

BİYOFİLM OLUŞUMUNDA TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Uzm. Dr. Sezen Özkök

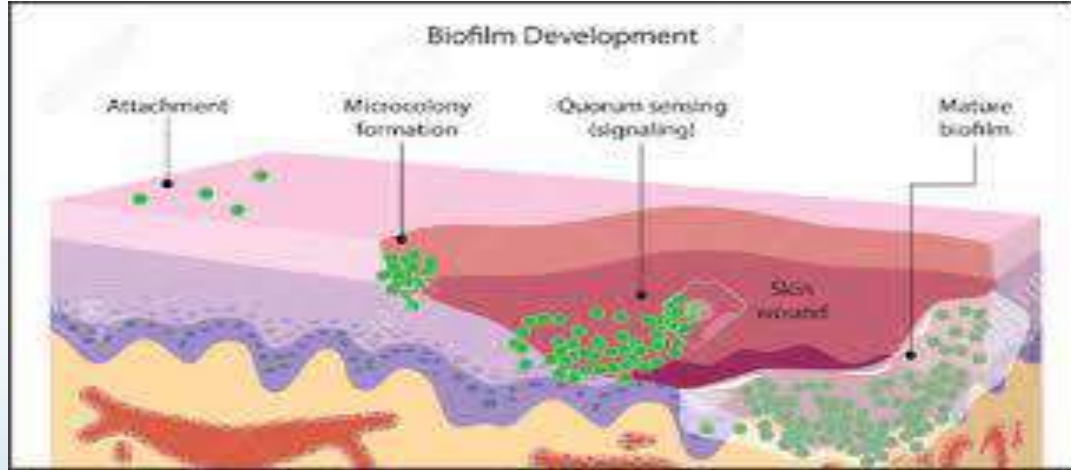
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

Acıbadem Maslak Hastanesi

7 kasım 2017

Biyofilm tanımı

- ◆ Herhangi bir yüzeye tutunan, farklı fenotip gösterebilen, ekstrasellüler polimerik matriks içerisinde bulunan mikrobiyal yapı kümeleridir



Biyofilm oluşumu

Konak Proteinleri

(fibrinojen + kollajen+ fibrinektin+ laminin)



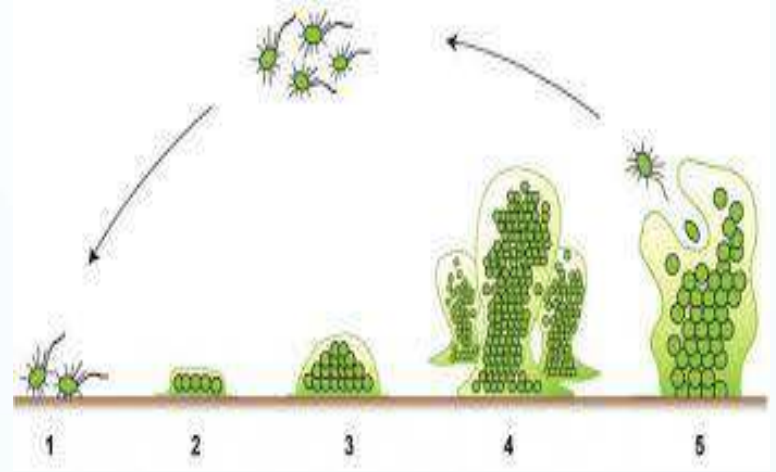
Kateter yzeyine adsorbe olur



Bakterilerin tutunabilmelerini kolaylaştırır

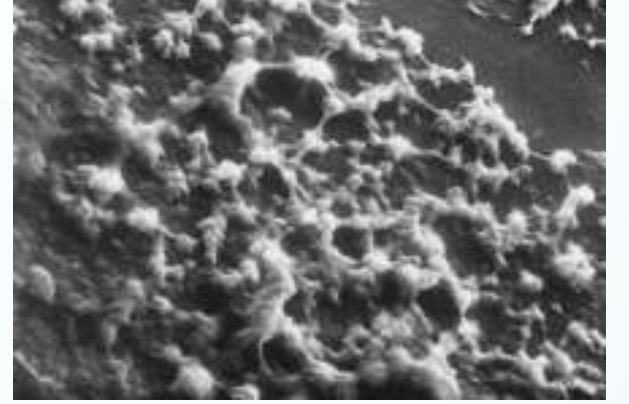


BİYOFİLM
mukopolisakkarit



Biyofilm enfeksiyonları

- ◆ Kronik enfeksiyonlarda biyofilm oluşumu akut enfeksiyonlara oranla 10 kat daha fazladır
- ◆ Olgunlaşmış biyofilm içindeki bakterileri inhibe etmek için 100 – 1000 kat daha yüksek antibiyotik konsantrasyonu gerekir

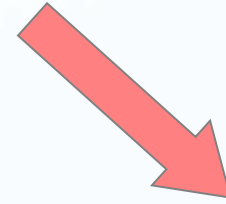


Biyofilm oluşumu

Tekrarlayan bakteriyemi



Yabancı cisim/implant infeksiyonları



Ölü doku



Biyofilm oluşumu

Yabancı cisim/implant enfeksiyonları

Kateter (trakeal, damar, üriner, şant) enfeksiyonları

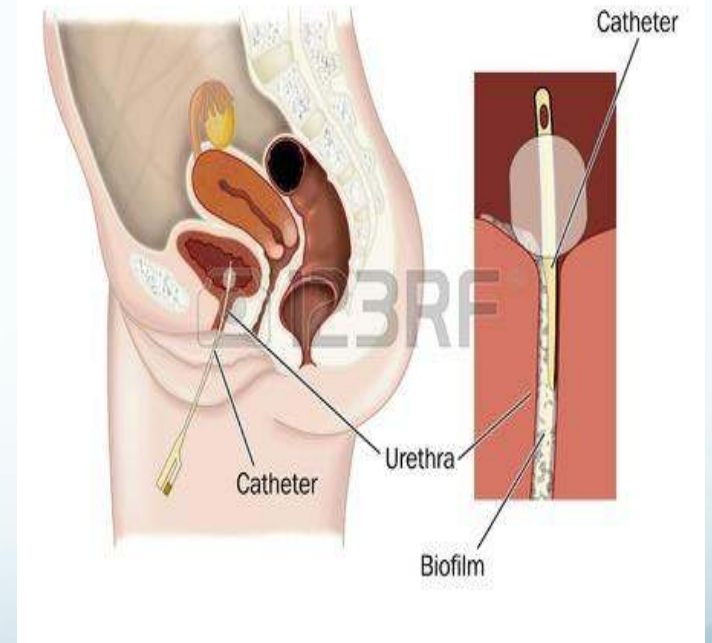
Eklem ve kalp protez enfeksiyonları

Stent enfeksiyonları

Penil protez enfeksiyonu

Kontak lens enfeksiyonları

Böbrek taşları



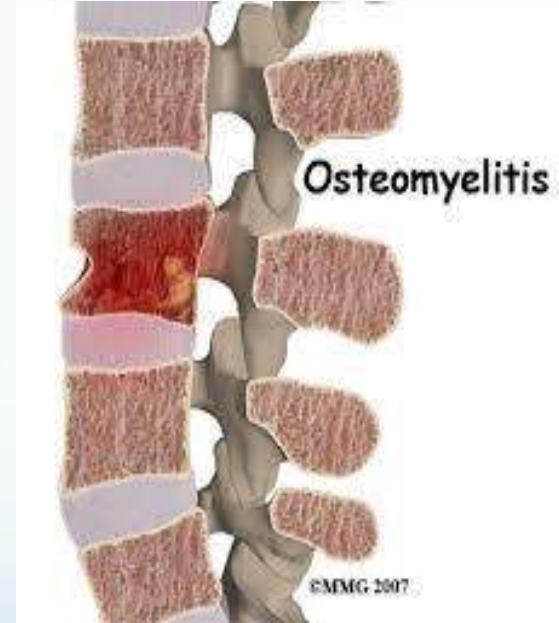
Biyofilm oluşumu

Ölü doku

Cerrahi alan enf. (Hematom)

Osteomyelit

Septik tromboemboli



Biyofilm oluşturma eğilimi yüksek olan bakteriler

Gram pozitif patojenler

S.epidermidis

S.aureus

Fungal patojenler

Candida sp

C.albicans : Kateterler

C. parapsilosis : Yeni doğan santral kateterleri

Gram negatif patojenler

Pseudomonas aeruginosa

E.coli

Klebsiella pneumoniae

Enterobacter

Flavobacterium

Alcaligenes



Stafilokok hücrelerinin endotrekeal tüpe adezyonu

Bu mikroorganizmalar tüm yüzey tipleri üzerinde biyofilm oluşturabilir ve biyofilm içinde yaşayabilir

Biyofimlerden en sık izole edilen bakteriler

TABLE 2.10
Organisms Commonly Forming Biofilms Arranged by IMD

Device	Principal Organism^a	Other Organisms^a
Urinary bladder catheter	<i>E. coli</i>	<i>Candida</i> spp. CoNS <i>E. faecalis</i> <i>P. mirabilis</i> <i>K. pneumoniae</i> Other gram-negative species
Endotracheal tube	Enteric Gram-negative species	<i>Candida</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> <i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i> and <i>Streptococcus</i> spp. Diphtheroids
Central venous catheter or Swan-Ganz catheter	CoNS	<i>S. aureus</i> Enterococci <i>K. pneumoniae</i> <i>Candida</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> <i>E. faecalis</i> Microorganisms selected for by local antibiotic prescribing practices
Orthopedic prostheses	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>S. pneumoniae</i> Other streptococcal species
Mechanical heart valves	CoNS in association with contamination at the time of surgery	<i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. Gram-negative bacilli Enterococci Diphtheroids
Peritoneal dialysis catheters	<i>S. aureus</i>	<i>Candida</i> spp. <i>P. aeruginosa</i> Other gram-negative species
Vascular grafts	CoNS	<i>Candida</i> spp. <i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> Flora indigenous to the graft site (e.g., Gram-negative bacilli in AAA grafts developing a fistula to the gut)

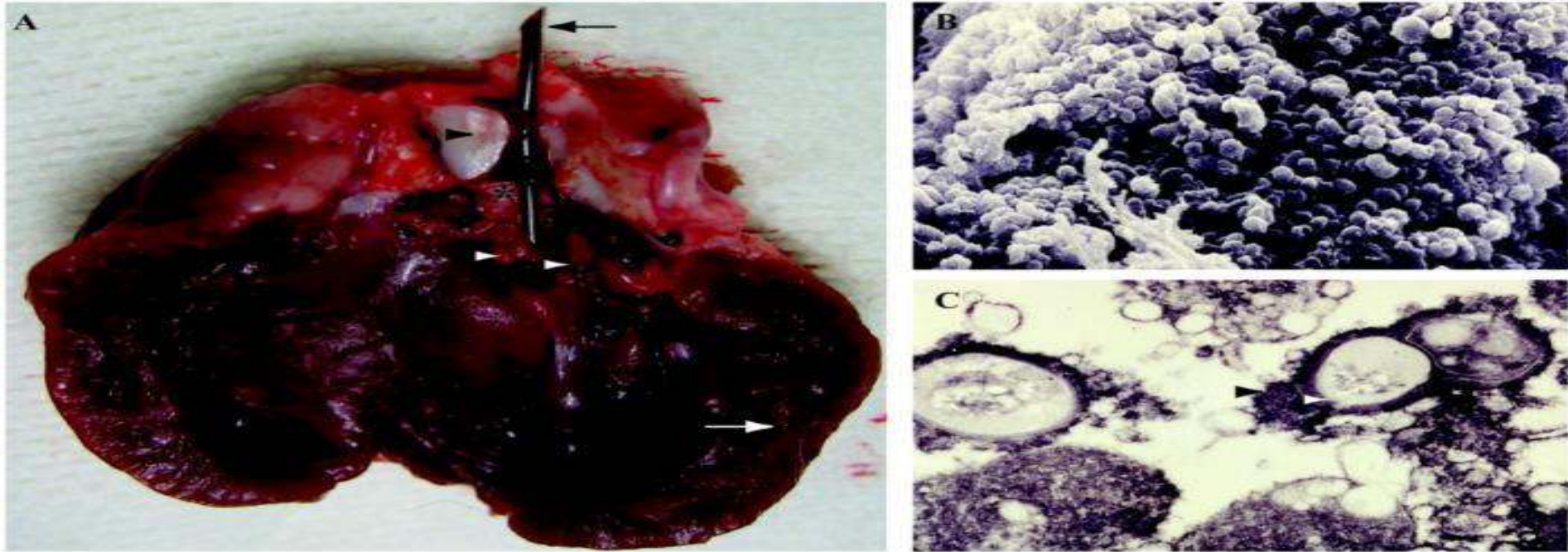
^a CoNS, coagulase-negative staphylococci; AAA, abdominal aorta aneurysm. Courtesy of Jason A. Bennett, West Virginia University.

Biyofilmlerden en sık izole edilen bakteriler

Microorganisms commonly associated with biofilms on indwelling medical devices

Microorganism	Has been isolated from biofilms on
<i>Candida albicans</i>	Artificial voice prosthesis Central venous catheter Intrauterine device
Coagulase-negative staphylococci	Artificial hip prosthesis Artificial voice prosthesis Central venous catheter Intrauterine device Prosthetic heart valve Urinary catheter
<i>Enterococcus spp.</i>	Artificial hip prosthesis Central venous catheter Intrauterine device Prosthetic heart valve Urinary catheter
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Central venous catheter Urinary catheter
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Artificial hip prosthesis Central venous catheter Urinary catheter
<i>Staphylococcus aureus</i>	Artificial hip prosthesis Central venous catheter Intrauterine device Prosthetic heart valve

Biyofilm oluşumunun elektron mikroskopisinde görünümü



Native valve endocarditis in rabbit model. A. Post-mortem examination of a rabbit heart. Aortic endocarditis is induced in female New Zealand White rabbits by insertion of a polyethylene catheter (black arrow) through the right carotid artery into the left ventricle. Twenty-four hours after catheter insertion, pathogenic bacteria were inoculated through ear vein in each rabbit. The catheter is left in place throughout the experiment. Animals are killed 8 h after the last antibiotic injection and the vegetations (white arrowheads) from each rabbit are excised, rinsed in saline, pooled, and weighed. White arrow: left ventricle wall; black arrowhead: aorta; black star: aortic valve. B. Scanning electron microscopy of vegetation after 11 days of infection. Biofilm formed by *Streptococcus* spp. at the surface of native aortic valve. C. Transmission electron microscopy of bacteria from vegetation after 11 days of infection. Ruthenium red staining reveals the presence of an extracellular matrix (black arrowhead) surrounding *Streptococcus* spp. (white arrowhead) causing native aortic endocarditis. Images credit: A.-C. Crémieux (EA3647, Université Versailles Saint-Quentin), V. Dubée and B. Fantin (EA3964, Université Paris Diderot, Faculté de Médecine, Paris, France). Adapted from [167,168]. From in vitro to in vivo Models of Bacterial Biofilm-Related Infection

Biyofilm tanı yöntemleri

- ◆ Kateter ucu Gram boyama (Cooper) akridin orange boyama
- ◆ Doku biyopsisi
- ◆ Scanning E/M
- ◆ Tüp yöntem
- ◆ Kongo kırmızısı agar yöntemi
- ◆ Bioluminesans inceleme
- ◆ Reflecting spectroscopy

Biyofilmler ile antibiyotik ilişkisi

Biyofilm içine dşuk penetrasyon

- ◆Hücre dışı matrix bariyer görevi yapar vankomisin ve teikoplanin geçisini engeller

Bakterilerin çoğalma oranlarında değişiklikler

- ◆Biyofilm üreten bakterilerin çoğalma hızı serbest yaşayan formlara göre çok daha yavaş,
- ◆Biyofilm içindeki osmotik evre değişikleri osmotik strese yol açar
- ◆Bakterideki porin yapısında veya miktarında değişiklikler beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişini kısıtlayabilir

Biyofilmler ile antibiyotik ilişkisi

Mikro evre değişiklikleri

- ◆Biyofilm içerisindeki heterojen yapı antimikrobiyal ajanların öncelikli olarak metabolik olarak aktif hücreleri hedef almaları nedeniyle antibiyotik duyarlılığında farklılıklara yol açar
- ◆Aminoglikozid, tetrasiklin ve makrolidlerin antibakteriyel etkisini olumsuz etkiler
- ◆Oksijenin biyofilmin yüzey katmanlarında tüketilmesi ve dip kısımlarda anaerob ortamın oluşması özellikle aminoglikozidlerin etkinliğini azaltır ve direnç, gelişebilir
- ◆pH ve osmotik değişiklikler ilaç, etkinliğini değişirmekte

Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılığı azalmıştır

- ◆ Enfeksiyon enflamasyona yol açar
- ◆ Oksijen ihtiyaı karşılanamazsa glikoliz aktive olur ve asidoz oluşur

Duşuk pH değeri

β -laktam antibiyotiklerin etkisini



Rifampisin etkisini artırır



Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılığı azalmıştır

◆ Metisilin dirençli stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde Vankomisin önerilen ilaç olsa da, kateter ilişkili infeksiyonlarda iyi bir tercih değildir

Tercih edilecek antibiyotikler

Daptomisin

Fuzidik asit

Linezolid

Tigesiklin

Rifampisinli kombinasyonlar



Biyofilm enfeksiyonları

Rifampisin

- ◆Biyofilmde etkinliği çok yüksektir
- ◆Monoterapi: Hızla direnç gelişir
- ◆Siprofloksasin + rifampisin > siprofloksasin

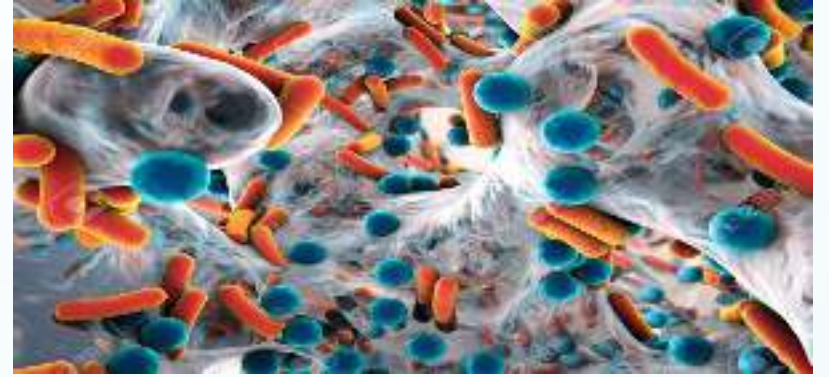
Yapılan çalışmalarda kombine antibiyotik tedavisi ile iyileşme oranının daha iyi

Tek antibiyotik %68

Siprofloksasin kombinasyon %79

Biyofilm penetrasyonu iyi olan ilaçlar

- ◆ Makrolid
- ◆ Linkozamid
- ◆ Tetrasiklin
- ◆ Rifampisin
- ◆ Kinolon
- ◆ Fusidik asid
- ◆ Nitroimidazol
- ◆ Sulfonamid
- ◆ Oksazolidinon



Doku ve hücre penetrasyonu beta-laktam antibiyotiklerden (penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler), aminoglikozit, glikopeptit, ve polimiksin'den iyidir.

IDSA 2009 intravasküler kateter ilişkili infeksiyon rehberi

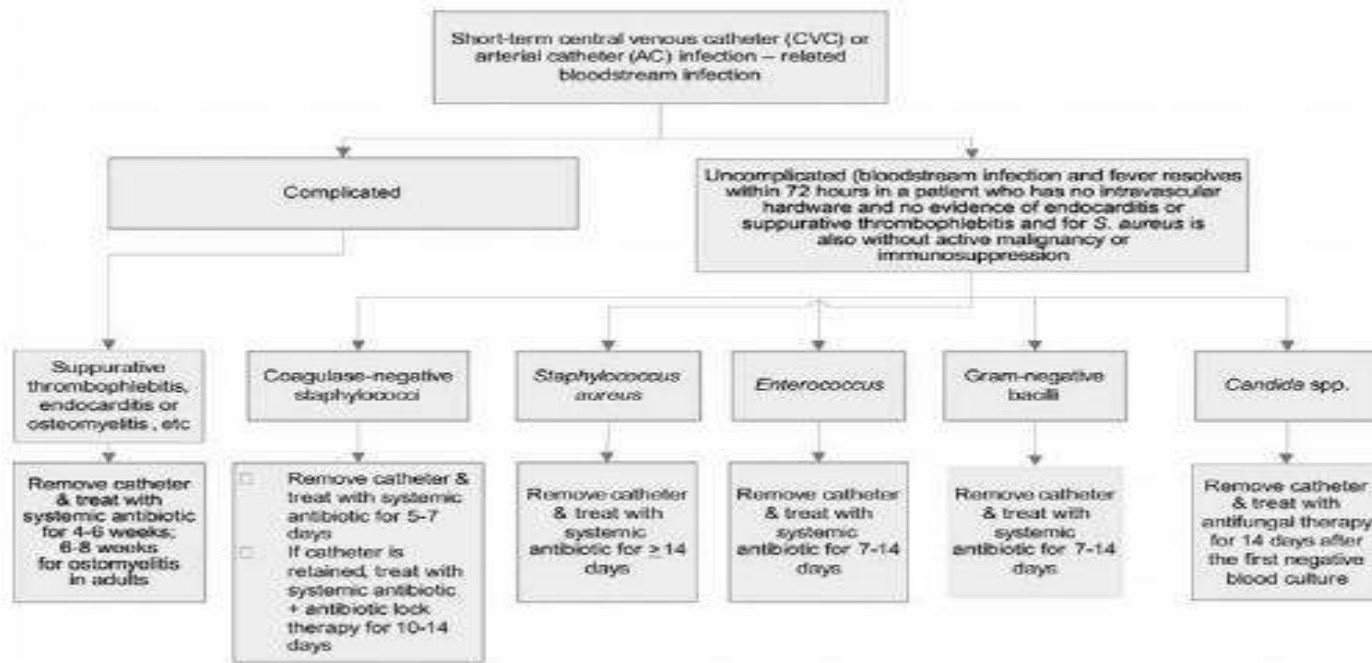


Figure 2. Approach to the management of patients with short-term central venous catheter-related or arterial catheter-related bloodstream infection. CFU, colony-forming units; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*.

IDSA 2009 intravasküler kateter ilişkili infeksiyon rehberi

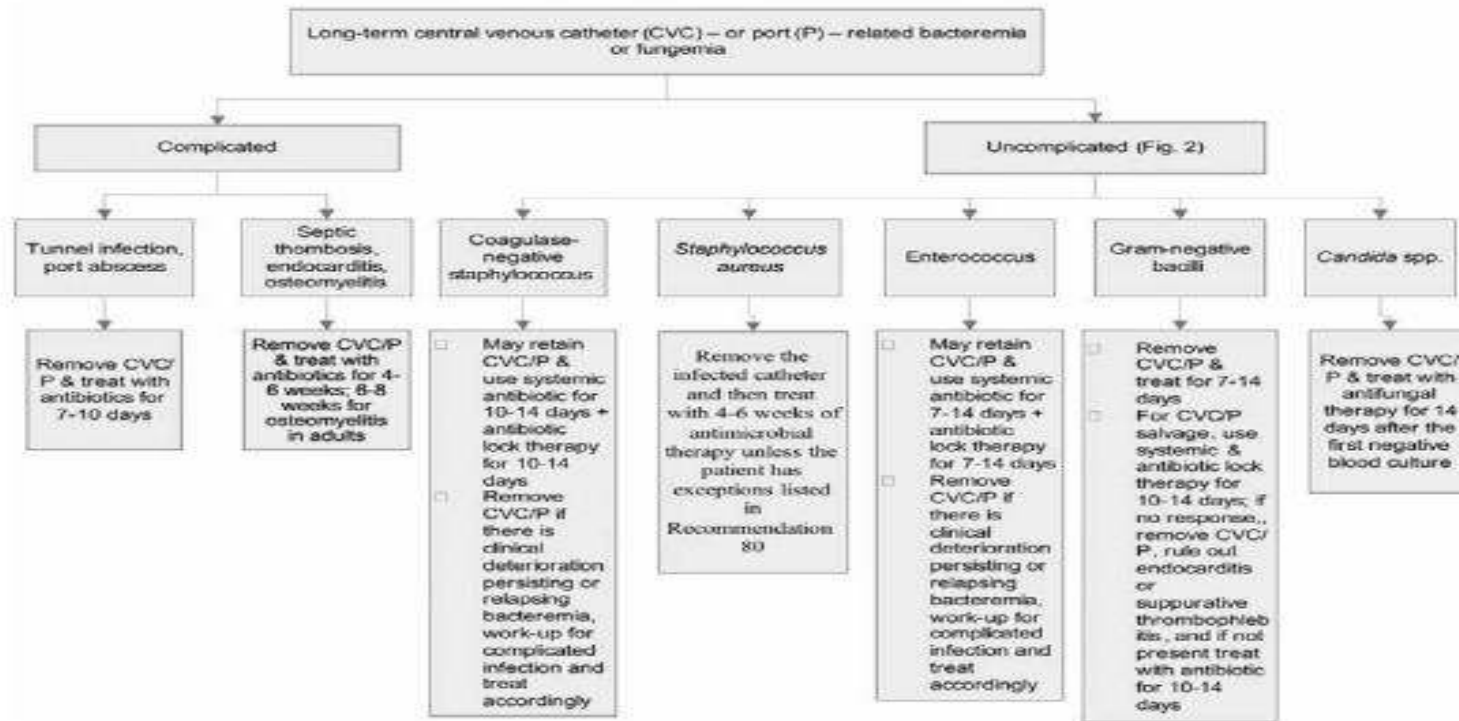


Figure 3. Approach to the treatment of a patient with a long-term central venous catheter (CVC) or a port (P)-related bloodstream infection.

Antibiyotik kilit tedavisi

- ◆ Kateterlerin intraluminal kolonizasyonu, biyofilm oluşumu ile ilişkilidir
- ◆ Biyofilm içindeki bakteriyi eradike edebilmek için MIK'in 10-1000 katı konsantrasyonda hazırlanmış antibiyotik solüsyonu kullanılmalıdır
- ◆ Uygulama sıklığı, solüsyon dayanıklılığı ve kateterin kullanım dışı kalabileceği süreye bağlı olarak değişir
- ◆ Uygulamanın 48 saati geçmemesi önerilir
- ◆ 12-24 saatte birde ilaç değişimin yapılması önerilir
- ◆ Kateter lümenini, kullanımda değilken dolduracak uygun miktarda verilmelidir
- ◆ Sıklıkla antikoagulan ile kombine edilir (Heparin)

Antikoagulanlar, fibrin oluşumunu engeller ve antibiyotik penetrasyonu artır

Antibiyotik Kilit Tedavisi

Table 9. Final concentrations of antibiotic lock solutions used for the treatment of catheter-related bloodstream infection.

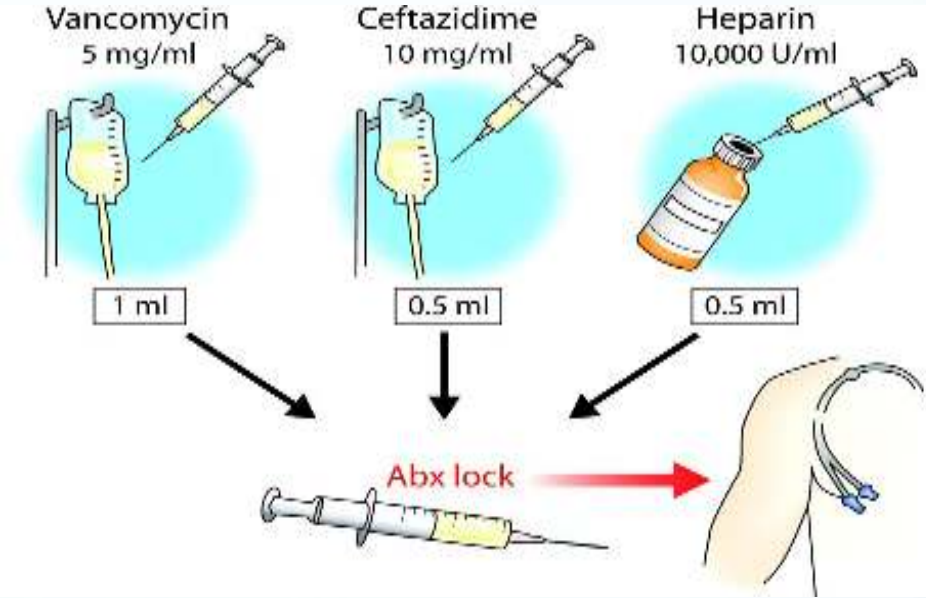
Antibiotic and dosage	Heparin or saline, IU/mL	Reference(s)
Vancomycin, 2.5 mg/mL	2500 or 5000	[100, 275]
Vancomycin, 2.0 mg/mL	10	[275]
Vancomycin, 5.0 mg/mL ^a	0 or 5000	[276, 277]
Ceftazidime, 0.5 mg/mL	100	[123]
Cefazolin, 5.0 mg/mL	2500 or 5000	[100, 277]
Ciprofloxacin, 0.2 mg/mL ^b	5000	[130]
Gentamicin, 1.0 mg/mL	2500	[100]
Ampicillin, 10.0 mg/mL	10 or 5000	[275]
Ethanol, 70% ^c	0	[131]

Antibiyotik kilit tedavisi

◆ Heparin

◆ N-asetilsistein (NAC) ile tigesiklin kombinasyonunun sinerjik aktivite

◆ Sitrat, EDTA (Gentamisin kombinasyonu heparinden daha etkili ama temini zor maliyet yüksek) gibi iyon şelatörleri biyofilm parçalamada ve antimikrobiyallerle sinerji açısından heparine alternatif olarak çalışılmış



Antibiyotik kilit tedavisi

Vankomisin

- ◆ Özellikle KoNS'lara bağlı gelişen KİKDE'da etkilidir
- ◆ Heparinle birlikte kullanılır
- ◆ Sistemik tedavi ile birlikte kullanılmalıdır. Vankomisin konsantrasyonu mikroorganizmanın MIC değerinden en az 1000 kat daha yüksek olmalı

Daptomisin

- ◆ Gram pozitif biyofilm oluşturan bakterilerin çoğalmasını güçlü şekilde baskılar
- ◆ Ringer solüsyonu eklenmesi tedavi sonrası da etkinliğinin uzamasını sağlar
- ◆ Vankomisine üstün
- ◆ Rifampinle sinerjik etki gösterir
- ◆ Invivo çalışması az süre ve verilme şekli belirsiz

Antibiyotik kilit tedavisi

Taurolidin

- ◆Biyofilm oluşumunu azaltan potansiyel kapasite
- ◆Antibiyotikli kilit solusyonlarına göre istenmeyen yan etki ihtimali daha az

Linezolid

- ◆Linezolid ve vankomisin bir tavşan modelinde MRSA ve MSSA için benzer etkili
- ◆S.epidermidis biyofilmleri için linezolid ve NAC'in sinerjik etkili olduğu gösterilmiş

Antibiyotik kilit tedavisi



Tigesiklin

- ◆ Vankomisine üstün ancak daptomisine üstün değil
- ◆ Vankomisin ve daptomisine göre bazı Gr (-) bakterilere etkinliği nedeniyle daha geniş etki spektrumu var
- ◆ Daptomisine benzer şekilde rifampisinle sinerjik etkili

Etanol:

- ◆ Uygun çalışma az sayıda olmasına rağmen antibiyotik kilit tedavisinde kullanıldığında bakteriyel çoğalmayı engeller.
- ◆ En az daptomisin kadar etkili ancak yan etkilere dikkat edilmeli. (Kateter bütünlüğü!)

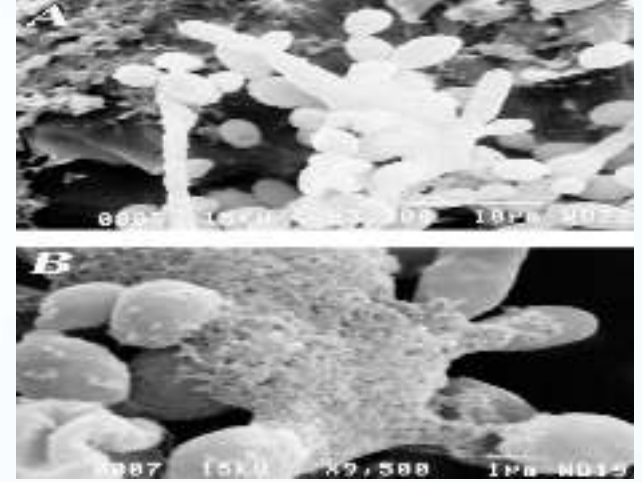
Antibiyotik kilit tedavisi

Aminoglikozitler

- ◆ S.aureus ve KoNS İçin etkin olabilir
- ◆ Biyofilm oluşturan koloniler için etkisi tartışmalı
- ◆ Amikasin komplike olmayan Gr (-) basillere bağlı KİKDE’da umut verici
- ◆ Gentamisin AKT ‘de kullanıldığında toksik sistemik konsantrasyonlara ulaşabilir

Antifungaller

- ◆ Biyofilm oluşturan Candida türlerine azollerin etkinliği zayıf
- ◆ Lipid içerikli amfoterisin B ve ekinokandinlerin başarı oranı daha yüksek
- ◆ Fungal kateter enfeksiyonlarında kateter çekilmesi önerilmekte



Kilit tedavisinde antibiyotiklerin kombine kullanımı

Rifampin 2mg/mL aşağıdaki antibiyotikler ile maximum 4 saat kombinleyebiliriz

◆ Vankomisin 2mg/mL

◆ Linezolid 2mg/mL

◆ Tigesiklin 2mg/mL

◆ Minosiklin 2mg/mL

◆ Daptomisin 2mg/mL

Daptomisin'in etkisini gösterebilmesi için 50mg/L kalsiyum ihtiyacı vardır

Antibiotik kilit tedavisinin istenmeyen etkileri

- ◆ Fungal süperenfeksiyonlar
- ◆ Antibiyotik veya antikoagulanların sistemik toksisitesi
- ◆ Direnç gelişimi

Kilit tedavisinin işe yaramadığı durumlar:

- ◆ AKT başlanması sonrası 48-72 saat sonrasında devam eden ateş
- ◆ 72 saatten sonra halen persistan bakteriyemi
- ◆ Sepsis
- ◆ Hemodinamik instabilite

Biyofilm enfeksiyonlarını önleme ve tedavi stratejileri

- ◆Mümkünse enfeksiyon kaynağını uzaklaştır
(S.aureus , pseudomonas, candida, ÇİD Bakteriler)
- ◆Kombine antibiyotik monoterapiden daha faydalı
- ◆Topikal antibiyotik (kilit tedavisi)+sistemik antibiyotik
- ◆Bakteriyofaj tedavileri
- ◆Probiyotikler

Biyofilm enfeksiyonlarını önleme ve tedavi stratejileri

- ◆ Antimikrobiyal peptidler
- ◆ Selektif debridman özelliği olan larvaların antimikrobiyallerle kombine kullanımını çalışmalarını
- ◆ Hiperbarik oksijen tedavisi
- ◆ QS (Quorum sensing) inhibitörleri ile kombine kullanımını çalışmalarını

Strategies for combating bacterial biofilm infections Hong Wu,ET AL. Int J Oral Sci.2014

Mermel LA, et al. CID 2009; 49:1–45



Tesekkürler.....