

Antibiyotik Yönetiminde Biyobelirteçlerin Rolü ve Yeni Tanı Yöntemlerinin Önemi

Dr.Mahir Kapmaz
Yenibosna Sefa Hastanesi, İstanbul

Antibiyotik Yönetimi Simpozyumu, 6-8 Ekim 2016, İstanbul

Antimikrobiyal Stewardship

- İnfeksiyon kontrolü ile antimikrobiyal yönetiminin evliliğidir
- Bu evliliğin amacı -hastayı unutmadan- MDR bakteri infeksiyonlarının yayılmasını engellemek için uygun antibiyotik kullanımını artırmaktır

Viale et al. Infect Dis Ther 2015

Gelişmekte olan
ülkelerde
infeksiyon kontrolü





İyi bir biyobelirteç,
tanı koydurmalı, prognozu ve tedaviye yanıtı göstermeli,
düşük maliyetli, hızlı, non-invazif ve kolay yorumlanabilir olmalı

Prokalsitonin

- 1975 yılında kalsitonin öncül hormonu olarak keşfedilmiştir

O'Donnell DR. Recognising severe infection: in hoc signo vinces? Arch Dis Child. 2010 Dec;95(12):957-8.

- Sepsiste düzeyinin yükseldiği ise 1993'te anlaşılmıştır

Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet. 1993 Feb 27;341(8844):515-8

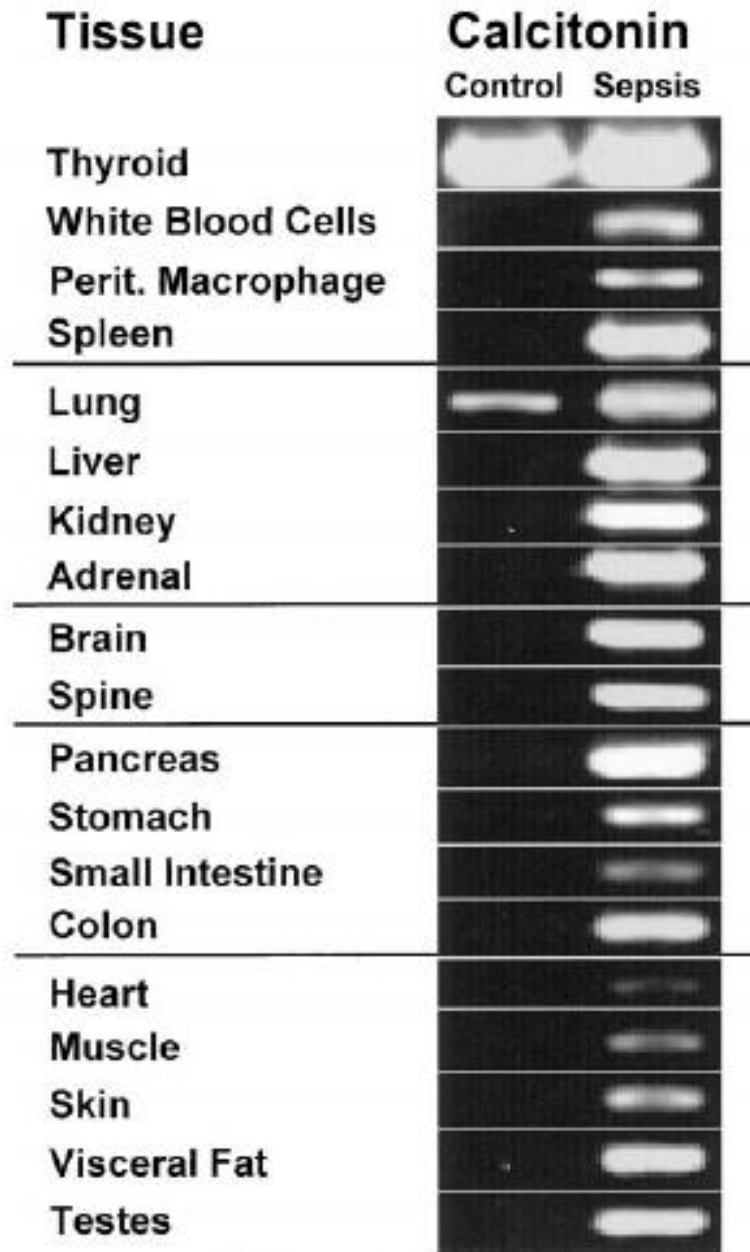
Prokalsitonin

- Sağlıklı gönüllülerde tek doz endotoksin sonrası PCT 3 saat içinde yükselmiş
- 24 saat içinde pik yapmış, sonra yavaşça düşmeye başlamış
- Bazılarında en az 7 gün normalin üstünde seyretmiş ve 2 haftaya kadar normalleşmemiş

Becker et al. British Journal of Pharmacology (2010), 159, 253–264

Günlük %30 azalma anlamlı bir iyileşmeye işaret eder;
bu aynı zamanda PCT'nin plazmada doğal yarılanma oranıdır
Böbrek yetmezliğinde yarılanma zamanı $1/3 - 1/2$ oranında uzar

Meisner M. Update on procalcitonin measurements. Ann Lab Med. 2014



PCT enflamasyon başlatamaz, ancak başlamış olanı kuvvetle arttırır

Anti- PCT antikor ile nötralize edilen septik hayvanlar daha fazla yaşamış

Endotoksin veya IL-1, IL-6 ve TNF-alfa ile stimüle olur

PCT oluşumu IFN-gama ile sekteye uğrar, bu nedenle viral infeksiyonda yüks(e)lemez

Özel Vakıf Üniversitesi

Prokalsitonin

0,209

<0,5 ng/mL Düşük Risk
>2.0 ng/mL Yüksek Risk

ng/mL

Eğitim Araştırma Hastanesi

TESTLER

SONUÇ

BİRİM

REF. ARA.

Prokalsitonin

[H] 0,681

ng/mL

0 - 0,5

< 0.5 sepsis için
düşük risk
0,5 - 2 sepsis
için orta risk
>2 sepsis için
yüksek risk

Özel Merkezi Laboratuvar

Test	Sonuç	Birim	Referans Aralığı	Yöntem
Prokalsitonin	0.15	ng/mL	0 - 0.5	IC

Sepsis değerlendirmesi için yorum:

<0.5 ng/mL : Normal,sepsis varlığını düşündürmez.Lokal bakteriyel enfeksiyon olabilir.

0.5-2.0 ng/mL : Enfeksiyon veya sepsis olabilir.Klinik bulgular ile birlikte değerlendirilmelidir.

Sepsis şüpesi varsa yeni örneklerle çalışmanın tekrarı önerilir.

2.0-10.0 ng/mL : Sepsis varlığını düşündürür.

>10.00 ng/mL : Ciddi sepsis veya septik şok.

Başka Bir Eğitim Araştırma Hastanesi

Bakteriyel Enf. yok : <0.1

Lokal bakteriyel enf. mümkün : 0.1 - 0.5

Sistemik bakteriyel enf. riski var : 0.5 - 2

Sistemik bakteriyel enf. : 2 - 10

Ciddi Sistemik bakteriyel enf. : >10

Observational studies

(Randomize kontrollü) Intervention studies

PCT,
kontaminasyonu
ayırır

++ Bacteremia

+ Endocarditis

? Pancreatitis

**? Abdominal
infections**

++ Blood stream infections

**+ Pyelonephritis
Urinary tract infection**

+ Neutropenia

+ Arthritis

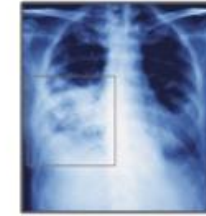
+ Postoperative fever



Meningitis⁺



**Upper respiratory
tract infection⁺⁺⁺**



Pneumonia⁺⁺⁺

COPD exacerbation⁺⁺⁺

Acute Bronchitis⁺⁺⁺



**Severe Sepsis
Septic Shock⁺⁺⁺**



Post-operative infections⁺⁺

Ventilator-associated pneumonia⁺⁺

PCT düşükse
Ab reçete edilmez

PCT hızlı düşerse
Ab erken kesilir

PCT düşükse
Ab reçete edilmez

Öte yandan PCT
İngiliz anahtarı değil

**+++ kuvvetli
++ iyi
+ orta kanıt**

PCT, steroid ile
inhibe olmaz

Schuetz et al. BMC Medicine
2011, 9:107

Figure 1 Available evidence concerning PCT in different infections derived from observational and randomized-controlled intervention studies. While for some infections, intervention studies have investigated benefit and harm of using PCT for antibiotic decisions (right side), for other infections only results from diagnostic (observation) studies are available with mixed results (left side). Abbreviations: PCT, procalcitonin. + moderate evidence in favor of PCT; ++ good evidence in favor of PCT; +++ strong evidence in favor of PCT; ? evidence in favor or against the use of PCT still undefined

Meta-analiz:

Bakteriyemide PCT'nin Tanısal Doğruluğu Nedir?

TABLE 2. Accuracy estimates

Analysis	AUC	Pooled sensitivity (95% CI)	Pooled specificity (95% CI)	Heterogeneity (%)		
				I ²	χ^2/Q	p
Overall (n = 3420)	0.79	76 (72–80)	69 (64–72)	86%	1397	<0.001
Control group						
Non-bacteraemia (n = 1884)	0.78	72 (66–78)	74 (69–76)	88%	1070	<0.001
SIRS (n = 931)	0.78	76 (60–87)	66 (44–82)	83%	114	<0.001
Local infection and/or sepsis (n = 605)	0.84	84 (80–87)	55 (47–63)	71%	162	<0.001
Immunocompromised/neutropenic						
Yes (n = 320)	0.71	66 (54–76)	78 (71–83)	76%	120	<0.001
No (n = 3100)	0.79	79 (75–83)	65 (60–65)	81%	926	<0.001
Department						
ICU (n = 399)	0.88	89 (79–94)	68 (57–77)	77%	54	<0.001
Mixed (n = 1009)	0.77	76 (65–85)	66 (57–76)	31%	501	<0.001
Ward (n = 587)	0.76	71 (63–78)	71 (64–77)	90%	433	<0.001
ED (n = 1425)	0.78	76 (69–82)	68 (61–75)	77%	285	<0.001
Study type						
Prospective (n = 2507)	0.79	76 (71–80)	69 (64–73)	86%	721	<0.001
Retrospective (n = 913)	0.79	78 (66–86)	68 (56–78)	79%	636	<0.001

χ^2/Q = χ^2 /Cochrane Q, CI = confidence interval; ED = emergency department; ICU = intensive care unit; mixed = ICU/ED/ward together; SIRS = systemic inflammatory response syndrome.

3420 hasta,
PCT eşik değeri yaklaşık 0.5 ng/ml,
ancak çok çeşitli (0.1 – 17 arası)

PCT bakteriyemi tanısında orta düzeyde;
Ancak düşük PCT bakteriyemi dışlayabilir

‘PCT düşükse hemokültür alınmasın’
demek için erken

Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial

Evelien de Jong, Jos A van Oers, Albertus Beishuizen, Piet Vos, Wytze J Vermeijden, Lenneke E Haas, Bert G Loeff, Tom Dormans,

Girişim: PCT tepe seviyesinin %80 üzerinde azalır veya eşik değeri 0.5 ng/ml altına düşerse ab kesilmesi önerilmiştir

(Sepsis, ağır sepsis, septik şok hastaları)

- PCT grubu 761 hasta, standart grup 785
- Medyan tedavi süresi

PCT kolunda 5 gün (3-9) vs. standart kolda 7 (4-11) ($p < 0.0001$).

28 günlük mortalite PCT kolunda %20; standart kolda %25 ($p = 0.0122$)

72 yaşında erkek, DM,
Lober pnömoni

WBC: 35700 (%94 nötrofil),
CRP: >300, Laktat: 4.2
Prokalsitonin: 48.5

(3 GÜN SONRA) ↓

WBC: 14700,
CRP: 113
Prokalsitonin: 7.3 (%85 azalma)



Sepsis ve YBÜ'de önerilen şemalardan biri....

*Guidelines for initiating antibiotics according to PCT value.
Except any situation requiring immediate therapy ...*

PCT ...

< 0.25 ng/mL	0.25 - 0.5 ng/mL	0.5 ng/mL < 1ng/mL	>= 1 ng/mL
Antibiotics strongly discouraged	Antibiotics discouraged	Antibiotics encouraged	Antibiotics strongly encouraged

İnfeksiyon şüphesi varsa hastaya mutlaka antibiyotik başlamayı düşünün

*Guidelines for stopping, continuing or changing antibiotics
according to daily measured PCT value.*

PCT ...

< 0.25 ng/mL	Decline more than 80% or 80% of peak (maximum) value or ≥ 0.25 to <0.5 ng/mL	Decline of PCT less than 80% of peak value and PCT ≥ 0.5 ng/mL	Increase of PCT above previous and PCT ≥ 0.5 ng/mL
Stopping antibiotics strongly discouraged	Stopping antibiotics encouraged	Continuing antibiotics encouraged	Changing antibiotics strongly encouraged

Fig. 1. Example of an algorithm for an individual guide of antibiotic therapy according to Bouadma *et al.* [3].

Ağır sepsiste PCT dayalı tedavi şeması. Bir örnek...

Farklı şemalardan hangisini seçelim?

Study	PCT test	Regimen in the PCT group	Regimen in the control group
Annane <i>et al.</i> 2013 [26]	Brahms PCT Kryptor	Medical patients: PCT <0.25 ng/mL: antibiotics not initiated or stopped PCT $\geq$ 0.25 and < 0.5 ng/mL: Antibiotics strongly discouraged PCT $\geq$ 0.5 and <5 ng/mL: antibiotics recommended PCT $\geq$ 5 ng/mL: antibiotics strongly recommended Surgical patients: PCT <4 ng/mL: antibiotics not initiated or stopped PCT $\geq$ 4 and <9 ng/mL: antibiotics recommended PCT $\geq$ 9 ng/mL: antibiotics strongly recommended	Antibiotic treatment at the discretion of the patient's physician

Procalcitonin Algorithms for Antibiotic Therapy Decisions

Schuetz et al. Arch Intern Med 2011

A Systematic Review of Randomized Controlled Trials and Recommendations for Clinical Algorithms

B

Evaluation at time of admission

PCT result	<0.10 µg/L	<0.25 µg/L	≥0.25 µg/L	>0.50 µg/L
Recommendation regarding use of Abx	Strongly discouraged	Discouraged	Encouraged	Strongly encouraged
Overruling the algorithm	Consider alternative diagnosis, or Abx if patients are clinically unstable, are at high risk for adverse outcome (eg, PSI classes IV-V, immunosuppression), or have strong evidence of a bacterial pathogen			
Follow-up/other comments	Reassess patients' condition and recheck PCT level after 6 to 12 hours if no clinical improvement is observed		Recheck PCT level every 2 to 3 days to consider early cessation of Abx	

Birinci basamak kuruluşlarda ve Acil Servis'te (hafif-orta infeksiyonlarda, ÜSYE ve ASYE) önerilmiş bir şema

Follow-up evaluation every 2 to 3 days

PCT result	<0.10 µg/L	<0.25 µg/L	≥0.25 µg/L	>0.50 µg/L
Recommendation regarding use of Abx	Cessation of therapy strongly encouraged	Cessation of therapy encouraged	Cessation of therapy discouraged	Cessation of therapy strongly discouraged
Overruling the algorithm	Consider continuation of Abx if patients are clinically not stable			
Follow-up/other comments	Clinical reevaluation as appropriate		Consider treatment to have failed if PCT level does not decrease adequately	

veya tepe PCT'nin %80-90 düşmesi ve stabil hasta

Excluding infection through procalcitonin testing improves outcomes of congestive heart failure patients presenting with acute respiratory symptoms: Results from the randomized ProHOSP trial

- 233 hasta PCT eşik değeri 0.25 ng/ml
- Acil servise solunum şikayetleri ile başvuran kalp yetmezliği hastalarına PCT şeması uygulanırsa antibiyoterapi süresi kısalıyor ve hasta sonuçları iyileşiyor

Shuetz et al. International Journal of Cardiology 2014

Use of procalcitonin for the diagnosis of pneumonia in patients presenting with a chief complaint of dyspnoea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial

1641 hasta

Kalp yetmezliği olan ve PCT 0.21 üstü olanlarda antibiyoterapi verilmez ise daha kötü sonuç ($P = 0.046$) düşük PCT'li (0.05) hastalarda ise antibiyoterapi verilmezse daha iyi sonuç elde edilmiş ($P = 0.049$).

Maisel et al. Eur J Heart Fail. 2012

- 1 ya da 2 PCT hipotansif hastada sepsis ekarte eder (NPV >%95)
- PCT kinetiği ab süresi için mükemmel, ama yetmez 99.9 olmalı ki YBÜ de güvenle keselim
- PCR pozitif, kültür negatif ise ne yapacağız?

Menenjit ve Biyobelirteçler (Meta-analiz)

- Bakteriyel vs. non-bakteriyel ayrımında serum ve BOS PCT, 22 çalışma, toplam 2058 hasta
- (Serum PCT eşik değeri = 0.15 ve 15 ng/ml arası) (BOS PCT eşik değeri genelde 0.5 ng/ml)

Şüpheli menenjitli olan bütün yetişkinlerde PCT bakılmalı;
Serum PCT BOS PCT'ye kıyasla üstün,
Negatif serum PCT bakteriyel menenjitli neredeyse ekarte ediyor !

TABLE 4. Overall Diagnostic Characteristics Associated with Blood PCT and CSF PCT

	Blood PCT	CSF PCT
Number of studies	20	5
Bacterial/nonbacterial	609/1192	153/270
Area under the SROC curve (95% CI)	0.98 (0.97–0.99)	0.90 (0.87–0.92)
Sensitivity (95% CI)	0.95 (0.89–0.97)	0.80 (0.61–0.91)
Specificity (95% CI)	0.97 (0.89–0.99)	0.86 (0.70–0.95)
Positive likelihood ratio (95% CI)	31.7 (8.0–124.8)	5.9 (2.4–14.0)
Negative likelihood ratio (95% CI)	0.06 (0.03–0.11)	0.23 (0.12–0.47)
Diagnostic odds ratio (95% CI)	568 (103–3141)	25 (8–78)
Inconsistency (I^2) (95% CI)	0.96 (0.92–0.99)	0.67 (0.26–1.00)

CI = confidence interval, CSF = cerebrospinal fluid, PCT = procalcitonin, SROC = summary receiver operating characteristic.

view and

PCT'yi artıran infeksiyon dışı nedenler

- Cerrahi, travma,
- Pankreatit (nekrotizan tipinde daha yüksek)
- İnhalasyon pnömoniti
- Yanık (bazı hastalarda ilk iki gün çok yüksek PCT)
- Uzun süreli resüsitasyon,
- Bazı otoimmün hastalıklar (Still Hastalığı, Kawasaki vb)
- Nöroendokrin tümörler (medüller tiroid ca), küçük hücreli akciğer ca, karsinoid tm ve feokromasitom
- Addison krizi, DRESS sendromu, amfetamin toksisitesi,
- Anti-timosit globülin (ATG) kullanımı,
- Yenidoğanda (bir haftaya kadar) fizyolojik olarak,
- Rabdomiyoliz, ciddi böbrek ve karaciğer disfonksiyonu, ciddi pankreatit
- Malign nöroleptik sendrom ve Bonzai kullanımı

1- Meisner M. Update on procalcitonin measurements. Ann Lab Med. 2014

2- Uçal-Bakkal S et al. Sepsisi Taklit Eden Bir DRESS Sendromu Olgusu. Klimik Dergisi. 2011; 24(2):132-4.

3- Schumm J et al. An unusual case of progressive shock and highly elevated procalcitonin level. Am J Crit Care. 2010 Jan;19(1):9

4- Brodsky H et al. Marked increase of procalcitonin after the administration of anti-thymocyte globulin in patients before hematopoietic stem cell transplantation does not indicate sepsis: a prospective study. Crit Care. 2009;13(2):R37

5- Muller et al Swiss Med Wkly 2001; 131: 595-602

6- Kapmaz M et al. Prokalsitoninemiye yol açan infeksiyon dışı bir neden: malign nöroleptik sendrom. Abstract No: 18, Antibiyotik Yönetim Sempozyumu, 6-8 Ekim 2016, İst,

7- Kapmaz M, et al. Bonzai Kullanımıyla İlişkili Ağır Konvülsif Tablo ve Akciğer Tutulumu: Çok Yüksek Prokalsitoninemi Nedeni. Abstract No: 27, Antibiyotik Yönetim Sempozyumu, 6-8 Ekim 2016, İst

PCT'nin art(a)madığı durumlar

PCT sistemik tutulumu olmayan infeksiyonlarda tarama testi olarak kullanılmamalıdır !!

Lokal bakteriyel infeksiyonlar

Tonsillit

Minör yumuşak doku infeksiyonu

Apse, ventriküler drenaj kateter infeksiyonu

Lokal apandisit ve kolesistit

Toksine bağlı infeksiyonlar

Sepsis düşünülüyorsa PCT düşük çıksa bile her halükarda tedavi başlanır, ancak tanı kesinleşene kadar 12, 24, 36.saatlerde PCT tekrarı önerilir.

Negatiflik devam ediyorsa antibiyotik kesilir

Surviving Sepsis Kampanyası

Ağır sepsis ve septik şok rehberi:

PCT (ve diğer biyobelirteçlerin) sepsis/SIRS ayırımında önerilemeyeceği belirtilmekte

Ancak ilk anda septik görünen bir hastada sonrasında infeksiyon kanıtı yoksa ve PCT (veya diğer biyobelirteçler) düşük ise antibiyotiği kesmeye yardımcı olabileceği bildirilmekte (kanıt 2C)

IDSA

Implementing an Antibiotic Stewardship Program, 2016

YBÜ'de yatan ve infeksiyon şüphesi olan hastalarda, antibiyotik yönetiminin bir parçası olarak tüketimi azaltmak amaçlı günlük PCT takibi önerilmekte (zayıf öneri, orta kalite kanıt)

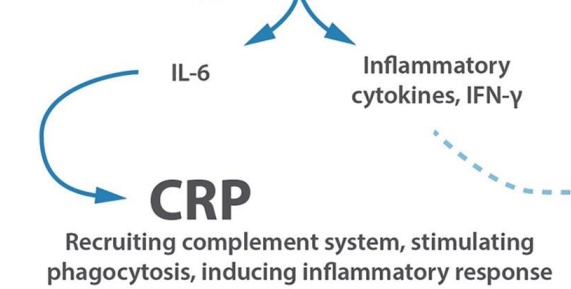
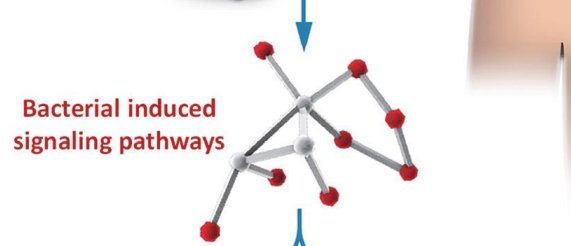
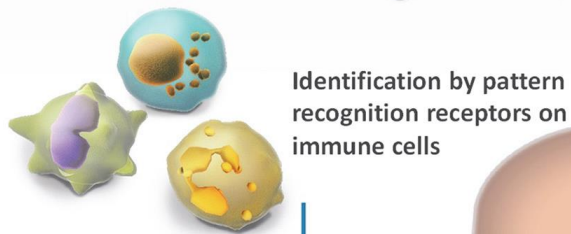
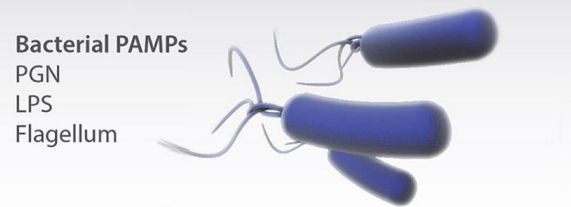
Yüksek Performanslı Biyobelirteçler

İstatistiksel Anlamlı Sonuç Veren

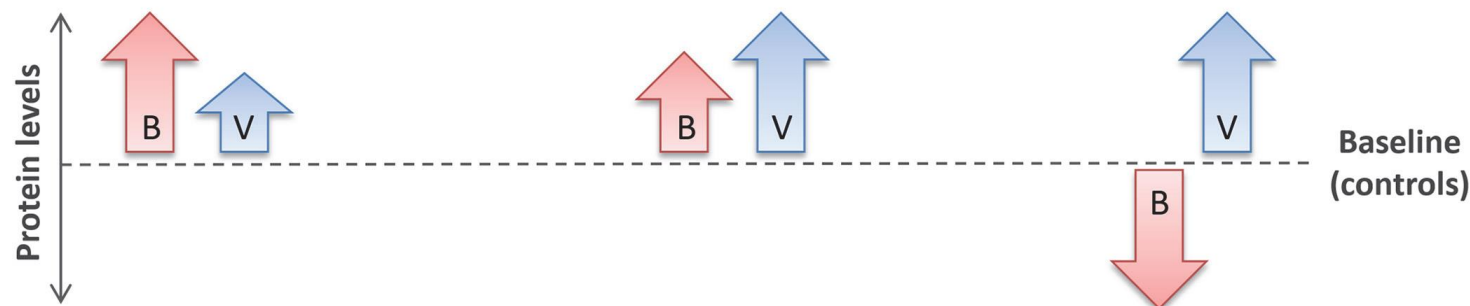
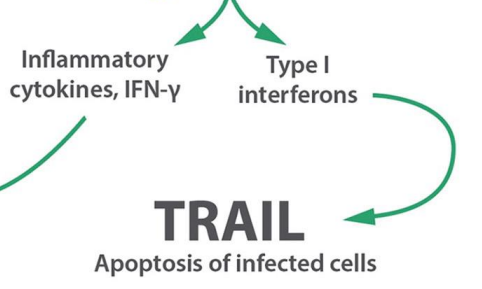
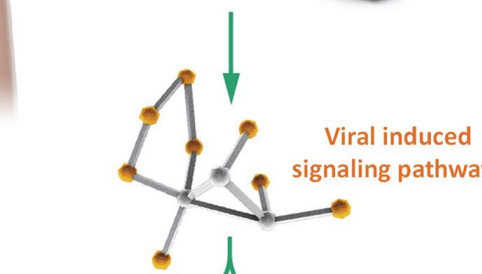
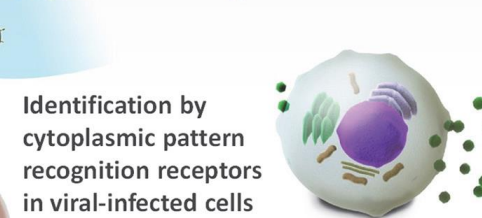
Biyobelirteç	İnfeksiyon	Hastalar (Çalışma sayısı)	Sensitivite	Spesifite	Eşik değer
Heparin Bağlayan Protein (HBP)	B/V menenjit (BOS), B/V (Kan)	Yetişkin (2)	100 (BOS)	99.2 (BOS)	>20 ng/ml
CRP + IP-10 + TRAIL	B/V (Kan)	Yetişkin ve pediatrik (1)	95 (Kan)	91 (Kan)	<i>Bkz. resim</i>
48-Gene classifier (SeptiCyte ©)	V/B solunum yolu infeksiyonu (Kan)	Yetişkin (1)	89 (Kan)	94 (Kan)	-
MxA (FebriDx ©)	V/B (Kan)	Pediatrik (1)	87.1	90.9	36.7 ng/ml

B/V: Bakteriyel vs. Viral

BACTERIAL INFECTION



VIRAL INFECTION



Oved et al. A Novel Host-Proteome Signature for Distinguishing between Acute Bacterial and Viral Infections. PLoS ONE 2015; 10(3)

Antibiyotik Yönetiminde Hızlı Tanı Testleri



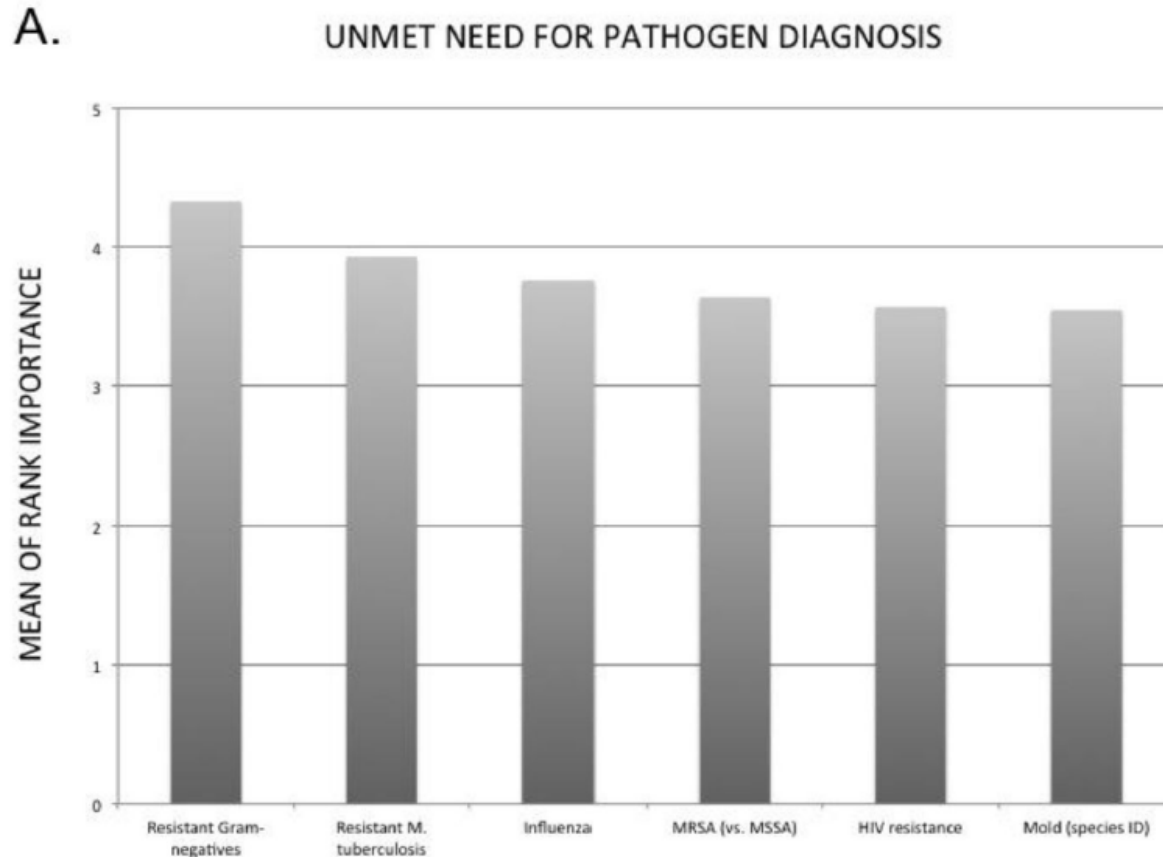
Unmet Diagnostic Needs in Infectious Disease

1572 IDSA üyesine e-anket, 700'ü (%44.5) cevaplamış:

1- En önemli karşılanmamış ihtiyaç; **dirençli G(-) negatif basil tanısı**

2- %50 katılımcı: 'Diagnostics Stewardship' gerekliliğine inanıyor: 'Gereksiz istem, kim yorumlayacak?' vb

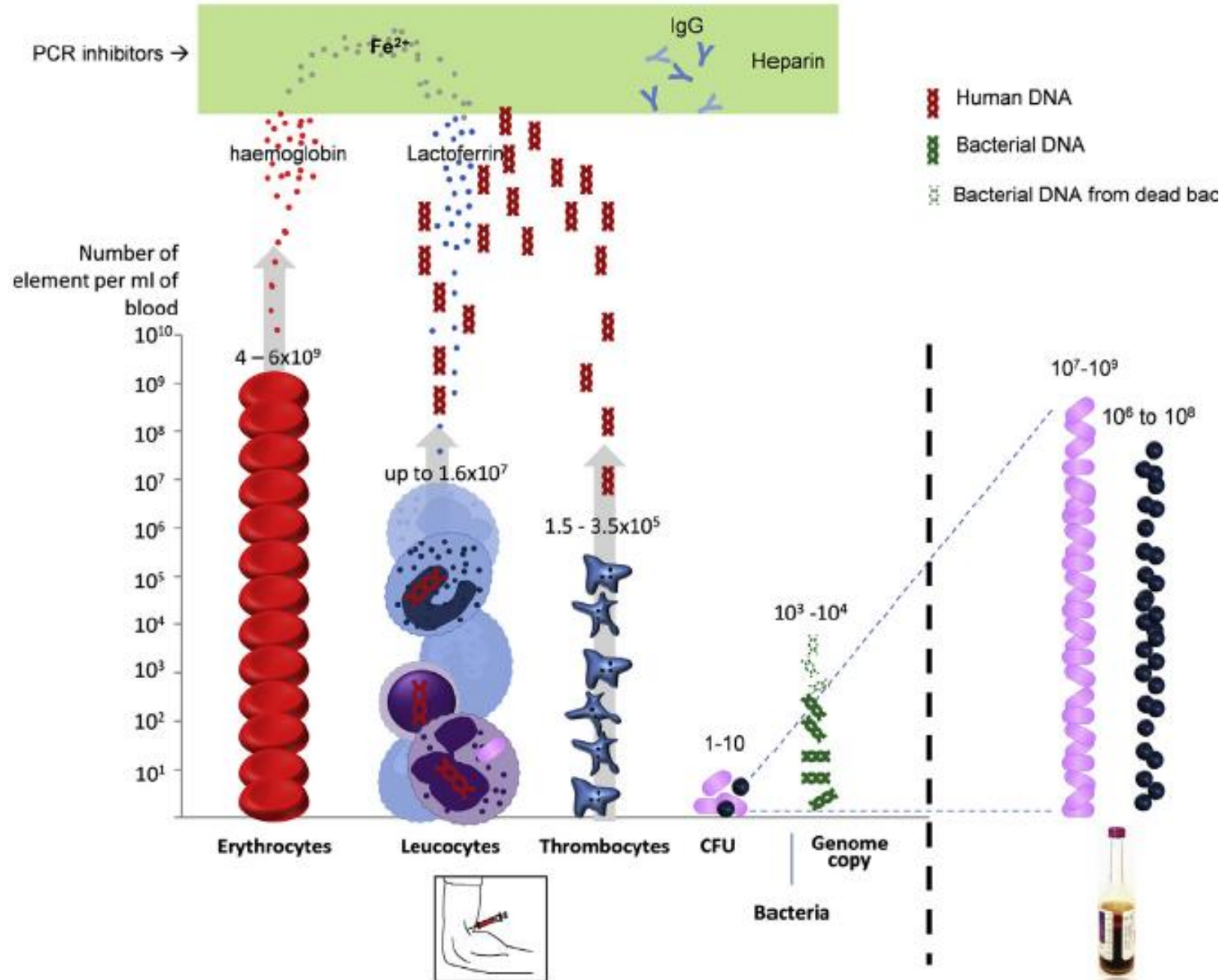
3- Testin hızı: Influenza için <1 saat; KDİ etkeni için <12 saat; MDR tbc için <24 saat 'yeterli' görülmüş



Blaschke AJ, et al. Diagn Microbiol Infect Dis. 2015

Whole blood

Blood-Culture



Sepsis
paucibakteriyel bir infeksiyondur

Opota et al. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. Clin Microbiol Infect 2015

EMPIRIC ANTIMICROBIAL TREATMENTS

ADJUSTMENT/DEESCALATION

Opota et al. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. Clin Microbiol Infect 2015

DIAGNOSIS FROM WHOLE BLOOD

PCR/ESI-MS
PlexID (6h)

PCR

MagicPlex (6h)
SepsiTest (6h)
SeptiFast (PCR 6h)
VYOO (8h)

BLOOD CULTURE DEPENDENT DIAGNOSIS

Microarrays
(2.5-5)
Verigene
Prove-it Sepsis

POCT PCR
(1-2h)

Xpert MRSA/SA BC
StaphSR assay
StaphPlex
FilmArray

FISH
(1h)

MALDI-TOF
MS
(<1h*)

Gram

Positive BC

PCR + Sequencing
(12h)

Automated systems
(2-18h)
Vitek, Phoenix

SUBCULTURE
DEPENDENT

- PCR-based methods
- Nucleic-acid hybridization-based methods
- Mass Spectrometry-based methods
- Phenotypic methods

*on a bacterial pellet from positive BC

BLOOD CULTURE

CONVENTIONAL IDENTIFICATION AND SUSCEPTIBILITY TESTING

0 2 4 6 8 12 24 hours 36

Bu testler
LOS'u kısaltıp
maliyet etkin
olabilir, ancak
daha çok ve
kuvvetli kanıt
ihtiyaç
bulunmakta

Direk Kandan Moleküler Yöntemler

Bakteriyemiği değil DNAemiği ölçer

Yüksek hacimde kan çalışılmaz. Pediatri için çok uygun

Hedef DNA amplifikasyonu pürüzsüz olmalı

Bakteri kanda homojen dağılmayabilir

İnsan DNA'sı birlikte saflaştırılmamalı. Kontaminasyona açıktır

Doğası gereği daha çok pozitiflik yakalar ama kültüre göre yalancı negatiflikleri de vardır

Kandan direkt bakteri identifikasyonu

1- PCR sonrası identifikasyon

2- PCR sırasında identifikasyon (Multipleks real-time PCR)

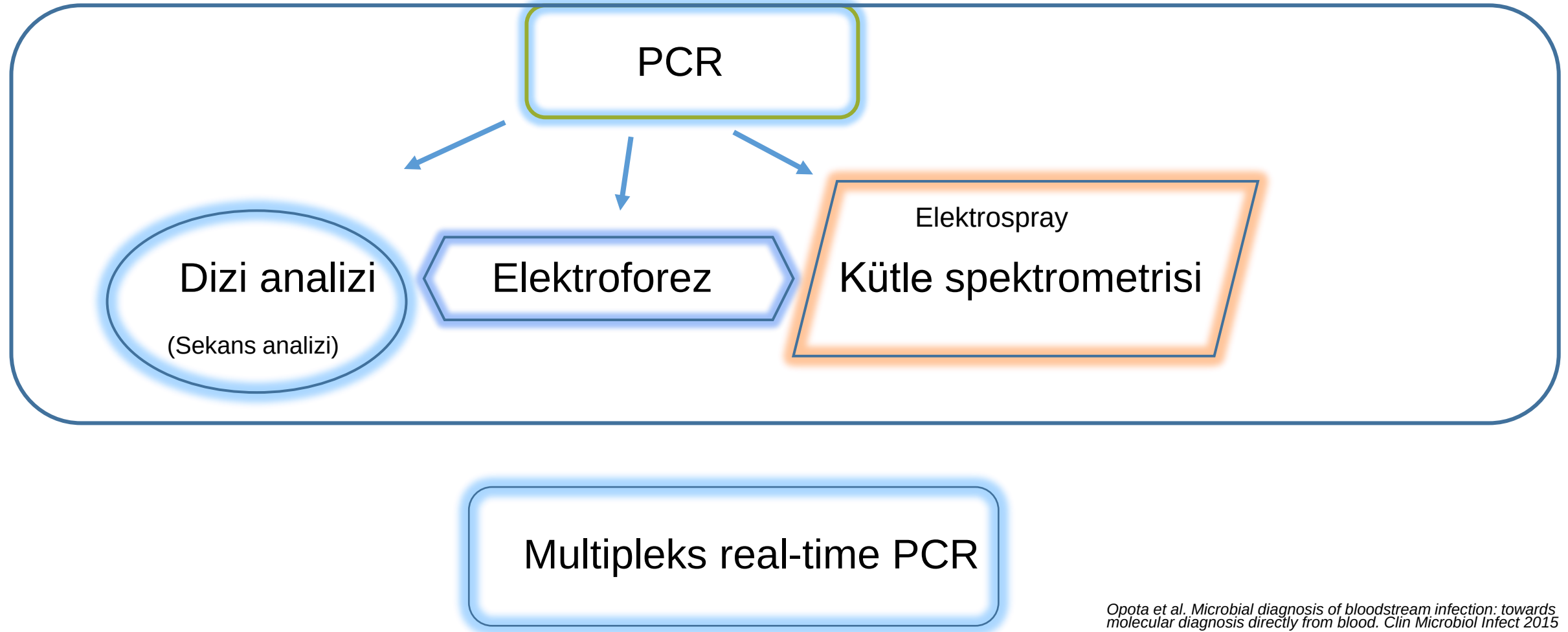


TABLE 1. Main commercially available systems for identification of microbes directly from blood samples

System	Method	Time to result (hours)	Blood volume (mL)	Microorganism coverage	Resistance and virulence markers	Sensitivity, specificity, and correlation with conventional methods (%)	Comments	Ref.
SepsiTest Molzym, Bremen, Germany	Broad-range PCR + sequencing	6	1–10 ^a	>345 bacteria (Gram positive and Gram negative) and fungi	0	21–87, 85–96, NR	Pros: can be used in other sterile samples; Cons: variable sensitivity and specificity	[43,56,58–61]
SeptiFast Roche Molecular System, Basel, Switzerland	Multiple broad-range real-time PCR	3.5–5	1.5	6 Gram positive, 8 Gram negative, 5 fungi	<i>mecA</i> ^b	43–95, 60–100, 43–83	Pros: time to result; Cons: variable sensitivity and specificity, no quantification	[35–53,74]
MagicPlex Seegene, Seoul, Korea	Multiple PCR + multiplex real-time PCR	3–5	#	21 bacteria (Gram positive and Gram negative) at species level (90 at genus level), 6 fungi	<i>mecA</i> , <i>vanA/B</i>	37–65, 77–92, 73	Pros: fast; Cons: limited number of studies, succession of reaction and device, no quantification	[55,56]
VYOO SIRS-Lab, Jena, Germany	Multiplex PCR + electrophoresis	8	5	14 Gram positive, 18 Gram negative, 7 fungi	0	NR, NR, 70	Pros: highly sensitive; Cons: limited number of studies, several manual steps	[59,63,75]
PLEX-ID, Abbott Molecular, Carlsbad, CA, USA	Multiplex broad-range PCR/ESI-MS	6	1.25–5 ^c	Up to 800 (Gram positive, Gram negative, fungi)	<i>mecA</i> , <i>bla_{KPC}</i> , <i>vanA/B</i>	50–91 ^d , 98–99, 79–97	Pros: universal, detection of mixed bacterial populations, semiquantitative; Cons: no interventional studies	[11,76,77]

ESI-MS, electrospray ionization mass spectrometry.

Acil Servis hastasında 1 ml yetmezken, YBÜ’dekine yetebilir

PCR sırasında identifikasyon (Multipleks real-time PCR)

- **SeptiFast** 75.000 \$

Kan kültürü ile korelasyon %43-83. KNS ve streptokokları atlayabilir

- **MagicPlex Sepsis**

En hızlısı. 3 saat

PCR sonrasında identifikasyon

- **SepsiTest** 75.000 \$

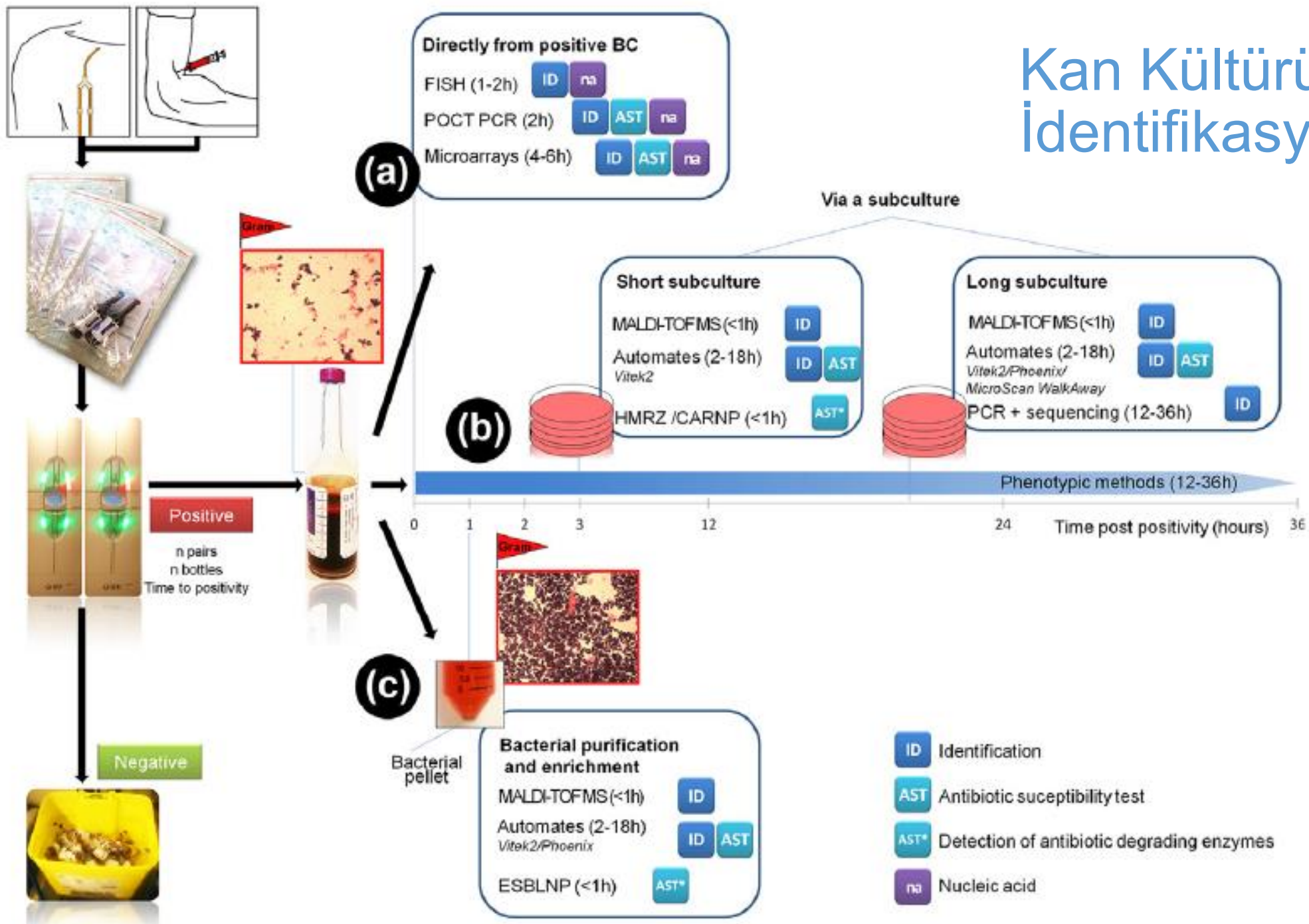
Pek çok yarı-otomatize basamak. Sonuç 8 saati geçebilir. Kontaminasyona açık

- **VYOO** 200.000 \$

- **PCR/ESI-MS** 200.000 \$

Steril olmayan örneklerde de çalışabilir

Kan Kültüründen İdentifikasyon



Opota et al. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. Clin Microbiol Infect 2015

TABLE 2. Characteristics of the commercially available systems for the identification of microbes from positive blood culture

System (Manufacturer)	Methods	Time to result	Microorganism coverage	Resistance and virulence markers	Sensitivity Specificity Correlation with conventional methods (%)	Comments
PNA FISH and QuickFISH (AdvanDx, Woburn, MA, USA)	FISH	<1–3 hours	4 Gram positive 4 Gram negative 5 Fungi	0	97–100 90–100 96–99	+ : rapid, sensitive and specific – : dependent on the choice of the probes to be tested, no resistance marker
AccuProbe (Gen-Probe, San Diego, CA, USA)	FISH	<1 hour	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus</i> group A <i>Streptococcus</i> group B	0	80.8–100 98.7–100 nr	+ : high specificity – : variable sensitivity, no resistance marker, limited number of publications
Verigene (Nanosphere, Northbrook, IL, USA)	Microarray	2.5 hours	12 Gram positive 9 Gram negative	<i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , KPC, NDM, CTX-M, VIM, IMP, OXA12	81–100 98–100 nr	+ : detection of resistance markers, good specificity – : variable sensitivity, narrow range of pathogens detected
Prove-it Sepsis (Mobidiag, Esbo, Finland)	Microarray	3.5 hours	60 bacteria 13 fungi	<i>mecA</i>	95% 99% nr	+ : sensitive and specific – : limited number of publications
FilmArray (Idaho Technology, Salt Lake City, UT, USA)	Multiplex PCR	1 hour	8 Gram positive 11 Gram negative 5 Fungi	<i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , KPC	97–95 91–98 nr	+ : rapid, sensitive and specific – : narrow range of pathogens detected
Xpert MRSA/SA BC (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)	Real-time PCR	1 hour	<i>S. aureus</i>	<i>mecA</i>	100 99–100 nr	+ : rapid, sensitive and specific – : expensive
StaphSR assay (BD GeneOhm, San Diego, CA, USA)	Multiplex PCR	1–2 hours	<i>S. aureus</i>	<i>mecA</i>	96–100 95–98 nr	+ : rapid, sensitive and specific – : expensive
StaphPlex (Genaco Biomedical Products, Huntsville, AL, USA)	Multiplex PCR + Microarray	5 hours	<i>S. aureus</i>	<i>mecA</i> (+ PVL)	100 95–100 92	– : limited number of publications
MALDI-TOF MS Brucker Daltonics (Bremen, Germany) bioMérieux (Marcy l'Etoile, France)	Mass-spectrometry	<1 hour	<1000 ^a	not in routine	– – 76–99	+ : rapid, sensitive and specific – : significant hands on time for bacterial enrichment

16S Ribosomal Ribonucleic Acid Gene Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis of Bloodstream Infections: A Systematic

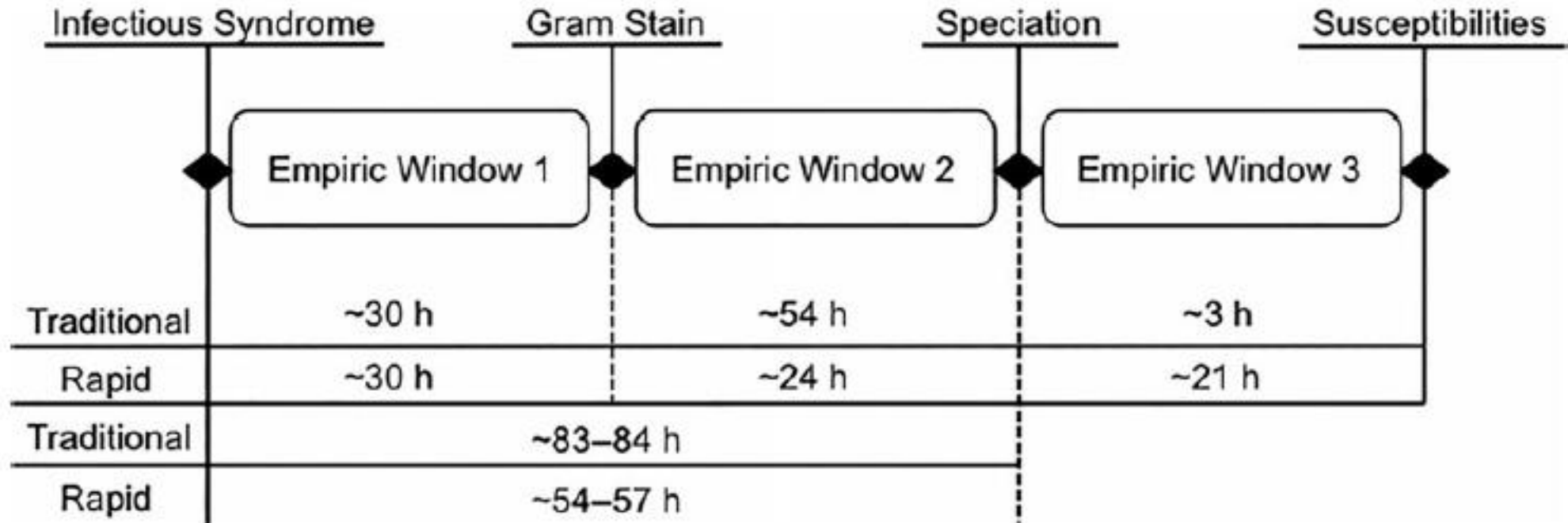
Su et al, PLoS ONE 2015

Table 2. Summary of subgroup analysis of the included studies by different study characteristics.

Subgroups	No. of Studies	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PLR (95% CI)	NLR (95% CI)	DOR (95% CI)	AUC	Q*
Overall	28	0.87 (0.85–0.89)	0.94 (0.93–0.95)	12.65 (8.04–19.90)	0.14 (0.08–0.24)	116.76 (52.02–262.05)	0.9690	0.9183
Population characteristics								
Neonates	17	0.85 (0.81–0.88)	0.96 (0.95–0.96)	13.19 (7.08–24.57)	0.14 (0.06–0.29)	121.17 (41.97–349.79)	0.9714	0.9221
Adult patients	3	0.79 (0.69–0.87)	0.77 (0.73–0.81)	4.37 (1.17–16.34)	0.24 (0.05–1.14)	25.86 (1.69–395.53)	0.7668	0.7074
Disease type								
Sepsis	15	0.90 (0.87–0.93)	0.95 (0.95–0.96)	11.36 (5.76–22.41)	0.12 (0.05–0.29)	108.89 (33.22–356.94)	0.9681	0.9168
Bacteremia	7	0.77 (0.71–0.82)	0.94 (0.93–0.95)	25.97 (7.54–89.42)	0.20 (0.08–0.47)	158.82 (24.81–1016.59)	0.9304	0.8656
Test method								
PCR	15	0.88 (0.84–0.91)	0.95 (0.94–0.95)	13.06 (6.42–26.58)	0.14 (0.06–0.32)	120.94 (31.82–459.64)	0.9653	0.9124
PCR-sequencing	3	0.83 (0.74–0.90)	0.83 (0.79–0.86)	6.17 (1.96–19.45)	0.20 (0.13–0.32)	30.61 (9.76–95.99)	0.8946	0.8255
PCR-hybridization	3	0.98 (0.95–0.99)	0.97 (0.95–0.98)	37.98 (4.78–301.89)	0.03 (0.01–0.13)	1568.82 (431.48–5703.98)	0.9958	0.9751
Real-time PCR	3	0.73 (0.65–0.80)	0.93 (0.90–0.95)	9.06 (4.77–17.21)	0.21 (0.06–0.76)	40.16 (9.68–166.52)	0.9458	0.8849

CI, confidence interval; PLR, positive likelihood ratio; NLR, negative likelihood ratio; DOR, diagnostic odds ratio; AUC area under the curve; Q*, Q point value.

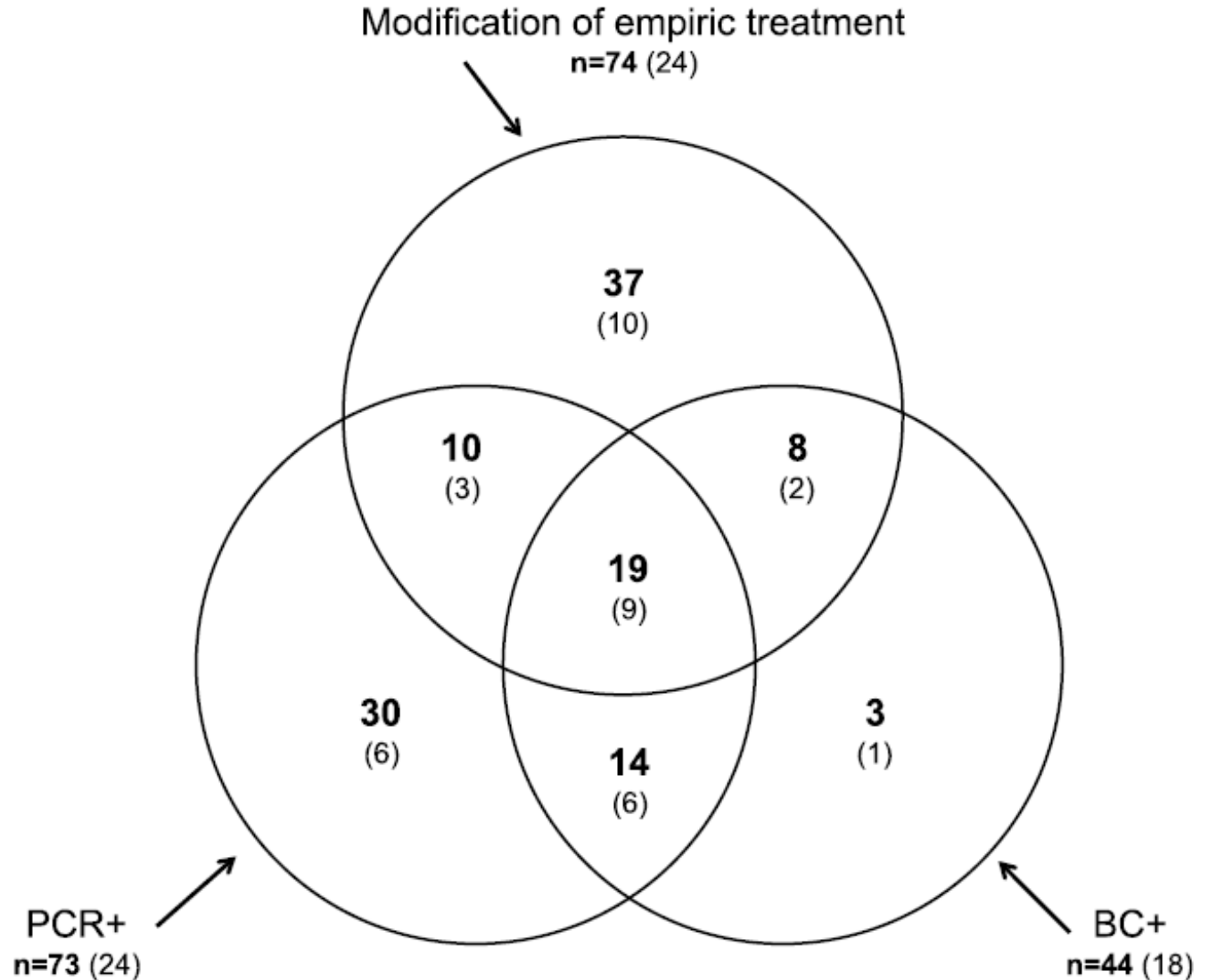
Bakteriyoloji'de Ampirik Tedavi Pencerelemi



Cost and mortality prediction using polymerase chain reaction pathogen detection in sepsis: evidence from three observational trials

- 189 hastaya ait 221 sepsis epizodu
- SeptiFast ampirik tedavide – kültür çıkmadan önce- önemli değişikliğe yol açıyor:
- Eğer YBÜ'de %25'den fazla bir yetersiz ampirik tedavi söz konusu ise bu YBÜ'de kullanılacak SeptiFast kendi maliyetini kurtarıyor

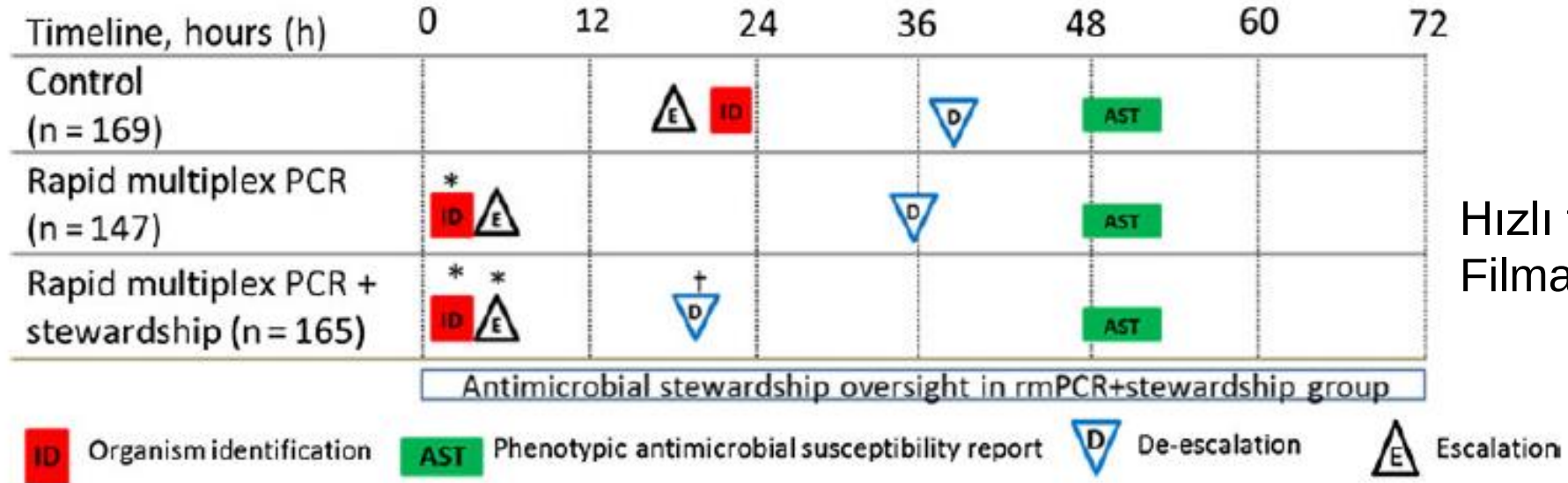
Lehmann et al. Critical Care 2010



The SUCCESS model for laboratory performance and execution of rapid molecular diagnostics in patients with sepsis

- 6 ayda 579 Gram pozitif bakteriyemi ve 28 kandidemi epizodu
SUCCESS modeli
 - Kan kültürü pozitifliği sonrası Verigene BC GP ve Yeast PNA FISH kullanılmış
 - Ayrıca eğitim, 7/24 açık telefon, bilgi notları, seçilmiş personel
- Sonuç:
 - Kan kültürü pozitifliğinden 3 saat sonra klinisyene sonuç bildirimi,
 - MSSA ve VRE'de anlamlı düzeyde erken uygun tedavi,
 - Ampirik dönemde uygun tedavi alan hasta oranı %64'den %80'e yükselmiş
 - SIKI DURUN!İnfeksiyoncu ve klinik farmakolog maliyetinde azalma

Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing



Hızlı test olarak
Filmarray kullanılmış

Figure 2. Comparison of time to organism identification, availability of phenotypic antimicrobial susceptibility results, and first appropriate modification of antimicrobial therapy for the subset of study subjects with organisms represented on the rapid multiplex polymerase chain reaction (rmPCR) panel (n = 481). Time 0 is when the positive Gram stain result was reported. Median time in hours (interquartile range [IQR]) to organism identification: control 22.3 (17–28), both rmPCR and rmPCR + stewardship 1.3 (0.9–1.6); de-escalation: control 39 (19–56), rmPCR 36 (22–61), rmPCR + stewardship 20 (6–36); escalation: control 18 (2–63), rmPCR 4 (1.5–24), rmPCR + stewardship 4 (1.8–9). * $P < .05$ vs control; † $P < .05$ vs control and rmPCR groups.

Procalcitonin Predicts Real-Time PCR Results in Blood Samples from Patients with Suspected Sepsis

- Şüpheli sepsis olan 1029 ateşli hastada eş zamanlı hemokültür, SeptiFast ve prokalsitonin bakılmış
- Pct = 0.37 ng/ml değerinin kan kültürü veya PCR'da pozitiflik açısından NPV'sinin %99 olduğu saptanmış
- Pct < 0.37 ng/ml olan hastada sepsis tanısı için SeptiFast gönderilmesin. Bu sayede gereksiz istek %53 azalmakta (Endokardit hariç)

Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia

----- İki merkezde hospitalize edilen toplum kökenli pnömonili 323 hasta
Balgam (%96) ve ETA (%4) alınmış

-----Multipleks real time PCR (26 bakteri ve virus)

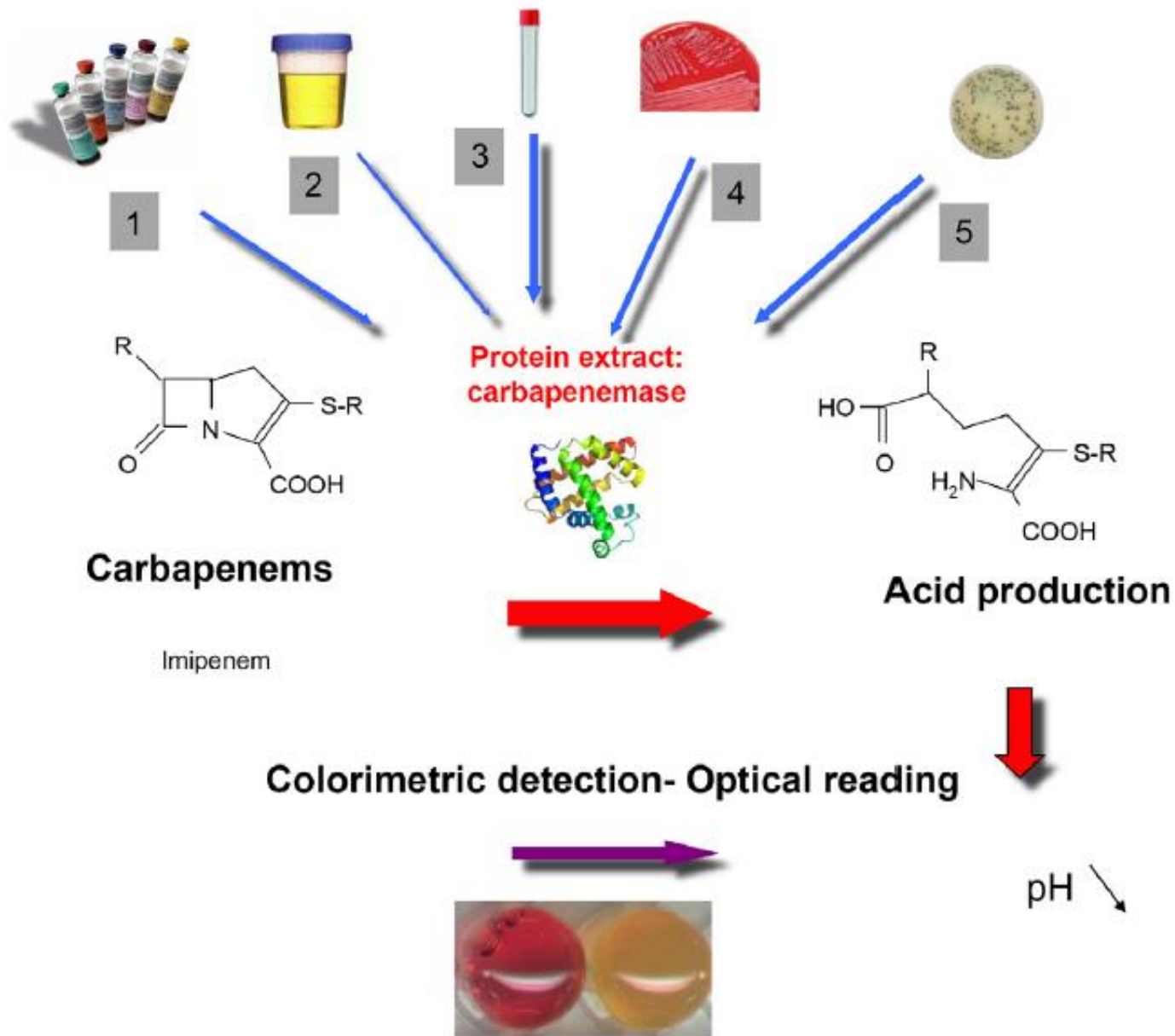
Sonuçlar

PCR ile %87 pozitiflik vs. kültür ile %39 pozitiflik.

PCR ile %77 hastada deeskalasyon (En çok Klaritromisin (n=108) kesilmiş)

PCR ile %6 vakada ise eskalasyon

**** Kapsamlı PCR TKP'de patojen saptanmasını anlamlı ölçüde artırmış ve erken de-eskalasyon imkanı tanımış



Carba NDP testi

Kan kültüründe 3-5
saat içinde
karbapenemaz tayini

(%97.9 sensitivite
%100 spesifite)

*Nordmann et al. Infections due to NDM-1 producers.
In: Ergönül eds, Emerging Infectious Dis 2014, Elsevier*

FIGURE 21.3 Principle of the detection of carbapenemase activity using the Carba NP test. The following starting samples may be used: blood cultures (1), urines (2), other clinical samples (3), isolated bacteria (4), or bacteria grown on selective culture media (5).

Rapid Molecular Diagnostics, Antibiotic Treatment Decisions, and Developing Approaches to Inform Empiric Therapy: PRIMERS I and II

PRIMERS 1 çalışması: 72 dirençli *E.coli* ve *K.pneumoniae*

- PCR-ESI-MS
- DNA microarray (Check-Points)
- Multiplex platform, molecular beacons (MB)
- Yeni nesil dizilme (Ion Torrent)

Beta-laktamaz genleri saptandı; %95 vakada fenotipik duyarlılık ve direnç doğru tahmin edildi

PRIMERS 2 çalışması: 196 duyarlı veya dirençli *E.coli* ve *K.pneumoniae*

PCR-ESI-MS ve Multiplex platform, molecular beacons (MB)

Sefalosporin ve karbapenem duyarlılığını >%90 vakada doğru saptadı; ancak pip-tazobaktam duyarlılığını <%80 vakada saptadı. Direnci saptamada ise başarısız

Bu platformlar bakterinin duyarlılığını saptamada (direnç prevalansı bilinmek kaydıyla) AMY'de yardımcı olabilir

The Ethics of Testing a Test: Randomized Trials of the Health Impact of Diagnostic Tests for Infectious Diseases

Tanı testleri, ilaç ve aşılarından farklıdır;

Tanı testleri 'halk sağlığını iyileştireceğine' dair randomize kanıt olmaksızın lisans almaktadır (genelde)

Dengeli (Equipoise)

Çok yüksek duyarlı testler; halk sağlığında iyileşmeyi garanti etmeyebilir

Equity (Eşitlik)

Tanı testinin etkisi kuruma özgü kalabilir; her düzeye hitap edebilmeli (Rutin ve dezavantajlı kurumlar dahil)

Bilgilendirilmiş onam

Randomize çalışmalarda girişim kolunda yeni teste onam vermeyen hastalara standart tedavi verilmeyebilmekte

3 önemli etik kural...

SON SÖZ (70 yıl öncesine ait)

‘...(tıp) öğrencilerinizin şunu unutmasına asla izin vermeyin, bir insanı anlamak için bir insan gerekir, makine değil.’

Allen RB. Medical Education and the Changing Order. The Commonwealth Fund, 1946

Schuetz et al. Biomarker-guided personalised emergency medicine for all – hope for another hype? Swiss Medical Weekly 2015

**HASTANEMİZDE
KIZ BAKANA
ANTİBİYOTİK YOKTUR!**