

Antimikrobiyal Direnç Testlerinin Yorumlanması

Prof. Dr. Ayşe Willke Topcu

7 Ekim 2016

İstanbul

Konu İçeriği

- Antibiyotik duyarlılık/dirençlilik testleri
- Yöntemler
- Antibiyotik duyarlılık testlerinin değerlendirilmesi
- Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlanması
- Uzman kurallar
 - İntrinsik (doğal) direnç,
 - Beklenmeyen direnç fenotipleri
 - Yorumlama kuralları
- Sınırlı antibiyogram bildirimi

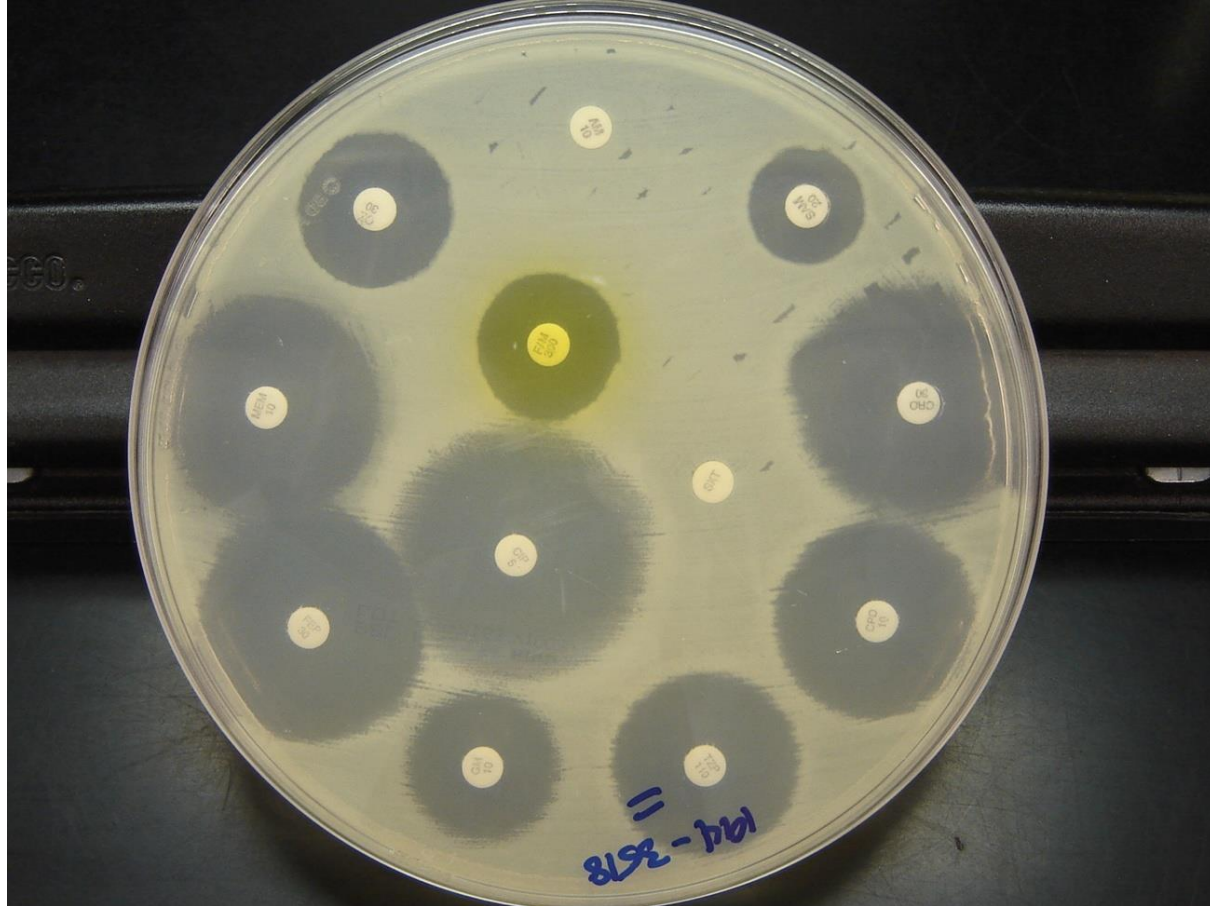
Antibiyotik duyarlılığını saptama

- Antibiyotiğin çeşitli konsantrasyonları ile saf kültürden alınan belli miktardaki bakterinin uygun koşullarda in vitro karşılaştırılması esasına dayanır
- Böylece enfeksiyon etkeni bakterin vitro sonuçlara dayanılarak in vivo etkinlik durumu öngörülür

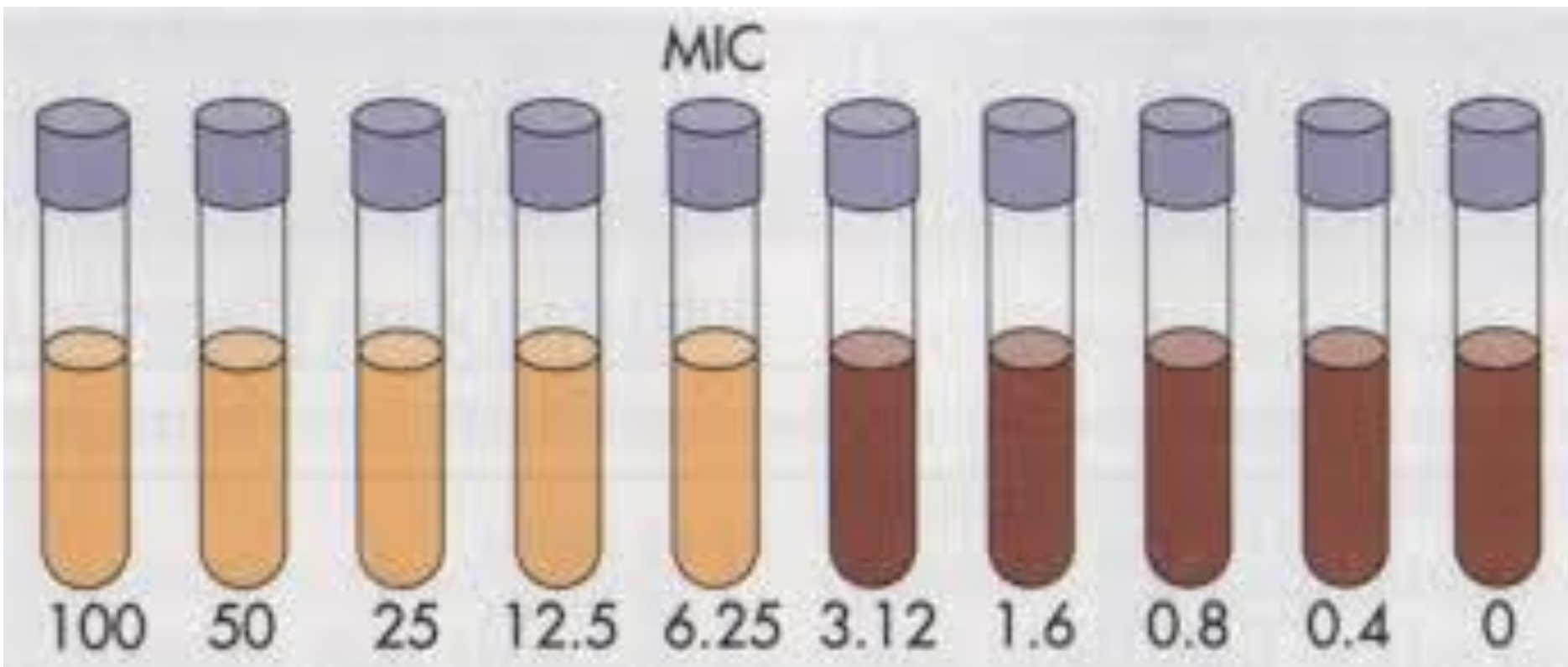
Antibiyotik duyarlılığını saptama yöntemleri

- Disk difüzyon
- Dilüsyon yöntemleri
- Gradient difüzyon (Örn:Etest)
- Otomatize sistemler

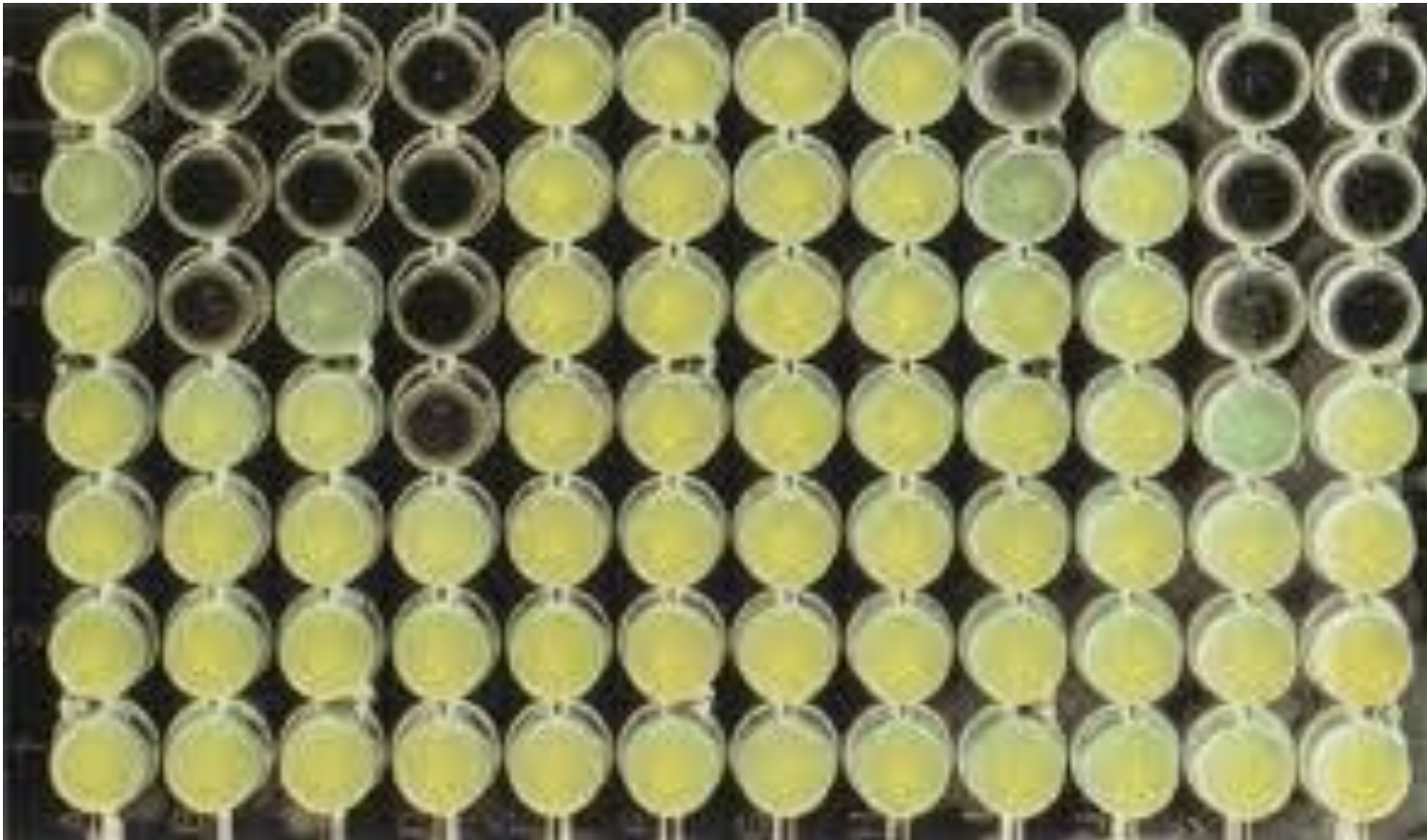
Disk difüzyon: İnhibisyon zon çapı ölçülür



Makro tüp dilüsyon: MIC belirlenir
mg/L veya mcg/ml



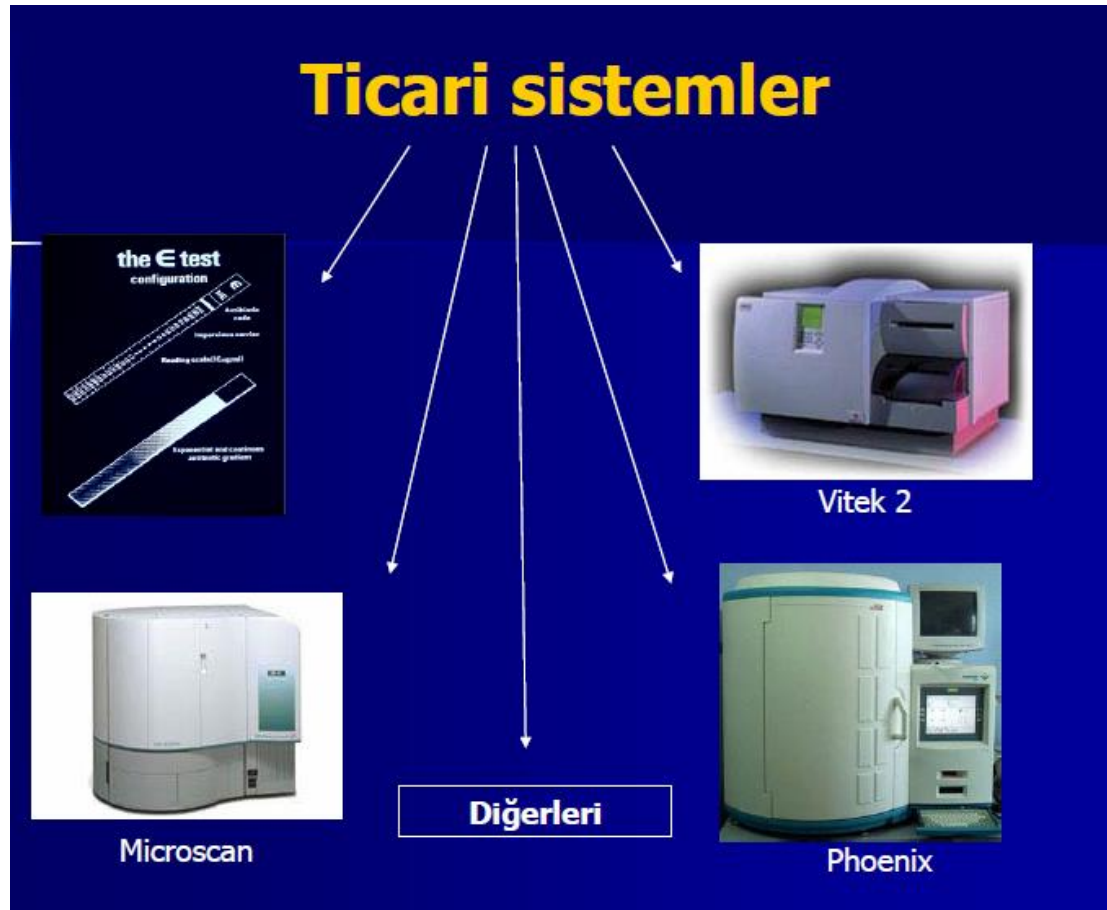
Mikro tüp dilüsyon: MIC belirlenir



Gradient difüzyon: MIC belirler



Otomatize sistemler belli sayıda MIC aralığını belirler ve buna göre direnç durumunu gösterir



Antibiyotik duyarlılık testi değerlendirilmesi

- S:sensitif (duyarlı)
- R:rezistan (dirençli)
- I: intermediate (orta)

Antibiyotik duyarlılık testi değerlendirilmesi

- Disk difüzyon testinde zon çaplarının belli bir değerin (mm) üzerinde olması
- MIC belirleniyorsa MIC düzeyinin belli bir değerin (mg/L) altında olması duyarlılığı gösterir
- Orta değerlere “doza bağımlı duyarlı (S-DD)” da denmektedir

Enterobacteriaceae

Cephalosporins ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Cefaclor	-	-	-	-	-
Cefadroxil (uncomplicated UTI only)	16	16	30	12	12
Cefalexin (uncomplicated UTI only)	16	16	30	14	14
Cefazolin	-	-	-	-	-
Cefepime	1	4	30	24	21
Cefixime (uncomplicated UTI only)	1	1	6	17	17
Cefotaxime	1	2	6	20	17
Cefoxitin (screen) ²	NA	NA	30	19	19
Cefpodoxime (uncomplicated UTI only)	1	1	10	21	21
Ceftaroline	0.5	0.5	6	23	23
Ceftazidime	1	4	10	22	19
Ceftibuten (UTI only)	1	1	30	23	23
Ceftriaxone	1	2	30	23	20
Cefuroxime iv	8 ³	8	30	18	18
Cefuroxime oral (uncomplicated UTI only)	8	8	30	18	18

Carbapenems ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	2	10	24	21
Ertapenem	0.5	1	10	25	22
Imipenem ²	2	8	10	22	18
Meropenem	2	8	10	22	18

Standart tablolaradaki değerlere göre duyarlı, orta, dirençli olarak değerlendirilir

EUCAST Sınır değerleri

Tabloları(Enterobacteriaceae)

Aminoglyco sides¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Amikacin	8	16	30	16	13
Netilmicin	2	4	10	17	14
Gentamicin	2	4	10	15	12
Tobramycin	2	4	10	17	14

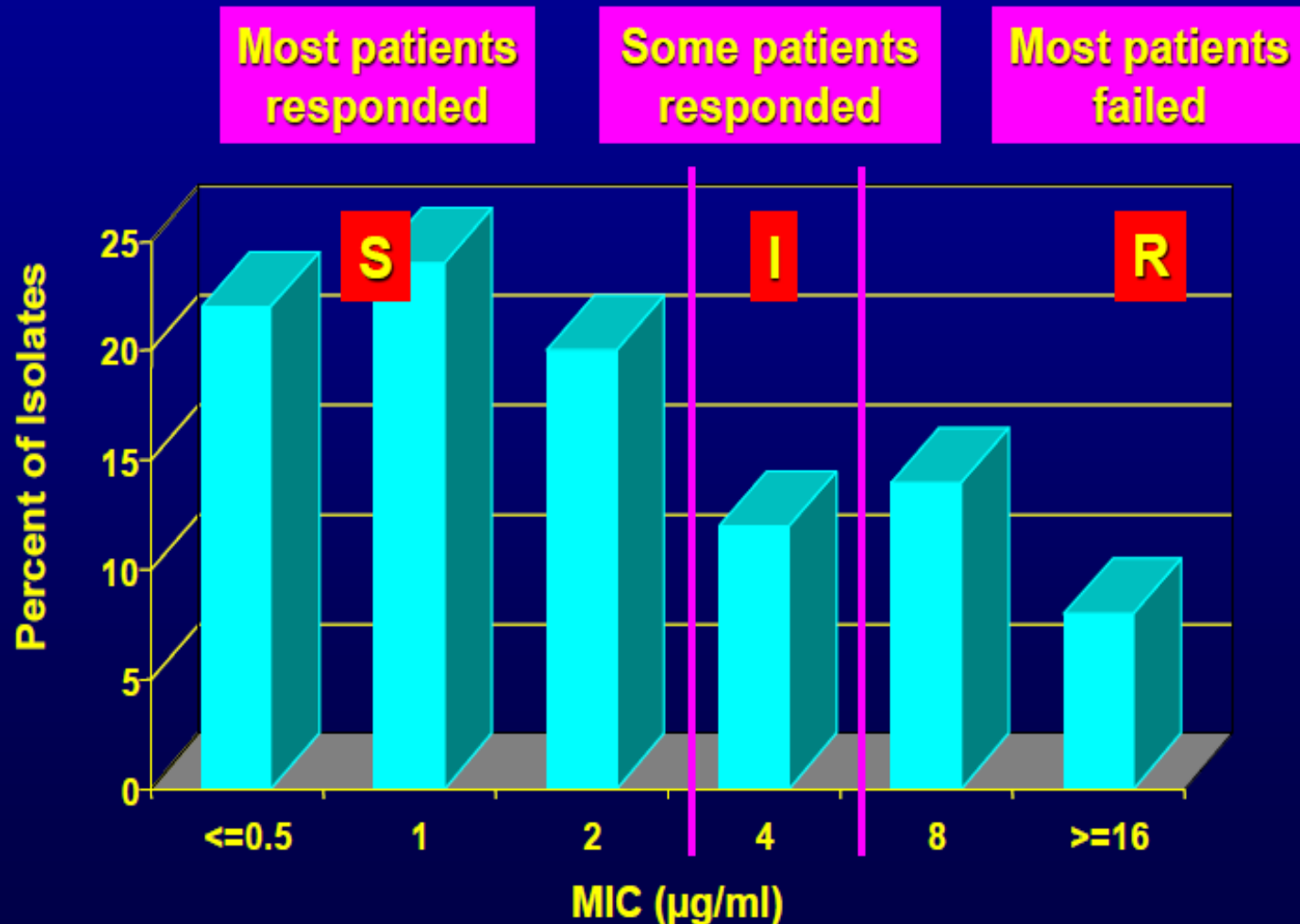
“I” (Orta dirençli) kategorisi yok

Sınır değerleri belirleyen kuruluşlar

- ABD’de “Food and Drug Administration” (FDA)
- “Clinical Laboratory Standards Institute” (CLSI)
- Avrupa’da ise “The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing” (EUCAST)
- Daha önceleri CLSI kuralları kullanılırken güncel olarak ülkemizde EUCAST kurallarına göre çalışılmaktadır

Clinical Breakpoint $\leq 4 \mu\text{g/ml}$

P. aeruginosa (n=100) (Hypothetical Drug X)



PK/PD Data

**Microbiological
Data**

**Clinical Data
Data**

```
graph TD; PKPD[PK/PD Data] --> MIC[MIC Breakpoints to Define S, I, R]; Micro[Microbiological Data] --> MIC; Clinical[Clinical Data Data] --> MIC;
```

MIC Breakpoints to Define S, I, R

Antibiyotik duyarlılık testi değerlendirilmesi

- Duyarlı kökenlerin seçilen antibiyotik tarafından in vivo inhibe edilmesi beklenir
- Dirençli kökenlerde ise genellikle in vivo etkinlik beklenmez
- Orta olanlar ise ancak o antibiyotiğin dozu artırılırsa veya enfeksiyon bölgesinde antibiyotiğin yoğunlaşması söz konusuysa etkinlik beklenir. Doza bağlı duyarlı “S-DD” denir

Uzman Kurallar (Expert rules) tanım

- Duyarlılık test sonuçlarına göre direnç mekanizmasını anlamak
- Direnç mekanizmasına göre klinik duyarlılık sonucunu yorumlamak

ADT yorumlanarak bildirilmesi

- Uzman kurallar eşliğinde
- ADT sonuçlarının tedaviyi yönlendirecek şekilde değerlendirilmesi

EUCAST ADT uzman kuralları

- İntrinsik direnç
- Sıra dışı direnç fenotipleri
- Yorumlama kuralları

Intrinsik direnç

- Kazanılmış veya mutasyonal dirençten farklı olarak türün tüm bireyleri dirençlidir
- Klinikte o ilaç kullanılmamalıdır
- Antibiyogram gereksizdir
- Duyarlılık bakıldı ve duyarlı çıktı ise şüpheyile yaklaşılr
- Test tekrarlanır
- Duyarlı çıksa bile kullanılmaz

Intrinsik direnç örnekler

- *Enterobacteriaceae* → Glikopeptid
Linezolid } R
- *S.maltophilia* → Karbapeneme R
- *P.mirabilis* → Kolistine R
- Enterokoklar → Sefalosporinlere R
- *Listeria monocytogenes* → Sefalosporinlere R

Doğal Direnç

Rule no.	Organisms	Fusidic acid	Ceftazidime	Cephalosporins (except ceftazidime)	Aminoglycosides	Erythromycin	Clindamycin
4.1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>						
4.2	<i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>	- R	-	-	-	-	-
4.3	<i>Staphylococcus capitis</i>	- R	-	-	-	-	-
4.4	Other coagulase-negative staphylococci and <i>Staphylococcus aureus</i>	- R	-	-	-	-	-
4.5	<i>Streptococcus</i> spp.						
4.6	<i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	R	R ¹	R	R
4.7	<i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i>	R	R	R	R ¹	R	R
4.8	<i>Enterococcus faecium</i>	R	R	R	R ¹	R	R
4.9	<i>Corynebacterium</i> spp.						
4.10	<i>Listeria monocytogenes</i>	- R	R	-	-	-	-
4.11	<i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp.	-	-	-	-	-	R R
4.12	<i>Lactobacillus</i> spp. (some species)	-	-	-	-	-	R R
4.13	<i>Clostridium ramosum</i> , <i>Clostridium innocuum</i>	-	-	-	-	-	R -

Beklenmeyen fenotipler

- Henüz bildirilmemiş veya çok nadir görülen direnç durumu
- Bakteri identifikasyonunda veya duyarlılık testinde bir hata var mı?
 - Tekrarlanır
 - Referans lab.a yollanır
- Zaman içinde direnç gelişebilir veya artabilir
- Lokal veya ulusal fark olabilir
- O hastanede, bölgede veya ülkede çok nadir olabilir ama diğer ülkelerde yaygındır

Beklenmeyen Fenotipler

E. faecium → Ampisilin S

AGBHS → Penisilin R

S. aureus →
S. pneumoniae → Vankomisin R

Anaeroplara → Metronidazol R

Antibiyogramı yorumlayarak okuma

1. Duyarlılık test sonucu
2. Potansiyel direnç mekanizmaları
3. Direnç mekanizmasına göre belli fenotipleri öngörmek

Uzman yorumu

Direnç mekanizmasına göre;

- Orta $\rightarrow$ Dirençliye değiştirilebilir
- $I/R \rightarrow$ Duyarlıya
- $R \rightarrow$ Orta duyarlıya değiştirilmez

Yorumlama Kuralları BİLDİR

Staphylococcus spp. → Tüm beta laktamlar R
(Metisilin R)

H.influenzae → Ampisilin/amoksisilin R
(β -laktamaz +)

M. catarrhalis } → Test yapma !
%90 β -laktamaz + } Ampisilin/amoksisilin R
disk difüzyon?
 β -laktamaz üretimi yavaş

EUCAST kuralları: Kinolonlar ve gram negatifler

- *Enterobacteriaceae* siprofloksasine dirençli ise
 - Tüm florokinolonlara dirençli bildirilir
- *Salmonella sipro* MIC >0.06 mg/L ise
 - Tüm florokinolonlara dirençli bildirilir

EUCAST rules....

Aminoglycosides & G-ves

Gent	Tobra	Amik	Netil	Action	Logic
S	I/R	S	-	Amik to I	AAC(6')-I
I	S	S	-	Gent to R	low AAC(3)-I
R	I	S	-	Tobra to R	ANT(2'')
I/R	I/R	-	I	Netil to R	AAC(3'')-II or AAC(3'')-IV

ESBL oluşturanların bildirimi; EUCAST

- *Enterobacteriaceae* için sefalosporin MIC değeri belirlenmeli
- ESBL bakılması önerilmiyor
- ESBL oluşumu dirençte önemli bir mekanizma
- Fakat ESBL+ olan bazı suşlar 3. ve 4. sefalosporinlere duyarlı olabilir
- ADT de ne bulunuyorsa o bildirilmelidir

<http://www.eucast.org>

ESBL oluşturanların bildirimi; EUCAST

- MIC <1-2 mg/L ise ESBL oluştursa bile duyarlı olabilir
- ESBL + olması direnci garantilemez
- Farmakodinamik çalışmalar etkin olduğunu gösterir
- Hayvan deneyleri sefalosporin etkinliğinin MIC le paralel gittiğini göstermiştir
- ESBL bakılması zaman ve para kaybıdır

Tüm Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa*, *A.baumannii*

- Tobramisin I veya R
- Gentamisin S
- Amikasin S

Sonuç Raporu:
Amikasin,
Enterobacteriaceae için (I)
P.aeruginosa & *A.baumannii* için (R)

**AAC(6')-I amikasini değiştirmesine karşın fenotipte direnç oluşturmaz*

Staphylococcus sp & *S.pneumoniae*

- Ofloksasin/siprofloksasin (R)
- Moksifloksasin/ levofloksasin (S)

Sonuç Raporu:

UYARI :
Kinolonlarla tedavi sırasında direnç
gelişebilir

** En az bir hedefte mutasyon oluşmuş*

Staphylococcus sp & *S.pneumoniae*

- Moksifloksasin/ levofloksasin (R)

Sonuç Raporu:

İzolat tüm kinolonlara dirençlidir

•Kombine mutasyon var ör.. *parC* ve *gyrA*

Kısıtlı Antibiyogram Bildirimi

- En dar spektrumlu
- En az toksik
- Ucuz
- En etkili

Kısıtlı Antibiyogram Bildirimi

CLSI

Birincil seçenek antibiyotikler (Grup A)



Bildirilecek

İkincil seçenek antibiyotikler (Grup B)



Test edilecek, kısıtlı bildirilecek

Kısıtlı Antibiyogram Bildirimi

Grup B antibiyotikler: Ne zaman

- Grup A'ya direnç varsa
- Enfeksiyon yerine göre
(BOS - H.influenzae - 3.kuşak sefalosporin)
- Allerji / intolerans varsa

Kısıtlı Antibiyogram Bildirimi

Grup B antibiyotikler: Ne zaman

- Grup A ile tedaviye yanıt başarısız ise
- Polimikrobiyal enf.
(çoklu enf. bölgesi,farklı etken)
- Birden fazla odakta enf.
- Sonuçlar Enfeksiyon KK' ne bildiriliyor ise

Kısıtlı Bildirim

Ne zaman ? Nasıl?

Grup A'ya direnç varsa → Grup B

Grup B'de:
dirençliler bildirilecek
duyarlılar kısıtlanacak

Kısıtlı Bildirim

EUCAST

- Yönlendirici bir gruplama yok
- Ülkelerin kendi inisiyatifi

BSAC

Suggestions for appropriate agents to include in routine AST

Organisms	Systemic infections	Uncomplicated UTI
Enterobacteriaceae	Ampicillin or amoxicillin Ceftazidime plus cefotaxime or ceftriaxone (for ESBL screening or treatment) Ciprofloxacin* Gentamicin Imipenem or meropenem Ertapenem Piperacillin-tazobactam [Cefuroxime] [Cefpodoxime for ESBL screening]	Ampicillin or amoxicillin Amoxicillin-clavulanate Cefpodoxime (for ESBL screening) Ciprofloxacin or norfloxacin Cephalexin Nitrofurantoin Trimethoprim

UCLA Health System 2013

Antimicrobial Agents Routinely Reported

Primary antimicrobials	Conditions for supplemental antimicrobial reporting	Supplemental antimicrobial(s) ¹
<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> – Excludes urine isolates		
ampicillin ceftriaxone	Resistant to ampicillin Resistant to ceftriaxone	ampicillin-sulbactam ciprofloxacin (>11 y.o.), ertapenem (>18 y.o.) or imipenem & meropenem (<18 y.o.)
gentamicin piperacillin-tazobactam trimethoprim-sulfamethoxazole	Resistant to ertapenem (>18 y.o.) Resistant to gentamicin	imipenem, meropenem, ciprofloxacin (>11 y.o.) amikacin, tobramycin

UCLA Health System 2013

Antimicrobials (IV, PO), Formulary Status and Cost

Drug	Usual Dose	Usual Interval	(\$)*Per Day
Penicillins			
Ampicillin	1 gm	q6h	29.35
Ampicillin	2 gm	q6h	36.75
Ampicillin- sulbactam	3 gm	q6h	30.95
Oxacillin	1 gm	q6h	54.40
Penicillin G	3x10 ⁶ units	q4h	41.70
Piperacillin-tazobactam	3.375 gm	q6h	43.30
Ampicillin (PO)	500 mg	q6h	0.40
Amoxicillin (PO)	250 mg	q8h	0.25
Amoxicillin (PO)	500 mg	q8h	0.40
Amoxicillin- clavulanic acid (PO)	250 mg	q8h	10.70
Amoxicillin- clavulanic acid (PO)	500 mg	q8h	2.30
Dicloxacillin (PO)	250 mg	q6h	0.85
Dicloxacillin (PO)	500 mg	q6h	1.35
Cephalosporins			
Cefazolin	1 gm	q8h	16.85
Cefepime ^{1,2}	1 gm	q12h	17.60
Cefotaxime ^{1,3}	1 gm	q8h	18.15
Cefoxitin ^{1,4}	1 gm	q6h	33.70
Ceftriaxone	1 gm	q24h	6.10
Ceftriaxone	2 gm	q24h	7.20
Cephalexin (PO)	500 mg	q6h	0.45
Cefpodoxime (PO)	100 mg	q12h	8.60
Cefpodoxime (PO)	200 mg	q12h	8.55

UCLA Health System 2013

İlave notlar:

- Klinisyen özellikle talep etmiyorsa
 - › 2 potansiyel patojene ADT yapma.
- Kan ve BOS izolatlarını en az 1 yıl sakla.
- Diğer izolatları da en az 7 gün sakla.

Kısıtlı / Seçici Antibiyogram Bildirimi

- Hasta yaşı
- Gebelik
- Vücut bölgesi
- Örneğin niteliği

Kısıtlı Bildirim

Vücut bölgesi

Menenjit/ E.coli

Grup A

1.kuşak sefalosporinler

HAYIR

Grup B

2. kuşak sefalosporinler

Florokinolonlar

HAYIR

GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Enterobacteriaceae ⁹
	Ampicillin ⁹
	Cefazolin ^a Cephalexin ^a ←
	Gentamicin Tobramycin

GROUP B ⁹ PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin
	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid
	Cefuroxime ←
	Cefepime
	Cefoxitin
	Cefotaxime ^{9,11} or ceftiofur ^{9,11}

Kısıtlı Bildirim

Vücut bölgesi

Üriner s./Staphylococcus sp.

Grup A

Makrolidler

HAYIR



Staphylococcus spp.

Azithromycin^d or
clarithromycin^d or
erythromycin^d

Clindamycin^d

Oxacillin^b

Penicillin^b

Trimethoprim-
sulfamethoxazole

Daptomycin

Linezolid

Telithromycin^d

Doxycycline

Tetracycline^b

Vancomycin

Rifampin^b

Kısıtlı Bildirim

Vücut bölgesi

Pnömoni /Gram (+)ler
Grup B
Daptomisin
HAYIR



Staphylococcus spp.
Azithromycin ^d or clarithromycin ^d or erythromycin ^d
Clindamycin ^d
Oxacillin ^b
Penicillin ^b
Trimethoprim- sulfamethoxazole
Daptomycin
Linezolid
Telithromycin ^d
Doxycycline
Tetracycline ^b
Vancomycin
Rifampin ^b

Kısıtlı Bildirim

Örnek cinsi

Gerçek etken olma olasılığı düşük örnekler:

Kateterize hastadan idrar örneği

Balgam

Nazofaringeal aspirat

Diyabetik ayak örneği

Bası yarası örneği



T.C. Sağlık Bakanlığı

ULUSAL MİKROBİYOLOJİ STANDARTLARI (UMS)

ANTİBİYOGRAM YORUMLAMA KRİTERLERİ VE KISITLI BİLDİRİM KURALLARI

Hazırlayan Birim	Klinik Bakteriyoloji Tanı Standartları Çalışma Grubu 11
Onaylayan Birim	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Kategori	Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (AMDT)
Bölüm	Mikrobiyolojik Tanımlama
Standart No	AMD-TB-03
Sürüm No	1.0
Onay tarihi	01.01.2015
Geçerlilik tarihi	01.01.2018



EUCAST	CLSI
Mueller Hinton	Mueller Hinton
İnokulum 0.5 Mc F	İnokulum 0.5 Mc F
İnkübasyon 18 +/-2 saat (bazı bakterilerde 24 saat)	İnkübasyon 18 +/-2 saat (bazı bakterilerde 24 saat)
<i>S.pneumoniae</i> , streptokoklar ve <i>H.influenzae</i> için %5 at kanı+ 20 mg β -NAD eklenmiş MHA	Güç üreyen bakterilerde iki ayrı plak

Gram pozitiflerde intrinsik direnç

- Gram-positive bacteria
 - aztreonam, temocillin, polymixin B / colistin, nalidixic acid
- Staphylococci
 - ceftazidime
- *S. saprophyticus*
 - fusidic acid, fosfomycin, novobiocin
- *S. cohnii*, *S. xylosus*
 - novobiocin
- *S. capitis*
 - fosfomycin

Gram pozitiflerde intrinsik direnç

- Streptococci, enterococci
 - fusidic acid, aminoglycosides (low-level)
- Enterococci
 - cephalosporins, erythromycin, sulphonamides
- *E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*
 - clindamycin, quinupristin-dalfopristin
- *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*
 - vancomycin

Gram pozitiflerde intrinsik direnç

- *Corynebacterium spp.*
 - fosfomicin
- *Listeria monocytogenes*
 - cephalosporins
- *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, bazı *Lactobacillus spp.*
 - vancomycin, teicoplanin
- *Clostridium ramosum*, *C. innocuum*
 - vancomycin