



ANAEROP BAKTERİLERDE ANTİMİKROBİKLERE DİRENCİ SAPTAYALIM MI, NASIL ?

Dr. F. Ferda TUNÇKANAT

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anaerop enfeksiyonlar

2

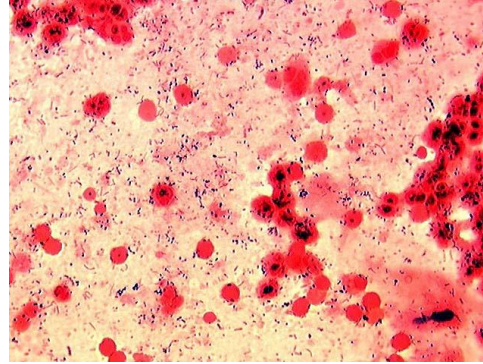
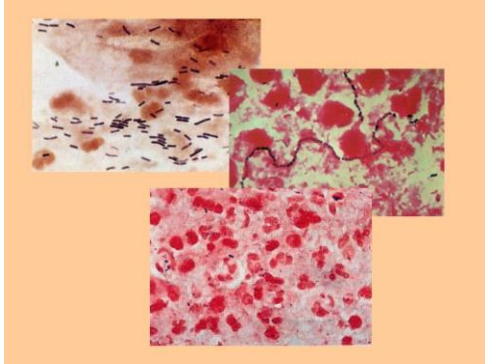
Anaerop bakteriler

- Ağız , gastro-intestinal sistem, kadın genital sistemi ve cilt mikrobiyotasının önemli bir bölümünü oluştururlar
- Kimi zaman yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olurlar

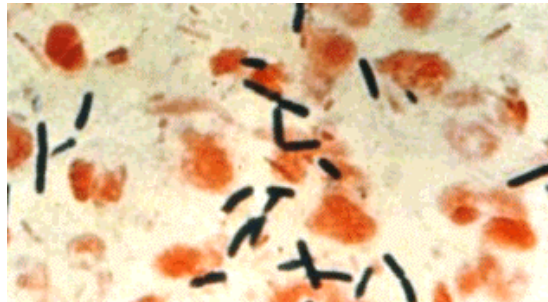
Anaerop enfeksiyonlar

3

- Anaerop enfeksiyonlar genellikle **endojen** ve **polimikrobiyal (mikst)** enfeksiyonlardır



- **Ekzojen** ve **monomikrobiyal** enfeksiyonlar şeklinde de görülebilirler



Anaerop enfeksiyonlar

4

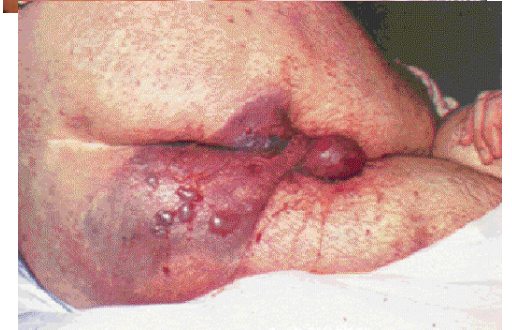
□ Tedavide esas:

- Cerrahi tedavi
- Ampirik antibiyotik tedavi yaklaşımı*



Etken bakterilerin ve bunların
antibiyotik duyarlılık durumunun
bilinmesi çok önemli

- Başlangıçta seçilen ampirik tedavi yetersiz ise → mortalite ↑
- Duyarlılık sonuçlarına göre gecikmiş tedavi değişikliği ile sonuç değişmiyor



Anaerop duyarlılık testlerinde karşılaşılan güçlükler

5

- İzolasyon ve tanımlama güçlükleri
- Her aşamada oksijen ile temasın önlenme gerekliliği
- Anaerop kültür yöntemlerinin kullanılma zorunluluğu
- Özel üreme gereksinimleri nedeniyle güç üremeleri
- Üreme hızlarının türden türe değişiklikler göstermesi

Rutin olarak uygulanması önerilmemekte

Anaerop duyarlılık testleri uygulama endikasyonları

6

- Ciddi ve yaşamı tehdit eden enfeksiyonlarda tedavinin yönlendirilmesi
- Belirli merkezlerde / bölgelerde belirli aralıklarla duyarlılık paternlerinin saptanarak izlenmesi
- Yeni antibiyotiklere duyarlılıkların saptanması

Duyarlılık testlerinin mutlaka uygulanmasını gerektiren durumlar

7

- Mikrobiyolojik açıdan
 - Steril bölgelerden izole edilen anaerop bakteriler
 - Saf kültür olarak üreyen izolatlar
 - Klinik açıdan önemli, duyarlılık durumları değişkenlik gösterebilen ya da yüksek dirençli türlere ait olan izolatlar
- Klinik açıdan
 - Ampirik tedavi seçiminde karar verilemeyen durumlar
 - Uygun ampirik tedavi seçimine rağmen iyileşmeyen olgular
 - Uzun süreli tedavi gerektiren enfeksiyonlar

Duyarlılık testlerinin uygulanmasına karar verilirken dikkat edilecek noktalar

8

- Örnek alınırken normal flora ile kontaminasyon söz konusu ise, duyarlılık testlerinin uygulanması tedaviyi yanlış yönlendirir
- Patojen olma potansiyeli olan birden fazla bakteri izole edildiğinde duyarlılık testlerinin
 - Yüksek virülanslı
 - Dirençli olduğu bilinen

Bakterileri kapsamaması gerekir

***Bacteroides* türlerini mutlaka kapsamalıdır**

Yüksek virülanslı anaerop bakteriler

9

DİRENÇ !

- *Bacteroides /Parabacteroides*
- *Prevotella*
- *Fusobacterium*
- *Bilophila wadsworthia*
- *Suterella wadsworthensis*
- *Clostridium* türleri



Anaerop duyarlılık testleri

Anaerop duyarlılık testleri-Standartlar

11

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

Anaerop duyarlılık testleri- Yöntemler

12

- Agar dilüsyon*
- Mikrodilüsyon*
- Beta laktamaz testi
- Agar gradiyent yöntemleri (ticari)
- Spiral gradiyent yöntemi

Anti anaerobik etkili ilaçlar

13

- Penisilinler, aminopenisilinler
- Betalaktam/betalaktamaz inhibitörleri
- Karbapenemler
- Sefamisinler (sefoksitin)
- Klindamisin
- 5-nitroimidazoller (metronidazol)
- Yeni florokinolonlar (moksifloksasin)
- Kloramfenikol
- Yeni antibiyotikler (tigesiklin, linezolid, daptomisin)

Anaerop bakterilere etkisiz ilaçlar

14

- ❑ Aminoglikozidler
- ❑ Monobaktamlar
- ❑ Kolistin

Anaerop duyarlılık testleri- Yöntemler

15

Agar dilüsyon (Wadsworth) yöntemi

- Referans yöntem (standart)
 - Rutin kullanıma uygun değil
 - Surveyans
 - Araştırma
- } Amacı ile kullanılması önerilmekte

Anaerop duyarlılık testleri- Yöntemler

16

Agar dilüsyon (Wadsworth) yöntemi

□ **Yöntem**

- **Besiyeri:** Brucella kanlı agar (5 µg/ml hemin, 1µg/ml vitamin K₁, % 5 dondurulup çözölmüş koyun kanı)
- **İnokölüm:** 10⁵CFU
- **İnkübasyon:** Anaerop ortamda 37° de 42-48 saat

Anaerop duyarlılık testleri- Yöntemler

17

Mikrodilüsyon yöntemi

- Rutin kullanıma uygun
- Nazlı anaeroplara üreyemez
- Kullanımı *Bacteroides fragilis* grubu ile sınırlı
- Ticari mikrodilüsyon yöntemleri ?

Anaerop duyarlılık testleri- Yöntemler

18

Mikrodilüsyon yöntemi

□ Yöntem

- **Besiyeri:** Brucella sıvı besiyeri (5 µg/ml hemin, 1µg/ml vitamin K₁, % 5 lize at kanı eklenmiş)
- **İnokülüm:** 1x10⁶ CFU/ml
- **İnkübasyon:** Anaerop ortamda 37° de 46-48 saat

Anaerop duyarlılık testleri-Yöntemler

19

Beta laktamaz testi

- Hızlı sonuç veren bir ön test /tarama testi
- *Bacteroides fragilis* grubu için kullanılmasına gerek yok
- Beta laktamaz oluşturan diğer bakteriler için (*Prevotella*, *Fusobacterium*, *Clostridium* türleri)

Anaerop duyarlılık testleri-Yöntemler

20

Beta laktamaz testi

- **Yöntem**
 - ▣ Kromojenik sefalosporin (nitrosefin)
 - ▣ Pozitif sonuç için 30 dakikaya kadar beklenilmeli
- **Sorun:** Negatif sonuç her zaman bakterinin duyarlı olduğunu göstermez

Anaerop duyarlılık testleri-Yöntemler

21

Agar gradiyent yöntemleri

- Sonuçlar referans test ile uyumlu
- Kolay uygulanabilir, pratik
- Ticari testler, maliyet yüksek

Anaerob duyarlılık testleri-Yöntemler

22

Agar gradiyent yöntemleri

- E test (Epsilometer Test)
- M.I.C.E (MIC Evaluator) Test
- MTS (MIC Test Strip)

Anaerop duyarlılık testleri-Yöntemler

23

Agar gradiyent yöntemleri

- Uygulama üretici firma önerilerine göre
 - ▣ **Besiyeri:** Brucella kanlı agar (5 µg/ml hemin, 1µg/ml vitamin K₁)
 - ▣ **İnokulum:** 1 Mc Farland
 - ▣ **Sonuçların değerlendirilmesi:** 24-72 saat

Anaerop duyarlılık testleri- Kontrol bakteriler

24

Bacteroides fragilis ATCC 25285

Bacteroides thetaiotamicron ATCC 29741

Eubacterium lentum ATCC 43055

Clostridium difficile ATCC 700057

Anaerop duyarlılık testleri- Sonuçların değerlendirilmesi

25

- Sonuçların değerlendirilmesi ile ilgili sorunlar
 - ▣ MİK değerinin saptanması ile ilgili sorunlar
 - ▣ Seçilen sınır değer

CLSI

EUCAST



Antibiyotikler	CLSI sınır değerler			EUCAST sınır değerler			
	S	I	R	Gram pozitif		Gram negatif	
				S	R	S	R
Ampisilin	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 4	> 8	≤ 0.5	> 2
Ampisilin/sulbaktam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	≤ 4 ²	> 8 ²	≤ 4 ²	> 8 ²
Amoksisilin/klavulanik asit	≤ 4/2	8/4	≥ 16/8	≤ 4 ³	> 8 ³	≤ 4 ³	> 8 ³
Piperasilin	≤ 32	64	≥ 128	≤ 8	> 16	≤ 16	> 16
Piperasilin-tazobaktam	≤ 32	64	≥ 128	≤ 8 ⁴	> 16 ⁴	≤ 8 ⁴	> 16 ⁴
İmipenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 2	> 8	≤ 2	> 8
Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 2	> 8	≤ 2	> 8
Ertapenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 1	> 1	≤ 1	> 1
Doripenem	≤ 2	4	≥ 8	≤ 1	> 1	≤ 1	> 1

Antibiyotikler	CLSI sınır değerler			EUCAST sınır değerler			
	S	I	R	Gram pozitif		Gram negatif	
				S	R	S	R
Metronidazol	≤ 8	16	≥ 32	≤ 4 ≤ 2	> 4 > 2	≤ 4	> 4
Klindamisin	≤ 2	4	≥ 8	≤ 4	> 4	≤ 4	> 4
Kloramfenikol	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	> 8	≤ 8	> 8
Sefoksitin	≤ 16	32	≥ 64	-	-	-	-
Moksifloksasin	≤ 2	4	≥ 8	YK	YK	YK	YK
Tigesiklin	≤ 4 (FDA)	8	≥ 16	-	-	-	-

Anaerop duyarlılık testleri- Sonuçların değerlendirilmesi

28

EUCAST- MİK sınır değeri bulunmayan antibiyotikler

- Sefoksitin
- Moksifloksasin (YK)
- Tigesiklin

**CLSI-EUCAST
MİK sınır değeri aynı olan antibiyotikler**

- Amoksisilin/klavulanik asit
- İmipenem, meropenem
- Klindamisin

Anaerop duyarlılık testleri- Sonuçların değerlendirilmesi

29

CLSI-EUCAST MİK değeri değişen antibiyotikler

Antibiyotik	CLSI MİK (mg/L)	EUCAST MİK (mg/L)
Ampisilin	≥ 2	>8 > 2
Ampisilin/ sulbaktam	≥ 32	> 8
Piperasilin/ tazobactam	≥ 128	> 16
Metronidazol	≥ 32	> 4
Kloramfenikol	≥ 32	> 8

Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience

E. Nagy¹, E. Urbán¹ and Carl Erik Nord on behalf of the ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria^{2*}

1) Institute of Clinical Microbiology, Albert Szent-Györgyi Medical Centre, University of Szeged, Hungary and 2) Division of Clinical Microbiology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

***Bacteroides* türlerinde direnç –Avrupadaki durum**

Antibiyotik	1988-1989 (1289 izolat) Direnç %	1999-2001 (1284 izolat) Direnç %	2008-2009 (824 izolat) Direnç %	
			CLSI	EUCAST
Ampisilin	93	99	99	98
Amoks/Klav	1		10,4	
Pip/Taz	< 1	< 1	3,1	10,3
Sefoksitin	3	6	17,2	
İmipenem	0.3	< 1	1,2	
Klindamisin	9	15	32,4	
Moksifloksasin	-	9	13,6	
Metronidazol	0	< 1	<1	< 1
Tigesiklin	-	-	1,7	

TABLE 2. *In vitro* activities of nine antibiotics against 824 *Bacteroides/Parabacteroides* strains

		MIC (mg/L)			Resistance % at breakpoints (mg/L)	
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	CLSI	EUCAST
Ampicillin						
					≥2	>2
<i>Bacteroides fragilis</i> group	824	1->256	32	>256	99.2	98.2
<i>B. fragilis</i>	600	1->256	32	>256	99.0	97.4
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	83	2->256	64	>256	100	98.8
<i>Bacteroides ovatus</i>	49	8->256	64	>256	100	100
<i>Bacteroides vulgatus</i>	42	4->256	64	>256	100	100
<i>Parabacteroides distasonis</i>	14	8->256	16	>256	100	100
<i>Bacteroides uniformis</i>	10	16->256	32	>256	100	100
Other species	26	4->256	64	>256	100	100
Amoxicillin/clavulanic acid						
					≥16	>8
<i>B. fragilis</i> group	824	0.016->256	1	16		10.4
<i>B. fragilis</i>	600	0.016->256	1	16		8.7
<i>B. thetaiotaomicron</i>	83	0.125-32	1	16		12.0
<i>B. ovatus</i>	49	0.25-32	1	16		18.4
<i>B. vulgatus</i>	42	0.125-256	1	16		14.3
<i>P. distasonis</i>	14	0.5-256	2	32		21.4
<i>B. uniformis</i>	10	0.125-64	1	64		30.0
Other species	26	0.125-64	2	16		11.5
Piperacillin/tazobactam						
					≥128	>16
<i>B. fragilis</i> group	824	0.016->256	4	32	3.1	10.3
<i>B. fragilis</i>	600	0.016->256	2	16	1.7	6.5
<i>B. thetaiotaomicron</i>	83	0.125->256	16	128	12.0	32.5
<i>B. ovatus</i>	49	0.25-32	8	32	0	14.2
<i>B. vulgatus</i>	42	0.25-256	8	32	4.8	14.3
<i>P. distasonis</i>	14	2-256	8	64	14.3	21.4
<i>B. uniformis</i>	10	0.5-256	4	16	10.0	10.0
Other species	26	0.125-64	8	16	15.4	46.1

	Number of strains	MIC (mg/L)			Resistance % at breakpoints (mg/L)	
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	CLSI	EUCAST
Metronidazole					≥32	≥4
<i>B. fragilis</i> group	824	0.016–256	0.5	1	0.25	0.5
<i>B. fragilis</i>	600	0.016–32	0.5	1	0.2	0.5
<i>B. thetaiotaomicron</i>	83	<0.125–>256	0.5	2	1.2	1.2
<i>B. ovatus</i>	49	0.032–2	0.5	2	0	0
<i>B. vulgatus</i>	42	<0.125–4	0.5	1	0	0
<i>P. distasonis</i>	14	0.125–2	0.5	1	0	0
<i>B. uniformis</i>	10	0.016–2	0.5	1	0	0
Other species	26	<0.125–4	0.5	2	0	0

Metronidazol direnci

34

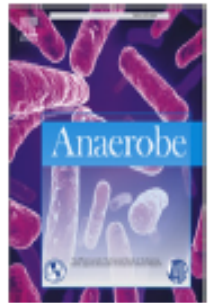
Anaerobe 16 (2010) 555–559



Contents lists available at ScienceDirect

Anaerobe

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anaerobe



Anaerobic bacteria and antibiotics: What kind of unexpected resistance could I find in my laboratory tomorrow?

L. Dubreuil*, M.F. Odou

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, BP83, 59006 Lille cedex, France

Metronidazol direnci

556

L. Dubreuil, M.F. Odou / *Anaerobe* 16 (2010) 555–559

Table 1

Evolution of resistance in *Bacteroides fragilis* group in France.

Year (reference)	Nb of strains	Antibiotic resistance percentages (breakpoints in mg/L) ^a						
		AMC ^b ($\geq 16/8$)	TIC (≥ 128)	TCC $\geq 128/2$)	CFX (≥ 64)	IMI (≥ 16)	CLN (≥ 16)	MOL ^a (>4)
1992 Dubreuil et al. [57]	61	3	27	3	12	3	12	0
1994 Grollier et al. [58]	222	2.7	24	0.9	9	0.4	14	2
1995 Bland et al. [59]	129	4.6	23	1.5	ND	1.5	19	0
1996 Dubreuil et al. [60]	199	4	22	1.5	6	1.5	20.6	0.4
1998 Mory et al. [50]	209	3.8	22.2	0	7.1	0	29.2	1.9
1999 Dubreuil et al. [61]	228	10.1	32.8	6.6	ND	4.4	28.1	2.2
2000 Behra et al. 2002 [62]	123	4.6	32.5	1.6	ND	0.8	28.4	4.9
2001 Behra et al. 2003 [63]	359	5.6	33.7	2.2	13	0.8	32.6	0.3
2003 Dubreuil, abstract in congress ^c	254	2.8	27.5	1.9	6	0.8	28.3	3.5

^a CLSI breakpoints were used with one exception: the EUCAST metronidazole lower breakpoint was used to allow detection of decreased susceptibility to metronidazole.

^b AMX = amoxicillin, AMC = amoxicillin + clavulanic acid, TIC = ticarcillin, TCC = ticarcillin + clavulanic acid, PIP = piperacillin, CFX = cefoxitin, IMI = imipenem, CLN = clindamycin and MOL = metronidazole.

^c Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, 2003, Abstract 335/49P.

Sonuçlar

36

- ❑ Anaerop duyarlılık testlerinin rutin olarak uygulanması önerilmemektedir.
- ❑ Duyarlılık testlerinin uygulanmasını gerektiren endikasyonların ve testlerin uygulanmasını zorunlu kılan özel durumların bilinmesi morbidite ve mortaliteyi azaltması açısından önemlidir
- ❑ Anaerop bakterilerde giderek artan direnç sorunu karşısında standartlara uygun yöntemlerin uygulanması kadar, sonuçların değerlendirilmesinde uygun sınır değerlerin seçilmesi de büyük önem taşır
- ❑ EUCAST sınır değerlerinin kullanılması özellikle bazı antibiyotiklere karşı direnç oranlarının daha yüksek bulunmasına neden olacaktır. Ancak bu da tedavide daha güvenli bölgede kalınmasını sağlayacaktır.



Teşekkür ederim