

# Antibiyotik Test Sonuularından Direnç Mekanizmaları Nasıl Tanımlanır?

Prof.Dr. Banu Bayraktar, D(ABMM), FCCM



# WHO priority pathogens list for R&D of new antibiotics

## Priority 1: CRITICAL

- *Acinetobacter baumannii*, carbapenem-resistant
- *Pseudomonas aeruginosa*, carbapenem-resistant
- *Enterobacteriaceae*, carbapenem-resistant, ESBL-producing

pAmpC

## Priority 2: HIGH

- *Enterococcus faecium*, vancomycin-resistant
- *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant, vancomycin-intermediate and resistant
- *Helicobacter pylori*, clarithromycin-resistant
- *Campylobacter* spp., fluoroquinolone-resistant
- *Salmonellae*, fluoroquinolone-resistant
- *Neisseria gonorrhoeae*, cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant

YDAD

## Priority 3: MEDIUM

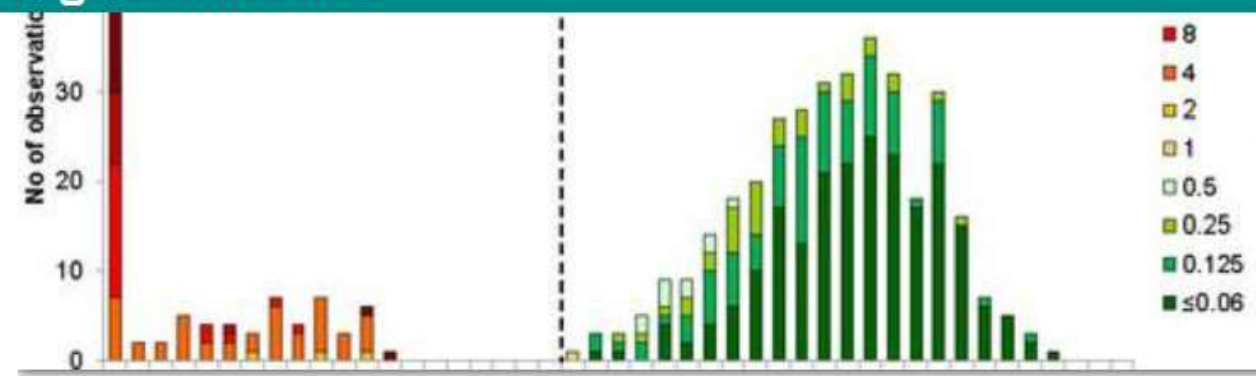
- *Streptococcus pneumoniae*, penicillin-non-susceptible
- *Haemophilus influenzae*, ampicillin-resistant
- *Shigella* spp., fluoroquinolone-resistant



search term

# Clinical breakpoints and dosing of antibiotics

- Organization
- Consultations
- EUCAST News
- New definitions of S, I and R



Clinical breakpoints and dosing of anti

- Clinical breakpoints and dosing
  - About "Clinical breakpoints".
  - Rationale documents
  - Splitting MIC wild type distributions
  - When there are no breakpoints?
  - Breakpoints in brackets
  - EUCAST setting breakpoints.

## Clinical breakpoints - breakpoints and guidance

January 2, 2023

- [Clinical breakpoints \(v 14.0\)](#) - file for printing (1 Jan, 2024)
- [Clinical breakpoints \(v 14.0\)](#) - file for screen (1 Jan, 2024)
- [Clinical breakpoints - fungi](#)
- [Dosages \(v 14.0\)](#) - file for printing and screen (1 Jan, 2024)

## Breakpoint tables

- [Breakpoints bacteria \(print\)](#)
- [Breakpoints bacteria \(screen\)](#)
- [Breakpoints fungi](#)
- [Dosing table](#)

Make sure the device you are using for the presentation of tables can correctly display

## CLSI M100 ED34:2024

Go To: [Top](#) | [Bottom](#)

### Table of Contents

- [Introduction](#)
- [Abstract](#)
- [Committee Membership](#)
- [Acknowledgment](#)
- [Overview of Changes](#)
- [CLSI Breakpoint Additions Since 2010](#)
- [CLSI Breakpoint Revisions Since 2010](#)
- [CLSI Archived Resources](#)
- [Summary of CLSI Processes for Establishing Breakpoints and QC Ranges](#)
- [CLSI Reference Methods vs Commercial Methods and CLSI vs US Food and Drug Administration Breakpoints](#)
- [CLSI Subcommittee on](#)

# CLSI M100-ED34:2024 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition

  
Search within this Document

[< Previous](#) | [Next >](#)

## Introduction

CLSI M100 includes updated tables for the Clinical and Laboratory Standards Institute antimicrobial susceptibility testing standards CLSI M02, M07, and M11.

A CLSI supplement for global application.

### CLSI M100-Ed34

February 2024

Replaces CLSI M100-Ed33

James S. Lewis II, PharmD, FIDSA

Amy J. Mathers, MD, D(ABMM)

April M. Bobenchik, PhD, D(ABMM)

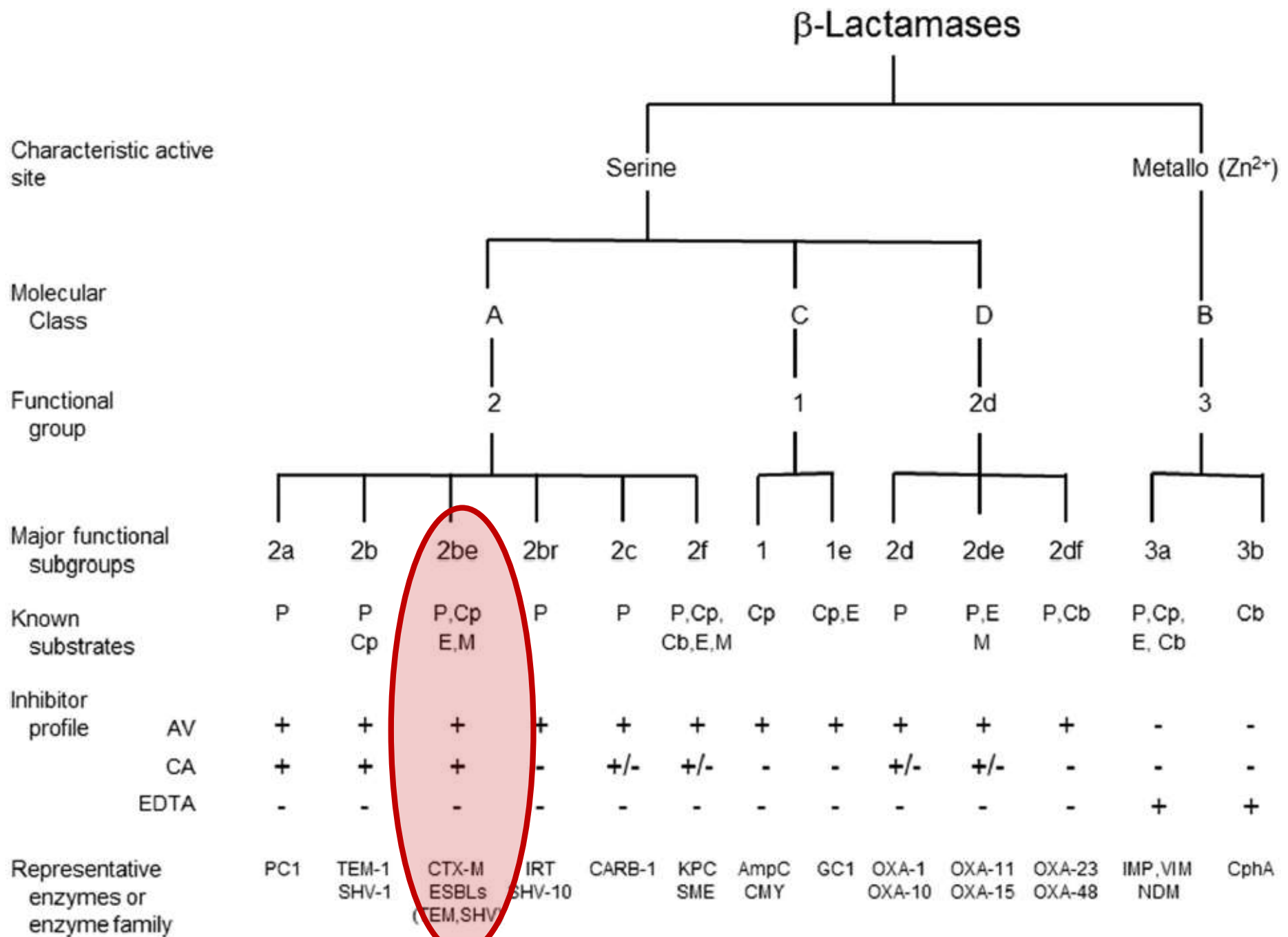
Alexandra Lynn Bryson, PhD, D(ABMM)

Shellev Campeau, PhD, D(ABMM)



# Genişlemiş-spektrumlu $\beta$ - laktamaz (GSBL)- üreten Enterobacteriaceae

Bush K. 2018. Past and present perspectives on  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 62:e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>.



# GSBL- tanımlama

- Penilisinlerin çoğu
- Sefalosporinler
- Oksiimino- sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim)
- dördüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonamı hidrolize ederler
- Sefamisinler ve karbepenemlere etkisizlerdir
- $\beta$ -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilirler  
(Klavulanikasit, sulbaktam, tazobaktam ve avibaktam)

- Subgrup 2be enzimlerinin ilk ve en geniş grubu **TEM-1, TEM-2 ve SHV-1** enzimlerinden aminoasit değişmeleri ile türemiştir
- Benzil penisilin ve sefaloridin hidrolize etme aktivitelerinin düşmesi bedeli ile substrat profilleri genişlemiştir
- Fonksiyonel olarak benzer, hızla çoğalan **CTX-M** enzimleri TEM ve SHV GSBL'lerine eklenmiştir.
- CTX-M enzimleri *Kluyvera*'nın kromozal beta-kaltamazları ile ilişkili olduğu saptanmış
- CTX-M enzimleri, TEM ve SHV GSBL'lerinden farklı olarak tazobaktamla klavulanikasitten daha iyi inhibe olurlar
- TEM,SHV ve CTX-M ilişkisi olmayan, daha az sıklıkta görülen GSBL'ler de vardır. BEL-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, TLA-2 ve PER ve VEB enzim ailelerinin üyeleri
- Karakteristik olarak klavulanik asit inhibisyonuna duyarlı olan 2be laktamazlarının klinik laboratuvarda tanınmasında bu özellikten yararlanılır.



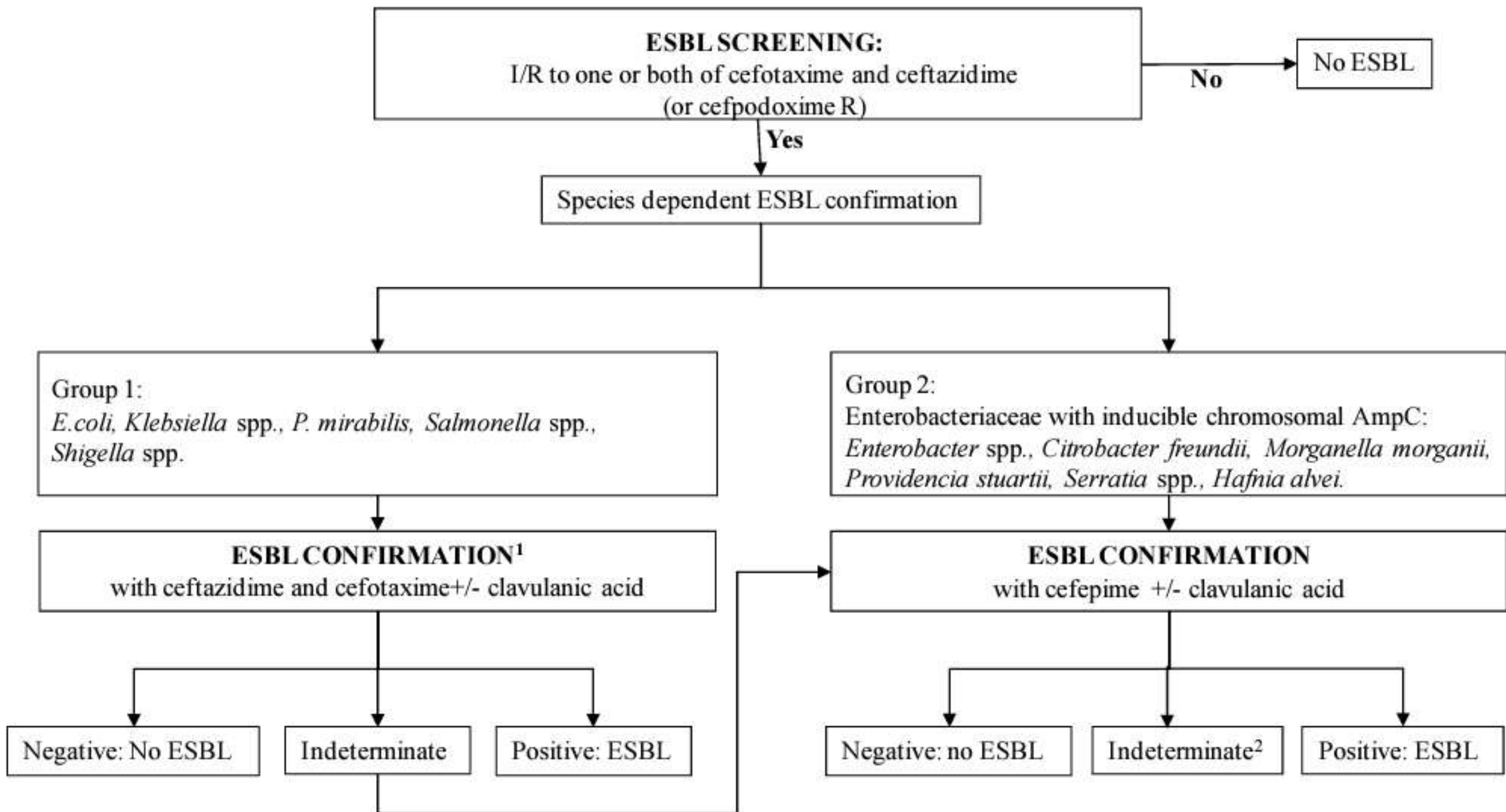
Sefalosporinler <sup>1</sup>	MİK sınır değerleri (mg/L)			Disk İçeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
	S ≤	R >	TB A		S ≥	R <	TBA
Sefepim	1	4		30	27	24	
<a href="#">Sefotaksim (menen</a>							
<a href="#">Sefotaksim (menen</a>							
<a href="#">Sefoksitin (yalnızca</a>							
<a href="#">Seftazidime</a>							
Seftriakson ( <a href="#">menen</a>							
Seftriakson (menen							

1. *Enterobacterales* için belirlenen sefalosporin sınır değerleri (ESBL ve plazmid kaynaklı AmpC dahil olmak üzere) klinik önemi olan tüm direnç mekanizmalarını saptayacaktır. Beta-laktamaz üreten bazı izolatlar bu sınır değerlerle 3. veya 4. kuşak sefalosporinlere duyarlıdır ve saptandıkları gibi bildirilmelidirler, yani **GSBL'nin varlığı veya yokluğu duyarlılık kategorisini tek başına etkilememektedir**. GSBL saptanması ve özelliklerinin belirlenmesi halk sağlığı ve enfeksiyon kontrolü açısından önerilmektedir.

# *Enterobacterales*'ler için GSBL tarama yöntemleri

Yöntem	Antibiyotik	GSBL testi uygula
Sıvı veya agar dilüsyon <sup>1</sup>	Sefotaksim/seftriakson ve Seftazidim	MİK>1 mg/L herhangi biri için
	Sefpodoksim	MİK>1 mg/L
Disk difüzyon	Sefotaksim (5 µg) veya Seftriakson (30 µg) Seftazidim (10 µg)	İnhibisyon zonu <21 mm İnhibisyon zonu <23 mm İnhibisyon zonu <22 mm
	Sefpodoksim (10 µg)	İnhibisyon zonu <21 mm

<sup>1</sup>Tüm yöntemlerle (i) Sefotaksim/seftriakson ve Seftazidim VEYA (ii) Sefpodoksim tekbaşına test edilmelidir

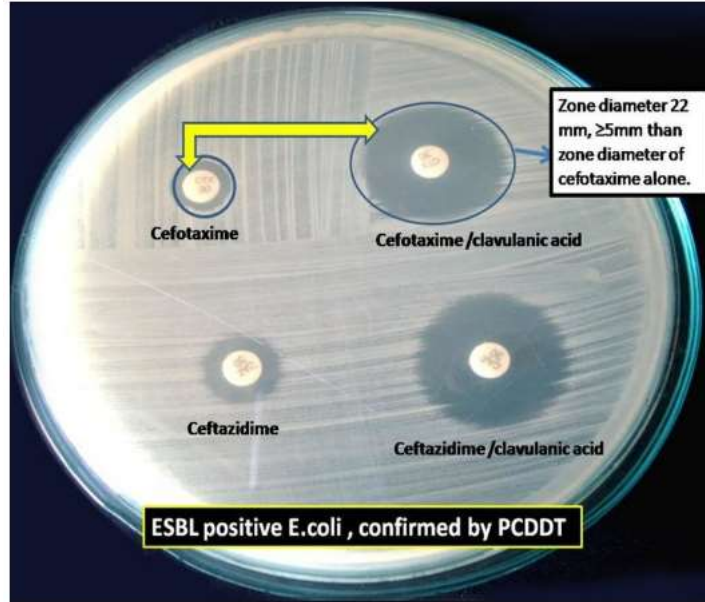


# Fenotipik doğrulama testleri

- Kombinasyon disk testi (CDT)
- Çift disk sinerji testi (DDST)
- GSBL gradient test
- Sıvı mikrodilüsyon testi
- Biyokimyasal (kolorimetrik testler) ( $\beta$ -LACTA)

[https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf)

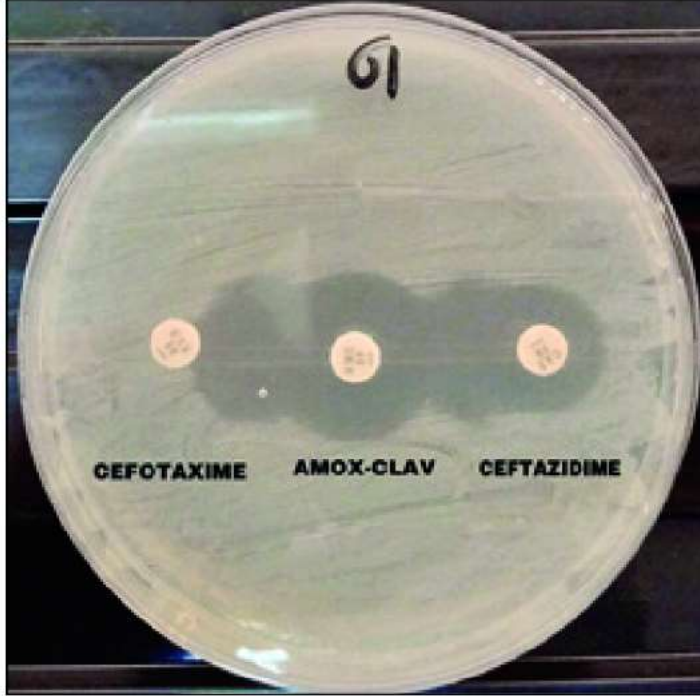
# Kombinasyon disk testit (CDT)



Sefotaksim (30 µg) +/- Klavulanik asit (10 µg)	≥5 mm inhibisyon zonunda artış
Seftazidim (30 µg) +/- Klavulanik asit (10 µg)	≥5 mm inhibisyon zonunda artış

Sarker, Jogendra & Bakar, Sheikh & Barua, Ripon & Sultana, Hafiza & Anwar, Shaheda & Sultana, Sharmin. (2015). Susceptibility Pattern of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Producing Escherichia coli, Klebsiella spp. and Enterobacter spp. to Ciprofloxacin, Amikacin and Imipenem. Journal of Scientific Research and Reports. 8. 1-9. 10.9734/JSRR/2015/16933.

## Çift disk sinerji testi (DDST)



İndikatör sefalosporinlerin (Sefotaksim, seftazidim ve sefepim) zon çaplarında amoksisilin- klavulanikasit diskine doğru genişleme olması veya anahtar deliği görüntüsünün oluşması

**POZİTİF**

# GSBL gradient test

MİK oranı (CP/ CP+CA)  $\geq 8$  veya deforme olmuş elips varsa test pozitif kabul edilir

Different growth-inhibition patterns:

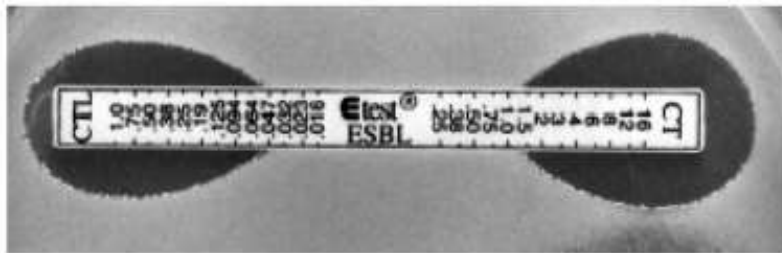


Figure 4. Clear cut ESBL positive:  
MIC CT/CTL = 1.5/0.047 = 32



Figure 5. A "rounded" phantom inhibition zone below CT indicative of ESBL.



Figure 6. Deformation of the TZ inhibition ellipse indicative of ESBL.



Figure 7. When MIC values are above the test ranges, result is Non-Determinable (ND).

# Sıvı mikrodilüsyon testi

- Sefotaksim, seftazidim ve sefepimin katyon ayarlı MH sıvı besiyerinde 0.25-512 mg/L aralığında iki kat seri dilüsyonları yapılır
- Dilüsyon çift hazırlanır. 4mg/L klavulanik asit fiks konsantrasyonda bir seriye eklenir
- MİK de (CP/ CP+CA )  $\geq 8$  kat azalma olduğu zaman POZİTİF





# $\beta$ -LACTA (Bio-Rad)



## Evaluation of the $\beta$ Lacta Test, a Rapid Test Detecting Resistance to Third-Generation Cephalosporins in Clinical Strains of *Enterobacteriaceae*

Aur lie Renvois ,<sup>a,b</sup> Dominique Decr ,<sup>c,d</sup> Rishma Amarsy-Guerle,<sup>e</sup> Te-Din Huang,<sup>f</sup> Christelle Jost,<sup>d</sup> Isabelle Podglajen,<sup>g</sup> Laurent Raskine,<sup>e</sup> Nathalie Genel,<sup>c</sup> Pierre Bogaerts,<sup>f</sup> Vincent Jarlier,<sup>a,b</sup> Guillaume Arlet<sup>c,d,h</sup>

- **3.kuşak sefalosporinlere direnci** saptamak için geliştirilmiş bir testtir
- Testin prensibi kromojenik substrat **HMRZ-86**'nın yıkılmasına dayanır. Başlangıçta sarı olan renk kırmızıya d ner. Sonuçlar 2 ve 15. dakikalarda okunur
- HMRZ-86'yı etkili olarak hidrolize eden  $\beta$ -laktamazlar **GSBL, karbapenemazlardır.**
- AmpC aşırı  retimi veya edinilmiş AmpC'ler d şuk aktiviteye sahiptir
- Broad spektrum  $\beta$ -laktamazlar ( r: SHV-1 ve TEM-1) HMRZ-86'yı hidrolize etmezler

### SONUÇ:

- 1) Test negatif olduğunda suşun 3KS duyarlı olduğunu doğru bir Őekilde tespit eder.
- 2) *E. coli* and *K. pneumoniae* suşlarında test pozitif olduğunda 3KS karşı direnci doğru olarak saptar

*Enterobacter* spp. and *Serratia* spp. t rleri için testin doğruluğu daha

# Sinerjiyi maskeleyen diğer $\beta$ -laktamazların varlığında ESBL'nin fenotipik tespiti

- **AmpC  $\beta$ -laktamazlarının aşırı üretimi**
- AmpC sefamisinlere dirençli ayırt edilebilir (ACC  $\beta$ -laktamazı hariç)
- Doğrulama testinde **sefepim** kullanılması önerilir (AmpC enzimleri sefepimi hidrolize etmezler)

- **Alternatif:**

Kombine disk diffüzyon testinde **klavulanikasit** ve **kloksasilin** birlikte kullanılabilir

Ya da

**Agara 200-250 mg/L kloksasilin** katılabilir

- **MBLs veya KPCs karbapenemazlarının varlığı** ve /veya ciddi **permabilite defektleri** GSBL'leri maskeleyebilir
- Eğer halen daha saptanmalarının gerektiğine inanılıyorsa moleküler testlerin kullanılması gerekir.



# Plazmidik AmpC betalaktamazlar

---

# AmpC

- Moleküler sınıflamaya göre **Sınıf C**, fonksiyonel sınıflamaya göre **grup 1** içinde yer alan **sefalosporinazlardır**
- AmpC direnci 3 kategoriye ayrılabilir:
  - (1) bir  $\beta$ -laktam bileşiği ortamda olduğunda kendini gösteren indüklenebilir kromozomal direnç,
  - (2) AmpC düzenleyici genlerdeki mutasyonlara bağlı olarak stabil derepresyon veya
  - (3) **plazmid aracılı AmpC genleri**

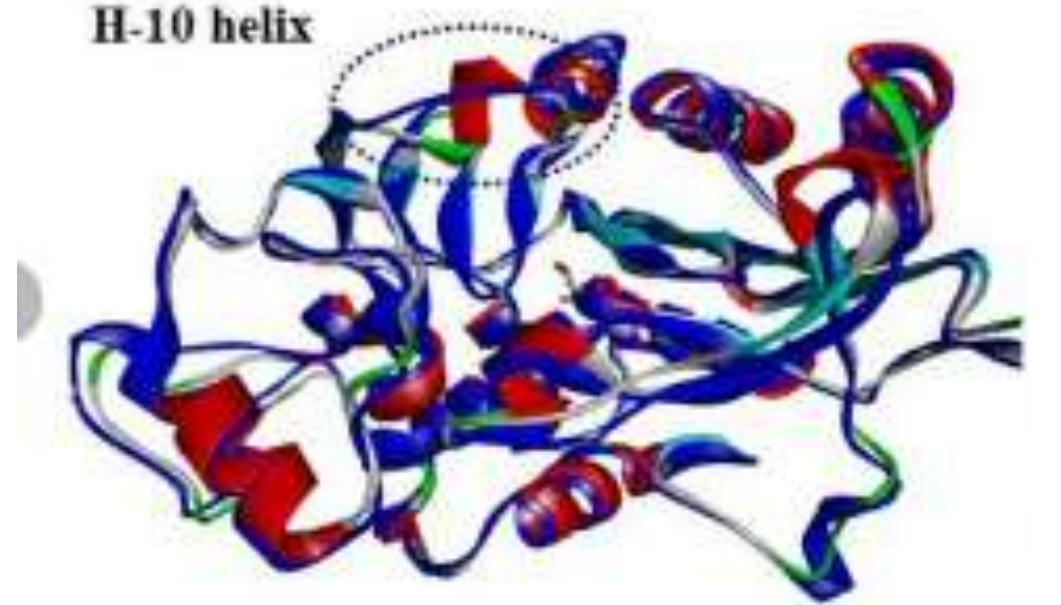
- İndüklenebilir kromozomal AmpC beta-laktamaz üreten *Enterobacterales* türleri (CESPM grubu)
  - ✓ *Citrobacter freundii*,
  - ✓ *Kelbsiella aerogenes*,
  - ✓ *Enterobacter cloacae*,
  - ✓ *Serratia marcescens*,
  - ✓ *Providencia stuartii*
  - ✓ *Morganella morgani*'dir

# Plazmidik AmpC betalaktamazlar

- *Enterobacterales* takımının içinde plazmidik AmpC'leri (pAmpC) edinmiş **en önemli türler**
  - ✓ *Escherichia coli*
  - ✓ *Klebsiella pneumoniae*
  - ✓ *Proteus mirabilis*'dir.
  - ✓ *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica* ve *Shigella* spp türlerinde de bulunabilir
- pAmpC'ler genellikle yapısal olarak **(konstitütif)** üretilir ve **baskılanmamış cAmpC'lerinkine benzer direnç** paternleri gösterir
- İlk tanımlanan taşınabilir AmpC, cephamycinase (CMY-1), *K. pneumoniae* izolatu, Güney Kore'de, **1989**

## pAmpC enzimleri

- ✓ penisilinler,
- ✓ oksimino- sefalosporinler,
- ✓ sefamisinler ve
- ✓ değişken olarak aztreonama karşı **direnç** sağlarlar.
- 4.kuşak sefalosporin (sefepim, sefpirom) ve karbapenemlere **duyarlıdırlar**
- Genel olarak, AmpC-tip enzimler klasik GSBL inhibitörleri, özellikle de **klavulanikasit tarafından inhibe edilmezler**



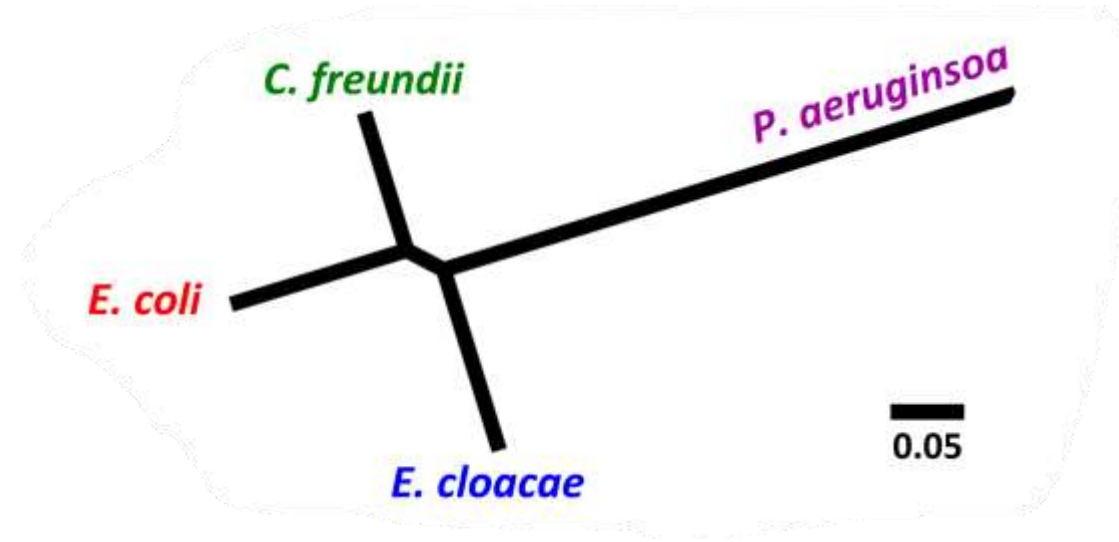
# pAmpC enzimleri

- pAmpC genlerinin birkaç soyu vardır
- Kromozomal AmpC genlerinden kaynak alırlar

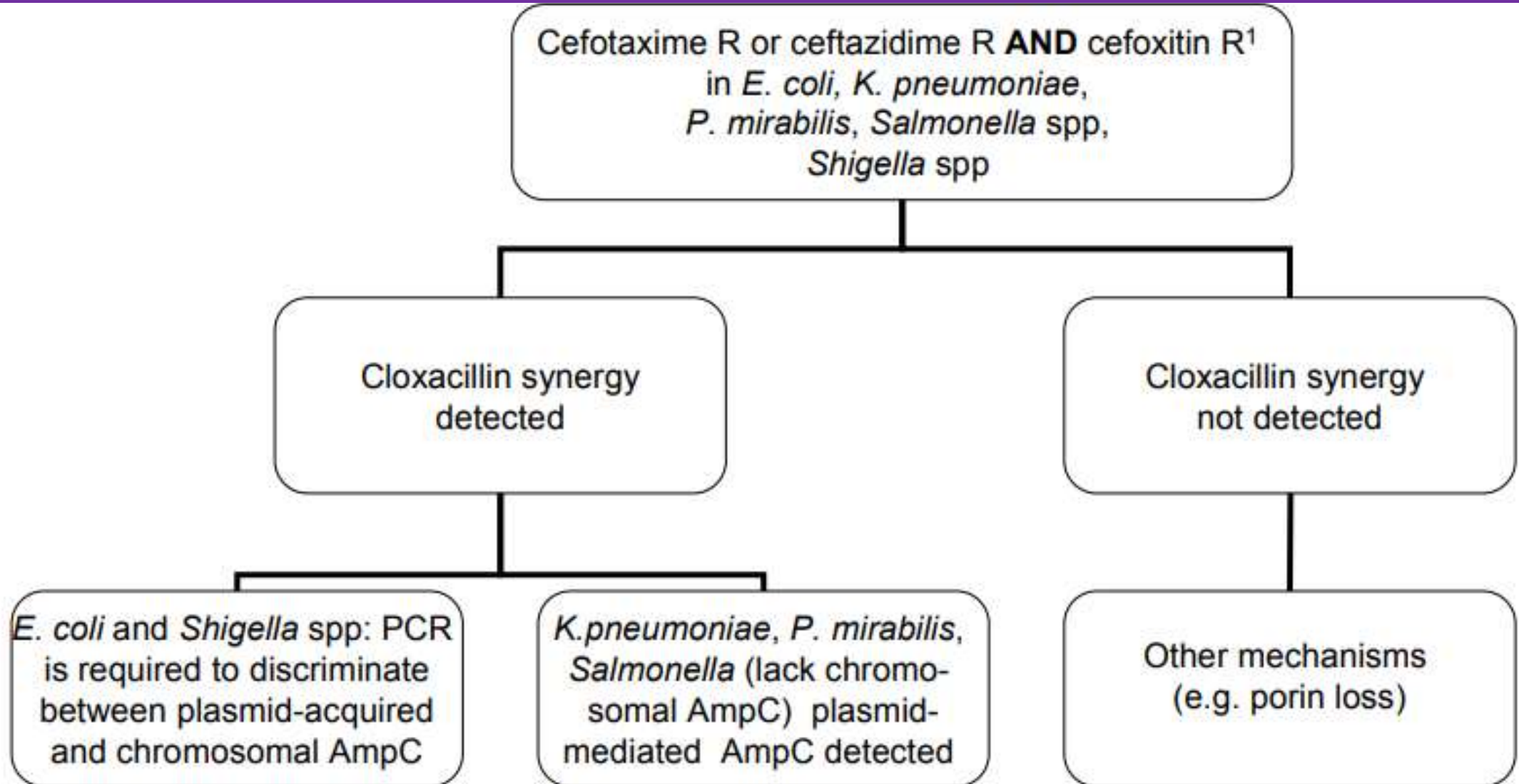
En az beş filogenetik grupta ayrılırlar

1. *Enterobacter* grup (MIR, ACT)
2. *Citrobacter freundii* grup (CMY-2-like, LAT, CFE)
3. *Morganella morganii* grup (DHA)
4. *Hafnia alvei* grup (ACC)
5. *Aeromonas* grup (CMY-1-like, FOX, MOX)

- **En sık görüleni CMY-2 enzimidir**
- DHA-like (indüklenebilir) enzimlerde çok yaygındır



# AmpC saptama algoritması





## Laboratuvarda pAmpC üretimini araştırılması

### Tarama testinde kriter

- ✓ sefoksitin MİK'nin > **8 mg/L** ( zon çapı<**19mm**)
- ✓ beraberinde sefotaksim ve seftazidim **R**
- pAmpC olan ACC-1 sefoksitini hidrolize etmediğinden bu yolla tespit edilemeyeceği akılda bulundurulmalıdır
- **Sefoksitin direnci taramasının özgüllüğü düşüktür.** Karbapenemaz enzimlerinin ve bazı **sınıf A enzimlerinin** varlığında veya *K.pneumoniae* ve *E.coli* de **dış membran porin kaybı** olduğunda da sefoksitin direnci görülebilir

# Doğrulama testleri

- Fenotipik AmpC doğrulama testleri genellikle AmpC'nin **kloksasilin** veya boronik asit türevleri tarafından inhibisyonuna dayanır
- Bununla birlikte boronik asit türevleri aynı zamanda A sınıfı karbapenemazların yanı sıra *K. oxytoca*'daki K1 gibi bazı A sınıfı penisilinazları da inhibe eder
- **EUCAST dökümanlarında iki ticari yöntemden bahsediliyor**
  - ✓ **Mast 'AmpC detection disc test'**
  - ✓ **AmpC gradient test (BioMerieux, Liofilchem)**
- GSBL ve plasmidik AmpC enzimleri birlikte de bulunabiliyor

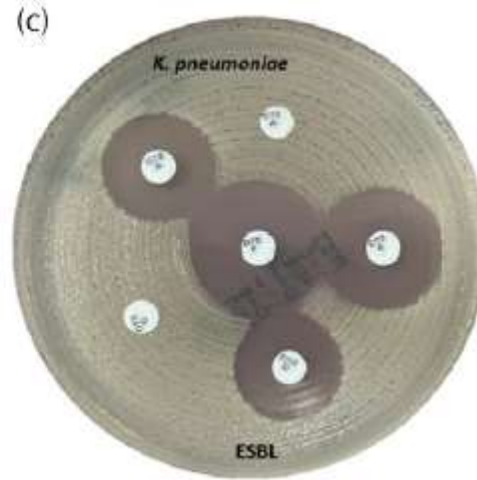
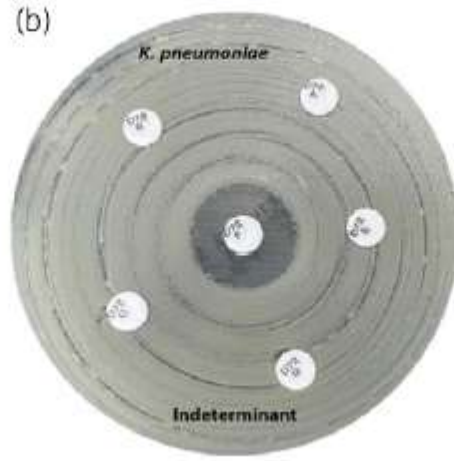
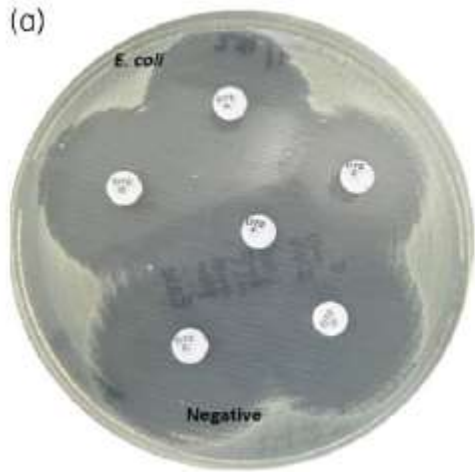
# AmpC MIK strip



A) İnhibisyon zonları eşit



B) Cefotetan/kloksasilin (CXT) MIK değeri Cefotetan (CTT) ile karşılaştırıldığında  $\geq 8$  kat azalmış



ESBL: B,D,E,F disklerinde zon oluşur

**D72C set** (a) AmpC negative. (b) Indeterminate. (c) ESBL positive. (d) AmpC positive. (e) Inducible AmpC and ESBL.

(D68C'de ilk dört kartuj var)

Cartridge A (cefepodoxime 10 µg),

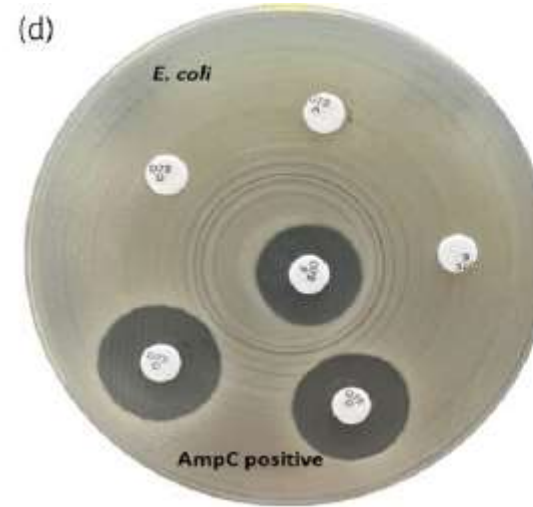
Cartridge B (cefepodoxime 10 µg + ESBL inhibitor),

Cartridge C (cefepodoxime 10 µg + AmpC inhibitor),

Cartridge D (cefepodoxime 10 µg + ESBL inhibitor + AmpC inhibitor),

Cartridge E (cefepodoxime 10 µg + ESBL inhibitor + AmpC inducer) and

Cartridge F (penem)



AmpC: C,D,F





# Karbapenemaz-üreten *Enterobacterales*

---

# Karbapenemaz-üreten *Enterobacterales*

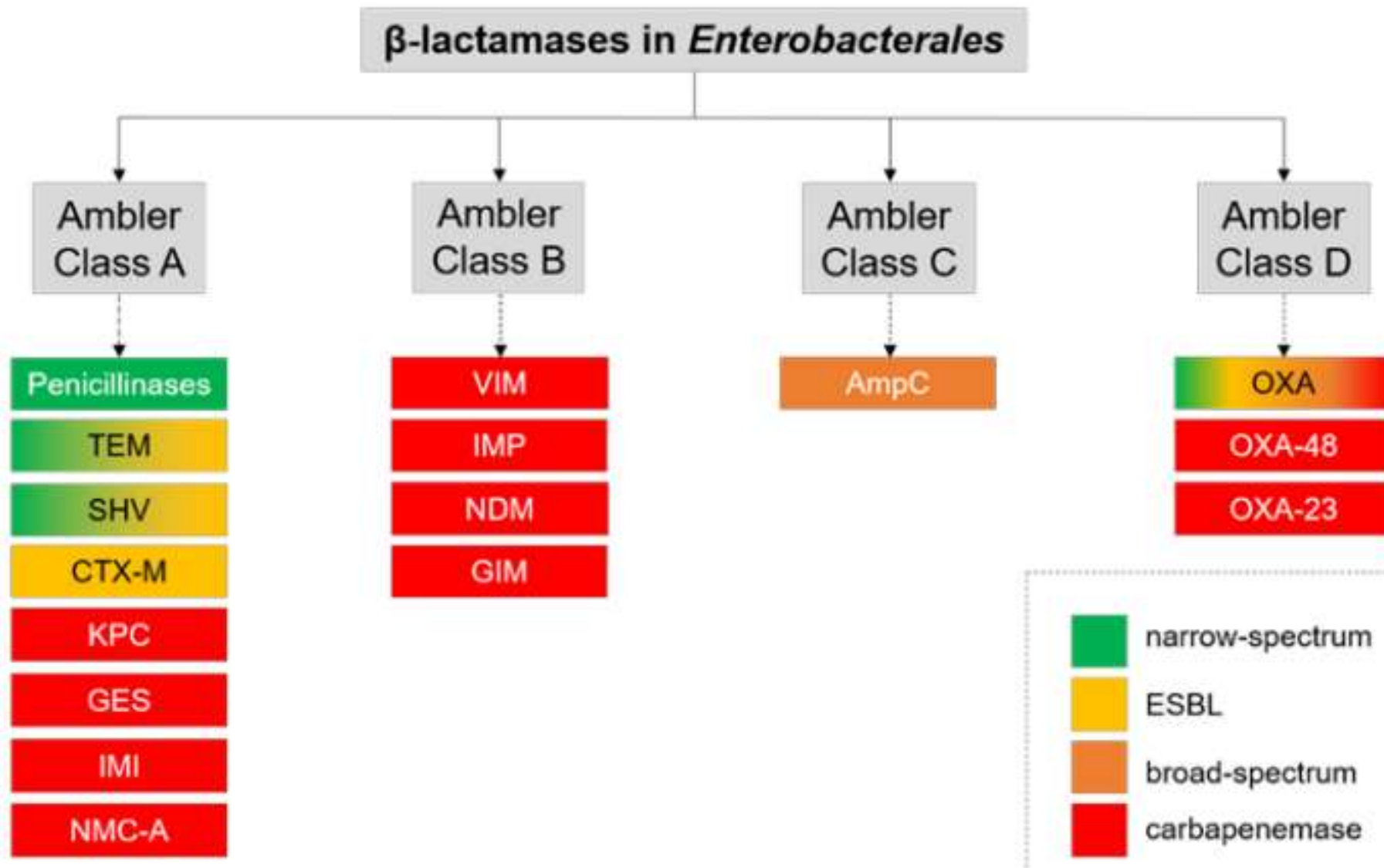


**Carbapenem-Resistant  
Enterobacterales**

## Karbapenemazlar

- Penisilinler
- Çoğu zaman sefalosporinleri
- Farklı dercelerde karbapenem ve monobaktamları hidrolize eden beta-laktamazdırlar

( monobaktamlar metallo B-laktamazlar tarafından hidrolize edilmez.)



**Figure 1.** Ambler's classification with examples of main  $\beta$ -lactamases in *Enterobacterales*.

Karbapenemaz üreten *Enterobacterales* için klinik sınır değerleri ve tarama testi kesim değerleri ( EUCAST'a göre)

Karbapenem	MiK (mg/L)		Disk diffüzyon zon çapı (mm) 10µg'lık disklerle	
	S/I sınır değeri	Tarama kesim noktası	S/I sınır değeri	Tarama kesim noktası
Meropenem (1)	≤2	>0.125	≥22	<28 (2)
Ertapenem (3)	≤0.5	>0.125	≥25	<25

1 Duyarlılık ve özgüllüğün en dengede olduğu antibiyotik

2 25-27 mm piperasilin tazobaktam veya temosilin dirençli ise < 25 mm daima karbapenemaz araştırılır.

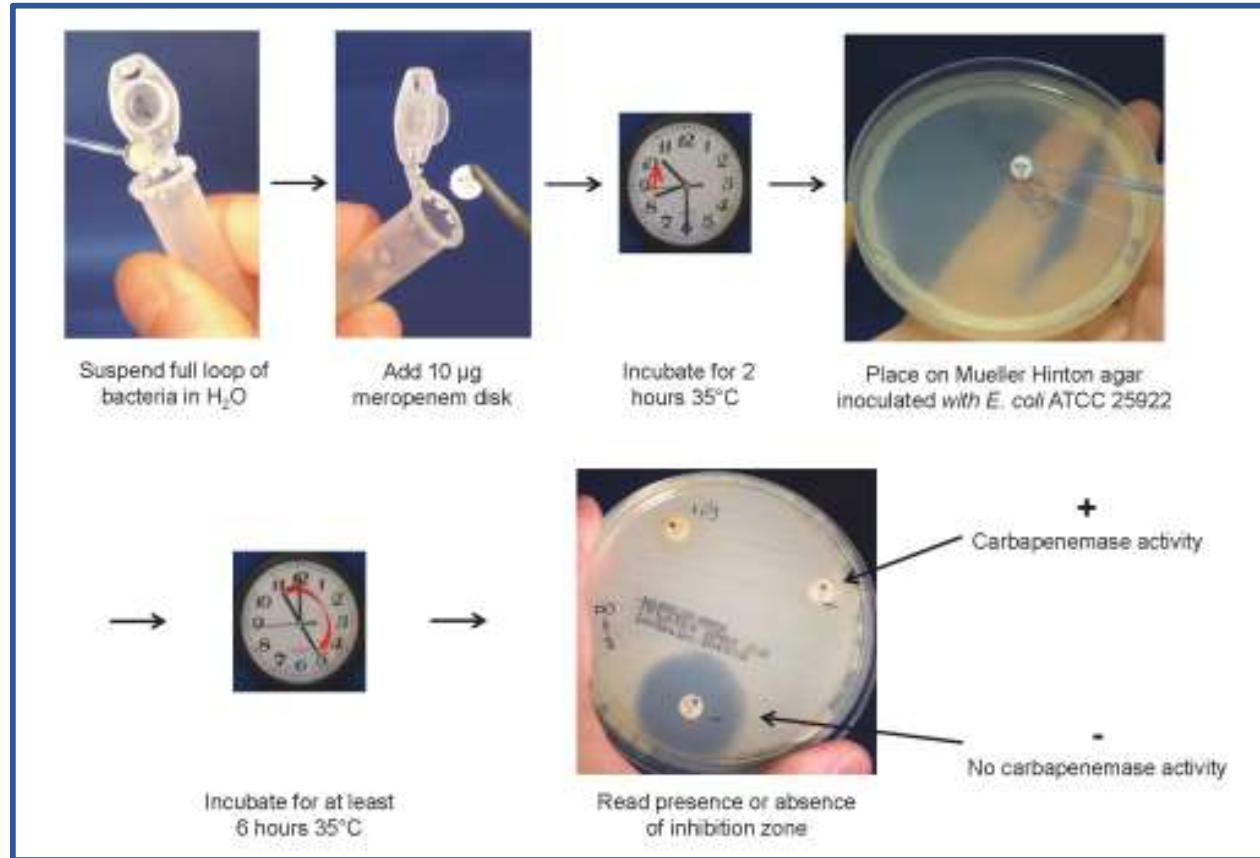
3 Duyarlılık yüksek, özgüllük düşük



# Fenotipik testler

- Modifiye karbapenemaz inaktivasyon metodu (**mCIM**)
- Biokimyasal kolorimetrik testler
  - **CarbaNP test**
    - Ticari CarbaNP test
    - Blue-Carba test (BCT)
    - $\beta$ -Carba test (Bio-Rad)
- Kombinasyon disk testleri
- **Lateral akım testleri**

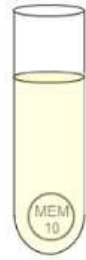
# Karbapenem inaktivasyon metodu (CIM)



- mCIM, değiştirilmemiş versiyon
- ✓ Su yerine normal saline solüsyonu veya besleyici bir sıvı besiyeri (Mueller-Hinton, triptik soy broth gibi) kullanılıyor
- ✓ İnkübasyon süresi 4 saate çıkarıldı
- ✓ İkinci inkübasyon süresi 18-24 saat
- EDTA-mCIM (eCIM) tanımlanmış

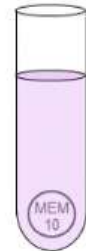
# Modifiye karbapenemaz inaktivasyon yöntemleri (mCIM/eCIM) CLSI tarafından tavsiye edilmektedir

(a) Tryptic Soy Broth



Incubate 4 hours (35°C)

(c) Tryptic Soy Broth  
+ EDTA



Incubate 4 hours (35°C)

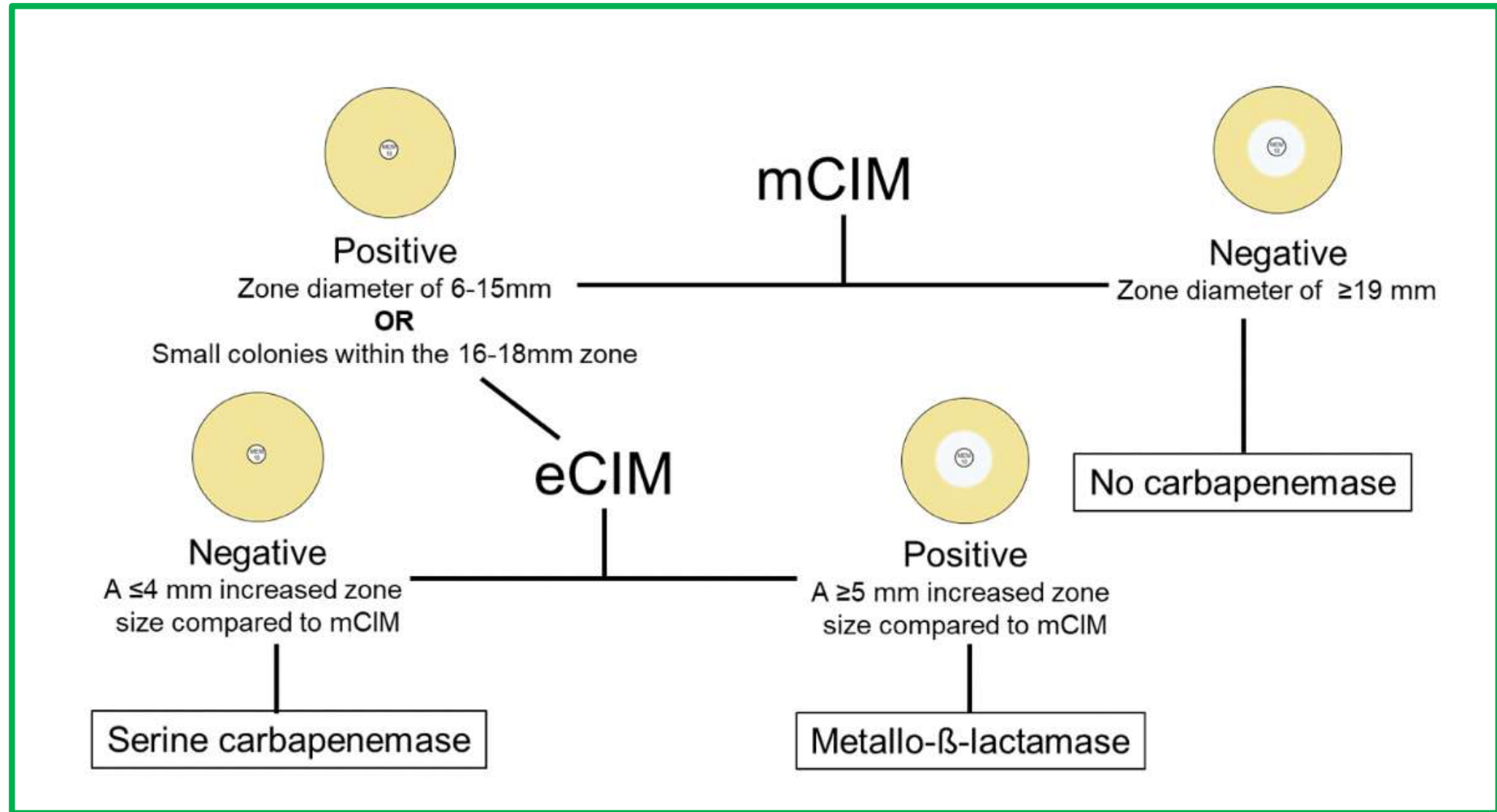
(b) mCIM



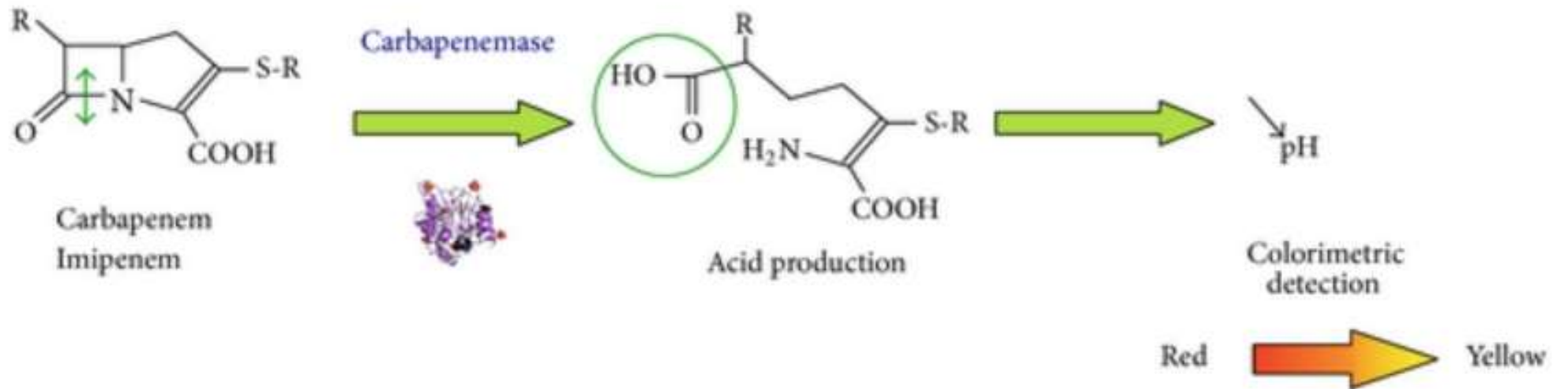
(d) eCIM



# mCIM ve eCIM akış şeması



# Carba NP test



# Carba-NP

## **Rapid Detection of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae***

Patrice Nordmann, Laurent Poirel,  
and Laurent Dortet

To rapidly identify carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae*, we developed the Carba NP test. The test uses isolated bacterial colonies and is based on in vitro hydrolysis of a carbapenem, imipenem. It was 100% sensitive and specific compared with molecular-based techniques. This rapid (<2 hours), inexpensive technique may be implemented in any laboratory.



## **Rapid Identification of Carbapenemase Types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by Using a Biochemical Test**

Laurent Dortet, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann

Service de Bactériologie-Virologie, INSERM U914 Emerging Resistance to Antibiotics, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine Paris Sud, K-Bicêtre, France

A biochemical test (Carba NP test II) was developed to identify carbapenemase production in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. and to discriminate between the different types of carbapenemases (classes A, B, and D). It is based on the detection of the acidification resulting from imipenem hydrolysis, coupled with tazobactam and EDTA as inhibitors. This is an easy and reliable technique (100% sensitivity and specificity) for detection of not only carbapenemase activity but also carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*.



## **Comparison of a Novel, Rapid Chromogenic Biochemical Assay, the Carba NP Test, with the Modified Hodge Test for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli**

Shawn Vasoo,<sup>a</sup> Scott A. Cunningham,<sup>a</sup> Peggy C. Kohner,<sup>a</sup> Patricia J. Simner,<sup>a</sup> Jayawant N. Mandrekar,<sup>b</sup> Karen Lolans,<sup>c</sup> Mary K. Hayden,<sup>c,d</sup> Robin Patel<sup>a,e</sup>

Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA<sup>a</sup>; Department of Health Sciences Research, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA<sup>b</sup>; Department of Pathology, Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, USA<sup>c</sup>; Section of Infectious Diseases, Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, USA<sup>d</sup>; Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA<sup>e</sup>

We compared carbapenemase detection among 271 Gram-negative bacilli (of which 131 were carbapenemase producers) using a novel chromogenic rapid test—the Carba NP test (CNP)—and the modified Hodge test (MHT). Sensitivities were comparable (CNP, 100%, versus MHT, 98%;  $P = 0.08$ ), but CNP was more specific (100% versus 80%;  $P < 0.0001$ ) and faster.

**Figure 2**

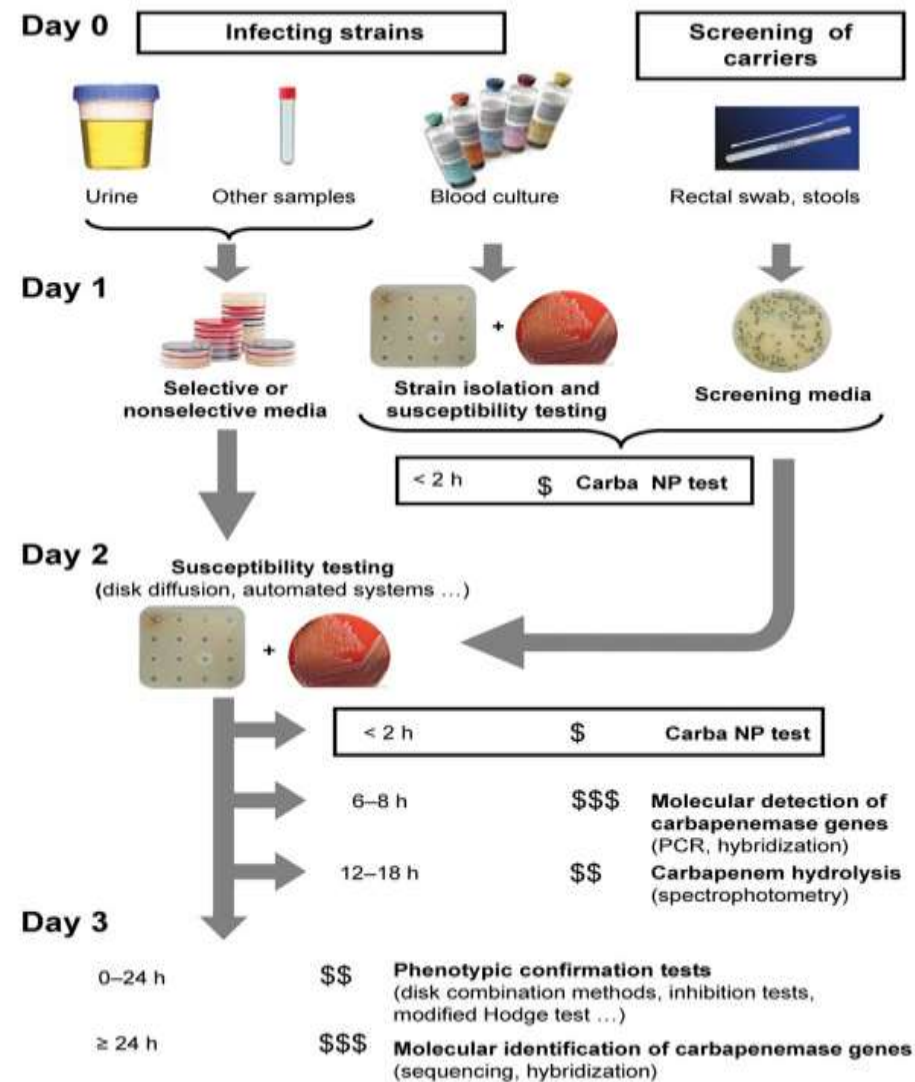


Figure 2. . Strategy for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. The time needed to perform the test is indicated before each test. The number of flasks indicates the degree of specialization needed to perform the test; the number of \$ indicates the relative cost of each test.



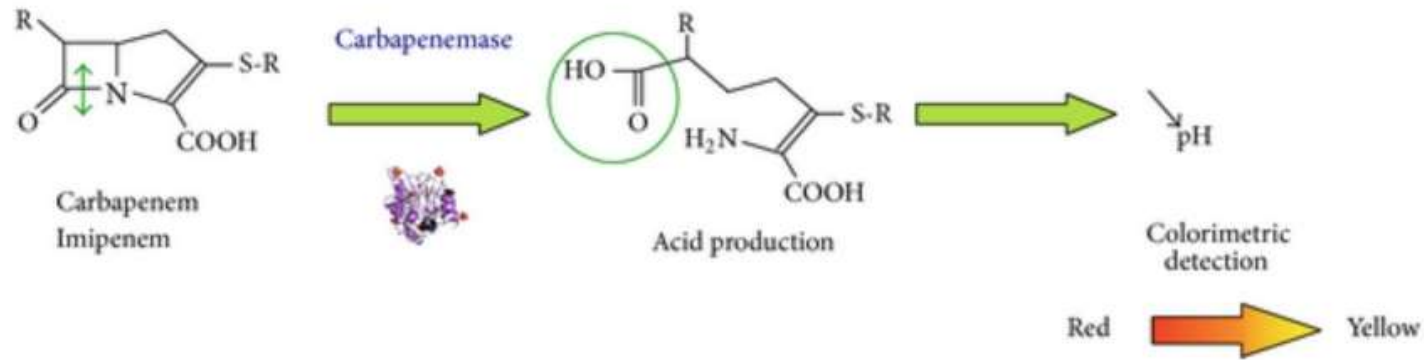
## Multicenter Performance Assessment of Carba NP Test

Scott A. Cunningham,<sup>a</sup> Brandi Limbago,<sup>b</sup> Maria Traczewski,<sup>c</sup> Karen Anderson,<sup>b</sup> Meredith Hackel,<sup>d</sup> Janet Hindler,<sup>e</sup> Dan Sahm,<sup>d</sup> Efe Alyanak,<sup>b</sup> Adrian Lawsin,<sup>b</sup> Christopher A. Gulvik,<sup>b</sup> Tom J. B. de Man,<sup>b</sup> Jayawant N. Mandrekar,<sup>f</sup> Audrey N. Schuetz,<sup>a,g</sup> Stephen Jenkins,<sup>g</sup> Romney Humphries,<sup>e</sup> Elizabeth Palavecino,<sup>h</sup> Shawn Vasoo,<sup>a,i,j</sup> Robin Patel<sup>a,j</sup>

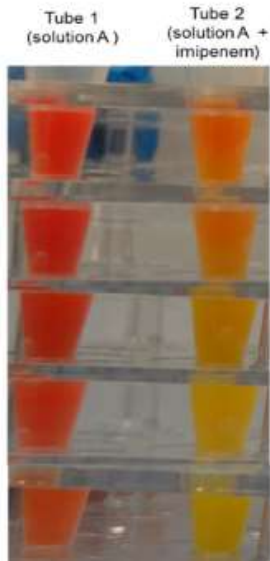
As part of an effort to standardize the method, the (CLSI) Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing performed a multicenter evaluation of the Carba NP test across seven testing sites to evaluate its performance prior to formally recommending the method for use in the *25th Informational Supplement of the Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (M100-S25)* ([21](#)). Herein, we present a summary of the performance assessment.

In conclusion, the CLSI standardized procedure for Carba NP testing demonstrated good performance using isolates with common carbapenemase genotypes currently found in *Enterobacteriaceae* in the United States. These data originated from a multisite trial using a well-characterized collection of GNB isolates with a diverse mix of resistance genotypes and phenotypes. Reduced performance of Carba NP is likely in areas that have a predominance of isolates harboring OXA-48-like carbapenemases. Further improvements which alleviate cost and improve reagent stability should be explored, as should a rigorous evaluation of methods and media to improve the performance of the assay with problematic genotypes.





KPC *Providencia stuartii*



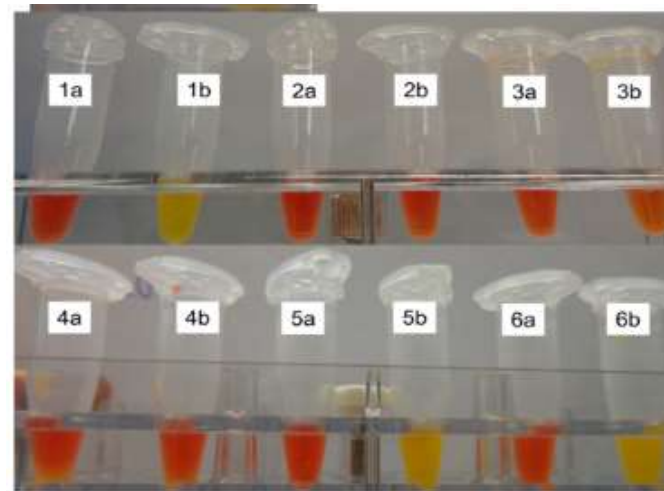
15 minutes, Orange

30 minutes, Light Orange

45 minutes, Dark Yellow

60 minutes, Yellow

120 minutes, Yellow



**Tüp 1**, KPC-pozitif *Klebsiella pneumoniae* kontrol (BAA-1705);  
**Tüp 2**, KPC *K. pneumoniae*- negatif kontrol (BAA-1706);  
**Tüp 3**, blank kontrol;  
**Tüp 4**, GSBL *Escherichia coli*(TEM-12);  
**Tüp 5**, NDM-1-pozitif *E. coli*;  
**Tüp 6**, OXA-48-pozitif *K. pneumoniae*(NCTC 13442).

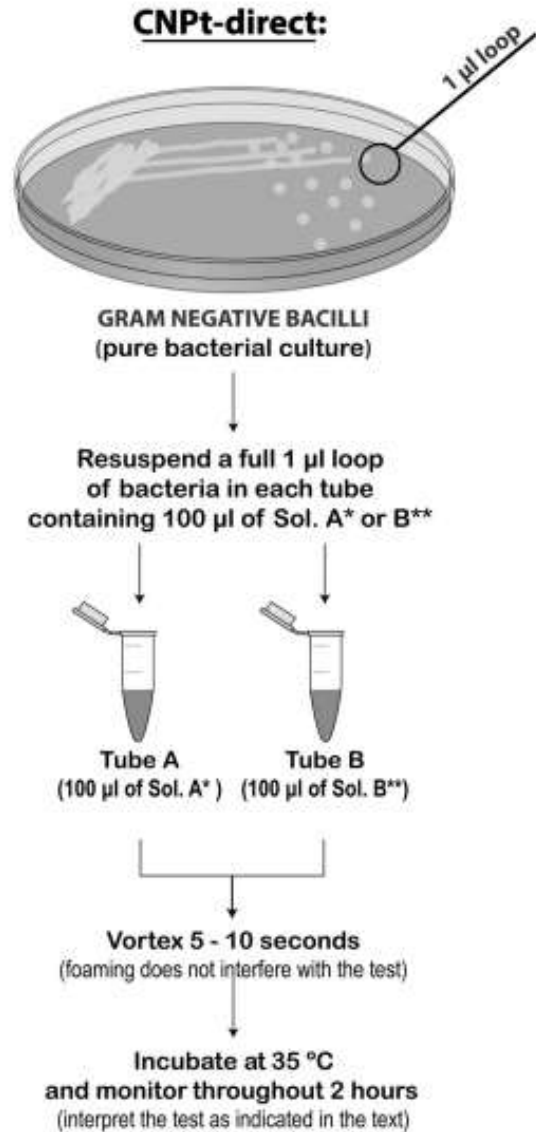
# Simplified Protocol for Carba NP Test for Enhanced Detection of Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures

Fernando Pasteran,<sup>a</sup> Nathalie Tijet,<sup>b</sup> Roberto G. Melano,<sup>b,c,d</sup> Alejandra Corso<sup>a</sup>

Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional y Regional de Referencia en Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Ministerio de Salud de la Nación, Buenos Aires, Argentina<sup>a</sup>; Public Health Ontario Laboratories (PHOL), Toronto, Ontario, Canada<sup>b</sup>; Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada<sup>c</sup>; Department of Microbiology, Mt Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada<sup>d</sup>

**We compared carbapenemase detection among 266 Gram-negative bacilli (161 carbapenemase producers) using the Carba NP tests issued by the CLSI (CNPt-CLSI) and a novel protocol (CNPt-direct) designed for carbapenemase detection direct from bacterial cultures (instead of bacterial extracts required by the CLSI tests). The specificities were comparable (100%), but the CNPt-direct was more sensitive (98% versus 84%). The CNPt-direct was easier to perform due to the direct use of colonies and offered a more robust detection of carbapenemase producers.**

J Clin Microbiol. 2015 Dec;53(12):3908-11.



\*Sol. A: Aqueous phenol red 0.05% +  $SO_4Zn$  10mM + 0.1% (v/v) of Triton X-100 solution. Adjusted to pH=7.8.

\*\*Sol. B: Sol A + 6 mg/ml imipenem  
or 12 mg/ml imipenem-cilastatin (injectable form)

FIG 1. Schematic representation of the CNPt-direct protocol.

- Basitleştirilmiş CarbaNP testi **CNPt-direct**,
- Ekstraksiyon gerektirmemesi maliyetini düşürüyor
- OXA-48, NDM-1 saptanmada daha başarılı
- Karbapenemazların saptanmasında daha başarılı
- Başka bir doğrulama testinin kullanılması gerekliliğini azaltıyor

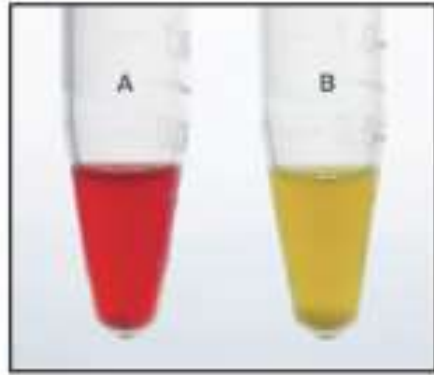
## Comparison of Carba NP-Direct, Carbapenem Inactivation Method, and $\beta$ -CARBA Tests for Detection of Carbapenemase Production in *Enterobacteriaceae*

Banu Bayraktar,<sup>1</sup> Ayşe Barış,<sup>1</sup> Gülşah Malkoçoğlu,<sup>2</sup> Duygu Erdemir,<sup>1</sup> and Nur Kına<sup>1</sup>

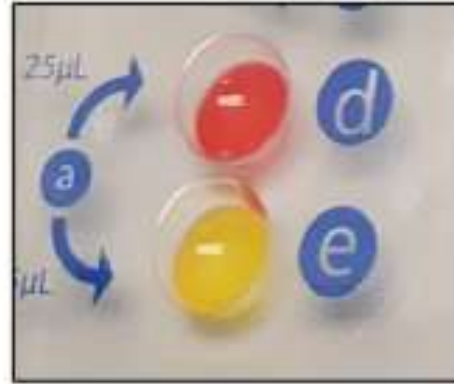
- Carba NP-direct, CIM, and  $\beta$ -CARBA testlerinin duyarlılıklarını sırasıyla %99, %92.7 ve %93.6
- Her üç tetsin özgüllüğü %100

# Carba NP and variants

B.

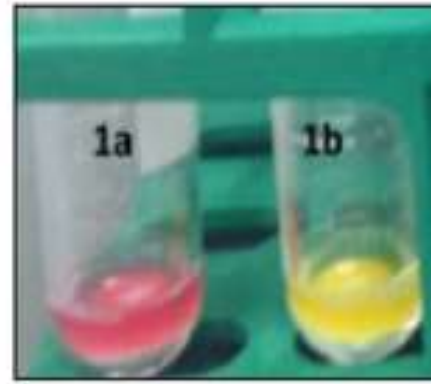


C.



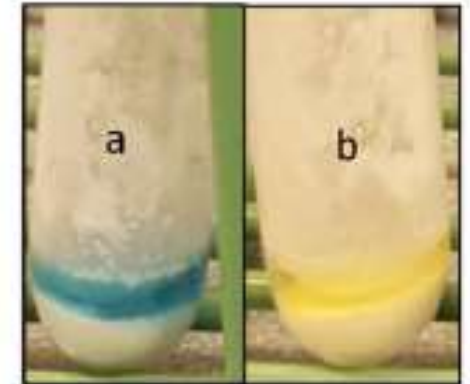
Rapidec Carba NP  
(BioMérieux)

D.

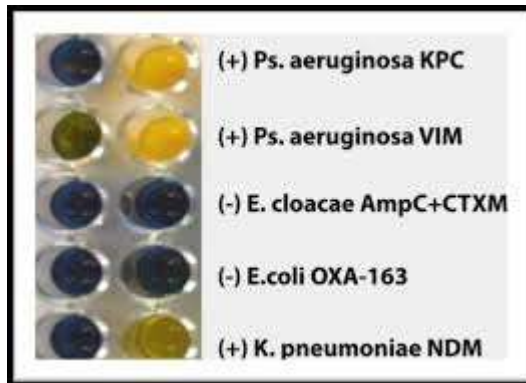


Neo-Rapid Carba screen  
(Rosco Diagnostica)

E.



Rapid Carb Blue Screen  
(Rosco Diagnostica)



	Tests Used for Epidemiological or Infection Prevention-Related Testing			
	CarbaNP (Table 3B)	mCIM (Table 3C)	mCIM With eCIM (Table 3C)	Other (eg, molecular assays)
<b>Organisms</b>	Enterobacterales and <i>P. aeruginosa</i> that are not susceptible to one or more carbapenems	Enterobacterales and <i>P. aeruginosa</i> that are not susceptible to one or more carbapenems	Enterobacterales that are positive by mCIM	Enterobacterales and <i>P. aeruginosa</i> that are not susceptible to one or more carbapenems to determine the presence of a carbapenemase, or to determine carbapenemase type in isolates positive by CarbaNP or mCIM
<b>Strengths</b>	Rapid	No special reagents or media necessary	No special reagents or media necessary	Determines type of carbapenemase in addition to absence or presence of the enzyme
<b>Limitations</b>	<p>Special reagents are needed, some of which necessitate in-house preparation (and have a short shelf life).</p> <p>Invalid results occur with some isolates.</p> <p>Certain carbapenemase types (eg, OXA-type, chromosomally encoded) are not consistently detected.</p>	Requires overnight incubation	Requires overnight incubation	<p>Special reagents and equipment are needed.</p> <p>Specific to targeted genes; false-negative result if specific carbapenemase gene present is not targeted.</p>

Meropenem < 28mm DD (veya MİK > 0.125 mg/L) tüm *Enterobacteriaceae*'ler için

Kural dışı: Meropenem 25-27mm ve PIP-TAZO I/S ileri test gerek yok

Sadece boronikasit ile sinerji

KPC (veya diğer class A karbapenemaz)

Boronikasit ve kloksasilin ile sineji

AmpC (Kromozomal) veya plasmid aracılı AmpC artı porin kaybı

Sadece dipikolinikasit ile sinerji

Metallo-β-laktamaz (MBL)

Hiç sinerji yok

Temosilin R OXA-48

Temosilin S GSBL artı porin kaybı

EUCAST

$\beta$ -laktamaz	10 $\mu$ g meropenem disk/tablet zon $\mathcal{C}$ apında artış ile sinerjinin izlenmesi				Temosilin MİK>128 mg/L veya zon $\mathcal{C}$ apı <11mm
	DPA/EDTA	APBA/PBA	DPA+ APBA	CLX	
MBL	+	-	-	-	Değişken <sup>1</sup>
KPC	-	+	-	-	Değişken <sup>1</sup>
MBL+KPC <sup>2</sup>	Değişken	Değişken	+	-	Değişken <sup>1</sup>
OXA-48-like	-	-	-	-	Evet
AmpC+porin kaybı	-	+	-	+	Değişken <sup>1</sup>
GSBL+porin kaybı	-	-	-	-	Hayır

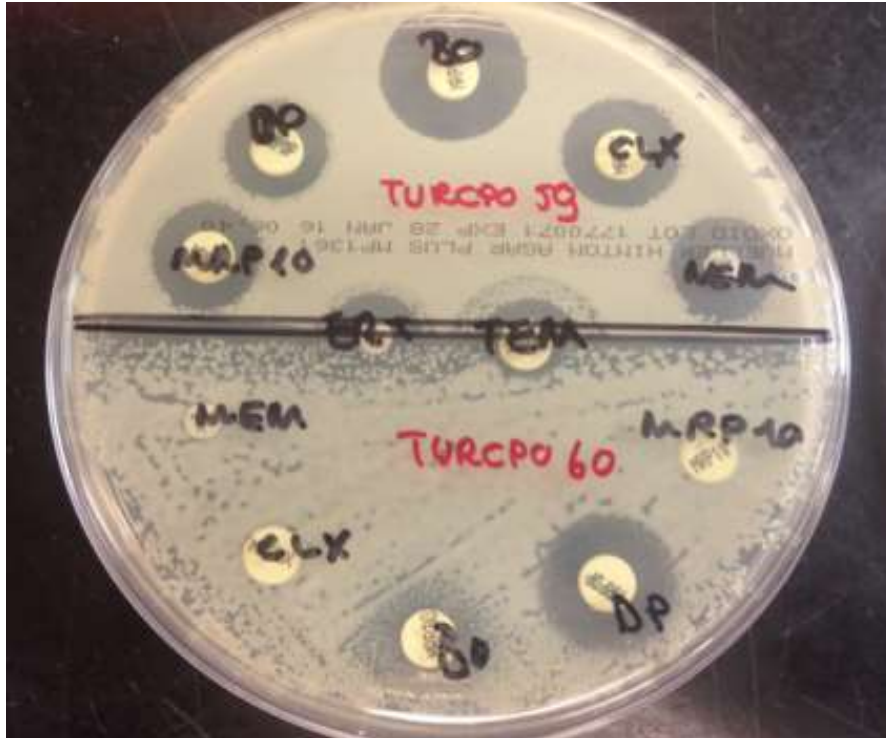
Kısaltmalar: MBL=metallo- $\beta$ -laktamaz, KPC= Klebsiella pneumoniae karbapenemaz, DPA=dipikolinik asit, EDTA=etilendiamintetraasetik asit, APBA=aminofenil boronik asit, PBA= fenil boronik asit, CLX=kloksasilin

<sup>1</sup>Temosilin duyarlılık testi sinerji saptanamadığı durumlarda, OXA-48 ile GSBL+porin kaybını ayırt etmek için önerilir. Diğer enzimlerin varlığında duyarlılık değişkendir ve  $\beta$  –laktamazın var olduğu ile ilgili bir endikasyon oluşturmaz

<sup>2</sup>Bu kombinasyon karbapenemlere yüksek seviyede direnç yol açar ve Yunanistan dışında nadiridir. Çift inhibitör içeren tabletlerin kullanımıyla ilgili çok veri yok



- Ticari kombinasyon disk testleri iyi olmakla birlikte performansları karbapenemaz tipi ve ticari şirketler arasında değişiklik göstermektedir
- Tekbaşlarına laboratuvarlarda kullanılması önerilmemektedir
- Tanı algoritmaları içinde yer verilebilir



ROSCO KPC+MBL+OXA48 doğrulama testinin petri görüntüsü.  
TURCPO 59 KPC; TURCPO 60 NDM

Sattler J, Brunke A, Hamprecht A. Systematic Comparison of Three Commercially Available Combination Disc Tests and the Zinc-Supplemented Carbapenem Inactivation Method (zCIM) for Carbapenemase Detection in *Enterobacterales* Isolates. J Clin Microbiol. 2021 Aug 18;59(9):e0314020

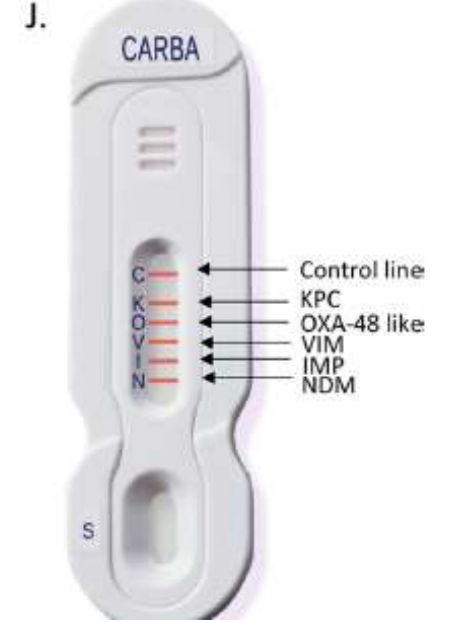
# Lateral akım testleri



BACTERIOLOGY



Lateral Flow Immunoassay



## Evaluation of NG-Test Carba 5 for Rapid Phenotypic Detection and Differentiation of Five Common Carbapenemase Families: Results of a Multicenter Clinical Evaluation

Stephen Jenkins,<sup>a</sup> Nathan A. Ledeboer,<sup>b</sup> Lars F. Westblade,<sup>a</sup> Carey-Ann D. Burnham,<sup>d</sup> Matthew L. Faron,<sup>b</sup> Yehudit Bergman,<sup>e</sup> Rebecca Yee,<sup>e</sup> Brian Mesich,<sup>b</sup> Derek Gerstbrein,<sup>b</sup> Meghan A. Wallace,<sup>d</sup> Amy Robertson,<sup>a</sup> Kathy A. Fautleroy,<sup>a</sup> Anna S. Klavins,<sup>c</sup> Rianna Malherbe,<sup>c</sup> Andre Hsiung,<sup>c</sup> Patricia J. Simner<sup>e</sup>

J Clin Microbiol. 2020 Jun 24;58(7):e00344-20.

- Kısa sürede sonuç alınabiliyor (yaklaşık 15 dakika)
- Enzim tipi de belirleniyor
- Kompozit referans (Xpert Carba-R real-time PCR assay+mCIM) ile karşılaştırıldığında pozitif ve negatif uyum oranı%100
- Rutin de kullanılan besiyerleri kanlı agar, McConkey ve MH agardaki koloniler kullanılabilir

# Diğer karbapenem direnç mekanizmaları

- AmpC veya GSBL üreticisi suşlarda porin kaybı
- AmpC aşırı üretimi
- Atım pompaları gibi

başka mekanizmalarla da karbapenem direnci oluşabilir



# Enterokoklarda VanA- VanB dirençleri

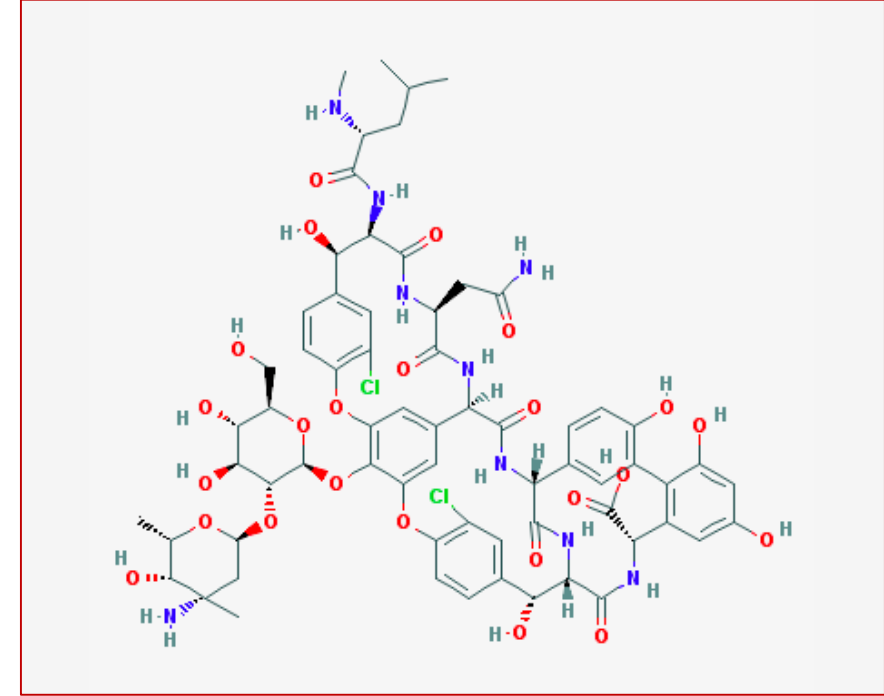
# Vankomisin

- Borneo yağmur ormanları toprağındaki “*Streptomyces orientalis*”ın sıvı fermentasyonu yolu ile elde edilmiş, bakterisidal aktiviteli bir bileşik (1956)
- Dr.E.C. Kornfeld Eli Lilly’de organik kimyacı
- FDA bileşigin kullanımına hızla onay vermiş
- Eli Lily’deki araştırmacılar “Mississippi mud” takma adını veriyorlar



# Vankomisin

- Keşfedildikten sonraki 10 yılda çok kullanılmıyor
- Metisilin ve diğer antistafilokokal penisilinlerin bulunması ve tedavi de kullanılmaları
- **1970'lerde tüm dünyada MRSA'nın ortaya çıkmasıyla tekrar gündeme geliyor**
- **1980'lerin ortasında VRE**
- 1990'ların başlarında vankomisin "orta duyarlı" stafilokoklar
- 2002 de Michigan'da VRSA



- Çok sayıda glikopeptid direnç operonu tanımlanmış olmakla birlikte (VanA, B, C, D, E, G, L, M), klinikle en ilişkili olanları **VanA** ve **VanB**'dir
- Her ikisinin de **transpozonlar üzerinde bulunuyor** olması yayılmalarını kolaylaştıran olası mekanizmadır
- Edinilmiş glikopeptid direnci sıklıkla ***E.faecium***'da görülür
- **VanC** tipi direnç koromozomal olarak **taşınır**,***Enterococcus gallinarum***, ***E.caseliflavus*** ve ***E.flavescens*** türlerinin intersensik direnç genidir
- **VanA** enterokoklarda **en sık** görülen glikopeptid direnç tipi olup vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde direnç ile karakterizedir
- **VanB tipi direnç ikinci sıklıkta** görülür, VanB taşıyan izolatlar vankomisine dirençli iken teicoplanine duyarlıdır
- VanC tipi vankomisine düşük düzeyde dirençli ve teicoplanine duyarlı olması ile karakterizedir

Resistance	Acquired						Intrinsic	
	High level	Variable level	Moderate level		Low level		Low level	High level
Type	VanA	VanB1/B2/B3	VanD	VanF	VanG	VanE	VanC1/C2/C3	Not applicable
MIC (mg/L)								
Vancomycin	64 -1000	4 -1000	64 -128	8	16	8-32	2 -32	≥1000
Teicoplanin	16 -512	0.5 -1	4 - 64	<1	0.5	0.5	0.5 -1	≥256
Conjugation	+	+	-	Not reported	+	-	-	-
Mobile element	Tn1546	Tn1547 Tn1549-Tn5382	Unkown	Not reported	Unkown	Unkown	Not applicable	Not applicable
Species	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. raffinosus</i> <i>S. aureus</i> <i>B. circulans</i> <i>P. apiarius</i> <i>P. thiaminolyticus</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>S. bovis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>B. popillae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>Lactococcus</i> <i>Pediococcus</i>
Expression		Inducible	Constitutive	Not reported		Inducible	Constitutive Inducible	Constitutive
Location		Plasmid Chromosome	Chromosome	Not reported		Chromosome	Chromosome	Chromosome
Modified target		▼ D-Ala-D-Lac			▼ D-Ala-D-Ser		▼ D-Ala-D-Lac	



# VRE'nin laboratuvarda saptanması

- MİK belirlenmesi
  - Sıvı mikrodilüsyon veya agar dilüsyon
- Disk diffüzyon testleri
  - VanA genotipi belirlemede sonuçlar iyi
  - VanB genotipini belirlemede yetersiz
- Sınır değer agar/Vankomisin agar tarama
- Genotipik testler:

Laboratuvarda üretilmiş veya ticari VanA ve VanB saptayan PZR testleri kullanılabilir



This warning was issued May 2019.

**Vancomycin susceptibility testing in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* using MIC gradient tests – a modified warning 21 May, 2019.**

Original warning was issued 10 July, 2018, against the use of gradient tests for the detection of vanB-positive Enterococci.

Several studies (Norwegian Reference Laboratory, Tromsø, Norway; The EUCAST Development Laboratory, Växjö, Sweden; Robert Koch Institute, Wernigerode, Germany) show that the use of MIC gradient tests with standard inoculum and incubation fail to detect glycopeptide resistance in low-level resistant enterococci (see posters 1754 and 1764, ECCMID 2019). Confirmation of suspected vancomycin resistance with gradient tests, can be significantly improved by the use of a macro method (BHI-medium, McF 2.0 and 48 hours incubation; see poster 1764, ECCMID 2019). Uncertain results should be confirmed with a molecular test for vanA and vanB.

We remind users of the EUCAST standard disk diffusion test for vancomycin in *Enterococcus* spp. to measure the zone (suspect resistance if <12 mm), and to note whether the zone edge is sharp or fuzzy (suspect resistance if fuzzy) and to take into account any colonies inside the inhibition zone (suspect resistance if colonies in zone). Either of these phenomena indicates glycopeptide resistance and a PCR should be performed to confirm or exclude the presence of vanA and vanB.

# VANKOMİSİN

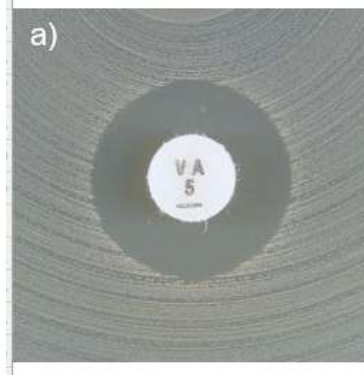
İnkübasyon: Normal atmosfer,  
35±1°C, **24 saat!!!!**

Glikopeptitler	MİK sınır değerleri (mg/L)			Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
	S ≤	R >	TBA		S ≥	R <	TBA
<u>Teikoplanin</u>	2	2		30	16	16	
<u>Vankomisin*</u>	4	4		5	12	12	

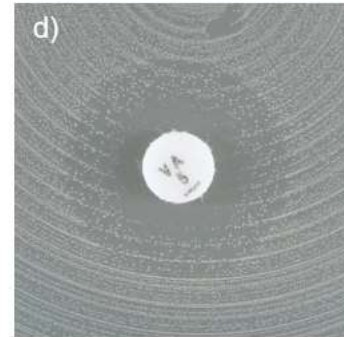
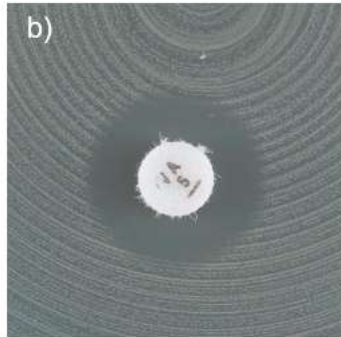
\**E. casseliflavus* ve *E. galinarum* dışında  
Bu türlerde vankomisin duyarlılık testi yapılmaz

Zon sınırları plağa arkadan  
gelen bir ışık ile (**plak ışığa  
doğru tutularak**)  
incelenmeli

# Enterokok türlerinde vankomisin inhibisyon zon örnekleri



Keskin zon sınırı ve zon çapı  $\geq 12$ mm ise duyarlı olarak bildirilir



b-d) Belirsiz zon sınırı veya zon içinde koloniler. Zon çapı  $\geq 12$  mm olsa bile, PCR ile doğrulama testi yapılmalı veya suş vankomisine dirençli olarak bildirilmelidir

# Vankomisin agar tarama (EUCAST 2024; CLSI M100-ED34:2024)

- BHI agar
- 6 µg/ml vankomisin
- Inokulum: 10µl 0.5 McFarland nokta ekim;
- 35°C±2°C, oda havası
- 24 saat
- >1 koloni varlığı
- Vankomisin MİK bakılarak doğrulanmalı



# Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozit direnci

- Enterokoklar aminoglikozitlere karşı duvar yapıları geçirken olmadığından **doğal dirençlidir.**
- Endokardit gibi penisilin/ glikopeptit + aminoglikozit kombinasyonun kullanılmasını gerektirecek ciddi enterokok enfeksiyonlarında aminoglikozit modifiye edici enzimlere bağlı kazanılmış yüksek düzeyde aminoglikozit direncinin(YDAD) araştırılması önemlidir
- YDAD olduğunda hücre duvarına etkili antibiyotikle aminoglikozit arasındaki **sinerji kaybolur**
- YDAD sıvı mikrodilüsyon ve disk diffüzyon yöntemleri ile belirlenebilir.

Aminoglikozitler <sup>1</sup>	MİK sınır değerleri (mg/L)			Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)			
	S ≤	R >	TBA		S ≥	R <	TBA	
<a href="#">Amikasin</a>	Not <sup>2</sup>	Not <sup>2</sup>		30	Not <sup>A</sup>	Not <sup>A</sup>		
<a href="#">Gentamisin (yüksek-düzyey aminoglikozit direnci testi)</a>	<a href="#">Not<sup>2</sup></a>	<a href="#">Not<sup>2</sup></a>			<a href="#">Not<sup>A</sup></a>	<a href="#">Not<sup>A</sup></a>		
<a href="#">Netilmisin</a>	Not <sup>2</sup>	Not <sup>2</sup>			Not <sup>A</sup>	Not <sup>A</sup>		
Streptomisin (yüksek-düzyey aminoglikozit direnci testi)	Not <sup>3</sup>	Not <sup>3</sup>			300	Not <sup>B</sup>	Not <sup>B</sup>	
<a href="#">Tobramisin</a>	Not <sup>2</sup>	Not <sup>2</sup>			Not <sup>A</sup>	Not <sup>A</sup>		



**2/A. Gentamisin yüksek-düzy aminoglikozit direncinin (YDAD) taranması için kullanılabilir.**

*Negatif test:* Gentamisin **MİK değeri  $\leq 128$  mg/L veya zon çapı  $\geq 8$  mm** olan suşlar. Suş gentamisin için sokak tipidir ve düşük-düzy doğal direnci bulunmaktadır. Diğer aminoglikozitler için durum farklı olabilir. Suş penisilin veya glikopeptite duyarlı ise penisilinler veya glikopeptitlerle sinerji beklenebilir.

*Pozitif test:* **Suş gentamisin ve (streptomisin hariç) diğer aminoglikozitlere karşı yüksek düzey dirence sahiptir.** Streptomisin duyarlılığının ayrı olarak test edilmesi gereklidir). Penisilinler veya glikopeptitlerle sinerji sağlanamaz.

**3/B.** Gentamisine yüksek düzey dirençli olan suşlar streptomisine yüksek düzey dirençli olmayabilir.

*Negatif test:* **Streptomisin MİK değeri  $\leq 512$  mg/L veya zon çapı  $\geq 14$  mm** olan suşlar. Suş streptomisin için sokak tipidir ve düşük düzey doğal direnci bulunmaktadır. Suş penisilin veya glikopeptite duyarlı ise penisilinler veya glikopeptitlerle sinerji beklenebilir.

*Pozitif test:* Streptomisin **MİK değeri  $> 512$  mg/L veya zon çapı  $< 14$  mm** olan suşlar. Suş streptomisine yüksek düzey dirençlidir. Penisilinler veya glikopeptitlerle sinerji sağlanamaz.



Metisiline dirençli  
*Staphylococcus aureus*  
(MRSA)

# MRSA

Metisilin direnci **Stafilokokal kaset kromozom (SCC)*mec*** üzerinde taşınan *mecA* veya *mecC* genleri ile kodlanıyor

Microbial Pathogenesis 101 (2016) 56–67.

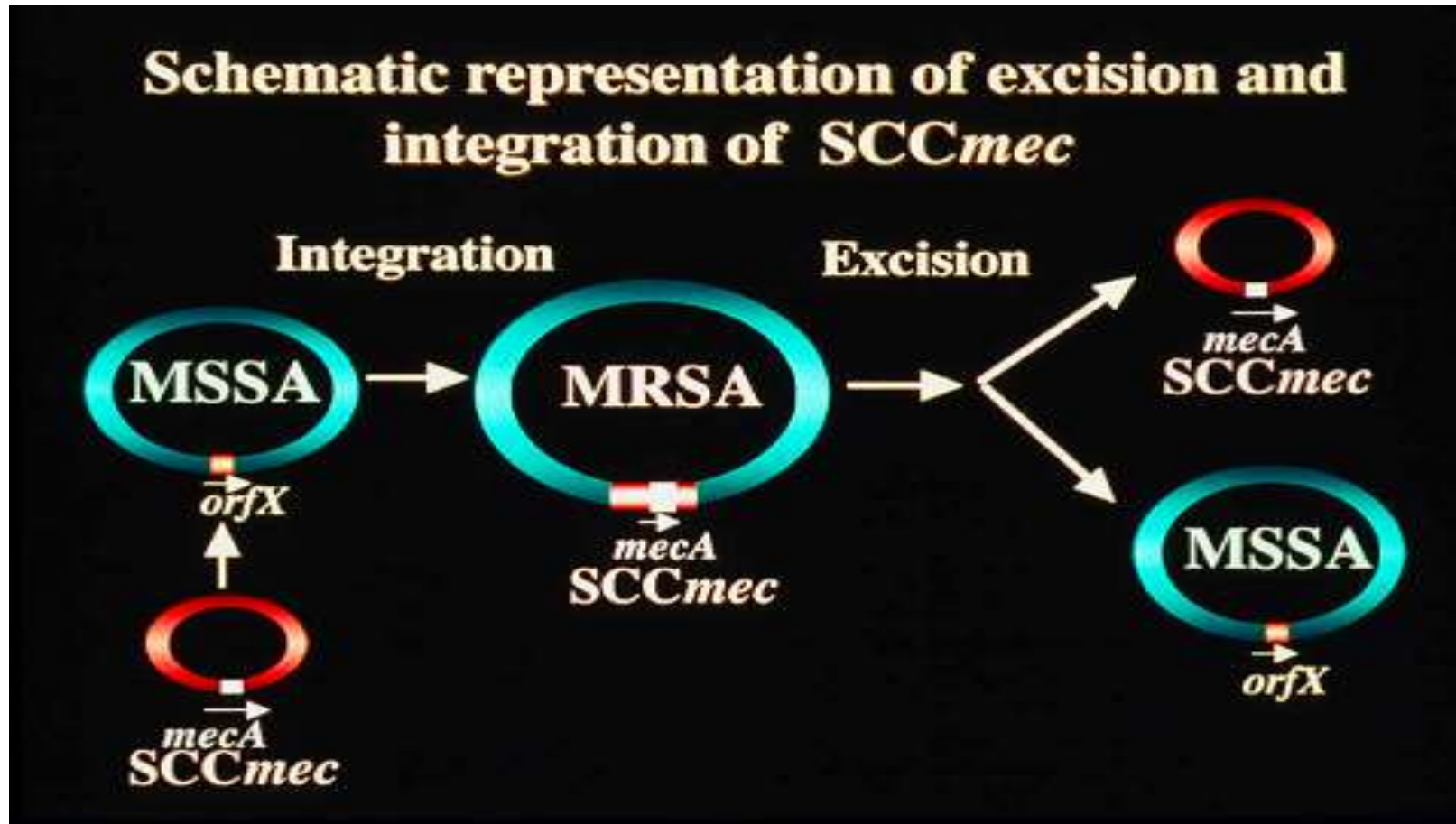


Staphylococcal chromosomal cassettes *mec* (SCC*mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Junyan Liu <sup>a, b</sup>, Dingqiang Chen <sup>c</sup>, Brian M. Peters <sup>b</sup>, Lin Li <sup>a</sup>, Bing Li <sup>a</sup>, Zhenbo Xu <sup>a, d, \*</sup>, Mark E. Shirliff <sup>d</sup>

11 SCC*mec* tipi mevcut (I-XI)

# SSCmec



# MRSA

- PBP2a veya PBP2c sentezi
- PBP2a ve PBP2c'ye beta-laktam antibiyotiklerin bağlanma afinitesi düşük
- Anti-MRSA sefalosporinler
  - Ceftaroline
  - Ceftobiprole

# MRSA'nın laboratuvarında saptanması

## Oksasilin testi

### MİK

- *S. aureus*, *S. lugdunensis* ve *S. saprophyticus* MİK değeri **>2mg/L**
- Diğer koagülaz negatif stafilokoklarda (KNS) oksasilin MİK değeri **>0.25 mg/L**

Oksasilin disk difüzyon testlerinin MR belirlenmesinde kullanılması önerilmemekte

Oksasilin (sadece tarama), *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* ve *S. coagulans*

- 1µg oksasilin diski S≥20mm, R<20mm

# Sefoksitin (tarama)



Sefoksitin (tarama)	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
	S≤	R>		S≥	R<	TBA
<i>S. aureus</i> ve koagülaz negatif stafilokoklar ( <i>S. epidermidis</i> ile <i>S. lugdunensis</i> hariç)	Not	Not	30	22	22	
<i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i>	Not	Not	30	27	27	27
<i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. schleiferi</i> ve <i>S. coagulans</i>	Not (5)	Not (5)		Not (C)	Not(C)	

**5/C.** Sefoksitin disk testi, *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* ve *S. coagulans*'ın metisilin direncini belirlemede, diğer stafilokoklarda olduğundan daha az güvenilirdir. Bu türler için, oksasilin 1 µg diskini ve S≥20, R<20 mm sınır değerlerini kullanınız.

# MRSA'nın laboratuvarında saptanması

## Sefoksitin tarama:

- Sefoksitin MİK değeri (metisilin direnci için):

- ✓ *S.aureus* ve *S. lugdunensis* >4 mg/L

- ✓ *S. saprophyticus* için >8 mg/L

Sıklıkla mec A veya mec C geni varlığına bağlı olarak, metisiline dirençlidir. Disk difüzyon ile metisilin direnci güvenilir olarak öngörülebilir.

- Diğer koagülaz negatif stafilokoklarda sefoksitin MİK'i MR taraması amacıyla kullanılmaz

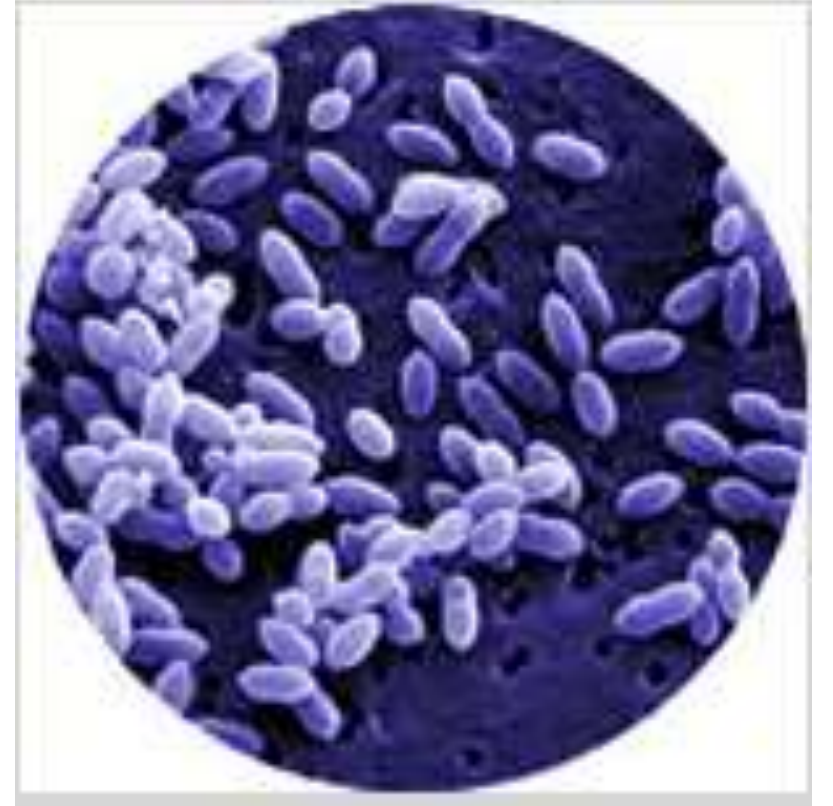




Penisiline duyarlı  
olmayan *Streptococcus*  
*pneumoniae*

# *S.pneumoniae*

- İlk penisilin duyarlı olmayan pnömokok **1967** de Avusturalya'da izole edilmiş
  - Penisilin MİK'i 0,6mg/L
  - Tetrasiklin MİK'i 5mg/L
- Yeni Gine , Güney Afrika, İspanya
- 1980-1990'lara gelindiğinde dünyada hızla yayılmış,
  - Güney,doğu Avrupa
  - Kuzey Amerika
  - Güney Amerika
  - Afrika
  - Asya



# *S.pneumoniae*

## Penisilin direnci:

- PBPs IA, 2X, 2B'deki yapısal değişiklikler ile oluşur
- Penisilin ve diğer beta-laktamlara afinitenin düşmesine yol açar



# EUCAST 2024'e göre sınır değerleri

	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon apı sınır değerleri (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
<b>Benzilpenisilin (menenjit dışındaki enfeksiyonlar)</b>	0.06	2			
<b>Benzilpenisilin (menenjit)</b>	0.06	0.06			
<b>Oksasilin</b>	UD*	UD	<b>1</b>	20	
<b>Sefaklor</b>	<b>0.001</b>	0.5	<b>30</b>	50	28
<b>Sefotaksim(menenjit)</b>	0.5	2			
<b>Sefotaksim (menenjit dışındaki enfeksiyonlar)</b>	0.5	0.5			
<b>Seftriakson</b>	0.5	2			
<b>Seftriakson(menenjit)</b>	0.5	0.5			
<b>Meropenem(menenjit dışındaki enfeksiyonlar)</b>	2	2			
<b>Meropenem(menenjit)</b>	0.25	1			

\*UD: Uygun değil

# *S.pneumoniae* izolatlarında penisilin direncinin saptanması

## Disk Diffüzyon

- 1 $\mu$ g oksasilin diski
- Zon çapı  $\geq 20$ mm, duyarlı
- $< 20$ mm ise benzilpenisilin menenjit için ve fenoksimetil penisilin tüm endikasyonlar için R bildirilir
- **Benzilpenisilin menenjit dışı kullanımları için MİK'ine bakılır**
- Diğer betalaktamlara duyarlılık yine oksasilin zon çapı ile tahmin edilebilir

***Streptococcus pneumoniae*: Beta-laktamlar için yapılan özel testlerin sayısını azaltmak amacıyla, beta-laktam direnç mekanizmaları için geliştirilmiş oksasilin tarama testine dayalı akış şeması**

Benzilpenisilin gradiyent testlerinin kullanımı ile ilgili EUCAST uyarısını <http://www.eucast.org/warnings/> adresinde inceleyiniz

**Oksasilin 1 µg zon çapı ≥20 mm  
(veya benzilpenisilin MİK ≤0.06 mg/L)**

**Mekanizma:** Tüm beta-laktam direnç mekanizmaları dışlanır.

Klinik sınır değeri bulunan ("Not" yazanlar ve menenjit için sınır değeri bulunanlar dahil) tüm beta-laktam antibiyotiklere duyarlı (S) olarak **BİLDİRİN**. **İstisna:** Sefaklor "duyarlı, yüksek dozda (artmış temas ile") (I) olarak bildirilir. Ek testlere gerek yoktur.

**Oksasilin 1 µg zon çapı <20 mm  
(veya benzilpenisilin MİK >0.06 mg/L)**

**Mekanizma:** Beta-laktam direnci saptanmıştır.

**Bildirim:** Benzilpenisilin (menenjit için) ve (tüm endikasyonlar için) fenoksi metilpenisiline dirençli (R) olarak **BİLDİRİN**.

Benzilpenisilin için (menenjit dışı endikasyonlarda), MİK testi uygulayın ve sınır değerlere göre yorumlayın..

Diğer beta-laktam antibiyotikler için aşağıya bakınız.

**Oksasilin 1 µg zon çapı 9-19 mm**

Ek test yapmaksızın, ampisilin, amoksisilin, piperasilin ( beta-laktamaz inhibitörü içeren ve içermeyen preparatları), sefepim, sefotaksim, seftarolin, seftobiprol, seftriakson, imipenem ve meropenem duyarlı (S) olarak **BİLDİRİN**.

Diğer beta-laktamlar için, duyarlılık testi uygulayın ve duyarlılığı sınır değerlere göre yorumlayın.

Bu öneriler menenjit sınır değerleri için de geçerlidir.

**Oksasilin 1 µg zon çapı <9 mm**

İlgili beta-laktam için duyarlılık testi uygulayın ve sınır değerlere göre sonuç verin.

Bu öneriler menenjit sınır değerleri için de geçerlidir.

## Oksasilin 1 µg zon çapı 9-19 mm

Ek test yapmaksızın, ampisilin, amoksisilin, piperasilin ( beta-laktamaz inhibitörü içeren ve içermeyen preparatları), sefepim, sefotaksim, seftarolin, seftobipiroil, seftriakson, imipenem ve meropenemeye duyarlı **(S)** olarak **BİLDİRİN.**

Diğer beta-laktamlar için, duyarlılık testi uygulayın ve duyarlılığı sınır değerlere göre yorumlayın.

Bu öneriler menenjit sınır değerleri için de geçerlidir.

## **Oksasilin 1 µg zon çapı <9 mm**

İlgili beta-laktam için duyarlılık testi uygulayın ve sınır değerlere göre sonuç verin.

Bu öneriler menenjit sınır değerleri için de geçerlidir.





Prof.Dr.Banu Bayraktar, D(ABMM),FCCM  
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,  
Şişli Hamidiye Etfal SUAM  
banu.bayraktar@sbu.edu.tr