



EUCAST Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testinin (RAST) Gram Negatif Kan Dolaşım Enfeksiyonlarında Antimikrobiyal Tedavi Yönetimi Üzerine Etkisi

Özge Özgen Top, Beyza Çifci, Merve Büyükkörük, Handan Can, Pınar Aysert Yıldız, Furkan Martlı, Elif Ayça Şahin, Kayhan Çağlar, Hasan Selçuk Özger



Sunum Planı

- Amaç
- Materyal- Yöntem
- Bulgular
- Sonuç-Tartışma

➤ Giriş

- Gram-negatif kan dolaşımı enfeksiyonları (GN-KDE) hastanelerde önemli bir morbidite ve mortalite sebebi¹
- Erken uygun antibiyoterapi başlanması, daha kısa hastanede kalış süresi ve daha düşük mortalite ile ilişkili^{2 3}
- Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının hızlı sonuçlanmasıyla KDE'li hastalarda antimikrobiyal tedavinin erken optimizasyonu hedeflenmekte
- Bu amaçla geliştirilen çeşitli genotipik ve fenotipik testler mevcut
- Hızlı Antimikrobiyal Duyarlılık Testi (RAST), Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi(EUCAST) tarafından geliştirilen, valide, hızlı bir fenotipik duyarlılık yöntemi
- RAST, kısaltılmış inkübasyon süreleri ile doğrudan pozitif kan kültürü şişelerinden gerçekleştirilen standart bir disk difüzyon testi

➤ Amaç:

- Birincil amaç
RAST'ın deeskalasyon veya eskalasyon yoluyla optimal antibiyoterapi üzerine potansiyel etkisini değerlendirilmesi
- İkincil amaç
Optimal antibiyoterapi hedeflendiğinde RAST uygulanması halinde kazanılan sürenin belirlenmesi

➤ Materyal- Yöntem

- Tek merkezli, prospektif, tanımlayıcı çalışma
- 1 Ağustos 2023- 31 Aralık 2023
- Mikrobiyoloji laboratuvarlarında saat 07:30-16:00 saatleri arasında pozitif üreme sinyali veren, gram boyamasında gram negatif basil-kokobasil görülen kan kültür örnekleri çalışmaya dahil edildi
- Standart rutin tanımlama ve antimikrobiyal duyarlıklar çalışmasına ek olarak RAST yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılık çalışıldı
 - Mikrobiyolojik tanımlama için MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany), fenotipik duyarlılık için VITEK 2 (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) cihazı
 - EUCAST RAST

❖ RAST Uygulaması

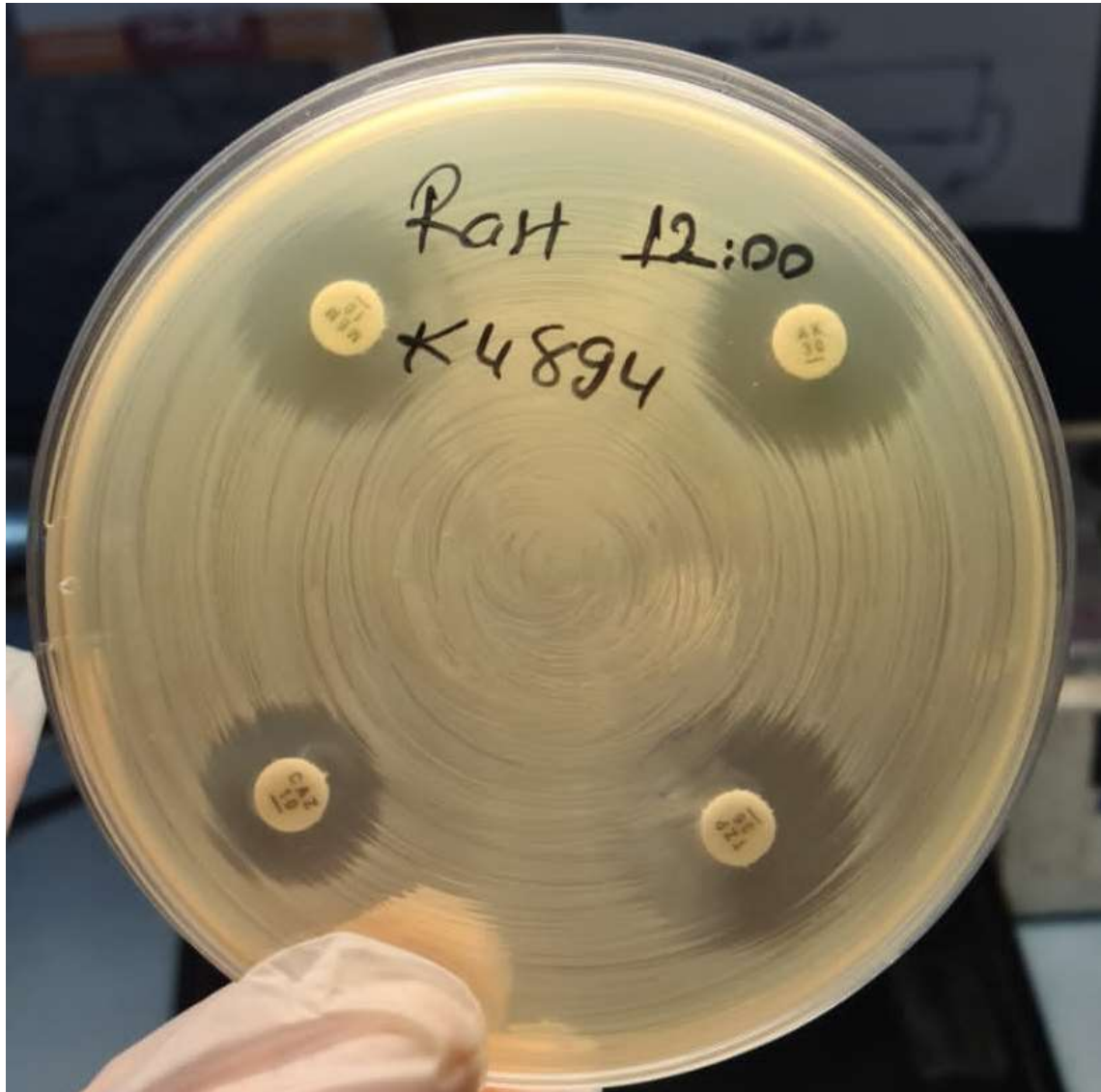
- Kan kültürü sinyal verdikten cihazdan çıkarıldı (sinyal sonrası 18 saat kadar)
- Cihazdan çıkarıldıktan sonra 3 saat içerisinde RAST uygulandı
- Kan kültürü şişesinden 125 ± 25 μ l örnek alınarak 90-mm Mueller-Hinton (MH) agara otomatik plak döndürücü yardımı ile yayıldı
- Her bir MH agara 5 antibiyogram disk (amikasin, siprofloksasin, seftazidim, piperasilin tazobaktam, meropenem) koyulduktan sonra inkübe edildi
- Antibiyotik zon çapları inkübasyonun 4.,6.,8. ve 16. Saatinde (± 5 dk) EUCAST RAST metodolojisine uygun olarak okundu ve kaydedildi ¹



ETÜV



0 – 3 saat



8.saat



16.saat

- MALDI-TOF MS ve VITEK®2 sonuçları elde edildikten sonra çalışmaya dahil edilen örneklerin sonuçları EUCAST RAST sınır değerleri kullanılarak duyarlı, dirençli, teknik olarak belirsiz alan(ATU) , okunamadı, zayıf üreme olarak kategorize edilerek kaydedildi¹
- RAST sonuçları ile VITEK®2 sonuçları karşılaştırılarak kategorik uyum ve hata oranları hesaplandı
- Kategorik uyum oranlarının en fazla olduğu en kısa zaman noktası belirlendi
- Daha sonra bu hastaların almış oldukları ampirik antibiyotik tedavileri geriye dönük olarak incelendi ve RAST sonuçlarına bağlı olarak olası antibiyotik revizyonu (eskalasyon, deeskalasyon) zamanı açısından değerlendirildi

Species

Each species for which breakpoints have been determined are presented in individual tabs

How to use the RAST breakpoint tables

EUCAST RAST breakpoint tables v. 6.1, valid from 2023-06-07

Zone diameter breakpoint tables for RAST directly from blood culture bottles

RAST with prolonged incubation time of 16-20 hours shall only be used when plates can not be read after 4, 6 or 8 hours.

Zone diameter breakpoint for reading and interpreting results after 4, 6 and 8 hours of incubation.

EUCAST rapid disk diffusion method directly from positive blood culture bottles
Medium:
Inoculum:
Incubation time:
Reading:
RAST QC for implementation of RAST method:
Standard QC:

EUCAST RAST methodology and quality control.

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	4 hours			6 hours			8 hours			16-20 hours		
		S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <	S ≥	ATU	R <
Antimicrobial agent A	30-6	17	12-16	12	18	14-17	14	18	14-17	14	18	14-17	14
Antimicrobial agent B	5	15	13-14	13	16	14-15	14	17	15-16	15	16	14-15	14
Antimicrobial agent C	10	15	12-14	12	16	14-15	14	17	15-16	15	17	15-16	15
Antimicrobial agent D	10	14	6-13	ND	15	6-14	ND	16	6-15	ND	15	6-14	ND
Antimicrobial agent E	10	50	15-17	15	17	15-16	15	17	15-16	15	17	15-16	15
Antimicrobial agent F	5	ND	10-50	10	ND	10-50	10	ND	10-50	10	ND	10-50	10
Antimicrobial agent G	30	(15)	(12-14)	(12)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)	(15)	(13-14)	(13)
Antimicrobial agent H	10	14	12-13	12	14	12-13	12	14	12-13	12	14	12-13	12
Antimicrobial agent I	10	14	12-13	12	15	13-14	13	15	13-14	13	16	13-15	13

ATU - the area of technical uncertainty where no categorisation can be offered - leave blank in report.

An arbitrary "off scale" breakpoint which categorises wild-type organisms as "Susceptible, increased exposure" (I).

Not defined. No breakpoints, susceptibility cannot be reported.

Not defined. No breakpoints, resistance cannot be reported.

Breakpoints in brackets are used to distinguish between organisms with and without acquired resistance mechanisms (see Notes).

Duyarlı
Dirençli
ATU= Teknik olarak belirsiz alan

Kategorik uyum- Hata oranlarının hesaplanması

- ❖ **Çok büyük hata (ÇBH):** referans teste göre **dirençli(R)** olup RAST ile **duyarlı(S)**
 - RAST ile **S**, VİTEK2 ile **R /VİTEK2 ile R** toplam suş
- ❖ **Büyük hata (BH) :** referans teste göre **duyarlı** iken RAST ile **dirençli**
 - RAST ile **R**, VİTEK2 ile **S /VİTEK2 ile S** toplam suş
- ❖ **Kategorik uyum (KU) :** referans teste ile RAST sonucunun aynı olması (**duyarlı/ dirençli**)
 - RAST ve otomatize sistem sonuçlarında duyarlı ve dirençli olan izolatların, otomatize sistemdeki toplam duyarlı ve dirençli izolat sayısına bölünmesi ile hesaplanmıştır

Eskalasyon ve De-eskalasyon deęerlendirmesi

- **Grup 1:** Amikasin, siprofloksasin, seftazidim
- **Grup 2:** Piperasilin- tazobaktam
- **Grup 3:** Meropenem

✓ Eskalasyon:

- Antibiyotik eskalasyonu daha geniş bir spektrumlu antibiyotięe geçiř veya monoterapiden kombinasyon antibiyoterapiye geçiř (Grup 1 \longrightarrow 2 \longrightarrow 3)

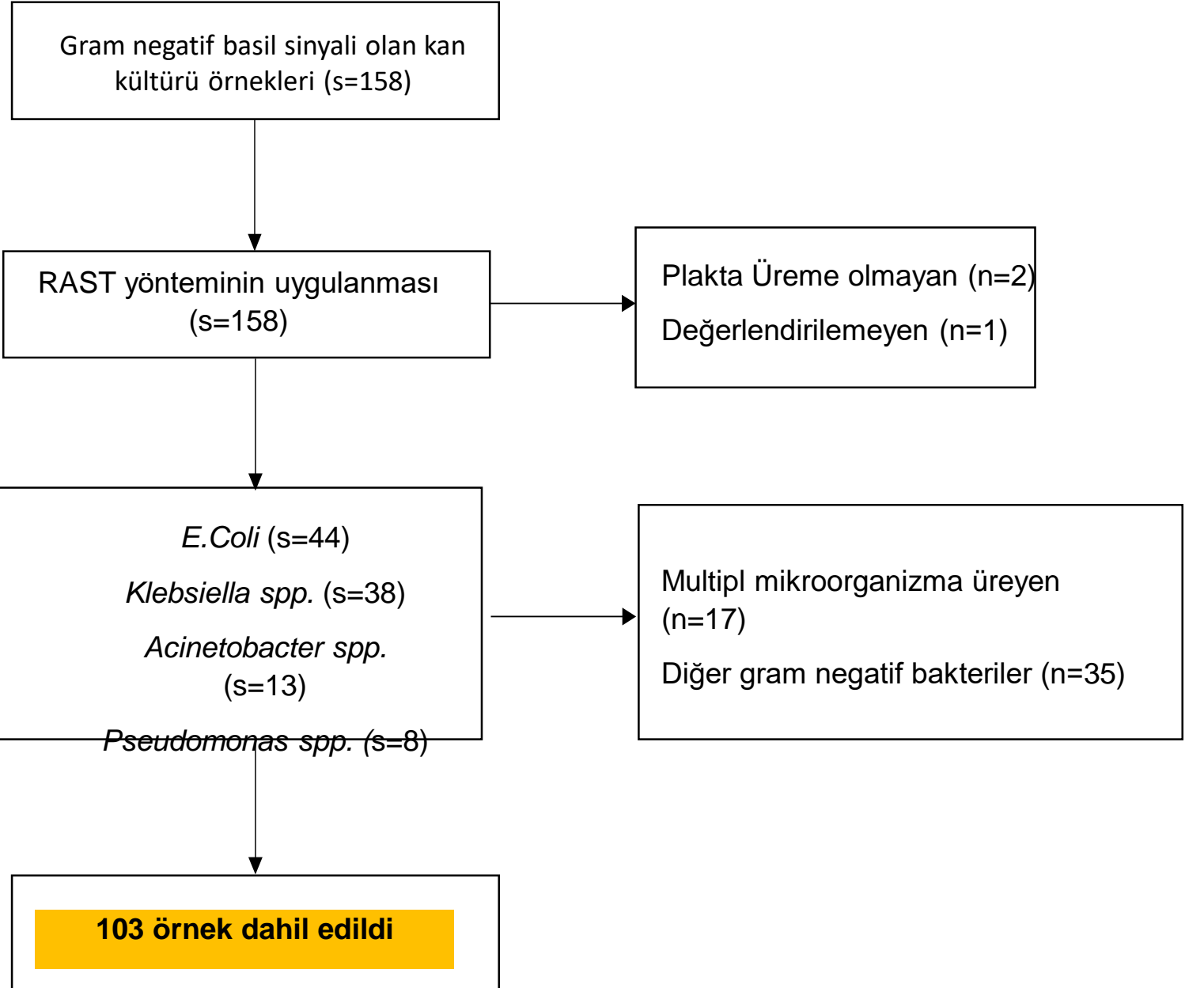
✓ De-eskalasyon:

- Antibiyotik de-eskasyonu daha dar spektrumlu bir antibiyotięe geçiř veya kombinasyon antibiyoterapi alan hastalarda bir veya birden fazla antibiyotięin kesilmesi (Grup 3 \longrightarrow 2 \longrightarrow 1)

✓ Optimal antibiyotik tedavisi

Enfeksiyon hastalıkları tedavi rehberlerine uygun olarak etkin, en dar spektrumlu ajan

Çalışma tüm gram negatif bakterilere uygulandı ancak MALDI-TOF MS tanımlaması sonrasında *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* izolatları değerlendirilmeye alındı.



Tablo 1. Referans teste (VITEK®2) göre antibiyotik duyarlılık sonuçları

	<i>P.aeruginosa</i> s=8	<i>A.baumannii</i> s=13	<i>E.coli</i> s=44	<i>K.pneumoniae</i> s=38	Total s=103
CAZ , s (%)					
Duyarlı	6 (75)	-	22 (50)	10 (26.3)	38 (36.9)
Dirençli	2 (25)	13 (100)	22 (50)	28 (73.7)	65 (63.1)
AK, s (%)					
Duyarlı	8 (100)	1 (7.7)	41 (93.29)	26 (68.4)	76 (73.8)
Dirençli	-	12 (92.3)	3 (6.8)	12 (31.6)	27 (26.2)
CIP, s (%)					
Duyarlı	6 (75)		15 (34.1)	14 (36.8)	35 (34.0)
Dirençli	2 (25)	13 (100)	29 (65.9)	24 (63.2)	68 (66.0)
TZP, s (%)					
Duyarlı	5 (62.5)	-	37 (84.1)	15 (39.5)	57 (55.3)
Dirençli	3 (37.5)	13 (100)	7 (15.9)	23 (60.5)	46 (44.7)
MEM, s (%)					
Duyarlı	7 (87.5)	-	43 (97.7)	23 (60.5)	73 (70.9)
Dirençli	1 (12.5)	13 (100)	1 (2.3)	15 (39.5)	30 (29.1)
MDR, s (%)	1 (12.5)	13 (100)	4 (9.1)	20 (52.6)	38 (36.9)

✓ 103 örnek

%7,8 *P. aeruginosa*
%12,6 *A.baumannii*
%36,8 *K.pneumoniae*
%42,7 *E.coli*

✓ %29,1 karbapenem R
%36,9 MDR

Tablo 2.

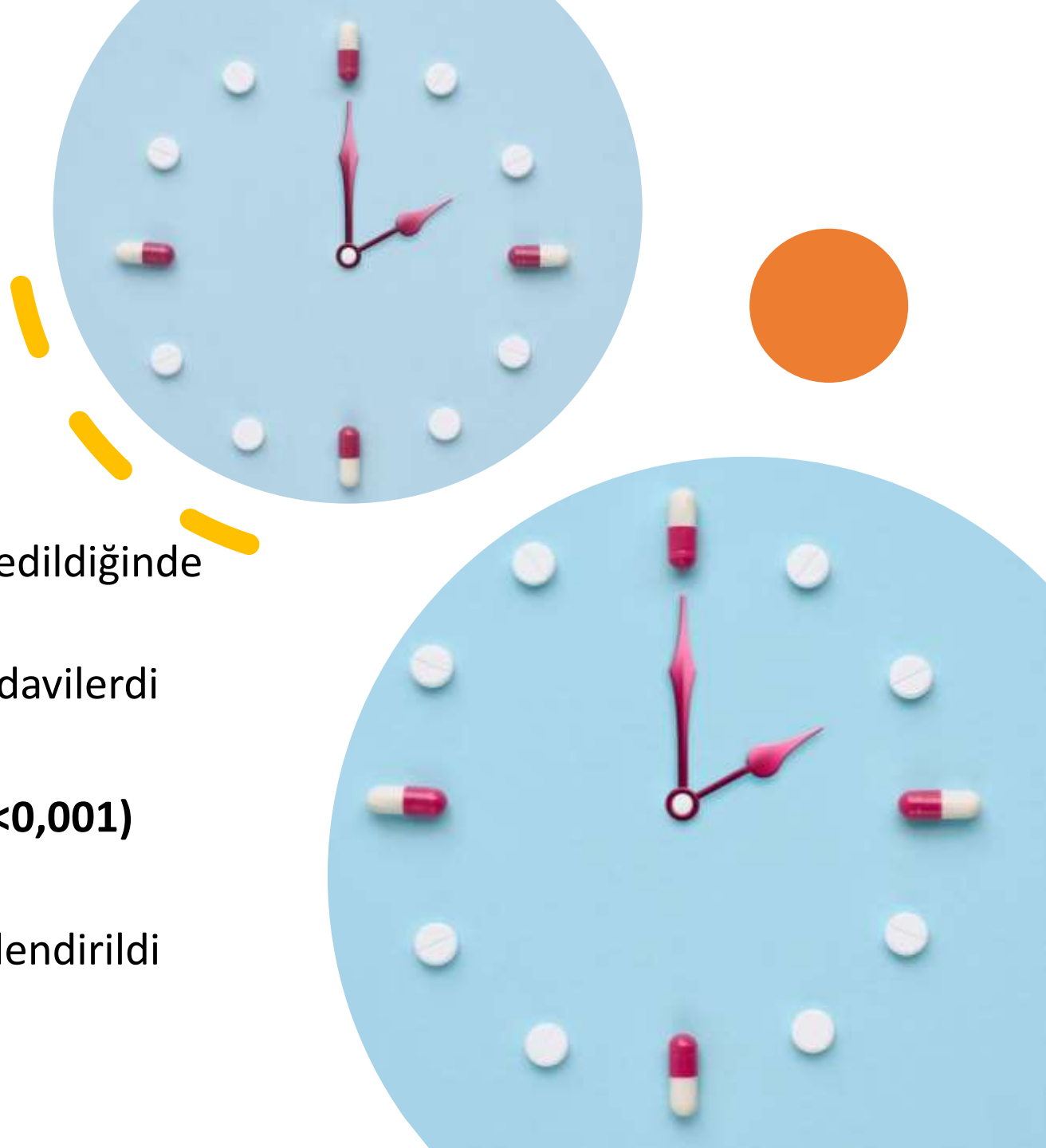
	TZP				CAZ				MEM				AK				CIP			
Tüm izolatlar, s=103	4h ^b	6h ^d	8h ^d	16h ^d	4h ^b	6h ^d	8h ^d	16h ^d	4h ^c	6h	8h	16h	4h ^c	6h	8h	16h	4h ^c	6h	8h	16h
Dirençli	45	37	30	32	60	59	58	56	34	33	33	32	39	27	26	25	68	69	66	67
ATU	18	28	21	10	8	11	6	5	6	4	2	1	21	12	5	2	6	4	8	7
Duyarlı	19	25	39	47	14	20	26	28	55	66	68	69	35	64	72	75	21	30	29	28
KU oranları, (%) ^a	75	87	86	85	85	91	93	94	94	97	97	97	78	92	94	95	96	93	97	98
BH, s (%) ^a	16 (30)	7 (13)	5 (9.3)	6 (11)	11 (32)	6 (18)	5 (15)	4 (12)	5 (7.3)	3 (4.4)	3 (4.4)	3 (4.4)	15 (21)	4 (5.7)	3 (4.3)	3 (4.3)	3 (10)	2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)
ÇBH, s (%) ^a	-	-	4 (13.3)	4 (13.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (3.7)	3 (11.1)	3 (11.1)	3 (11.1)	-	1 (1.4)	0	0

^a ATU dahil edilmedi^b *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* hariç^c *P.aeruginosa* hariç^d *A.baumannii* hariç

Çalışmamızda RAST yönteminin VİTEK 2 ile **KU >%90** (TPZ hariç)
Tüm antibiyotikler için en yüksek KU RAST'ın **6. saatinde**

➤ Bulgular

- ✓ Tüm hastalar kan kültürü gram sonuçları elde edildiğinde ampirik antibiyoterapi almaktaydı
- ✓ Bu ampirik tedavinin **%81,6'sı (n=84)** uygun tedavilerdi
- ✓ Uygunsuz ampirik tedavi alan hastalarda
 - **karbapenem direnci (%21,4 vs. %63,2, p<0,001)**
 - **MDR (%27,4 vs. %78,9, p<0,001)**
- ✓ Eskalasyon ve deeskalasyon **6.saat** göre değerlendirildi



Tablo 3.

RAST'ın antibiyoterapiye olası etkisi (6. Saat)

Deeskalasyon, sayı (%)**63 (61.2)**

Dar spektrumlu antibiyotiklere geçiř

47 (45.6)

Dar spektrumlu antibiyotiklere geçiř ve kombine tedaviden monoterapiye geçiř

13 (12.6)

Yanlıř deeskalasyon

3 (2.9)

Karbapenem-koruyucu tedavi**25 (24.3)****Eskalasyon, sayı (%)****19 (18.4)**

Tedavi deęiřiklięi yapılmayan

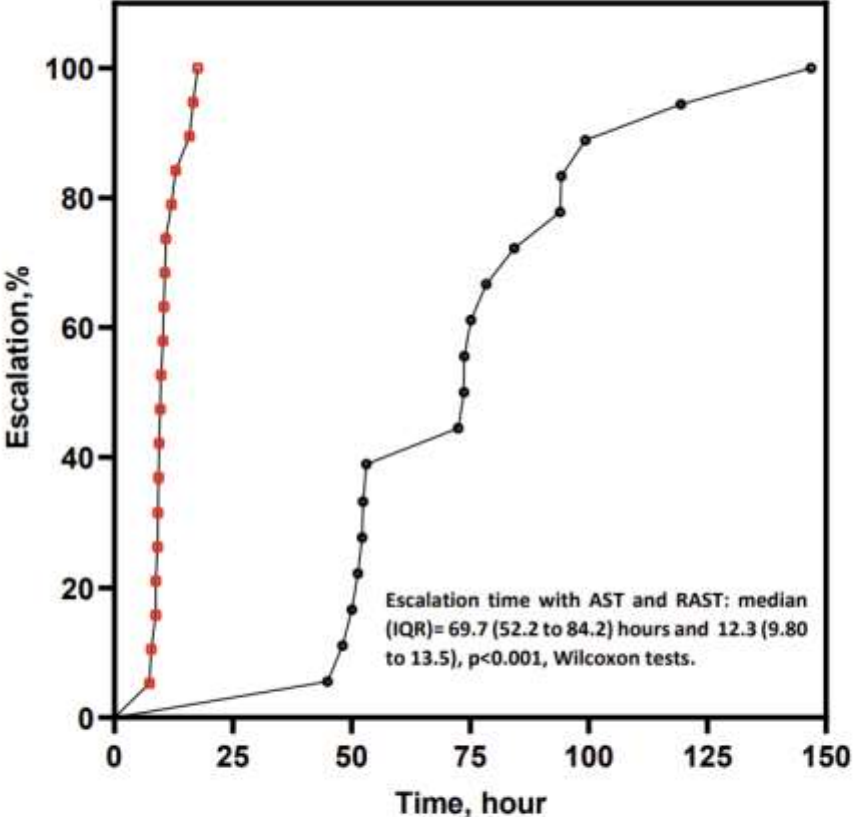
21 (20.4)

Yanlıř tedaviye devam edilen

1 (1.0)

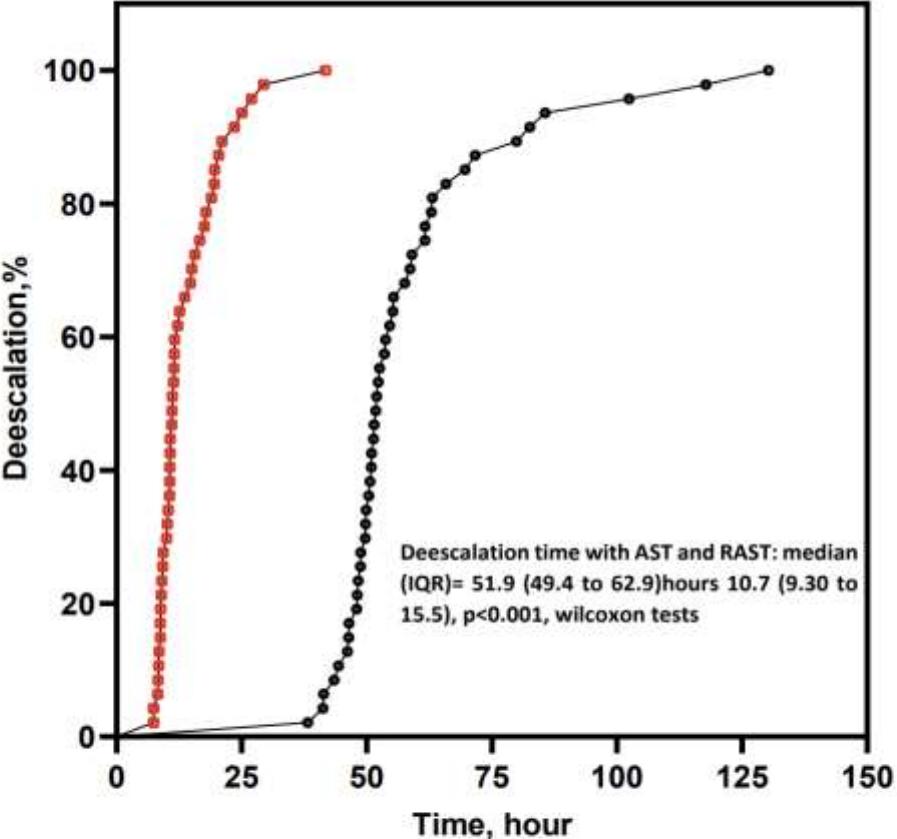
Deeskalasyon süresinde kısalma, saat (median, 25-75% IQR)**41.5 (38.8- 43.9)****Eskalasyon süresinde kısalma, saat (median, 25-75% IQR)****44.1 (39.8- 70.6)**

Escalation time differences with AST and RAST



- Escalation with AST results
- Escalation with RAST results

Deescalation time differences with AST and RAST



- Deescalation with AST results
- Deescalation with RAST results

Sonuç-Tartışma

- Çalışmamızla RAST yönteminin kullanılması halinde GN-KDE ile takipli hastaların büyük bir kısmında erken uygun tedavi revizyonunun sağlanabileceğini, deeskasyon ve eskalasyon sürelerinin kısalabileceğini gözlemledik
- Bu sonuçlar EUCAST RAST yönteminin hızlı mikrobiyolojik tanımla yöntemlerine entegre olarak antibiyotik yönetim programları kapsamında değerlendirilmesi gerektiğini desteklemekte
- Dirençli etkenlerin artması ve yaygınlaşmasıyla birlikte geniş spektrumlu antibiyoterapi eğilimimiz gün geçtikçe artmakta
- Bu nedenle deeskalasyon ve karbapenem koruyucu tedavi stratejileri için RAST'ın kullanımının değerlendirilmesini önermekteyiz...

TEŞEKKÜRLER...

