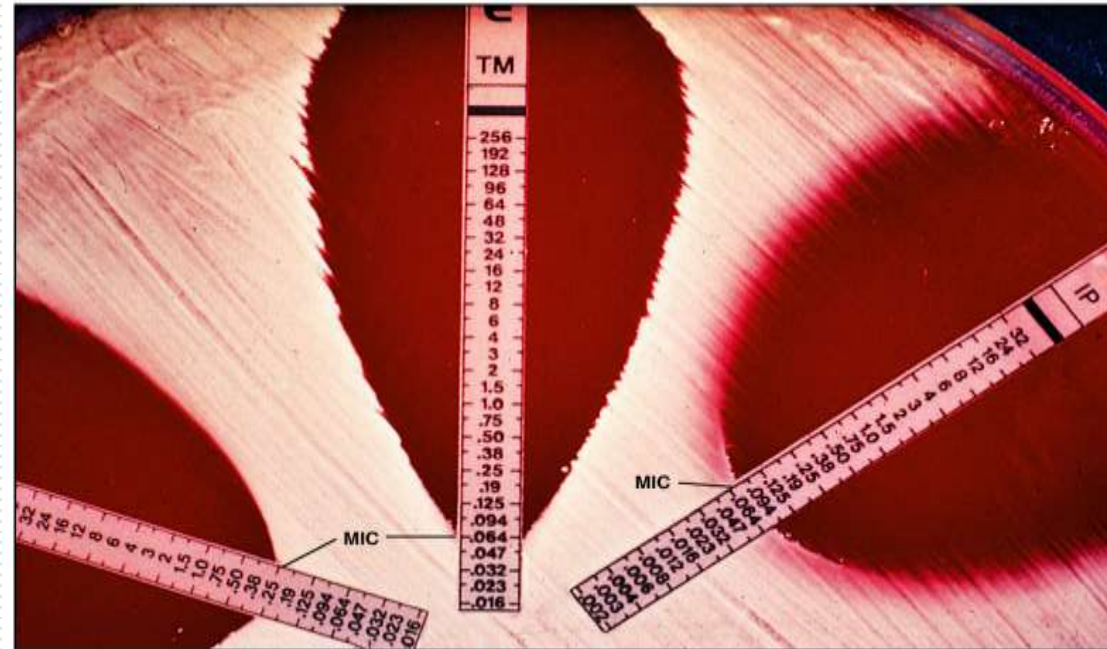


Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon

**Prof.Dr.
Ahmet Başustaoğlu**

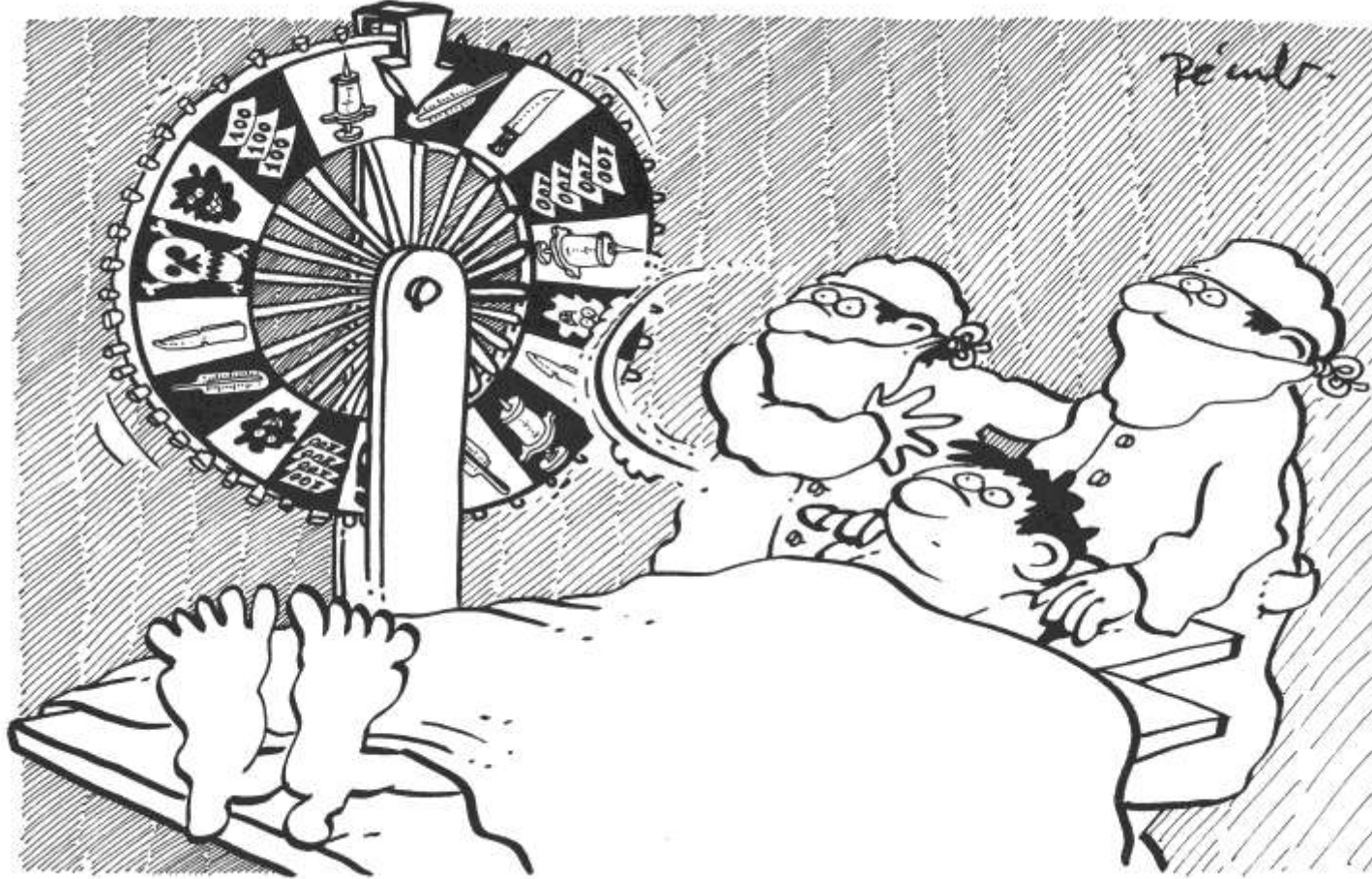




Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

"yapmış olmak için yapmak"

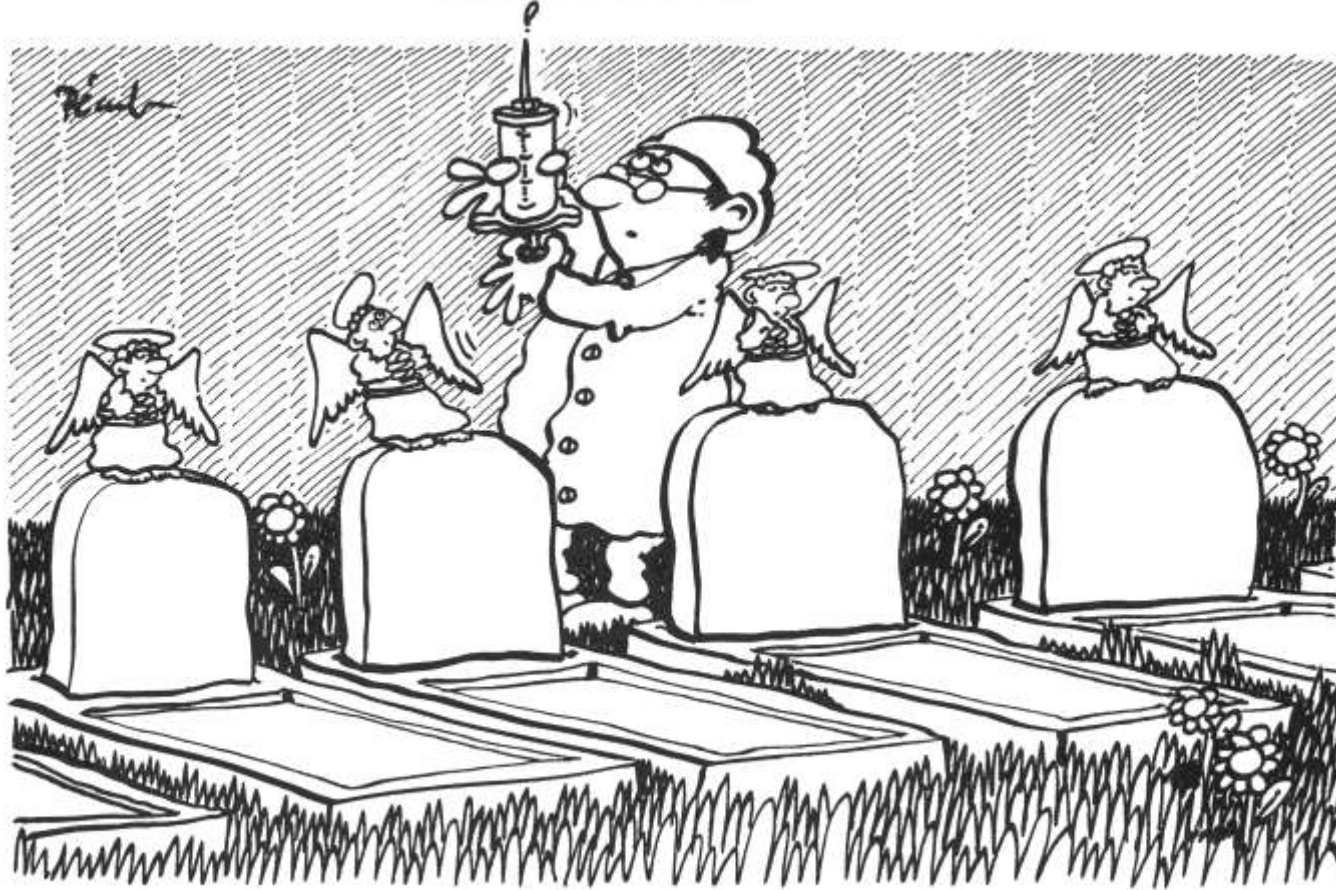
Antibiyotik tedavisi ön yargı veya şansa bırakılabilir misiniz?





Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

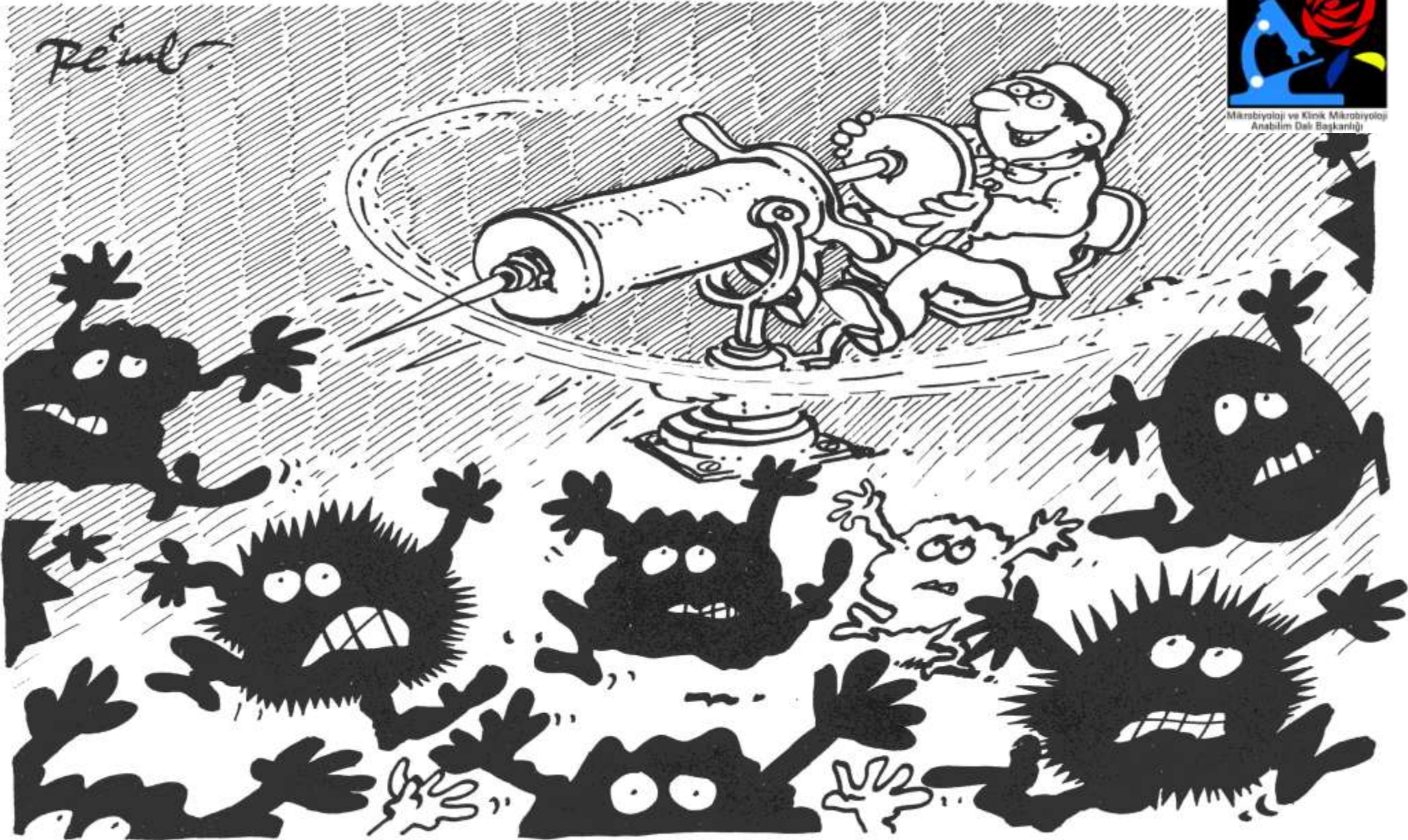
Ya şansınız tutmazsa?



Reiml



Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı



AMAÇ



1. KML'nda **Standardizasyon** ve **Kalite Kontrol** uygulamalarını organize etmek.
2. Hatalı test sonuçlarının bildirilmesini en aza indirmek.

Laboratuvar döngüsü





Standardizasyon (ISO)

STANDARD :Üretimde, anlayışta, ölçme ve deneyde bir örnekliktir.

STANDARDİZASYON :Belirli bir faaliyetle ilgili olarak ekonomik fayda sağlamak üzere bütün ilgili tarafların yardım ve işbirliği ile belirli kurallar koyma ve bu kuralları uygulama işlemidir.

Üretici

Kullanıcı

Standardizasyon işlemi ile kalitenin alt sınırı tespit edilmek suretiyle belirlenen düzeyin altında mal ve hizmet üretimine müsaade edilmemektedir.

Standardizasyon

Kalitenin niteliklerini yerine getirmek için laboratuvar sonuçlarının izlenebilirlik ve karşılaştırılabilirliği anlamında

- * laboratuvar diagnostik işlemlerinin
(preanalitik, analitik ve postanalitik safhalar)
- * cihaz
- * malzeme
- * yöntemlerin
standardize edilmesidir.

Nasıl ?

- Geçerli, güvenilir cihaz ve malzemeler ile
- Eğitimli, kendini sürekli geliştiren, motive kadro ile
- Doğru alınmış ve tanımlanmış numuneler ile
- Güvenli ve çalışmaya uygun bir ortam ile
- Doğru sonuçları, doğru kayıt ve doğru yorumlama ile sağlanır.



Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

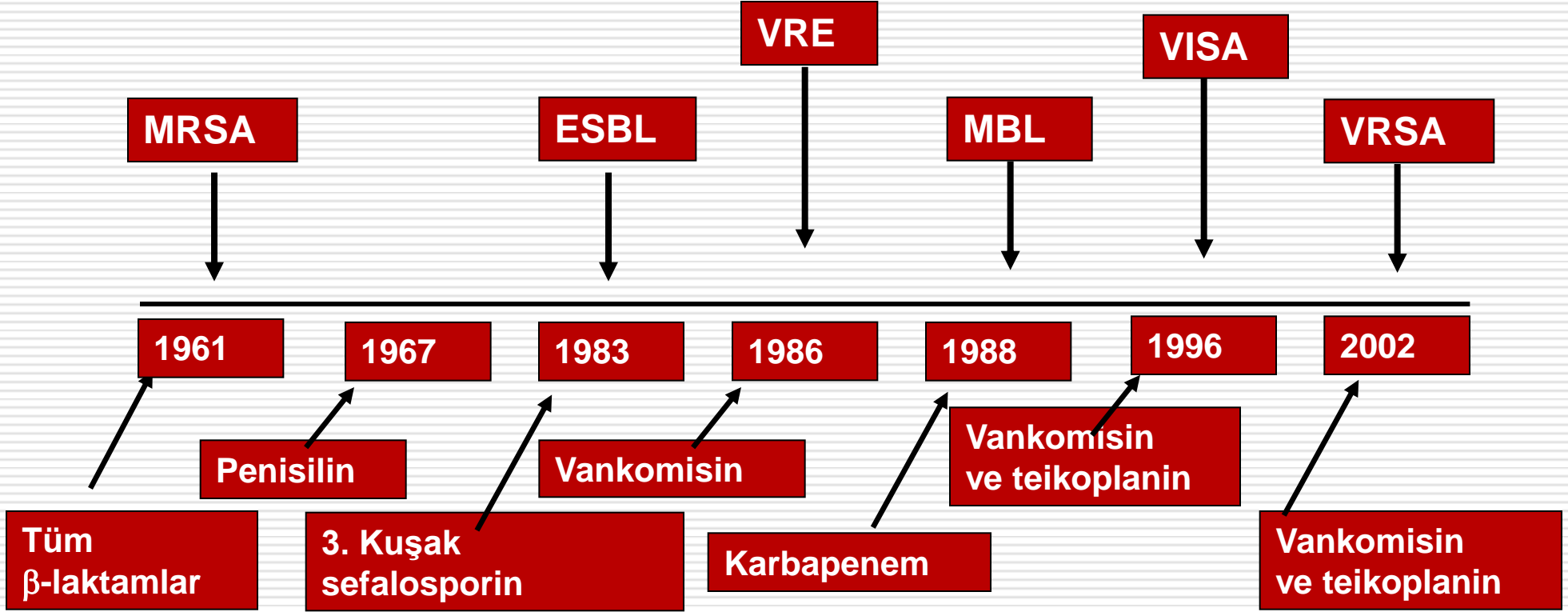
Tarihçe:

- ❑ 1946 Garrett
- ❑ 1952 Humphrey & Lightbown
- ❑ 1955 Joan Stokes
- ❑ 1959 Ericsson & Steers
- ❑ 1961 WHO -standardizasyon
- ❑ 1964 Isenberg - metodların karşılaştırılması
- ❑ 1964 Truant - standardize tüp dilüsyon-MIC
- ❑ 1966 Kirby-Bauer disk difüzyon,
- ❑ 1972 Stokes & Waterworth
- ❑ 1975 NCCLS → CLSI
- ❑ 1980 Stokes & Ridgway
- ❑ 1998 BSAC Standardize Metodlar
- ❑ 2009 EUCAST Standardize Metodlar



Antibiyotik duyarlılık testi neden yapılır?

- Hastaların tedavilerine yol göstermek için
 - Ampirik tedavi için alt yapı oluşturmak için
 - Kurumsal veya ulusal reçeteleme politikaları oluşturmak için
 - Epidemiyolojik değişimi değerlendirmek için
 - Direnç surveyansı için
 - Yeni ajanların etkilerini değerlendirmek için
 - Yeni dirençleri saptamak için
 - Duyarlılık veya direncin tahmin edilemediği durumlarda**
-





Dirençli Enfeksiyonlar

Hastalık	Etken	Direnç
Pnömoni	<i>S. pneumoniae</i>	Penisilin
Dizanteri	<i>S. dysenteriae</i>	Çoklu direnç
Tifo	<i>S. typhi</i>	Çoklu direnç
Gonore	<i>N. gonorrhoeae</i>	Penisilin ve tetrasiklin
Tüberküloz	<i>M. tuberculosis</i>	Rifampisin ve INH
Hastane enfeksiyonları	<i>S. aureus</i>	Metisilin, vankomisin
	<i>Enterococcus spp.</i>	Vankomisin
	<i>Klebsiella, Pseudomonas</i>	Çoklu direnç



Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

ADT nasıl yapılır ?

Kantitatif metodlar (MIC, mg/L)

- Agar dilüsyon
- Sıvı dilüsyon
- Gradient metodları

Kalitatif metodlar (S I R)

- Disk difüzyon

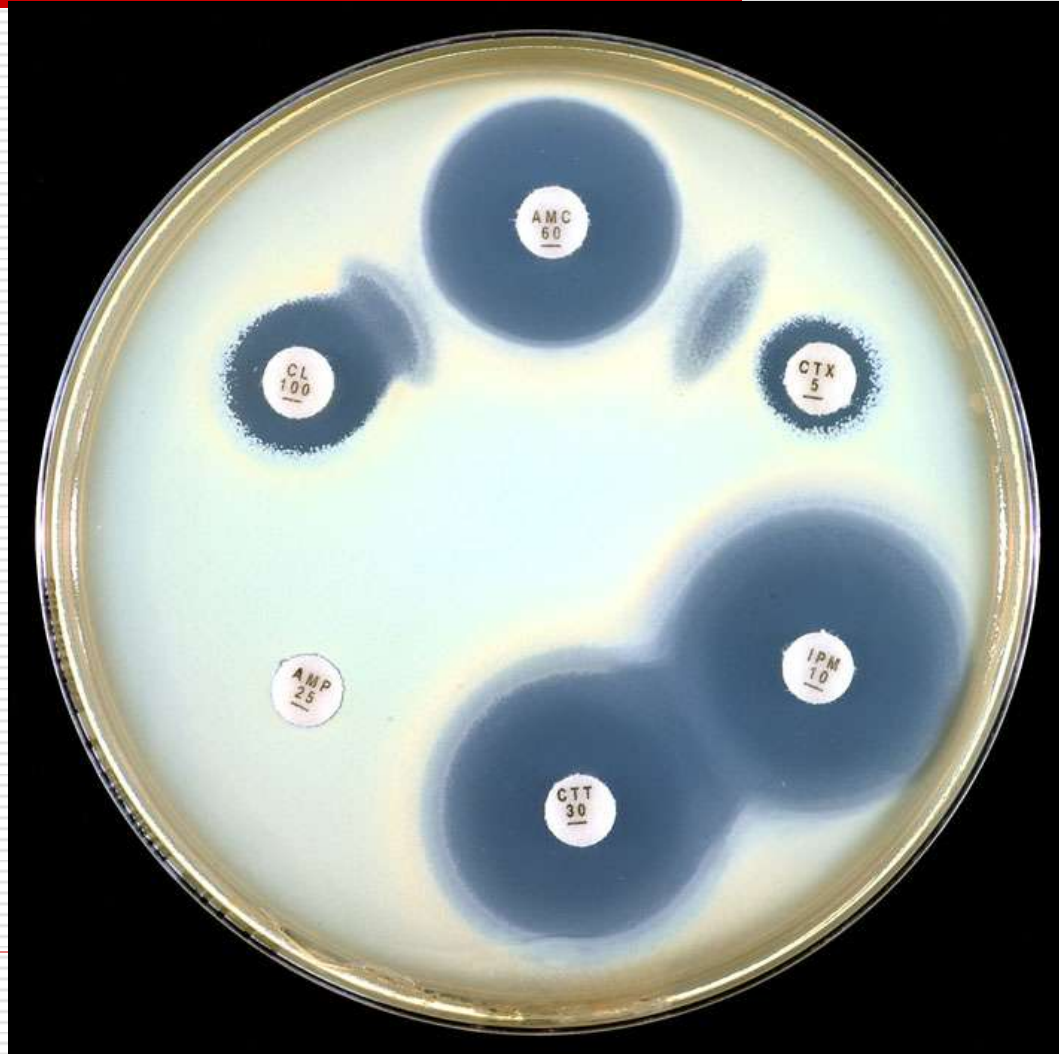
Otomatize yöntemler



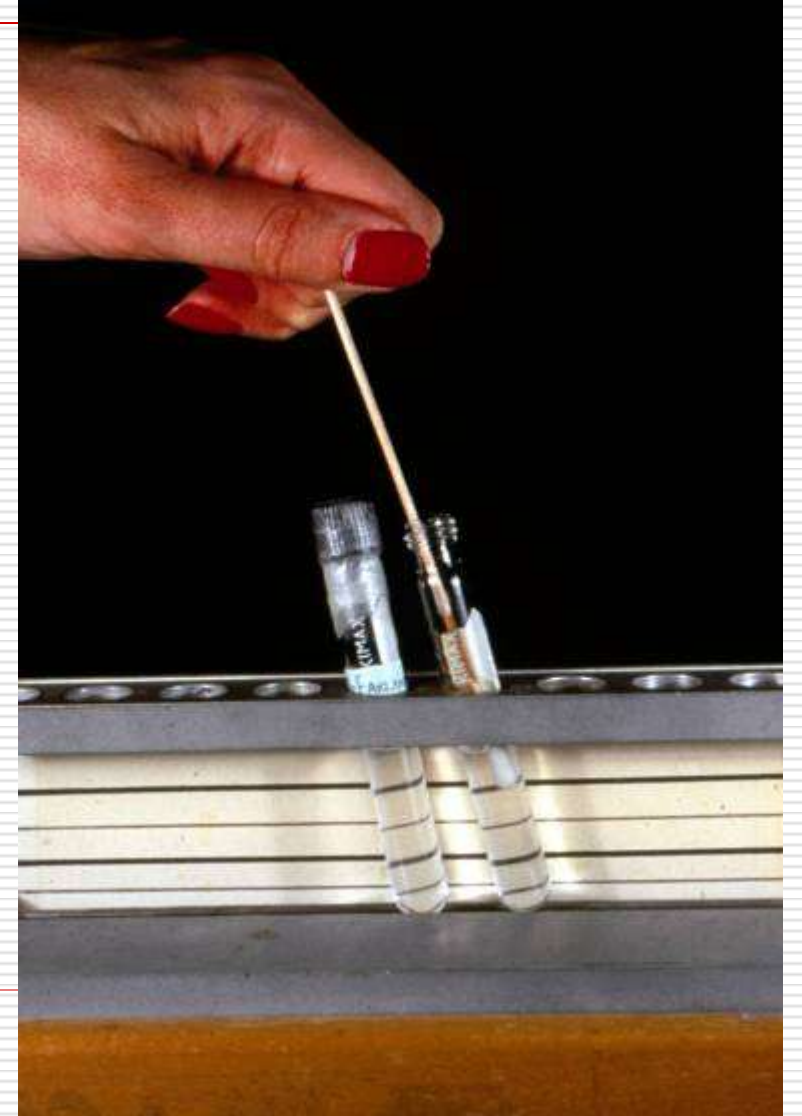


Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

Disk Difüzyon Testi

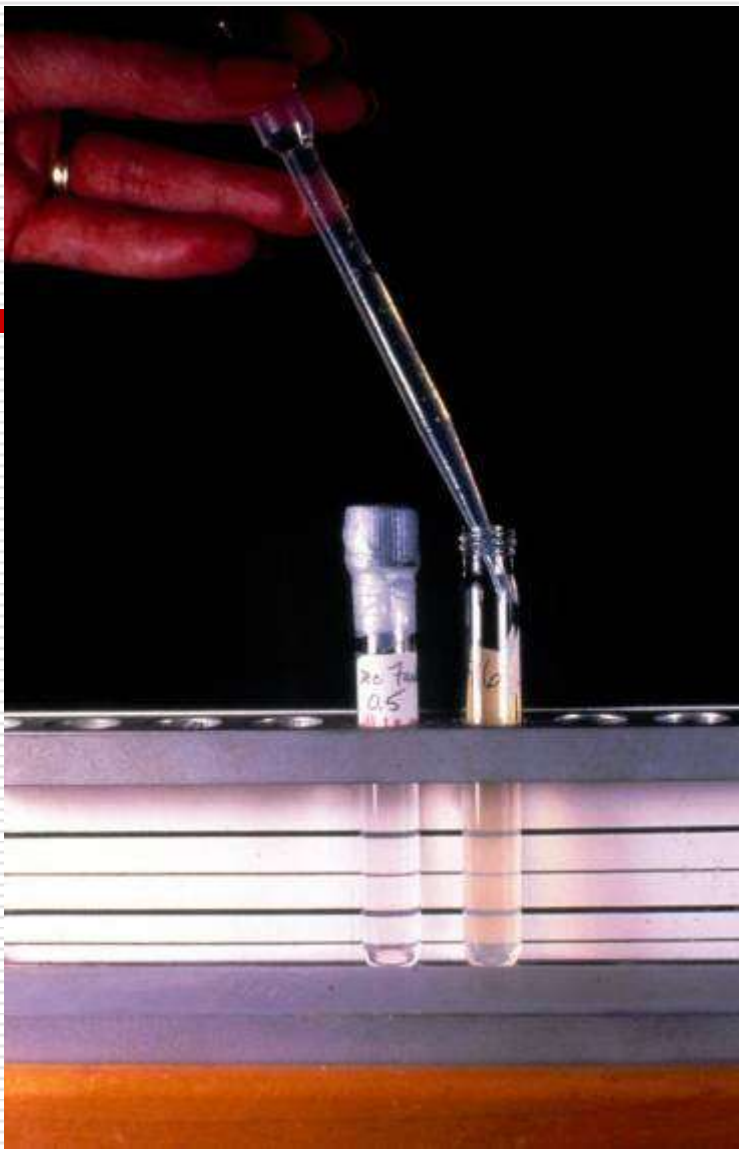


Koloni seçimi



İnokulum hazırlanması

Standardize suspansiyon



Plaža ekim



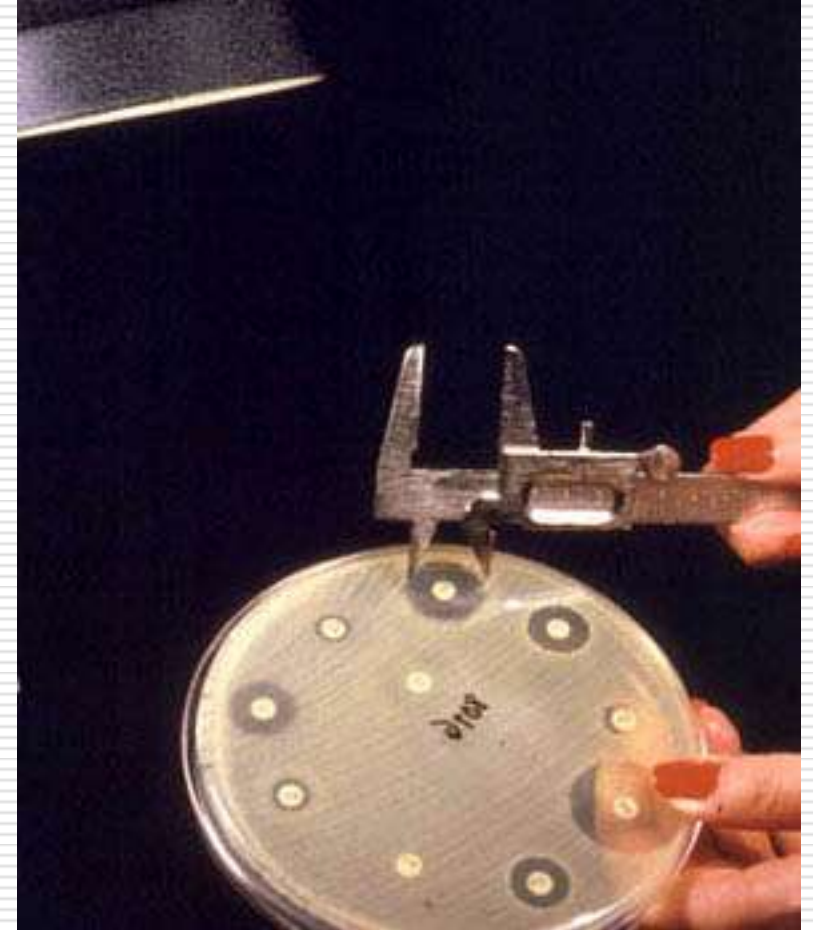
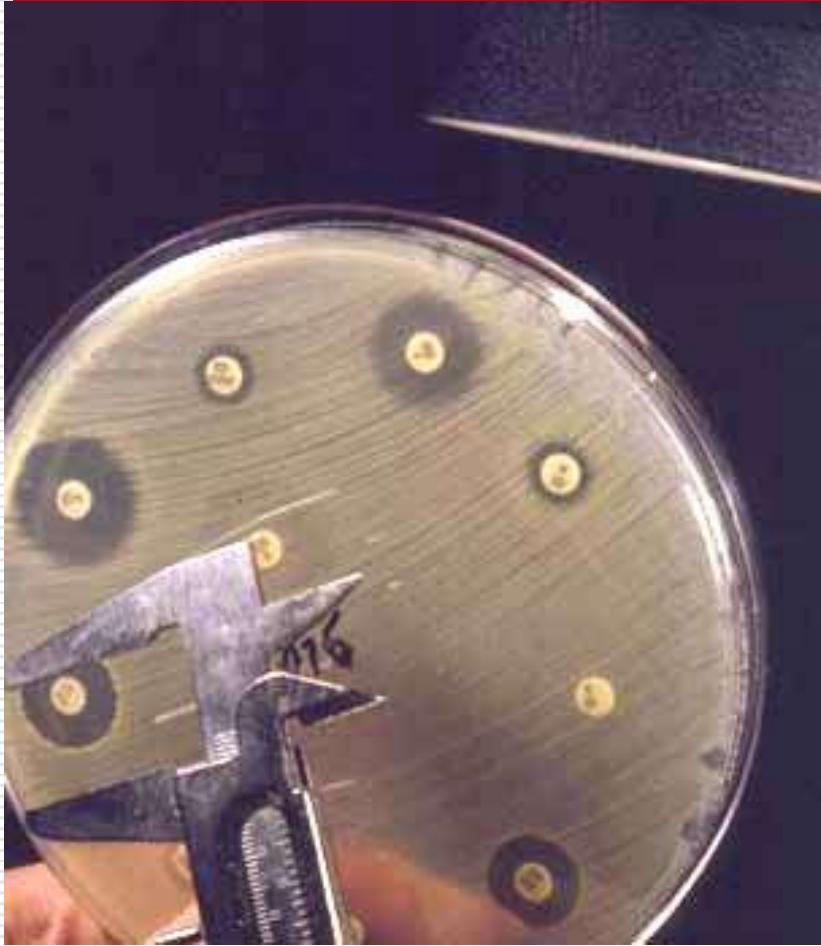
Disk yerleştirilmesi



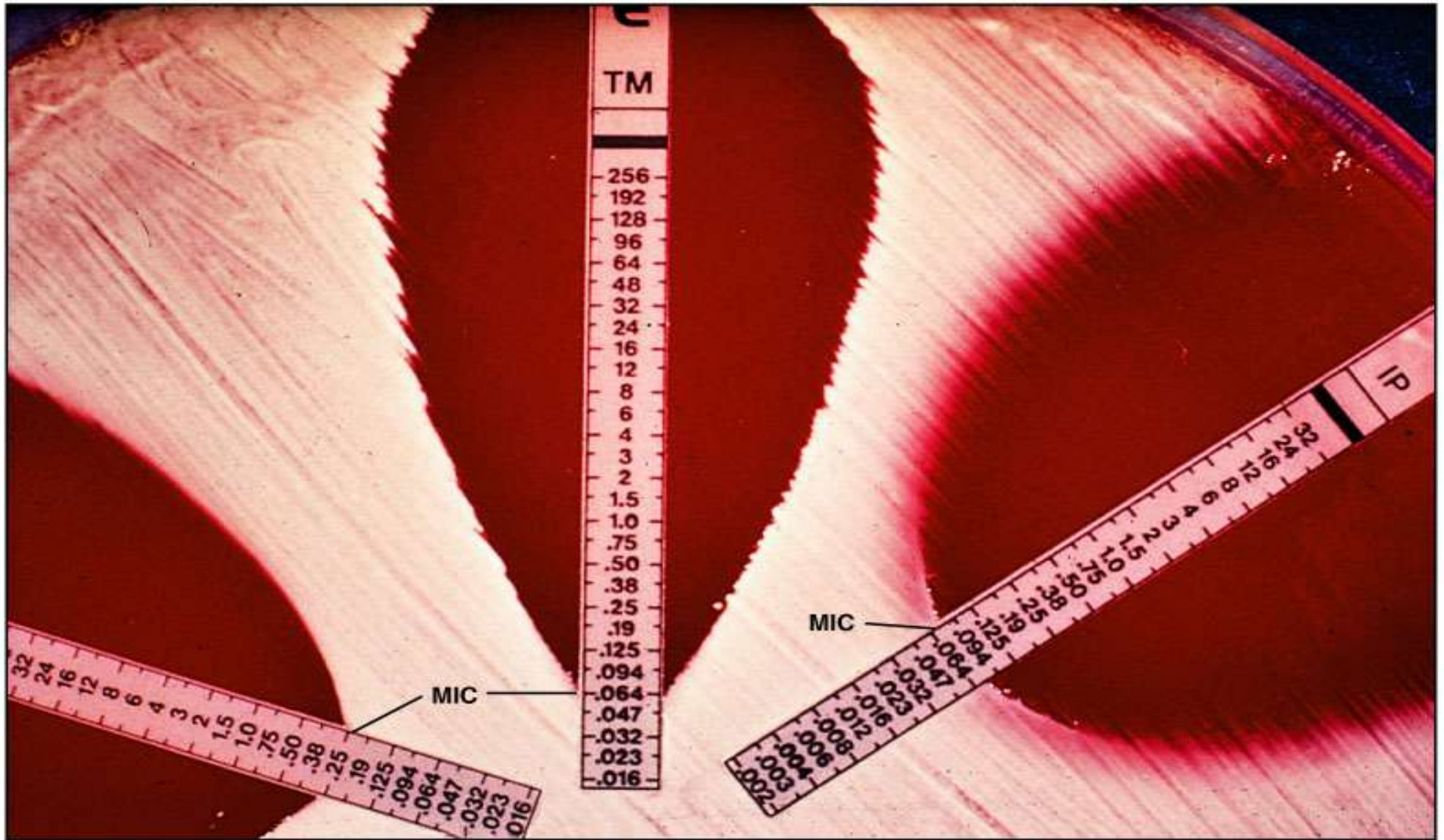
İnkübasyon



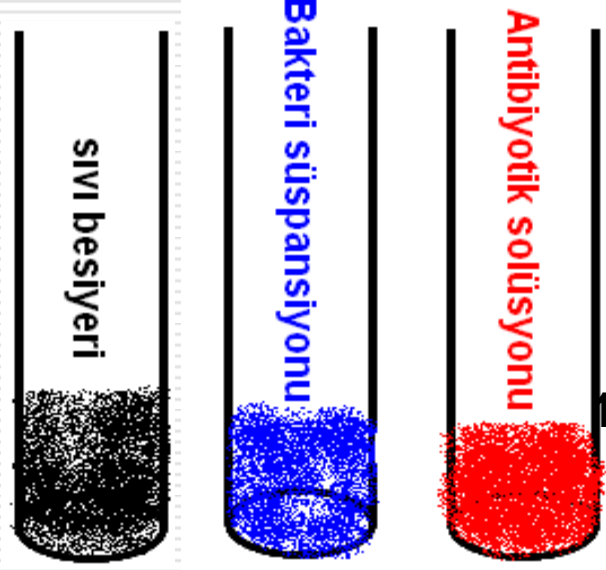
Zon aplarının değerlendirilmesi



E Test



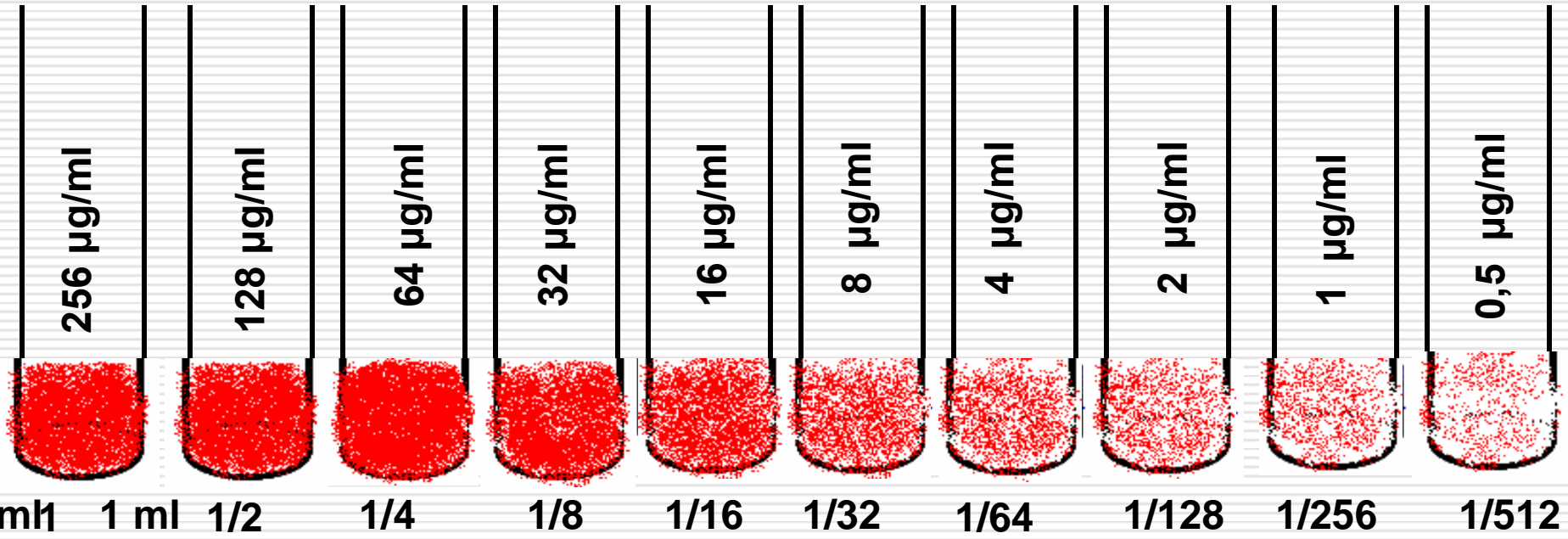
5×10^5 CFU/ml 1:100 kat



1024 $\mu\text{g/ml}$ 'lik



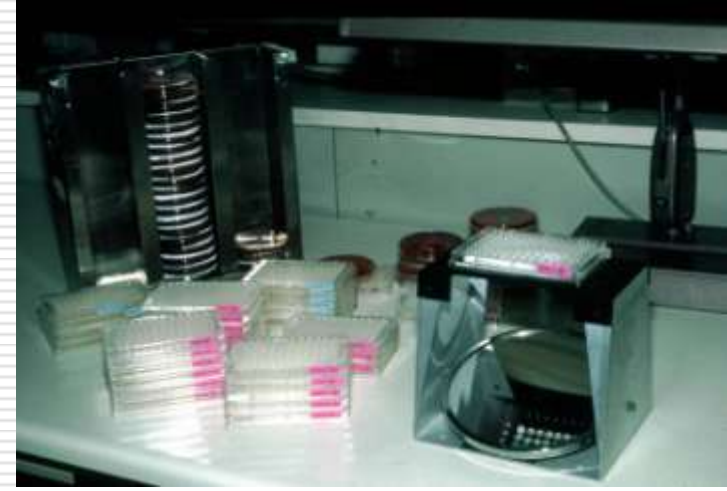
13x100 mm'lik steril test tüpü



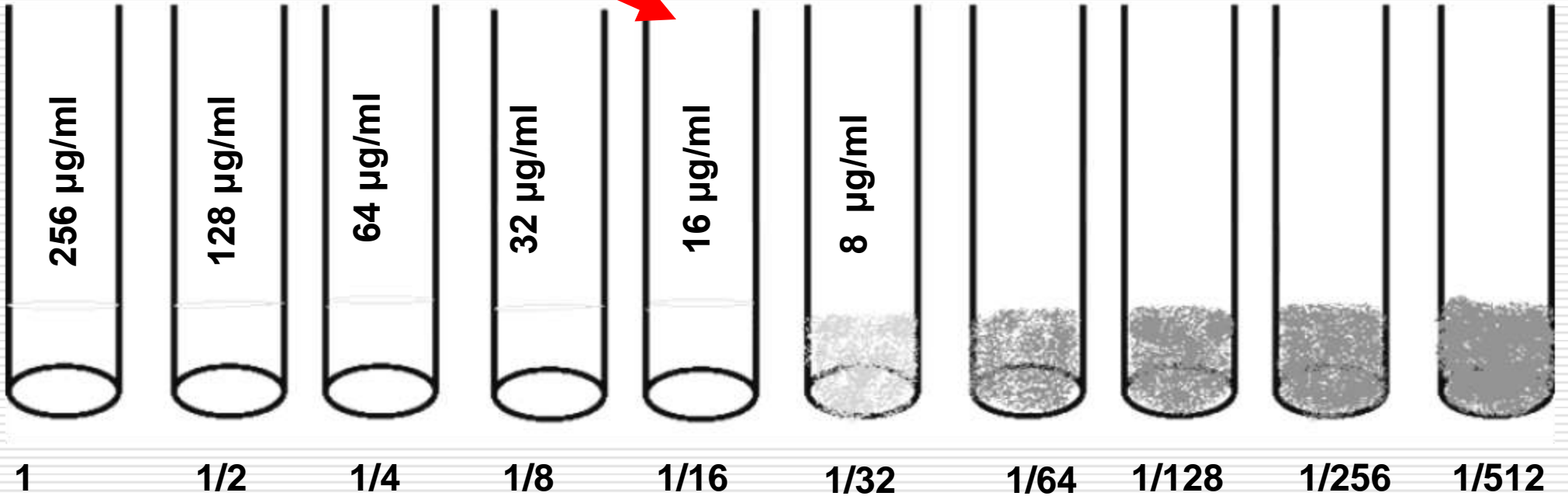
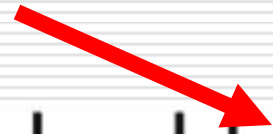
İnkübasyon



Sonuçların değerlendirilmesi



MIC Değeri



Laboratuvarın karar vermesi gerekenler ;

- Hangi metod kullanılacak?
- Hangi organizma test edilecek?
- Hangi antibiyotikler test edilecek?
- Sonuçlar nasıl raporlanacak?
- Sonuçların klinik olarak anlamı(in vitro-in vivo uyum)?
- Sonuçların doğruluğundan nasıl emin olursunuz?
 - Kalite kontrol/ kalite güvenliği



Hangi standart?

BSAC
İngiltere

CA-SFM
Fransa

DIN
Almanya



SRGA
İsveç

CRG
Hollanda

NWGA
Norveç

EUCAST (EU) - CLSI (ABD)



STANDARTLAR

- ✓ Etkene göre antibiyotik seçimi
 - ✓ Test sonuçlarının değerlendirilmesi
 - ✓ Raporlama politikaları
 - ✓ Kalite kontrol
-

-
- Oluşturulacak politikalar en alt kademedeki personelden başlayarak, teknisyenler, laboratuvar bölüm sorumluları ve laboratuvar başkanına kadar herkesi kapsayacak şekilde bir fikir ve uygulama birlikteliği sağlayacaktır.
 - **Uygulama politikalarınız ve yöntemlerinizi yazılı hale getirmelisiniz.**
-



El Kitabı

- ❑ Personelin gerektiğinde danışabileceği, hastane şartlarına ve laboratuvarın kendi uygulama politikasına göre laboratuvar el kitapları hazırlanmalı
 - ❑ Kitaplar deneyimsiz ve işe yeni başlamış bir personelin anlayacağı dilde detaylı hazırlanmalı ve her çalışma alanında bir tane bulundurulmalıdır.
 - ❑ Böylece tüm laboratuvar çalışanları arasında uygulama bütünlüğü sağlanmış olacaktır.
-



Sorumluluk:

Üreticiler:

- Antimikrobik ilacın dayanıklılığı
- Antimikrobik ilacın etiketlenmesi,
- Antimikrobik stok çözeltilerinin stabilitesi,
- Müşteriye karşı sorumluluk,

Laboratuvar (kullanıcı):

- Satın alırken kontrol
- Üretici tarafından önerilen çevre koşullarında saklama
- Testleri uygulayan personelin yeterliliği
- Belirlenmiş kurallara bağlı kalma örneğin;
 - inokulum hazırlanması,
 - inkübasyon koşulları,
 - sonuçların yorumlanması.

YÖNETİM

Doğabilecek hata şekilleri ise;

- İstek hataları
 - Örnek alımındaki hatalar
 - Transport
 - Test uygulama
 - Değerlendirme
 - Raporlama hataları
-



A-Z'ye standardizasyon ve kontrol

- **Analiz öncesi dönem**
 - Örnek alımı ve transport
 - **Analiz dönemi**
 - İdentifikasyon
 - ADT
 - **Analiz sonrası dönem**
 - Raporlama
-



Analiz öncesi dönem:

- Multidisipliner bir uyum içerisinde çalışılmalıdır.
 - Test istem formu gerektiği şekilde doldurulmalıdır
 - Laboratuvarda uygulanan testlere yönelik örnek alma kılavuzları hazırlanmalı ve eğitim verilmelidir.
 - Örnek alma yöntemleri
 - Örnek miktarları
 - Laboratuvara gönderme koşulları
 - Saklama koşulları
-



Analiz dönemi:

- ❑ Laboratuvara gelen örneklerin kalitesini uygulanabilirliğini değerlendirecek kabul ve red kriterleri oluşturulmalı ve bundan kesinlikle taviz verilmemelidir.
 - ❑ Laboratuvar içi algoritmik uygulama standartları oluşturulmalı ve yazılı hale getirilmelidir.
 - ❑ Tüm personelin bu kurallara uyması sağlanmalıdır.
-

Niçin her izolat için ADT yapmamalıyız?

- ADT sonuçları hastada etken izlenimi yaratabilir
 - Gereksiz veya uygunsuz tedaviye neden olabilir
 - Dirençli bakterilerin seleksiyonuna neden olabilir
 - Gerçek etkenin tanımlanmasına ve ADT yapılmasına engel olabilir.
-



Laboratuvar Uygulamaları:

- Uygulamalarda kullanılan tüm malzemelerin satın alınırken ve daha sonra periyodik kalite kontrolleri yapılmalı ve kayıt altına alınmalıdır.
 - Cihazlar
 - Besiyerleri
 - Diskler, E-test stripleri vs.

 - Tüm örnekler tür düzeyinde tanımlanmalıdır.
 - Etkenlerin doğru tanımlanması
 - a. **Selektif kültür yöntemlerinin kullanılması**
 - b. **Özel tanımlama testlerinin kullanılması**
 - c. **Otomatize sistemlerin kullanılması**
-

Koagülaz negatif stafilokoklar

- Doğru ve tür düzeyinde identifikasyon

	R	I	S
<i>S.aureus</i> <i>S. lugdunensis</i>	≤ 21	--	≥ 22
Diğer KNS	≤ 24	--	≥ 25

Yalancı direnç



Besiyeri

- A. Disk difüzyon testlerinde rutin laboratuvarlarında CLSI önerisi Mueller-Hinton Agar, Koyun Kanlı Mueller-Hinton Agar kullanılır
 - B. Kullanılan besiyerinin kalınlığı $4 \pm 0,5$ mm. olmalıdır.
 - C. Steril olmalıdır.
 - D. Yüzeyinde yırtık, çatlak vs. olmamalıdır.
 - E. Yüzeyinde sıvı kalıntısı olmamalıdır.
 - F. Kurumamış olmalıdır.
-

Besiyerlerinin Kontrolu

Görsel inceleme

- Çatlak (< % 3)
- Yetersiz dolum (< % 3)
- Baloncuk oluşumu (< % 3)
- Kontaminasyon (< % 2)
- Hemoliz (< % 0)
- Donma (< % 0)

Performans

- Üretme,
- Enzimatik etki,
- Selektif inhibitör etki,
- Hemolitik aktivite vs.

Sterilite

Dehidrate besiyeri için;

- **Açıldığı tarih**
- **Son kullanma tarihi**

Besiyeri plakları için;

- **Lot numarası,**
 - **Hazırlanma tarihi,**
 - **Son kullanma tarihi**
-



Dayanıklılıkları:

- Plaklar(torbasız): +4°C'de 2 hafta
 - Plaklar (torbada): +4°C'de 8-10 hafta
-

GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BESİYERİ KALİTE KONTROL FORMU

1. Üretilen veya satın alınan her lot'ta görsel inceleme, sterilite ve performans testi uygulayın.
2. Beklenen sonuçları alınamamışsa testi tekrarlayın.
3. Eğer hala kabul edilebilir sınırların dışında ise, sonuçları kayıt altına alın ve kalite kontrol sorumlusunu bilgilendirin. Uygunsuz sonuçları kırmızı kalemle yazın.

Besiyeri : KKA
 Üretim tarihi : 30.01.2008
 Lot no : PC-7000-377
 Son kullanma tarihi : 30.04.2008
 İşleme alındığı tarih : 06.02.2008
 Kayıt numarası : B4-07-2008

GÖRSEL İNCELEME

En fazla üretimin % 5'ini incelemeye alın	Beklenen	İncelenen özellik	Sonuç
			Test edilen sayı
	< %3	# çatlak	—
	< %3	# yetersiz dolum	—
	< %3	# baloncuk oluşumu	—
	< %2	# kontamine	<u>2</u>
	0	# hemoliz	—
	0	# donmuş	—

STERİLİTE TESTİ

En fazla üretimin % 5'ini incelemeye alın		Test edilen sayı	<u>50</u>
	0	# kontamine	—

PERFORMANS TESTİ

Beklenen sonuç	Test edilen sayı	
	Atmosfer/ Isı % 5-10 CO ₂ /35°C	<u>3x2</u> <u>35.2°C</u>
(+) kontrol suşu <u>B-hemoliz</u>	<u>S. pyogenes ATCC 19615</u>	<u>Beta hem.</u>
(-) kontrol suşu <u>α-hemoliz</u>	<u>S. pneumonia ATCC 6305</u>	<u>Alfa hem.</u>
<u>İnert - Non hemoliz</u>	<u>E. coli ATCC 25922</u>	<u>İnert (N.H.)</u>

Kullanım onayı : EVET HAYIR
 YORUM :
 Tarih/Teknisyen : 07.02.2008 Ude

Antibiyotik diskleri

- Uzun süreli stoklamada -20°C 'de derin dondurucuda saklanmalıdır.
 - Kullanımdaki diskler en fazla bir hafta olacak şekilde buzdolabı ısısında saklanabilir.
 - Satın alınan her lot için kullanım öncesi KK uygulanmalıdır.
-

Tablo 3. Kolay Üreyen Mikroorganizmalarda Disk Difüzyon Testlerinin Doğruluğunu İzlemede Kullanılan Kalite Kontrol Suşları İçin Kabul Edilebilir Sınırlar (Kan veya Başka Katkı İçermeyen Mueller-Hinton Besiyerinde)

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 ^a	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 35218 ^b
Amikasin	30 µg	19-26	20-26	18-26	-
Amoksisilin/klavulanik asit	20/10 µg	18-24	28-36	-	17-22
Ampisilin	10 µg	16-22	27-35	-	6
Ampisilin/sulbaktam	10/10 µg	19-24	29-37	-	13-19
Azitromisin	15 µg	-	21-26	-	-
Azlosilin	75 µg	-	-	24-30	-
Aztreonam	30 µg	28-36	-	23-29	-
Daptomisin ^d	30 µg	-	18-23	-	-
Diritromisin	15 µg	-	18-26	-	-
Doksisisiklin	30 µg	18-24	23-29	-	-
Doripenem	10 µg	28-35	33-42	29-35	-
Enoksasin	10 µg	28-36	22-28	22-28	-
Eritromisin ^c	15 µg	-	22-30	-	-
Ertapenem	10 µg	29-36	24-31	13-21	-
Faropenem	5 µg	20-26	27-34	-	-
Fleroksasin	5 µg	28-34	21-27	12-20	-
Fosfomisin ^e	200 µg	22-30	25-33	-	-
Garenoksasin	5 µg	28-35	30-36	19-25	-
Gatifloksasin	5 µg	30-37	27-33	20-28	-
Gemifloksasin	5 µg	29-36	27-33	19-25	-
Gentamisin ^f	10 µg	19-26	19-27	16-21	-
Grepafloksasin	5 µg	28-36	26-31	20-27	-
İklaprim	5 µg	14-22	25-33	-	-
İmipenem	10 µg	26-32	-	20-28	-
Kanamisin	30 µg	17-25	19-26	-	-
Karbenisilin	100 µg	23-29	-	18-24	-
Kinupristin/dalfopristin	15 µg	-	21-28	-	-
Klaritromisin	15 µg	-	26-32	-	-
Klinafloksasin	5 µg	31-40	28-37	27-35	-

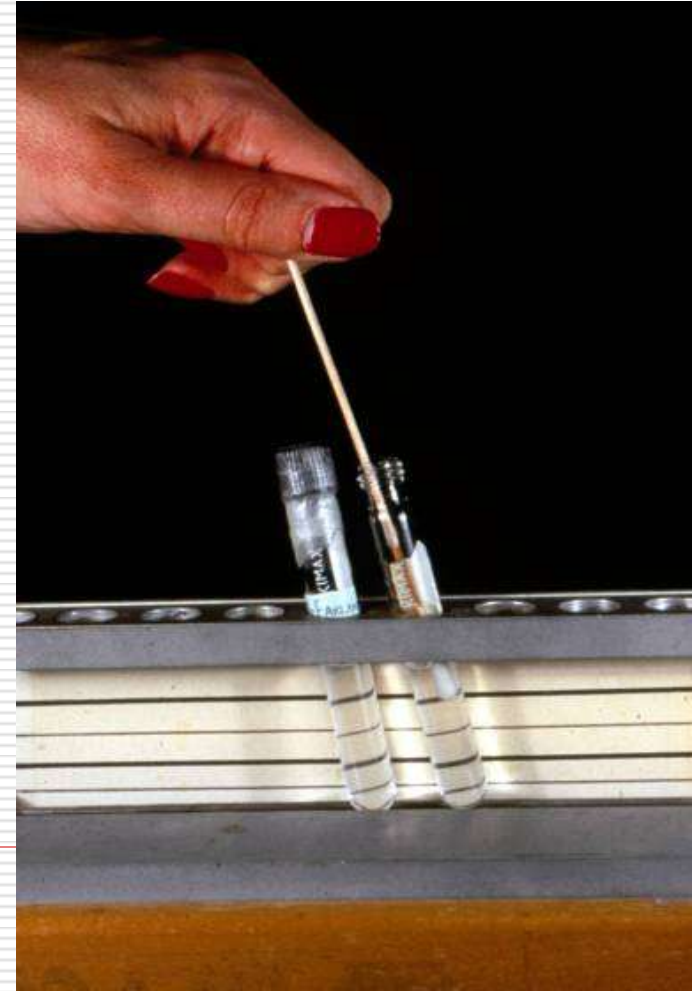
Antibiyotik diskleri

Olası hatalar

- Disklerde yetersiz antibiyotik içeriği
 - Yanlış etiketleme
 - Kullanım süresinin aşımı
 - Stoklama koşullarının uygun olmaması
 - Antibiyotiklerde potens kaybı
-

Bakteri yoğunluđu

- 0.5 McFarland standardı için hazırlanan süspansiyonun 625 nm'de 0.08-0.13 absorbansa sahip olması gerekir. ($1-2 \times 10^8$ CFU/ml)
- Optik cihaz kullanılıyor ise mutlaka periyodik bakımları yapılmalıdır.
- Okuma kartları üzerinde mukayese ile dilüsyon ayarlaması yapılıyor ise 3 ayda bir kontrol standartları spektrofotometre ile değerlendirilmelidir.



Cihaz kontrolü:

- Otomatize İdentifikasyon sistemleri,
 - Pipetler,
 - Otoklavlar,
 - Buzdolapları,
 - Derin dondurucular,
 - Türbidimetre, spektrofotometre vs. kontrolü
 - Etüvler
-

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI
CO₂'Lİ İNKÜBATÖR GÜNLÜK ÇALIŞMA KONTROL FORMU

Ay: Temmuz Yıl: 2007

Alet No :
Oda no :

Tolerans sınırları: ≥60% nemde %5-10 CO₂

Tarih	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
In-line CO ₂ (5-7 PSI)																																
CO ₂ konsantrasyon digital:5-10%	4.8	5.0	4.9	4.8	4.9	5.0	4.9	5.0	5.0	4.7	5.0	4.9	4.9	5.0	4.9	5.0	5.0	5.0	4.9	4.9	4.9	4.9	4.8	5.0	5.0	5.0	4.9	5.0	5.0	5.0	4.9	
H ₂ O düzeyi kontrolü cekete ≥ ½ dolu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Termostat °C	36.0	35.9	35.7	35.8	35.4	36.1	36.6	36.4	36.0	35.8	35.9	36.1	36.0	36.2	36.4	36.2	35.9	36.1	36.3	36.1	36.3	36.5	36.0	36.1	35.9	36.2	36.2	35.9	36.0	36.0	36.5	
Kontrol eden		UAC	UAC	UAC	UAC	UAC			UAC	UAC	UAC	UAC	UAC			UAC	UAC	UAC	UAC	UAC			UAC	UAC	UAC	UAC	UAC				UAC	UAC

ONAY

Kalite Kontrol sorumlusu

1.hafta.....UAC.....

2.hafta.....UAC.....

3.hafta.....UAC.....

4.hafta.....UAC.....

5.hafta.....

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI
ISI KAYIT ÇİZELGESİ

YIL: 2007 CİHAZ ADI: Genel Kabul - Sırat - 004

TOLERANS SINIRLARI: 2°C - 8°C

GÜN	OCAK	ŞUBAT	MART	NISAN	MAYIS	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	EYLÜL	EKİM	KASIM	ARALIK
1	4	4	5	3	4	4	3	4	4	3	4	4
2	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	4	4
3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	3
5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
6	3	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
7	4	5	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4
8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
9	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
10	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4
11	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4	4
12	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4	4
13	3	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4	3
14	3	3	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4
15	4	3	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4
16	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4
17	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
18	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
19	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
20	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	3	4
21	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4
22	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4
23	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4
24	4	3	3	4	3	4	4	4	4	4	3	4
25	3	3	4	4	3	4	4	4	3	4	4	4
26	3	3	4	3	3	4	4	4	3	4	4	4
27	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
28	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
29	4		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
30	4		4	4	4	3	4	4	3	4	4	3
31	4		3		4		4	4	4	4		4

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI
ISI KAYIT ÇİZELGESİ

YIL: 2007 CİHAZ ADI: İnceleme Buzdolabı Etan

TOLERANS SINIRLARI: 35°C - 37°C

GÜN	OCAK	ŞUBAT	MART	NISAN	MAYIS	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	EYLÜL	EKİM	KASIM	ARALIK
1	36.4	36.1	37.1	36.6	36.5	36.5	36.5	36.6	36.1	36.3	36.0	36.3
2	36.6	36.8	36.4	36.6	36.4	36.4	36.6	36.4	36.3	36.4	36.0	36.2
3	36.2	36.7	36.6	36.3	36.1	36.5	36.2	36.2	36.3	36.4	36.0	36.6
4	36.5	36.4	36.2	36.9	36.6	36.1	36.9	36.3	36.2	36.2	36.1	36.5
5	36.7	36.2	36.3	36.4	36.6	35.9	36.6	36.5	36.4	36.6	36.2	36.5
6	36.6	36.2	36.2	36.6	36.7	36.2	36.1	36.5	36.2	36.3	36.3	36.3
7	36.5	36.1	36.7	36.4	36.7	36.4	36.3	36.5	36.3	36.2	36.2	36.1
8	36.6	36.7	36.2	36.0	36.0	36.9	36.3	36.3	36.2	36.1	36.1	36.3
9	36.0	37.0	36.2	35.9	36.4	36.7	36.3	36.6	36.4	36.3	36.2	36.4
10	36.6	36.5	36.1	36.3	35.9	36.5	36.2	36.4	36.5	36.3	36.2	36.4
11	36.3	36.3	36.6	36.3	36.6	36.6	36.1	36.2	36.5	36.6	36.2	36.2
12	36.7	36.0	37.2	36.0	36.5	36.6	36.2	36.1	36.3	36.4	36.2	36.4
13	37.0	36.6	36.8	36.1	36.7	36.6	36.2	36.2	36.2	36.4	36.3	36.3
14	36.6	35.5	37.0	36.2	36.7	36.1	36.1	36.2	36.3	36.2	36.5	36.1
15	36.3	36.5	36.3	36.3	36.0	36.4	36.0	36.4	36.4	36.2	36.5	36.3
16	36.6	36.6	36.0	36.5	36.6	36.3	36.0	36.2	36.3	36.0	36.4	36.5
17	36.3	36.4	36.2	36.8	36.1	36.3	36.2	36.3	36.3	36.0	36.1	36.7
18	36.6	36.5	36.3	36.3	36.5	36.4	36.7	36.0	36.5	36.3	36.2	36.6
19	35.9	36.5	36.4	36.3	36.3	36.0	36.5	36.2	36.0	36.3	36.2	36.4
20	36.0	36.4	36.2	36.6	36.5	36.0	36.7	36.3	36.2	36.1	36.3	36.2
21	36.0	36.6	36.3	36.4	36.5	36.9	36.4	36.2	36.3	36.3	36.4	36.1
22	36.0	36.8	36.2	36.4	36.0	36.2	36.2	36.4	36.2	36.4	36.4	36.3
23	36.6	36.6	36.6	36.6	36.4	36.4	36.0	36.5	36.4	36.4	36.1	36.3
24	36.3	36.5	36.5	36.7	36.2	36.6	36.6	36.0	36.4	36.3	36.2	36.3
25	36.6	36.4	36.5	36.6	36.3	36.6	36.6	36.3	36.4	36.4	36.0	36.5
26	36.1	36.6	36.4	36.4	36.2	36.5	35.9	36.2	36.2	36.6	36.2	36.5
27	36.2	36.5	36.2	36.5	36.1	36.2	36.5	36.3	36.4	36.4	36.3	36.3
28	36.6	36.2	36.3	36.3	36.2	36.0	36.3	36.2	36.4	36.2	36.5	36.4
29	36.8		36.6	36.0	36.6	36.4	36.5	36.4	36.2	36.3	36.4	36.4
30	36.2		36.5	36.0	36.6	36.3	36.6	36.3	36.3	36.3	36.5	36.5
31	36.0		36.4		36.4		36.4	36.3		36.3		36.6

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI
ISI KAYIT ÇİZELGESİ

YIL: 2007 CİHAZ ADI: Antibiyogram Safutucu

TOLERANS SINIRLARI: -18°C - 22°C

GÜN	OCAK	ŞUBAT	MART	NISAN	MAYIS	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	EYLÜL	EKİM	KASIM	ARALIK
1	-20	-20	-18	-19	-20	-20	-19	-18	-19	-20	-20	-19
2	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-18	-18	-20	-20	-20	-20
3	-19	-19	-19	-20	-20	-20	-18	-18	-20	-20	-20	-20
4	-20	-19	-20	-20	-20	-19	-18	-19	-20	-21	-20	-20
5	-20	-19	-20	-20	-20	-19	-19	-19	-20	-21	-20	-20
6	-20	-20	-20	-20	-21	-18	-19	-20	-20	-20	-20	-20
7	-19	-20	-20	-20	-20	-19	-19	-20	-20	-20	-20	-20
8	-19	-19	-21	-20	-20	-19	-19	-20	-20	-19	-20	-19
9	-20	-19	-20	-21	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-19
10	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-19	-20	-19	-20
11	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-19	-20
12	-21	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-19	-20
13	-21	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-19	-20
14	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-19	-20	-19	-19
15	-20	-18	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-19	-19
16	-20	-19	-19	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20
17	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20
18	-19	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20
19	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20
20	-20	-20	-19	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20
21	-19	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-19
22	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-20
23	-19	-21	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20
24	-20	-20	-20	-19	-20	-19	-20	-20	-19	-20	-20	-20
25	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20
26	-21	-20	-19	-19	-20	-20	-19	-20	-19	-20	-20	-20
27	-21	-19	-19	-20	-20	-20	-20	-20	-19	-20	-20	-20
28	-21	-19	-19	-19	-19	-20	-20	-19	-20	-20	-20	-20
29	-20		-20	-19	-20	-19	-20	-19	-20	-20	-20	-20
30	-20		-19	-19	-20	-19	-19	-19	-20	-19	-19	-19
31	-20		-19		-20		-20	-19		-20		-20

	Referans sonuç	Lab.Sonucu	Yüzde
Çok büyük hata	R	S	$\leq 1,5$
Büyük hata	S	R	$\leq 3,0$
Küçük hata	R/S	I	
Küçük hata	I	R/S	≤ 10



Hata kaynakları

- Eğer sıklıkla karşılaşılmayan bir sonuç elde ettiyseniz;
 - Bakterinin identifikasyon sonucunu kontrol edin
 - ADT'ini tekrarlayın

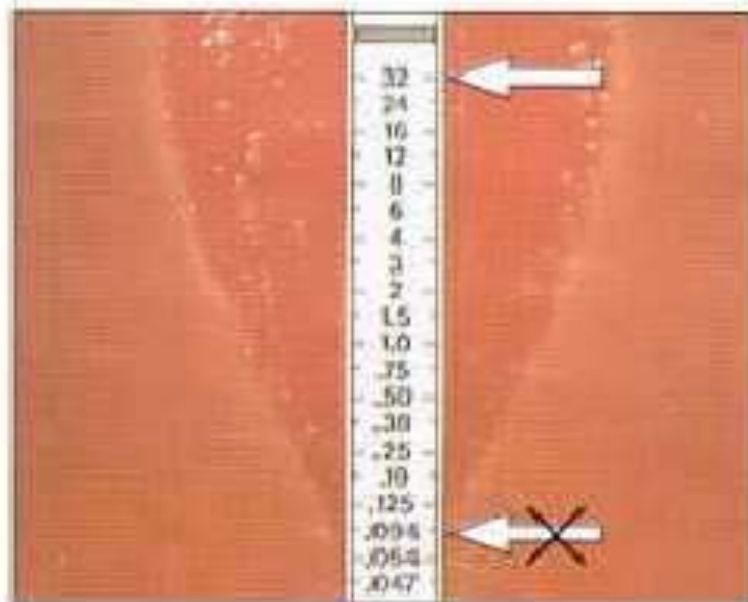
 - Eğer sonuçlarınız hala aynı ise mutlaka güvendiğiniz bir laboratuvardan konfirmasyon isteyin
-



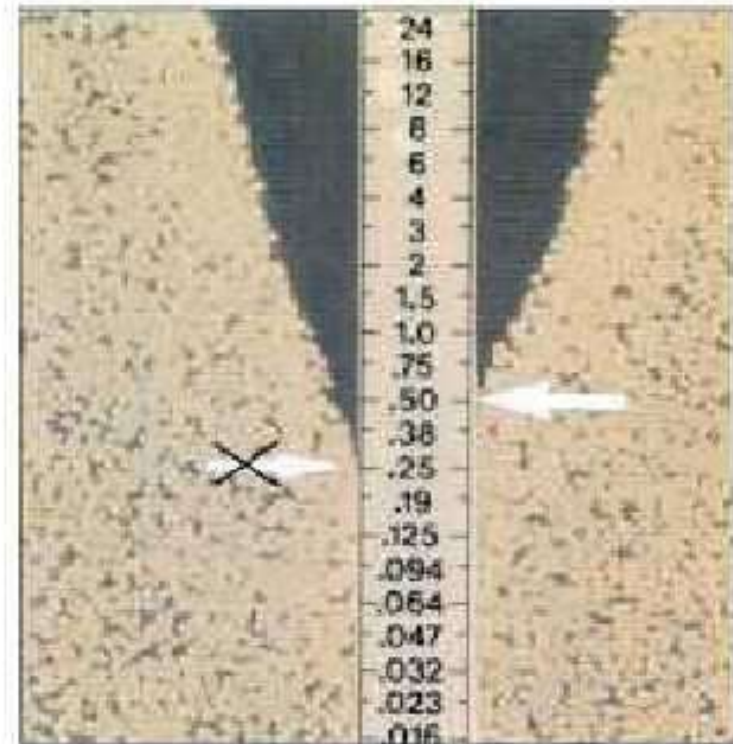
Saptanabilen Hata Nedenleri

- Mueller-Hinton agarın hatalı hazırlanması
 - Petrilerin döküm sırasında düz bir zeminde olmaması
 - Süresi geçen agar plaklarının kullanılması
 - Disklerin hatalı yerleştirilmesi ya da oda sıcaklığına getirilmeden kullanılmaları
 - İnokulüm yoğunluğunun standarda göre ayarlanmaması
 - Plaklara inokulasyonun uygunsuz şekilde yapılması
 - İnokulümün plaklara ekilmesi için gereken sürenin uzatılması
 - İnkübasyon ısısı veya süresinde hata
 - Değerlendirme hataları
-

Hatalı değerlendirme;



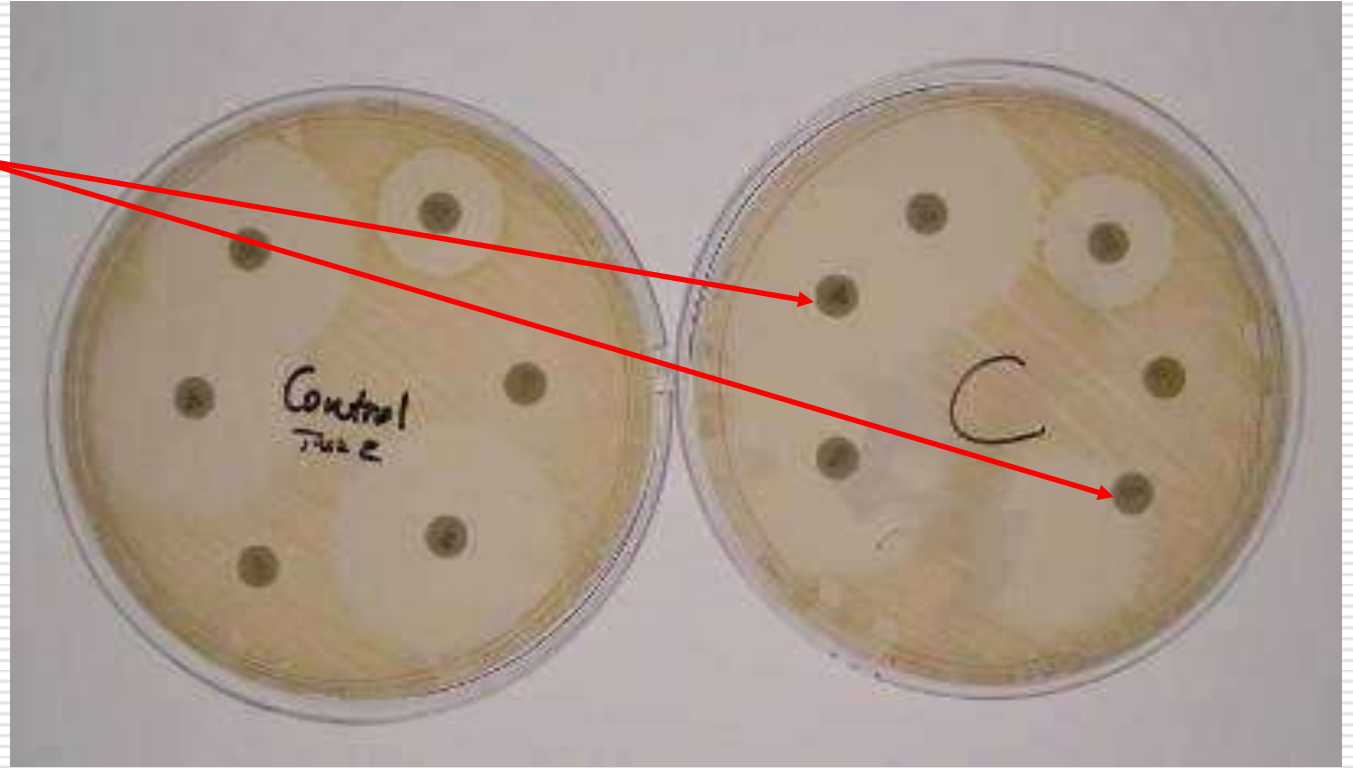
Complete inhibition of macrocolonies at MIC > 32 µg/ml.



Different intersections on either side of the strip. Read the higher value; if the difference is > 1 dilution, repeat the test. MIC 0.5 µg/ml.

Hatalı uygulama-değerlendirme;

Hatalı uygulama



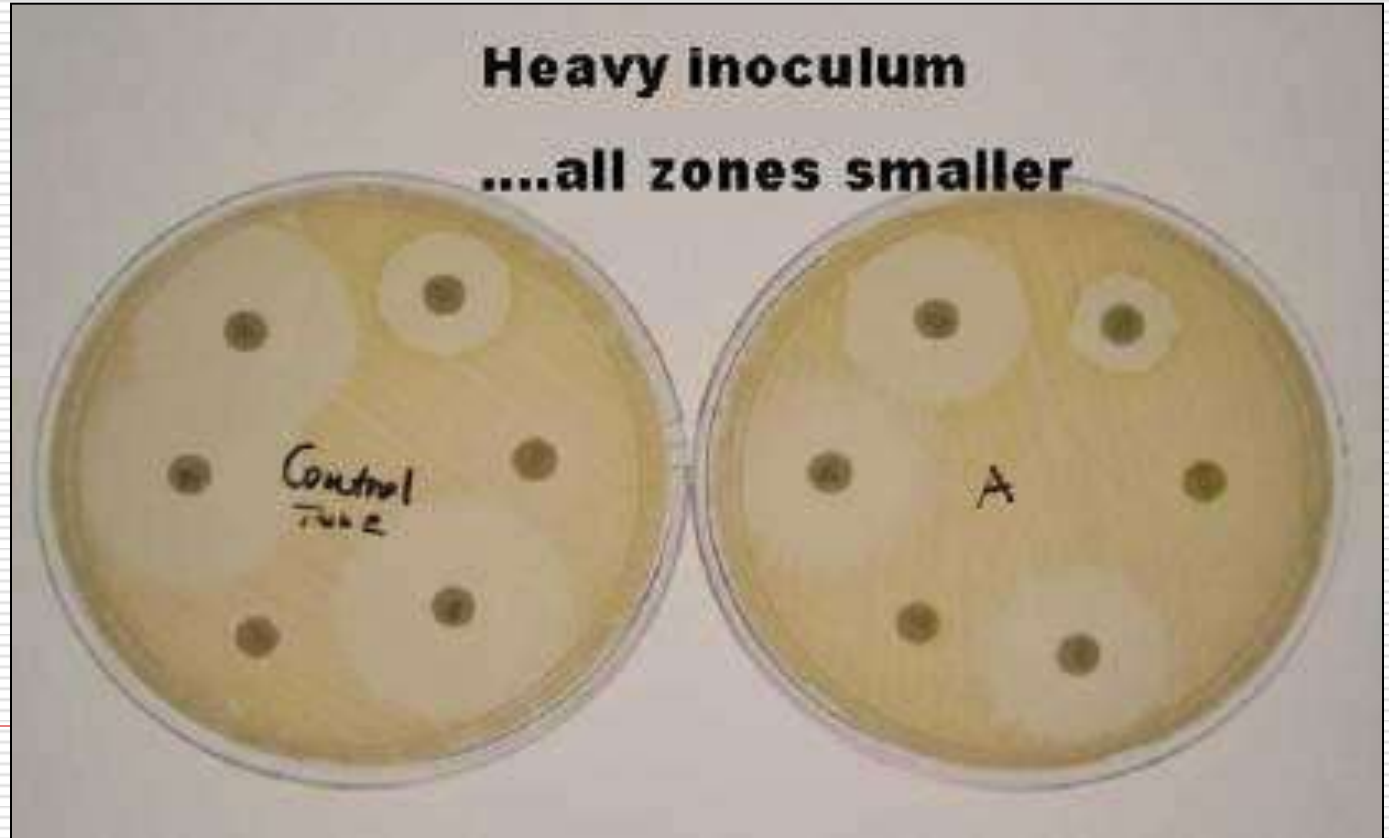
Hatalı uygulama-değerlendirme;

Kontaminasyon



Hatalı uygulama-değerlendirme;

Ekilen bakteri suspansiyonunun konsantrasyonunun yüksek olması



Hatalı uygulama-değerlendirme;

Agar kalınlığının fazla olması



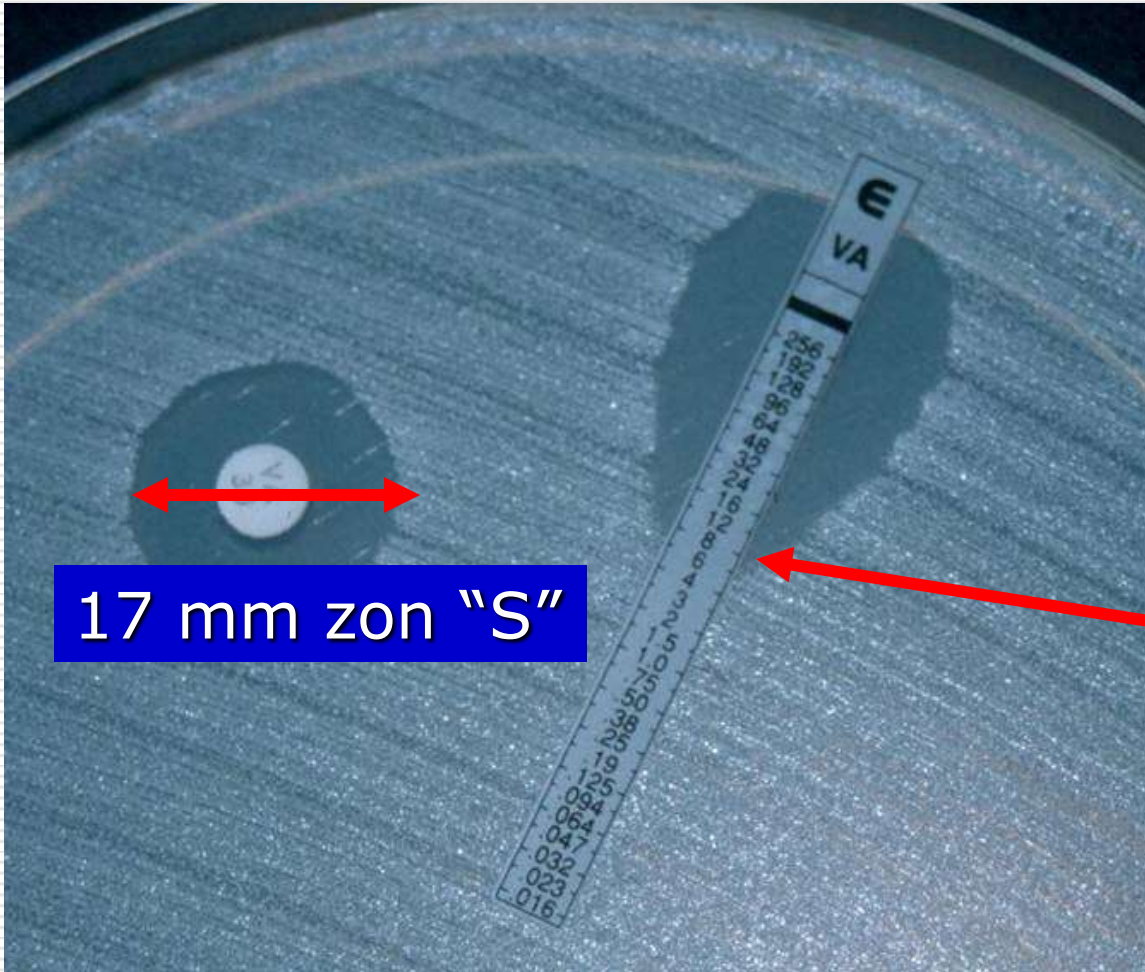
Çeşitli yöntemlerin *S. aureus*'da vankomisin direnç düzeyini saptama özellikleri

	Vankomisin MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MIC	Disk Difüzyon	Vankomisin Agar Screen*
VSSA {	≤ 2 S	Evet	Hayır	Evet
VISA** {	4 I	Evet	Hayır	Değişken
	8 I	Evet	Hayır	Evet
VRSA** {	16 R	Evet	Hayır	Evet
	≥ 32 R	Evet	Evet	Evet

* BHI + 6 $\mu\text{g/ml}$ vankomisin – tüm VISA'ları saptayamaz

**Referans laboratuvarında konfirme edin ve ona göre raporlayın

VISA – Yalanci “S” (CLSI M100-S18)



17 mm zon "S"

	S	I	R
Vankomisin	≤ 2	4-8	≥ 16

MIC – 8 $\mu\text{g/ml}$ "I"

RAPORLAMA POLİTİKASI

- Hastanın tedavisini ters etkileyecek yanlış raporlamadan kaçınmak,
 - Tedavide klinisyenin en faydalı ve en ucuz antibiyotiği seçmesini sağlamak,
 - Hastanede yerli yersiz antibiyotik kullanımını ve böylece direnç gelişimini engellemektir.
-

CLSI Table 1 (M7) Drugs to Test/Report

Table 1. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the U.S.

GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Enterobacteriaceae ^a	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> and Other Non- Enterobacteriaceae ^d	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp. ^e
	Ampicillin ^a	Ceftazidime	Oxacillin ^f	Penicillin ^g or ampicillin
	Cefazolin ^a Cephalothin ^a	Gentamicin	Penicillin ^f	
	Gentamicin	Mezlocillin or ticarcillin Piperacillin		
GROUP B ^e PRIMARY TEST ELECTIVELY	Amikacin	Amikacin	Azithromycin ^d or clarithromycin ^d or erythromycin ^d	Daptomycin
	Amoxicillin-clavulanic acid or ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Cefepime	Clindamycin ^d Daptomycin Linezolid Telithromycin ^d	Linezolid
	Cefamandole or cefonicid or cefuroxime	Aztreonam Cefoperazone Ciprofloxacin Levofloxacin		Quinupristin- dalifopristin ^d
	Cefepime	Imipenem Meropenem		Vancomycin
	Cefmetazole Cefoperazone ^d	Ticarcillin-clavulanic acid ^d	Vancomycin	

Kısıtlı raporlama?

- Primer ilaçlar öncelikli raporlanmalıdır
 - Bu ilaçlar en dar spektrumlu, en ucuz ve en düşük toksisiteye sahip olanlardır.
 - Ek ilaçların raporlanması:
 - Primer tercihlere direnç varsa,
 - Spesifik vücut bölgesi söz konusu ise,
 - Hasta tolere edemiyorsa
 - Çoğul enfeksiyon söz konusu ise,
 - İnfeksiyon birden fazla bölgede ise
-

**ADT sonuçlarının uygun /
doğru raporlanması neden
bu kadar önemlidir?**

Bakteremi etkeni ESBL-üreten Klebsiella pneumonia'yı sefotaksim "duyarlı" raporlamak

- Tedavi başarısız olur ve hasta ölebilir!
 - **ESBL raporlama kuralı:** ESBL pozitif tüm izolatlar tüm sefalosporinlere, penisilinlere ve aztreonam'a dirençli raporlanmalıdır.
-

Outcome of Serious ESBL Infections When Treated with 3rd gen Cephalosporin (e.g., cefotaxime)

MIC ($\mu\text{g/ml}$) 3 rd gen cef*	Failure	Died within 14 d of bacteremia
8 S	100% (6/6)	33% (2/6)
4 S	67% (2/3)	0 (0/3)
2 S	33% (1/3)	0 (0/3)
≤ 1 S	27% (3/11)	18% (2/11)
Total	54% (15/28)	

*5 MICs recorded as 0.5-4 $\mu\text{g/ml}$

Kısıtlı raporlama;

Pseudomonas aeruginosa

Seftazidim	S		
Siprofloksasin	S		
Gentamisin	S		
Pip-tazo	S		
*imipenem		S	
*amikasin		S	
*tobramisin		S	

*kısıtlı raporlananlar

“Uyarı” – “Yorum”

ADT raporuna yorum eklenmesi klinisyenin raporu anlaması ve yorumlamasını sağlayacak ve böylece uygun tedaviyi seçmesine yardımcı olacaktır.

CLSI "*Uyarı*"

- Bazı ilaç/MO kombinasyonları vitro etkin ancak klinik kullanımda etkisizdir.

Bu ajanlar "duyarlı" raporlanmamalıdır

“Duyarlı” olsada klinik olarak etkin olmaya ilaç/MO kombinasyonları

Organizma

Salmonella, Shigella

Listeria

ESBL pozitifler

“Duyarlı” raporlanmayacaklar

1., 2. kuşak
Sefalosporinler
Sefamisinler
Aminoglikozidler

Sefalosporinler

Aztreonam
Sefalosporinler
Penisilinler

“Duyarlı” olsada klinik olarak etkin olmaya ilaç/MO kombinasyonları

Organizma

MRSA, MRKNS

Enterokoklar

“Duyarlı” raporlanmayacaklar

Beta-laktamlar

Sefalosporinler

Klindamisin

Trim-sulfamed

Aminoglikozidler

(Yüksek düzey hariç)

BOS izolatlarında raporlamayın

- Yalnızca oral yoldan kullanılabilen ajanlar
- 1.- ve 2. kuşak sefalosporinler,(Sefuroksim sodyum dışında)
- Klindamisin
- Makrolidler
- Tetrasiklinler
- Florokinolonlar

CLSI M100-S20 (M2, M7)

İdrar izolatları:

- Rutin olarak raporlanmayacak ajanlar:
 - Azitromisin
 - Eritromisin
 - Klaritromisin
 - Kloramfenikol
 - Klindamisin
- CLSI M100-S20 Tablo 1'de "U grubu" ajanları sadece idrar izolatlarında raporlayın (örneğin nitrofurantoin)

Sonuçların doğrulanması

Table 8. Suggestions for Verification of Antimicrobial Susceptibility Test Results and Confirmation of Organism Identification

This table reflects the drugs listed for testing against the respective organisms in Tables 2A to 2J in M100 and gives some examples to consider for verification protocols at a given institution. The list includes phenotypes that: 1) have never been documented; 2) are uncommon **in some geographic areas**; and/or 3) represent results that could easily occur from technical errors and which may have significant clinical consequences.

Organism or Group	Category I ^a Phenotypes that have not been reported, are uncommon, and/or result from technical errors	Category II ^b Phenotypes that may be uncommon at a given institution and/or result from technical errors
Gram-negative organisms		
Enterobacteriaceae (any)	carbapenem - I or R	amikacin - R fluoroquinolone - R
<i>Citrobacter freundii</i> <i>Enterobacter</i> spp. <i>Serratia marcescens</i>	ampicillin, cefazolin, or cephalothin - S	
<i>Escherichia coli</i>		ESBL confirmed positive
<i>Klebsiella</i> spp.	ampicillin - S	ESBL confirmed positive
<i>Proteus vulgaris</i> <i>Providencia</i> spp.	ampicillin - S	
<i>Salmonella</i> spp.		3 rd generation cephalosporin - I or R ^d fluoroquinolone I or R or nalidixic acid - R ^d
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		concurrent gentamicin and tobramycin and amikacin - R
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	carbapenem - S	trimethoprim-sulfamethoxazole - R
<i>Haemophilus influenzae</i>	aztreonam - NS carbapenem - NS 3 rd generation cephalosporin ^e - NS	ampicillin amoxicillin-clavulanic acid - R

Table 8
Suggested Test Result Verification
and Organism Identification
M7-MIC

CLSI Açıklama III (M7)

Sonuçların doğrulanması (ID+AST)

Organizma	Kategori I Bildirilmemiş, ender olan ve/veya teknik hatalardan kaynaklanan fenotipler	Kategori II Bir merkezde ender olan ve/veya teknik hatalardan kaynaklanan fenotipler
<i>Enterobacteriaceae</i>	karbapenem- I veya R	amikasin - R Florokinolon - R
<i>C.freundii</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>S. marcescens</i>	Ampisilin, sefazolin veya sefalotin- S	
<i>Klebsiella spp.</i>	Ampisilin - S	ESBL pozitif
Herhangi bir mikroorganizma	Rutinde test edilen tüm ilaçlara dirençli	

Enterobacter cloacae

ampicillin	R
cefazolin	R
cefotaxime	R
gentamicin	S
imipenem	R
tobramycin	S
trimeth-sulfa	S

Doğrulama yapılmalı mı?

Evet

Neden?

- *Enterobacteriaceae*'da Imipenem-R sıklıkla görülmez

Direnç?

- Gerçek direnç
 - İlacın aktivitesini kaybetmesi (imipenem ısı değişiminden kolaylıkla etkilenir)
 - Yanlış identifikasyon
 - Hatalı metodoloji
-

Streptococcus pneumoniae (BOS)

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Seftriakson	≤ 0.25 S
Meropenem	≤ 0.25 S
Penisilin	≤ 0.06 S
Vankomisin	8 ???

Doğrulanmalı mı?

***Streptococcus pneumoniae* (BOS)**

Evet

Vankomisin MIC < 1 µg/ml (S)

8 µg/ml

Sebepler?

Gerçek direnç ????

Yanlış identifikasyon

Kontaminasyon

Yanlış ADT

Doğrulamayı nasıl yaparız?

- Kayıtları kontrol edin
 - Plakları tekrar değerlendirin ve çalıştığınız kolonilerin saflığından emin olun,
 - Aynı hastanın varsa eski sonuçlarını kontrol edin
 - İdentifikasyonu tekrarlayın
 - ADT'ni tekrarlayın
 - Güvendiğiniz bir laboratuvar da testi tekrarlatın
-

Kalite asla rastlantı değildir,
her zaman zekice bir çabanın
sonucudur."

RUSKIN



"The microbe always has the last word."

LOUIS PASTEUR (1822-1895)



Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı

TEŞEKKÜR EDERİM