

ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTİ NE ZAMAN VE NASIL YAPILMALI ?

Prof. Dr. Nilgün Çerikçioğlu
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ A.D
2012

ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ (AFDT) İÇİN GEREKÇELER

- Etken patojene karşı – en az 2 ilacın etkinliği ?
- Tedavinin olası sonuçlarının belirlenmesi?
- Duyarlı organizma topluluğu içinde
 - Direnç gelişimi
- Yeni geliştirilen ilaçların
 - Tedavi edici potansiyeli
 - Etkinlik spektrumu

Frank C. Odds, 1997 (NCCLS)

I

► **Laboratuvar:**

- ❖ en üstün kalite kontrolü,
- ❖ en az teknik artefakt,
- ❖ İn vitro – in vivo sonuç???

► **Belirleyici olan**

- a) Hastanın dahili koşulları
- b) ilacın farmakokinetiği – farmakodinamiği

- ▶ İtrakonazol } in vitro direnç !
- ▶ Flukonazol } olumlu klinik yanıt %55

▶ Kitler ; M27-A uyumluluğu?

▶ Referans köken kullanımı?

▶ Sonuçlar tekrarlanabilir mi?

▶ **AFDT; Tedavinin başarısı için**

- **Ön görü değerinde (-)**
- **Öneri değerinde (+)**

(2)

- J.H. Rex, M.A Pfaller, 2002
- NCCLS M27-A
- Klinik Sonuçlar
- AFDT: Öngörüşel değere sahip

- G.Forrest, 2006

I

- Değişen epidemiyoloji

- Zigomikoz etkenleri

↑

- Scedosporium profilicans

↑

tedavisi

zor

- Albicans dışı türler ↑

- (FCZ direncinde artışla paralel)***

- Vorikonazole çapraz dirençde ↑

veya klinik başarısızlık ↑

(C.glabrata xx)

►AFDT önemli:



1. Hematolojik maligniteli hastalar,
2. Yoğun bakım hastaları,
3. Yeni doğanlar,
4. Kuruma ait azol direnç profilinin bilinmesi ve tedavinin optimize edilmesi

- E.M. Johnson, 2008
- Maya izolatlarında buyyon dilüsyon
(altın standart)
 - CLSI (M27-A2) (mikrodilüsyon)
 - EUCAST (24. saat, spektrofotometrik)
- Küfler CLSI (M38-A)

Standardizasyon ↑

YEAST-ONE SENSİTİTRE- CLSI UYUMU ↑ ||

- E TEST:
- (Mayalar-Aspergillus)- CLSI uyumu ↑???
- FCZ için GERÇEK DİRENÇ ?? Zon içi üreme
- C.tropicalis [(Trailing)]
C.neoformans
(Buyyon dilüsyon ile testin tekrarı !!!!)

M.Cuenca Estrella ve ark, (2010)

► **Vitek 2 Antifungal Duyarlılık Sistemi**

► **CLSI ve EUCAST ile uyumu**

- **Candida türleri için > %97**
- **Cryptococcus neoformans için %92**

► **EUCAST- VİTEK 2 (Major Hata %2,6)**

► **CLSI - VİTEK 2 (Majör Hata %1.6)**

► **Hızlı sonuç (ortalama 15.5 saat)**

► **Güvenilir**

► **Kolay**

AFDT Endikasyonları I

[İFE: İnvazif Fungal Enfeksiyon]

Kan

Steril vücut sıvısı

Steril doku

Apse



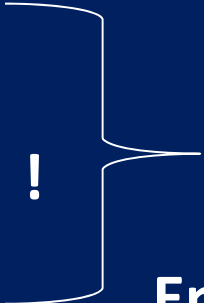
C.glabrata izolatu için
(Flukonazol, Vorikonazol
Ekinokandin)

- Geleneksel tedaviye yanıtıız mukozal kandidiyaz etkeni için
- Başlangıçtaki tedaviye yanıtıız İFE etkeni için
- İFE de kazanılmış (çapraz) dirençe bağı klinik başarısızlık varsa →izole edilen etken için

AFDT Endikasyonları

II

[İFE: invazif Fungal Enfeksiyon]

- ▶ AFD profili ?
 - ▶ AFD profili, yetersiz veri !
- 
- Albicans dışı nadir
IFE etkenleri için
Epidemiyolojik veri eldesi,
- ▶ C.krusei → interensek dirençli (AFDT yapılmaz) (1)

- **Küf etkenler için;**

III

- ❖ **Aspergillus tür düzeyinde tanımlanmalı**

- ❖ **Diğer küfler en az cins düzeyinde tanımlanmalı**

- ❖ **Rutin duyarlılık testi önerilmiyor**

Clinical breakpoints for common Candida species

Organism	Clinical breakpoints (in mcg/mL)			
	Susceptible	Susceptible dose-dependent	Intermediate	Resistant
C. albicans				
Caspofungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Anidulafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Micafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Fluconazole	≤2.0	4.0	-	≥8
Itraconazole	≤0.12	0.25-0.5	-	≥1
Voriconazole	≤0.12	-	0.25-0.5	≥1
C. parapsilosis				
Caspofungin	≤2	-	4	≥8
Anidulafungin	≤2	-	4	≥8
Micafungin	≤2	-	4	≥8
Fluconazole	≤2	4.0	-	≥8
Voriconazole	≤0.12	-	0.25-0.5	≥1
C. tropicalis				
Caspofungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Anidulafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Micafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Fluconazole	≤2.0	4.0	-	≥8
Voriconazole	≤0.12	-	0.25-0.5	≥1
C. glabrata				
Caspofungin	≤0.12	-	0.25	≥0.5
Anidulafungin	≤0.12	-	0.25	≥0.5
Micafungin	≤0.06	-	0.12	≥0.25
Fluconazole	-	≤32	-	≥64
C. krusei				
Caspofungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Anidulafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Micafungin	≤0.25	-	0.5	≥1
Fluconazole*	-	-	-	-
Voriconazole	≤0.5	-	1	≥2
C. guilliermondii				
Caspofungin	≤2	-	4	≥8
Anidulafungin	≤2	-	4	≥8
Micafungin	≤2	-	4	≥8

SON BREAKPOINT VERİLERİ / DEĞİŞİKLİKLER

- **C.glabrata** için FCZ S, S-DD, R breakpointleri ↑
- (**C.glabrata 800 mg / gün ile uyumlu**)
- **C.krusei** için VOR. breakpoint hafif ↑
- **C.glabrata** için VOR. breakpoint ?? (fungemilerde zayıf klinik yanıt - MİK korelasyonu yok o nedenle breakpoint de belirlenmemiş)
- **C.parapsilosis**
- **C.guilliermondii**
- **C.glabrata**; herbir Ekinokandin için breakpointler değişir
- **Nadir türler** için breakpoint yok (yeterli veri yok)

} için breakpointler ↑

CANDİDA GLABRATA FUNGEMİSİ

► AFDT yapılmalı mı, yapılmamalı mı ?

► **HAYIR** → Doğrudan (empirik) Ekinokandin tedavisi başlansın

► **EVET** → Flukonazol (S) ise tedavi böyle başlasın
(ucuz tedavi)

- Ekinokandin → FCZ a geçilsin (ucuzlayan tedavi)
- Tedavi süresi 14 gün
- 800 mg/gün FCZ
- Ekinokandinlere ‘yerel duyarlılık profili’ çıkarılmalı
- FCZ S-DD ise → olası direnç gelişimi habercisi !!! (6)

Filamentöz mantarlar için AFDT

I

- CLSI , M38-A2 , 2008

- ❖ *Aspergillus****

- ❖ *Fusarium*

- ❖ *Paecilomyces*

- ❖ *Scedosporium*

- ❖ *Trichoderma*

- ❖ Esmer küfler

- ❖ *Mucorales*

Filamentöz mantarlar için AFDT II

- CLSI , M38-A2 , 2008 (FCZ Ø)

❖ Amfoterisin B

❖ İtrakonazol

❖ Vorikonazol

❖ Posakonazol

Mik = üremenin Tam İnhibisyonu

TEKRARLANABİLİR

❖ Aspergillus

❖ Ekinokandinler

MEK (Minimal Efektif Konsantrasyon)

TEKRARLANABİLİR

KÜFLER İÇİN AFDT-KLİNİK SONUÇ KORELASYONU

Amfoterisin B

- A.terreus
 - A.fumigatus
 - Fusarium
 - S.prolificans
- MİK >1
Klinik BAŞARISIZLIK

İtrakonazol

- Aspergillus → MİK >8,0 Klinik BAŞARISIZLIK

Aspergillus fumigatus için

- İtrakonazol ≤ 1
 - Vorikonazol ≤ 1
 - Posakonazol $\leq 0,25$
- DUYARLI

(1)

DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ

► CLSI, M44-A, 2004

► **MAYALAR (hızlı sonuç)**

◦ **Candida Türleri**

- Flukonazol
- Vorikonazol
- Posakonazol
- Mikafungin
- Kaspofungin

► **KÜF MANTARLAR**

- Vorikonazol
- Posakonazol
- İtrakonazol
- Amfoterisin B

► **in vitro – klinik korelasyon ?**

Disk diffusion test of *Candida parapsilosis* at 24 hours



Antifungal susceptibilities are determined by measuring the diameter of the zone of inhibition in millimeters for each of the different antifungal disks. These are converted to susceptible, intermediate, or resistant using reference ranges determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute.

Courtesy of Michael Pfaller, MD.

TİCARİ MİK YÖNTEMLERİ

- E-TEST

Candida türleri

Cryptococcus neoformans

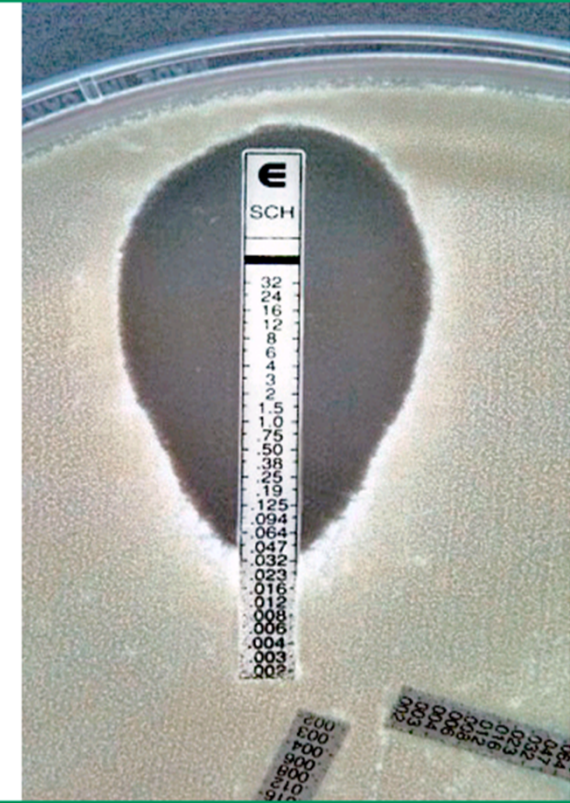


Amfoterisin B için duyarlılıkda
azalmayı saptamak üzere
güvenilir ve duyarlı***

- Diğer ilaçlar için değişken sonuçlar
- KÜF ler için: CLSI uyumlu (AGAR?)

(1)

Etest



The Etest method is based upon the establishment of a stable concentration gradient of an antimicrobial agent following diffusion from a plastic strip into an agar medium. When an Etest strip is placed upon an agar plate that has been inoculated with a test organism and incubated for 24 to 48 hours, an ellipse of growth inhibition occurs, and the intersection of the ellipse with the numeric scale on the strip provides an indication of the minimum inhibitory concentration (MIC).

Courtesy of Michael Pfaller, MD.

UpToDate

SENSITITRE YEAST-ONE

- **Candida türleri**
- **Cryptococcus neoformans**

Kolorimetrik
MIK ölçümü

CLSI buyyon dilüsyon uyumu

- Triazoller %95
- Ekinokandinler %100
- Aspergillus türleri → ??



VITEK 2 (MAYA) DUYARLILIK TESTİ

I

- ▶ Otomatize
- ▶ Spektrofotometrik
- ▶ EUCAST uyumlu
- ▶ Tanımlama- Duyarlılık (Eş zamanlı)
 - Amfoterisin B , Flukonazol, Vorikonazol,
Kaspofungin, Mikafungin, Flusitozin

- VITEK 2 (MAYA) DUYARLILIK TESTİ

II

- ▶ CLSI buyyon dilüsyon → %95 uyum

- ▶ Kolay, ortalama 15,5 saate sonuç

- ▶ Hata Sınıflama → çok küçük

- ▶ **in vitro direnç saptamada yararlı**

(6)

BAZI MAYA TÜRLERİNİN

DUYARLILIK MOTİFLERİ (GÜNCEL)

- Antifungallere Direnç Gelişmi Nedenleri
- İmmünokompromize hastalarda
- Flukonazol, Ekinokandin sıklıkla kullanımı ↑

General patterns of susceptibility of *Candida* species

Species	Fluconazole	Itraconazole	Voriconazole	Posaconazole	Flucytosine	Amphotericin B	Echinocandins
<i>Candida albicans</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>Candida tropicalis</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>Candida parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S	S to R*
<i>Candida glabrata</i>	S-DD to R	S-DD to R	S to R	S to R	S	S to I	S to R*
<i>Candida krusei</i>	R	S-DD to R	S	S	I to R	S to I	S
<i>Candida lusitanae</i>	S	S	S	S	S	S to R	S

I: intermediately susceptible; NS: nonsusceptible; R: resistant; S: susceptible; S-DD: susceptible dose-dependent.

* Echinocandin resistance among *C. parapsilosis* and *C. glabrata* isolates is uncommon.

Modified with permission from: Pappas, PG, Kauffman, CA, Andes, D, et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009; 48:503. Copyright © 2009 University of Chicago Press.

<http://www.journals.uchicago.edu/>

CANDIDA TÜRLERİ

CLSI-M27-A3

- Amfoterisin B

- C.albicans: en duyarlı tür****

- MİK 90 : 0,5

- C.glabrata

DUYARLILIK ↓

- C.krusei

- C.lusitaniae : Tedavi altında direnç

(1)

CANDİDA TÜRLERİ CLSI-M27-A3

• Azoller

- C.albicans
- C.parapsilosis
- C.tropicalis
- C.lusitaniae

FLUKONAZOL
MİK ≤ 2,0

- C.glabrata
- C.guilliermondii

FLUKONAZOL
DUYARLILIK ↓

- C.krusei

FLUKONAZOL, İNTRENSEK DİRENÇ

- Posakonazol
- Vorikonazol
- İtrakonazol

C.glabrata hariç
MİK < 1,0

(1)

CANDİDA TÜRLERİ CLSI-M27-A3

- Ekinokandinler
(Kaspofungin, Mikafungin, Anidulafungin)

– C.albicans	}	ÇOK DUYARLI (NADİR OLGULAR HARIÇ)
– C.glabrata		
– C.tropicalis		

– C.parapsilosis	}	MİK ↑
– C.guilliermondii		

– Bazı fungemi etkeni C.glabrata	}	Flukonazol	R
		Vorikonazol	R
		Ekinokandin	R

■ Öneri: CLSI buyyon dilüsyon ile direnç için tarama testi ***

(1)

CANDIDA TÜRLERİ CLSI-M27-A3

–Flusitozin

- Candida türleri : %95 , $MİK \leq 4,0$
- C.krusei : Sıklıkla dirençli !!!!!

(1)

DİĞER TÜRLER CLSI-M27-A3

I

- **Cryptococcus**
- **Trichosporon**
- **Rhodotorula**
- **Blastoschizomyces**

**EKİNOKANDİNLERE
İNTRENSEK
DİRENÇ !!!!!!!**

- **Trichosporon asahii** } **AMFOTERİSİN B ye direnç**

- **C.neoformans**
- **B.capitatus**

**FLUSİTOZİN için
MIK >4,0**

(1)

DİĞER TÜRLER CLSI-M27-A3

II

- C.neoformans
- Trichosporon türleri
- Saccharomyces türleri
- B.capitatus

FLUKONAZOL için !!!

MİK 90: 8,0

- Rhodotorula ⇒ Tüm Azollere Dirençli !!!!

- Vorikonazol
- Posakonazol

Candida dışı mayalara
ÇOK ETKİLİ

❖ Tür düzeyinde tanımlama

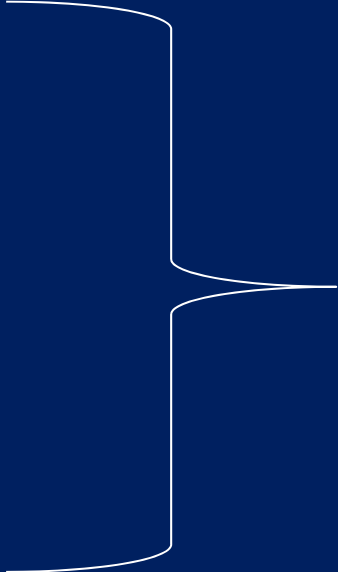
❖ Raporlarda bildirilmesi

(1)

KÜFLER

Amfoterisin B

- Aspergillus terreus
- Scedosporium prolificans
- Scedosporium apiospermum



DİRENÇLİ

❖ Tür tanımlanması

❖ Raporla bildirilmesi

KÜFLER CLSI M38-A2

AZOLLER

– Aspergillus türleri → TRIAZOLLERE HASSAS

– S.apiospermum

– S.prolificans

– Fusarium türleri

VORİKANAZOL (H)

POSAKONAZOL (H)

– Mucor ailesi → Posakonazol (H)

KÜFLER

EKİNOKANDİNLER

- ▶ Aspergillus türleri için MEK ↓
- ▶ Diğer küfler için MEK ↑

❖ İLK SEÇENEK İLAÇ DEĞİL

(1)

ÇAPRAZ DİRENÇ

◦ Candida Türleri:

• C.glabrata

Flukonazol (R)
Vorikonazol (R)
Posakonazol (R)

• Flukonazol ≤ 32

İtrakonazol (H)
Posakonazol (H)
Vorikonazol (H)



❖ ilk kan kültürü izolatu:

- C.glabrata → Flukonazol (R) ise



Vorikonazol ve Posakonazol tedavisinde
başarısızlık için **belirteç**

ÇAPRAZ DİRENÇ



–C.krusei

Flukonazol intrensek (R)



Vorikonazol (H)

Posakonazol (H)



ÇAPRAZ DİRENÇ

IV

EKİNOKANDİNLER

- Bir ekinokandine (R) → diğerlerine (R) !!!!!

(FKS-1 MUTASYONU)

- Kaspofungin (H) (>%98) → diğerlerine (H)

C.glabrata (bazı) kökenler

—Flukonazol (R)

—Vorikonazol (R)



—Ekinokandinler (R)



— 2001-2004 (%1)

— 2006 – 2010 (%10)

— Birlikte Direnç **

— Ekinokandin kullanımında ↑ !!!!!

ÇAPRAZ DİRENÇ ; KÜFLER

V

Azoller

- **Aspergillus fumigatus !!!!!!!!!!!**
 - (CYP51A) Mutasyonel → Triazol (R)
- **Flukonazol X İtrakonazol X Posakonazol**
- **Vorikonazol için çapraz (R) Ø**
- **Diğer mutasyonlar: Dört triazole (R)**
- Tedaviye yanıtızsız invazif Aspergilloz kökenleri
 - AFDT yapılması
 - Dirençli fenotiplerin tanımlanması

(1)

- **KAYNAKLAR**

1. Pfaller MA, Kauffman CA, Thorner AR. Antifungal susceptibility testing. <http://www.uptodate.com/contents/antifungal-susceptibility-testing>
2. Odds CF. Personal opinion: Can antifungal sensitivity tests predict clinical treatment outcomes? *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 83-84.
3. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *CID* 2002; 35: 982-985.
4. Forrest G. Role of antifungal susceptibility testing in patient management. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 538-543.
5. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. *J Antimicrobic Chemother.* 2008; 61 (Suppl 1): 113-118.
6. Cuaenca -_Estrella M, Gomez- Lopez A, Alastruey- Izquierdo A., et al. Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility System with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the Sensititre Yeast One and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1782- 1786.
7. Collins CD, Eschenauer GA, Salo SL, Newton DW. To test or not to test : a cost minimization analysis of susceptibility testing for patients with documented *Candida glabrata* fungemias. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1884-1888.