

Gülhane Mikrobiyoloji Günleri

20 - 22 Nisan 2010

Antimikrobik Kemoterapi
Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler



ÖZEL MİKROORGANİZMALARDA DUYARLILIK TESTLERİ VE TÜRKİYE VERİLERİ

Brusella

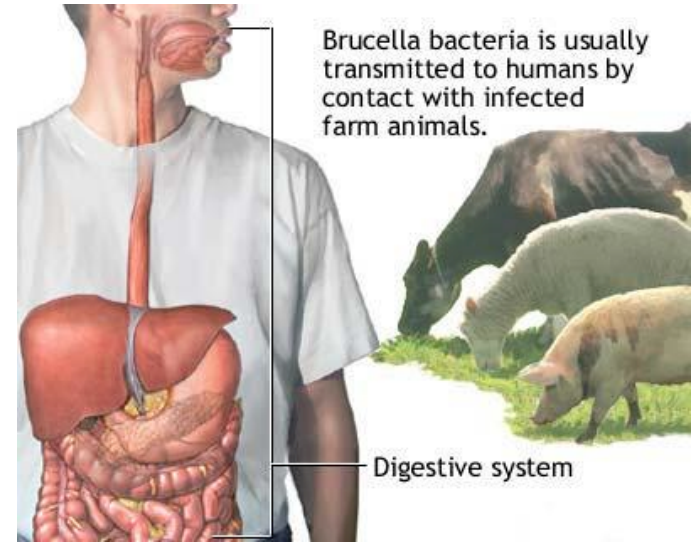
Prof.Dr.A.Sesin Kocagöz

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

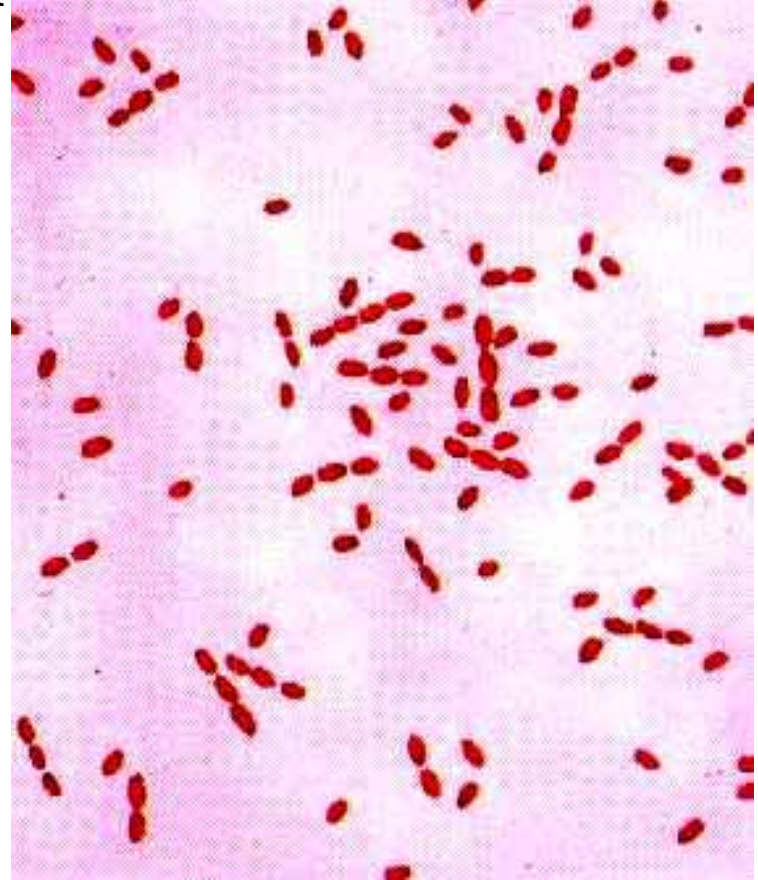
Brusellozis

- Zoonoz ve çoğunlukla meslek hastalığı
- Tipik olarak hepatosplenomegali, lenfadenopati, pansitopeni veya lökopeni ile giden febril hastalık
- Ancak çoğunlukla non spesifik semptomlar ile seyredebilir: Bir çok sistemde tutuluma bağlı semptomlar
- En çok bulaş; çiğ süttten yapılan peynir ve krema yağlarla olur (yaz mevsiminde).
- Seropozitiflik % 2-6'dır.



Etken

- Brucellae: Küçük Gram (-), sporsuz , aerob kokobasil.
 - Bazı türleri primer izolasyon için CO₂' e ihtiyaç duyar.
- **İntrasellüler üreyen ve böylece immün sistemin etkisinden kaçabilen bakterilerdir.**



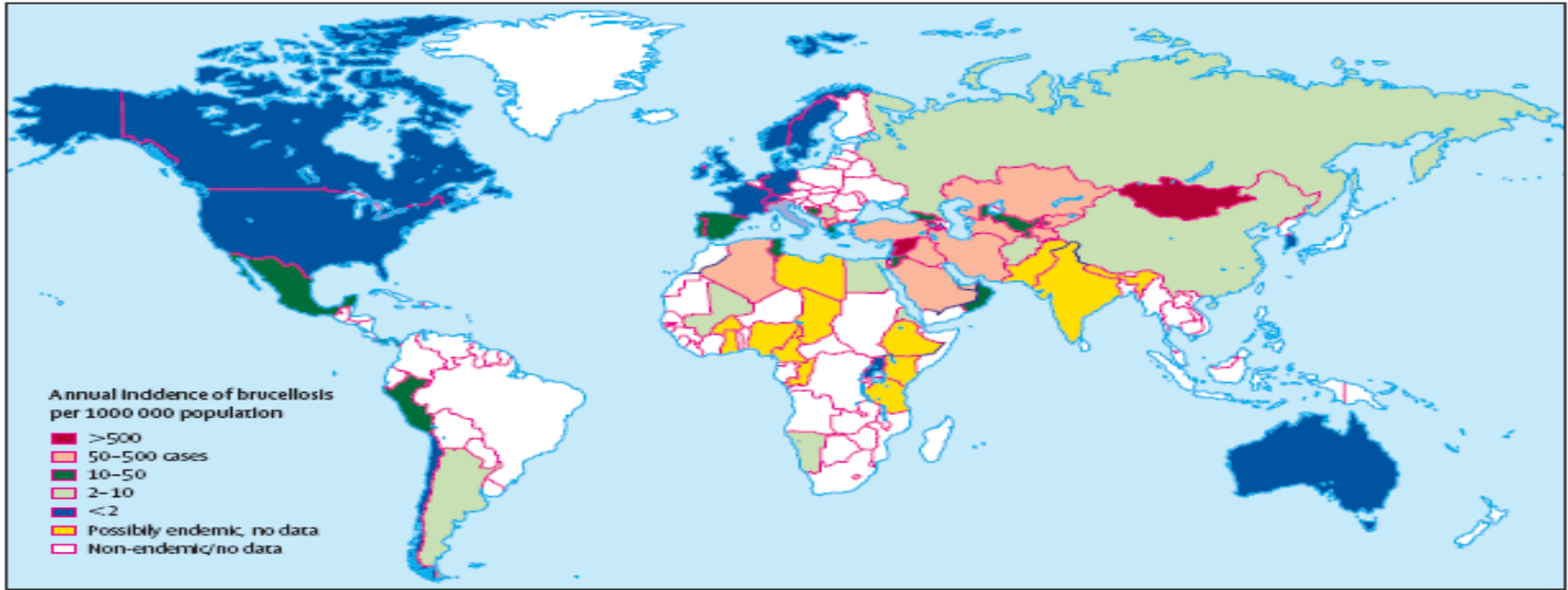


Figure 1: Worldwide incidence of human brucellosis

<http://infection.thelancet.com> Vol 6 February 2006

- ⊕ Tüm dünyada yaygın; 500 bin olgu/yıl
- ⊕ Akdeniz ülkeleri, Arabistan Körfezi, Asya'nın güneyi (Hindistan), Meksika, Orta ve Güney Amerika'da sık görülür.
- ⊕ Japonya, Uruguay ile bazı Doğu ve Kuzey Avrupa ülkelerinde tamamen eradike edildiği bildirilmektedir

TÜRKİYE'DE YILLARA GÖRE BRUSELLOZ

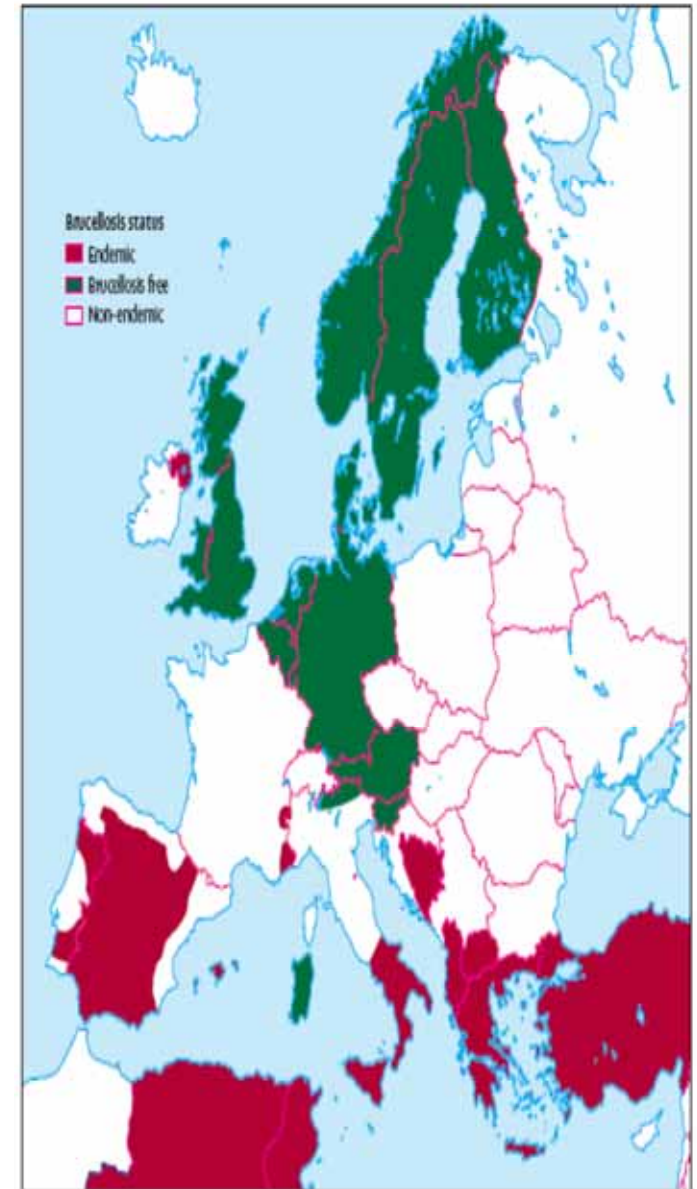
Halen gerçek prevelans tam olarak
bilinmemektedir

<u>YILLAR</u>	<u>OLGU SAYISI</u>	<u>ÖLÜM</u>
1970-1980	909	3
1981-1990	17920	8
1991	4658	4
1992	6197	-
1993	6795	2
1994	8363	-
1995	8184	9
• 2004	15.000	

Eradikasyon Planı: Türkiye Brucellozis Mücadele
Projesi

başlama tarihi: 1984 (süre: 26 yıl)

Tarım ve Köy İşleri bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel
Müdürlüğü tarafından her yıl aşılama programı
uygulanmaktadır.



Pappas G., Lancet Infect Dis 2006; 6: 91-99

- B.suis enfeksiyonu bildirilmemiştir

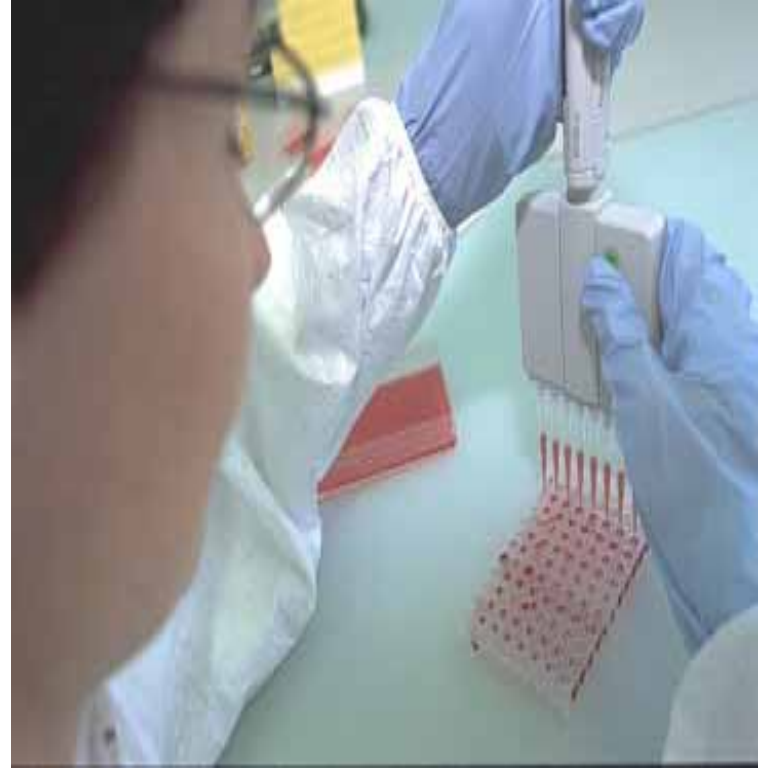
Tanı

Semptomlar tipik değil. Bu nedenle dikkat edilmesi gereken noktalar

Detaylı sorgulama: Meslek, hayvan ile temas öyküsü, bulaş riski (pastörize olmamış süt ve ürünleri...) olan gıda tüketim öyküsü

Lökosit sayısı, crp ve sedim: normal veya düşük: infeksiyon olayına yönlendirmeyebilir

Sık görülen: anemi, lökopeni ve trombositopeni



Kesin Tanı:

- Kan veya Kemik iliği kültüründen (diğer doku örneklerinden) izolasyon.

- Kandan izolasyon oranı %15- %70

(inkübasyon süresi= şüphe var ise lab. Uyarılması ve kullanılan metoda göre=lizis konsantrasyon).

-Kemik iliğinden izolasyon oranları daha yüksek

* Hızlı tanımlamada dikkat: seroloji, faj tiplendirmesi, genotiplendirme....

Moraxella phenylpyruvica

- PCR



Tanı -devam



Kültür negatif olgularda:

Olası Bruselloz tanısı

Spesifik antikor titrelerinin yükselmesi
(Serum agglutinasyon yöntemi)

Tek titre yeterli değil ancak $>1:160$ titre
“olası” olarak ele alınabilir

Rose Bengal testi: Hızlı tarama testi.

Mutlaka Serum agglutinasyon testi ile desteklenmeli.



Tedavi prensipleri

- **Etkenin intrasellüler üreme özelliği**
- **Relapsların gelişmelerinin önlenmesi için kombine antibiyotik kullanımının gerekliliği:**
 - *Hedeflenecek yeni antibiyotik duyarlılık testlerin planlanmasında kombinasyon antibiyotiklerin etkilerinin sinerjik olması göz önüne alınmalıdır.**
- **Brusellozis tedavisinde sık kullanılan rutin antibiyotikler//duyarlılıkda bakılması öngörülen antibiyotikler:**
 - Doksisisiklin
 - Rifampisin
 - Siprofloksasin
 - Tetrasiklin
 - Streptomisin

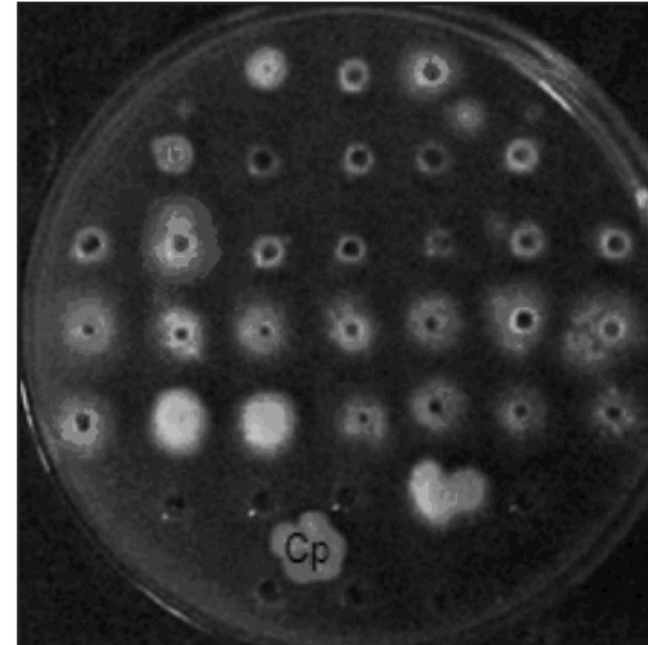
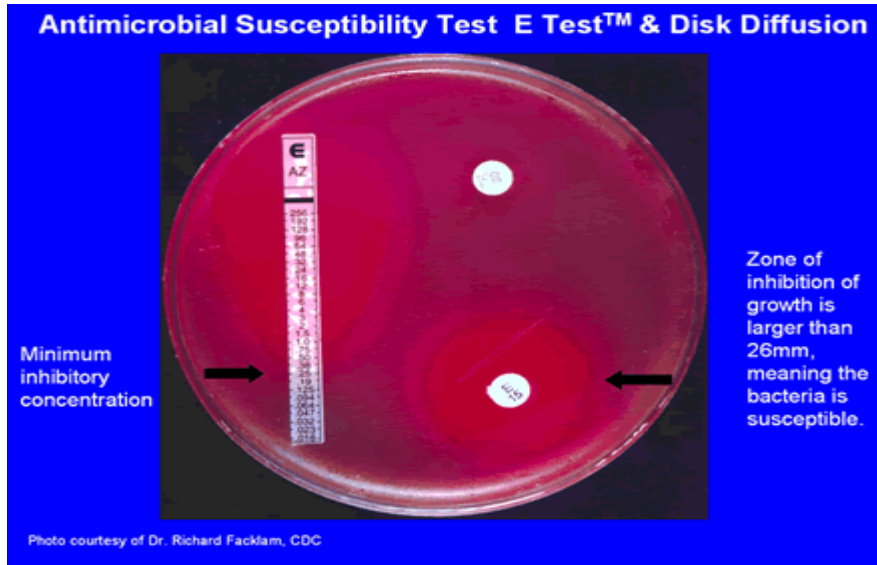
Brusella türleri Laboratuvar kaynaklı bulaş riski açısından yüksek risk grubunda

- Tüm çalışmaların korunmalı alanlarda laminar kabin ortamında yapılması gerekmektedir.
- Bazı ülkelerde sadece referans laboratuvarlarda duyarlılıkların yapılması ön görülmektedir



Antibiyotik Duyarlılık Testleri

- **Disk diffüzyon testi:** Daha çok tarama amaçlı olarak uygulanması
- **Asıl duyarlılık sonucunun Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) sonucu ile doğrulanarak verilmesi önerilmektedir.**



Brusella izolatlarında in-vitro duyarlılık testleri

- standart bir yöntem yok

Sorun:

- Özellikle testler arasında uyum oranlarının besiyeri farklılıkları gibi durumlardan etkilendiği için korelasyonları yönünde sorun olabileceği rapor edilmektedir.
- Mikrobroth ve agar dilüsyon yöntemi kullanılan çalışmaların MİK aralıklarının nisbeten daha yüksek olma eğiliminde olduğu anlaşılmaktadır



Besiyeri /kontrol suşlar

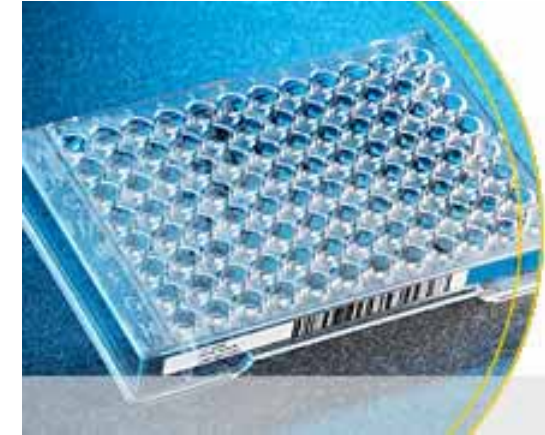
Dikkat edilmesi gereken husus uygun besiyeri kullanımı ve uygun kontrollerinin her testte beraberinde kullanılmasıdır •

E-test: (0.5 McFarland)

- %5 koyun kanlı Mueller- Hinton agar.
- 48 s inkübasyondan sonra MİK değerleri okunması
- Referans suşlar: B. abortus 19, B. melitensis 16M, ve B. suis 1330
- MİK değerleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarının [for slow-growing bacteria (Haemophilus spp.) göre alınması

Mikrobroth dilüsyon için: (0.5 McFarland)

- %5 koyun kanlı ve %1 polyvitex eklenmiş Mueller-Hinton besiyerinde



MİK düzeyleri

- **Mikrobroth dilüsyon**
- **Agar dilüsyon**
- **E-test: daha kısa zamanda ve kolay uygulanabilir**

- Türkiye’deki çalışmaların çoğunda da bu nedenden dolayı E-test metodu kullanılmıştır.

- **Gür ve ark E-test sonuçların sıvı mikrodilüsyon sonuçlar ile % 82-100 uyumlu olduğunu bildirmişlerdir**

Gur D, Kocagoz S, Akova M, Unal S: Comparison of E-test to microdilution for determining in vitro activities of antibiotics against Brucella melitensis, Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2337

Eşel ve ark.nın agar dilüsyon ve E-test yöntemi ile karşılaştırmalı çalışmalarında:

- İki yöntem arasında uyum (essential agreement)
 - seftriakson için % 99,
 - siprofloksasin için % 95,
 - doksisiklin için % 98,
 - rifampisin için % 97,
 - streptomisin için % 88 olarak bulunmuştur.
 - En düşük uyum TMP-SMZ’de görülmüştür (% 27).
- Suşların % 19 CLSI ’in Haemophilus türleri için belirlediği sınır değerler dikkate alındığında rifampisine azalmış duyarlılık gösterdiği saptanmış.
- Bu bulgular ışığında E-test yönteminin B.melitensis suşları için alternatif bir duyarlılık test yöntemi olarak kullanımının sınırlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Eşel D., B.Sümerkan, D.Ayangil, M.Telli BRUCELLA MELITENSIS SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE AGAR DİLÜSYON VE E-TEST YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI ANKEM Derg 2004;18(4):196

Türkiye verileri



Tetrasiklin ile doksisklin Duyarlılığı



Tedavide etkin antibiyotiklerin başında gelmektedir.

- Ülkemiz izolatlarında yapılan çalışmalarda direnç saptanmamıştır.
- Bakıldığında doksisisiklinin MİK 90 değerleri diğerlerine göre en düşük değerler olarak bulunmaktadır.

Siprofloksasin ve Streptomisin



- siprofloksasin, streptomisin Mik 90 değerleri de düşük bulunmuştur.
 - Direnç bildirilmemiştir.
 - Ankara'da 69 Brusella izolatının
 - %5 koyun kanlı ve %1 polyvitex eklenmiş Mueller-Hinton besiyerinde
 - mikrobrot dilüsyon yöntemi
- Gatifloksasin, gemifloksasin, grepafloksasin, levofloksasin, sparfloksasin, siprofloksasin ve ofloksasinin
- MİK 50 ile MİK 90 sparfloksasinin diğerleri içinde en düşük değerleri olduğu, bu kinolonu sırası ile levofloksasin , siprofloksasin ve ofloksasinin değerleri takip etmekte olduğu bulunmuştur. .

Rifampisin

Mik değerleri genelde düşük olmasına rağmen

- Kırıkkale'den Ayaşlıoğlu ve ark.: 46 Brucella suşu
- İzolatların tiplendirilmesi ve tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler: Tümü: B.melitensis (45'i biyotip 3)
- Mik değerlendirmesi : E-test
 - tetrasiklin
 - streptomisin
 - rifampisin (iki suş orta duyarlı)
 - siprofloksasin
 - azitromisin
- Ankara'dan Baykam ve ark 37 suş.
- Konvansiyonel yöntemler
- E-Test
 - TMP-SMX
 - Siprofloksasin
 - Rifampisin %9'u orta duyarlı
 - Seftriakson
 - doksisisiklin.



Table 2. Summary of Brucella antimicrobial susceptibility test results of Turkish studies.

Researcher	Akova et al.	Bodur et al.	Baykam et al.	Kose et al.	Sengoz et al.	Yamazhan et al.	Ayaslioglu et al.
Region	Ankara	Ankara	Ankara	İzmir	İstanbul	İzmir	Kırıkkale
<i>B. melitensis</i> (bio type 3)	43 (ND)	41 (39)	37 (29)	11 (10)	43 (ND)	44 (40)	46 (45)
<i>B. abortus</i>	0	0	5	0	0	0	0
Method	Microdilution	E test	E test	E test	E test	Agar dilution	E test
MIC ₅₀ (mg/l)	DOX	< 0.125	0.064	0.064	0.047	0.090	0.25*
	STR	2.0				0.75	0.50
	SXT		0.38	1.5	1.0		
	CRO		0.38	0.50	0.50		
	RIF	2.0	0.75	1.0	0.75	1.0	1.0
	CIP	2.0	0.25	0.19	0.25	0.38	2.0
	AZM	1.0				32.0	1.0

DOX: doxycycline; STR: streptomycin; SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole; CRO: ceftriaxone; RIF: rifampin; CIP: ciprofloxacin; AZM: azithromycin.
ND: not determined.

*E strip for tetracycline was used.

Ege bölgesinden Yamazhan ve arkadaşlarının agar dilüsyon tekniği kullandıkları çalışmalarında da özellikle kinolonlar ve makrolidlerde yüksek MİK değerleri

Fusidik Asit

- Çelik ve ark:Elazığ
- 50 Brucella melitensis izolatının fusidik asit MİK50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 0.5 ve 2 µg/ml olarak düşük değerler rapor etmişlerdir.
- Fusidik asidin bu mikroorganizmaya etkinliğinin daha fazla çalışmalarla desteklenmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Tigesiklin

- Gaziantep'den Zer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada
- E-test yöntemi
- tüm suşlarında tigesiklin için oldukça düşük MİK değerleri :
 - MİK aralıkları
 $<0.016-0.094 \mu\text{g/ml}$
- Özellikle in-vitro olarak bulunan bu sonuçların in-vivo olarak karşılaştırılması gerektiğini belirtmişlerdir.
- Ankara'dan Turan ve ark. Tigesiklin MİK değerlerinin siprofloksasin ve rifampisin'den daha düşük olduğu
 - doksisiklinin MİK değerlerinden daha yüksek

Sonuç

- Standart test sistemi olmadığı için önerilmese de :
 - endokardit ve menenjit gibi yaşamsal olgularda
 - relaps ile tedavi başarısızlığı gibi özel durumlarda yapılması önemlidir
 - Ülkemizde hem insanlar hem de hayvancılık için problem etken olduğu
 - ulusal standart bir kontrol ve duyarlılık program ihtiyacı mevcuttur.



Gülhane Mikrobiyoloji Günleri

20 - 22 Nisan 2010

Antimikrobik Kemoterapi
Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler

