



# Haemophilus influenzae Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Profillerinin ve Beta-Laktamaz Aktivitesinin Araştırılması

Hazal Gür   
Gülşen Hazırolan 

## Investigation of Antibiotic Susceptibility Profiles and Beta-Lactamase Activity of Haemophilus influenzae Isolates

### Öz

*Haemophilus influenzae* solunum yolu enfeksiyonlarına ve invaziv enfeksiyonlara neden olabilen önemli Gram negatif bakteriyel patojenlerden biridir.

Çalışmamızda Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2018-Ağustos 2019 tarihleri arasında invaziv/invaziv olmayan çeşitli klinik olgulardan izole edilen 480 *H.influenzae* suşunun antibiyotik duyarlılık profilleri ve β-laktamaz üretimi retrospektif olarak araştırılmıştır. Suşlar matris lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanmış ve *in vitro* antibiyotik duyarlılık testleri *Haemophilus Test besiyeri* ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018 dokümanı referans alınarak disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde amoksisilin-klavulanat, ampisilin, meropenem, piperasilin-tazobaktam, rifampin, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, tetrasiklin ve trimetoprim-sülfametoksazol test edilmiştir. İzolatların β-laktamaz üretimi nitrosefin diski kullanılarak araştırılmıştır.

Suşlar için test edilen antibiyotikler arasında en yüksek direnç oranları sırasıyla trimetoprim-sülfametoksazol (% 30,4) ve ampisilinde (% 16,2) tespit edilmiştir. Suşların % 7,9'u β-laktamaz negatif ampisilin dirençli (BLNAR), % 8,3'ü β-laktamaz pozitif ampisilin dirençli (BLPAR), % 1,9'u ise β-laktamaz pozitif amoksisilin/klavulanata dirençli (BLPACR) olarak saptanmıştır.

*H.influenzae* suşlarında antibiyotik direnç oranları merkezler arasında değişiklik göstermekte olup, bu suşlarda ampisilin direnç ve BLNAR oranları gittikçe artmaktadır. Çalışmamızda *H.influenzae* suşlarında yüksek oranda ampisiline dirençli ve BLNAR köken tespit edilmiştir. Sonuçlarımız *H.influenzae* enfeksiyonlarında hastalara uygulanacak uygun antibiyotik tedavisini yönlendirmesi açısından merkezlerin düzenli olarak epidemiyolojik verilerini takip etmesi gerekliliğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** ampisilin, beta-laktamaz, BLNAR, BLPAR, *H.influenzae*

### ABSTRACT

*Haemophilus influenzae* is one of the important Gram negative bacterial pathogens which can cause respiratory infections and invasive infections.

In this study, antibiotic susceptibility profiles and β-lactamase activity of 480 *H.influenzae* isolates isolated from different invasive/noninvasive clinical cases in the Central Microbiology Laboratory of Hacettepe University Medical Faculty Hospital between January 2018 and August 2019 were investigated retrospectively. Isolates were identified by using matrix-mediated laser desorption ionization flight time mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and antibiotic susceptibility tests were performed with disk diffusion method using *Haemophilus Test Medium*, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018 guidelines. Antibiotic susceptibility against amoxicillin-clavulanate, ampicillin, meropenem, piperacillin-tazobactam, rifampin, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacin, tetracycline and trimethoprim-sulfamethoxazole were tested. The β-lactamase production of isolates was investigated by using nitrocefim disk.

The highest resistance rates for isolates among tested antibiotics were detected respectively against trimethoprim-sulfamethoxazole (30,4 %) and ampicillin (16,2 %). In addition, it was found that of the isolates 7,9 % were β-lactamase negative ampicillin resistant (BLNAR) origin, 8,3 % were β-lactamase positive ampicillin resistant (BLPAR) origin, and 1,9 % were β-lactamase positive amoxicillin / clavulanate resistant (BLPACR).

Antibiotic resistance rates in *H.influenzae* isolates vary between centers and ampicillin resistance and BLNAR rates are progressively increasing. In our study, high rates of ampicillin resistance and BLNAR origin were detected in *H.influenzae* isolates. Our results suggest that centers should follow epidemiological data regularly in order to guide appropriate antibiotic treatment to be applied to patients in *H.influenzae* infections.

**Keywords:** ampicillin, beta-lactamase, BLNAR, BLPAR, *H.influenzae*

Geliş/Received: 30 Mart/March 2020

Kabul/Accepted: 04 Mayıs/May 2020

Basım/Published: 30 Nisan/April 2020

**Atf/Cite as:** Gür H, Hazırolan G. *Haemophilus influenzae* suşlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin ve beta-laktamaz aktivitesinin araştırılması. ANKEM Derg. 2020;34(1):18-24.

**Hazal Gür**

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Morfoloji Binası 3. Kat  
Ankara - Türkiye

✉ hazalgurr@gmail.com

ORCID: 0000-0003-0064-9021

**G. Hazırolan** 0000-0003-4546-9729

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Morfoloji Binası 3. Kat  
Ankara - Türkiye

## GİRİŞ

*Haemophilus influenzae* sağlıklı bireylerin nazofarinks ve orofarinkslerinde, nadir olarak da burun, konjonktiva ve genital sistemde kolonize olabilen Gram negatif bir bakteridir<sup>(4,17,21)</sup>. Ayrıca, kronik solunum yolu enfeksiyonlarından menenjit, bakteriyemi gibi invaziv enfeksiyonlara kadar farklı enfeksiyonlara neden olabilen bir patojendir<sup>(21)</sup>.

Günümüzde *H.influenzae*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda ve bu enfeksiyonların tedavisinde başlıca kullanılan antibiyotik olan ampisiline dirençte artışlar olduğu bildirilmiştir<sup>(4)</sup>.  $\beta$ -laktam antibiyotikler *H.influenzae* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilk seçenek antibiyotiklerdir ve *H.influenzae*  $\beta$ -laktam antibiyotiklere  $\beta$ -laktamaz üreterek, penisilin bağlayan proteinlerinde (PBP) değişiklikler yaparak direnç geliştirebilmektedir<sup>(3,6,29)</sup>. *H.influenzae* suşlarının ampisilin duyarlılık profili ve direnç oranları değişkendir. Zaman içinde ampisiline dirençli suşlarda  $\beta$ -laktamaz üreten (BLPAR) ve  $\beta$ -laktamaz üretmeyen (BLNAR) kökenler ortaya çıkmıştır<sup>(29)</sup>. Bu suşların özelliklerinin farklı olması nedeniyle *H.influenzae*'da ampisilin duyarlılığının yanı sıra BLPAR ve BLNAR köken oranlarının da takip edilmesi önemlidir<sup>(29)</sup>.

Çalışmamızın amacı, merkezimizde izole edilen *H.influenzae* suşlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi,  $\beta$ -laktamaz üretimlerinin araştırılması ve ampirik tedavi seçimine katkıda bulunulmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2018-Ağustos 2019 tarihleri arasında gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *H.influenzae* suşları retrospektif olarak dahil edilmiştir. Her hastadan tek izolat çalışmaya alınmıştır. Bu suşların antibiyotik duyarlılık profilleri ve  $\beta$ -laktamaz üretimi

değerlendirilmiştir.

İzolatlar stok besiyerlerinden alınarak çikolata agarda 37°C'de CO<sub>2</sub>'li etüvde üretilmiştir. Tanımlama Gram boyama sonrasında matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi ([MALDI-TOF MS, (Bruker Daltonics, Almanya)] ile gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018 rehberine göre yapılmıştır<sup>(7)</sup>. Amoksisilin-klavulanat, ampisilin, meropenem, piperasilin-tazobaktam, rifampin, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, siprofloksasin, tetrasiklin ve trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMX) duyarlılıkları *Haemophilus* Test besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Ampisilin direnci tespit ettiğimiz suşlarımızın  $\beta$ -laktamaz aktivitesi ise kromojenik nitrosetin diski (Becton Dickinson and Company, Sparks, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda antibiyotik duyarlılık testlerinde ve identifikasyonda kalite kontrol suşu olarak *H.influenzae* ATCC 49766 kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışma süresince 480 *H.influenzae* suşu izole edilmiştir. *H.influenzae* izole edilen örneklerin sayıları ve kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. *H.influenzae* suşlarının erişkin ve pediatri kliniklerinde en fazla balgam örneklerinden izole edildiği tespit edilmiştir.

**Tablo 1. *H.influenzae* izole edilen örnek sayıları ve kliniklere göre dağılımı.**

Örnek	Çocuk (n)	Erişkin (n)	Toplam n (%)
Bronkoalveoler lavaj	29	12	41 (8,5)
Balgam	188	208	396 (82,5)
Derin trakeal aspirat	0	24	24 (5,0)
Püy	4	4	8 (1,7)
Kan	2	6	8 (1,7)
Peritoneal sıvı	0	1	1 (0,2)
Vajen sürüntüsü	1	0	1 (0,2)
Konjonktiva	0	1	1 (0,2)

**Tablo 2. H. influenzae suşlarının antibiyotik direnç oranları.**

Test edilen antibiyotikler	Direnç oranları % (dirençli suş sayısı/ test edilen suş sayısı)
Amoksisilin-klavulanat	4,8 (23/480)
Ampisilin	16,2 (78/480)
Meropenem	0 (0/480)
Piperasilin-tazobaktam	0 (0/480)
Rifampin	0,2 (1/480)
Sefotaksim	0 (0/480)
Seftazidim	0 (0/480)
Seftriakson	0 (0/480)
Sefuroksim	3,7 (18/480)
Siprofloksasin	1,0 (5/480)
Tetrasiklin	6,2 (30/480)
Trimetoprim-sülfametoksazol	30,4 (146/480)

Suşların antibiyotik direnç oranları Tablo 2’de özetlenmiştir. Suşlarımızda en yüksek direnç oranları TMP-SMX (% 30,4) ve ampisiline (% 16,2) karşı saptanmıştır. Meropenem, piperasilin-tazobaktam, sefotaksim, seftazidim ve seftriaksona direnç saptanmamıştır.

$\beta$ -laktamaz üretimi sadece ampisiline direnç saptanan 78 *H.influenzae* suşunda araştırılmış, 40 suş BLPAR ve 38 suş BLNAR olarak tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 480 *H.influenzae* suşunda BLNAR ve BLPAR oranları sırası ile % 7,9 ve % 8,3 olarak tespit edilmiştir. Ek olarak BLPAR suşların (n=40) dokuz tanesinde  $\beta$ -laktamaz pozitif amoksisilin/klavulanat dirençli (BLPACR) köken tespit edilmiştir. BLPACR kökeni çalışmaya dahil edilen 480 suşta % 1,9 oranında saptanmıştır. BLNAR ve BLPAR

köken izolatların antibiyotik duyarlılık profilleri Tablo 3’te sunulmuştur.

## TARTIŞMA

*H.influenzae*, dünya çapında önemli morbidite ve mortaliteye neden olan toplum kökenli bir patojendir<sup>(26)</sup>. *H.influenzae* suşlarında tedavide primer olarak tercih edilen başta ampisilin ve amoksisilin-klavulanat olmak üzere beta laktam antibiyotiklere direnç yaygınlaşmaktadır<sup>(26)</sup>. Tedavide primer olarak tercih edilen beta laktam antibiyotiklere direncin yüksek prevalansı, dünya çapında bu patojenin neden olduğu enfeksiyonların ampirik tedavisi için uygun bir antimikrobiyal ajanın seçilmesinin önemini göstermektedir.

*H.influenzae*’da dışa atım pompalarının sağladığı doğal direnç, makrolidlerin, azalidlerin ve ketolidlerin aktivitesini sınırlamaktadır<sup>(26)</sup>.  $\beta$ -laktamaz üretimi ise dünya çapında oldukça yaygındır ve ampisilin/amoksisiline direnç ile ilişkilidir<sup>(26)</sup>. *H.influenzae*’da penisilin bağlayıcı proteinlerde, özellikle PBP3’te değişiklik, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulanat ve birçok sefalosporine karşı artan direnç ile sonuçlanmaktadır<sup>(26)</sup>.

Çalışmamızda *H.influenzae* suşlarında en yüksek direnç oranı TMP-SMX’e karşı (% 30,4) saptanmıştır. Türkiye’de yapılmış çalışmalarda *H.influenzae* suşlarının TMP-SMX direnç oranı % 14,2-49,2, yurtdışında yapılmış çalışmalarda ise

**Tablo 3. Ampisilin dirençli izolatların antibiyotik duyarlılık profilleri ve BLNAR ve BLPAR kökenlere göre değişimi (n).**

	AMC	MEM	TZP	RIF	CTX	CAZ	CRO	CXM	CIP	TE	TMP-SMX
	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R	S I R
BLPAR	31 0 9	40 0 0	40 0 0	39 1 0	40 0 0	40 0 0	40 0 0	35 4 1	40 0 0	25 9 6	27 1 12
BLNAR	24 0 14	38 0 0	38 0 0	37 1 0	38 0 0	38 0 0	38 0 0	24 6 8	38 0 0	22 10 6	19 4 15
Toplam	55 0 23	78 0 0	78 0 0	76 2 0	78 0 0	78 0 0	78 0 0	59 10 9	78 0 0	47 19 12	46 5 27

BLPAR:  $\beta$ -laktamaz pozitif ampisilin dirençli, BLNAR:  $\beta$ -laktamaz negatif ampisilin dirençli, S: duyarlı, I: artmış dozda duyarlı, R: dirençli, AMC: Amoksisilin-klavulanat, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin-Tazobaktam, RIF: Rifampin, CTX: Sefotaksim, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, CXM: Sefuroksim, CIP: Siprofloksasin, TE: Tetrasiklin, TMP-SMX: Trimetoprim-Sülfametoksazol.

% 16,0-71,1 oranlarında rapor edilmiştir<sup>(1,4,9,12,13,19,22,25)</sup>. Çalışmamızda *H.influenzae* suşlarında tespit edilen yüksek TMP-SMX direnç oranı ile uyumlu olarak TMP-SMX direnç oranını Özkul ve ark.<sup>(19)</sup> % 31,8, Ünal ve ark.<sup>(18)</sup> % 29,1, Torun ve ark.<sup>(24)</sup> % 28,8 olarak saptamışlardır. Yurtdışında yapılmış çalışmalarda TMP-SMX direncini Wang ve ark.<sup>(28)</sup> % 71,1, Tsang ve ark.<sup>(27)</sup> % 23,7 olarak rapor etmiştir. TMP-SMX direnç oranlarımız literatürde rapor edilmiş artan direnç oranları ile uyumlu bulunmuştur. Bu nedenle, tedavi planlanırken *H.influenzae* suşlarında saptanan yüksek TMP-SMX direnç oranlarının göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmüştür.

İzole ettiğimiz 480 *H.influenzae* suşunda TMP-SMX'ten sonra en yüksek direnç oranı ampisiline (% 16,2) karşı saptanmıştır. Ampisilin direnç oranımız literatürde ülkemizde ve yurtdışında bildirilen oranlarla uyumlu bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalara göre ampisilin direnç oranı % 2,9-20,9 arasında değişirken, yurtdışında ise SENTRY raporuna göre % 16,2-27,9 arasında tespit edilmiştir<sup>(1,4,5,9,13)</sup>. Çalışmamızda *H.influenzae* suşlarında literatürde bildirilen ampisilin direnç artışı ile uyumlu bir artış olduğu gözlenmiştir<sup>(1)</sup>.

*H.influenzae* suşlarında ampisilin ve diğer  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direnç genellikle  $\beta$ -laktamaz enzimi aracılığı ile gelişmektedir. *H.influenzae* kökenleri ampisilin direncine göre BLNAS kökenler, BLNAR kökenler, BLPAR kökenler, BLPACR kökenleri olmak üzere dört fenotipik kökene ayrılmaktadır. Çalışmamızda test edilen 480 izolattan 78'i ampisilin dirençli (% 16,2) saptanmış, bu izolatların da 40'ı (% 8,3)  $\beta$ -laktamaz pozitif, 38'i (% 7,9) ise negatif saptanmıştır. Ülkemizde *H.influenzae* suşlarında  $\beta$ -laktamaz üretimi % 4-20,9; yurtdışında ise PROTEKT çalışmasına göre % 1,8-65,0 arasında bildirilmiştir<sup>(1,9,11,12,22,25)</sup>. BLNAR köken oranı ise ülkemizde % 0-2,9, yurtdışındaki çalışmalarda ise % 0,4-20,6 olarak tespit edilmiştir<sup>(1,8,10,14,25,26)</sup>. Literatür ile karşılaştırıldığında BLNAR köken oranımızın ülkemiz verilerine

göre yüksek olduğu görülmüştür. Merkezimizde *H.influenzae* suşlarında BLNAR köken oranının artışının literatürde diğer ülkelerde rapor edilen artış ile benzerlik gösterdiği gözlenmiştir<sup>(1,2,26)</sup>.

Çalışmaya dahil edilen 480 *H.influenzae* suşunda ise amoksisilin-klavulanata direnç oranımız % 4,8 (n=23) olarak tespit edilmiştir. Amoksisilin-klavulanat direnci saptanan 23 şusun 9'u BLPAR ve 14'ü de BLNAR kökenidir. Literatürde ülkemizde bu oran % 0-1,2, SENTRY raporuna göre yurtdışında ise % 0-0,3 olarak rapor edilmiştir<sup>(1,5,9,13)</sup>. Amoksisilin-klavulanat direnç oranımız literatüre göre yüksek bulunmuştur ve bunun  $\beta$ -laktamaza bağlı olmayan, kromozomal mutasyon sonucu PBP'lerde meydana gelen değişiklik sonucu ortaya çıkmış olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda  $\beta$ -laktamaz aktivitesi araştırılan 78 suş içinde BLPACR kökenleri de araştırılmıştır. Direnç mekanizması net olmayan bu suşlarda  $\beta$ -laktamaz üretimi ve PBP3'ün değişikliğinin eş zamanlı varlığına bağlı direnç gözlenmektedir. *H.influenzae* suşlarında bu direnç (BLPACR) literatürde düşük oranda bildirilmiştir<sup>(1,2,26)</sup>. Çalışmamızda da  $\beta$ -laktamaz pozitif olup AMC direnci saptanan (BLPACR) kökene % 1,9 oranında rastlanmıştır.

*H.influenzae* suşlarında 2. kuşak bir sefalosporin olan sefuroksime direnç oranı çalışmamızda % 3,7, ülkemizde % 0-8,0, yurtdışında ise % 0,3-24,0 olarak saptanmıştır<sup>(5,13,20,23)</sup>. Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak 3. kuşak sefalosporinler seftriakson, seftazidim ve sefotaksime direnç saptanmamıştır. Ayrıca test edilen diğer  $\beta$ -laktam antibiyotikler olan meropenem ve piperasilin/tazobaktama da direnç saptanmamıştır.

*H.influenzae* suşlarında tetrasiklin direnç oranı ülkemizde % 1,1-22,0, yurtdışında yapılmış bir çalışmada ise % 2,1 olarak tespit edilmiştir<sup>(1,5,16,22,25)</sup>. Çalışmamızda da tetrasiklin direnci % 6,2 olarak benzer oranda bulunmuştur.

*H.influenzae* suşları genellikle kinolonlara duyarlıdır ve direnç nadir görülmektedir<sup>(4)</sup>. Ülkemizde yapılmış bir çalışmada siprofloksasin direnç oranı % 2,8 olarak saptanmıştır<sup>(15)</sup>. Çalışmamızda da siprofloksasin direnç oranı literatür ile uyumlu olarak % 1,0 bulunmuştur.

$\beta$ -laktamaz üretiminin suşların duyarlılık profilleri üzerine etkisi araştırılmış ve BLPAR ve BLNAR köken arasında sefuroksim ve amoksisilin-klavulanat duyarlılık profilinde farklılık tespit edilmiştir. Amoksisilin-klavulanat direnç oranı BLNAR kökeninde % 36,8 (14/38), BLPAR kökeninde % 22,5 (9/40) saptanmıştır. BLNAR kökeninin sefuroksim direnç oranı % 21,0 (8/38), BLPAR kökeninin ise % 2,5 (1/40) olarak saptanmıştır. CLSI rehberi *H.influenzae* BLNAR kökenlerinin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin-sulbaktam, sefaklor, sefotam, sefonikid, sefprozil, sefuroksime in vitro duyarlı olsa da dirençli kabul edilmesini önermektedir<sup>(7)</sup>.

Sonuç olarak *H.influenzae* suşlarında antibiyotik direnç oranları merkezler arasında değişiklik göstermekte olup, bu suşlarda ampisilin direnci ve BLNAR oranları gittikçe artmaktadır. Çalışmamızda da *H.influenzae* suşlarında yüksek oranda ampisilin direnci ve BLNAR köken tespit edilmiştir. Sonuçlarımız merkezlerin düzenli olarak epidemiyolojik verilerini takip etmesinin *H.influenzae* enfeksiyonlarında hastalara uygulanacak uygun antibiyotik tedavisini yönlendirmesi açısından gerekli ve önemli olduğunu göstermektedir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

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

#### KAYNAKLAR

1. Altun B, Gür D. Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilen *Haemophilus influenzae* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu (2002-2007). Çocuk Enfeksiyon Derg. 2008;2(2):50.
2. Bae S, Lee J, Lee J, et al. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae* respiratory tract isolates in Korea: results of a nationwide acute respiratory infections surveillance. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):65-71.
3. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. Identification of  $\beta$ -lactamase-negative, ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* with four methods and eight media. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45(5):1585-8.
4. Berkiten R. Türkiye'de *Haemophilus influenzae*: beta-laktamaz pozitifliği ve antibiyotiklere direnç(1987-2002). ANKEM Derg. 2004;18(1):53-60.
5. Budak F, Gür D. In vitro sensitivity to antimicrobial agents of *Haemophilus influenzae* strains isolated from clinical specimens. Mikrobiyol Bul. 2003;37(1):19-25.
6. Cerquetti M, Cardines R, Giufre M, Mastrantonio P. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains isolated from invasive disease in Italy. J Antimicrob Chemother. 2004;54(6):1139-43.
7. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Eighth Informational Supplement. M100-S23, CLSI, Wayne, PA (2018).
8. García-Cobos S, Campos J, Lázaro E, et al. Ampicillin-resistant non- $\beta$ -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* in Spain: recent emergence of clonal isolates with increased resistance to cefotaxime and cefixime. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(7):2564-73.
9. Gazi H, Kurutepe S, Surucuoglu S, Teker A, Ozbakkaloglu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. Indian J Med Res. 2004;120(5):489-94.
10. Gonullu N, Catal F, Kucukbasmaci O, Ozdemir S, Torun MM, Berkiten R. Comparison of in vitro activities of tigecycline with other antimicrobial

- agents against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in two university hospitals in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy*. 2009; 55(3):161-7.
11. Hoban D, Felmingham D. The PROTEKT surveillance study: antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from community-acquired respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2002;50(Suppl 2):49-59.
  12. İlki A, Sağıroğlu P, Elgörmüş N, Söyletir G. Trends in antibiotic susceptibility patterns of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* isolates: four years follow up. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44(2):169-75.
  13. Johnson D, Sader H, Fritsche T, Biedenbach D, Jones RN. Susceptibility trends of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* against orally administered antimicrobial agents: five-year report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;47(1):373-6.
  14. Kaczmarek FS, Gootz TD, Dib-Hajj F, Shang W, Hallowell S, Cronan M. Genetic and molecular characterization of  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* with unusually high resistance to ampicillin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(5):1630-9.
  15. Kocabeyoğlu Ö Bİ, Koşan E. *Haemophilus influenzae* suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılık. *ANKEM Derg*. 1996;10(2):119.
  16. Morrissey I, Maher K, Williams L, Shackcloth J, Felmingham D, Reynolds R. Non-susceptibility trends among *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from community-acquired respiratory tract infections in the UK and Ireland, 1999–2007. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(Suppl 2):ii97-ii103.
  17. Moxon ER. The carrier state: *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother*. 1986;18(Supplement A):17-24.
  18. Nevzat Ü, Güney AK, Yanik K, Eroğlu C, Günaydin M. Comparison of in vitro susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains to various antimicrobial drugs. *J Exp Clin Med*. 2013;30(2):165-9.
  19. Özkul H, Özbek Ö, Çoban H, Gülay Z. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesinde 2003-2006 yıllarında üretilen *Haemophilus influenzae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2007;21(2):86-90.
  20. Pérez-Trallero E, García-De-La-Fuente C, García-Rey C, et al. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(5):1965-72.
  21. Rashid H, Shoma S, Rahman M. Prevalence of  $\beta$ -lactamase positive ampicillin resistant *H. influenzae* from children of Bangladesh. *J Infect Dis Epidemiol*. 2016;2(2):1-5.
  22. Sener B, Tunçkanat F, Ulusoy S, et al. A survey of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Turkey, 2004–2005. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(3):587-93.
  23. Torun M, Aksun E, Özcan N, Başaran G. Alt solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen *S. aureus* kökenlerinin çeşitli antimikrobik maddelere duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 1998;12(2):102.
  24. Torun M, Namal N, Demirci M, Bahar H. Nasopharyngeal carriage and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* in healthy school children in Turkey. *Indian J Med Microbiol*. 2009;27(1):86-8.
  25. Torun MM, Namal N, Demirci M, Bahar H, Kocazeybek B. Pharyngeal carriage and antimicrobial resistance of *Haemophilus influenzae* in non-type-b-vaccinated healthy children attending day care centers in Turkey. *Chemotherapy*. 2007;53(2):114-7.
  26. Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(2):368-89.
  27. Tsang RS, Shuel M, Whyte K, et al. Antibiotic susceptibility and molecular analysis of invasive

- Haemophilus influenzae in Canada, 2007 to 2014. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(5): 1314-9.
28. Wang H-J, Wang C-Q, Hua C-Z, et al. Antibiotic resistance profiles of Haemophilus influenzae isolates from children in 2016: a multicenter study in China. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2019;2019.
29. Yamada S, Seyama S, Wajima T, et al.  $\beta$ -Lactamase-non-producing ampicillin-resistant Haemophilus influenzae is acquiring multidrug resistance. *J Infect Public Health.* 2019.