

► Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Moleküler Yöntemler; Maliyet Etkin mi?

Rıza DURMAZ

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları
Daire Başkanlığı, Moleküler Mikrobiyoloji Araştırma ve Uygulama
Laboratuvarı, Sıhhiye/Ankara



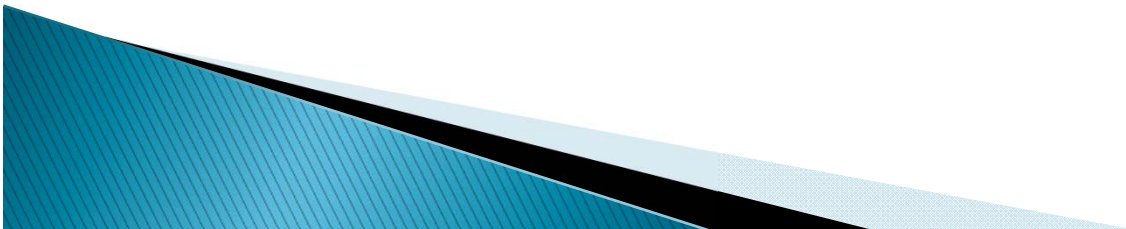
Direnç artan problem!!

- ▶ Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)**
- ▶ Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE)*
- ▶ Çok ilaca dirençli (ÇİD) *M. tuberculosis****
- ▶ Kinolon ve klaritromisin dirençli *H. pylori*,
- ▶ Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) ve metallo beta laktamaz (MBL) üreten gram negatif basiller
- ▶ Çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii*...



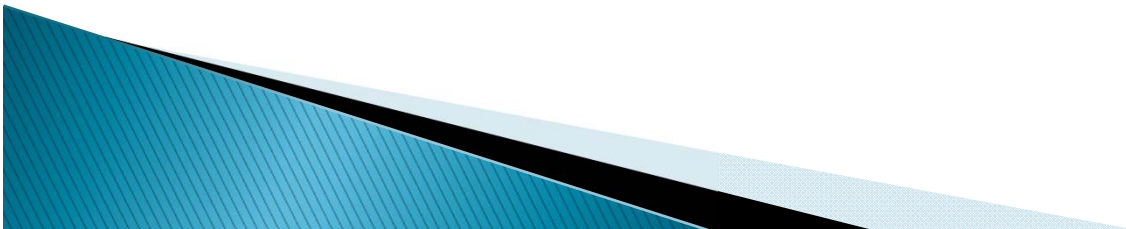
Direnç problem

- ▶ **MRSA:**YBÜ izole edilen *S. aureus*'ların %50'den fazlası, diğer kliniklerdekilerin ise %40'dan fazlası metisiline dirençli
- ▶ **VRE:** 1980'lerin sonlarında ortaya çıkan VRE ise şimdi birçok hastanede endemik ve hastane kaynaklı enterokokal infeksiyonların %25'ten fazlası VRE
- ▶ 1990 – 1998 YBÜ'deki VRE oranı <%1 – %20
- ▶ YBÜ'lerindeki VRE infeksiyonlarına bağlı mortalite duyarlı enterokoklardan 2 kat daha fazla



Direnç problem

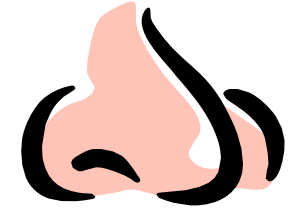
- ▶ Dirençli bakterilere bağlı infeksiyonlar yaşamı tehdit eden, hastanede kalış süresini, mortaliteyi ve maliyeti artıran unsurlardır.
 - MRSA ilişkili her infeksiyonun maliyeti (\$35,000) MRSA olmayana (\$14,000) göre daha yüksek (Stone, AJIC 2002).
 - Hindistan, Delhi’de yapılan bir çalışmada;
 - MRSA ile ilişkili hastane kökenli bakteriyemi olan hastalarda:
 - Hastanede kalış süresi daha uzun(ortalama: 22.9 days),
 - Daha uzun YBÜ kalış süresi (ortalama: 11.3 gün),
 - Daha yüksek mortalite (ortalama:% 54)
 - [Am J Infect Control 2010;38:95–104



► Kaynak ve bulaş yolu:

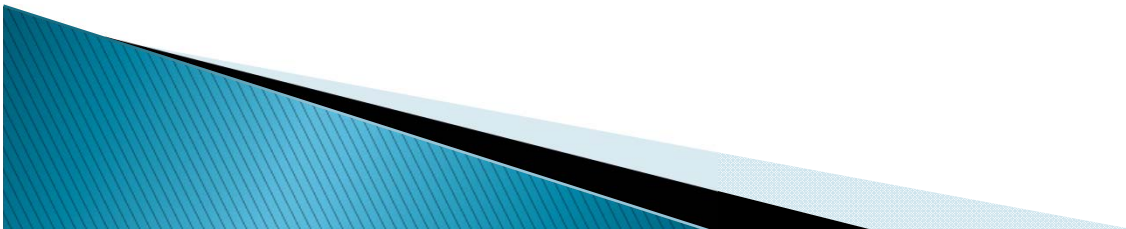
► MRSA:

- **Bulaş:** Primer olarak infeksiyonlu (yara, solunum yolu, GI, idrar yolu) veya kolonize hastadan yeni bireylere **direkt temasla** bulaşır. Personelin **elleri** MRSA çapraz bulaşmada en yaygın yoldur.
- **Kaynak:** Kolonize ve infekte kişiler



► VRE

- **Bulaş:** Geçici taşıyıcı olan personellerin **elleriyle** hastadan–hastaya doğrudan yayılabilir veya kontamine çevresel yüzeyler ve hasta bakım aletleriyle dolaylı olarak bulaş
- **Kaynak:** Gastrointestinal yol ve kadın genital yol normal florası



MRSA yönünden taranması önerilen hastalar

- ▶ MRSA prevalansının yüksek olduğu erişkin yoğun bakım ve yanık üniteleri

Ulusal Hastane Enfeksiyonları Surveyans Kontrol Birimi(<http://www.rshm.gov.tr/enfeksiyon/dosya/strateji.doc>)

- ▶ Önceden MRSA taşıyıcısı olduğu bilinen hastalar
- ▶ Yüksek MRSA oranına sahip olduğu bilinen hastanelerden gönderilen hastalar
- ▶ MRSA taşıyıcısı ile teması olan hastalar
- ▶ **Aşağıdaki risk faktörlerinden en az iki tanesini bulunduran hastalar**
 - Uzun süreli bakım evinde kalanlar
 - İnvaziv cihaz kullananlar (sentral venöz kateter, ürüner katater ..)
 - Diyaliz tedavisi
 - Deri ülseri/gangren/kronik yara/derin yumuşak doku enfeksiyonu
 - Yanık yaraları. [Stürenburg E. Ger Med Sci.](#) 2009 Jul 6;7:Doc06



VRE yönünden taranması önerilen hastalar:

- ▶ VRE kolonizasyonu/enfeksiyonu için yüksek risk grubuna giren hastalar
 - Koroner bakım ünitesi dışında diğer Yoğun Bakım Ünitelerinde yatan tüm hastalar,
 - Nötropenik hastalar,
 - Hemodiyaliz hastaları,
 - Solid organ nakli yapılan hastalar,
 - Allojeneik veya otolog kemik iliği nakli yapılan hastalar
 - Sentral venöz veya üriner sistem kateteri olanlar
 - Kardiyo–torasik cerrahi işlem uygulananlar
 - Usun süre hastanede yatanlar..
 - UHESKB: <http://www.rshm.gov.tr/enfeksiyon/dosya/VRE.pdf>



Niçin Tarama ?

- ▶ Hastanın hastaneye yatırılmasından daha da önemlisi YBÜ'ne alınmasından önce dirençli hastane infeksiyon etkenleri yönünde taranması yaygın bir uygulama haline gelmiştir.
- ▶ İnfekte veya kolonize olan kişilerin saptanması
- ▶ İzolasyon önlemlerinin alınması
- ▶ Kolonize kişilere özel bakım ve tedavi protokollerinin uygulanması



Taramanın etkinliği!!

- ▶ Herhangi bir tarama programının etkili olabilmesi için belirli temel prensipleri karşılaması gerekmektedir:
 - (a) Durum nispeten yaygın olmalı ve potansiyel olarak devre dışı bırakılabilir olmalı,
 - (b) Duyarlı, nispeten kolay, kabul edilebilir, tekrarlanabilir ve maliyet etkin tarama testi olmalı
 - (c) Standart tedavi veya müdahale protokolleri olmalıdır.

▶ <http://www.medicine.ox.ac.uk/bandolier/painres/download/Bando005.pdf>



MRSA/VRE enfeksiyon prevalansı

- ▶ Ulusal hastane enfeksiyonları s rveyans verilerine göre
 - Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının oranı 2008 - 2011 yıllarında %58.9- %54.6 (yıllar itibariyle hafif d     )
 - Hastane kaynaklı VRE enfeksiyonlarının oranları 2008-2011 yıllarında % 5.4-17.20 (yıllar itibariyle ciddi artı  )
- ▶ Sağlık bakanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans  alı ması Verileri (Dr Ahmet Müezzinoėlu ve Dr Demet Kurtoėlu)

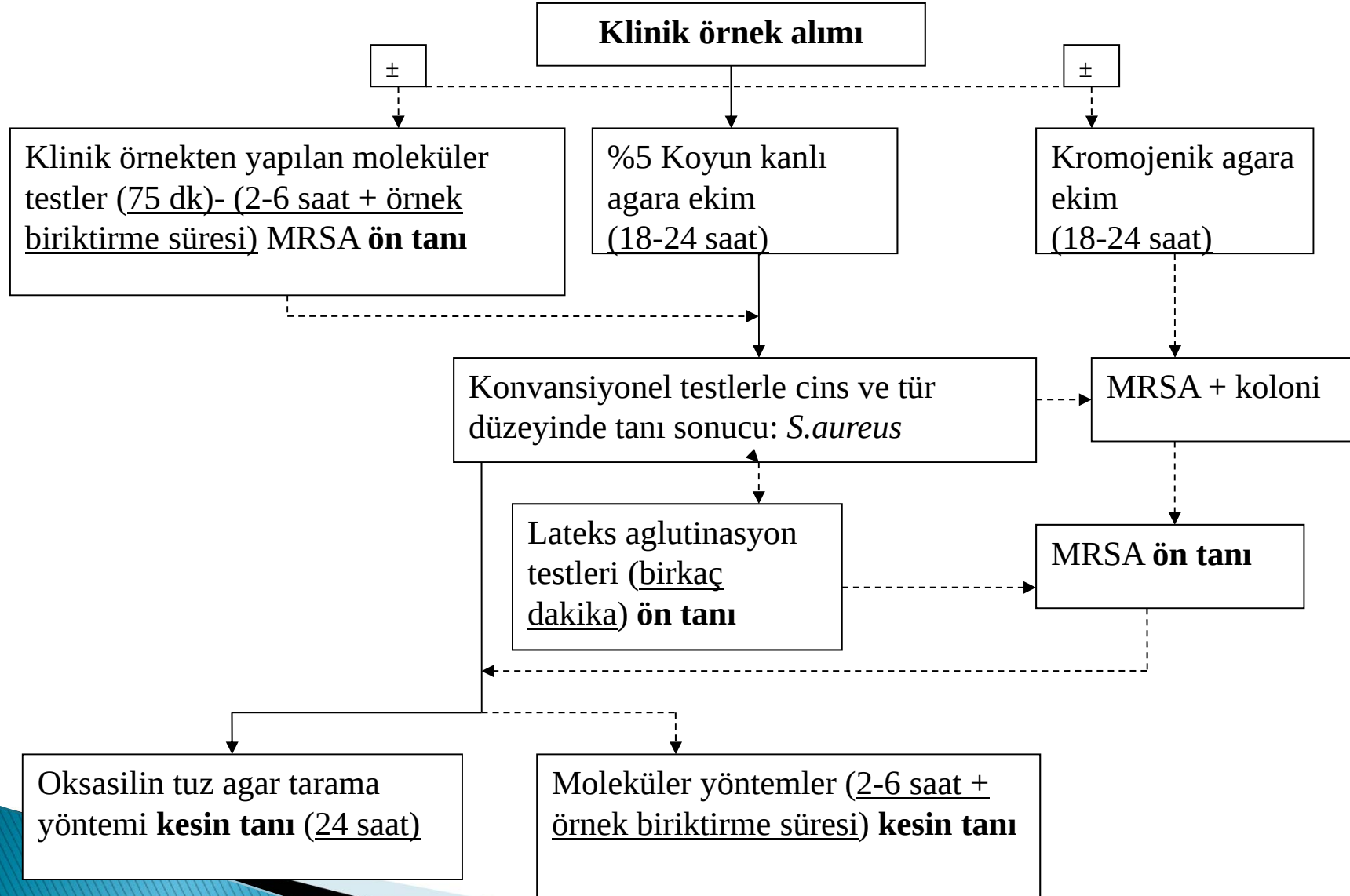


Kolonize hastaların prevalansı nedir–Türkiye?

- Nokta prevalans nedir? :
- **MRSA kolonizasyon oranları:**
 - Hemodiyaliz: %7.3 (Mikrobiyol Bul. 2012;46(1):106–12).
 - Yenidoğan YBÜ: %20.7 (Mikrobiyol Bul. 2010;44(3):529–31)
 - Anestezi– Reanimasyon YBÜ: %25 (ANKEM Derg 2011;25(Ek 1))
- **VRE kolonizasyon**
 - Gaziantep Çocuk hastanesi Onkoloji, pediatrik cerrahi ve YBÜ: **%14.6** (Mikrobiyol Bul. 2011 Oct;45(4):646–54)
 - Okmeydanı Eğitim Araştırma Hastanesi YBÜ, Hematoloji, Anesteziyoloji ve Reanimasyon: **%15** (Sayiner HS. Uzmanlık Tezi 2008).
 - Erciyes Üniversitesi hastanesi:
 - 2009 yılında kolonizasyon oranı %3.1 infeksiyon oranı %0.2,
 - 2010 yılında kolonizasyon %0.7 infeksiyon %0.1
 - (Dr Duygu Perçin yayınlanmamış veri)
- **Hastaların hastane başvurdıkları andaki kolonizasyon prevalansı nedir?.**
- Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesine kabulde taranan riskli 272 hastada **VRE kolonizasyonu %16.9** (46/272)
 - Süleyman DURMAZ, Barış Derya ERÇAL, Altay ATALAY, Duygu PERÇİN XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 7–11 Kasım 2010, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, Program ve Bildiri Kitabı, 237, poster no: PB–049 (2010)



Klinik örnekte MRSA tanı algoritması (UHESKB)



UHESKB–VRE Sürveyans Protokolü

- ▶ Hastalardan alınan perirektal sürüntü örnekleri 6 µg/ml vankomisin ve 64 µg/ml seftazidim içeren enterokokkosel agara (ör: D–Coccosel agar) ekilir.
- ▶ Vankomisin ve teikoplanin için MİK değerleri belirlenir ve polimeraz zincir reaksiyonu ile direnç genotipi (VanA, VanB) saptanır.
- ▶ Sürveyans çalışmasında gerçek zamanlı–PZR yöntemi de paralel olarak yürütülebilir ve sonuçlar kıyaslanabilir.



Hızlı kültür metotları

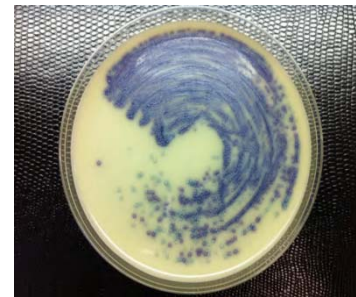
- ▶ Çok ilaca dirençli bakterilerin taraması için iyi tanımlanmış **hızlı kültür metotları** bulunmaktadır
 - ChromID MRSA/VRE/ESBL plates (e.g., bioMerieux)
 - MRSA select plates/VRE select agar (Bio-Rad)
 - BBL CHROM agar MRSA/VanRE (BD)
 - Chromogenic MRSA agar/Brilliance VRE agar [Oxoid]
 - Colorex VRE agar (Alere)
 - *Kromojenik besiyerlerinde maks. duyarlılık (ort.%90) 48 saat, maksimum özgüllük (ort:%96) 24 saat*



ChromID MRSA



ChromID VRE



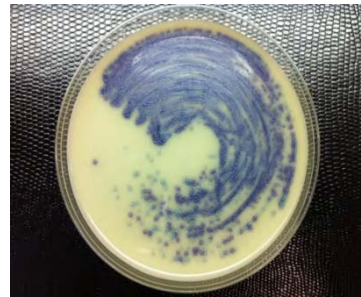
Brilliance VRE
agar



ChromID ESBL

Üç kromojenik besiyerinin etkinliği

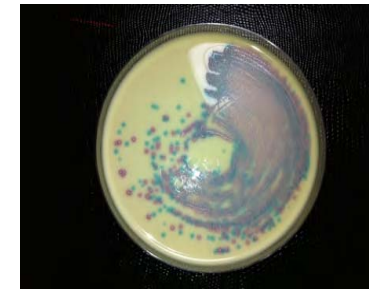
	Brillance VRA (%)	Colorex VRE	VRE select agar
Duyarlılık	100	95.5	68.2
Özgüllük	71.2	90.4	91.8
Uyum	78.0	91.6	86.3
PPD	51.0	75	75
NPD	100	98.5	90.5



Brillance VRA agar



Colorex VRE

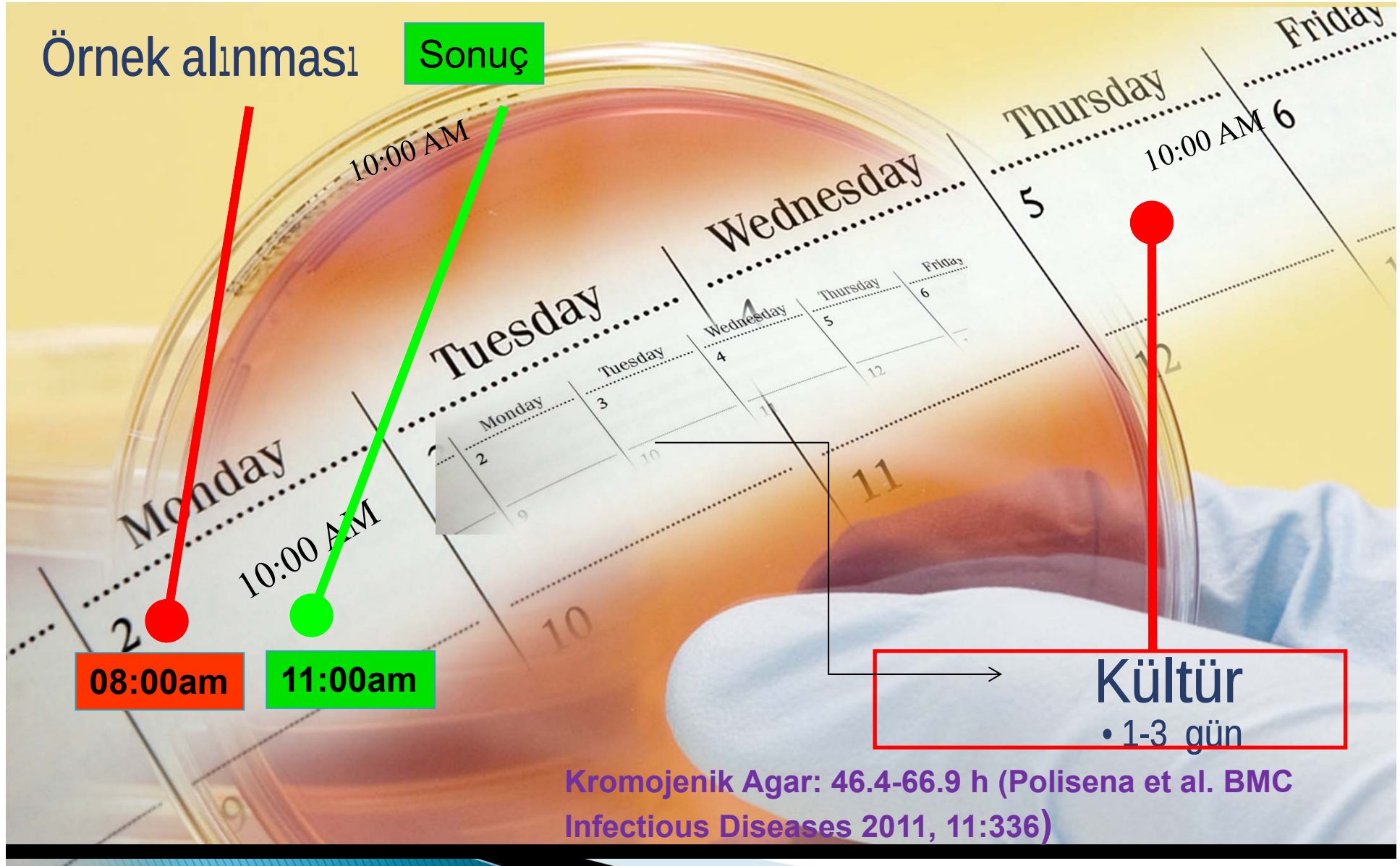


VRE select agar

Maksimum duyarlılık 26 h inkübasyon,
Maksimum özgüllük: 22 h

Miller et al. http://www.chromagar.com/images_spaw/VR_CACMID_poster_FINAL_2011.pdf

Kritik problem: Süre



FDA onaylı ticari moleküler kitler

▶ MRSA tanı yöntemleri:

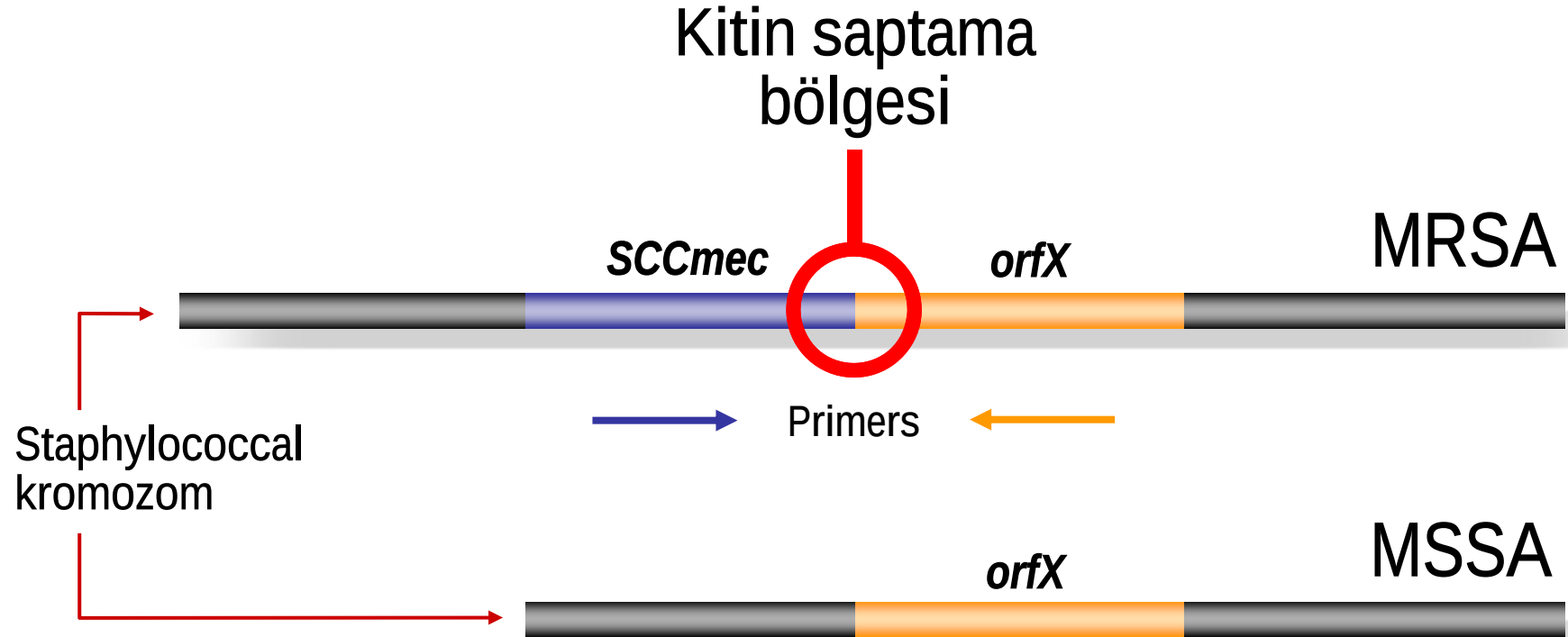
- ▶ NucILSENSEasyQ MRSA Assay (BioMérieux)
 - RT-PCR ile *mecA* geni *orfX* gen fragmanları çoğaltılır
- ▶ BD GENE OHM MRSA ASSAY/BD GeneOhm MRSA ACP Assay
 - RT-PCR ile *mecA* ve *orfX* gen fragmanları çoğaltılır
- ▶ Xpert MRSA/SA, Xpert MRDA/SSTI, Xpert MRSA/BC (CEPHEID):
 - RT-PCR ile *S. aureus* kromozomal *attB* içindeki *SCC* bakılmaktadır
- ▶ LightCycler MRSA Advanced Test (Roche Diagnostic)
 - RT-PCR ile *SCCmec* ile *orfX*'in birleşme bölgesinin çoğaltılmasını hedefler.
- ▶ GenoType MRSA Direct/Geno Quick MRSA (Hain Lifescience):
 - PCR ile *SCCmec* çoğaltılması+ strip hibridizasyon testi

▶ VRE tanı yöntemleri:

- ▶ Xpert *vanA* test (Cepheid): Rektal sürüntü örneklerinden VRE tespiti hedeflenmiştir
- ▶ BD GENE OHM MRSA ASSAY

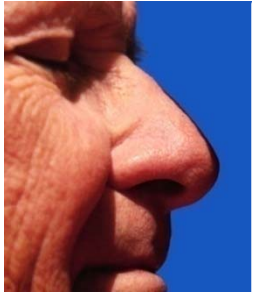


RT-PCR bazlı testler



- Yalnızca MRSA'larda bulunan *SCCmec-orfX* birleşme yerindeki DNA araştırılmakta
- Toplumsal ve hastane kaynaklı (HA-MRSA ve CA-MRSA) suşları saptayabilmekte,
- **Hatalı pozitiflik!!!, Hatalı negatiflik!**

BD GeneOhm MRSA/VRE Assay



Nazal sürüntü



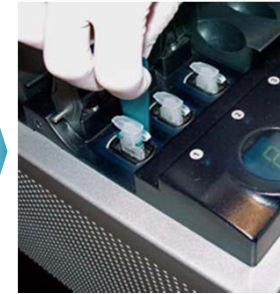
Örnek
hazırlama



Liziz-DNA
izolasyonu



Sulandırma



Real-time PCR

Site ID	Sample ID	Assay Result	IC Result	Warning Error Code
A1	469225	POS	NA	
A2	922579	NEG	PASS	
A3	057684	POS	NA	
A4	968733	POS	NA	
A5	286630	NEG	PASS	
A6	290385	POS	NA	
A7	448577	POS	NA	
A8	740656	POS	NA	
A9	466298	POS	NA	

Sonuç



2 saat içinde sonuç

PCR + Strip hibridizasyon



Süre: TAT

Pratik uygulamada test süresiyle/TAT farklı:
12 Alman hastanesinde TAT-MRSA
taramasında;

- ▶ Xpert MRSA için ortalama: 2.6 h(1.7–20.4h)
- ▶ BD GeneOhm (IDI) MRSA için ortalama:18.5 h(5.3–24 h)
 - ▶ *Wassenberg et al. Critical Care 2012, 16:R22*
- ▶ Kapsamlı bir derleme:
- ▶ Xpert MRSA için ortalama süre: 1.9 h
- ▶ BD GeneOhm MRSA için ortalama: 13.2h–21.6 h
 - ▶ *Polisena et al. BMC Infectious Diseases 2011, 11:336*



Test maliyeti

- ▶ Konvensiyonel yöntemlerle MRSA/VRE taraması oldukça düşüktür. Örnek başına kromojenik kültürünün maliyeti
 - Kromojenik MRSA: ortalama 3 TL
 - Kromojenik VRE: ortalama 8 TL
 - PCR bazlı tarama testleri:
 - Xpert MRSA/VRE :70-90 TL
 - BD GeneOhm MRSA/VRE: 60-70 TL
 - *GenoType MRSA Dierct/Geno Qick MRSA* : 30-50 TL



Maliyet-etkin-1

Costs and benefits of rapid screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage in intensive care units: a prospective multicenter study. Wassenberg et al. Critical Care 2012, 16:R22

- ▶ 12 Alman hastanesinde yapılan çok merkezli bir çalışma
- ▶ YBÜ'de MRSA taramasında BD GeneOhm™ MRSA PCR (IDI) (17 ay) ve Xpert MRSA (GeneXpert) (14 ay) testleri ile kültür yöntemlerinin “izolasyon günü” başına maliyet etkinlikleri hesaplanmış.
- ▶ MRSA taşıyıcılığı açısından riskli olan toplam 163 hasta (941 örnek) taranmış.
 - Hasta başına ortalama 5.8 örnek (burun, kasık, yara....)
 - Hastane başına düşen hasta sayısı:1-57
- ▶ MRSA prevalansı: %3.1 (n = 5).
- ▶ **“İzolasyon süresi”: 27.6 h/IDI ve 21.4 h/GeneXpert, 96.0 h/konvansiyonel kültür** (Sıvı ortamda zenginleştirme +Selektif ve nonselektif by.).

Devam 2

- ▶ Kültür referans alındığında; her iki tarama testinin birlikte:
 - Duyarlılığı: %100 (%95 CI 0.46–1)
 - Özgüllük: %94.5 (%95 CI 0.89–0.97)
 - **PPD: %35.7 (%95 CI 0.14 – 0.64)**
 - NPD: %100 (%95 CI 0.97–1)
- ▶ IDI için bu değerler:
 - Özgüllük: %93.3 (%95 CI:0.84–0.97)
 - NPD: %100 (%95 CI 0.94–1)
 - Bu testle pozitif hasta bulunamadığı için duyarlılık ve PPD hesaplanamamış
- ▶ GeneXpert:
 - Duyarlılık:%100 (%95 CI 0.46 –1),
 - Özgüllük: %95.7 (%95 CI 0.87–0.99)
 - **PPD:%62.5 (%95 CI 0.26 – 0.90)**
 - NPD:%100 (%95 CI 0.93 –1)
- ▶ **PCR ile pozitif olan hastaların çoğunda (9/14: 64.3%) konvensiyonel kültür negatif**



Devam 3

- ▶ Araştırmanın sonucu:
- ▶ Hızlı moleküler direnç testleri;
 - YBÜ temas önleyici izolasyon gün sayısını % 44 oranında azaltmıştır
 - Hasta başına tarama maliyetini €327.84 (IDI) ve €252.14 (GeneXpert) artırıyor
 - Azaltılan her izolasyon günü başına € 121,76 (GeneXpert) ile 136,04 (IDI) € tasarruf sağlamakta.
- ▶ Moleküler testler MRSA prevalansının düşük olduğu Alman hastanelerinde, izolasyon gün sayısında yalnızca %44 oranında azalma sağladığı için, **PPD' düşük olan bu testler, MRSA prevalansının yüksek olduğu kurumlarda etkisiz olabilecektir.**



Rapid screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using PCR and chromogenic agar: a prospective study to evaluate costs and effects.

M. W. M. Wassenberg MWM et al. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 1754-1761

- ▶ 14 Alman hastanesinde riskli 1764 hasta MRSA yönünden taranıyor.
 - BD GeneOhm MRSA PCR ('IDI')
 - Xpert MRSA ('GeneXpert')
 - Chromogenic agar (MRSA-ID) (bioMérieux)
 - Konvensiyonel kültür

MRSA prevalansı %3.3

İzolasyon süresi:

IDI: 19.7, GeneXpert :16.1 h, Kromogenik agar: 30.0 h, konvensiyonel by: 76.2 h

Test fiyatları:

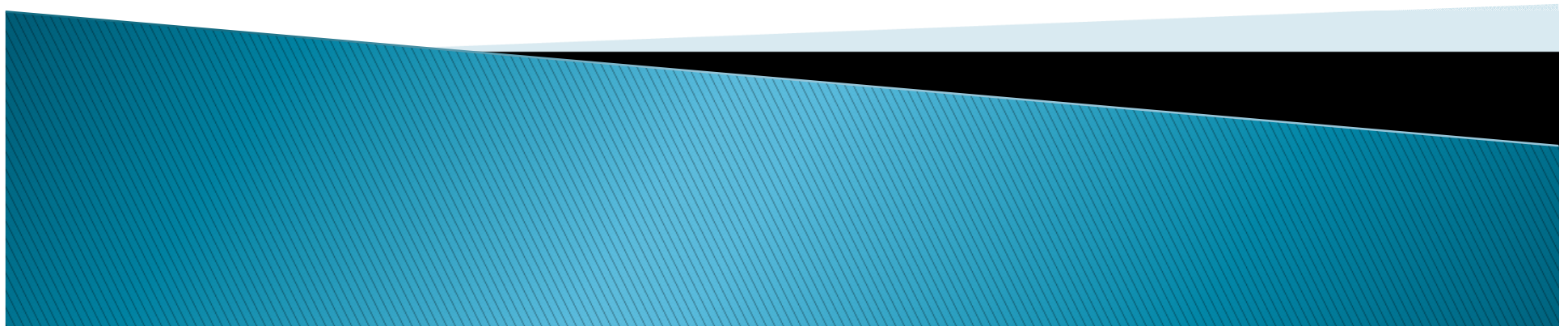
IDI: €56.22 , GeneXpert : €69.62 , Kromogenik agar: €2.08

Her bir ekstra izolasyon gününün maliyeti: €26.34.

Sonuç: Hızlı testler izolasyon gün sayısını azaltıyor, fakat yalnızca kromojenik besiyeri maliyet etkin

Evaluation of the BD GeneOhm MRSA and VanR Assays as a Rapid Screening Tool for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-Resistant Enterococci in a Tertiary Hospital in Saudi Arabia

Hassan H, Shorman M. Int J Microbiol.
2011;2011:861514



Devam 2

- ▶ 600 yataklı onkoloji, organ ve kemik iliği transplantasyon üniteleri bulunan bir hastane.
- ▶ Hastane programında baş vuran her hastaya MRSA ve VRE tarama programı uygulanmakta.
- ▶ 6 ay içerisinde YBÜ'ne kabul edilen bütün hastalardan alınan 300 rektal sürüntü VRE araştırılmasında;
 - BD GeneOhm VanR PCR:
 - Konvensiyonel kültür
- ▶ 1.5 yıl süresince hastaneye yeni başvuran bütün hastalardan alınan nazal (728) ve kasık (1539) sürüntü örneklerinde MRSA araştırılıyor.
 - BD GeneOhm MRSA
 - Konvensiyonel kültür



Devam-3

GeneOhm Assay MRSA RT-PCR

% Değer (%95 CI)	Örnek Türü	
	Nazal Sürüntü (728)	Kasık Sürüntü (1539)
Duyarlılık	%97.2 (0.83-0.99)	%100 (0.86-1)
Özgüllük	%99.4 (0.98-0.99)	%98.7 (0.97-0.99)
PPD	%89.7 (0.74-0.96)	%61.5 (0.47-0.74)
NPD	%99.9 (0.99-0.99)	%100 (0.99-1)

Nazal sürüntü	Kasık*	Kültür Yöntemi						
			Pozitif		Negatif		Toplam	
BD GeneOhm MRSA PCR assay		Pozitif	35	32*	4	20*	39	52*
		Negatif	1	0	688	1487	689	1487
		Toplam	36 (%4.9)	32 (%2.8)	692	1507	728	1539

*: Kasık değerleri

Devam-4

BD GeneOhm VanR PCR Assay

Rektal Swap	Kültür Yöntemi			
		Pozitif	Negatif	Toplam
BD GeneOhm VanR PCR assay	Pozitif	8	26	34
	Negatif	0	266	266
	Toplam	8 (%2.7)	292	300

Duyarlılık: %100, Özgüllük: %91.1, PPD:23.5, NPD:%100



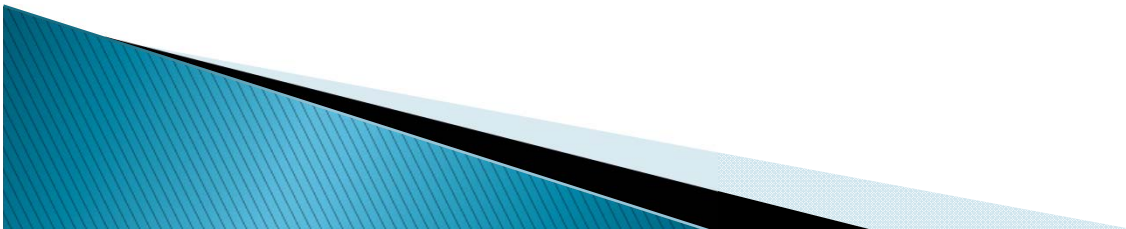
Araştırmanın sonucu

▶ BD GeneOhmMRSA Assay;

- NPD'nin yüksek (%98.9) olması, bu testi taşıyıcı olmayanların hızlıca belirlenmesinde kullanılabilecek ideal bir test haline getirmektedir

▶ BD GeneOhm VanR Assay:

- Yüksek duyarlılık ve NPD'leri nedeniyle bu test VanA ve vanB taşıyıcı olmayanların hızlıca elenmesinde kullanılabilir.
- **Fakat PPD'ninin düşük ve vanB için fazla hatalı pozitif sonuç vermesi nedeniyle pozitif sonuçların kültürle doğrulanması gerekir**



VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOK SAPTANMASINDA GeneXpert
vanA/vanB Real Time-PCR YÖNTEMİ İLE KÜLTÜR YÖNTEMİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI Süleyman DURMAZ, Barış Derya ERÇAL, Altay ATALAY,

Duygu PERÇİN XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 7-11 Kasım 2010, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti,
Program ve Bildiri Kitabı, 237, poster no: PB-049 (2010)

- ▶ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Araştırma Hastanesine başvuran kolonizasyon açısından yüksek riskli olarak değerlendirilen 272 hastada VRE pozitifliği araştırılmış.
 - GeneXpert *vanA/vanB* RT-PCR
 - Kültür: 6 µg/ml vankomisin içeren bile-eskülin azid agar (BioMerieux, Fransa)
 - 46 hastada (%16.9) VRE pozitif bulunmuş.

	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)	PPD(%)*	NPD(&)**
RT-PCR*	100	97	86.8	100

Seeplex VRE detection kit

- ▶ Duyarlılık: %92.5–98.2
- ▶ Özgüllük: %98.9–99.6
- ▶ PPD: %95.7
- ▶ NPD: %98
- ▶ TAT: 2 gün (çoğaltma kültürü+PCR)
 - Seo et al. J Med Microbiol 2011;60 (pt 7):945–9
 - [Lee SY](#), et al [Ann Clin Lab Sci](#). 2010 Spring;40(2):163–6.



Multicenter Evaluation of the LightCycler Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Advanced Test as a Rapid Method for Detection of MRSA in Nasal Surveillance Swabs.

Peterson LR et al. [J Clin Microbiol](#). 2010 May;48(5):1661–6.

TABLE 4. Test performance of the LightCycler MRSA advanced test, the BD GeneOhm MRSA assay, and directly plated culture compared to final results determined after discrepancy analysis^a

Test	No. of samples				Result ^e			
	True positive	False positive	False negative	True negative	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
Roche LightCycler	202	13	17	1,153	92.2 ^b (87.9–95.4)	98.9 ^{c,d} (98.1–99.4)	94.0 (89.9–96.7)	98.5 (97.7–99.2)
BD GeneOhm	204	68	15	1,098	93.2 ^b (89.0–96.1)	94.2 ^{c,d} (92.7–95.4)	75.0 (69.4–80.0)	98.7 (97.8–99.2)
Direct CHROMagar culture	176	1	43	1,165	80.4 ^b (74.5–85.4)	99.9 ^d (99.5–100)	99.4 (96.9–100)	96.4 (95.2–97.4)

^a In this analysis there were determined to be 219 true-positive swabs for MRSA out of 1,385 samples. To equitably compare the molecular diagnostic tests, only samples that had concordant results on the two directly plated cultures (one with each real-time PCR assay) were used in this analysis.

^b $P \leq 0.0005$ between the real-time PCR tests and culture.

^c $P \leq 0.0001$ between the two real-time PCR tests.

^d $P \leq 0.0032$ between the two real-time PCR test and culture.

^e Results are shown as percentage (95% CI [%]). CI, exact 95% confidence interval (Clopper-Pearson).

- ▶ LightCycler MRSA, nazal MRSA kolonizasyonu saptamada kullanılabilecek hızlı ve duyarlı bir test

Hızlı testlerin Çapraz bulaşa etkisi-1

- ▶ Kültüre dayalı aktif MRSA taşıyıcı tarama programlarının nozokomiyal MRSA yeni enfeksiyonun önlenmesinde genel olarak pozitif etki yaptığı gösterilmiştir (Raboud J, et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005;26(7):607-15)
 - Berlin Vivantes Kliniğinde; aktif tarama programı kullanılarak hastanede MRSA çapraz-infeksiyonların % 48 oranında önlenebildiği kanıtlandı (Wernitz MH, et al. Clin Microbiol Infect. 2005;11(6):457-65)

PCR'ın hızlı sonuç verme avantajının MRSA çapraz bulaş riskini daha da azaltacağı beklenmektedir: ????

PCR verileri sınırlı ve tutarsız bulgular.

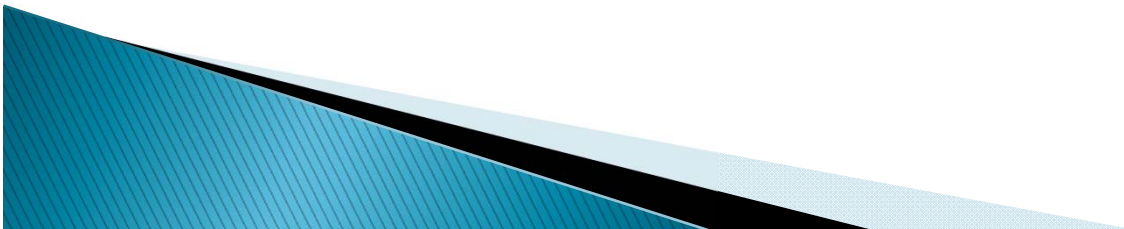
Polisena et al. BMC Infectious Diseases 2011, 11:336



► -2

► İki ekstrem örnek bunu doğrulamaktadır:

- Cunningham et al. Taramada kültür yerine RT-PCR kullanıldığında YBÜ'ndeki hastalarda MRSA çapraz bulaş oranında anlamlı derecede azalma kaydetmişler [J Hosp Infect. 2007;65(1):24-8.]
- Yaygın olarak kullanılan **PCR bazlı tarama programının, MRSA infeksiyon riski düşük olan cerrahi kliniklerinde hastane infeksiyon sıklığını düşürmediği gösterilmiş** [Harbarth S, JAMA. 2008;299(10):1149-57.].
- MRSA taramasında PCR bazlı yöntemler kullanıldığında çapraz bulaş oranı (0.33), hızlı kültür yöntemleri kullanıldığında 0.36 olarak bulunmuştur. Fark önemsiz. Jeyaratnam D et al.BMJ 2008;336:927-930.



Sonuç

- ▶ PCR uygulamaları yüksek riskli hastalar ve alanlardaki nozokomiyal çapraz bulaşını azaltabilir.
 - Fakat hastaneye başvuran tüm hastaların PCR ile taranması etkili bir yaklaşım olmayacaktır.
 - Hızlı testlerle MRSA/VRE yokluğunu göstermek güvenli bir yoldur, ancak bu yöntemlerle alınan pozitif sonuçların kültürle doğrulanması gereklidir
- ▶ Bu testlerinin maliyet-etkinliği konusundaki veriler sınırlıdır ve konu halen tartışmalıdır.
 - Kültür bazlı tarama testleri ekonomik açıdan daha tatminkar görülmektedir
- ▶ Moleküler tanı olanakları sınırlı olan hastaneler, MRSA/VRE taramasını kromojenik besiyerleriyle başlatabilir. Sürveyans programının etkinliği kanıtlandığında, kaynaklar hızlı tanı testlerine yönlendirilebilir.

▶ [Stürenburg E.](#) GMS German Medical Science 2009, Vol. 7, ISSN 1612-3174.

▶ Polisen et al. BMC Infectious Diseases 2011, 11:336

▶ Bhattacharya S. Indian J Med Microbiol 2011;29:213-7

▶ Daniel J. Diekema DJ, CID 2007;44:1101-7

ÇİD-TB

- ▶ Tüberkülozda direnç gittikçe artan global bir problemdir ve tüberkülozla mücadele çabalarını önemli ölçüde zayıflatmaktadır.
- ▶ Her yıl yaklaşık olarak 500,000 yeni çok ilaca dirençli (ÇİD) tüberküloz (TB) bildirilmekte
- ▶ 2008 yılında dünya genelindeki TB vakalarının % 3,6'sının ÇİD-TB olduğu hesaplanmış ve 150,000 kişinin ÇİD-TB nedeniyle öldüğü rapor edilmiştir.
- ▶ 2008 yılı içerisinde 46 ülkeden yaygın ilaç dirençli TB (YİD-TB) bildirimi yapılmış ve ÇİD-TB olgularının % 5, 4'ünün YİD-TB olduğu belirtilmiştir.
WHO/HTM/TB/2010. Geneva, Switzerland: WHO, 2011
- ▶ Duyarlılığı >% 85 ve özgüllüğü % 97 olan hızlı, etkin ve yaygın kullanıma sahip moleküler tanı testlerinin uygulanmasıyla, her yıl 400,000 yaşam kurtarılabileceği tahmin edilmektedir. Parsons LM et al. *Clin Microbiol Rev* 2011;24(2):314-50.

Ticari hızlı moleküler direnç tanı testleri

▶ Xpert® MTB/RIF

- RT-PCR
- Test süresi: 2 saat
- RİF direncini saptamakta

▶ *Genotype* MTB-MDRplus/ *Genotype* MTBDRplus ver2.0

- PCR + Ters hibridizasyon
- İNH+RİF

▶ Inno Lipa

- PCR + Ters hibridizasyon
- RİF direnci



Xpert® MTB/RIF

	Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
ARB/Kültür (+) (SYÖ)	>% 95	97–100	%32–90	
ARB (-)/Kültür(+) (SYÖ)	% 48–90	97–100		

- ▶ PPD –RIF direnç prevalansı ile ilişkili:
 - Prevalans %15’den fazla ise PPD % 90’ın üzerinde,
 - Prevalans % 2 ise PPD % 49
 - prevalans % 1 ise PPD % 32
- ▶ Mikroskopisi negatif örneklerdeki duyarlılık incelenen örnek sayısı birden üçe çıkarılınca anlamlı derecede artmaktadır (% 72,5’den %90)
Boehme et al. N Engl J Med 2010;363:1005–15
- ▶ Mikroskopisi negatif solunum yolu dışı TB olgularında testin duyarlılığı % 37’ye kadar düşmektedir. *Arman S et al. J Clin Microbiol. 2011 May; 49(5): 1772–6*



GenoType MTBDR/ MTB Drplus

	Duyarlılık	Özgüllük
ARB/Kültür (+) (SYÖ)	RIF:%99 INH:%94	%99–100
ARB (-)/Kültür(+) (SYÖ)	RIF:%86 INH:%62	%97–98

GenoType MTBDRplus testinin mikroskopi negatif veya basilin nadir olduğu balgam örneklerinde kullanılmaması önerilmekte.

Dorman SE et al. [*J Clin Microbiol*](#) 2012 [Epub ahead of print]

Genotype MTBDRplus ver2.0 : Mikroskopi pozitif ve negatif klinik örneklerdeki *M. tuberculosis*'in tespiti yanında RİF ve INH direncini % 94 duyarlılık ve % 96 özgüllükle saptayabilen yeni versiyon.

Crudu V et al. [*J Clin Microbiol*](#) 2012 [Epub ahead of print]



Line probe assay (Innolipa, LiPA):

	Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD
ARB(+)/Kültür (+)	%93–95	%99	%88–93	%99.6

LiPA testi mikroskopi pozitif olan örneklerde RİF direncinin gösterilmesinde kültüre göre 32, 2 gün daha erken sonuç vermiştir.

Seoudi N et al. [Thorax](#) 2012. [Epub ahead of print]



M.tuberculosis Suşlarının Rifampisine Direncinin Belirlenmesinde GeneXpert MTB/RIF'in Değeri

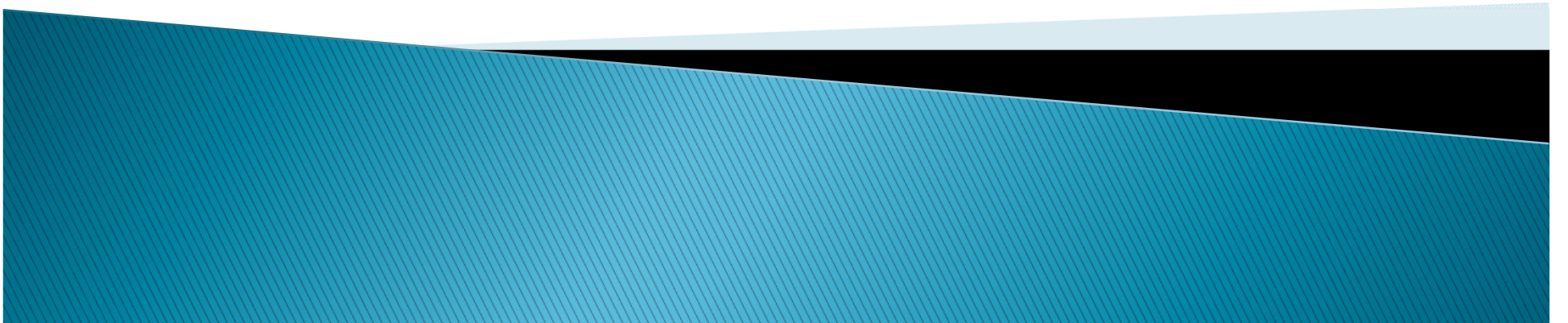
Gonca Erköse Genç, Dilek Şatana, Zayre Erturan, Meltem Uzun. AKG Poster no: 10, 2012

- ▶ Solunum yolu (n=121) ve solunum yolu dışı (n=133) toplam 253 örnekler:
 - Kültür ve GeneXpert MTB/RIF ile incelenmiş
- ▶ Bactec TB460 ile 44 suşa duyarlılık deneyi uygulanmış:
 - 37 (%84,1) suş RIF'e duyarlı,
 - 7 (%15,9) suş direncli
- ▶ GeneXpert MTB/RIF ile de aynı sonuçlar elde edilmiş
 - Duyarlılık ve özgüllük %100
 - Hastaların %16,9'una iki saatte RIF direnç tanısı konulmuştur



HIZLI MOLEKÜLER DİRENÇ TESTLERİ

NE ZAMAN? **NEREDE?** **NASIL** KULLANILMALI?



Moleküler yöntemlerle direnç tespiti hangi durumlarda faydalıdır

- ▶ Dirençli TB şüphesi olan hastalar,
- ▶ Tedavisi ilaç duyarlılık sonucuna göre yeniden düzenlenecek olan çok kritik hastalar,
 - Standart ilk seçenek ilaçlarla tedavisi devam etmesine rağmen durumunda düzelme olamayanlar.
- ▶ Kaynak vakanın dirençli TB basili olduğu salgın veya temaslı araştırmalarında,
- ▶ TB ve HIV ile infekte veya hemodiyaliz alan immünsüprese kişiler,

▶ *M. tuberculosis* ve diğer mikobakterilerle karışık olan izolatlarda

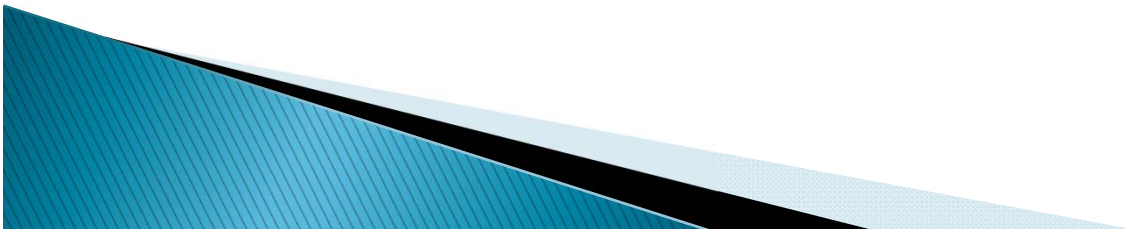
▶ <http://www.cdc.gov/tb/topic/laboratory/rapidmoleculartesting/default.htm>. Page last reviewed: July 1, 2011

WHO önerisi-1

- ▶ WHO, ÇİD–TB veya HIV–TB’nin yaygın olduğu ülkeler için, **mikroskobiyi** *Xpert MTB/RIF* testinden veya radyografik taramadan bile sonra gelen **ikinci bir** seçenek olarak onaylamış, mikroskobiyi ise tedavinin takibinde ilk seçenek test olarak önermiştir.

WHO/HTM/TB/2011.2. Geneva, Switzerland: WHO, 2011 .

- ▶ Peki bu öneri her ülke/koşul için geçerli mi???



WHO önerisi-2

- ▶ TB hastaları arasında HIV'in çok yüksek olduğu Sahra-altı Afrika ülkeleri için durum ne?
- ▶ Bu ülkelerde, primer RİF direnç yaygınlığı $< 4\%$ (WHO progress report 2011. WHO/HTM/TB/2011.3. Geneva, Switzerland: WHO, 2011.)
- ▶ ÇİD-TB ve HIV arasındaki ilişkiyi destekleyen kanıtlar çelişmektedir (Suchindran S. et al *PLoS ONE* 2009;4:e5561).
- ▶ HIV ile infekte ya da infekte olmaya bakmaksızın, ÇİD prevalansının düşük olduğu bireylerdeki *Xpert MTB/RIF*'in vermiş olduğu RİF direnç sonucunu yorumlamada ihtiyatlı olmak gereklidir. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15(12):1567-72.
 - **Bağlayıcı faktör ÇİD-TB prevalansı**



Maliyet-etkin

- ▶ Popülasyondaki ÇİD–TB prevalansının bilinmesi çok önemlidir.
- ▶ Peru’da *Genotype MTBDRplus*’ında aralarında olduğu üç hızlı yöntemin farklı TB hasta grubunda (Yeni TB hastası, önceden tedavi görmüş TB) maliyet etkinlik çalışmaları karşılaştırılmıştır.
- ▶ Hasta ayrımı yapmaksızın genel olarak bakıldığında ülkenin Sağlık Bakanlığı verilerine göre *Genotype MTBDRplus*’ın hasta başı maliyeti 176,4 dolar olarak hesaplanmıştır.
- ▶ Yeni hastalarda maliyet 720 dolar daha fazla, önceden tedavi görenlerde 360 dolar daha az olmaktadır. Solari L et al. [*Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2011;28\(3\):426–31.](#)
- ▶ Bu bulgulardan hareketle araştırmacılar moleküler testleri ÇİD–TB’nin yüksek prevalansa sahip olduğu gruplar için önermişlerdir.

Türkiye

- ▶ Verem Savaşı Dairesi Başkanlığının 2011 yılı raporuna göre ülkemizde 2009 yılında 17,402 (**15, 493 yeni olgu**) tüberküloz hastası var.
- ▶ İlaç duyarlılık testi yapılan 4,320 hasta izolatının % 5,1'i (222 kişi) çok ilaca dirençli bulunmuş
 - ÇİD oranı yeni olgularda % 2,9 (99 hasta),
 - Önceden tedavi görmüş olgularda % 20,5 (123 hasta) olarak saptanmıştır.
Türkiye'de Verem Savaşı 2011 Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Yayını No.845, Ankara (2011)
- ▶ Moleküler direnç testlerinin Türkiye'deki ÇİD-TB temas öyküsü olmayan yeni TB vakalarında kullanılmasının maliyet-etkin olmadığı ortaya çıkmaktadır.

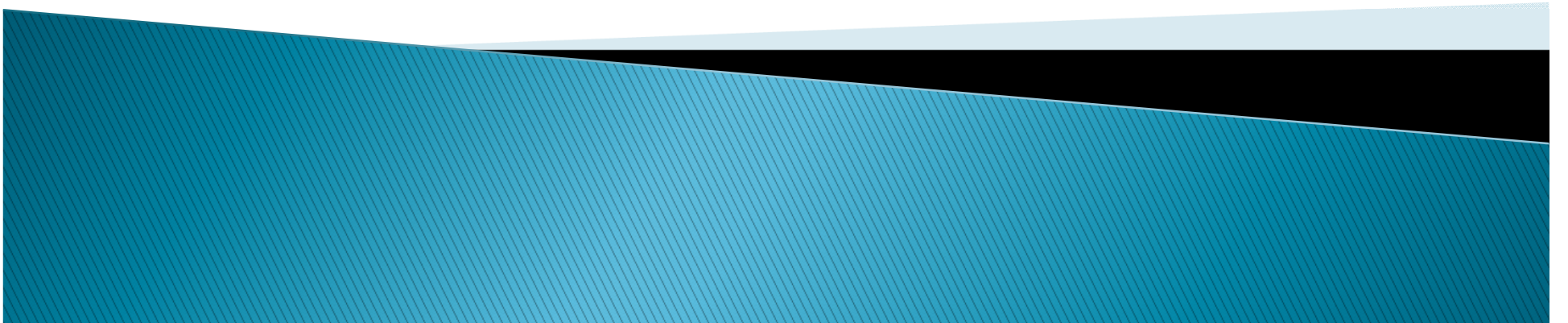


Moleküler testler, konvensiyonel testlerin yerini alabilir mi?

- Moleküler direnç testleri, dirençli ve duyarlı bir bakteri karışımındaki dirençli bakterilerin oranını saptamada proporsiyon testi kadar duyarlı değil.
- Moleküler duyarlılık testleri RİF için çok yararlı, INH için daha az etkindir. Üzerinde çalışmalar olmakla birlikte diğer ilaçlar için henüz tatminkâr sonuç alınamamaktadır.
- Yalancı pozitif ve negatif moleküler direnç test sonuçları olmaktadır.
 - Konvansiyonel test sonuçları referans alınmalıdır
-
- Moleküler testlerin maliyeti yüksektir: \$8 – \$30 /örnek arasında değişmektedir.



HIZLI DİRENÇ SAPTAMA TESTLERİNİN TANI ALGORİTMASINDAKİ YERİ



Tanı algoritması-1

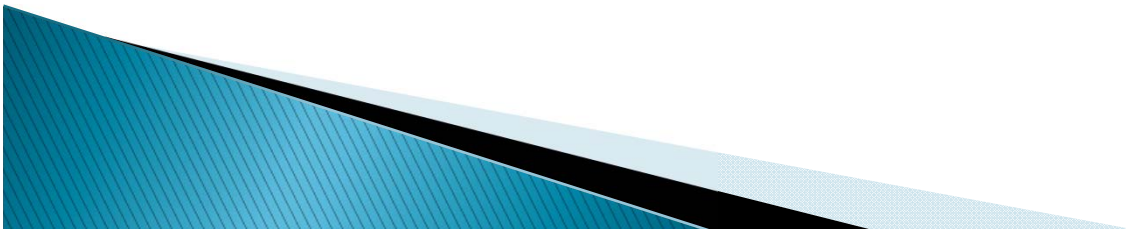
- ▶ WHO'nun ÇİD-TB şüphesi olan hastaların laboratuvar tanısı için önermiş olduğu algorithmada;
 - ▶ Alınan örnekler ilk olarak mikroskopi ile incelenir.
 - **I-Mikroskopi pozitif ise moleküler test ile ÇİD-TB araştırılır.**
 - **Moleküler test direnci gösterdiğinde iki seçenek vardır:**
 - Birinci seçenekte antibiyotik tedavisine başlanır, üç ay sonra kültür yapılarak tedavinin etkinliğine bakılır. Kültür pozitif ise ikinci seçenek ilaçlara duyarlılık testi yapılır.
 - Diğer seçenek olarak, beklemeden ikinci seçenek ilaçlara duyarlılık testinin uygulanmasıdır
- Moleküler test sonucunda direnç saptanamaz ise;**
- ÇİD-TB açısından düşük riske sahip olan popülasyon için moleküler test sonucuna göre suş duyarlı rapor edilir.
- ÇİD-TB açısından yüksek risk var ise *Genotype MTBDRs/* testi ile ikinci seçenek ilaçlara duyarlılık araştırılabilir.



Tanı algoritması-2

► II.Mikroskobisi negatif

- Sıvı besiyerlerinde kültür yapılmalı, pozitif kültürlerden moleküler yöntemlerle direnç araştırılmalıdır.
- HIV ile infekte ÇİD-TB şüpheli hastalarda mikroskobi negatifliği yaygın olduğundan algoritmaya *Xpert MTB/RIF* sistemi eklenebilir.
- *Genotype MTBDRplus ver.2.0* testinin mikroskobi negatif örneklerdeki kullanılabilirliği dikkate alındığında, ÇİD-TB olasılığı yüksek olan hastalar için mikroskobiden sonra algoritmaya girme potansiyeli vardır.



Sonuç

- ▶ ÇID–TB prevalansının düşük olduğu durumlarda *Xpert MTB/RIF* testinin vermiş olduğu RIF direnç sonucunun sıklıkla doğrulanmasına gereksinim vardır.

