



Gram Pozitif Bakterilerde Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Prof. Dr. Ufuk Hasdemir

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

TMC-ADTS Çalışma Grubu

Antibiyotik Duyarlılık Testi

- Bir antibiyotiğin belirli bir bakteriyel enfeksiyonun tedavisindeki potansiyel başarısının öngörüsü

'Klinik Sınır Değer'

Klinik Sınır Değer

Bir antibiyotiğin bir m.o. için elde edilen MİK deęerini, 'S', 'I' veya 'R' olarak kategorize etmek için gerekli

- Antibiyotiğin sokak tipi izolatlardaki MİK dağılımı
Epidemiyolojik Sınır Değer (ECOFF)
- Antibiyotiğin in vitro, hayvan modelleri ve klinik çalışmalardaki FK/FD zellikleri (**FK/FD Sınır değerleri**)
- Antibiyotiğin belirlenen MİK'ile tedavi edilen hastalarda klinik başarı/başarısızlık alışmaları

Epidemiyolojik Cutoff (ECOFF)

- Fenotipik olarak saptanan bir direnç mekanizmasına sahip olmayan izolatta, ilgili antibiyotiğin sahip olduğu en yüksek MİK
- EUCAST tabloları: Parentez içindeki sınır değerler ilgili türün ECOFF'larıdır
- ECOFF klinik duyarlılığı göstermez ancak özel durumlarda ör. başka bir antibiyotikle kombinasyon yapılacaksa tedavide dikkate alınabilir

Farmakokinetik/Farmakodinamik Parametreler

Pharmacokinetics

What does the body do to the drug ?

- **A**bsorption
- **D**istribution
- **M**etabolism
- **E**xcretion

PK-PD

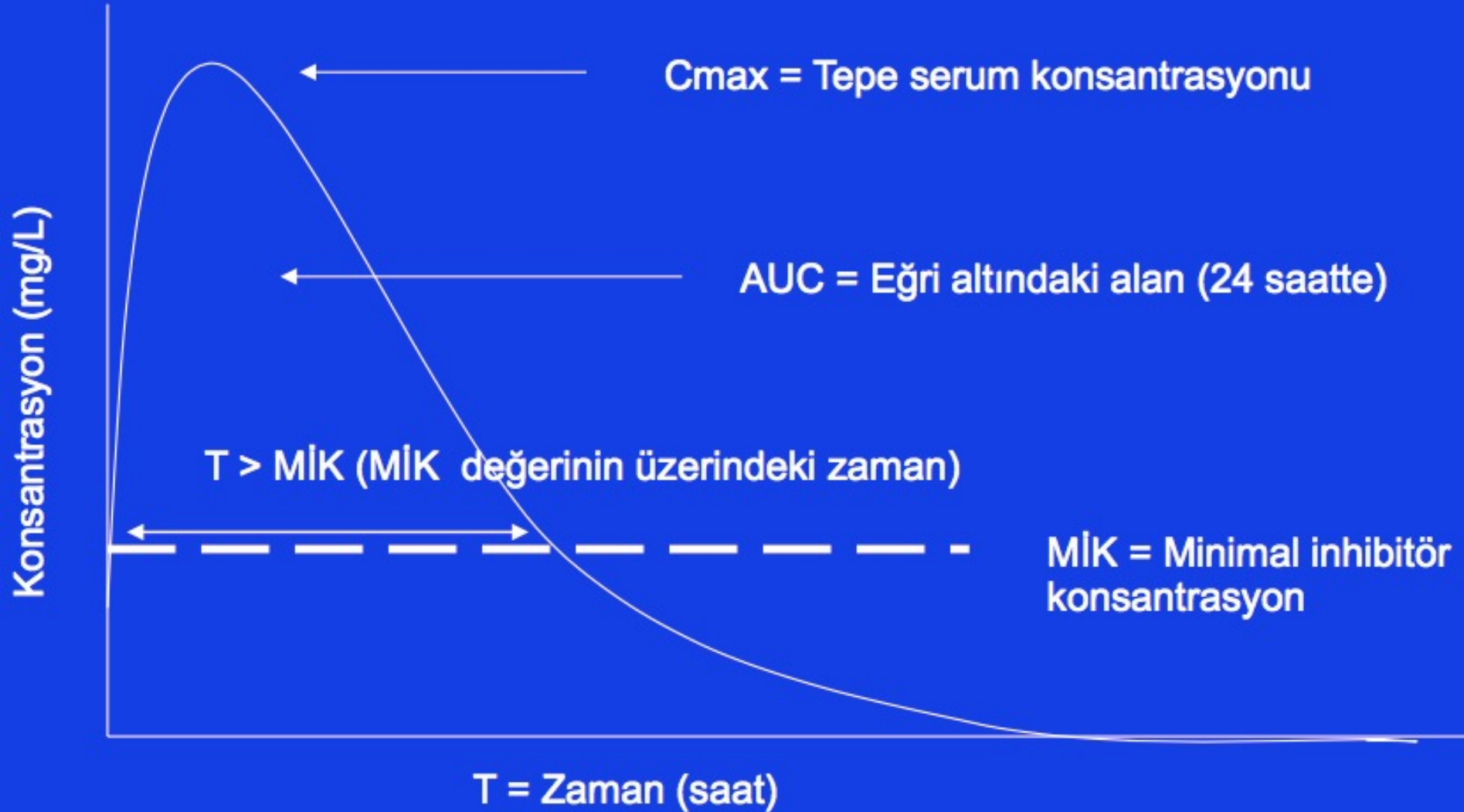
Drug concentrations and effect

Pharmacodynamics

What does the drug do to the organisms ?

- Effect = antimicrobial activity
 - Desirable
 - ✓ inhibition and killing
 - Undesirable
 - ⊗ adverse effects

FK/FD Belirleyicileri



In vitro Farmakodinamik İlaç Etkisi

Konsantrasyona bağlı etki gösterenler Uzun PAE

AUC/MİK veya T/MİK

Aminoglikozidler, kinolonlar, ketolidler, daptomisin

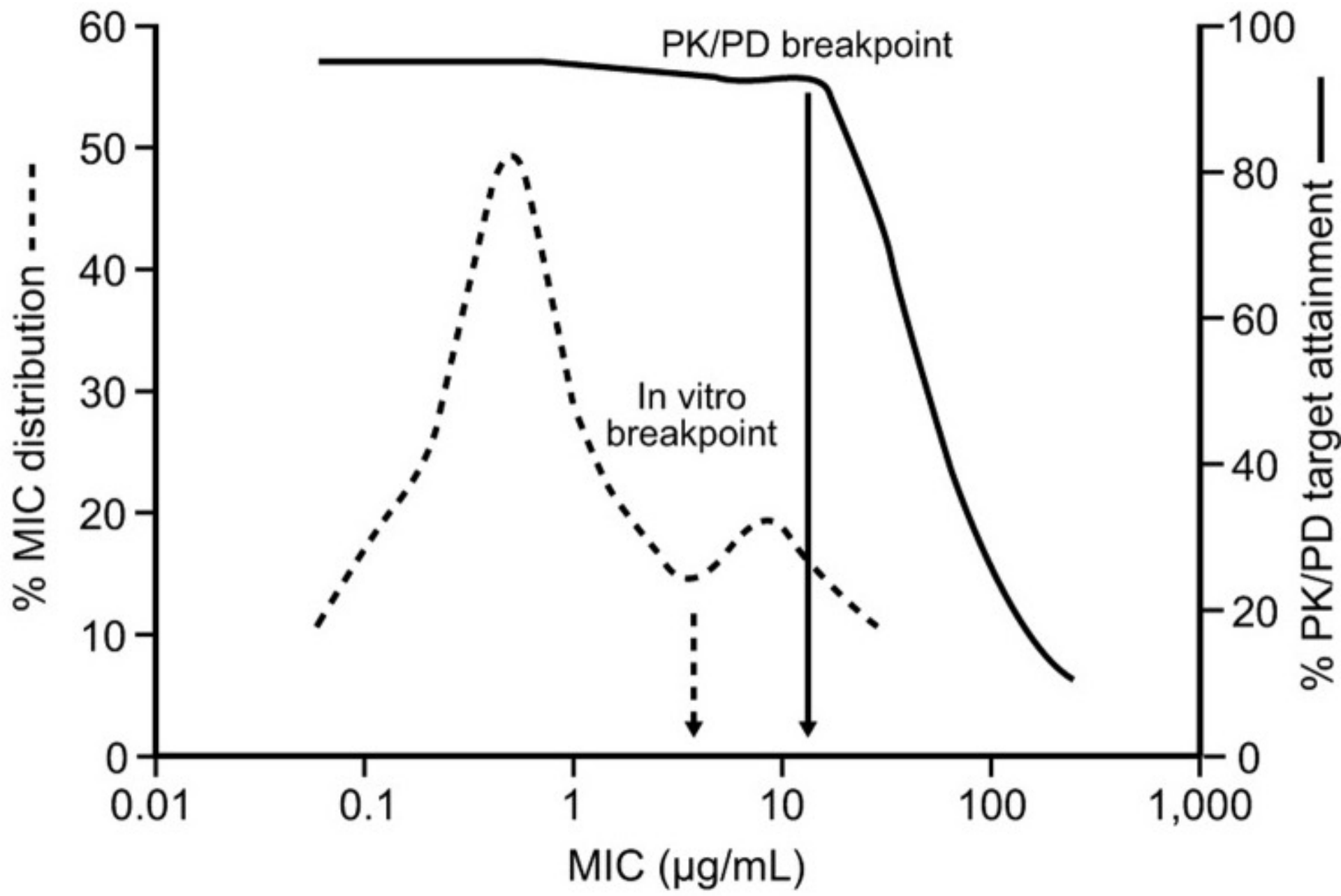
Zamana bağlı öldürme, minimal veya orta PAE

T>MİK %40-50 penisilin, sefalosporin, makrolid

T>MİK %10-25 Karbapenem

Zamana bağlı öldürme, Uzun PAE

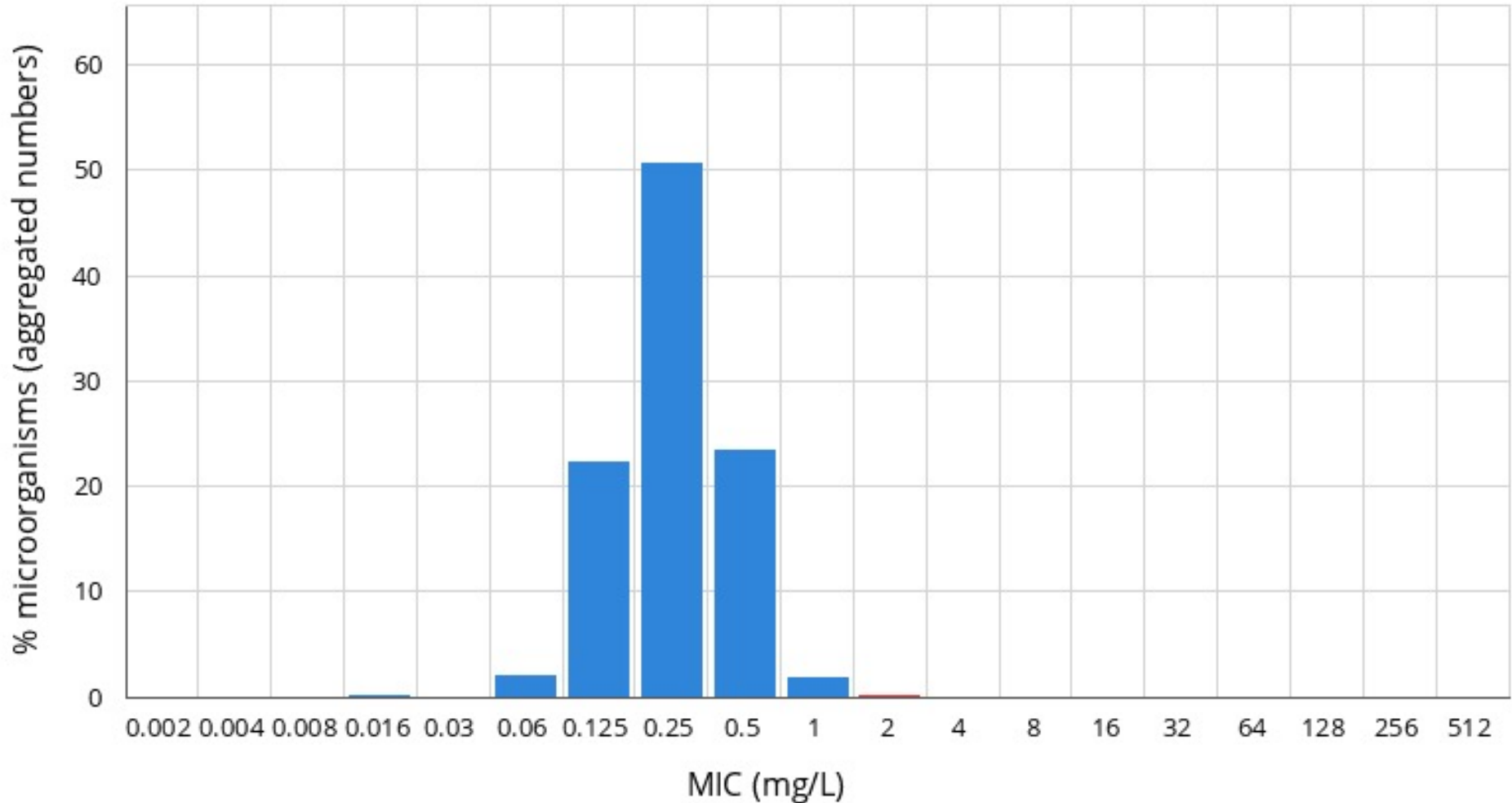
AUC/MİK Glikopeptid, tetrasiklin, azitromisin



FK/FD Sınır Değerleri

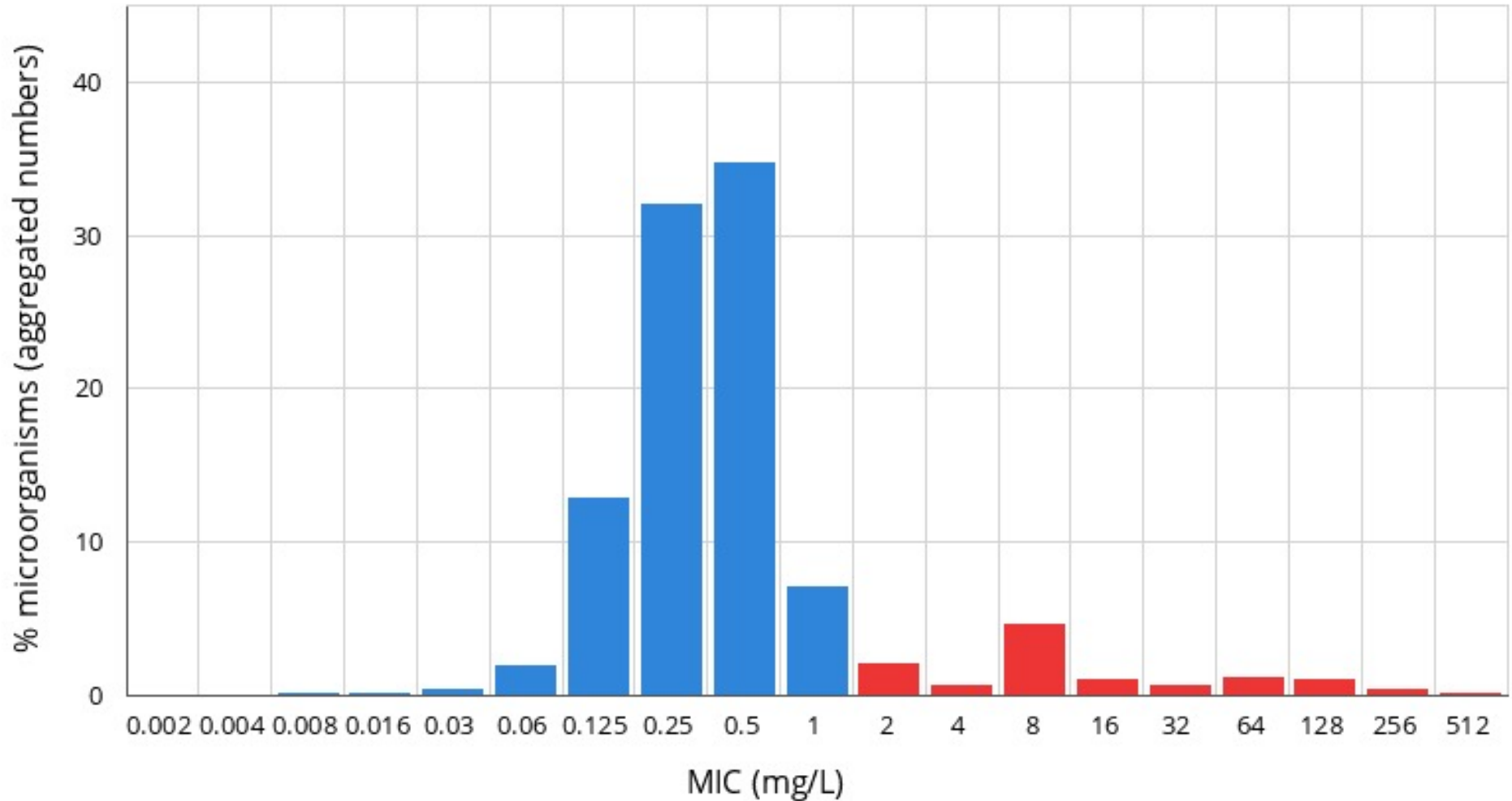
- Bir antibiyotiğin ilgili mikroorganizmaya karşı en yüksek düzeyde FK/FD hedefine ulaşması için gereken MİK değeri

S. aureus – Daptomisin 36208 isolates



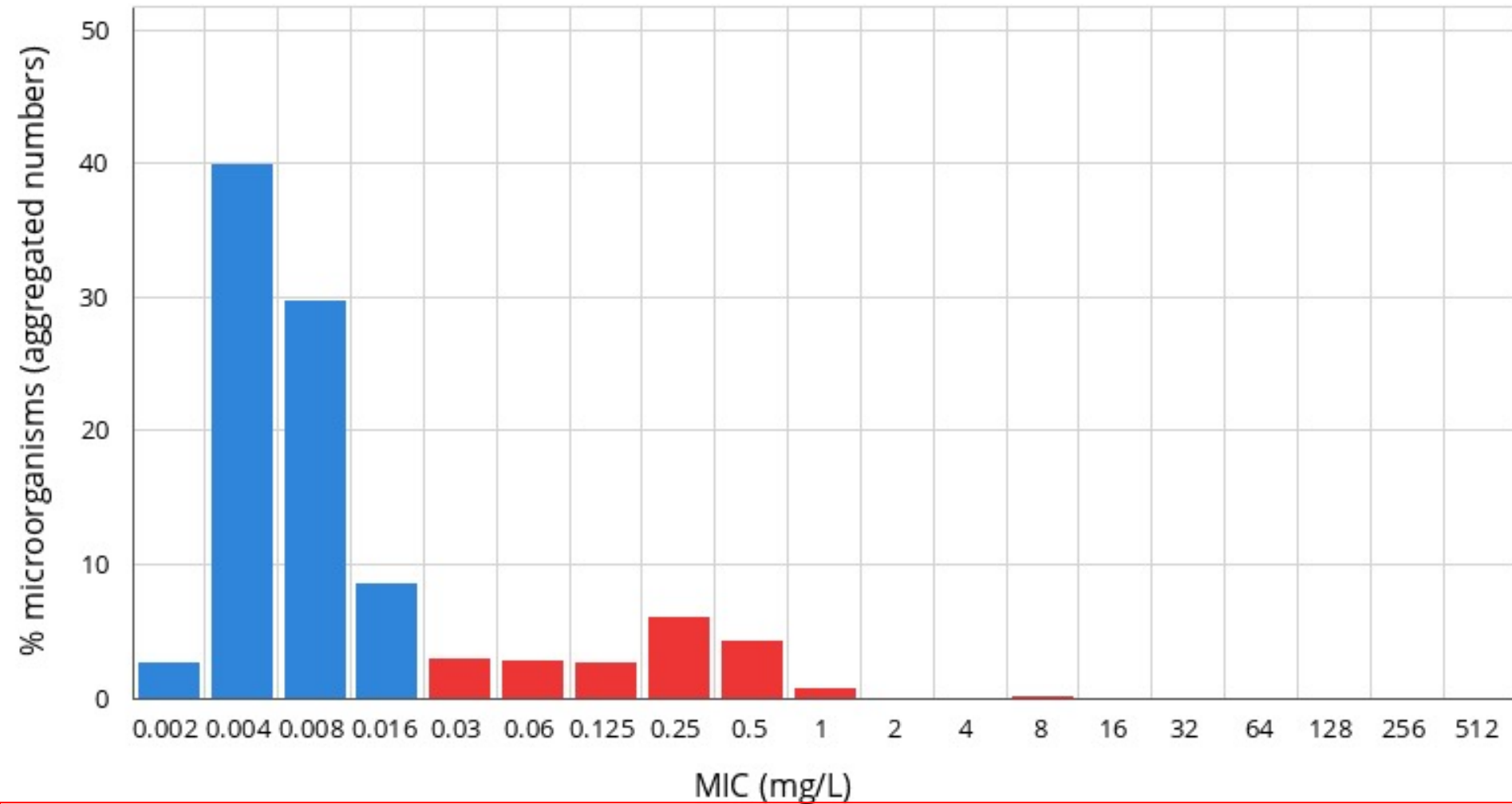
ECOFF: 1 mg/L FK/FD: -
Klinik sınır değeri: 1 mg/L

S. aureus – Siprofloksasin – 42369 isolates



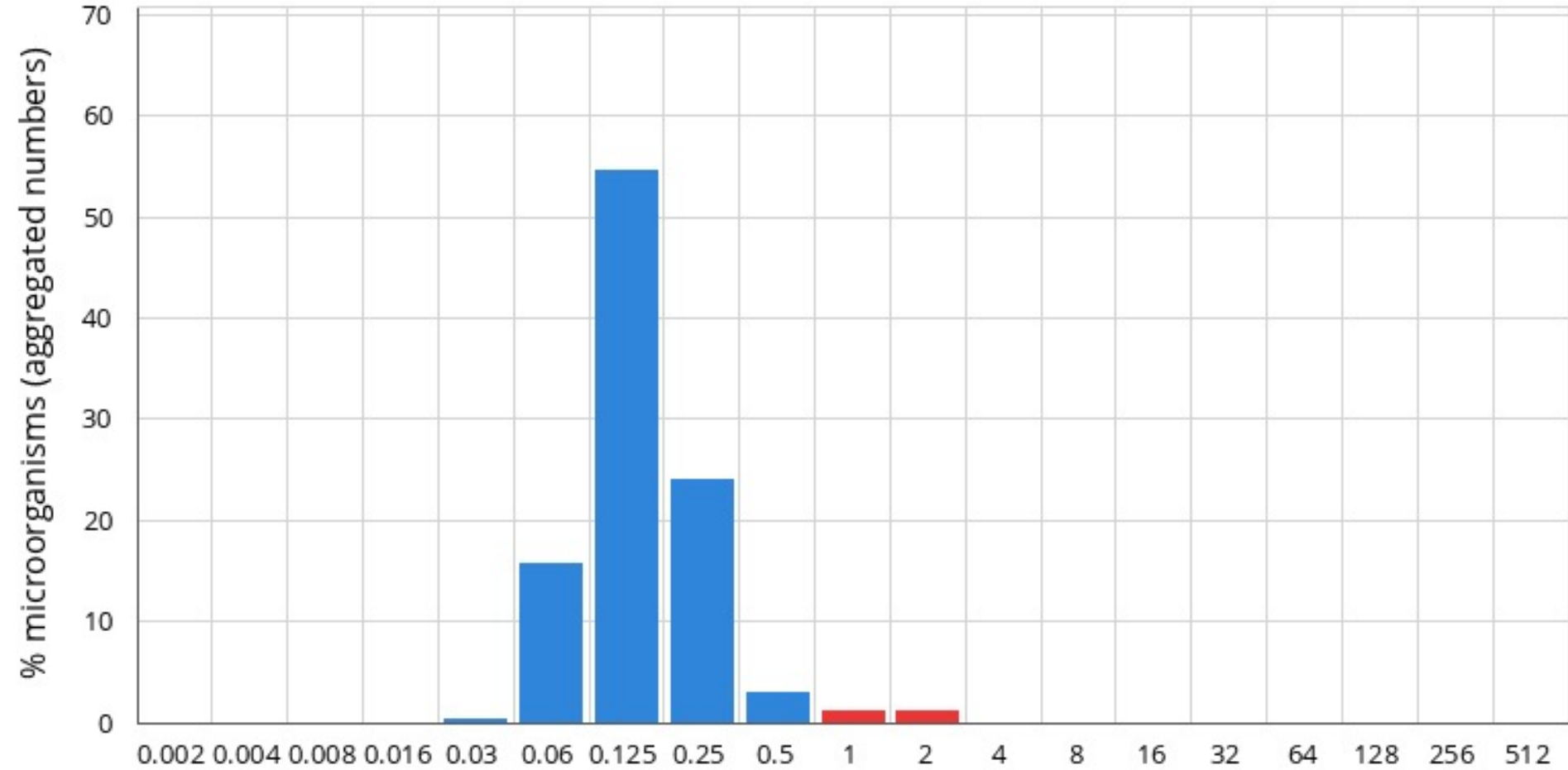
Uzun PAE, ECOFF: 1 mg/L FK/FD: 0,25 mg/L türe özgü değil
Klinik sınır değeri: $\leq 0,001$ mg/L

S. pneumoniae - Meropenem



Minimal PAE, ECOFF: 0.016 FK/FD: 2 mg/L
Klinik sınır değeri: $\leq 0,25$ Menenjit
 ≤ 2 Menenjit dışı

Viridans streptokok - Moksifloksasin - Endokardit



ECOFF: 0.5 mg/L

FK/FD sınır değeri: 0.25 mg/L türe özgü değil

Klinik sınır değeri: Yok

In vitro Duyarlılık Test Yöntemleri

Standart Yöntemler

- Disk difüzyon - EUCAST
- Sıvı Mikrodilüsyon – ISO20776-1
- Agar Dilüsyon

Diğerleri

- Otomatize Sistemler
- Gradyent test

Sıvı Mikrodilüsyon

Stafilokok, Enterokok, *S. pneumoniae*, A,B,C,G
Streptokoklar, Viridans streptokoklar, *L.
monocytogenes*, *Corynebacterium* spp.

- ISO 20776-1'e göre MİK belirleme
- Fosfomisin için agar dilüsyon
- Inokulum 5×10^5 KOB/mL
- *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212,
S. pneumoniae ATCC 49619
- Besiyerleri: MHB, MH-F broth (Mueller-Hinton
broth + %5 lize at kanı ve 20 mg/L β -NAD

Disk Difüzyon

Stafilokok, Enterokok, *S. pneumoniae*, A,B,C,G
Streptokoklar, Viridans streptokoklar, *L. monocytogenes*, *Corynebacterium* spp.

- Inokulum 0.5 McFarland
- *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. pneumoniae* ATCC 49619
- Besiyerleri: MHA, MH-F agar (Mueller-Hinton agar + %5 lize at kanı ve 20 mg/L β -NAD

Stafilokoklar - EUCAST

Test Grubu	Antibiyotik Adı
A	Benzilpenisilin Ampisilin Eritromisin Klindamisin Trimetoprim-Sulfametoksazol
B	Vankomisin ^a - MİK Teikoplanin ^a - MİK Tetrasiklin Levofloksasin Gentamisin Fusidik Asit
C	Linezolid Rifampisin Mupirosin Tigesiklin Daptomisin ^a - MİK

Staphylococcus spp. – Doğal Direnç

Organisms	Fusidic acid	Ceftazidime	Fosfomycin	Novobiocin	Sulfonamides
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	R	R	R	
<i>Staphylococcus cohnii</i>		R		R	
<i>Staphylococcus xylosus</i>		R		R	
<i>Staphylococcus capitis</i>		R	R		
Other coagulase-negative staphylococci and <i>S. aureus</i>		R			

Beklenmedik Fenotip

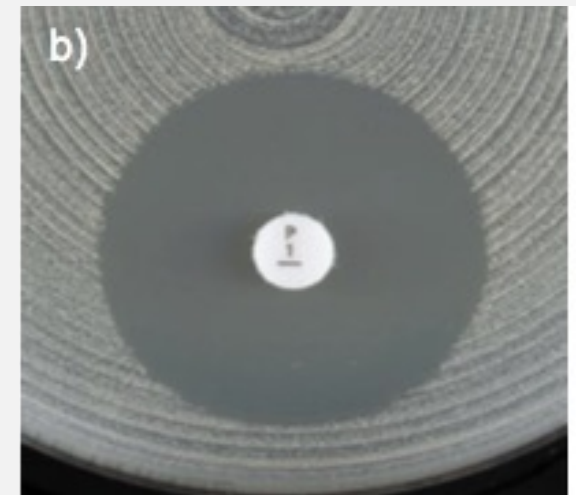
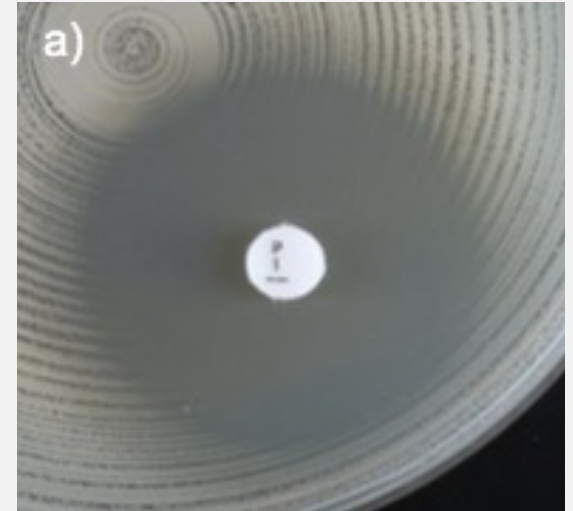
Glikopeptid, linezolid, daptomisin, tigesiklin, QUD

Staphylococcus spp. - EUCAST – Penisilin ve Sefoksitin

- Penisilin (S), Sefoksitin (S) ise
Tüm beta-laktamlara 'S'
- Penisilin 'R', sefoksitin 'S' ise
 β -laktam+ β -laktamaz IK'a 'S'
- Sefoksitin 'R' ise
Tüm beta-laktamlara 'R'

Sefoksitin DD

S. aureus ≥ 22 mm 'S' MSSA
 < 22 mm 'R' MRSA



S. aureus



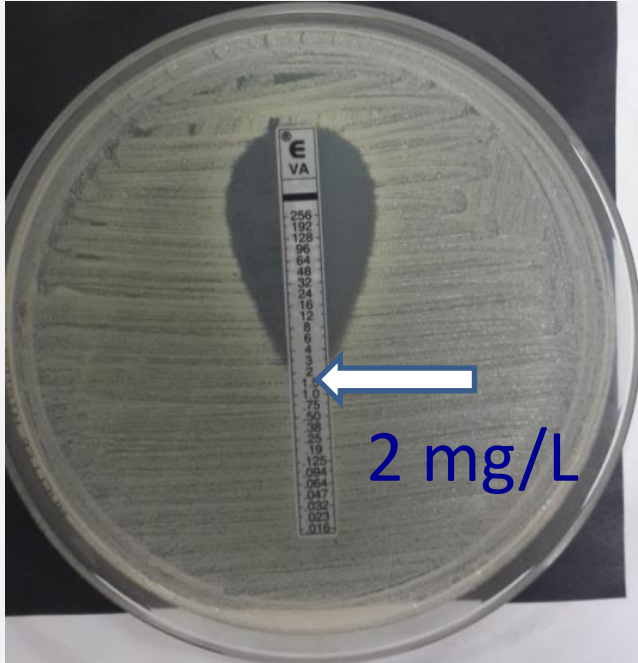
**Vankomisin:
MIK belirlenmeli**

S. aureus - Vankomisin

- Kesinlikle disk difüzyon kullanılmaz
 - SMD EUCAST (ISO 20776-1) ile MİK belirlenir
 - Gradyent test (çoğu laboratuvarıda)

 - VRSA >8 mg/L *vanA*
 - VISA 4-8 mg/L HD kalınlaşma
 - hVISA 1-2 mg/L HD kalınlaşma, BMD veya
gradyent test ile saptanamaz.
- Tüm kategoriler klinik olarak dirençli

S. aureus Vankomisin



hGISA tarama

- Makro G test
- Etest-GRD gradyan strip testi
- Teikoplanin Agar Tarama

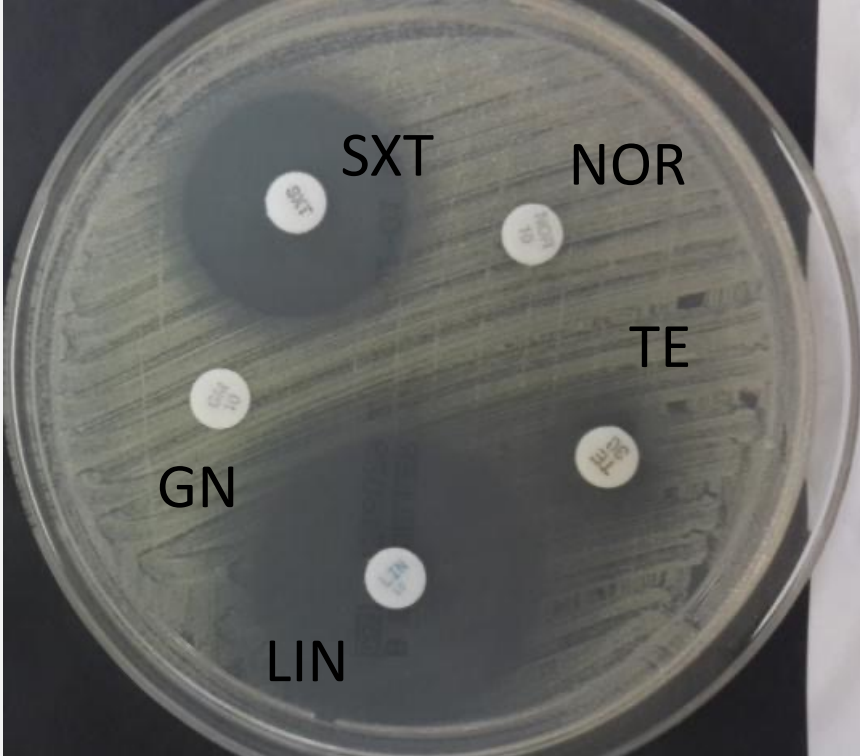
Doğrulama: PAP -AUC

Standart G Test
McFarland 0.5
>2 R mg/L

Makro G Test
McFarland 2
≥8 mg/L 'R'



S. aureus - Florokinolon



NOR 'S' ise CIP ve LEV'e
'Artmış dozda
duyarlı'

SD: ≤ 0.001 mg/L

MOX'a 'S'

NOR 'R' ise CIP, LEV, MOX
ayrıca test edilmeli

Enterokoklar - Doğal Direnç - Beklenmedik Fenotip

Organisms	Fusidic acid	Ceftazidime	Cephalosporins (except ceftazidime)	Aminoglycosides	Macrolides	Clindamycin	Quinupristin-dalfopristin	Vancomycin	Sulfonamides
<i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	R	R ¹	R	R	R		R
<i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i>	R	R	R	R ¹	R	R	R	R	R
<i>Enterococcus faecium</i>	R	R	R	R ^{1,2}	R				R

***Enterococcus* spp.**

Daptomisin, Linezolid, Tigesiklin, Teikoplanin (Vankomisin değil)

E. faecalis Ampisilin Direnci

E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium

QUD'a duyarlılık. Eğer ampisiline de dirençli ise *E. faecium*

Tablo 12. *Enterococcus* spp. İdrar Dışı Örnekler

Test Grubu	Antibiyotik Adı
A	Ampisilin-iv Gentamisin YD ^a
B	Streptomisin YD ^a Vankomisin Teikoplanin Linezolid Daptomisin ^b
C	Tigesiklin

^a Yüksek Düzey

^b Klinik başarı için yetersiz kanıt. Klinik sınır değeri yok.

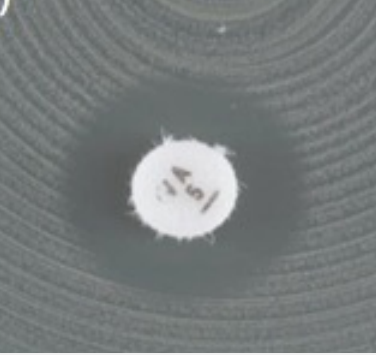
Epidemiyolojik cut-off (ECOFF) kullanılır. Sokak tipi izolatlarda ECOFF, *E. faecalis* için 4 mg/L; *E. faecium* için 8 mg/L'dir.

Enterokok - Vankomsin

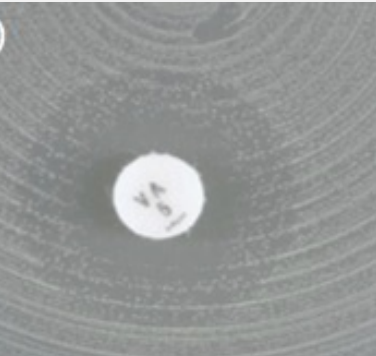
Disk difüzyon güvenilir zira *vanA/B* tipi direnç



- ≥ 12 mm –Keskin zon 'S'
- Belirsiz zon çapı veya zon içi üreme ≥ 12 mm olsa bile 'R'



- *E. faecalis*'de oran düşük (%3)
- Esas olarak *E. faecium* CC17 klonu
- *vanA* ve *vanB* tipi direnç
- *vanC* kromozomal ve doğal direnç
E. gallinarum, *E. casseliflavus*,
E. flavescens



Enterokok - Daptomisin

Daptomisin^b

^b Klinik başarı için yetersiz kanıt. Klinik sınır değeri yok. Epidemiyolojik cut-off (ECOFF) kullanılır. Sokak tipi izolatlarda ECOFF, *E. faecalis* için 4 mg/L; *E. faecium* için 8 mg/L'dir.

Daptomisin için MİK belirlenmesi testinde besiyerine son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde Ca²⁺ eklenmelidir.

Enterokok – YD Aminoglikozid Direnci

	'S' ≤	'D' >	Disk içeriği	'S' ≤	'R' >
Gentamisin YD	128	128	30	8	8
Streptomisin YD	512	512	300	14	14

- Gentamisin YD 'R' ise
- Streptomisin YD araştırılmalı
- Bu tip izolatların oranı %11

Pnömonokok - Beklenmedik Fenotip

Karbapenem, glikopeptid, daptomisin, linezolid, tigesiklin, rifampisine direnç

Tablo 17. *Streptococcus pneumoniae* - BOS Örnekleri

Test Grubu	Antibiyotik Adı
A	Penisilin ^a - MİK
	Sefotaksim/Seftriakson ^a - MİK
B	Trimetoprim-sulfametoksazol
	Vankomisin
	Meropenem ^a - MİK
C	Moksifloksasin

^a Sadece MİK çalışılıp bildirilir.

***S. pneumoniae*'da β -laktam direncinin taranması**

Oksasilin 1 ug DD tarama

- $\geq 20\text{mm}$ Tüm endikasyonlarda 'S'
- $< 20\text{mm}$ Menenjit dirençli

Mutlaka MİK çalış

Benzilpenisilin	MİK mg/L
Menenjit	≤ 0.06 'S' - > 0.06 R
Pnömoni	0.12 - ≤ 2 ise
1.2 x 4 doz	0.12 - ≤ 0.5 'S'
2.4 x 4 veya 1.2 x 6 doz	> 0.5 - ≤ 1 'S'
2.4 x 6 doz	1 - ≤ 2 'S'

Topikal Antibiyotikler

Fenotipik Direncin Saptanmasında Tarama Sınır Değerleri

	GEN	TOB	NOR	CIP	LEV	OFL	CHL	FU S	NEO	MUP
<i>S. aureus</i>	2 18	2 18	- 17	1 -	0,5 -	1 -	16 18	0,5 24	1 14	1 30
	2 18	2 18	- 17	1	0,001	- -	8 18	1 24		
<i>S.pneumoniae</i>			- 10	4 -	2 -	4 -	8 -			
			- 10	- -	0,001	- -	8			
A,B,C ve G Streptokoklar			- 12	2 -	2	4 -	8	32		0,5
			- 12	-	0,001	-	8	-		

Mikrobiyolog

- 1- Mikroorg.'nın doğal dirençli olduğu antibiyotikler?
- 2- O türdeki beklenmedik direnç fenotipleri ?
- 3- Klinik sınır değer var mı? Yoksa FK/FD sınır değerlerine başvur.
- 4- FK/FD sınır değeri var mı? Yoksa ECOFF'a başvur.
- 5- Klinik sınır değer, FK/FD ve ECOFF yok? Bakterinin en yakın akrabalarına uygulanan sınır değerleri kullanabilirsin.
- 6- Otomatize sistemleri dikkatle kullan.
- 7-Tarama testlerine başvur.
- 8-Raporlarına yorum yaz.

<https://www.tmc-online.org/index.php?func=Content&ID=8>

<https://www.eucast.org>