

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC)

Prof.Dr.Ayşe Willke Topcu

Mart 2010, Aydın

Antimikrobik Tedavinin Başarısı

- Esas olarak konak defans mekanizmasına bağlıdır
 - Konak antibiyotikle etkisi azalmış mikroorganizmayı parçalayarak öldürür
- MIC verileri antibiyotik etkinliğini öngörü çalışmalarında kullanılır

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) özellikleri

- Antibiyotiğin bakteriyostatik/inhibitör etkisini ölçer
- Antibiyotiğin hızla üreyen bakteriye etkisini ölçer
- Tekrarlanabilir bir parametredir
- Çoğu kez tedaviye yol göstericidir

Antimikrobiyal Etkinliğin Değerlendirilmesinde Özel Yöntemlerin Öngörü Değeri

İyi ve kötü klinik gidişte öngörü değeri

<u>Test yöntemi</u>	<u>İmmun sistemi normal</u>	<u>Endokardit, menenjit, İmmünSist bozuk</u>
Tüp MBC	MIC'den farklı değil	İyi ve kötü gidişi öngörebilir
Zaman öldürme yöntemi	MIC'e göre hızlı öldürenlerde iyileşme ile paraleldir	Hızlı öldüren ilaçlar iyileşmeyi öngörür

Antibiyotiğin bakterisidal etkisinin ölçülmesini gerektiren durumlar

- Endokardit
- Menenjit
- Osteomyelit
- İmmün kompromize hastalarda ki bazı enfeksiyonlar
- Tolerans saptanması
- Yeni bir ilacın etkinliğinin belirlenmesi (MBC/MIC)

Bakterisidal etkiyi ölçen parametreler

- MBC'nin belirlenmesi
- Serum bakterisidal titrenin belirlenmesi (SBT)
- Zaman – öldürme (time – kill curve) eğrisinin belirlenmesi

Antimicrobial susceptibility testing, In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edition, Eds: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Lippincott, New York, 1997.

MBC Tanımı

- İncelenen bakterinin %99.9'unu öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonu (mg/L veya $\mu\text{g/ml}$)

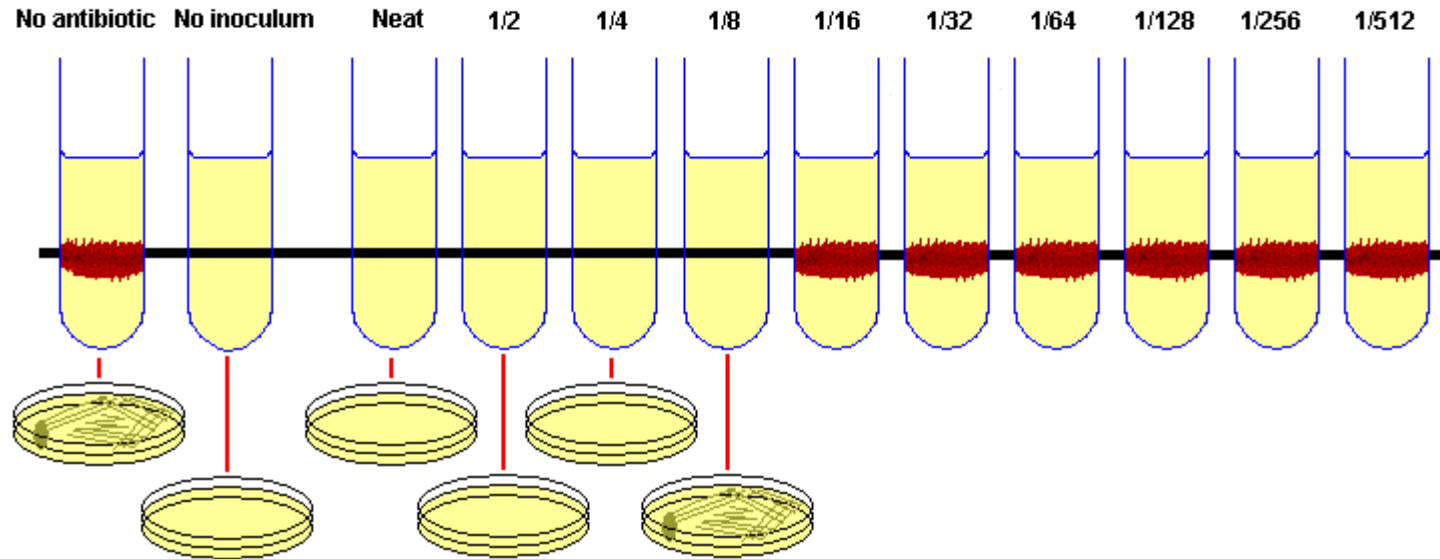
MBC testleri

- Özellik taşıyan testlerdir
- Nadiren gerekir
- Tekrarlanabilirliği düşüktür
- Mikrobiyolojik ve teknik sorunlar taşır
- Laboratuvar sorumlusunun bilgisi dahilinde yapılmalıdır

MBC'nin temel özelliđi

- MIC belirlendikten sonra gözle görülür üremenin olmadığı tüplerden antibiyotiksiz besiyerine pasaj yaparak %99.9 üremeyi sonlandıran en düşük antibiyotik konsantrasyonunu belirlemek

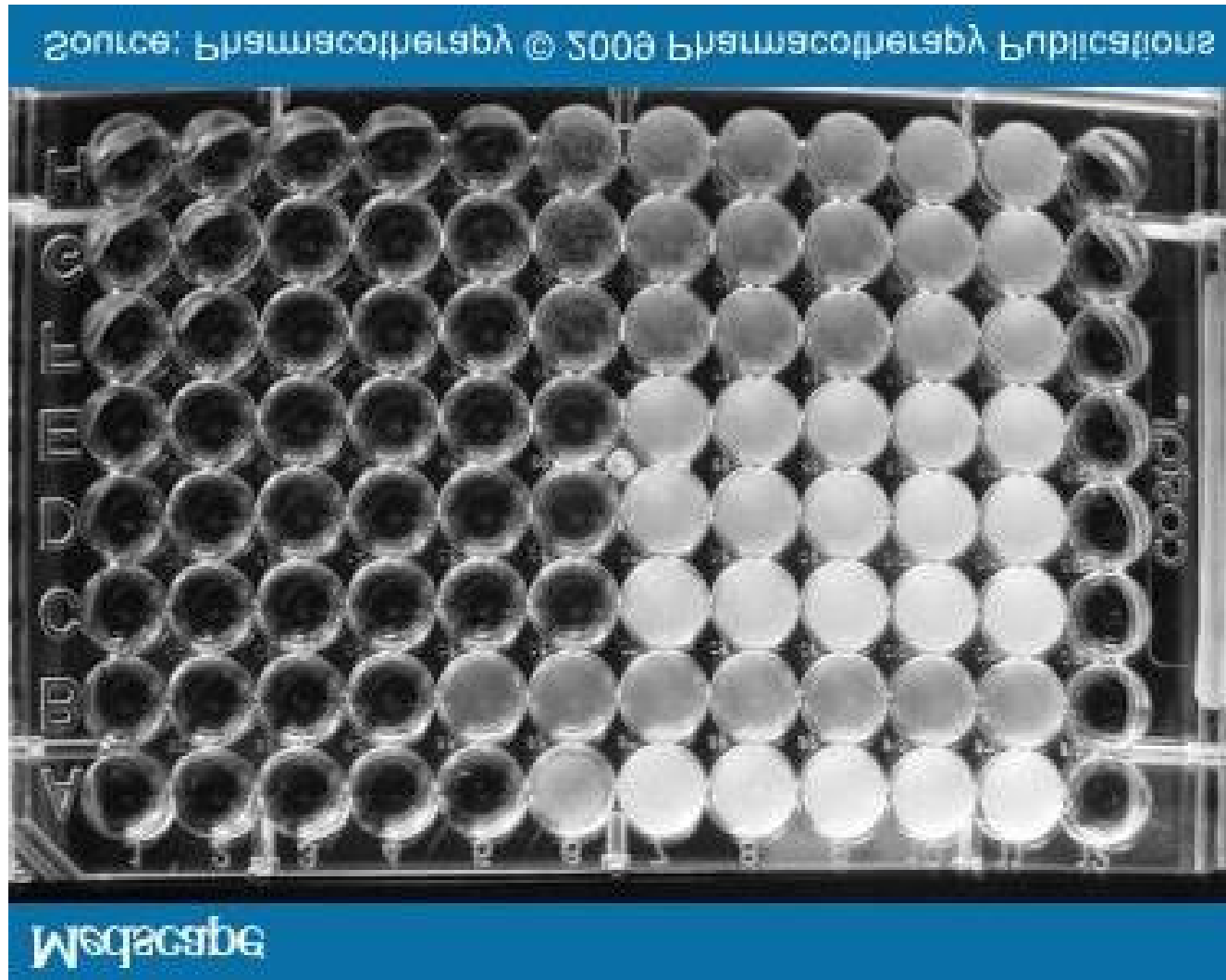
MIC yapılan tüplerden antibiyotik içermeyen besiyerlerine pasaj ve inkübasyon



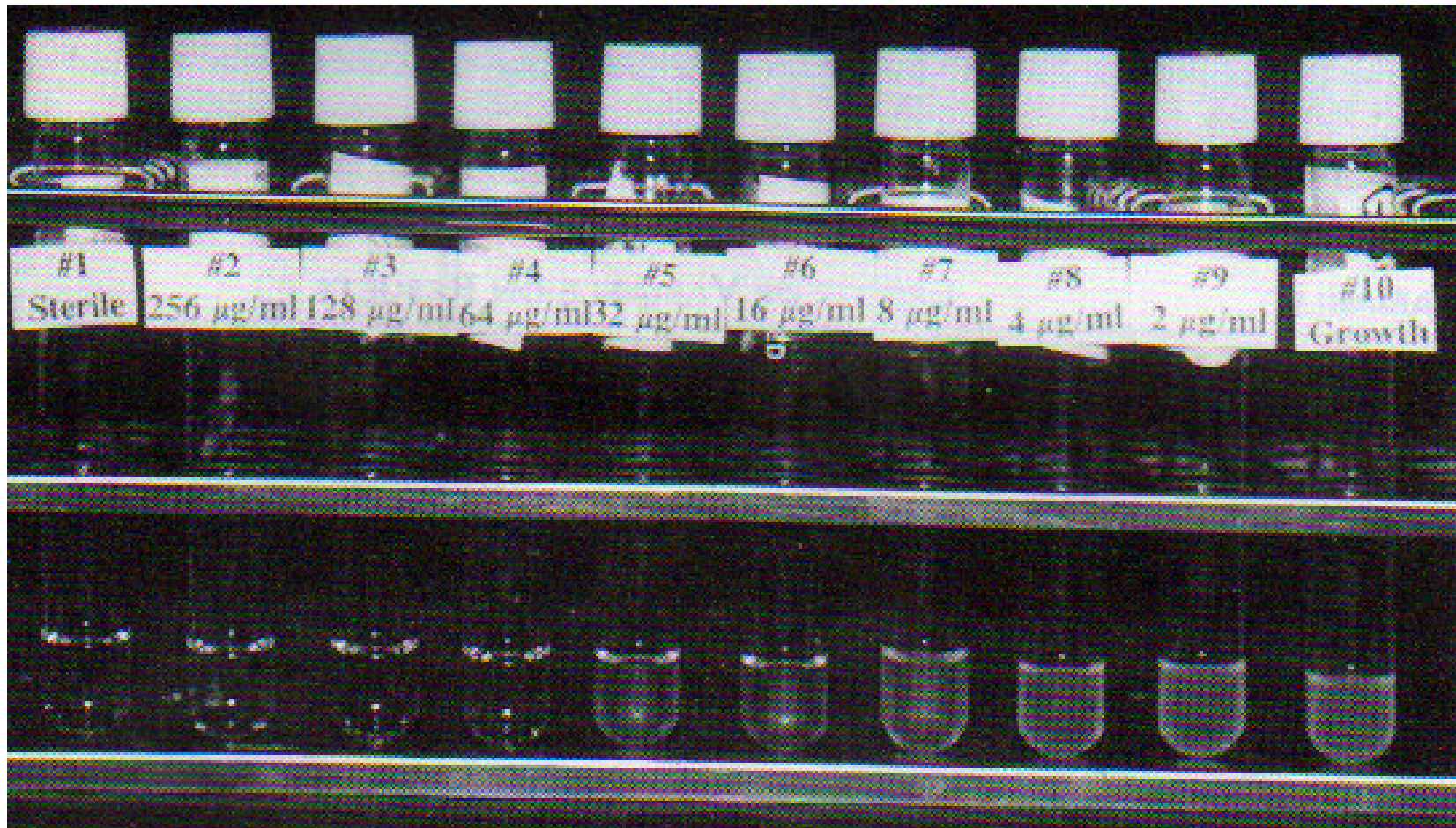
MBC Belirleme Yöntemleri

- Tüp dilüsyon
 - Makro tüp dilüsyon
 - Mikro tüp dilüsyon
- E test
 - Plağa aktarım
 - İlaç inaktivasyonu (beta laktamazla)
 - E test boyunca üreme bölgelerinden ekim

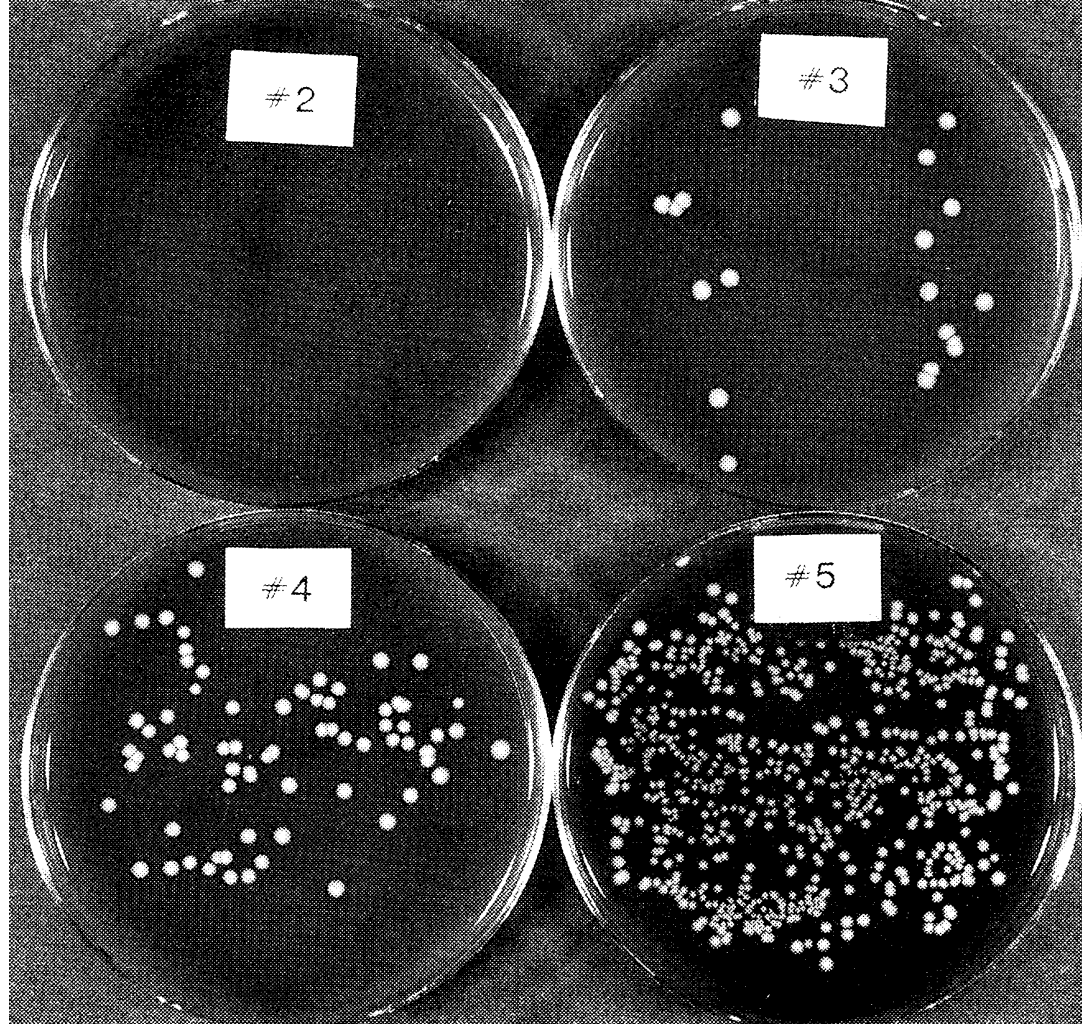
Mikro tüp dilüsyonla MIC tayini



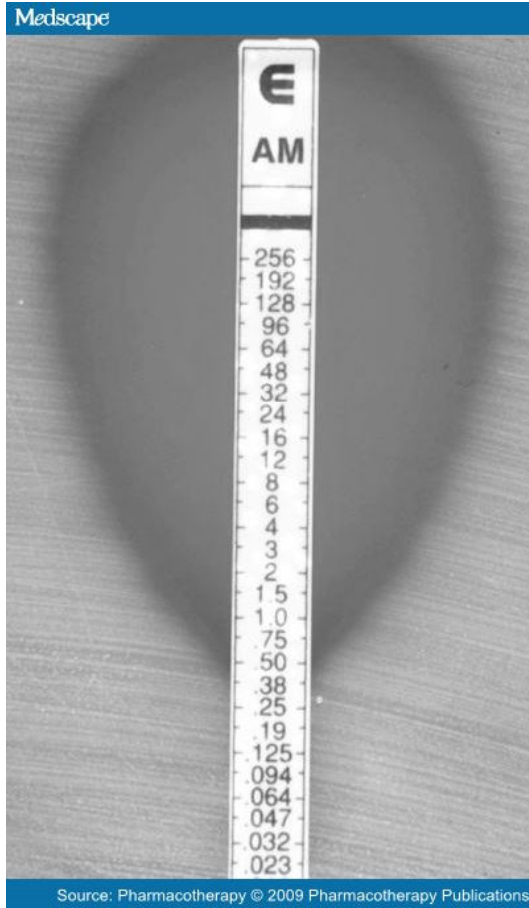
Makrodilüsyonla MIC belirlenmesi



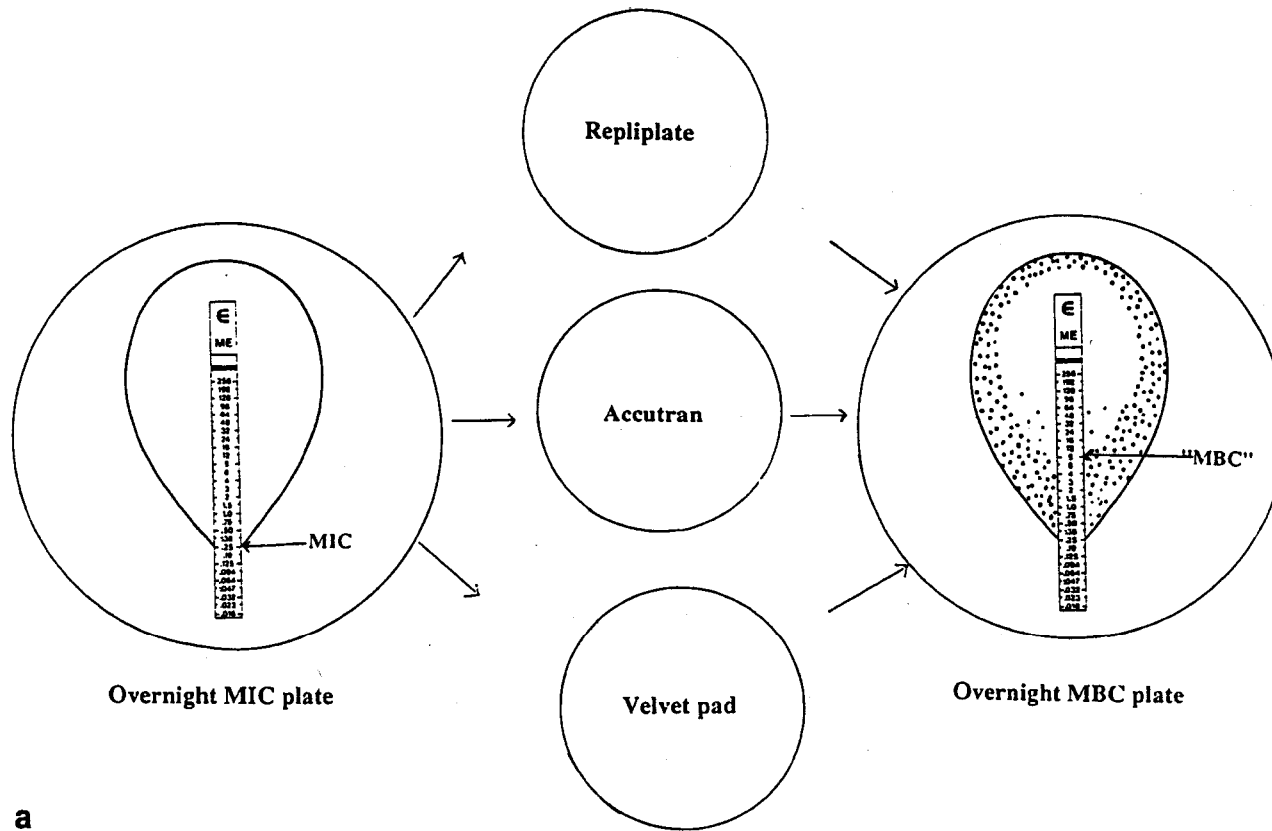
MIC tüpünden ve bulanıklık olmayan önceki 2-3 tüpten antibiyotiksiz katı besiyerine aktarım ve bir gece inkübasyondan sonra koloni sayımı



E testle MIC belirlenmesi



E test plağından antibiyotiksiz plağa aktarım



MBC belirlemede mikrobiyolojik sorunlar

- Persistans fenomeni
- Paradoksal (Eagle) etki
- Tolerans
- Fenotipik direnç

MBC belirlemede teknik sorunlar

- Üreme fazındaki bakteri
- İnokulum miktarı
- Yetersiz temas
- Vasat seçimi (CAMHB)
- Bakteri tam geometrik üreme döneminde olmalı

MBC belirlemede teknik sorunlar 2

- Aktarılan miktarla ilgili sorunlar
 - %99,9 öldürme 5×10^5 cfu/ml için 10 kolonidir
 - 100 μ l (0,1 ml) aktarılmalıdır
 - 10 μ l (0,01 ml) sorun yaşanır
- Ayarlı pipetle yapılmalıdır (öze güvenilir değildir)
- MIC tüpünden MBC vasatına aktarma yapılırken antibiyotikte aktarılabilir
- Bakteri plastik tüp veya plate çevresine yapışır, bu da sonucu etkiler

MBC belirlemede mikrobiyolojik sorunlar: Persistants fenomeni

- Bakterisidal etkinliğe rağmen az sayıda bakteri ($>0,1\%$) canlı kalmaktadır
- Özellikle beta laktamlarla çalışırken görülür
- Bu bakteriler pasajdan sonra duyarlı hale gelir
- “Persister” ların metabolik olarak inaktif durumda olduğu kabul edilir

MBC belirlemede mikrobiyolojik sorunlar: Paradoksal etki (Eagle fenomeni)

- İlk kez penisilin ve grup B streptokoklarda (1946) gözlenmiştir
- Penisilin MBC'den fazla dozlarında canlı bakterilerin (MBC'den düşük dozlara göre) sayısının fazla olduğu gözlenmiştir
- Daha çok hücre duvarına etkili β -laktamlarda gözlenir
- Yüksek dozlarda antibiyotiğin protein sentezini bozduğu, dolayısıyla bakterisidal etki için gerekli üremenin inhibisyonu nedeniyle olduğu tahmin ediliyor
- Bu etkinin tedaviye yansıması bilinmiyor

MBC belirlemede mikrobiyolojik sorunlar: Tolerans

- İlaç etkisiyle bakteri inhibe oluyor, ölmüyor
- Beta laktamlarla gram pozitif koklar arasında daha fazla görülüyor
- Gram negatiflerde pek görülüyor
- Staphylococcus aureus ile beta laktamlar (son yıllarda vankomisin) arasındaki tolerans klinik ilgi görmüştür

Tolerans

- $MBC/MIC \geq 32 \Rightarrow$ tolerans
 - MBC titresi MIC'e göre ≥ 5 tüp fazla ise \Rightarrow tolerans
 - MIC = 1
 - MBC = 32
- Mekanizması tam anlaşılamamıştır
 - Streptokoklarda otolizin etkinliği
- Klinik önemi tam bilinmez

A grubu streptokoklarda penisilin toleransının belirlenmesi ve toleransla tedavi başarısı arasındaki ilişki (Tez: Çiçek Güven)

- 31 erişkin anjinli hasta
 - Boğaz kültürü
 - Tedaviden önce
 - Tedaviden 48 saat sonra
 - Klinik değerlendirme
 - Tedaviden önce membranlı anjin
 - Tedaviden 2 – 7 gün sonra
 - Tedavide doğal penisilin
 - Mikrobiyolojik başarısızlık
 - Tedavi öncesi GAB üremesi
 - Tedaviden sonra tekrar üreme
 - Klinik başarısızlık
 - Anjin belirtilerinin devam etmesi

Tolerans ve belirleme yöntemleri

- Tolerans: $MBC/MIC \geq 32$
- Yöntemler
 - Makrodilüsyon
 - Mikrodilüsyon
 - E test (acutranla transfer)

Sonuçlar

- 31 hastadan → 36 S.pyogenes
 - 2/36 → üç yöntemle
 - 7/36 mikro ve makro
 - 1/36 mikrodilüsyon
- 19/36 (%28) tolerans

Sonuçlar

- Bakteriyolojik tedavi başarısız: 27/31 (%87)
 - 8/27 tolerans + (%29)
- Bakteriyolojik tedavi başarısız
 - 2/4 tolerans + (%50)

Sonuç: toleransla klinik başarı ilişkisi

- Toleransla başarısızlık arasında uyumsuzluk yok (McNemar testi $p < 0,05$)
- Toleransla başarısızlık arasında uyum? (Spearmen's testi sayı azlığı nedeniyle uygulanamadı)
- Toleransla tedavi başarısızlığı arasında ilişki?

Sonuç: Tolerans ölçümünde testlerin karşılaştırılması

- Testler arasında önemli bir fark saptanmadı
 - E test ikili karşılaştırmalarda farklı

MBC: Özet

- Antibiyotik tedavi başarısını öngören testlerden biridir
- Özel hasta gruplarında gerekebilir
- Özel testlerdir
- Teknik ve biyolojik sorunlar taşır
- Tekrarlanabilirliği düşüktür