

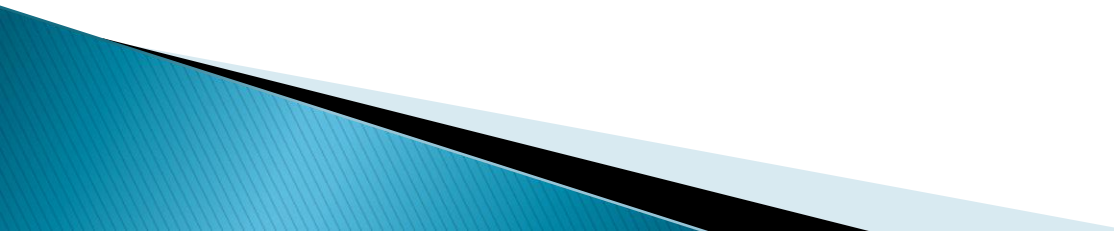


Prof.Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN

İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Haemophilus influenzae'de
Antibiyotiklere Direnç

Haemophilus influenzae'de duyarlılık testleri-1

- ▶ Disk difüzyon
 - ▶ Mikrodilüsyon
 - ▶ “Sensititre” Mikrodilüsyon
 - ▶ E-test
- 

Haemophilus influenzae'de duyarlılık testleri-2

- ▶ Haemophilus Test Medium (katı)
Mueller-Hinton besiyeri
Hematin.....15µg/ml
NAD..... 15µg/ml
Maya özü..... 5µg/ml
- ▶ Haemophilus Test Medium (sıvı)
Mueller-Hinton sıvı besiyeri (KAMHB)
Hematin.....15µg/ml
NAD..... 15µg/ml
Maya özü..... 5µg/ml
Timidin..... 0.2 IU/ml

Haemophilus influenzae'de duyarlılık testleri-3

- ▶ İnokulum

Direkt koloni süspansiyonu

(Mc Farland 0.5 standard)

- ▶ İnkübasyon

$35 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Disk difüzyon: %5 CO₂'li ortamda 16-18 saat

Sıvı dilüsyon: Normal atmosferde 20-24 saat

Haemophilus influenzae'de duyarlılık testleri-4

- ▶ *Haemophilus influenzae* ATCC 49247
- ▶ *Haemophilus influenzae* ATCC 49766
- ▶ *Haemophilus influenzae* ATCC 10211
- ▶ *Escherichia coli* ATCC 35218

Beta-laktam Direnci

- ▶ Beta-laktamaz aracılığı ile
- ▶ Penisilin bağlayan proteinler (PBP) deki değişiklikler ile
- ▶ Beta-laktamaz üretimi+PBP'deki değişiklikler ile
- ▶ Atım pompaları aracılığı ile

Beta-laktamaz aracılığı ile direnç

- ▶ TEM beta-laktamazları
- ▶ ROB beta-laktamazları
- ▶ Yeni beta-laktamazlar

TEM beta-laktamazları-1

- ▶ 1975 yılında tanımlanmıştır
- ▶ *H.influenzae* kökenlerinin yaklaşık %90'ında ampisiline dirençten sorumlu olan enzimdir
- ▶ *bla TEM* genleri transpozonlarda kodlanmıştır
(*bla TEM-1* geni Tn2 ve Tn3'de ,*bla TEM-2* geni Tn1'de)

TEM beta-laktamazları-2

- ▶ Beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olur
- ▶ Nitrosefin hidrolizi pozitiftir
- ▶ İzoelektrik fokuslama ile tanımlanabilir
(izoelektrik nokta TEM-1:5.4)
- ▶ PCR ile *bla TEM* genleri saptanabilir

ROB-1 beta-laktamazı 1

- ▶ 1981 yılında tanımlanmıştır
- ▶ *H.influenzae* kökenlerinin yaklaşık %10'unda ampisiline dirençten sorumlu olan enzimdir
- ▶ Bu enzim plazmid DNA'sında kodlanmıştır (*bla ROB-1* geni)

ROB-1 beta-laktamazı 2

- ▶ Beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olur
- ▶ Nitrosefin hidroliz testi ile değerlendirmede sorunlar yaşanabilir
 - Test zayıf pozitif sonuç verebilir
 - Yoğun bir bakteri inokulumu ile yapılmalıdır
- ▶ Sefaklor MİK değerlerinde artış saptanır

(TEM-1 MİK 50:4 $\mu\text{g/ml}$, MİK 90:16 $\mu\text{g/ml}$; ROB-1 MİK 50:16 $\mu\text{g/ml}$, MİK 90:60 $\mu\text{g/ml}$)

Beta-laktamazlar

- ▶ TEM-1 ve ROB-1 beta-laktamazlarını aynı anda üreten üreten *H.influenzae* kökeni çok nadirdir. *H.ducreyi* kökenleride bu iki beta-laktamaz birlikte bulunabilmektedir

Yeni beta- laktamazlar

- ▶ *H.influenzae* kökenlerinin yaklaşık %1'inde bulunmaktadır
- ▶ Nitrosefin hidrolizi pozitifdir
- ▶ *bla TEM-1* ve *bla ROB-1* genleri mevcut değildir

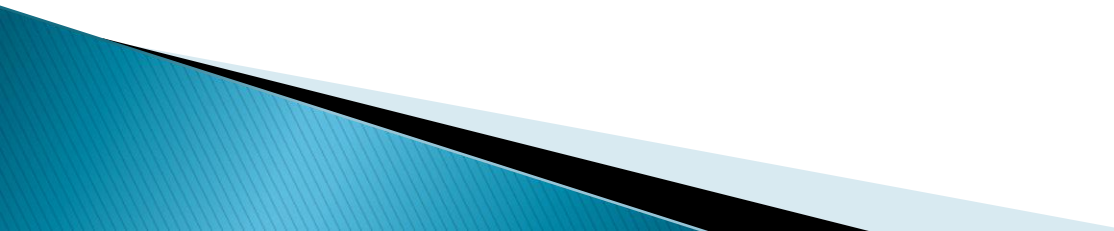
PBP'lerdeki değişiklikler ile gelişen direnç

- ▶ PBP3'ün afinitesindeki azalmaya bağlı, ampisilin dirençli *H.influenzae* kökeni ilk olarak 1980 yılında bildirilmiştir
- ▶ Kromozomda kodlanan *ftsI* genindeki mutasyon sonucu ortaya çıkar
- ▶ Bu direnç mekanizmasına sahip olan kökenler beta-laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR) kökenler olarak adlandırılmaktadır

Beta laktamaz üretimi+PBP3'ün değişikliğine bağlı direnç

- ▶ Bu direnç şekli çok az görülmektedir
- ▶ İlk olarak 1977'de ABD'den bildirilmiştir
- ▶ Bu direnç şekline sahip olan kökenler “beta-laktamaz pozitif, amoksisilin klavulonat dirençli (BLPACR)” olarak adlandırılmaktadır

H.influenzae kökenleri ampisilin direncine göre 4 fenotipte toplanmaktadır

- ▶ BLNAS kökenler
 - ▶ BLNAR kökenler
 - ▶ BLPAR kökenler
 - ▶ BLPACR kökenler
- 

H.influenzae' de antibiyotiklere direnç fenotiplerinin tanımlanması

- ▶ Moleküler yöntemlerle (PCR gibi) direnç genlerinin saptanması ile
- ▶ Disk difüzyon ve dilüsyon yöntemleri ile

BLNAS *H.influenzae* kökenleri

- ▶ Beta-laktamaz negatif
- ▶ Disk difüzyon yöntemi
 - 10 μ g. lık ampisilin diski ile ≥ 22 mm duyarlı
- ▶ Mikrodilüsyon yöntemi
 - Ampisilin MİK $\leq 1\mu\text{g/ml}$ (duyarlı)
 - Amoksisilin+klavulanat MİK $\leq 4/2 \mu\text{g/ml}$ (duyarlı)

BLNAR *H.influenzae* kökenleri-1

- ▶ Beta-laktamaz negatif
- ▶ Disk difüzyon yöntemi
 - 10 μg 'lık ampisilin diski yerine 2 μg 'lık disk
 - 10/30 μg 'lık amoksisilin+klavulonat diski yerine $\frac{1}{2}$ μg 'lık disk
- ▶ Mikrodilüsyon yöntemi
 - Ampisilin MİK ≥ 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (dirençli)
 - Amoksisilin+klavulanat MİK $\geq 8/4$ $\mu\text{g}/\text{ml}$ (dirençli)
- ▶ PCR ile *ftsI* genlerinde mutasyon

BLNAR *H.influenzae* kökenleri-2

Genel prevalans	% 0.07
TÜRKİYE	% 0-2.9
Avrupa	% 10
Kore	% 6.1
Japonya	% 20.6
ABD	% 0.4

Ülkemizde BLNAR *H.influenzae* kökenleri

Gazi H ve ark

(Manisa 2004)

iki köken

Torun MM ve ark

(İstanbul, 2007)

% 0.5

Altun B ve Gür D

(Ankara 2007)

% 1.6

Gönüllü N ve ark

(İstanbul,2009)

% 2.9

BLPAR *H.influenzae* kökenleri-1

- ▶ Beta-laktamaz pozitif
- ▶ Mikrodilüsyon yöntemi
 - Ampisilin MİK $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ (dirençli)
 - Amoksisilin+klavulonat MİK $\geq 8/4 \mu\text{g/ml}$ (dirençli)
- ▶ PCR yöntemi ile *bla TEM* veya *bla ROB* genlerinin saptanması

BLPAR *H. influenzae* kökenleri-1

TÜRKİYE %4-20.9 (?)

Avrupa %10

Japonya %40

Kore % 47.2

BLPACR *H.influenzae* kökenleri-1

- ▶ Beta-laktamaz pozitif
- ▶ Mikrodilüsyon yöntemi
Amoksisilin +klavulanat MİK $\geq 8/4 \mu\text{g/ml}$ (dirençli)
- ▶ PCR yöntemi ile
bla TEM-1 veya *bla ROB-1* genlerinin saptanması
ftsI geninde mutasyon saptanması

BLPACR *H.influenzae* kökenleri-2

TÜRKİYE saptanmamış

Japonya %11

Fransa %14

ABD % 0.15

Kore %5.2

BLNAS *H.influenzae* kökenleri

Amoksisilin MIK $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$

Amoksisilin+klavulanat MIK $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$
(duyarlılık :%92,özgüllük >%95)

BLNAR *H.influenzae* kökenleri

Amoksisilin MIK $\geq 1 \mu\text{g/ml}$

Amoksisilin+klavulanat MIK $\geq 1 \mu\text{g/ml}$
(duyarlılık >%95, özgüllük %92)

BLPAR *H.influenzae* kökenleri

Amoksisilin+klavulonat MIK $\leq 1 \mu\text{g/ml}$

Duyarlılık %95 , Özgüllük %93.3

BLPACR *H.influenzae* kökenleri

Amoksisilin +klavulanat MIK $\geq 2 \mu\text{g/ml}$

Duyarlılık %93.3 , Özgüllük %95

H. influenzae' de beta- laktamaz üretimi-1

► PROTEKT ÇALIŞMASI

38 ülkeden 137 merkezin katıldığı çalışma

► Beta-laktamaz üretimi	%15
TEM-1 beta-laktamaz	%93.7
ROB-1 beta-laktamaz	%4.6
TEM-1 ve ROB-1 beta-laktamaz	%0.45

Farrel DJ, Marrissey I, Bakker S, Buckridge S and Felmingham D

H. influenzae' de beta- laktamaz üretimi-2

Peru,Venezuela	%10
Ekvator	%2
Rusya	%2.6
TÜRKİYE	%5.4
İspanya	%18.8
Meksika	%22
ABD	%27.5
Güney Kore	%56.2
Taiwan	%67.9

Ülkemizde *H.influenzae*' de beta- laktamaz üretimi

- ▶ Beta-laktamaz üretimi %4-20.9
- ▶ Ampisilin direnci %3.7-20.9
- ▶ Amoksisilin klavulonat direnci %0-1.2

Ülkemizde *H.influenzae*'de beta- laktamaz üretimi, ampisilin ve amoksisilin klavulonat direnci-1

Araştırma (Yer,yıl)	Beta-laktamaz üretimi	Ampisilin direnci	Amoksisilin klavulonat direnci
Torun MM ark. (İstanbul,1998)	%10.9	%12.7	%0.9
Budak F,Gür D (Kocaeli, 2003)	%5.6	%5.6	%0
Berkiten R (İstanbul, 2004)	%2.9	%2.9	(-)
Gazi H ve ark (Manisa,2004)	%20.9	%20.9	%1.2
Altun B, Gür D (Ankara 2007)	%6.1	%7.2	%0.9
Uncu H ve ark (Ankara,2007)	%3.2	%3.2	(-)
Özkül H ve ark (İzmir,2007)	%5.9	%5.9	%0

Ülkemizde *H.influenzae*' de beta- laktamaz üretimi, ampisilin ve amoksisilin klavulonat direnci-2

Araştırma (Yer,yıl)	Beta-laktamaz üretimi	Ampisilin direnci	Amoksisilin klavulonat direnci
Şener B ve ark (Çok merkezli,2007)	%5.5	%9.2	%0.5
Torun MM ve ark (İstanbul,2007)	%6.8	%7.3	%0.5
Gönüllü N ve ark (İstanbul,2009)	%5.7	%6.4	(-)
Torun MM ve ark (İstanbul,2009)	%12	%12.9	%0.9
İlki A ve ark (İstanbul,2010)	%4	%4	%0

H.influenzae kökenlerinde 2.kuşak sefalosporin direnci

► Dünyada ortalama	%3-10
Sefaklor:	
TÜRKİYE	%0-%10.5
İspanya	%17
Kore	%17
Sefuroksim:	
TÜRKİYE	%0-%8
İspanya	%24
Kore	%23.2
ABD	%0.3

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde 2.kuşak sefalosporin direnci-1

Araştırma (Yer,yıl)	Sefaklor direnci	Sefuroksim direnci	Sefprozil direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	%4.5	%8	(-)
Budak F,Gür D (Kocaeli,2003)	%0	%0	(-)
Gazi H (Manisa 2004)	%12	(-)	(-)
Altun B ve Gür D (Ankara,2007)	(-)	(-)	%3.7
Şener B ve ark (Çok merkezli,2007)	%4	(-)	%3.2

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde 2.kuşak sefalosporin direnci-2

Araştırma (Yer,yıl)	Sefaklor direnci	Sefuroksim direnci	Sefprozil direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,2007)	(-)	%1.5	(-)
Özkul H ve ark (İzmir,2007)	(-)	%0	(-)
Torun MM ve ark (İstanbul 2009)	(-)	%1.5	(-)
Gönüllü N ve ark (İstanbul 2009)	(-)	%0	(-)
İlki A ve ark (İstanbul,2010)	%0.7	(-)	(-)

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde 3.kuşak sefalosporin direnci

Seftriakson
Seftizoksim
Sefiksim
Sefotaksim

} DİRENÇ YOK

H.influenzae kökenlerinde karbapenem direnci

Japonya:

İmipenem	%19.2
Meropenem	%0
Panipenenm	%11.5
Biapenem	%57.7
Doripenenem	%19.2

ABD:

Meropenem	%0.3
-----------	------

İngiltere ve İrlanda:

Ertapenem	%0.1
-----------	------

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde karbapenem direnci

İmipenem
Meropenem } DİRENÇ YOK

H.influenzae kökenlerinde makrolid direnci

acr A ve *acr B* genleri

Azitromisin

TÜRKİYE

%0-3.2

İspanya

%0.9

ABD

%1.3

Japonya

%0

Klaritromisin

TÜRKİYE

%2.7-4.8

İspanya

%0

İngiltere

%0.9

Kore

%18.7

Telitromisin

TÜRKİYE

%0.7

ABD

%0.7

japonya

%0.7

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde makrolid direnci 1

Araştırma (Yer,yıl)	Makrolid Direnci	
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	Azitromisin	%0
	Klaritromisin	%2.7
Gür D ve ark (Çok Merkezli,2002)	Azitromisin	%0
Gazi H ve ark (Manisa 2004)	Azitromisin	%1.2
Uncu H ve ark (Ankara 2007)	Azitromisin	%3.2
Altun B ve Gür D (Ankara,2007)	Klaritromisin	%3.7

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde makrolid direnci 2

Araştırma (Yer,yıl)	Makrolid Direnci	
Şener B ve ark (Çok merkezli,2007)	Azitromisin	%1.1
	Klaritromisin	%4.8
Torun MM ve ark (İstanbul,2007)	Azitromisin	%0.5
Gönüllü N ve ark (İstanbul,2009)	Azitromisin	%0
	Klaritromisin	%2.9
Torun MM ve ark (İstanbul,2009)	Azitromisin	%0.5
Torun MM ve ark (İstanbul,2010)	Azitromisin	%0

H.influenzae kökenlerinde tetrasiklin direnci

Atım pompaları: *tet B* geni

Ribozomal koruma: *tet M* ve *tet K* genleri

İlk defa 1975 yılında bildirilmiştir

TÜRKİYE	%0.8-31
----------------	---------

Dünya	%1.5-3.5
-------	----------

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde tetrasiklin direnci

Araştırma (Yer,yıl)	Tetrasiklin Direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	%2.7
Budak F,Gür D (Kocaeli,2003)	%8.6
Altun B ve Gür D (Ankara,2007)	%1.1
Şener B ve ark (Çok Merkezli,2007)	%22
Torun MM ve ark (İstanbul,2007)	%2.9
Gönüllü ve ark (İstanbul,2009)	%5

H.influenzae kökenlerinde kloramfenikol direnci

cat geni

İlk defa 1976 yılında bildirilmiştir

TÜRKİYE %1.4-40

Dünya %4-24

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde Kloramfenikol direnci

Araştırma (Yer,yıl)	Kloramfenikol Direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	%13.5
Gazi H ve ark (Manisa 2004)	%2.4
Uncu H ve ark (Ankara 2007)	%6.4
Şener B ve ark (Çok Merkezli,2007)	%5.6
Gönüllü N ve ark (İstanbul,2009)	%1.4
İlki A ve ark (İstanbul 2010)	%2.2

H.influenzae kökenlerinde TMP-SMX direnci

dhfr geni

TÜRKİYE	%19-49.2
İngiltere	%16
İrlanda	%16
İspanya	%34.9
Kuzey Amerika	%20
Latin Amerika	%30.8

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde TMP-SMX direnci-1

Araştırma (Yer,yıl)	TMP-SMX Direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	%19
Gür D ve ark (Çok Merkezli,2002)	%18.4
Gazi H ve ark (Manisa,2004)	%14.2
Uncu ve ark (Ankara,2007)	%25.8
Altun B ve Gür D (Ankara,2007)	%23

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde TMP-SMX direnci-2

Araştırma (Yer,yıl)	TMP-SMX Direnci
Şener B ve ark (Çok Merkezli,2007)	%22.9
Torun MM ve ark (İstanbul,2007)	%28.6
Özkul H ve ark (İzmir,2007)	%31.8
Torun MM ve ark (İstanbul,2009)	%28.8
İlki A ve ark (İstanbul,2010)	%25

H.influenzae kökenlerinde kinolon direnci

- ▶ Kinolon dirençli *H. influenzae* ilk olarak 1993 yılında bildirilmiştir
- ▶ Ofloksasin
 - TÜRKİYE % 0.8
 - İspanya %0
- ▶ Siprofloksasin
 - İngiltere %0.2
 - Japonya %0
- ▶ Moksifloksasin
 - İngiltere %0.1
- ▶ Levofloksasin
 - ABD %0
 - Kore %0
 - İngiltere %0

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde kinolon direnci

Ofloksasin	% 0.8
Siprofloksasin	% 0
Moksifloksasin	% 0

H. influenzae' de çoğul antibiyotik direnci

İlk kez 1980 yılında Tayland ve Kaliforniya' da bildirilmiştir

TÜRKİYE	%3.9-18.9
İspanya	%25.4
Belçika	%9.4

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde çoğul antibiyotik direnci

Araştırma (Yer,yıl)	Çoğul antibiyotik direnci
Torun MM ve ark (İstanbul,1998)	%16.4
Budak F,Gür D (Kocaeli,2003)	%3.9
Altun B,Gür D (Ankara,2007)	%18.9
İlki A ve ark (İstanbul,2010)	%12.4

Ülkemizde *H.influenzae* kökenlerinde antibiyotiklere direnç(%)

Beta-laktamaz üretimi	2.9-20.9
Ampisilin direnci	2.9-20.9
Amox-klavulonat direnci	0-0.9
2.kuşak sefalosporin direnci	0-4.5
Makrolid direnci	0-4.8
SXT-TMP direnci	14.2-31.8
Tetrasiklin direnci	1.1-22
Kloramfenikol direnci	1.4-13.5
Kinolon direnci	0.8
Çoğul Direnç	12.4-18.9

Ülkemizde *H.influenzae* 'de direnç bulunmayan antibiyotikler

- ▶ Üçüncü Kuşak sefalosporinler
Seftriakson, Seftizoksim, Sefiksim, Sefotaksim
- ▶ Karbapenemler
İmipenem, Meropenem

TEŞEKKÜRLER