

GRAM POZİTİF BAKTERİ ANTİBİYOGRAMLARI

Dr. Özlem KURT AZAP

26 Kasım 2008



Genel Kurallar



Tek koloniden yapılan pasaj seçici olmayan besiyerinde (kanlı agar...) bir gece inkübe edilir



Benzer morfolojideki koloniler alınarak 3-5mL %0.9 NaCl veya buyyon (MHB, TSB) içeren tüplerde 0.5McFarlanda'a eşdeğer koloni süspansiyonu hazırlanır

(Doğrudan koloni süspansiyonu)



İnokülüm hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde plaklara ekim yapılır

Genel Kurallar



Bakterinin cinsine göre Mueller-Hinton agar veya %5 koyun kanı içeren Mueller-Hinton agar kullanılır



Ekim yapılan plaklar, antibiyotik diskleri yerleştirilmeden önce 3-15 dakika bekletilir



Diskler, merkezden merkeze uzaklıkları **24mm** olacak şekilde yerleştirilir

100 mm'lik plakta **5**'ten fazla disk olmamalı

150 mm'lik plakta **12**'den fazla disk olmamalı



CLSI Önerileri

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)
(Eski adıyla **NCCLS**)
Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
- Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onsekizinci Bilgi Eki, **M100-S18**, 2008

Tablolar

Staphylococcus spp.

Enterococcus spp.

Streptococcus pneumoniae

S.pneumoniae dışındaki *Streptococcus spp.*

Beta hemolitik grup

Viridans grup

CLSI Önerileri

A Grubu: Test panelinde yer alması gereken ve rapor edilen ilaçlar

B Grubu: Test panelinde yer alması gereken ve A grubu ilaçlara direnç..vb gibi durumlar olduğunda rapor edilen ilaçlar

C Grubu: Özellikle ilk iki gruptaki ilaçlara dirençli suşların görüldüğü sağlık kuruluşlarında test ve rapor edilen ilaçlar

U Grubu: İdrardan izole edilen suşlar için test ve rapor edilen ilaçlar

O Grubu: Klinik endikasyonu olup ABD'de bildirilmeyen ilaçlar



Yara kültürü: *Staphylococcus aureus*

Stafilokok antibiyogramını nasıl yapalım?

Stafilokoklar için metisilin duyarlılığını nasıl belirleyelim?

- A) Metisilin diski ile
- B) Oksasilin diski ile
- C) Penisilin diski ile
- D) Sefoksitin diski ile
- E) B ve D doğru

Stafilokoklar için metisilin duyarlılığını nasıl belirleyelim?

A) Metisilin diski ile

B) Oksasilin diski ile

C) Penisilin diski ile

D) Sefoksitin diski ile

Niçin sefoksitin?

- Mec A geninin ekspresyonunu artırıyor
- İnhibisyon zonunun değerlendirilmesi daha "kolay"
- Koagülaz negatif stafilokoklarda duyarlılığı oksasilin ile benzer, özgüllüğü daha yüksek

Stafilokok antibiyogramı- I

- Mueller-Hinton agara yapılır
- 35°C'de
- Normal atmosferde
- 16-18 saat

Oksasilin (sefoksitin) ve vankomisin için 24 saat inkübe edilir

Metisilin duyarlılığı için

- Oksasilin (1µg) veya Sefoksitin (30µg) diski
- **Sefoksitin ile,**

S. aureus için ≥ 22 mm duyarlı

Koagülaz negatif stafilokoklar için ≥ 25 mm duyarlı

**Stafilokok antibiyogramı için
aşağıdaki disklerden hangilerini
kullanmadan sonuçları öngörebiliriz?**

- A) Penisilin, Ampisilin-sulbaktam
- B) Sefoksitin, Eritromisin
- C) Sefazolin, Amoksisilin-klavulonat
- D) Sefazolin, Klindamisin

Stafilokok antibiyogramı için
aşağıdaki disklerden hangilerini
kullanmadan sonuçları öngörebiliriz?

- A) Penisilin, Ampisilin-sulbaktam
- B) Sefoksitin, Eritromisin
- C) Sefazolin, Amoksisilin-klavulonat
- D) Sefazolin, Klindamisin

Stafilokok antibiyogramı- II

Oksasilin ve penisilin duyarlılık sonuçları ile diğer tüm beta laktam antibiyotiklere ilişkin sonuçlar verilebilir !

Oksasiline dirençli → Tüm beta laktamlara DİRENÇLİ

Oksasiline duyarlı
ve
Penisiline duyarlı } Tüm beta laktamlara DUYARLI

Oksasiline duyarlı, Penisiline dirençli



DİRENÇLİ

- Penisilin
- Ampisilin
- Amoksisilin....

DUYARLI

- Penisilinaza dayanıklı penisilinler: Nafsilin, Flukloksasilin...
- Sefalosporinler
- β laktam- β laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar (SAM, AMC..)

Stafilokok antibiyogramı- III

A Grubu

Oksasilin (Sefoksitin)

Penisilin

Klindamisin

Trimetoprim-
sulfametoksazol

Azitromisin veya

Klaritromisin veya

Eritromisin

B Grubu

Linezolid

Telitromisin

Vankomisin

Rifampin

Tetrasiklin

Doksisiklin

C Grubu

Kloramfenikol

Gentamisin

Moksifloksasin

Siprofloksasin veya

Levofloksasin veya

Ofloksasin

U Grubu

Norfloksasin

Nitrofurantoin

Sulfisoksazol

Trimetoprim



“D Test” hangi direnç mekanizmasını belirlemeye yöneliktir?

- A) Yapısal MLS_B direnci
- B) İndüklenebilir MLS_B direnci
- C) İlaç inaktive eden enzimler
- D) Beta-laktamaz

MLS_B : Makrolid-Linkozamid-Streptogramin_B

“D Test” hangi direnç mekanizmasını belirlemeye yöneliktir?

- A) Yapısal MLS_B direnci
- B) İndüklenebilir MLS_B direnci
- C) İlaç inaktive eden enzimler
- D) Beta-laktamaz

MLS_B : Makrolid-Linkozamid-Streptogramin_B

**“D Test” için kullanılan antibiyotikler
aşağıdakilerden hangisidir?**

- A) Eritromisin-Klindamisin
- B) Penisilin-Klindamisin
- C) Eritromisin-Penisilin
- D) Tetrasiklin-Penisilin

“D Test” için kullanılan antibiyotikler
aşağıdakilerden hangisidir?

A) Eritromisin-Klindamisin

B) Penisilin-Klindamisin


C) Eritromisin-Penisilin

D) Tetrasiklin-Penisilin

Bir stafilokok suşu,


Eritromisin: Duyarlı
Klindamisin: Duyarlı

Eritromisin: Dirençli
Klindamisin: Dirençli



Yapısal MLS_B direnci

Eritromisin: Duyarlı
Klindamisin: Dirençli



Nadir görülür
İlaç inaktive eden enzimler

Eritromisin: Dirençli
Klindamisin: Duyarlı

"D Test"- I

Eritromisine dirençli,

Klindamisine duyarlı **tüm stafilokoklarda**

Klindamisin (2 μ g)

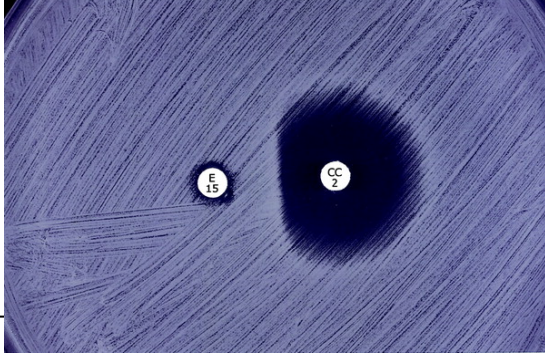
Eritromisin (15 μ g)

} 15-26 mm aralıkla yerleştirilir

İndüklenebilir MLS_B direnci = İndüklenebilir klindamisin direnci

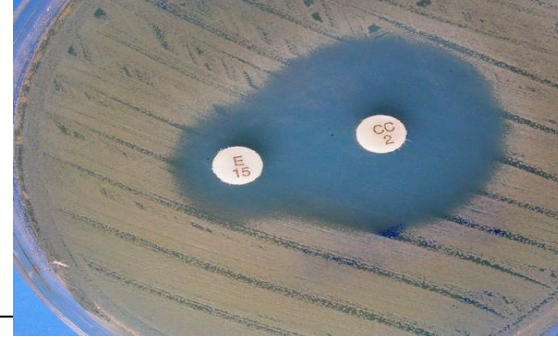
"D Test" - II

Eritromisin: Dirençli Klindamisin: Duyarlı



Pozitif D test

İndüklenebilir MLS_B direnci



Negatif D test

"Efflux" pompa direnci

Rapor:

Eritromisin: Dirençli

Klindamisin: Dirençli

"Bu suşta indüklenebilir

klindamisin direnci vardır. Ancak

klindamisin bazı hastalarda etkili

olabilir"

Rapor: Eritromisin: Dirençli

Klindamisin: Duyarlı

S. aureus'ta vankomisin duyarlılığının belirlenmesine ilişkin notlar;

Disk diffüzyon yöntemi ile

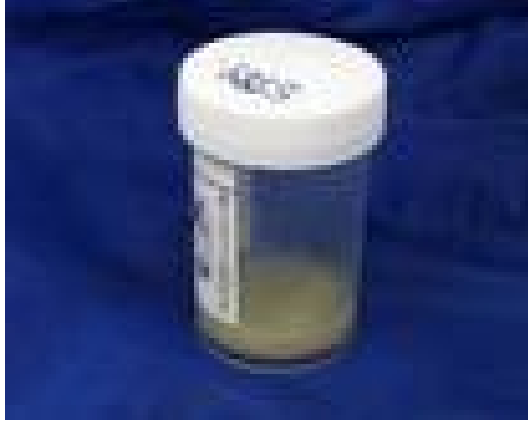
- **VRSA** (MİK $\geq 16 \mu\text{g/mL}$) saptanabilir ancak

- **VISA** (MİK $4-8 \mu\text{g/mL}$) veya **hVISA** (heteroVISA) saptanamaz

- VISA suşlarının belirlenebilmesi ve

- VRSA suşlarının daha yüksek duyarlılıkla tespit edilebilmesi için

$6 \mu\text{g/mL}$ vankomisin içeren BHI agar kullanılabilir



Balgam kültürü:

NBF + Orta miktarda *Streptococcus pneumoniae*

Şimdi ne yapalım?



Pnömonokok antibiyogramını nasıl yapalım?

- A) Penisilin diski ile duyarlılığını belirleyelim
- B) Penisilin için MİK değerini belirleyelim
- C) Oksasilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- D) Pnömonokok antibiyogramı yapmaya gerek yoktur

Pnömonokok antibiyogramını nasıl yapalım?

- A) Penisilin diski ile duyarlılığını belirleyelim
- B) Penisilin için MİK değerini belirleyelim
- C) Oksasilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- D) Pnömonokok antibiyogramı yapmaya gerek yoktur

Pnömonokok antibiyogramı- I

- % 5 koyun kanı içeren
Mueller-Hinton agara yapılır
- 35°C'de
%5 CO₂ içeren ortamda
20-24 saat inkübe edilir

Pnömonokok antibiyogramı- II

- **BOS dışı tüm** izolatlarda penisilin duyarlılığı oksasilin diski ($1\mu\text{g}$) kullanılarak belirlenir
- Oksasilin zonu;
 - $\geq 20\text{mm}$ ise penisiline duyarlı kabul edilir
 - $\leq 19\text{mm}$ ise penisilin VE seftriakson/ sefotaksim/meropenem MİK değerleri belirlenir
- BOS izolatları için **her koşulda** MİK değerleri belirlenir

BOS dışı pnömokok suşları için

Penisilin MİK değeri

≤ 2 $\mu\text{g/mL}$ ise **DUYARLI**

4 $\mu\text{g/mL}$ ise **ORTA DUYARLI**

≥ 8 $\mu\text{g/mL}$ ise **DİRENÇLİ**



Seftriakson/Sefotaksim MİK değeri

≤ 1 $\mu\text{g/mL}$ ise **DUYARLI**

2 $\mu\text{g/mL}$ ise **ORTA DUYARLI**

≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ ise **DİRENÇLİ**

Meropenem MİK değeri

≤ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ ise **DUYARLI**

0.5 $\mu\text{g/mL}$ ise **ORTA DUYARLI**

≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ ise **DİRENÇLİ**

BOS'tan izole edilen bir pnömokok suşu için

Penisilin MİK değeri

$\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

$\geq 0.12 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ

Seftriakson/Sefotaksim MİK değeri

$\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

$1 \mu\text{g/mL}$ ise ORTA DUYARLI

$\geq 2 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ

Meropenem MİK değeri

$\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

$0.5 \mu\text{g/mL}$ ise ORTA DUYARLI

$\geq 1 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ

Pnömokoklarda penisilin duyarlılığı

ÖNCEDEN;

$\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

$0.12-1 \mu\text{g/mL}$ ise ORTA DUYARLI

$\geq 2 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ

BOS için penisilin MİK değeri

$\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

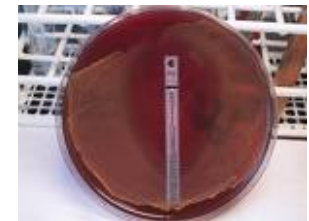
$\geq 0.12 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ

BOS dışı izolatlar için penisilin MİK değeri

$\leq 2 \mu\text{g/mL}$ ise DUYARLI

$4 \mu\text{g/mL}$ ise ORTA DUYARLI

$\geq 8 \mu\text{g/mL}$ ise DİRENÇLİ



Pnömonokok antibiyogramı- IV

A Grubu

Penisilin(Oksasilin diski ile)

Eritromisin

Trimetoprim-sulfametoksazol

B Grubu

Klindamisin

Levofloksasin

Moksifloksasin

Ofloksasin

Telitromisin

Tetrasiklin

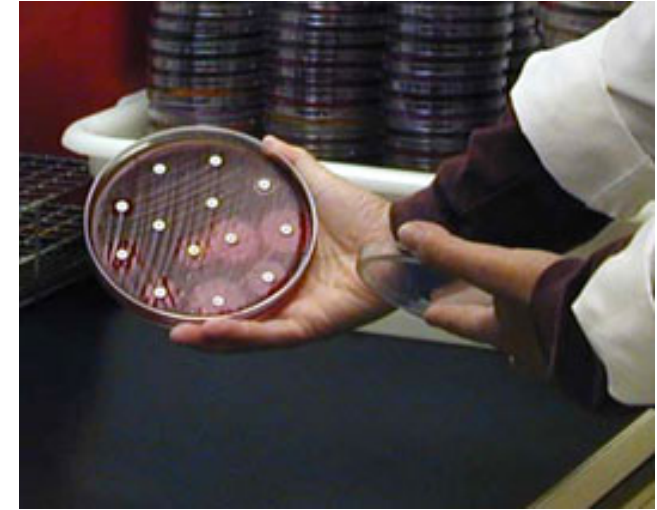
Vankomisin

C grubu

Kloramfenikol

Linezolid

Rifampin



S. pneumoniae dışındaki streptokoklar

Beta hemolitik streptokoklar

Büyük koloni oluşturan A grubu: *S.pyogenes*

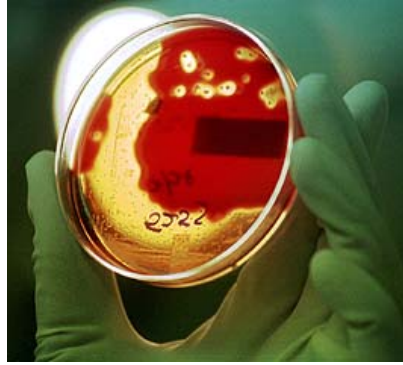
B grubu: *S.agalactiae*

Büyük koloni oluşturan C ve G grubu



Viridans streptokoklar

- Küçük koloni oluşturan A, C, F, G grubu beta hemolitik strep (Örneğin *S.anginosus*)
- Alfa hemolitik streptokoklar
- Hemolitik olmayan streptokoklar



Boğaz kültürü: NBF + bol miktarda
A grubu beta hemolitik streptokok

Şimdi ne yapalım?

A grubu beta hemolitik streptokok antibiyogramını nasıl yapalım?

- A) Penisilin, eritromisin ve vankomisin için duyarlılık testi çalışalım
- B) Penisilin ve eritromisin için duyarlılık testi çalışalım
- C) Sadece penisilin için duyarlılık testi çalışalım
- D) Duyarlılık testi çalışmayalım

A grubu beta hemolitik streptokok antibiyogramını nasıl yapalım?

- A) Penisilin, eritromisin ve vankomisin için duyarlılık testi çalışalım
- B) Penisilin ve eritromisin için duyarlılık testi çalışalım
- C) Sadece penisilin için duyarlılık testi çalışalım
- D) Duyarlılık testi çalışmayalım

A grubu beta hemolitik streptokok antibiyogramı

Streptococcus pyogenes suşlarında henüz penisilin direnci saptanmadığından,

Tedavide ilk seçenek penisilin olduğundan,

“beta” suşları için
antibiyogram çalışılması önerilmemektedir

Beta hemolitik streptokokların antibiyogramı-I

Beta hemolitik streptokoklar

Büyük koloni oluşturan A grubu: *S.pyogenes*

B grubu: *S.agalactiae*

Büyük koloni oluşturan C ve G grubu

- % 5 koyun kanı içeren Mueller-Hinton agara yapılır
- 35°C'de
%5 CO₂ içeren ortamda
20-24 saat inkübe edilir

Beta hemolitik streptokok antibiyogramı- II

A grubu

Penisilin veya
ampisilin

Eritromisin

Klindamisin

C grubu

Levofloksasin

Ofloksasin

Linezolid

Kloramfenikol

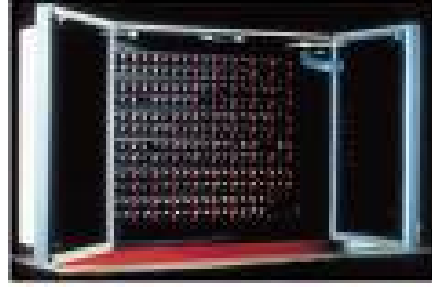
B grubu

Vankomisin

Seftriakson veya

sefotaksim veya

sefepim



Kan kültürü: Viridans streptokok üredi

Şimdi ne yapalım?

Viridans streptokokların antibiyogramlarını nasıl çalışalım?

- A) Penisilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- B) Oksasilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- C) Penisilin için MİK değerini belirleyelim
- D) Antibiyogram çalışmaya gerek yoktur

Viridans streptokokların antibiyogramlarını nasıl çalışalım?

- A) Penisilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- B) Oksasilin diski ile penisilin duyarlılığını belirleyelim
- C) Penisilin için MİK değerini belirleyelim
- D) Antibiyogram çalışmaya gerek yoktur

Viridans streptokokların antibiyogramı- I

Viridans streptokoklar

- Küçük koloni oluşturan A, C, F, G grubu beta hemolitik strep (Örneğin *S.anginosus*)
- Alfa hemolitik streptokoklar
- Hemolitik olmayan streptokoklar

- % 5 koyun kanı içeren Mueller-Hinton agara yapılır
- 35°C'de
%5 CO₂ içeren ortamda
20-24 saat inkübe edilir

Viridans streptokokların antibiyogramı- II

A Grubu

Penisilin veya Ampisilin
için sadece MİK
belirlenebilir

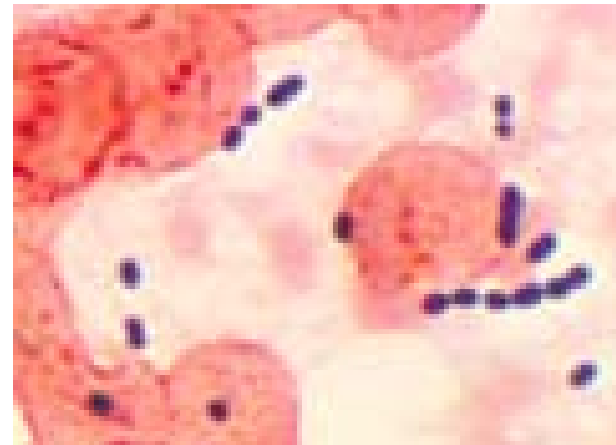
B Grubu

Sefepim
Sefotaksim
Seftriakson
Vankomisin

C Grubu

Eritromisin
Klindamisin
Linezolid
Kloramfenikol

Enterococcus spp.



Enterokok antibiyogramında
kullanılmayan antibiyotikler hangi
şıkta doğru sıralanmıştır?

- A) Penisilin, sefalosporin
- B) Sefalosporin, ko-trimoksazol
- C) Eritromisin, penisilin
- D) Ampisilin, tetrasiklin

Enterokok antibiyogramında
kullanılmayan antibiyotikler hangi
şıkta doğru sıralanmıştır?

- A) Penisilin, sefalosporin
- B) Sefalosporin, ko-trimoksazol
- C) Eritromisin, penisilin
- D) Ampisilin, tetrasiklin

Enterokok antibiyogramı- I

- Mueller-Hinton agara yapılır
- 35°C'de

Normal atmosferde

16-18 saat

Vankomisin için 24 saat inkübe edilir



Enterokok antibiyogramı- II

A grubu

Penisilin

Ampisilin

B Grubu

Vankomisin

Linezolid

C Grubu

Gentamisin (120)

Streptomisin (300)

U Grubu

Siprofloksasin

Levofloksasin

Norfloksasin

Nitrofurantoin

Tetrasiklin

VRE varlığında

Kloramfenikol

Eritromisin

Tetrasiklin

Rifampin



DİKKAT!!!!!!!

- Penisiline dirençli A grubu beta hemolitik streptokok
- Vankomisine dirençli *S.pneumoniae*
- Vankomisine dirençli veya orta duyarlı *Staphylococcus spp.*
- Linezolide dirençli *Enterococcus spp.*

bu sonuçlar mutlaka doğrulanmalıdır

Kalite Kontrol

İç kalite kontrol

- Besiyerlerinin hazırlığı: 4mm kalınlıkta Mueller-Hinton agar..vb
 - Kontrol suşları
 - Staphylococcus aureus* ATCC® 25923
 - Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619
- ATCC: "American Type Culture Collection"

Dış kalite kontrol

