



Gram Pozitif Bakteriler ve Duyarlılık Testleri

Güner Söyletir

Olgu 1

35 y, erkek hasta

Karın bölgesinden kurşun yaralanması sonucu cerrahi.

Cerrahiden 2 gün sonra yara enfeksiyonu

⇒ Saf kültür *S. aureus*

Olgu 1

ADT

Klindamisin	S	
Eritromisin	S	
Oksasilin	R	⇒ MRSA
Penisilin	R	
Gentamisin	S	
TMP/SXT	S	
Vankomisin	S	

Olgu 1

Soru 1:

Bu sonucu bildirmede yaklaşımınız ne olur?

a) Sonuçlarda hiçbir sorun yok; olduğu gibi bildiririm

☒ b) Duyarlılık testini tekrarlarım

c) Vankomisini kısıtlar, diğerlerini bildiririm

Olgu 1

Klindamisin	S
Eritromisin	S
Oksasilin	R
Penisilin	R
TMP/SXT	S
Gentamisin	S
Vankomisin	S

- Hastane kaynaklı MRSA genellikle diğer a.b.lere de dirençlidir.
- Özellikle metisilin direnci doğrulanmalıdır

Test tekrarı ⇒ **MRSA**

Olgu 1

Soru 2. Bu olguda MRSA'nın kaynağı nedir?

- a) Toplum kaynaklı
- b) Hastane kaynaklı
- ☒ c) Ayırt edilemem

HK-MRSA

MRSA

Diğer ABler

(MLSB, tetra, AG,
TMP/SXT, FQ)

Cipro d.

Ün Basit ve Kesin ayırdedici test yok
MLST/SCCmec veya spa tiplendirme

Evet?

Daha yavaş

Daha hızlı

Olgu 1

Soru 3. Böyle bir ADT sonucunda hangi antibiyotikleri kısıtlamak istersiniz ?

Klindamisin	S
Eritromisin	S
Oksasilin	R
Penisilin	R
TMP/SXT	S
Gentamisin	S
Vankomisin	S

- a) TMP/SXT
- b) Vankomisin
- c) Gentamisin
- ☒ d) Vankomisin ve gentamisin
- e) Hiçbiri, hepsini raporda bildiririm

Klindamisin
Eritromisin
Oksasilin
Penisilin
TMP/SXT

Grup A
Test et, bildir

Klindamisin	S
Eritromisin	S
Oksasilin	R
Penisilin	R
TMP/SXT	S
Gentamisin	S
Vankomisin	S

Vankomisin → Grup B, kısıtlı

Gentamisin → Grup C, kısıtlı.

Rutin olarak bildirilmemeli,
Invaziv enf.larda kombinasyonda

CA-MRSA Enfeksiyonlarında Tedavi

John G. Bartlett, MD Posted: 06/08/2011,
Medscape Infectious Diseases

İlaç

Direnç

TMP-SMX

≤ 10%

Doxycycline,
Minocycline

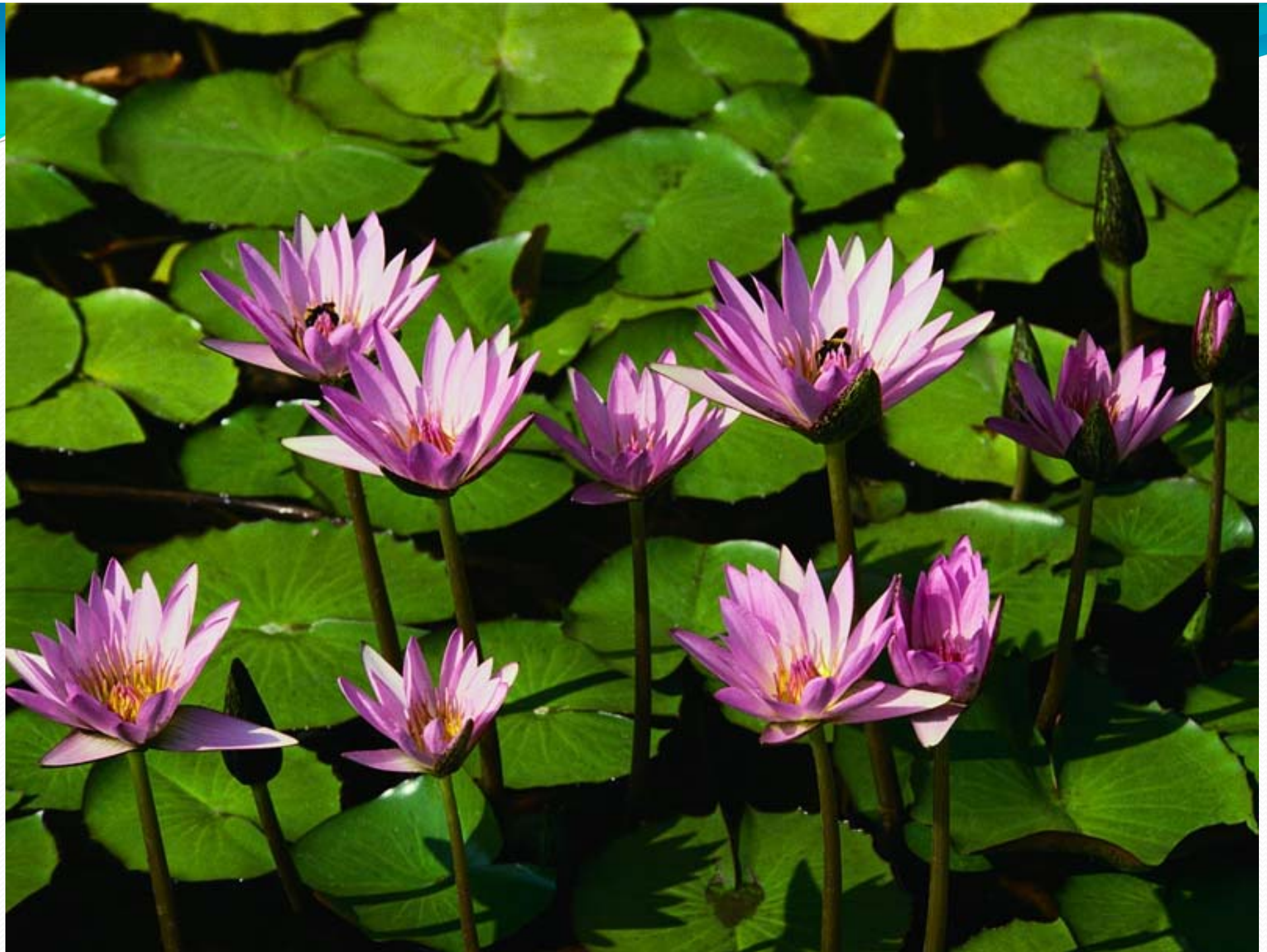
9%-24%

Clindamycin

3%-24%

Rifampin

< 1%



Olgu 2

Kan kültürü:

Enterococcus faecalis

Ampisilin	R
Vankomisin	R
Y.D. Gentamisin	R
Y.D. Streptomisin	R
Daptomisin	S
Linezolid	S

Olgu 2

Soru 1. Bu sonucu bildirmedi yaklaşımınız ne olur?

a) Sonuçlarda hiçbir sorun yok; olduğu gibi bildiririm

b) Duyarlılık testini tekrarlarım, çünkü enterokoklar genellikle linezolide dirençlidir

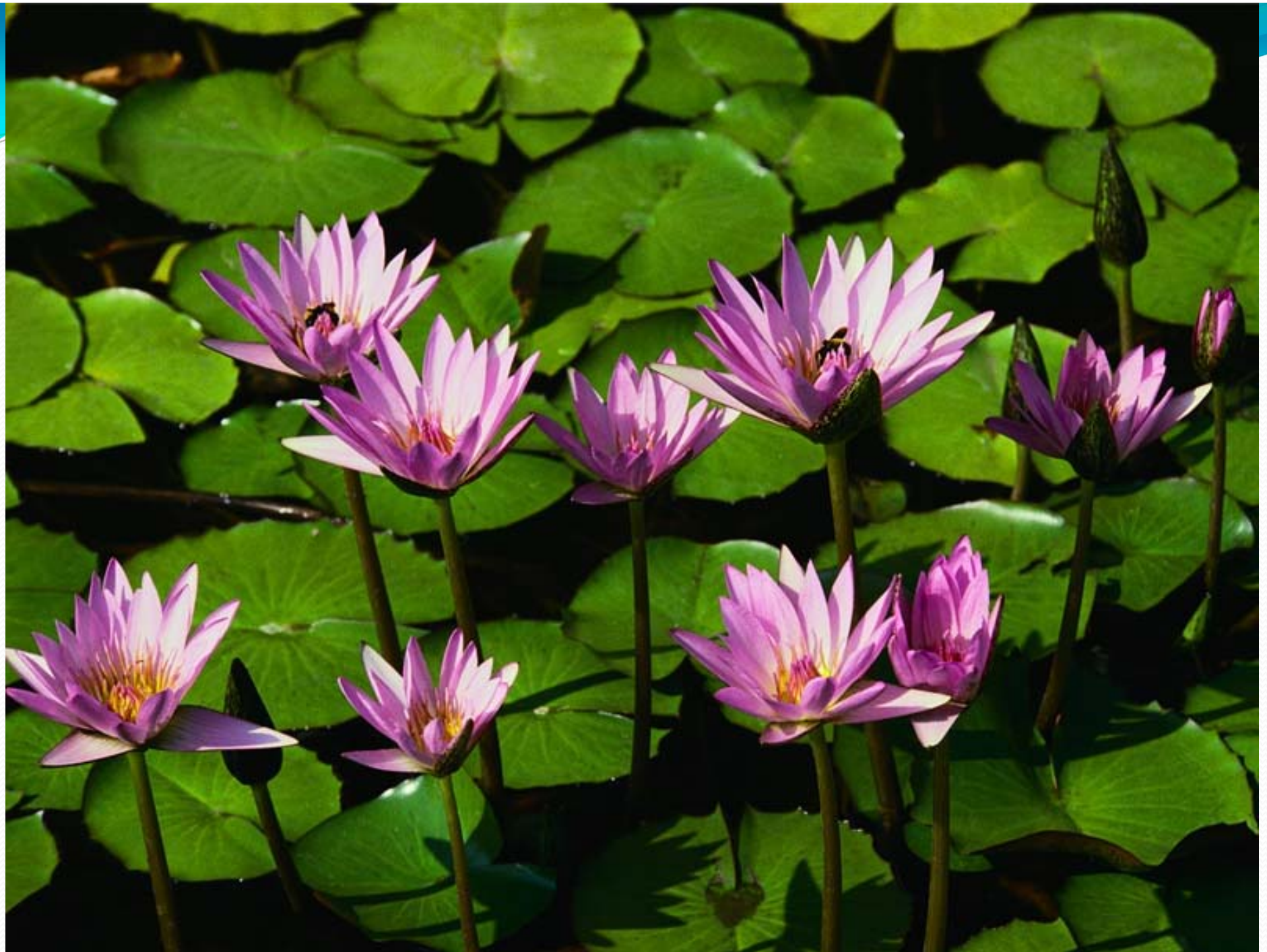
c) Bakteriye yeniden tanımlarım

Olgu 2

(c) Bakteriyi yeniden tanımlarım, çünkü ;

a) E. faecalis nadiren,
E.faecium genellikle $\Rightarrow$ ampisiline dirençli

b) VRE'ler $\Rightarrow$ nadiren E. faecalis,
genellikle E.faecium



Olgu 3

45y, erkek

Parmakta kesi sonrası yara enf.

4 gün sonra ateş, üşüme, titreme

Başvuruda;

Ateş: 38,7°C Kan B: 110/70 mmHg

Lökosit: 15.000 / mm³

Olgu 3

Yara Kültürü

Kan Kültürü

Gram(+) kok
Staphylococcus aureus

Olgu 3

Klinik Mikrobiyoloji Lab.

Hızlı tanı:

PBP2a (lateks) - Negatif
mec A PCR - Negatif

MSSA

Olgu 3

MSSA

AST

Penisilin	R
Eritromisin	S
Klindamisin	S
TMP/SXT	S
Siprofloksasin	S
Fusidik asit	S
Vankomisin	S

Olgu 3

i.v. ampicilin sulbaktam başlanıyor
→ İyileşme Ø

Metisilin direnci için fenotipik test :

FOX - 16 mm R

≥ 22 S ≤ 21 R

i.v vankomisin + rifampin



Klinik iyileşme

Olgu 3

Özet:

İzolat: *S aureus*

PBP2a lateks agg. (-)

mec A PCR (-)

AMA,

FOX disk

R

Olgu 3

Soru.

Test sonuçlarını nasıl değerlendirirsiniz ?

a) MSSA, çünkü mec A PCR ve PBP2a negatif

b) MRSA, çünkü FOX disk R . Muhtemelen mec A PCR ve PBP2a testleri, yalancı negatif

c) Böyle bir sonuç olası değil, tanımlama ve direnç testleri tekrarlanmalı

Olgu 3

FOX → PBP2a indükleyicisi
mec A varlığının göstergesi

İzolat:
MRSA

Yeni *mec A* geni



mecALGA251 (*mec B* ?)

Klasik MRSA

Yeni MRSA

FOX R
OX I/R

FOX R
OX I/R

Mec A(+)
PBP2a (+)
 β laktam &
non- β laktam R

Mec A(-)
PBP2a (-)
 β laktam R
non- β laktam S

Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study



Laura García-Álvarez, Matthew T G Holden, Heather Lindsay, Cerian R Webb, Derek F J Brown, Martin D Curran, Enid Walpole, Karen Brooks, Derek J Pickard, Christopher Teale, Julian Parkhill, Stephen D Bentley, Giles F Edwards, E Kirsty Girvan, Angela M Kearns, Bruno Pichon, Robert L R Hill, Anders Rhod Larsen, Robert L Skov, Sharon J Peacock, Duncan J Maskell, Mark A Holmes

**Lancet Infect Dis 2011
11:595 -603**

Human MRSA isolates from collections of

- Health Protection Agency (London)
- Scottish MRSA Reference Lab. (Glasgow)
- National MRSA Reference Lab., Statens Serum Institut (Copenhagen, Denmark)

~ 120 000 klinik izolat
Fenotipik testlerle MRSA

mec A ve *mec ALGA251* için

PCR



74 *mec A* (-) isolates



51 *mec ALGA251* (+)

***mec* ALGA251 (+) izolatların(n=51) Fenotipik Özellikleri**

Drug	MIC range mg/L	MIC 50 mg/L	MIC 90 mg/L
OX	0.75 - 32	4	16
FOX	4 - 64	8	24

ECCMID 2012

MRSA harbouring *mecA*-LGA251, a new highly divergent *mecA* variant: performance of the methods used in routine labs to screen, detect and confirm methicillin resistance

111 *mecA*-LGA251 (+) izolat
(İngiltere, İskoçya, Danimarka, Fransa)

- Kromojenik selektif b.y.de üreme
MRSA Select (bR), ChromID MRSA (bM), CHROMagar MRSA II (BD), Brilliance MRSA 2 (Oxoid)
- Otomatize sistemde MRSA tanımlama
Vitek, Phoenix, Microscan
- PBP2a → FOX ile indüksiyon
(önce ve sonra)

MRSA harbouring mecA-LGA251, a new highly divergent mecA variant: performance of the methods used in routine labs to screen, detect and confirm methicillin resistance

- ❖ Kromojenik b.y.de üreme -
%63.6 - 99.1
- ❖ Otomatize sistemde tanımlama -
%76.6- 97.3
- ❖ PBP2a 
 - % 9.1 (indüksiyondan önce)
 - % 100 (indüksiyondan sonra)

Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*

CMI, April 2012

Danimarka, 2 aylık dönem

203 MRSA izolatı → 12 *mecA*_{LGA251}

➔ % 5.9

➔ **Yeni MRSA'lar ve rutin laboratuvar ?**

mecALGA251(+) S.aureus

Epidemiyolojik, Fenotipik ve Genotipik Özellikler

- Avrupada yaygınlaşıyor
(İngiltere, Danimarka, Almanya, Fransa)
- Hayvan orijinli(sığır)
- Yeni SCCmec tipinde yerleşik (tip XI)
- Klasik mecA geni ile % 60-70 benzerlik
→ (-) mec A PCR
- Beta laktamlara R, non-beta laktamlara S

mecALGA251(+) S. aureus

Epidemiyolojik, Fenotipik ve Genotipik Özellikler

- FOX MIK: 4 - 64 mg/l

MRSA seçici

- Mevcut

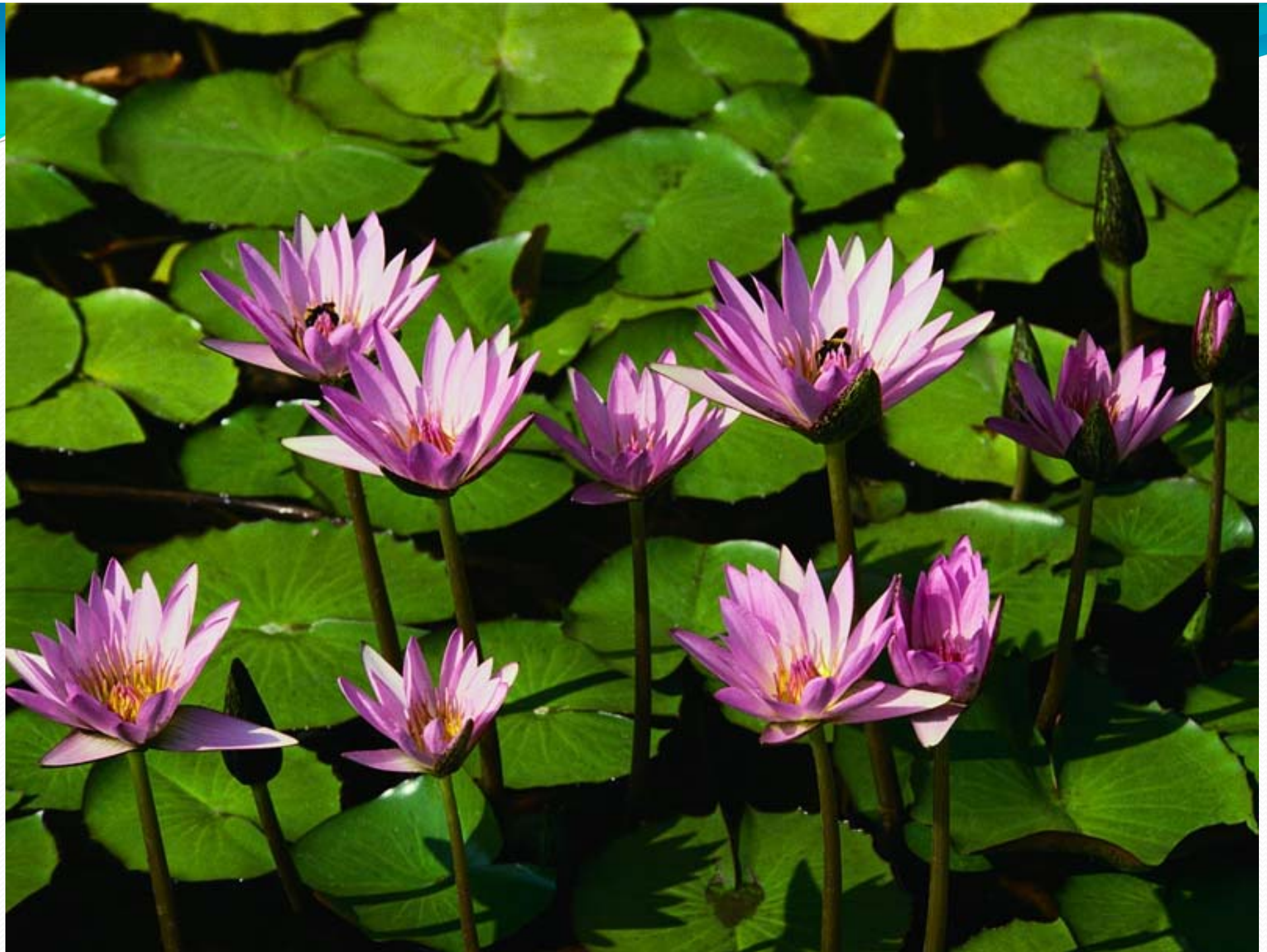
Sadece Hızlı Tanı

Kullanmayınız

ureme ??

atif

Indüksiyondan sonra pozitif



Olgu 4

Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2011, 10:15

73 y, kadın hasta
Ekstremitelerde ani güçsüzlük şikayeti ile
hastaneye başvuruyor

Başvuruda;

Ateş Ø

BBT Normal

Öyküsünde; romatizmal kapak hastalığı

48 saat sonra (7 Nisan 2009) ;

ateş : 38°C

Şuur bulanıklığı → YBÜ'ne nakil

Olgu 4

3 kan kültüründe MRSA

Transtorasik ekoda aort kapığında
vejetasyonlar



MRSA enfektif endokarditi

Olgu 4

Antibiyotik Duyarlılık Testi

Eritromisin	R
Klindamisin	R
Siprofloksasin	S
Gentamisin	S
Rifampisin	S
TMP/SXT	S
Linezolid	S
Daptomisin	S
Vankomisin	S

Vankomisin
MIK:1 µg/ml

Olgu 4

Vankomisin 2 x 15mg/ kg başlanıyor

2 gün sonra (9 Nisan 2009);

Ateş :39.2°C

Hipotansiyon

Nörolojik semptomlar

4 gün sonra (14 Nisan 2009);

Çekilen beyin MRI → Çok sayıda apse

Olgu 4

Tekrar 3 kan kültürü alınıyor,
Vankomisine TMP/SXT ekleniyor

Bu tedavinin 3. gününde hasta hala ateşli

Kan kültürü → MRSA

ADT sonuçları : vankomisin dışında aynı,

Vankomisin MİK : 2 µg/ml (S)

Olgu 4

Soru: Bu hastada vankomisine yanıtsızlık neden kaynaklanmış olabilir?

- a) İzolat MRSA değil, MSSA'dır. MSSA'ların yanıtı daha kötüdür. MR testini tekrarlarım
- b) Vankomisin duyarlılığında bir sorun var
- c) Hasta yaşlı ve genel durumu kötü. Bu nedenle tedavi başarısız
- ☒ d) a ve b doğru
- e) Hepsi doğru

Olgu 4

- ❖ a şıkki teorik olarak doğru, ancak bu hastanın izolatu MRSA
- ❖ Bu hastada
 1. izolat: Vankomisin MİK: 1 $\mu\text{g/ml}$
 2. izolat: Vankomisin MİK: 2 $\mu\text{g/ml}$
- ❖ hVISA olasılığı ????

CLSI: Vankomisin MİK sınır değeri $\leq 2 \mu\text{g/ml}$

Olgu 4

2. izolat;

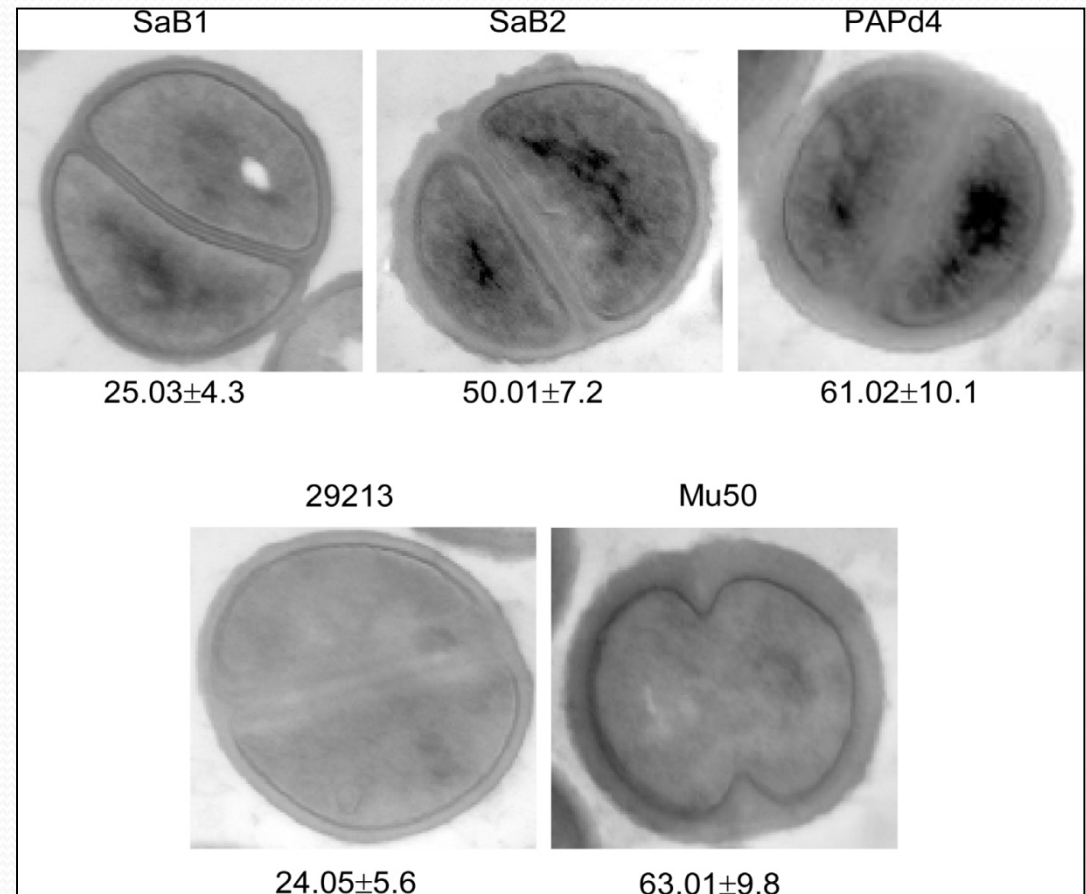
Makrometod E-test

GRD E-test

PAP



h VISA



Staphylococcus aureus - Vankomisin

MIC, $\mu\text{g/mL}$

VSSA

≤ 2

hVISA

1-2

VISA

4-8

VRSA

≥ 16

hVISA

Türkiye 2011 Sancak B ve ark

Çok Merkezli Çalışma (175 MRSA)

- Vanko MIK: 2 $\mu\text{g/ml}$ $\rightarrow$ % 40,6
- hVISA: % 22.5

hVISA saptanması

Disk Diffüzyon

Otomatize Sistemler

Invaziv enfeksiyonlarda

Yetersiz



Teşekkür Ederim

hVISA saptanması

Makro-E test

İnokulum : 2.0 McFarland

100 μ l $\rightarrow$ 90mm BKI agar plağı

24/48 s. inkübasyon

Vankomisin ≥ 8 + Teikoplanin ≥ 8

Teikoplanin ≥ 12

	Duyarlılık	Özgüllük	
Sancak B ve ark (2011)	%58.3	%92.1	24s
Leonard SN,et al (2009)	%83	%94	48s

hVISA saptanması

E test GRD

İnokulum : 0,5 McFarland (MHB' de)

%5 KK Mueller Hinton

Kalite kontrol:

S. aureus ATCC 29213 (MSSA),
 ATCC 700699 (GISA)
 ATCC 700698 (hGISA)



hVISA saptanması

E test GRD

GISA / hGISA $\rightarrow$ VA veya TP $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ (GRD)

i) GISA $\rightarrow$ standart VA $\geq 4 \mu\text{g/mL}$

ii) hGISA $\rightarrow$ standart VA $< 4 \mu\text{g/mL}$



Duyarlılık

% 77

% 93

Özgüllük

% 98

% 82

24s

48s

hVISA saptanması

Popülasyon Analizi- Altın Standart

- Tryptik soy agarda gecelik kültürden
→ TSB' ye inokulasyon
- 24 s inkübasyon → 0.5 MacFarland
- 10^5 CFU/ml → → → 10^2 CFU/ml (SF ile)



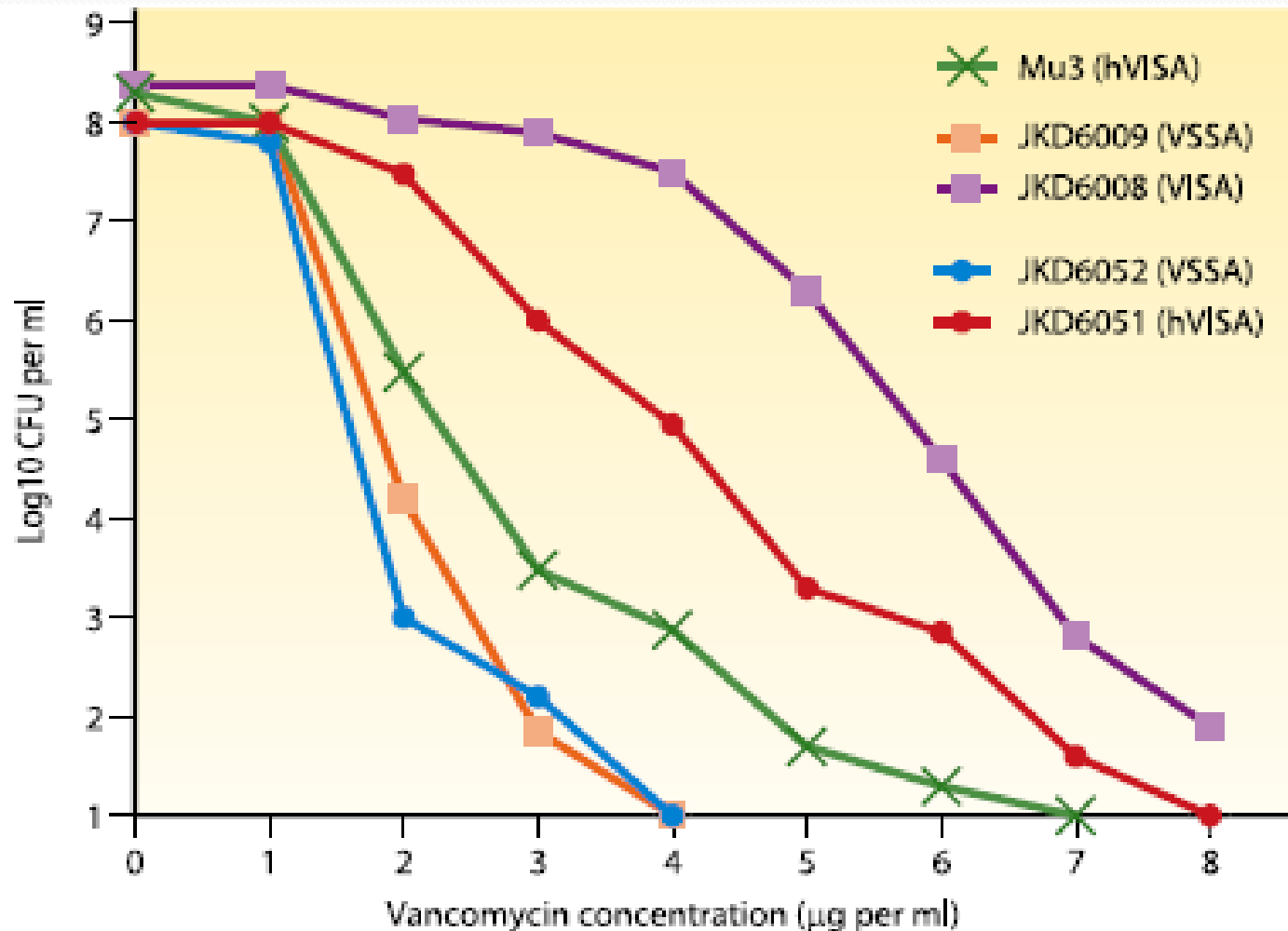
4, 6, 8, 12, 16 μ g/ml vankomisin
içeren BKI agara ekim



48 s inkübasyon → Koloni sayımı

hVISA saptanması

Popülasyon Analizi- Altın Standart



ECCMID 2012

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring *mecA*-LGA251, a new *mecA*-homologue: limited impact on the outcome of infective endocarditis treated with flucloxacillin in a rat model

Deney hayvanlarında *mecA*-LGA251(+) *S. aureus* ile enfektif endokardit modeli

Flukloksasilin ile tedavi başarısı : % 75-100



İzolatlar sefoksitin R ve PBP2a (+) olmalarına rağmen invaziv enfeksiyon, beta laktamla tedavi edilebiliyor !!