

Değerlendirme kılavuzu

**Antimikrobik duyarlılık testine yönelik
EUCAST disk difüzyon yöntemi**

Sürüm 4.0
Haziran 2014

EUCAST değerlendirme kılavuzu slayt gösterisinde yapılan değişiklikler

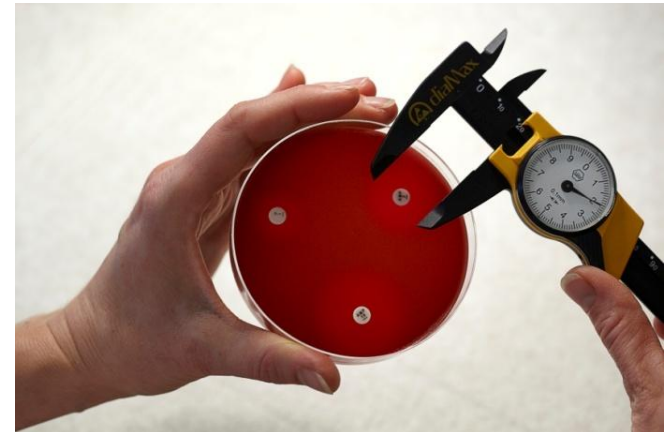
Sürüm	Değişiklikler
Sürüm 4.0 Haziran 2014	- Streptokoklar için belirsiz zon sınırlarına ilişkin bilgi eklendi, slayt 11. <i>S. maltophilia</i> ve trimetoprim-sülfametoksazol, <i>S. aureus</i> ve benzilpenisilin ve enterokoklar ve vankomisin için iyileştirilmiş resimler eklendi, slayt 17, 20 ve 21. - Stafilokoklar ve streptokoklarda indüklenebilir klindamisin direncinin saptanması için özel talimatlar eklendi, slayt 22 ve 23.
Sürüm 3.0 Nisan 2013	- Belirgin olmayan zon sınırlarının değerlendirilmesi hakkında açıklama eklendi; slayt 11. - Stafilokoklar <i>S. aureus</i> şeklinde değiştirildi; slayt 15 ve 21. <i>S. maltophilia</i> ve trimetoprim-sülfametoksazol hakkında bilgi eklendi; slayt 17. - Enterokoklar ve vankomisin hakkında ilave örnek; slayt 20.
Sürüm 2.0 Mayıs 2012	- Değerlendirme hakkında açıklama eklendi; slayt 3, 9, 10 ve 22. - Zon içindeki kolonilere ilave örnekler; slayt 6. - Stafilokoklar için belirgin olmayan zon sınırları hakkında ilave örnek; slayt 10. β-hemoliz hakkında örnek; slayt 13. <i>S. maltophilia</i> hakkında özel talimatlar; slayt 17. <i>E. coli</i> ve mesilinam hakkında özel talimatlar; slayt 19. - Enterokoklar ve vankomisin hakkında ilave örnek; slayt 20. - Stafilokoklar ve benzilpenisilin hakkında özel talimatlar; slayt 21.
Sürüm 1.1 Aralık 2010	Enterobacteriaceae ve ampisilin hakkında açıklama eklendi, slayt 3 ve 17.
Sürüm 1.0 Nisan 2010	EUCAST değerlendirme kılavuzu slayt gösterisi EUCAST web sitesinde ilk kez yayınlandı.

Zonların değerlendirilmesi

- İnhibisyon zonu çaplarının değerlendirilmesine yönelik aşağıdaki talimatlar, EUCAST disk difüzyon yönteminin bir parçası niteliğindedir.
- Plaklar, çıplak gözle gözden 30 cm uzakta tutularak değerlendirilip, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta olarak değerlendirilmelidir (istisnalar ve özel okuma talimatları için slayt 15-23'e bakınız).
- Zon çapları bir cetvel, çap ölçer (kumpas) veya bir otomatik zon ölçer ile ölçülmelidir.

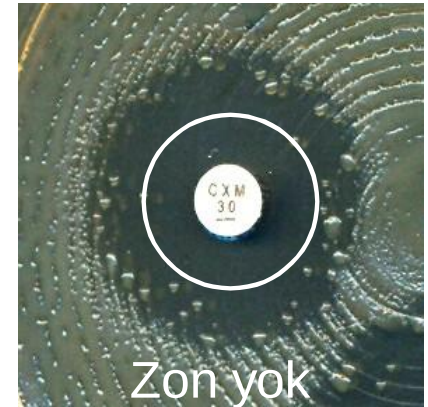
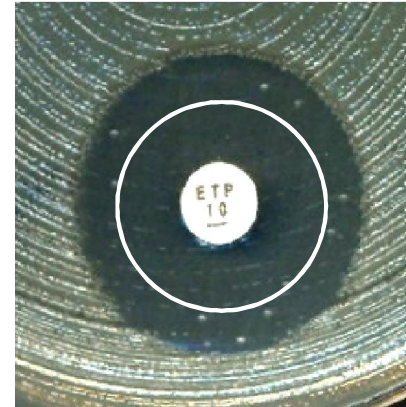
Zonların değerlendirilmesi

- **MH** plakları, yansıyan ışıkla aydınlatılmış koyu renkli bir zemin üzerinde, plağın tersinden değerlendirilmelidir.
- **MH-F** plakları, kapakları çıkarılmış ve yansıyan ışıkla aydınlatılmış halde, plağın ön yüzünden değerlendirilmelidir.



Zon içindeki koloniler

- Zonlar içerisinde belirgin koloniler bulunması durumunda koloniler pasajlanarak, kültürün saflığı kontrol edilmeli ve gerekli durumlarda test tekrar edilmelidir.
- Zonlar değerlendirilirken, kontaminasyon niteliğinde olmayan koloniler dikkate alınmalıdır.



İçinde koloni bulunan zonların değerlendirilmesi

Zon içindeki koloniler

- Zonlar içerisinde belirgin koloniler bulunması durumunda koloniler pasajlanarak, kültürün saflığı kontrol edilmeli ve gerekli durumlarda test tekrar edilmelidir.
- Zonlar değerlendirilirken, kontaminasyon niteliğinde olmayan koloniler dikkate alınmalıdır.

GSBL (+)
E. coli



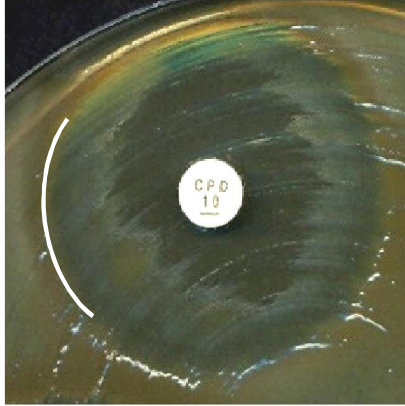
PBP mutasyonlarına
sahip *H. influenzae*



İçinde koloni bulunan zonların değerlendirilmesi

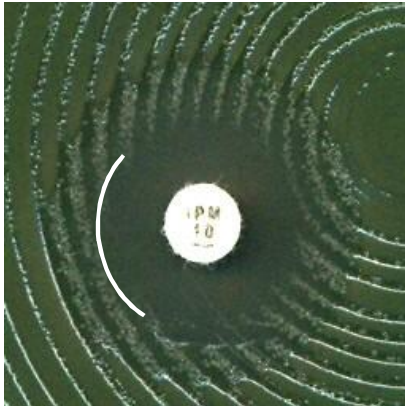
Yayılma

- Üremenin inhibisyonu değerlendirilmeli ve yayılma göz ardı edilmelidir (en sık *Proteus* türlerinde rastlanılır).



Çift zonlar

- Kùltürün saflığı kontrol edilmeli ve gerekli durumlarda test tekrar edilmelidir.
- Zonlar değeriendirilirken, kontaminasyon niteliğinde olmayan koloniler dikkate alınmalıdır.

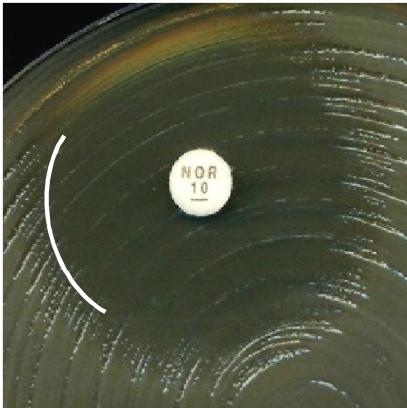


Çift zonların değeriendirilmesi

Belirgin olmayan zon sınırları

Enterobacteriaceae

- Plak koyu renkli bir zemin üzerinde, çıplak gözden yaklaşık 30 cm uzaklıkta tutularak zon sınırları belirlenmelidir. Plak ışığa doğru tutulmamalı (geçirgen ışık) veya büyüteç kullanılmamalıdır.



Enterobacteriaceae için
belirgin olmayan zon sınırlarına
sahip zonların değerlendirilmesi

Belirgin olmayan zon sınırları

Stafilokoklar

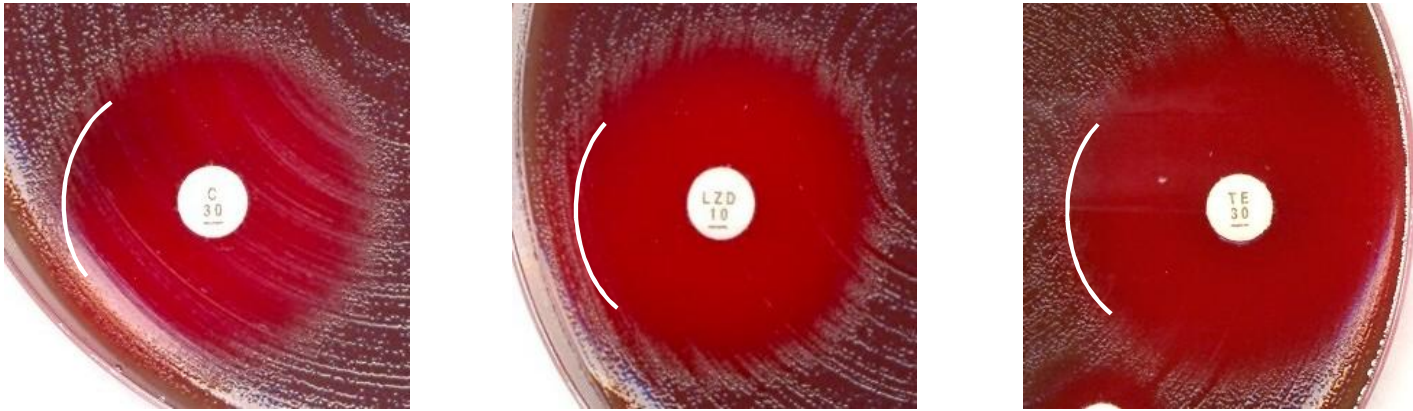
- Plak koyu renkli bir zemin üzerinde, çıplak gözden yaklaşık 30 cm uzaklıkta tutularak zon sınırları belirlenmelidir. Plak ışığa doğru tutulmamalı (geçirgen ışık) veya büyüteç kullanılmamalıdır.



Stafilokoklar için belirgin olmayan zon sınırlarına
sahip zonların değerlendirilmesi

Belirgin olmayan zon sınırları *S. pneumoniae*

- Zonlar değerlendirilirken, plak çıplak gözden yaklaşık olarak 30 cm uzakta tutulduğunda görülebilen küçük koloniler dikkate alınmalıdır.
- Zon sınırına yakın küçük kolonilerin varlığı MH-F besiyerinde aşırı nem olmasına bağlı olabilir ve kullanım öncesinde plakların kurutulmasıyla azaltılabilir.



S. pneumoniae için belirgin olmayan zon sınırlarına
sahip zonların değerlendirilmesi

Üreme mi, hemoliz mi?

- Hemoliz sınırları değil, üremenin inhibe olduğu sınırlar değerlendirilmelidir.
- Bazı durumlarda hemolizin üremeden ayırt edilmesi güç olabilir.
 - β -Hemolizinler agarda difüze olur. Bu nedenle β -hemolizde genellikle üreme mevcut olmaz.
 - α -Hemolizinler difüzyon sergilemez. α -Hemoliz alanlarında genellikle üreme mevcuttur.
 - α -Hemolizin eşlik ettiği zon sınırları en sık olarak *S. pneumoniae* ve β -laktam antibiyotiklerle görülür.

β -hemoliz

- Hemolizi üremeden daha kolay ayırt etmek için plak eğik tutulmalıdır. β -hemolizde genellikle üreme mevcut değildir.



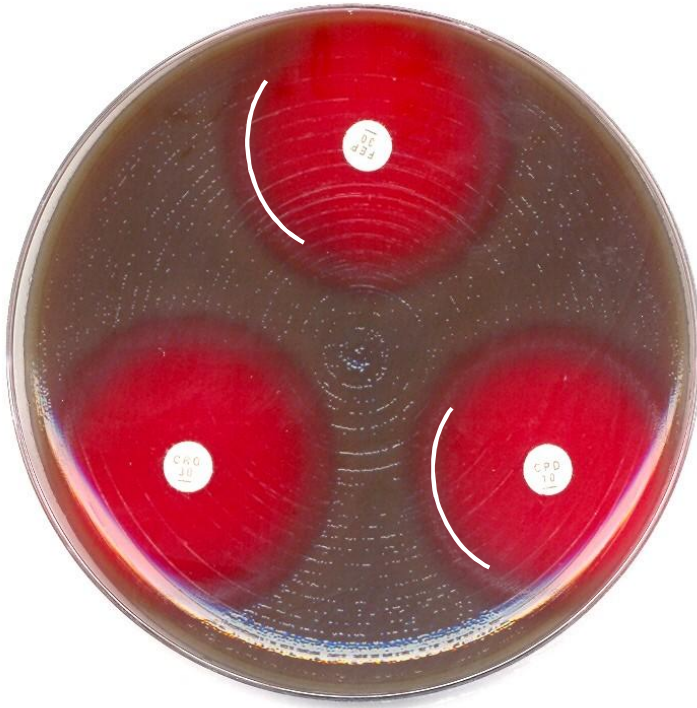
S. pyogenes



Grup C streptokok

α -hemoliz

- Hemolizi üremeden daha kolay ayırt etmek için plak eğik tutulmalıdır.



Genellikle tüm α -hemoliz alanında üreme mevcuttur.



Bazı organizmalarda üreme söz konusu olmaksızın ilave α -hemoliz mevcuttur. Hemolizi üremeden ayırt etmek için plak eğik tutulmalıdır!

Özel değerlendirme talimatları

- Genel olarak trimetoprim-sülfametoksazol ve trimetoprim
- *Stenotrophomonas maltophilia* ve trimetoprim-sülfametoksazol
- Enterobacteriaceae ve ampisilin
- *E. coli* ve mesillinam
- Enterokoklar ve vankomisin
- *S. aureus* ve benzilpenisilin
- Stafilokok ve streptokoklarda indüklenebilir klindamisin direncinin saptanması

Trimetoprim ve trimetoprim-sülfametoksazol

- Değerlendirmeye ilişkin talimatlar izlenmeli ve çift zonlar gözleendiğinde iç zonlar değerlendirilmelidir (aşağıdaki örneklere bakınız).
- Disk çevresinde belirgin zon sınırları mevcut ise, zon içindeki puslu veya soluk görünümlü üreme göz ardı edilmelidir.



E. coli



KoNS



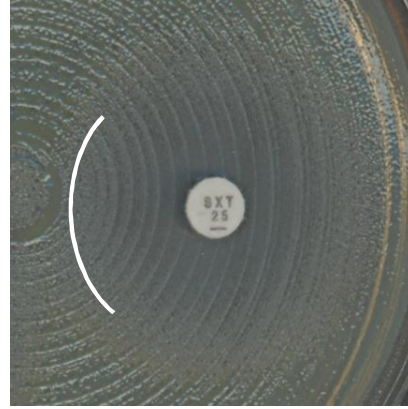
Moraxella



Haemophilus

Stenotrophomonas maltophilia ve trimetoprim-sülfametoksazol

- İnhibisyon zonu içerisindeki üreme göz ardı edilmelidir; bu *Stenotrophomonas maltophilia* için trimetoprim-sülfametoksazol ile sık görülen bir durumdur. Zon içindeki üreme yoğunluğu hafif puslu bir görüntüden, belirgin üremeye kadar farklılık gösterebilir.

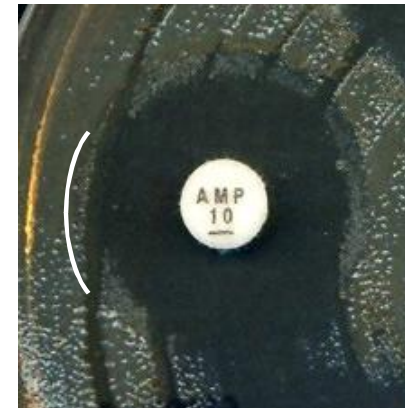
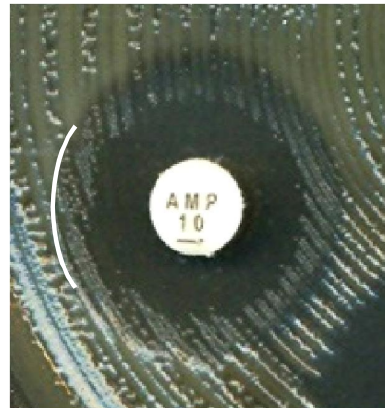


Üreme göz ardı edilmeli ve herhangi bir zon sınırı görülebildiği takdirde inhibisyon zonu değerlendirilmelidir.
= Zon çapı ≥ 16 mm ise duyarlıdır

Diskte üreme mevcutsa ve inhibisyon zonu gözlenmiyorsa =
Dirençlidir 17

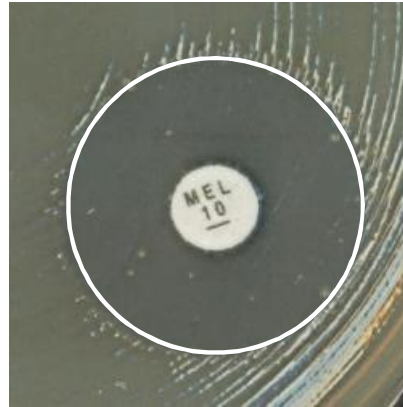
Enterobacteriaceae ve ampisilin

- Bazı Mueller-Hinton agar serilerinde iç zon şeklinde görülebilecek hafif üreme göz ardı edilmelidir. İç zon bazı agar serilerinde görülmez ve dış zon değerlendirildiğinde seriler arasında herhangi bir farklılık söz konusu değildir.



E. coli ve mesilinam

- İnhibisyon zonu içindeki izole koloniler göz ardı edilmelidir.

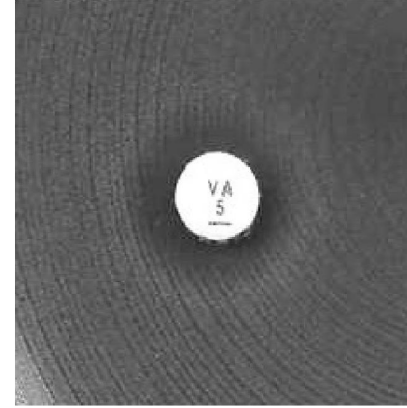


Enterokoklar ve vankomisin

- Geçirgen ışık ile (plak ışığa doğru tutularak) incelenmelidir.
 - Zon sınırlarının belirgin olmaması ve zon içinde koloniler bulunması vankomisin direnci varlığına işaret edebilir. Zon çapının ≥ 12 mm olduğu ve zon sınırlarının belirgin olmadığı durumlarda ilave inceleme gerçekleştirilmelidir.



E. faecalis
VRE değil



E. faecium
VRE

S. aureus ve benzilpenisilin

- Geçirgen ışık ile (plak ışığa doğru tutularak) incelenmelidir.
 - Zon çapı ölçüldüğü VE zon sınırı dikkatli şekilde incelendiği takdirde, penisilinaz üreten bakterilerin tespiti açısından disk difüzyon yöntemi MİK saptanmasından daha güvenilirdir.



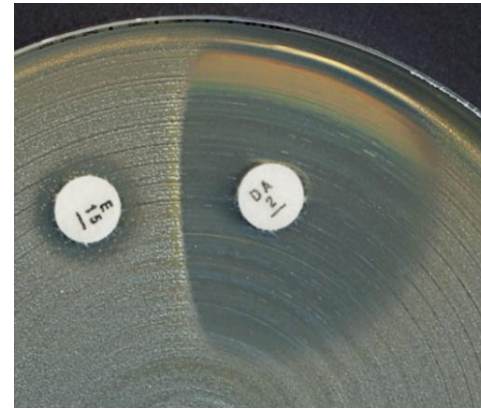
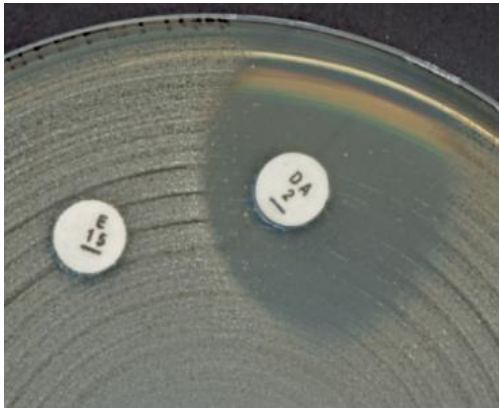
S. aureus'ta belirgin zon sınırı
ve zon çapı ≥ 26 mm
= Dirençli



S. aureus'ta belirgin olmayan zon
sınırı ve zon çapı ≥ 26 mm
= Duyarlı

Stafilokoklarda indüklenebilir klindamisin direncinin saptanması

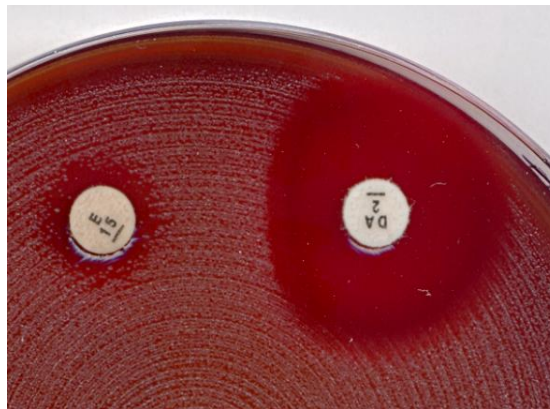
- İndüklenebilir klindamisin direnci bir makrolidin klindamisinin etkisi üzerinde oluşturduğu antagonist etkiyle saptanabilir.
- Eritromisin ve klindamisin diskleri **12-20 mm mesafe** (kenardan kenara) ile yerleştirilmeli ve antagonizma varlığı incelenmelidir (D fenomeni).



Stafilokoklarda D fenomeni örnekleri

Streptokoklarda indüklenebilir klindamisin direncinin saptanması

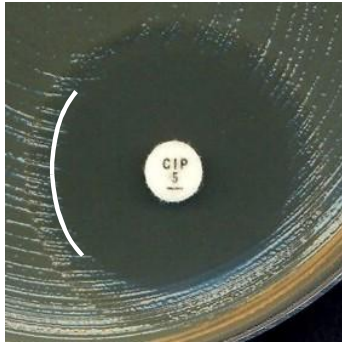
- İndüklenebilir klindamisin direnci bir makrolidin klindamisinin etkisi üzerinde oluşturduğu antagonist etkiyle saptanabilir.
- Eritromisin ve klindamisin diskleri **12-16 mm mesafe** (kenardan kenara) ile yerleştirilmeli ve antagonizma varlığı incelenmelidir (D fenomeni).



Streptokoklarda D fenomeni örnekleri

Değerlendirme kılavuzu

Plaklar, çıplak gözle gözden 30 cm uzakta tutularak değerlendirilip, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta olarak değerlendirilmelidir.



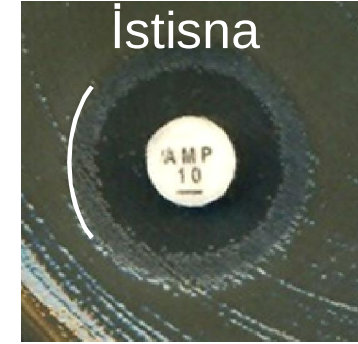
E. coli
Siprofloksasin



S. aureus
Linezolid



S. aureus
Eritromisin



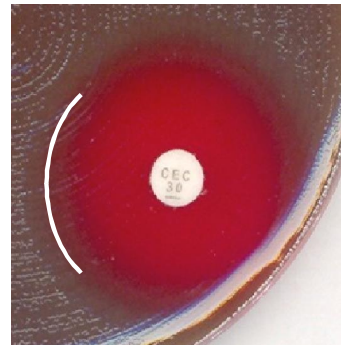
Enterobacteriaceae
Ampisilin



S. pneumoniae
Kloramfenikol



S. pneumoniae
Tetrasiklin



S. pneumoniae
Sefaklor

α -Hemoliz
alanlarında genellikle
üreme mevcuttur!