et al. Epidemiology of pertussis in adolescents and adults in Turkey. Epidemiol Infect. 2015;143(12):2613-8. https://doi.org/10.1017/S0950268814003483
24. Holberg-Petersen M, Jennum PA, Mannsåker T, Melby KK. Comparison of PCR with culture applied on nasopharyngeal and throat swab specimens for the detection of *Bordetella pertussis*. Scand J Infect Dis. 2011;43(3):221-4. https://doi.org/10.3109/00365548.2010.538855
25. Vatanserver U, Cöplü N, Oner N, et al. Seroprevalance of *Bordetella pertussis* antibodies among healthy adolescent girls in Edirne. Swiss Med Wkly. 2005;135(35-36):531-6. https://doi.org/10.4414/smw.2005.11096
26. Esen B, Coplu N, Kurtoglu D, Gozalan A, Akin L. Prevalence of high antibody titers of pertussis in Turkey: reflection of circulating microorganism and a threat to infants. J Clin Lab Anal. 2007;21(3):154-61. https://doi.org/10.1002/jcla.20127
27. Türkoglu E, Sönmez C, Kurugöl Z, Çöplü N, Koturoğlu G. Pertussis serosurveillance study in Izmir, Turkey. J Trop Pediatr. 2015;61(1):32-6. https://doi.org/10.1093/tropej/fmu062
28. Wilder-Smith A, Ng S, Earnest A. Seroepidemiology of pertussis in the adult population of Singapore. Ann Acad Med Singap. 2006;35(11):780-2.
29. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(5 Suppl):S58-61. https://doi.org/10.1097/01.inf.0000160914.59160.41
30. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, et al. *Bordetella pertussis* and chronic cough in adults. Clin Infect Dis. 1999;29(5):1239-42. https://doi.org/10.1086/313448
31. Senzilet LD, Halperin SA, Spika JS, et al. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. Clin Infect Dis. 2001;32(12):1691-7. https://doi.org/10.1086/320754

32. Gilberg S, Njamkepo E, Du Châtelet IP, et al. Evidence of *Bordetella pertussis* infection in adults presenting with persistent cough in a french area with very high whole-cell vaccine coverage. J Infect Dis. 2002;186(3):415-8.
<https://doi.org/10.1086/341511>
33. İlbay A, Tanrıöver MD, Zarakol P, Güzelce EÇ, Bölek H, Ünal S. Pertussis prevalence among adult patients with acute cough. Turk J Med Sci. 2022;52(3):580-6.
<https://doi.org/10.55730/1300-0144.5349>