

Sıvı mikrodilüsyon için EUCAST değerlendirme kılavuzu

Sürüm 4.0
Ocak 2022

Önceki sürümden sonra yapılan değişiklikler (3.0)

Slayt	Değişiklik
15	Gram negatif bakteriler ve bakteriyostatik antibiyotikler için değerlendirme kılavuzunun tüm bakteriyostatik antibiyotikler için geçerli olduğuna ilişkin açıklama.

Sıvı Mikrodilüsyon

- Sıvı mikrodilüsyon, agar dilüsyonun referans yöntem olduğu mesillinam ve fosfomisin dışında, hızlı üreyen aerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri için referans yöntemdir.
- EUCAST, Uluslararası Standart ISO 20776-1'e göre test yapılmasını, ancak güç üreyen bakteriler için MH-F sıvı besiyeri (%5 lize edilmiş at kanı ve 20 mg/L β -NAD ile zenginleştirilmiş Mueller-Hinton sıvı besiyeri, www.eucast.org adresindeki hazırlama yönergesine bakın) kullanılmasını önermektedir.
- Sonuçlar, bir mikroorganizmanın görünebilir şekilde üremesini engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu; Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) olarak kaydedilir ve mg/L veya μ g/mL olarak ifade edilir.

Sıvı Mikrodilüsyonun Değerlendirilmesi

Sonuçlar yalnızca aşağıdaki kriterler karşılandığında geçerlidir:

- **Pozitif kontrol kuyusunda, belirgin düğme şeklinde görüntü veya bulanıklık gibi, yeterli üremenin olması**
- **Saf kültür**
 - Kültürün saflığını kontrol etmek için hemen eş zamanlı olarak üreme kontrol kuyusundan seçici olmayan agar plağına pasaj yapılır.,
- **Doğru inokulum 5×10^5 KOB/mL**
 - Koloni sayımları, inokülasyondan hemen sonra üreme kontrol kuyucuğu veya tüpünden 10 μ L alınıp 10 mL tuzlu su ile sulandırılarak gerçekleştirilebilir. Karıştırdıktan sonra 100 μ L seçici olmayan agar plağına ekilir. İnkübasyondan sonra koloni sayısı yaklaşık 20-80 arası olmalıdır.

Üreme Görünümü

- Üreme, kuyucuktaki bulanıklık veya kuyucuk dibinde pelet birikimi şeklinde görülür. Üremenin görünümü bakteriyeye ve test edilen antibiyotiğe bağlı olarak değişiklik gösterir.
- Yuvarlak tabanlı kuyucuklarda üreme çoğunlukla ortada toplanmış bir düğme/pelet şeklinde görülür. Düz tabanlı kuyucuklarda üreme dağınık görülebilir.
- Saf kültürler için bile, antibiyotik içeren kuyucuklardaki üreme görünümü pozitif kontrol kuyucuğunda görülen üremeden farklı olabilir.

MİK değerlerinin okunması

- Sonuçlar elde okunmalıdır. Ayna kullanımı okumayı kolaylaştırabilir.
- Otomatik bir okuyucu veya kamera sistemi kullanılıyorsa, elle okumaya göre kalibre edilmelidir.
- Çıplak göz ile bakıldığında mikroorganizmanın üremesini tamamen engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak değerlendirilir.

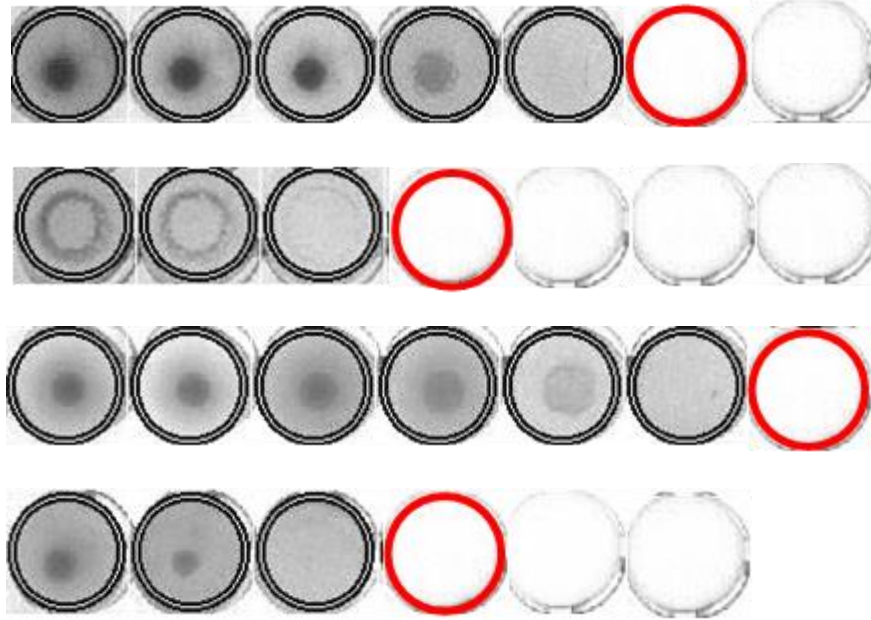
İstisnalar için 12-18 no. lu slaytlara bakınız

Belirgin olmayan inhibisyon kuyucuğu

- Çođu antibiyotik-bakteri kombinasyonunda inhibisyon noktası belirgindir.
- Bazı antibiyotik-bakteri kombinasyonlarında 2-3 kuyucuk boyunca üremenin kademeli olarak azaldığı soluk bir üreme gözlenebilir.
- Aksi belirtilmedikçe, MİK değeri üremenin tamamen inhibe olduğu noktada okunmalıdır (istisnalar için bkz. 12-16 no. lu slaytlar)

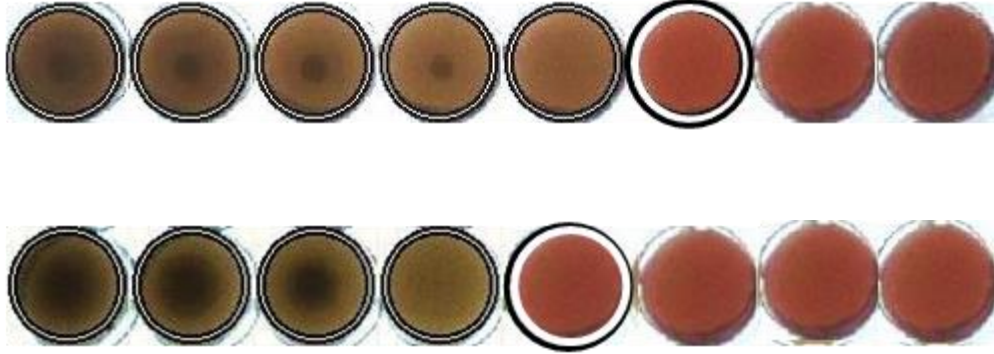
Pelet olmadan bulanıklık

- Pelet olmadan buğu veya bulanıklık sıklıkla *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. izolatlarında görülür. Bu, reme olarak kabul edilmeli ve MİK değeri tam inhibisyonun görüldüğü ilk kuyucukta okunmalıdır (berrak kuyucuk).



Hemoliz

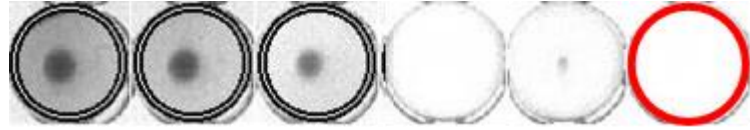
- MH-F sıvı besiyerinde test edilen güç üreyen bakterilerde, kanda hemoliz görülebilir. Buna genellikle bulanıklık veya üreme çökeltisi (pelet) eşlik eder.
- MİK değerleri belirlenirken hemolizli bulanıklık veya pelet üreme olarak kabul edilmelidir.



Atlayan kuyucuklar

- Bazen, üreme görünen kuyucuklar arasında üreme görünmeyen bir kuyucuk (atlama) görülebilir. Bunun, yanlış inokülasyon, kontaminasyon, heterojen direnç gibi birkaç olası açıklaması vardır.
- Tek bir atlayan kuyucuk oluştuğunda, izolatları yanlış duyarlı olarak bildirmekten kaçınmak için izolatu yeniden test etmeli veya en yüksek MİK değeri okunmalıdır.
- Birden fazla atlayan kuyucuk olması durumunda sonuçlar bildirilmemelidir.

Atlayan Kuyucuklara Örnekler



Tekrar et veya en
yüksek MİK değerini
oku

Geçersiz sonuç!

Özel okuma yönergeleri

Aşağıdaki antibiyotikler için özel değerlendirme yönergeleri vardır

- Bakteriyostatik antibiyotikler ile Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler
- Trimetoprim ve Trimetoprim-Sulfametoksazol
- Sefiderokol

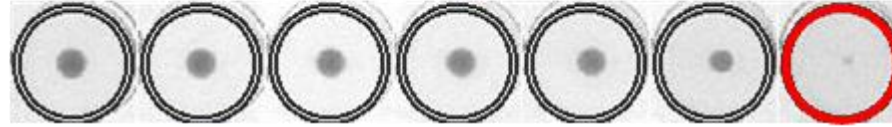
Bakteriyostatik antibiyotikler ile Gram-pozitif koklar

- Üreme belirgin olmadığında kuyucuktaki nokta şeklindeki üremeyi (küçük düğmeler) dikkate almayın.

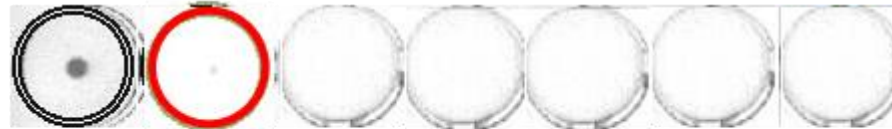
Doksisiklin



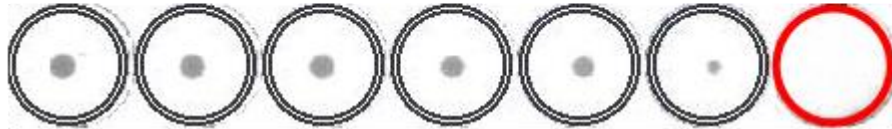
Fusidik asit



Tetrasiklin



Doksisiklin



Bakteriyostatik antibiyotikler ile Gram-pozitif koklar

- Üreme belirgin olmadığında kuyucuktaki nokta şeklindeki üremeyi (küçük düğmeler) dikkate almayın.

Linezolid



Linezolid



Tedizolid



Tedizolid



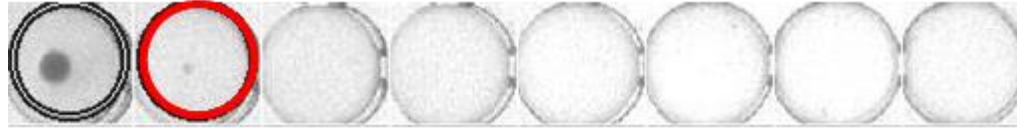
Bakteriyostatik antibiyotikler ile Gram-negatif bakteriler

- Üreme belirgin olmadığında kuyucuktaki nokta şeklindeki üremeyi (küçük düğmeler) dikkate almayın.

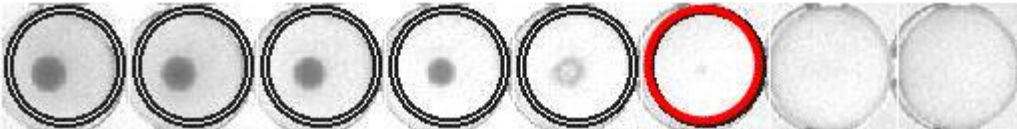
Tigesiklin



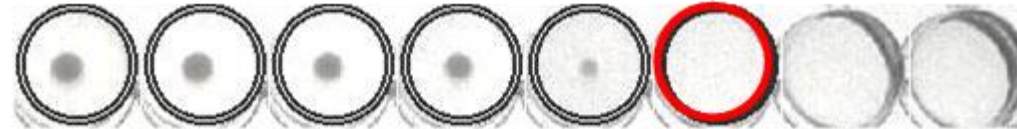
Tigesiklin



Eravasiklin

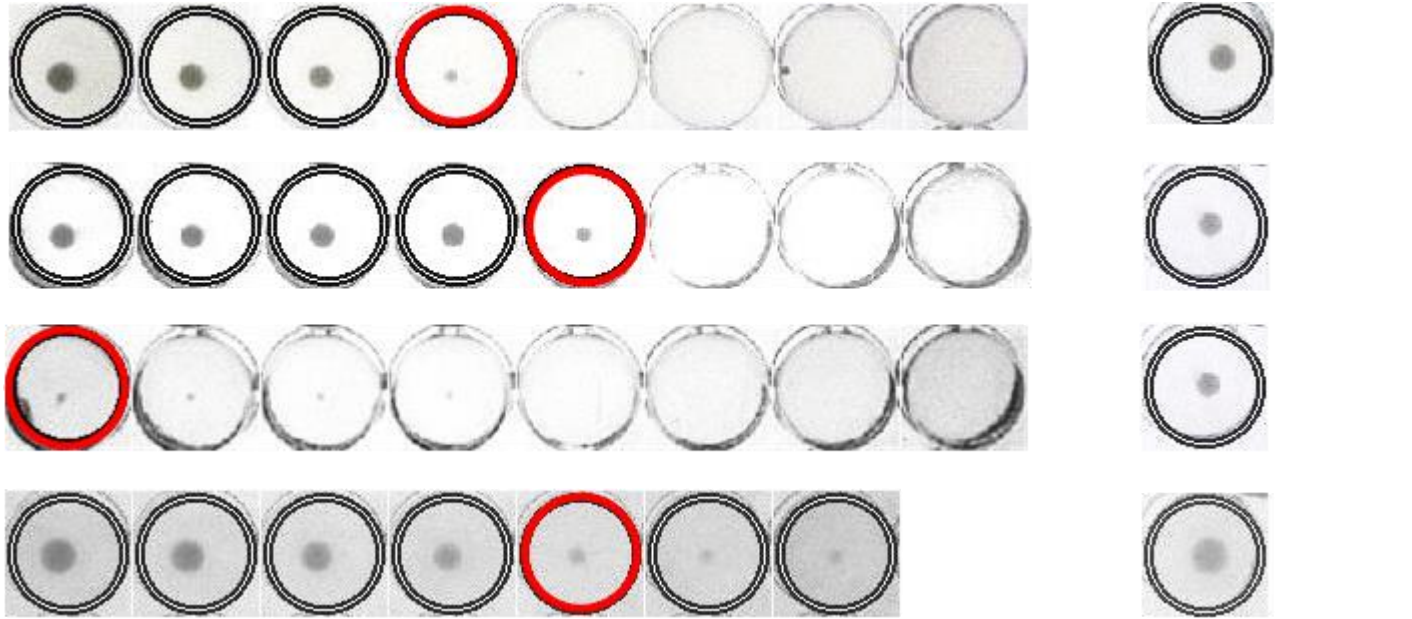


Eravasiklin



Trimetoprim ve Trimetoprim-Sulfamotaksazol

- Üreme kontrolüne kıyasla üremenin $\geq\%80$ 'ini engelleyen en düşük konsantrasyondaki MİK değerini okuyun.



Sefiderokol

- Sıvı mikrodilüsyon MİK tayini demirden yoksun Mueller-Hinton sıvı besiyerinde yapılmalı ve özel okuma yönergesine uygun olarak değerlendirilmelidir. Test koşulları için http://www.eucast.org/guidance_documents/ 'a bakınız.
- MİK, üremenin 1 mm'den küçük düğme şeklinde azaldığı ilk kuyucuk veya hafif bulanıklık görülen ilk kuyucuk şeklinde okunur.
- Pozitif kontrol, 2 mm'den büyük düğme veya yoğun bulanıklık şeklinde güçlü üreme göstermelidir.

Okuma örneklerini içeren resimler bundan sonraki slayttadır.

Sefiderokol



Positive control



Positive control



Positive control

Sonuçların Yorumlanması

- Klinik izolatlar için sonuçları bildirmeden önce ilgili KK suşları için MİK değerlerinin kabul edilebilir aralıkta olduğundan emin olun.
- EUCAST KK tablolarındaki kalite kontrol kriterlerine bakın (<https://www.tmc-online.org>)
- MİK değerlerini güncel EUCAST sınır değer tabloları (<https://www.tmc-online.org>) doğrultusunda duyarlılık kategorilerine (S, I ve R) göre yorumlayın.