

Standart bakteriofaj
kokteyllerinin VRE ve GSBL
E.coli patojenlerine karşı
invitro aktivitelerinin
araştırılması

Dr Ayşegül Ulu Kılıç



Vankomisin dirençli enterokok (VRE)

- Hastanelerde yatan hastalarda “sorun mikroorganizmalar”
 - Kolonizasyon
 - Enfeksiyon
 - Epidemiler
- Özellikle kritik ünitelerde yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlar
- Tedavide alternatifleri kısıtlı olması nedeniyle mortalitesi yüksek
- Bulaşın önlenmesinde
 - Uygun vankomisin kullanımı,
 - Sürveyans ve temas izolasyonu gibi enfeksiyon kontrol önlemleri önerilmektedir

Geniřlemiř spekturumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *E. coli*

- Çoklu antibiyotik direnç profili sebebiyle tedavide zorluklara sebep olan önemli bir patojen
- Tedavi seçenekleri kısıtlı



VRE ve GSBL ile mücadelede alternatif?

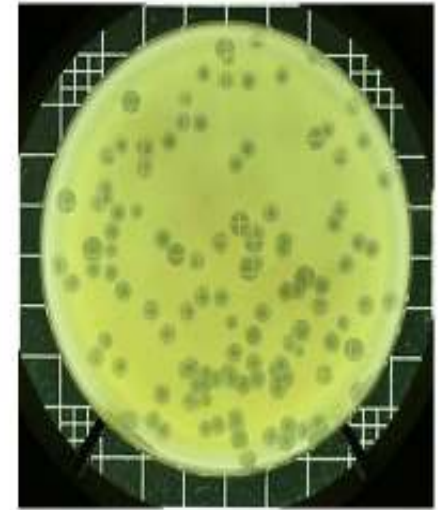
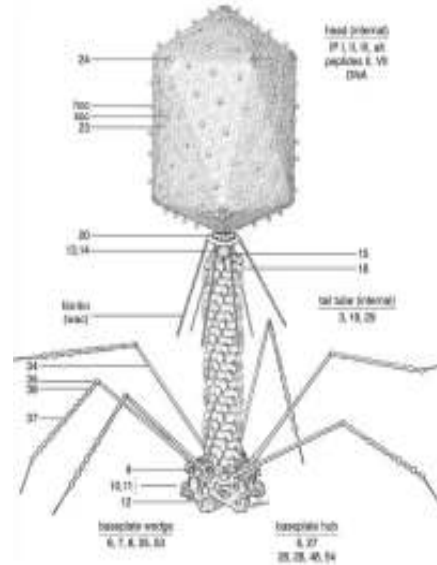
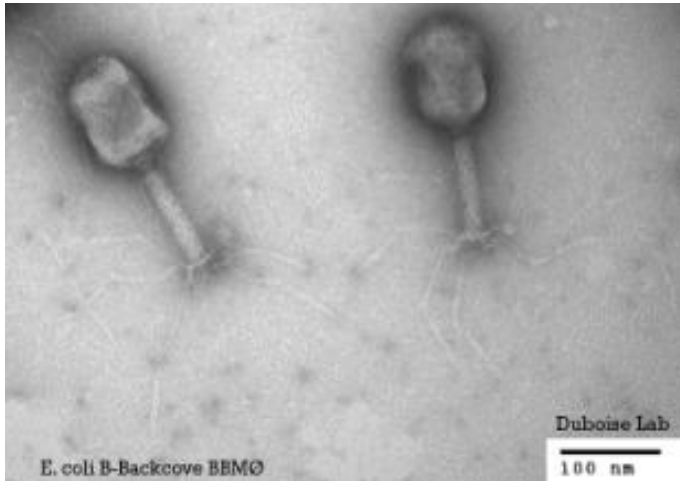
- Hastanede yatan hastalarda VRE yayılımını önlemek amacıyla - dekolonizasyon – bakteriyofajların kullanımı VRE kontrolünde alternatif bir yaklaşım olarak düşünülmektedir
- GSBL üreten patojenler sebebiyle oluşan enfeksiyonların tedavisinde yine bakteriyofaj terapi Gürcistan, Rusya, Polonya gibi ülkelerde alternatif olarak kullanılmaktadır
- **Spesifik konak özelliğine sahip olması ve antibiyotik hedeflerinden bağımsız aktivite göstermesi gibi üstünlükler sebebiyle sorunlu mikroorganizmalar ile savaşta giderek önem kazanmaktadır**



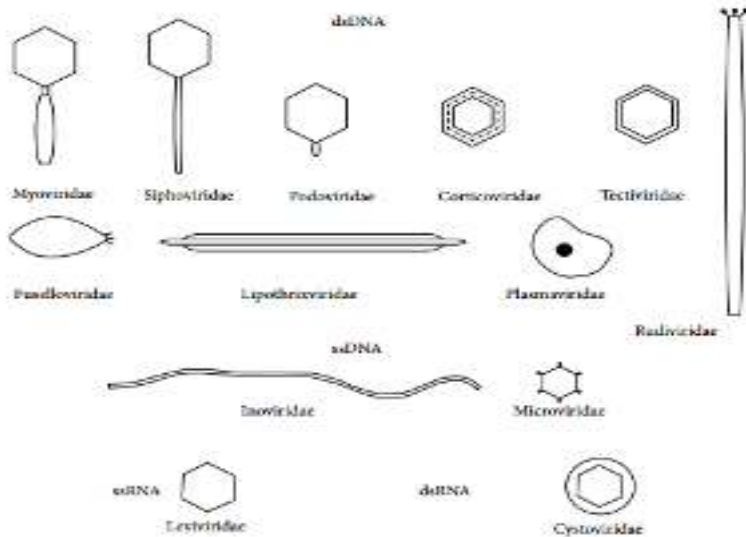
**Bacteriophage Therapy -
an Alternative to Antibiotics?**

Bakteriyofaj nedir?

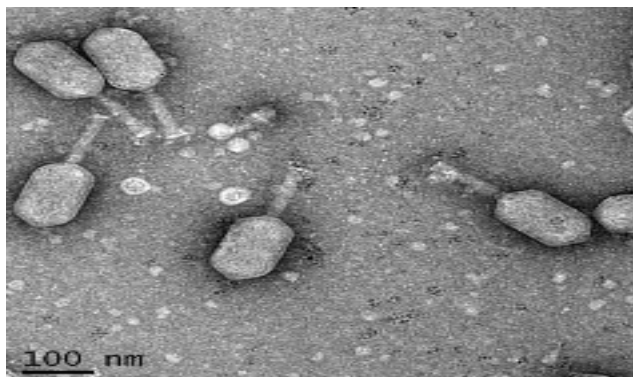
- Bakteriyofaj (faj) sadece bakterileri enfekte eden bir virüs grubudur



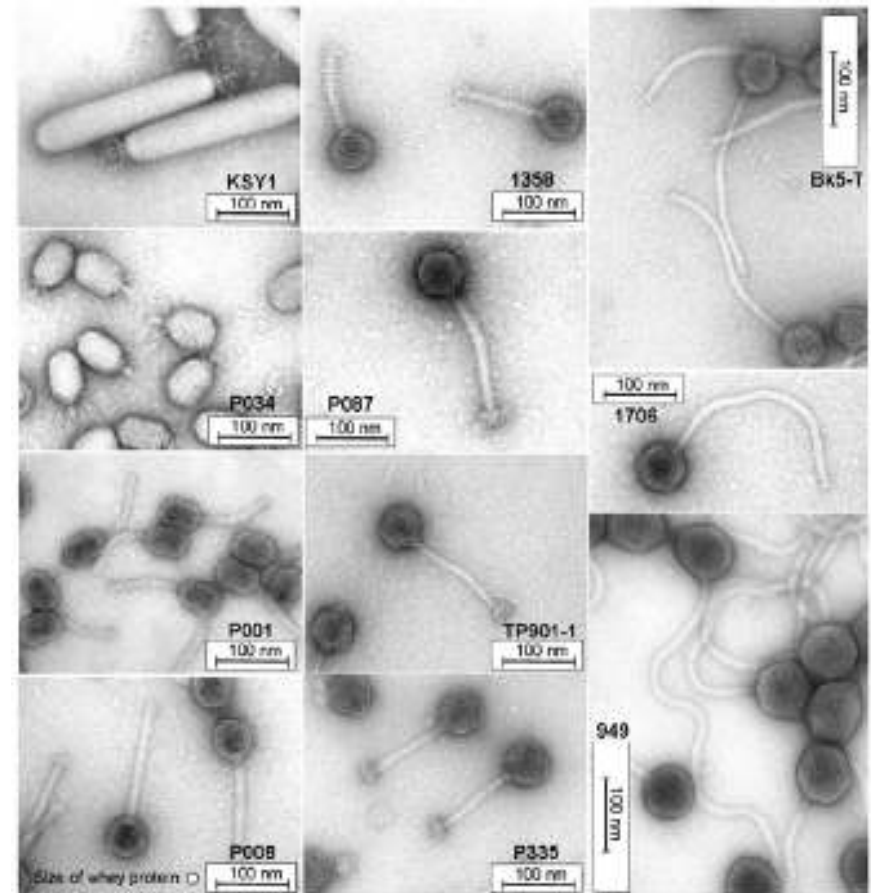
Bakteriyofaj nedir?



Anderson, B. 2014. Bacteriophage



Vibrio phage ϕ pp2, Lin YR. 2012. BMC Genomics



Transmission electron micrographs of *Lactococcus lactis* phages representing different morphotypes and lactococcal phage species. Atamer, Z. 2013. Front. Microbiol

Bakteriyofaj kaynağı nerelerdir?

- ❑ Aquatik ortamlar
 - ❑ 1ml suda 10^8
- ❑ Toprak
 - ❑ 1gr toprakta 10^7
- ❑ Canlı/ölü bitki ve hayvanlar

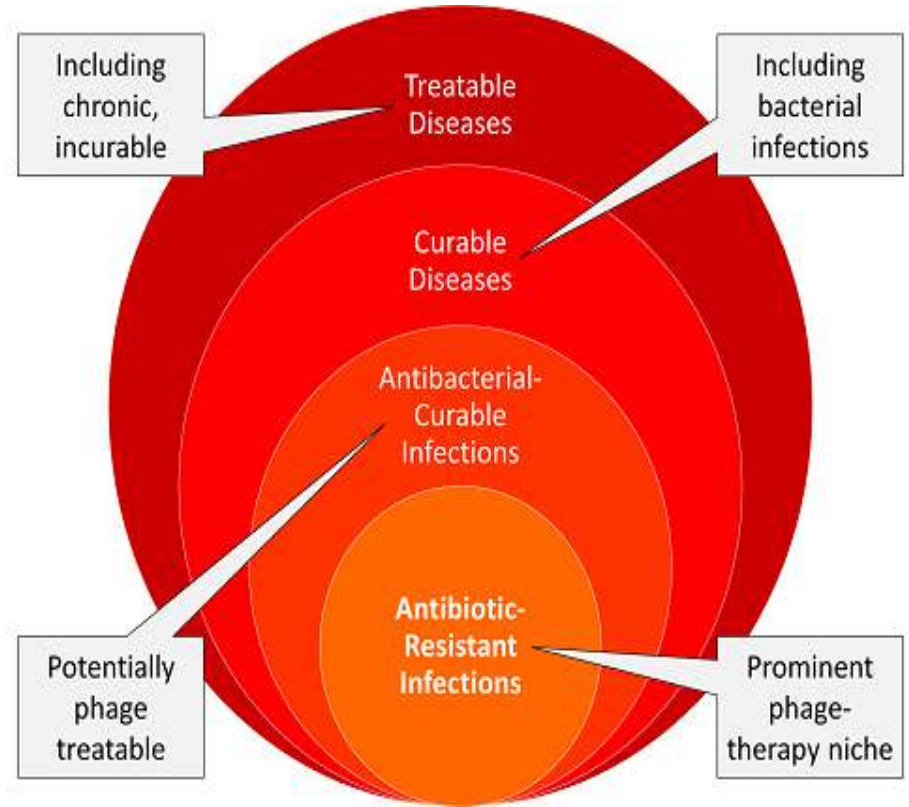


- ❑ Biyosferde 10^{30} – 10^{32} faj partikülü
- ❑ Saniyede 10^{23} faj enfeksiyonu
- ❑ Her 48 saatte dünyadaki bakterilerin yaklaşık yarısının fajlar tarafından yok edildiği öngörülmektedir



Faj terapi nedir?

- ❑ Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde fajların kullanılmasıdır
 - ❑ Tıp ve dişçilik
 - ❑ Ziraat ve gıda güvenliği
 - ❑ Hayvancılık
 - ❑ Su ve çevre güvenliği
 - ❑ Biyosavunma



Günümüzde faj terapi

Acne
Bladder Infections
Bronchiectasis
Bronchitis
Burns
Colitis
Cystic Fibrosis (co-infections)

Dysbiosis / Pathogenic Intestinal Flora
Ear Infections (Otitis Media)
Gingivitis
Intestinal Infections
Laryngitis
Lung Infections
Mastitis
Nose / Throat Infections

-Akut ve kronik enfeksiyonlar
- Dolaşımın iyi olmadığı bölgelerde

Bed Sores
Chronic / Non-healing / Infected Wounds
Diabetic Foot
Osteomyelitis

Prostatitis and Associated Sexual Problems
Infected Prosthesis
Chronic Sinusitis (Rhinosinusitis)
Skin Boils / Abscess / Lesions
Tracheitis
Urinary Tract Infections (UTI) and Cystitis
Vaginitis

Günümüzde faj terapi

- Oral (tablet ya da likit)
 - Tek doz uygulamadan 2-4 saat sonra kanda, 10 saat sonra iç organlarda
- Rektal
- Lokal (yıkama suyu ya da krem)
 - cilt, göz, kulak, nazal mukozaya
- Aerosol
- İntrapleural enjeksiyon
- **Damar içi**



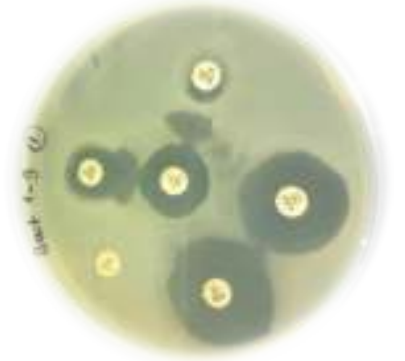
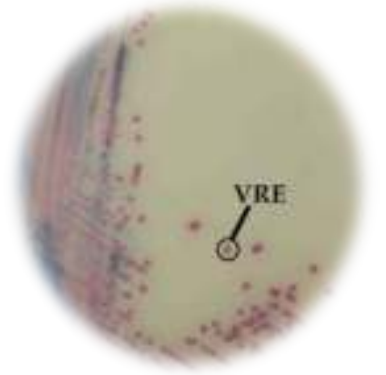
Amaç

- Bu çalışmada, hastanede yatan hastaların rektal sürüntü kültürlerinden izole edilmiş VRE etkenine karşı Gürcistan'da klinikte kullanılan **2 farklı** bakteriyofaj preperasyonunu ile
- Yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilmiş GSBL-üreten *E. coli* etkenine karşı **4 farklı** bakteriyofaj preperasyonlarının *in vitro* aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır



Yöntem

- Rektal sürüntü kültürleri
 - ChromID VRE agar (bioMerieux, Marcy l' Etoile, France)
 - VRE olduğu düşünülen izolatlar VITEK Compact 2 (bioMerieux) ile tanımlandı
 - Teikoplanin ve vankomisin direnci E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) kullanarak,
 - MİK değerleri CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ile yorumlandı
- İdrar kültürleri
 - İdrar kültürleri konvansiyonel yöntemler ile analiz edilmiştir
 - *E. coli* identifikasyonu ve izolasyonunun ardından CLSI standartlarına göre GSBL üretimi değerlendirilmiştir



Yöntem

- Faj duyarlılığı çalışmasında
 - VRE izolatları için biri likit (**İntesti-bacteriophage**) diğeri tablet (**Septaphage**) olmak üzere iki farklı bakteriyofaj kokteyli kullanılmıştır
 - GSBL-E. coli 'ler için dört adet likit faj preparatı (**Pyo-bacteriophage**, **İntesti-bacteriophage** , **Enko-phage** ve **SES-bacteriophage**) kullanılmıştır
- Her bir izolatın faj duyarlılıkları spot test metodu ile test edilmiştir.
- **Konfluent, yarı-konfluent, opak lizis** ya da 1'den fazla tekli faj plakları hassasiyet olarak kabul edilmiştir.
- Herhangi bir lizisin oluşmaması durumu **direnç** olarak rapor edilmiştir.



Yöntem

Pyo-bacteriophage : *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *E.coli*



Intesti-bacteriophage: *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *E.coli*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*.



Enko-phage: *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. heidelberg*, *S. newport*, *S. cholerae*, *S. oranienburg*, *S. dublin* and *S. anatum*; *S. flexneri*, *S. sonnei*, enteropatojenik *E.coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. Saprophyticus*



SES-bacteriophage : *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. Saprophyticus*, *S. pyogenes*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. agalactiae*, *E.coli*

Septaphage : *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *E.coli*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*



Bulgular

- Erciyes Üniversitesi Hastaneleri yatan hastaların rektal sürüntü kültürlerinden izole edilen 36 VRE suşu dahil edilmiştir
- Tüm VRE suşlarınının 19'u (**%52.8**) tablet formdaki faj kokteyline karşı duyarlı bulunmuştur
- Diğer 17 suş için yapılan spot test sonuçlarına göre her iki faj preparatına karşı dirençli olup plak üzerinde her hangi bir lizis oluşumu gözlenmemiştir

Bulgular

- Erciyes Üniversitesi Hastaneleri yatan hastaların idrar kültürlerinden izole edilen toplam 47 GSBL-EC suşu dahil edilmiştir
 - Çalışmaya dahil edilen 4 farklı faj kokteyllinin en az biri çoklu dirençli *E. coli* izolatları üzerinde etkili olup, izolatların **%95.7' si (45/47)** üzerinde in vitro faj aktivitesi gözlemlenmiştir
 - En etkili faj preparatı Enko (%93.2) en az etkili olan ise SES (%61.5) olarak kayıt edilmiştir.

47 GSBL-EC izolat için antimikrobiyal direnç oranları. *orta duyarlı

	<u>SAM</u>	<u>CIP</u>	<u>GEN</u>	<u>STX</u>	<u>AMC</u>	<u>TZP</u>	<u>AN*</u>	<u>FEP</u>	<u>IMI</u>	<u>ERT</u>
İdrar kültürü izolatları	%82	%73.3	%42.3	%74.5	%51.2	%30	%5	%100	%2.2	%2.2

SAM; Ampicillin/Sulbactam, CIP; Ciprofloksasin, GEN; Gentamicin, STX; Sulfamethoxazol, AMC; Amoxicillin-clavolonat, TZP; Piperraciliin/Tazobactam, AN; Amicasin, FEP; Cefepime, IMI; İmipenem, ERT;Ertapenem

Sonuçlar

• VRE

- Çalışma sonuçlarına göre faj kokteylerinden birinin (Septaphage)VRE' ye karşı %53 oranında *in vitro* aktivite gösterdiği bulunmuştur
- Söz konusu fajların Gürcistan'da yaygın olarak bulunan patojenlere karşı izole edildiği göz önüne alındığında, Türkiye'deki bir hastane içerisinde dolaşan ve kısıtlı bir alanda evrimleşen VRE suşlarında **yaklaşık %53 oranında etkili olması** oldukça iyi bir sonuçtur.
- Fajların VRE' ye karşı *in vitro* duyarlılıklarının ortaya konulması ve VRE patojenlerine karşı uygun fajların ülkemizde izolasyonu ile ileride başlanabilecek gastrointestinal sistem dekolonizasyon uygulaması açısından bu sonuç ilk basamak olarak kabul edilmelidir

Sonuçlar

• GSBL *E.coli*

- Çalışma sonuçlarına göre faj kokteylleri GSBL-EC üzerinde yaklaşık %93 oranında *in vitro* etkili olduğu gözlenmiştir
- Çoklu antibiyotik direnci gösteren patojenlerin sebep olduğu enfeksiyonlar ile mücadelede fajların kullanımı gündeme geldiğinde bu yüksek duyarlılık oranı oldukça umut vericidir.
- GSBL-EC kaynaklı özellikle kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonu tedavisinde İV antibiyotik uygulanmaktadır
- Antibiyotik tedavisinin yetersiz kaldığı ya da hastane yatışı gerektiği vakalarda *in vitro* aktivitesi test edilmiş faj preparatlarının alternatif ya da tamamlayıcı kullanımının uygun olabileceği düşünülmelidir

Özet

Faj terapi

- ❑ Oldukça spesifik ve hedef patojen üzerinde oldukça etkili
- ❑ Antibiyotik dirençli patojenlerle mücadelede alternatif
- ❑ Şimdiye kadar rapor edilmiş hiçbir yan etkisi yoktur
- ❑ Çevreden izole edilebilmesi





Teşekkürler.....