



Editörler

Prof. Dr. Deniz Gür
Prof. Dr. Zeynep Gülay



İçindekiler

Dünya Antibiyotik Farkındalık Haftası, 18-24 Kasım	2
Kan kültürü şişelerinden doğrudan hızlı antibiyotik duyarlılık testi (HADT)-Son güncellemeler	3
EUCAST'ta bazı stafilokok türleri için metisilin direnci tanımlama kriterleri yenilendi	5
Duyarlılık testlerinde güçlükle olan antibiyotikler- Kolistin	9
Prof. Dr. Zeynep Gülay antibiyotik direncine ilişkin son yılların en önemli yayınlarını sizin için derledi	12
Bir olgumuz var	15
Bir klinisyene soralım: Prof. Dr. İftihar Köksal	17
EUCAST klinik sınır değer tabloları'nda 2024 yılında gerçekleşmesi beklenen değişiklikler	18

Değerli meslektaşlarımız

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti ADTS grubu olarak sizlere Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç konularında en son uygulamaları duyurmayı, ülkemizde yerleşmesini arzuladığımız standardizasyonun bir parçası olarak gördük. Sizlerin de bildiği gibi bu konuda sempozyumlar, kurslar, toplantılar ve çevrim içi olgu tartışmaları düzenlemekteyiz. TMC-ADTS olarak EUCAST'ın ulusal temsilcisiyiz ve gelişmeleri size en kısa sürede duyurmaya çalışıyoruz. Bazı önemli doküman ve duyuruları da dilimize çevirerek TMC web sayfasında yayınlıyoruz. Size kısa sürede ulaşmanın bir yolunu daha bulduk. Çevrim içi bir ADTS Bülteni çıkaralım ve sizlere son gelişmeleri duyuralım, hatta sizlerden gelen geri bildirimler ile aktif tutacağımız bir platform oluşturalım, klinisyenlerin de görüşlerini alalım ve tartışalım istedik. Antibiyotik duyarlılık testleri çoğu zaman hayat kurtarıcı olabilir; doğru ve zamanında yapılabilirse. Bu bültende, güncellenen bilgileri, değişik olguları, klinisyen görüşlerini sizler ile paylaşacağız.

Bu bültenin oluşturulmasında TMC-ADTS Çalışma Grubunun tüm üyelerinin katkısı büyük. Önce onlara sonra da bu bültenin ortaya çıkmasında bize destek veren Pfizer PFE ilaçları A.Ş. ye teşekkürlerimizi ileterek ilk sayımızı beğenilerinize sunuyoruz...

Bilimsel kurul

Prof. Dr. Şöhret Aydemir
Prof. Dr. Ufuk Hasdemir
Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan
Prof. Dr. Çiğdem Kayacan
Prof. Dr. Güner Söyletir
Doç. Dr. Onur Karatuna
Doç. Dr. Serap Süzük Yıldız

Dünya Antibiyotik Farkındalık Haftası, 18-24 Kasım

Antibiyotik direnci, dünyayı tehdit eden en ciddi halk sağlığı sorunları arasındadır. İnsan yaşamını tehdit eden enfeksiyonlar, ne yazık ki antibiyotik direnci sorunundan ötürü tedavi edilememektedir. Direnç arttıkça toplumda enfeksiyon hastalıklarından kaynaklanan ölüm oranı artmakta, hastanede kalış ve tedavi süreleri uzamakta ve buna bağlı olarak tedavi maliyetleri artmaktadır.

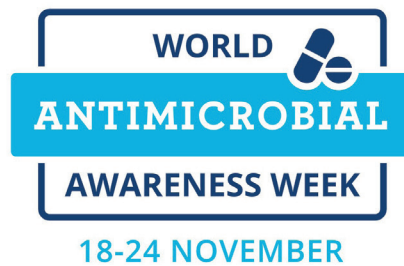
Her yıl 18 Kasım Avrupa Antibiyotik Farkındalık gününü içine alan 18-24 Kasım haftası Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından "Dünya Antibiyotik Farkındalık Haftası, World Antimicrobial Awareness Week (WAAW)" olarak ilan edilmiştir. Bu haftanın amacı, tüm dünyada küresel antibiyotik direnci konusundaki farkındalığı arttırmak, toplum, sağlık çalışanları ve politika yapıcılar arasında antibiyotik direncinin yayılmasını önlemeye yönelik iyi uygulamaları teşvik etmektir. Günümüz teknolojik ve ekonomik koşullarının yardımıyla uluslararası seyahat sıklığının artmasının bir sonucu olarak, dünyanın herhangi bir bölgesinde ortaya çıkan direnç sorunu çok kısa süre içinde tüm dünyayı ilgilendiren bir boyuta ulaşmaktadır.

Antibiyotik direncine yönelik en iyi strateji, akılcı kullanımlarının sağlanmasıdır. Bunun için kanıta dayalı laboratuvar verilerinin kullanımı ile birlikte toplumun her düzeyinde farkındalığın oluşturulması gerekmektedir. Enfeksiyonlara karşı mücadelede, hijyen, sanitasyon, sağlık bakımı, el hijyeni gibi standart önlemleri içeren gerekli bütün enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmasının sağlanması, aşı ile önlenebilen hastalıklarda etkili bağışıklama programlarının yürütülmesi de önemlidir.

Antibiyotikler sadece hekimin reçete ettiği durumlarda, eczacının danışmanlığında uygun miktar ve sürede kullanılmalıdır. Hekim reçete etmedikçe kendi kendine ya da eş-dost önerisiyle antibiyotik kullanılmamalıdır. Antibiyotikler ağrı kesici, ateş düşürücü değildir ve her hastalığı tedavi edemez. Özellikle grip ya da nezle gibi virüslere bağlı solunum yolu enfeksiyonlarında antibiyotiklerin tedavide yerinin olmadığı unutulmamalıdır.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (WOAH) olmak üzere dördü uluslararası kuruluşlar dünyada direncin yönetilebilmesi ve önlenebilmesi için birlikte çalışma konusunda deklarasyon yayınlamışlardır.

"Direnci birlikte önleyebiliriz"



Kan kültürü şişelerinden doğrudan hızlı antibiyotik duyarlılık testi (HADT)-Son güncellemeler



Doç. Dr. Gülşen Çetin Hazirolan

Hacettepe Üniversitesi

Kan kültürü klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının en acil ve önemli testlerinden biridir. Kan kültüründen izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinin eldeki yöntemler kullanılarak saptanması yaklaşık 48 saat sürmekte ve etkin antibiyotik tedavisinin uygulanmasında gecikmeler yaşanabilmektedir. Etkili antibiyotik tedavisine başlamada yaşanan her bir saatlik gecikme de sağkalım oranlarını düşürmektedir (1). Klinisyene hızlı antibiyotik duyarlılık test sonucunu verebilmek amacıyla The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), pozitif kan kültürü şişelerinden doğrudan hızlı antibiyotik duyarlılık test (HADT) yöntemini, ilk olarak 2019 yılında yayınlamıştır (2). EUCAST HADT, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* ve *Streptococcus pneumoniae* için onaylanmıştır. HADT’de kısa süreli inkübasyon süreleri (4, 6, 8 saat) önerilmekte ve maksimum sekiz saatte antibiyotik duyarlılık saptanabilmektedir. Ayrıca genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) ve karbapenemaz varlığının saptanması için, EUCAST HADT tarama önerileri de mevcuttur (3). Yapılan güncellemeler ile, laboratuvar çalışma saatlerine bağlı olarak, 4., 6. ve 8. saat inkübasyon sürelerinin uygulanması olanaklı olmadığında kullanılabilirlik üzere, 16-20 saatlik inkübasyon sonunda HADT klinik direnç sınır değerleri belirlenmiştir. Ayrıca yeni antibiyotiklerin klinik direnç sınır değerleri de kılavuza eklemiştir (4). HADT’ye ilişkin yöntem ayrıntılı olarak TMC web sayfasından okunabilir. https://www.tmc-online.org/pdf/eucast/Kan_Kulturu_Siselerinden_Dogrudan_HADT_V3.pdf

Seftazidim-avibaktam, seftolozan-tazobaktam, imipenem-relebaktam ve meropenem-vaborbaktam; çoklu ilaca dirençli Gram negatifler ile gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılan yeni antibiyotiklerdir. Bu antibiyotiklerin klinik direnç sınır değerleri, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatları için belirlenerek HADT kılavuzuna eklenmiştir (4). Ülkemizde seftazidim-avibaktam ve seftolozan-tazobaktamın kullanım ruhsatı bulunmaktadır. İmipenem-relebaktam ve meropenem-vaborbaktam ruhsatı ise henüz bulunmamaktadır (5). Seftazidim-avibaktam, 2015 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi [U.S. Food and Drug Administration (FDA)] tarafından onaylanan, KPC ve/veya OXA beta-laktamaz üreten karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerine karşı etkinlik gösteren yeni bir antibiyotiktir (6). Ülkemizde, OXA-48, *K. pneumoniae* izolatları arasında oldukça yaygın saptanan karbapenemaz tipidir. Yeni beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları arasında OXA-48 karbapenemaza tam etki gösteren tek kombinasyondur (7). Ayrıca Sağlık Bakanlığı tarafından geri ödemesi bulunmaktadır (8). Yoğun bakım ünitesinde tedavi gören hastalardan izole edilen izolatın in vitro olarak karbapenem, aminoglikozit ve üçüncü kuşak diğer sefalosporinlere dirençli ve seftazidim-avibaktama duyarlı olduğu, mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılan antibiyotik duyarlılık test sonucu ile gösterildiğinde, seftazidim-avibaktamın bedeli, kurumca karşılanmaktadır (8). Antibiyotik duyarlılık test sonucunun olabildiğince hızlı bir şekilde klinisyene bildirilmesi, etkene yönelik tedaviye geçiş süresini azaltarak morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkilediğinden, özellikle gram negatif bakterilerde HADT uygulanması ile 4-6 saat inkübasyon sonucunda duyarlılık test sonucu elde edilebilmekte ve klinisyene bildirilebilmektedir.

EUCAST, HADT ile *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izolatlarında daha fazla antibiyotik için klinik sınır değer elde edilmesi için çalışmalara devam etmektedir.

EUCAST HADT yöntemi kan kültürlerinde antibiyotik duyarlılık sonuçlarını hızlı elde edebilmek için, Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarlarının rutin iş akışına göre planlanarak, kullanılabilecek bir yöntemdir. HADT ile ilgili yöntem, direnç mekanizmalarının taranmasına, kalite kontrol önerilerine ve klinik sınır değer tablolarına http://www.eucast.org/rapid_ast_in_bloodcultures web adresinden ulaşılabilir (9).

Kaynaklar

1. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest* 2009; 136(5): 1237–1248.
2. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/Methodology_EUCAST_RAST_v1_20181126.pdf.
3. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/2022/RAST_detection_of_resistance_mechanisms_v._2.0_final.pdf.
4. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/2023/2023_June/EUCAST_RAST_Breakpoint_Table_v_6.1_final_PDF.pdf.
5. https://titck.gov.tr/storage/Archive/2023/dynamicModulesAttachment/ekizlemlistesiruhstlilalar03.03.2023_1956d14c-eda-45a9-be71-2219f0427a87.xlsx
6. Nagvekar V, Shah A, Unadkat VP, Chavan A, Kohli R, Hodgar S, et al. Clinical Outcome of Patients on Ceftazidime-Avibactam and Combination Therapy in Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Indian J Crit Care Med* 2021; 25(7):780-784. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23863. PMID: 34316172; PMCID: PMC8286375.
7. Bonnin RA, Bernabeu S, Emeraud C, Naas T, Girlich D, Jousset AB, Dortet L. In Vitro Activity of Imipenem-Relebactam, Meropenem-Vaborbactam, Ceftazidime-Avibactam and Comparators on Carbapenem-Resistant Non-Carbapenemase-Producing Enterobacterales. *Antibiotics* 2023; 6;12(1):102. doi: 10.3390/antibiotics12010102. PMID: 36671303; PMCID: PMC9854925.
8. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2021/04/20210428M1-1.htm>
9. <https://www.eucast.org/>

EUCAST'ta bazı stafilocok türleri için metisilin direnci tanımlama kriterleri yenilendi

Prof. Dr. Zeynep Gülay

EUCAST sınır değer tablolarında, stafilocok türlerindeki metisilin direncinin saptanması için *S. epidermidis* ve *S. lugdunensis* için kullanılan sefoksitin tarama testi sınır değerleri, *S. aureus* ve diğer koagülaz negatif stafilocoklar için belirlenenlerden farklıdır. *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi* ve *S. coagulans* için ise sefoksitin değil oksasilin disk (1 µg) ile tarama testi önerilmektedir. Tabloda EUCAST 2023 (sürüm 13.0) dokümanında bu konuda yer alan öneriler özetlenmiştir:

	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		Not
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Sefoksitin (tarama için) <i>S. aureus</i> ve koagülaz negatif stafilocoklar (<i>S. epidermidis</i> ve <i>S. lugdunensis</i> hariç)	Not ^{1,2}	Not ^{1,2}	30	22 ^{A,B}	22 ^{A,B}	1/A- Stafilocokların, beta-laktamazlarından etkilenmeyen beta-laktamlara duyarlılığı, sefoksitin duyarlılığından çıkarsama yapılarak belirlenir Sefoksitin MİK değeri >4 mg/L olan <i>S. aureus</i> ve <i>S. lugdunensis</i> ile sefoksitin MİK değeri >8 mg/L olan <i>S. saprophyticus</i> izolatları, sıklıkla <i>mecA</i> veya <i>mecC</i> geni varlığına bağlı olarak, metisiline dirençlidir. Disk difüzyon ile metisilin direnci güvenilir olarak öngörülebilir. 2. <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> ve <i>S. saprophyticus</i> dışındaki stafilocoklar için, metisilin direncini belirlemede sefoksitin MİK değerinin öngörü başarısı, disk difüzyona kıyasla daha düşüktür (daha zayıf bir öngörü sağlar). 3/C. Sefoksitin disk testi, <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferi</i> ve <i>S. coagulans</i> 'ın metisilin direncini belirlemede, diğer stafilocoklarda olduğundan daha az güvenilirdir. Bu türler için, oksasilin 1 µg diskini ve S≥20, R<20 mm sınır değerlerini kullanınız. B. Koagülaz negatif stafilocoklar tür düzeyinde tanımlanmamışsa, zon çapı için S≥25, R<25 mm sınır değerlerini kullanınız. TBA değerleri 22-24 mm'dir. TBA içinde sonuç veren izolatlar tür düzeyinde tanımlanmalı, <i>mecA/mecC</i> için PCR yapılmalı veya dirençli olarak bildirilmelidir.
Sefoksitin (tarama için) <i>S. epidermidis</i> ve <i>S. lugdunensis</i>	Not ²	Not ²	30	27 ^{A,B}	27 ^{A,B}	
Sefoksitin (tarama için) <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferi</i> ve <i>S. coagulans</i>	Not ³	Not ³		Not ^C	Not ^C	
Oksasilin (tarama için) <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. schleiferi</i> ve <i>S. coagulans</i>	-	-	1	20	20	

Kaynak: "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. <http://www.eucast.org>."

Tablodan da anlaşılacağı üzere, klinik etken olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunan, koagülaz negatif stafilocok izolatlarında tür tanımı yapılabilmesi, rutinde doğru duyarlılık sonuçlarının verilebilmesi açısından önem taşımaktadır. EUCAST tür tanımı yapılamıyorsa sefoksitin zon çapı için S≥25, R<25 mm zon çaplarının kullanılması, 22-24 mmin Teknik Belirsizlik Alanında olması nedeniyle bu ölçüme denk gelen zonlarda ise *mecA/mecC* PZR yapılmasını veya dirençli olarak bildirilmesini önermektedir.

Bu konu, rutinde koagülaz negatif stafilokokların tür tanımını yapabileceğimiz rutinde kullanılacak ve maliyet etkin bir yöntemin hangisi olabileceği sorusunu akla getirmektedir.

Bu soruyu Amerikan Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı sorumlusu Sayın Uzman Dr Yeşim Beşli'ye ve Tokat Devlet Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı sorumlusu Sayın Uzman Dr Pervin Balcı'ya yönlendirdik.

"Sayın Beşli yeni EUCAST önerilerinde, stafilokok türlerinin metisilin direncinin tanımlanmasında türlere göre farklı değerlendirme kriterleri ve farklı tarama testleri yer aldığı görülüyor. Acaba rutin laboratuvarda koagülaz negatif stafilokok türlerini nasıl tanımlamalıyız?"



Dr. Yeşim Beşli

Amerikan Hastanesi

YB – Kurumumuzda yeni EUCAST kriterleri nedeniyle KNS tür ayırımı yapılmaktadır. Tanımlama yöntemlerini kısaca özetlersek;

KNS türleri, novobiosine duyarlılık özellikleri ve belirli biyokimyasallara etkilerine göre tür düzeyinde tanımlanabilir (Tablo 1). Çeşitli ticari sistemler, KNS türleri arasındaki farklılıkları belirleyerek tanımlayabilmek üzere birkaç biyokimyasal testi birleştirir.

Tablo 1. KNS'ların fenotipik testler kullanılarak tür düzeyinde tanımlanması^a

	Novobiosin (5 µg)	Üreaz	D-mannoz'dan asit üretimi	PYR	Ornitin Dekarboksilaz
<i>S. epidermidis</i> group ^b	S	+	+	–	d
<i>S. haemolyticus</i> group ^c	S	–	–	+	–
<i>S. saprophyticus</i> group ^d	R	+	–	–	–
<i>S. lugdunensis</i>	S	d	+	+	+
<i>S. warneri</i> group ^e	S	+	–	–	–
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	S	–	+	+	–
<i>S. simulans</i>	S	+	d	+	–
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	S	–	+	–	–
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	R	–	d	–	–
<i>S. cohnii</i> group ^f	R	+	+	d	–

^a: +, Pozitif sonuç; –, negatif sonuç; d, pozitif veya negatif sonuç; R, dirençli, S, duyarlı.

^b: Ornitin dekarboksilaz negatif olduğunda: (i) trehaloz negatif ve mannitol negatif ise *S. epidermidis* doğrulanmış olur; (ii) trehaloz pozitif ve mannitol negatif ise *S. caprae*'dan şüphelenilir; (iii) trehaloz negatif ve mannitol pozitif ise *S. capitis* subsp. *ureolyticus*'tan şüphelenilir.

^c: Asetoin üretimi pozitif ise *S. haemolyticus* doğrulanmış olur; asetoin üretimi negatif ve laktoz negatif ise *S. auricularis*'ten şüphelenilir; asetoin üretimi negatif ve laktoz pozitif ise *S. casseolyticus*'tan şüphelenilir.

^d: Trehalose pozitif ise *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus* doğrulanmış olur; trehaloz negatif ve *S. hominis* subsp. *novobioceticus*'dan şüphelenilir.

^e: β-Glukosidaz pozitif ve anaerobik ortamda üreme var ise *S. warneri* doğrulanmış olur; β-glukosidaz negatif ve anaerobik ortamda üreme yok ise *S. hominis* subsp. *hominis*'den şüphelenilir.

^f: Xyloze pozitif ise *S. xylosus*'tan şüphelenilir; xsiloz negatif ise *S. cohnii* subsp. *urealyticum*'dan şüphelenilir.

Diğer yöntemler

Staphylococcus izolatlarını tür düzeyinde tanımlamak için biyokimyasal testler hala yaygın olarak kullanılırken, matris yardımcı lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi (MALDI-TOF) kütle spektrometresi hızla geleneksel biyokimyasal algoritmaların yerini almaya başlamıştır.

Kaynaklar

1. De la Maza, L. M., Pezzlo, M. T., Bittencourt, C. E., & Peterson, E. M. (2023). Color atlas of medical bacteriology, 3rd Ed. John Wiley & Sons.
2. De Paulis, A. N., Predari, S. C., Chazarreta, C. D., & Santoianni, J. E. (2003). Five-test simple scheme for species-level identification of clinically significant coagulase-negative staphylococci. Journal of clinical microbiology, 41(3), 1219-1224.

İkinci konuğumuz ise Sayın Uzman Dr. Pervin Özlem Balcı



Dr. Pervin Özlem Balcı
Tokat Devlet Hastanesi

"Sayın Uzm Dr. Balcı, Sn. Beşli kullanılabilecek tanımlama testlerini ayrıntısı ile anlattı. Size de birkaç soru yönlendirmek isteriz":

"Öncelikle çalıştığınız laboratuvarın özelliklerini ve kapasitesini bize özetler misiniz?"

PÖB -Tokat Devlet Hastanesi, 2009 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından, Tokat Vali Recep Yazıcıoğlu Devlet Hastanesi ve Tokat Dr. Cevdet Aykan Devlet Hastanesi birleştirilerek Tokat Devlet Hastanesi adını almıştır(550 yatak kapasiteli). 2011 yılında kapatılan Tokat Vali Recep Yazıcıoğlu Kadın Hastalıkları ve Çocuk Hastanesi, Tokat Devlet Hastanesi çatısı altına alınmıştır. Ve 770 yataklı bir Devlet Hastanesi kapasitesine ulaşmıştır. İlimizin en büyük Devlet Hastanesidir. Birçok Yan Dal Uzmanın da bulunduğu, doluluk oranı oldukça yüksek her seviyede yoğun bakımları olan, büyük ameliyathanelerin gerçekleştiği Ameliyathanesi ve anjiyografi ünitesi de bulunan tam teşekküllü bir Devlet Hastanesidir.

Laboratuvarımız Merkez Laboratuvarı ruhsatlı olup, Mikrobiyoloji ve Biyokimya Laboratuvarları aynı fiziki alanı paylaşmaktadır. İlk atanma yerim olan Tokat Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kurucusu ve yöneticisiyim. Hasta kapasitesi her yıl artan Bakterioloji laboratuvarında 6 personel ile uzun yıllardan beri çalışmaktayız. Özellikle standardizasyon için bu personellerin sürekli eğitim ve güncel kurallara hakimiyeti açısından sabit olmasını tercih ediyorum. Günde 100 -120 kültür örneği çalışmaktayız. Aynı zamanda İlçe hastanelerinden (Erbaa, Niksar, Turhal, Zile, Almus) gelen kültür örneklerini de çalışmaktayız. Laboratuvarımız 2010 yılından buyana UAMDS Sistemine dahildir. Ayrıca, 2018 'de ECDC ve İsveç Halk Sağlığı Enstitüsü tarafından bir pilot çalışma olarak yürütülmekte olan EURGen-Net adında süveyans ağına katılmıştır. Bakteri tanımlanması için yarı otomatize sistem, duyarlılık saptanması için de yarı otomatize sistem, disk difüzyon, ve gradient testi kullanılmaktadır. Üye olunan dış kalite kontrol sistemleri: API ve NEQAS (UAMDS 'den gelen dış kalite değerlendirme) dir.

“Sayın Balcı kısıtlı imkanı olan laboratuvarlar metisilin direncinin saptanması açısından KNS tür ayırımı yapmalı mı? Nasıl yapmalı? Yapamıyorsa raporu nasıl vermeli ?”

PÖB -Tokat Devlet Hastanesinde otomatize sistem olduğundan KNS’lerde tür düzeyinde tanımlama yapılmaktadır. Ancak, otomatize sistemleri olmayan ilçe hastanelerimizde (Erbaa, Niksar, Turhal, Zile, Almus) günlük kültür sayıları 10-35 arasında değişmektedir. Bu laboratuvarlarımızda KNS’ler tür düzeyinde tanımlanamamaktadır.

Koagülaz Negatif Stafilokoklar tür düzeyinde tanımlanmamışsa, sefoksitin(30 uq) tarama testi zon çapı için $S > 25$, $R < 25$ mm sınır değerlerini kullanmayı unutmamalıyız. TBA (Teknik belirsiz alan) değerleri 22-24 mm ‘dir.TBA içinde sonuç veren izolatlar için tür düzeyinde tanımlama yapılmalı (ör. Tokat’ta TDH ‘ne gönderiliyor); *mecA/mecC* için PCR yapılmalı veya dirençli olarak bildirilmelidir.

Duyarlılık testlerinde güçlük olan antibiyotikler-Kolistin



Prof. Dr. Nisel Yılmaz

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli Gram-negatif etkenlerin artması, yeni tedavi arayışları yanında eskiden kullanılan antibiyotiklerin yeniden gözden geçirilmesine neden olmuştur. Bunlardan biri yıllar önce nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkileri nedeniyle kullanımı terk edilen polimiksin grubu antibiyotiklerdir. Şu anda sadece iki polimiksin, polimiksin E (kolistin) ve polimiksin B, ticari olarak mevcuttur. Bunlardan kolistin, 1990'ların ortalarında özellikle çoklu ilaca dirençli Gram-negatif patojenlere karşı son umut tedavi olarak yeniden ortaya çıkmıştır (1).

Kolistinin büyük molekül ağırlığına sahip olması, katyonik yapısı, ilaç kompozisyonlarındaki değişimler ve birçok türde gözlenen heterodirenç (duyarlı popülasyon ile birlikte bulunan dirençli alt popülasyonun olması) antibiyotik duyarlılık testlerinde teknik olarak sorun oluşturmaktadır. Rutin laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan disk difüzyon ve gradiyent testler güvenilir sonuç vermemekte, agar içine zayıf difüzyon nedeniyle yalancı duyarlı sonuçlara neden olabilmektedir.

2016 yılında "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" ve "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" ortak çalışma grubu kolistin duyarlılığının belirlenmesi için, sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemini "referans yöntem" olarak belirlemiştir (2). Daha sonra Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC)-Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu EUCAST'ın kolistin Gradyent testlerine (G-test) ilişkin uyarısını yayınlamıştır. Buna göre EUCAST Laboratuvarlarında kolistin G-testleri değerlendirilmiş; MİK değerlerinin sıklıkla çok düşük olduğunu ve yalancı duyarlılığa yol açabildiğini belirlenmiştir. Sorun giderilene kadar, kolistin G-testlerinin kullanılmaması önerilmiştir. Bunu takiben EUCAST 2017'de kolistin duyarlılık testlerine yönelik uyarılarını yenilemiştir. Buna göre:

1. Kolistin için duyarlılık testlerinde doğru sonuç veren tek testin **dilüsyon testi olduğu**,
2. Disk difüzyon testinin kolistin için uygun olmadığı; dirençli ve duyarlıları ayırt etmediği,
3. Mevcut gradiyent testlerinin kolistin MİK değerlerinde düşük sonuç verdiği ve **kalite kontrol suşları uygun aralıkta olsa bile** kullanılmaması gerektiği,
4. Yarı otomatize testlere ilişkin araştırmalarda ise sık olarak ÇOK BÜYÜK HATA saptandığı yayınlanmıştır.

Yarı-otomatize cihaz kullanıcıları çok sıkı kalite kontrol (KK) uygulamalı ve üreticilerinden cihazların kolistin duyarlılığına ilişkin doğru sonuç verdiğini onaylatmalıdır. Kolistin için KK; hem duyarlı bir KK suşu ile (*E. coli* ATCC 25922 veya *P. aeruginosa* ATCC 27853), hem de dirençli *E.coli* NCTC 13846 (mcr-1 pozitif) uygulanmalıdır. *E. coli* NCTC 13846 için kolistin MİK hedef değeri 4 mg/L 'dır ve sadece bazen 2 veya 8 mg/L olabilir (3).

Yapılan çalışmalarda, laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılık testleri için sıklıkla kullanılan VITEK-2 (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa), MicroScan (Siemens AG FWB, Almanya) ya da BD Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) gibi otomatize sistemlerin sonuçları "çok büyük hata" oranları nedeniyle güvenilir bulunmamaktadır (4, 5). Çok büyük hatalar genellikle MİK değeri 1-2 mg/L olan izolatlarda tespit edilmiştir. Bu nedenle otomatize sistemde duyarlı olarak saptanan kökenlerin referans yöntem olan SMD yöntemi ile doğrulanması gerektiği vurgulanmaktadır.

EUCAST sıvı mikrodilüsyon testi yapılırken;

- Kasyon ayarlı Mueller-Hinton (MH) sıvı besiyeri kullanılmasını,
- Test sürecinin herhangi bir bölümüne hiçbir katkı maddesi dahil edilmemesini (özellikle, polisorb-80 veya diğer yüzey aktif maddeler)
- Yüzeylerin düz polistirenden yapılmış ve herhangi bir şekilde işlenmemiş olmasını,
- Polimiksinlerin sülfat tuzlarının kullanılmasını,

önermiştir (metansülfonat kolistin türevi kullanılmamalıdır - bu inaktif bir ön ilaçtır ve çözeltide yavaşça parçalanır) (6).

SMD testleri, gerekli sarf malzemelerin temini ve personel eğitimi ile, rutin Mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılabilir. Test için gerekli olan kasyon ayarlı MH sıvı besiyeri laboratuvarlarda hazırlanabileceği gibi (7), ticari olarak da temin edilebilir. Testi yaparken 96 kuyucuklu polisitren plaklar kullanılır. Kolistin sülfat tozu temin edilerek antibiyotikğin iki kat dilüsyonu yapılır. Değerlendirirken mutlaka pozitif ve negatif kontrollerin çalışıldığı ilgili kuyucuklarda tam üreme gözlenmelidir. Çıplak gözle değerlendirilmelidir. Otomatize okuma sistemleri bulunmakla birlikte bu kamera sistemlerinin mutlaka kalibre edilmesi gerekir. Bakteriyi tamamen inhibe eden antibiyotik konsantrasyonu (MİK) belirlenir. mg/L veya µg/mL olarak ifade edilir. İnokulum miktarı, besiyeri, inkübasyon süresi, sıcaklık, atmosfer, kalite kontrol suşu kullanımı MİK değerine etki eden faktörlerdir.

SMD ile kolistin duyarlılık testi yapılırken görülebilecek teknik sorunlardan biri "**atlayan kuyucuk**" görülmesidir. Yanlış inokülasyon, kontaminasyon, heterojen direnç vb. dahil olmak üzere birkaç olası açıklaması vardır. Tek bir atlayan kuyucuk oluştuğunda, izolatları yanlış duyarlı olarak bildirmekten kaçınmak için izolat yeniden test edilmeli veya en yüksek MİK değeri okunmalıdır. Birden fazla atlanmış kuyucuk olması durumunda sonuçlar bildirilmemelidir.

Referans yöntem olarak SMD önerilmesine rağmen uygulama zorluğu, zaman alıcı olması ve taze hazırlanmış antibiyotik süspansiyonu kullanımını gerektirmesi gibi nedenler yöntemin rutinde kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle son zamanlarda SMD temelli, pratik uygulaması kolay birçok ticari ürün kullanıma girmiştir. EUCAST Laboratuvarları ISO 20776-1 standartlarına göre ticari kitlerden olan Sensititre, Micronaut-s, Micronaut MIC-Strip, SensiTest ve UMIC gibi yüksek performanslı testlerin de kullanılabileceğini açıklamışlardır (8). Bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri yüksek bulunmuş, büyük ve çok büyük hata oranları kabul edilebilir sınırlarda saptanmıştır.

Kolistin duyarlılığının belirlenmesinde referans yöntem olarak SMD önerilmek ile beraber rutin laboratuvarlarda kolay uygulanabilir ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi çalışmaları da devam etmektedir.

Bunlardan biri, hızlı testlerdir. Polimiksin NP testi, Enterobacterales üyesi Gram-negatif bakterilerde kolistin direncinin tespiti için tanımlanan bir testtir. Bu yöntem kolistin varlığında bakteri canlılığını glikoz metabolizması üzerinden belirleme prensibine dayalı olması nedeniyle nonfermentatif Gram-negatif bakterilere uygulanmamaktadır (9). Duyarlılık ve özgüllüklerini yüksek bulan çalışmalar olmasına rağmen EUCAST-CLSI ortak çalışma grubu tarafından bu teste onay verilmemiştir.

Benzer şekilde non-fermantatif bakteriler için de kolistin direncinin hızlı tespitini sağlayan testler de geliştirilmiştir (RapidResa Polymyxin Acinetobacter/ Pseudomonas NP test vb).

Kolistin duyarlılığını belirlemede geliştirilen diğer test ise Agar Dilüsyon Testidir. Çeşitli konsantrasyonlarda polimiksin içeren MH agar plakları ile yapılır. CLSI'nın yaptığı çok merkezli çalışmada, 1 µL ve 10 µL bakteri süspansiyonları çalışılmış ve Enterobacterales ile *P. aeruginosa* kökenleri için 10 µL bakteri süspansiyonu ile yapılan kolistin agar dilüsyon testine onay verilmiştir (10).

Sıvı makrodilüsyon yöntemi, SMD ile benzerdir. Ancak bu yöntem ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır (1).

SMD testine alternatif diğer test de kolistin disk elüsyon testidir. Kolistin diskerinin MHB içeren tüplere eklenmesi ile rutin laboratuvarlarda kolaylıkla yapılabilecek bir testtir.

CLSI, 2021 yılında CLSI-M100-S31'de Enterobacterales ve *Pseudomonas* spp. suşlarında kolistin için SMD yöntemi haricinde kolistin agar dilüsyon ve disk elüsyon testlerini önermiştir. *Acinetobacter* spp. için ise sadece kabul edilen duyarlılık yöntemi sıvı mikrodilüsyon olarak belirtilmiştir (11). Henüz EUCAST tarafından onaylanmamış olmakla birlikte CLSI'nın önerdiği kolistin disk elüsyon yöntemi TMC web sayfasında ayrıntılı olarak anlatılmıştır. <https://www.tmc-online.org/Uploads/pdf/Kolistin%20S%C4%B1v%C4%B1%20Disk%20El%C3%BCsyon%20Y%C3%B6ntemi.pdf>

Kaynaklar

1. Ezadi F, Ardebili A, Mirnejad R. Antimicrobial susceptibility testing for polymyxins: challenges, issues, and recommendations. J Clin Microbiol. 2019; 57:e01390-18.
2. CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. 2016. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) as recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf
3. <https://www.tmc-online.org/index.php?func=Content&ID=8>.
4. Pfennigwerth N, Kaminski A, Korte-Berwanger M, et al. Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in Enterobacterales. Clin Microbiol and Infect. 2019;25(11):1385-9.
5. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among Carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4625-30
6. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf
7. https://www.tmc-online.org/userfiles/file/EUCAST_Antimikrobik_Duyarlilik_Testi_icin_Besiyeri_Hazirlanmasi_surum_4_0_Haziran_2014.pdf
8. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp, Clin Microbiol Infect, 2018;24(8):865-870
9. Jayol A, Dubois V, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures. J Clin Microbiol 2016; 54:2273-2277.
10. Humphries RM, Green DA, Schuetz AN, Bergman Y, Lewis S, Yee R, Stump S, Lopez M, Macesic N, Uhlemann A-C, Kohner P, Cole N, Simner PJ. Multicenter evaluation of colistin broth disk elution and colistin agar test: a report from the Clinical and Laboratory Standards Institute. J Clin Microbiol 2019;57:e01269-19.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-104-8 [Print]; ISBN 978-1-68440-105-5 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2021.

Prof. Dr. Zeynep Gülay antibiyotik direncine ilişkin son yılların en önemli yayınlarını sizin için derledi



Prof. Dr. Zeynep Gülay

Dokuz Eylül Üniversitesi

IDSA, Çoklu Dirençli Bakteriler için Yeni Tedavi rehberini yayınladı

Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections. Clin Infect Dis. 2023;ciad428. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad428>

IDSA'nın GSBL üreten Enterobacterales, Amp C üreten Enterobacterales, karbapenem-dirençli Enterobacterales, tedavisi güç *Pseudomonas aeruginosa*, karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Stenotrophomonas maltophilia* tedavisine odaklanan rehberi Temmuz 2023'de IDSA sitesinde yayınlandı.

Rehber söz konusu patojenler için hem mikrobiyolojik bilgi, hem de tedavi önerilerini içermektedir.

Dokümana <https://www.idsociety.org/practice-guideline/amr-guidance/> linkinden ulaşılabilir.

2019-2021 yılları arasında Avrupa, Asya ve Latin Amerika hastanelerinden toplanan karbapenem dirençli Enterobacterales (CRE)'de aztreonam/ avibaktamın etkinliği

Sader HS, Castanheira M, Kimbrough JH, Kantro V, Mendes RE. Aztreonam/avibactam activity against a large collection of carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) collected in hospitals from Europe, Asia and Latin America (2019-21). JAC Antimicrob Resist. 2023;5(2):dlad032. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad032>

Aztreonam /avibaktam (AZT/AVI), Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisi için geliştirilmekte olan bir antibiyotiktir. Özellikle ülkemizde yaygın olan NDM karbapenemazı üreten Enterobacterales üyeleri ile gelişen enfeksiyonların tedavisi için ümitle beklenmektedir. Araştırmacılar, dünyanın değişik bölgelerinden karbapeneme dirençli izolatlar toplayarak bu antibiyotiğin in vitro etkinliğini araştırmışlar. İzolat koleksiyonu seftazidim avibaktam dirençli olanları da kapsıyor. Çalışmada ülkemizden de iki hastanenin yer aldığı bildirilmiş.

Çalışma, 36 ülkede bulunan 69 tıp merkezinden 2019-2021 tarihleri arasında ardışık olarak toplanmış 24 924 izolat üzerinde yapılmıştır. Her hastadan sadece 1 izolat alınmıştır. Duyarlılık, CLSI önerilerine göre sıvı mikrodilüsyonla değerlendirilmiştir. Ayrıca genom dizi analizi ile karbapenemaz genleri de taranmıştır. Duyarlılık sonuçları karbapenemaz tipi, coğrafik bölge ve direnç fenotipine göre tabakalandırılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçta, AZT/AVI tüm bölge hastanelerinde paralel olarak izolatların %98.9-%100'ne karşı etkili (MİK < 8 mg/L)bulunmuşken, diğer inhibitör kombinasyonlarının etkinliğinin, coğrafi bölgeye göre belirgin ölçüde değişebildiği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kolistin ve tigesiklin dirençli izolatlarda da AZT/AVI etkinliğinin sürdüğü (%99.7 MİK < 8 mg/L) belirlenmiştir. Karbapenemaz tipine göre tabakalandırma yapıldığında da AZT/AVI karbapenemaz üretenlerin %99.9'unu inhibe etmiş, ancak diğer beta-laktamaz inhibitörlerinin (caz-avi ve meropenem vaborbaktam) in vitro etkinliğinin özellikle metallo betalaktamazlar ve OXA-48 üretenlerde düşük olduğu görülmüştür.

Sefiderokol için tehlike çanları (mı?)

Çoğul dirençli bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde ümitle beklediğimiz sefiderokol henüz ülkemize gelmemişken bu antibiyotiğe dirençli Enterobacterales ve yayılımı bildirilmeye başlandı.

Sefiderokol, seftazidim/avibaktam, meropenem /vaborbaktam ve imipenem/relebaktam dirençli, KPC ile OXA-181 karbapenemazlarını üreten *Klebsiella pneumoniae*'nın klonal yayılımı

Bovo F, Amadesi S, Palombo M, Lazzarotto T, Ambretti S, Gaibani P. Clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefiderocol, ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam and imipenem/relebactam co-producing KPC and OXA-181 carbapenemase. JAC Antimicrob Resist. 2023;5(4):dlad099. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad099>

Yazarlar COVID 19 pandemisinden önce ve sonra karbapenemaz üreten Enterobacterales epidemiyolojisini incelemişler ve bu arada yeni beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerine ve sefiderokole dirençli bir *K.pneumoniae* suşunun çıktığını, hatta ufak bir salgına yol açtığını saptamışlar. Çalışma kapsamında 2019-2021 yılları arasında karbapenemaz üreten izolatlar (n= 1430) toplanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları, gradient şerit ve sefiderokol için Fe-içermeyen besiyerinde sıvı mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Rezistozom analizi için seçilmiş izolatlarda tüm genom dizi analizi(TGS) yapılmıştır. İzolatların en sık KPC ürettiği, bunu VIM, OXA-48 ve NDM'nin izlediği saptanmıştır. 2021 yılı izolatlarında KPC ve OXA-48 üreten, klonal olarak ilişkili ve meropenem/vaborbaktam, imipenem/relebaktama dirençli 78 *Klebsiella* saptanmış bunların sekizinin sefiderokole dirençli olduğu görülmüştür. Yine bu izolatlar arasında özellikle KPC-3 üretenler caz/avi dirençlidir. TGS analizi sonucunda da mutasyona uğramış KPC üreten izolatların, değişmemiş KPC-3 üreticilerine kıyasla sefiderokole daha yüksek oranda dirençli olduğu belirlenmiştir.

Yazarlar karbapenemaz üreticilerinin hem yayılım hem de yeni antibiyotiklere direnç açısından sürekli izlenmesini önermektedir.

Aktarılabılır plazmidlerle taşınan A, B ve D karbapenemazlarını üreten ve yeni β -laktamaz inhibitör kombinasyonları ile sefiderokole dirençli *Citrobacter freundii*

Riccobono E, Salvetti S, Coppi M, Montenora I, Di Pilato V, Rossolini GM. *Citrobacter freundii* resistant to novel β -lactamase inhibitor combinations and cefiderocol, co-producing class A, B and D carbapenemases encoded by transferable plasmids. J Antimicrob Chemother. 2023;78(7):1677-1682. <https://doi.org/10.1093/jac/dkad150>

Makalede detaylı analizi yapılan *Citrobacter freundii* (Cf- Emp) kökeni, Fas'lı bir hastanın hastaneye yatışta alınan rektal sürüntü örneğinde, karbapenem-dirençli Enterobacterales taraması için kullandıkları seçici besiyerinde üretilmiş. KPC-2, OXA 181 ve VIM-1 üreten köken, yeni beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları ve karbapenemler dahil tüm beta-laktamlara ve sefiderokole dirençli bulunmuş. Tüm dünyada yayılım gösteren ST 22 sekans tipinin bir üyesi olan suşun her bir karbapenemazı farklı bir aktarılabılır plazmidde taşıdığı gösterilmiş. Aynı plazmidler üzerinde ayrıca arm A (16 S rRNA metilaz geni-tüm aminoglikozitlere direnç), bla SHV-12 (GSBL) ve qnrS1 (florokinolon direnci), gibi klinik tedavi açısından önemli direnç elemanları da saptanmış.

Yazarlar, yaygın bir klonun elemanı olup, çoklu direnç genlerini aktarılabılır plazmidler üzerinde taşıyan suşların direnç rezervuarı olarak önemine dikkat çekmişler.

Aztreonam/ avibaktam (AZT/AVI) yoksa aztreonam ve CAZ-AVI diskleri ile yapılan disk elüsyon testi duyarlılık değerlendirmesi için kullanılabilir mi?

Harris H, Tao L, Jacobs EB, Bergman Y, Adebayo A, Tekle T, Lewis S, Dahlquist A, Abbey TC, Wenzler E, Humphries R, Simner PJ. Multicenter Evaluation of an MIC-Based Aztreonam and Ceftazidime-Avibactam Broth Disk Elution Test. J Clin Microbiol. 2023;61(5):e0164722. <https://doi.org/10.1128/jcm.01647-22>

Araştırmacılar, çoklu dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında tedavi seçenekleri çok kısıtlı olduğu için, tedaviyi yönlendirmesi açısından aztreonam ve seftazidim /avibaktam kombinasyonunun in vitro etkinliğini değerlendirme gereksiniminden yola çıkarak, pratik bir disk elüsyon yöntemi geliştirmişler. Yöntem, üç farklı merkezde referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyonla beraber çalışılmış. Sınır değer 6/6/4 ATM/AVI olacak şekilde değerlendirme yapılmış. Test öncelikle 61 Enterobacterales üzerinde denenmiş ve merkezler arasında %98.3 kesinlik ile neticelenmiş. Kategorik uyum %98.3 iken büyük hata %1.8 olarak bulunmuş. İkinci fazda ise özel direnç mekanizmaları olan izolatlar (MBL üreten Enterobacterales (n=75), karbapenem dirençli Pseudomonas (n= 25), *S. maltophilia* (n= 46), *Myroides* spp (n=1)) değerlendirmeye alınmış. Bu izolatlarla da %97.9 kategorik uyum elde edilmiş. Büyük hata oranı %2.4 bulunmuş. Araştırmacılar farklı üreticilerin disk ve besiyerleri ile farklı sonuçlar alınabildiğini gözlemişler. ATM/AVI dirençli suşların da bulunduğu bir kalite kontrol suş seti ile yöntem doğruluğunun netleştirilmesi gerektiği belirtilen disk elüsyon testi, eldeki olanaklarla yapılabilecek pratik bir yöntem olarak bildirilmiş.

EUCAST RAST sınır değerlerinin ve tarama eşik değerlerinin Enterobacterales üyelerinde beta-laktam direnç mekanizmalarını çıkarsamak açısından kullanılması mümkün mü?

Cerrudo V, Cortés-Cuevas JL, García-Fernández S, Morosini MI, Cantón R, Sánchez-Díaz AM. Usefulness of EUCAST rapid antibiotic susceptibility breakpoints and screening cut-off values directly from blood cultures for the inference of β -lactam resistance mechanisms in Enterobacterales. JAC Antimicrob Resist. 2023;5(1):dlad017. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad017>

Bakteriyemik hastada uygun tedaviyi düzenlemek için antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının hızla raporlanması hayati önem taşımaktadır. Kan kültür üremelerinde doğrudan antibiyotik duyarlılık testi için disk difüzyon (DD) kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, DD beta-laktam direnç mekanizmalarının anlaşılması için de yararlı olabilir. Bu çalışmada, EUCAST rapid AST (RAST) disk difüzyon sınır değerlerini, beta-laktam direnç mekanizmalarının taranması ve GSBL veya karbapenemaz pozitifliği gibi direnç fenotiplerinin yorumlanması açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla, iyi bilinen beta-laktam direnç mekanizmasına sahip suşlar (n=93), duyarlı sokak suşları (WT fenotipi n=26) ve ATCC suşları (n=8) ile simüle kan kültürleri hazırlanmış ve üreme sinyali sonrası kan kültüründen doğrudan disk difüzyon uygulanmıştır. İnhibisyon zonları 4, 6 ve 8. Saatlerde manuel olarak ölçülmüştür ve EUCAST RAST sınır değer tabloları ve tarama eşik değerleri yanı sıra GSBL üretimi için çift disk sinerji ve karbapenemazlar için aztreonam kullanılarak incelenmiştir.

Tarama (sRAST) eşik değerleri ve beraberinde ÇDS uygulanması ile 4 saatlik inkübasyon kadar erken bir süre içinde tüm GSBL pozitif kökenler saptanmıştır. Burada özellikle sefotaksim ayırt edici özelliği en yüksek olan antibiyotik olduğu belirtilmektedir. Karbapenemaz üretimi açısından ise, 8 saat sonunda *K. pneumoniae* suşlarının % 73ü ve *E.coli* izolatlarının %100ü sRAST ile potansiyel pozitif olarak saptanmıştır. Fenotipik analiz, hidroliz özelliği düşük olan OXA-48 ve KPC-3 mutantları gibi karbapenemazların saptanma oranını arttırmaktadır. Sonuç olarak; pozitif kan kültürlerinden, sRAST ile birlikte antibiyotik direnç fenotiplerinin yorumlu okunması, B-laktam direnç mekanizmalarının kısa sürede saptanmasını sağlamaktadır. Ancak OXA-48 gibi karbapenemaz tiplerinin anlaşılması daha zor olmaktadır. Yazarlar, tarama pozitif izolatların başka bir yöntem kullanılarak doğrulanması gerektiğini belirtmektedir.

Bir olgumuz var: *Ralstonia insidiosa*

Dr. Öğr. Üyesi Ülkü Tüzemen

Uludağ Üniversitesi

Santral bronş kanseri nedeniyle lobektomi yapılan 54 yaşında erkek hasta yoğun bakımda takip edilirken ateşi olması nedeniyle kan kültürü alındı. Pozitif sinyal veren kan kültüründen hazırlanan preparatın Gram boyamasında gram negatif basiller görüldü ve %5 koyun kanlı ile Eosin Metilen Blue (EMB) agara pasajlandı (Şekil 1). MALDİTOF-MS (BD, Bruker) ile *Ralstonia insidiosa* olarak tanımlandı.

Bir gram-negatif bakteri cinsi olan *Ralstonia*, Burkholderiaceae ailesine ve β -proteobacteria sınıfına aittir. Aerobik nonfermentatif basil olan *Ralstonia* türleri her yerde bulunabilen çevresel bakterilerdir. Şimdiye kadar 6 türü tanımlanmıştır. Bu bakteriler zaman zaman bakteriyemi dahil olmak üzere ciddi invaziv enfeksiyonların etkeni de olabilir. *Ralstonia pickettii* ve *Ralstonia insidiosa*, her türlü su kaynağında üreyebilen, nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilen bakterilerdir. *Ralstonia* türleri sterilizasyon sırasında 0,2 μ m'lik filtrelerden geçebildiğinden, tıbbi ürünlerin üretimi sırasında kontaminasyona neden olabilir. Damar içi ilaçlar, kan kültürü şişeleri, distile su ve çözeltiler (serum fizyolojik ve diğerleri) gibi yatan hasta bakımında yaygın olarak kullanılan malzemelerin kontaminasyonuna sıklıkla yol açabilirler. *Ralstonia* türleriyle kontamine olmuş çözeltiler hastanelerde salgınlara yol açabilmektedir. Ayrıca yapılan bir çalışmada otomatize sistemlerde (BD Phoenix ve VITEK 2) yanlış tanımlanan izolatların yarısından fazlasının *Ralstonia pickettii*, *Ralstonia paucula* (CDC IV C-2 grubu), *Alcaligenes faecalis*, *Achromobacter* spp. olduğu bildirilmiştir. Bu da MALDİTOF kullanılmayan merkezlerde tanımlamada sorun yaratmaktadır.

EUCAST v13.0 de *Ralstonia* cinsi için bir sınır değer bulunmamaktadır. Literatürde nonfermentatif Gram negatif basil olarak CLSI'ya ve *Pseudomonas* spp. için kullanılan sınır değerler ile EUCAST 'a göre antibiyogram sonucu verilmiştir. Bu sebeple *Pseudomonas* spp. için kullanılan antibiyotiklerden seçilip gradient yöntemi ile antibiyogramı yapıldı ve EUCAST v13.0 de bulunan PK-PD (türle ilişkisiz) sınır değerler tablosuna göre değerlendirildi (Tablo 1). Sonuç verirken, "sınır değerleri bulunmaması nedeniyle PK-PD (türle ilişkisiz) sınır değerler tablosuna göre değerlendirildi" ifadesi yer aldı. Genel olarak sınır değerler bulunmadığında kategori bildiriminden (S, I, R) kaçınılmalıdır. MİK değeri saptanamamış ise 'Mikroorganizma için bir MİK değeri saptanamamıştır. Bu nedenle, duyarlılığın değerlendirilmesi olanaklı değildir'. Şeklinde raporlanmalıdır. MİK değeri saptanabilmiş ise PK-PD sınır değerler tablosuna göre dirençli ise inceleme sonucu antibiyotiğin kullanılmasının uygun olmayacağı yönünde; duyarlı ise inceleme antibiyotiğin dikkatle kullanılabileceği yönünde bildirilmelidir. Antibiyotik duyarlılık raporu sonucunda siprofloksasin tedavisi verilen hastanın ateşi düşmüştür.



Şekil 1. *Ralstonia insidiosa* pozitif sinyal veren kan kültür şişesinden gram boyama ve plak görüntüleri (sırayla kanlı ve EMB agar)

Tablo 1. *Ralstonia insidiosa* antibiyotik duyarlılığı

Antibiyotik	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu	Değerlendirme
Amikasin	>32	*
Levofloksasin	0.5	**
Piperasilin-Tazobaktam	>32/4	*
Seftazidim	>16	*
Siprofloksasin	0.125	**
Tobramisin	>8	*

*Duyarlılık kategorisi resmi olarak değerlendirilememekle birlikte, MİK değerleri, ilacın tedavide uygulanmaması gerektiğini düşündürmektedir.

**Duyarlılık kategorisi resmi olarak değerlendirilememektedir. Bununla birlikte sonuçlar antibiyotiğin tedavi için kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Prof. Dr. İftihar Köksal'a sorduk



Prof. Dr. İftihar Köksal

Acıbadem Üniversitesi

Klinisyen olarak çoklu ilaç direnci olan bakterilerin izole edildiği enfeksiyonlarda rutin laboratuvarдан beklentileriniz nedir?

Başta yoğun bakım hastaları olmak üzere ciddi enfeksiyonlarda tedavide gecikme mortaliteye neden olabilmektedir. Kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin erken raporlanması doğru tedavi kararı için büyük önem taşımaktadır. Çoklu dirençli bakterilerde son seçenek antibiyotikler için duyarlılık sonuçlarının MİK düzeyi belirtilerek bir an önce raporlanması bizim için çok önemli ve zaman kazandırıcıdır.

Bu hastalarda MİK çalışılması açısından hangi antibiyotikler öncelikli olmalı?

Seftazidim-avibaktam ve seftolozan-tazobaktam önceliklendirilmelidir. Bu hastalarda tedavinin erken başlanması hastalığın seyri; morbidite ve mortalite açısından önemlidir.

EUCAST klinik sınır değer tabloları'nda 2024 yılında gerçekleşmesi beklenen değişiklikler



Onur Karatuna

EUCAST Development Laboratory, Växjö, İsveç

EUCAST, başta **EUCAST Klinik Sınır Değer Tabloları** olmak üzere, her sene bazı dökümanlarını güncellemekte ve bu güncellemeler bazen laboratuvar uygulamaları ve/veya klinik sonuçları açısından önemli sonuçlar doğurabilmektedir. EUCAST, beklenmeyen veya ön görülemeyen sonuçları engellemek için önemli olabileceğini düşündüğü değişiklikleri kullanıcıları ile paylaşmakta ve gerekli olduğu takdirde kullanıcıların EUCAST'la irtibata geçmelerini istemektedir. Her sene Aralık ayının son günlerinde yayınlanan ve takip eden senenin ilk gününden itibaren geçerli olan yeni sürümler ile birlikte hayatımıza girecek önemli değişiklikler, bir bilgilendirme/konsültasyon süreci ile kullanıcılarla paylaşılmaktadır.

1 Ocak 2024 tarihinden itibaren geçerli olacak EUCAST Klinik Sınır Değer Tabloları sürüm 14.0 için EUCAST bir bilgilendirme notu yayınlarak, aşağıdaki önemli değişiklikler için kullanıcılarına bilgi vermiştir:

***Staphylococcus aureus* için halihazırda $S \leq 0.001$ mg/L ve $R > 1$ mg/L olan siprofloksasin MİK sınır değerlerinin, yeni sürümde $S \leq 0.001$ mg/L ve $R > 2$ mg/L olarak değiştirilmesi ve direnç sınır değerinin bir konsantrasyon basamağı yükseltilmesi planlanmaktadır.**

S. aureus için mevcut siprofloksasin sınır değerleri ($S \leq 0.001$ mg/L, $R > 1$ mg/L) ile sokak tipi suşların "duyarlı, yüksek doz (I)" olarak kategorize edilmesi amaçlanmıştır. 2022 ve 2023 yıllarında gözden geçirilen sokak tipi suşların MİK dağılımları ve ECOFF değerleri sonrasında, *S. aureus*'un siprofloksasin için ECOFF değeri 1 mg/L'den 2 mg/L'ye değiştirilmiştir. Klinik direnç sınır değeri ECOFF değerine eşit olarak belirlendiği için, değişen ECOFF değerine bağlı olarak direnç sınır değerinin de değişmesi gerekmektedir. Ancak, hem 1 mg/L hem de 2 mg/L ilacın en yüksek dozu ile bile ulaşılacak değerlerin üzerindedir. Bu sebeple, klinik sınır değerleri, antibiyotiğin genel kullanım amacına uygun olarak (ortopedik enfeksiyonların diğer antibiyotiklerle kombine tedavisi) parantez içerisine alınmaktadır. Diğer stafilokok türlerinin ECOFF değerleri ve klinik sınır değerleri bu değişimden etkilenmemektedir.

***Clostridioides difficile* için fidaksomisin klinik sınır değerlerinin ($S \leq 0.5$ mg/L, $R > 0.5$ mg/L) sürüm 14.0'a eklenmesi amaçlanmaktadır.**

EUCAST veri tabanında *C. difficile* için mevcut fidaksomisin MİK dağılım verisinin sağlamlığının artması neticesinde, ECOFF değeri olarak belirlenen 0.5 mg/L'nin klinik sınır değeri olarak da kullanılabileceği belirlenmiştir. Sokak tipi *C. difficile* suşlarının fidaksomisin tedavisine iyi yanıt verdiklerine ilişkin bilimsel veri bulunmakla birlikte (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X18301570>), klinik sınır değerlerinin daha yüksek bir değer olarak belirlenmesine dayanak sağlayacak veri bulunmamaktadır.

***C. diphtheriae* ve *C. ulcerans* dışındaki "diğer *Corynebacterium* spp." için benzilpenisilin klinik sınır değerleri değiştirilerek, tüm *Corynebacterium* türleri için halihazırda *C. diphtheriae* ve *C. ulcerans* için geçerli olan, $S \leq 0.001$ mg/L ve $R > 1$ mg/L sınır değerleri kullanılacaktır**

Bu değişiklik sonrasında tüm sokak tipi *Corynebacterium* spp. suşları benzilpenisilin için "duyarlı, yüksek doz (I)" olarak sınıflandırılacaktır. Bu değişiklik ile uyumlu olarak inhibisyon zon çapı klinik sınır değerleri de değiştirilecektir.

FK/FD sekmesinin klinik sınır değer tablolarından çıkarılması

Farmakokinetik ve farmakodinamik (FK/FD) klinik sınır değerlerinin belirlenmesinde, gözden geçirilmesinde, antibiyotiğin günlük dozu, uygulama şekli ve dozlama sıklığı ile ilişkili olarak enfeksiyon bölgesinde hedefe ulaşma ve antibiyotiğe maruz kalma özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli araçlardır. Hesaplanan "FK/FD sınır değerleri" genellikle tek bir türe ait verilere ve bu tür için gerçekleştirilen simülasyonlara dayanmaktadır. EUCAST, bu verilerin kullanımına ait kısıtlılıkların önemini fark etmiş bulunmaktadır. Yaygın bir yanlış anlama, FK/FD sınır değerlerinin türe özgü sınır değerlerine göre kapsayıcı olduğu ve türe özgü sınır değerlerinin bulunmadığı durumlarda FK/FD sınır değerlerinin kullanılabileceğidir. EUCAST'ın FK/FD sınır değerleri ile amaçladığı bu değildir. Bu durumlarda yararlanılmak üzere EUCAST, "Sınır değer tablolarında sınır değer bulunmadığında ne yapılmalı?" (When there are no breakpoints in breakpoint tables?) başlıklı bir kılavuz yayınlamış ve bu kılavuz Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC) Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu tarafından Türkçe'ye çevrilmiştir ([https://www.tmc-online.org/pdf/S%C4%B1n%C4%B1r%20De%C4%9Ferler%20Olma%C4%B1%C4%9F%C4%B1nda%20%C4%B0zlenecek%20Yol%20\(Haziran%202023%20TR\).pdf](https://www.tmc-online.org/pdf/S%C4%B1n%C4%B1r%20De%C4%9Ferler%20Olma%C4%B1%C4%9F%C4%B1nda%20%C4%B0zlenecek%20Yol%20(Haziran%202023%20TR).pdf))

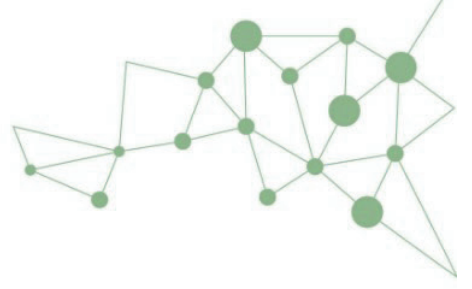
Sürüm 14.0 ile FK/FD sınır değerleri sekmesi tablodan çıkarılacaktır. Bu değişikliğin amacı, FK/FD sınır değerlerinin hiçbir zaman klinik sınır değerlerinin yerine kullanılmaması gerektiğine vurguda bulunmak ve bu değerlerin sınır değerlerinin belirlenmesi sürecinde yararlanılan birçok araçtan sadece biri olarak düşünülmesi gerektiğinin altını çizmektir. 2024 yılı içerisinde FK/FD sınır değerlerinden nasıl yararlanılabileceği ve bu değerlerin kısıtlılıklarına ilişkin bir yönlendirici döküman yayınlanacaktır.

Acinetobacter spp. için imipenem-relebaktam sınır değerlerinin çıkarılması ve yerine bir yorum eklenmesi

İyi klinik sonuçlara işaret eden klinik verinin mevcut olması sebebiyle, *Acinetobacter* spp. ve imipenem-relebaktam için EUCAST tarafından klinik sınır değerler belirlenmiştir. Ancak geçen zaman içerisinde, ne relebaktamın (imipenem ile birlikte) ne de vaborbaktamın (meropenem ile birlikte), *Acinetobacter* spp.'de karbapenem direncine neden olan yaygın beta-laktamaz enzimlerini inhibe etmek için yeterli inhibitör aktiviteye sahip olmadıkları belirlenmiştir. Dolayısıyla, beta-laktamaz inhibitörlerinin eklenmesi, karbapenemin tek başına kullanılmasına kıyasla herhangi bir katkı sağlamamaktadır. Bu nedenle EUCAST, her iki karbapenem (imipenem ve meropenem) ve bunların inhibitörler ile kombinasyonları (imipenem-relebaktam ve meropenem-vaborbaktam) için klinik sınır değerlerinin aynı şekilde ele alınması gerektiğini önermektedir. Bununla uyumlu olarak, imipenem-relebaktam klinik sınır değerleri tablodan çıkarılacak ve sınır değerleri yerine halihazırda meropenem-vaborbaktam için kullanılmakta olan "*Acinetobacter* tarafından üretilen beta-laktamazların ya ana karbapenem üzerine etkisi yoktur ya da inhibitör tarafından yeterince inhibe edilmezler. Bu nedenle beta-laktamaz inhibitörünün eklenmesi klinik fayda sağlamamaktadır." notunu, imipenem-relebaktam için de kullanmayı amaçlamaktadır.

Streptococcus agalactiae idrar izolatları için trimetoprim klinik sınır değerleri korunmalı mı, çıkarılmalı mı?

Streptococcus agalactiae idrar izolatları için trimetoprimin etkinliği tartışmalıdır (*Enterococcus* spp. için trimetoprimin etkinliği ile kıyaslanabilir) ve EUCAST klinik sınır değerlerinin korunması mı yoksa çıkarılması mı gerektiği hakkında bir karar vermek durumundadır. *S. agalactiae* "komplike olmayan" idrar yolu enfeksiyonları için olağan bir etken olarak kabul edilmez. Ayrıca, trimetoprim diski ile gerçekleştirilen disk difüzyon testinin tekrarlanabilirliği zayıftır ve sokak tipi ve sokak tipi olmayan suşlar arasında güvenilir bir ayırım sağlayamamaktadır. Bu, güvenilir ve önerilen yöntem olarak geriye sadece MİK belirlenmesini bırakmaktadır. EUCAST'ın seçenekleri (i) tabloda sadece MİK sınır değerlerini bırakıp, MİK belirlenmesini teşvik etmek veya (ii) tüm sınır değerleri (MİK ve zon çapı) kaldırmaktır. Sokak tipi ve sokak tipi olmayan suşlar arasında daha iyi bir ayırım sağlayacak farklı bir disk içeriği için araştırma yapılması bir seçenek olarak değerlendirilmemektedir.



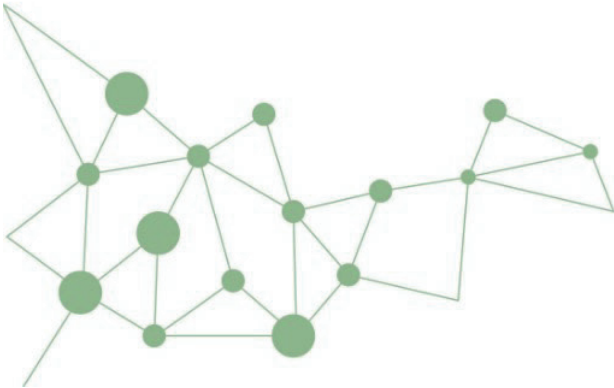
15. ANTİMİKROBİK KEMOTERAPİ GÜNLERİ

Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

9-11 Mayıs 2024



'Nurver Ülger'e Teşekkürlerimizle'



K2 Kongre ve Etkinlik Hizmetleri

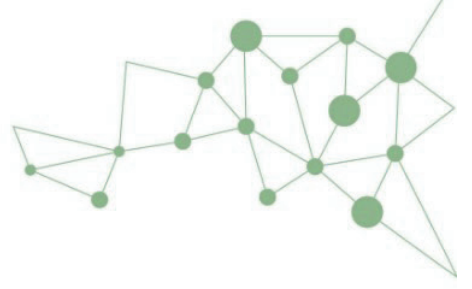
Koşuyolu Mh. Mahmut Yesari Cd.

No: 25 / 34718 Kadıköy-İSTANBUL

Tel: +90 216 428 95 51

Faks: +90 216 428 95 91

E-posta: akg@k2-events.com



15. ANTİMİKROBİK KEMOTERAPİ GÜNLERİ

Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

9-11 Mayıs 2024

Sempozyum Başkanı

Prof. Dr. Ufuk Hasdemir

Sempozyum Sekreteri

Doç. Dr. Serap Süzük Yıldız

ADTS Başkanı

Prof. Dr. Deniz Gür

Düzenleme Kurulu

Deniz Gür

Z. Çiğdem Kayacan

Zeynep Gülay

Güner Söyletir

Şöhret Aydemir

Z. Ceren Karahan

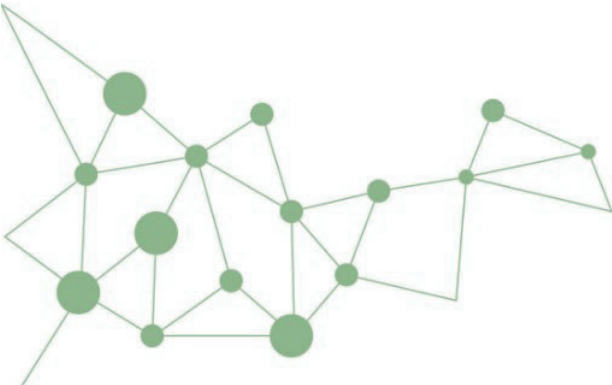
Onur Karatuna

İftihar Köksal

Sesin Kocagöz

Arzu İlki

Nurver Ülger



K2 Kongre ve Etkinlik Hizmetleri

Koşuyolu Mh. Mahmut Yesari Cd.

No: 25 / 34718 Kadıköy-İSTANBUL

Tel: +90 216 428 95 51

Faks: +90 216 428 95 91

E-posta: akg@k2-events.com