



OTOMATİZE SİSTEMLER VE EUCAST GÜNCELLEMELERİ



Seda ULAŞ PAYZİNER, MBA

Klinik Aplikasyon Müdürü

bioMérieux



İÇERİK

- 1 ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER
- 2 MİK NEDİR? VE EXPERT SİSTEM PRENSİBİ
- 3 VITEK 2 ADVANCED EXPERT SİSTEM
EUCAST GÜNCELLEMELERİ



1

2

3

Antibiyotik Duyarlılık Testi'ne neden ihtiyaç duyuyoruz?

☐ Seçilen ilaçların, mikroorganizmalar üzerindeki **etkisi**

☐ **Bu ilaçların insan vücudu için başarılı olma şansı**

☐ In-vitro test

Daha sonra, duyarlılık testi sonuçlarını, yorumlamaya bağlı olarak duyarlı veya dirençli olarak test edilen her bir antibiyotiğin ayrı ayrı sınıflandırılması



1

2

3

Antibiyotik Duyarlılık Testlerini Nasıl Gerçekleştiriyoruz?

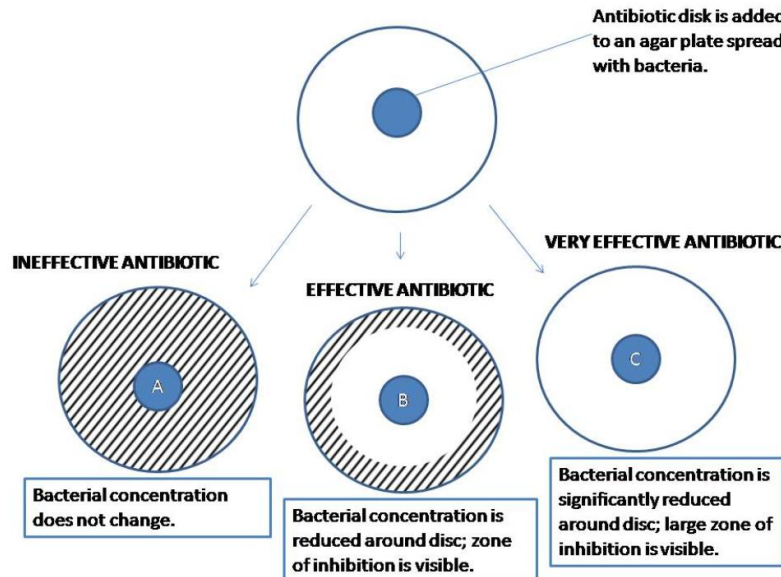
Geleneksel yöntem, bir kültür ortamına antibiyotik disk uygulanmasından ve 24 saat inkübasyondan sonra antibiyotik etkisi ile bakteri üremesindeki inhibisyonunun oluşturduğu çap bölgesinin gözlemlenmesinden ibarettir.

Avantajlar

Temel malzemeler gerekir.

Basit gibi görünür ama aslında değildir.

Doğrudan gözle okuma yeterlidir.



Dezavantajlar

Kesin ölçüm söz konusu değildir.

Eski bir yöntemdir.

Yüksek standardizasyon gerektirir.



1

2

3

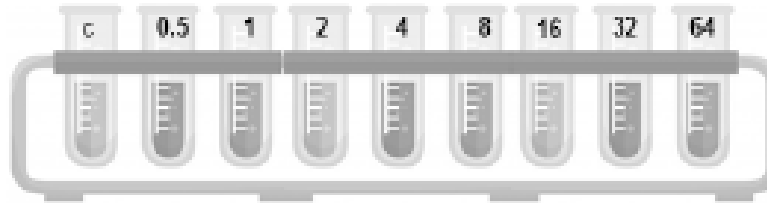
Antibiyotik Duyarlılık Testlerini Nasıl Gerçekleştiriyoruz?

Diğer bir yöntem ise, katı ortam yerine antibiyotik ilave edilmiş sıvı besiyeri kullanmaktır. Bu yöntem, aynı zamanda farklı dilüsyonlar elde etmeyi ve bakteri üremesini engelleyen ilk antibiyotik konsantrasyonu hakkında bilgi edinmeyi sağlar.

Bu yöntem, Sıvı Mikro Dilusyon yöntemidir.

Avantajlar

- MIK belirlenmesini sağlar.
- Kesin sonuçlar verir.
- Erken direnç tespitine olanak sağlar.



Dezavantajlar

- Otomatize olmadığı sürece zor bir yöntemdir.
- Sıvı metotta daha fazla sınırlama mümkün olabilir.*

* Her iki yöntem de belirli direnç mekanizmalarını saptama konusunda farklı hassasiyetlere sahip olduklarından KB yöntemi için de kabul edilebilir.



VITEK2 hakkında...

1

2

3

Sıvı mikrodilusyon yönteminin minyatüre ve standardize hali

Otomasyon ve kinetik okuma yapıyor olması sayesinde saatler içerisinde hızlı sonuçlar

Hem MIK hem de S/I/R yorumlaması

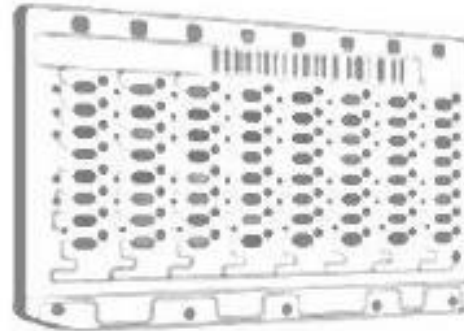
Avantajlar

MIK tespiti

Kesin sonuçlar

Otomatize ve standardize.

Expert sistem ile kombinasyon



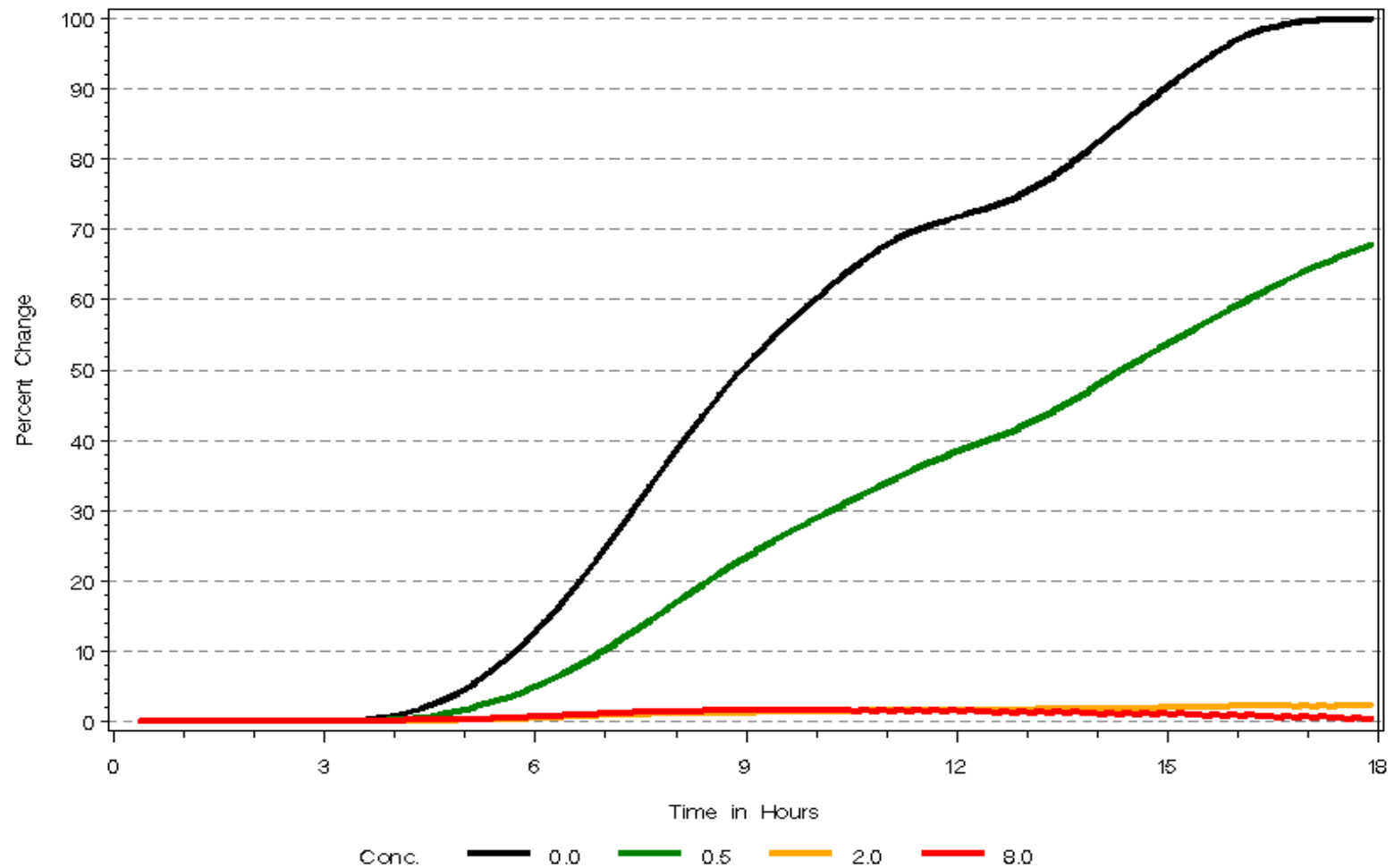
Dezavantajlar

Gözle okuma mümkün değildir.

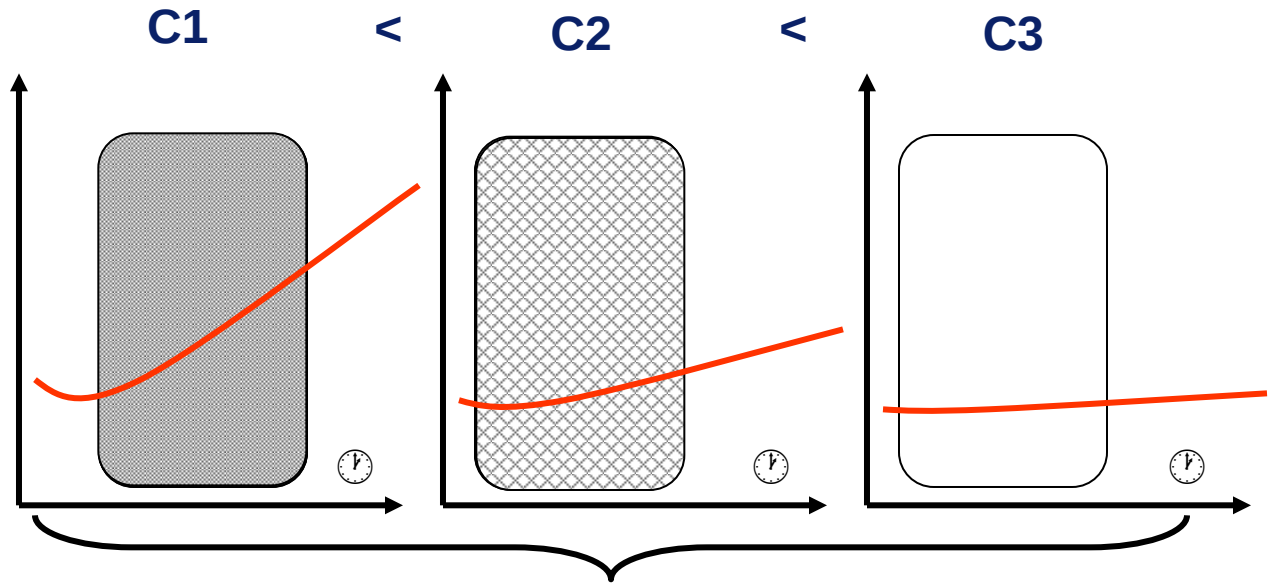
VITEK 2 SYSTEMS- MIK YORUMLAMA

Antimikrobik	Kod	Konsantrasyon §	Raporlanabilir Aralık ≤ ≥		Kullanım için FDA Uyarısı
Amikasin	AN	8, 16, 64	2	64	CSAGNB**
Amosasilin/Klavulanik Asid	AMC	4, 8, 32	2	32	N/A**
Ampisilin	AM	4, 8, 32	2	32	CSAGNB**
Sefiksim	CFM	0.25, 1, 2	0.25	4	N/A**
Sefoksitin	FOX	8, 16, 32	4	64	CSAGNB**
Seftazidim	CAZ	0.25, 1, 2, 8, 32	0.12	64	N/A**
Seftriakson	CRO	0.12, 0.25, 1, 4, 16	0.25	64	N/A**
Sefuroksim	CXM	2, 8, 32	1	64	CSAGNB**
Siprofloksasin	CIP	0.5, 2, 4	0.25	4	CSAGNB**
Ertapenem	ETP	0.03, 0.12, 0.5, 2	0.12	8	N/A**
Fosfomisin	FOS	8, 16, 32	16	256	N/A**
Gentamisin	GM	4, 16, 32	1	16	CSAGNB**

- Referans Organism ile MİK 0.5 µg/ml

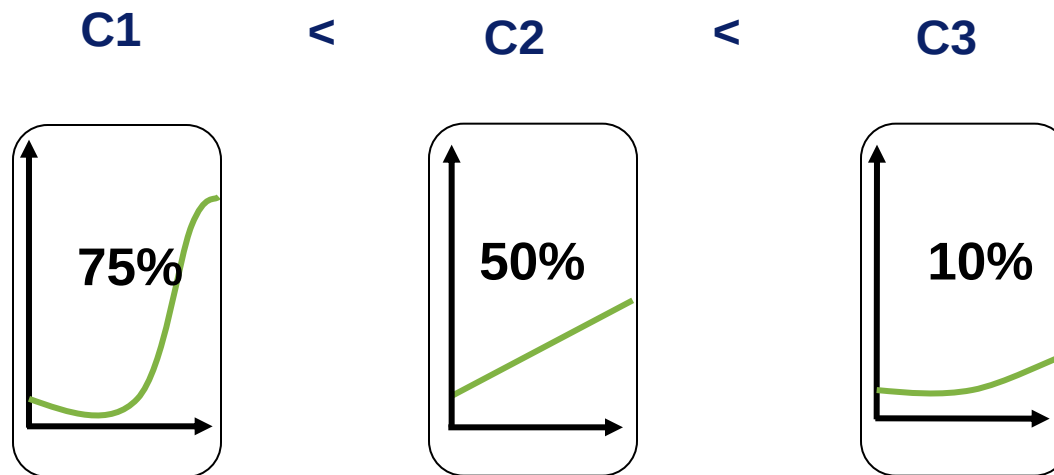


Vitek 2 Kart Kuyuları

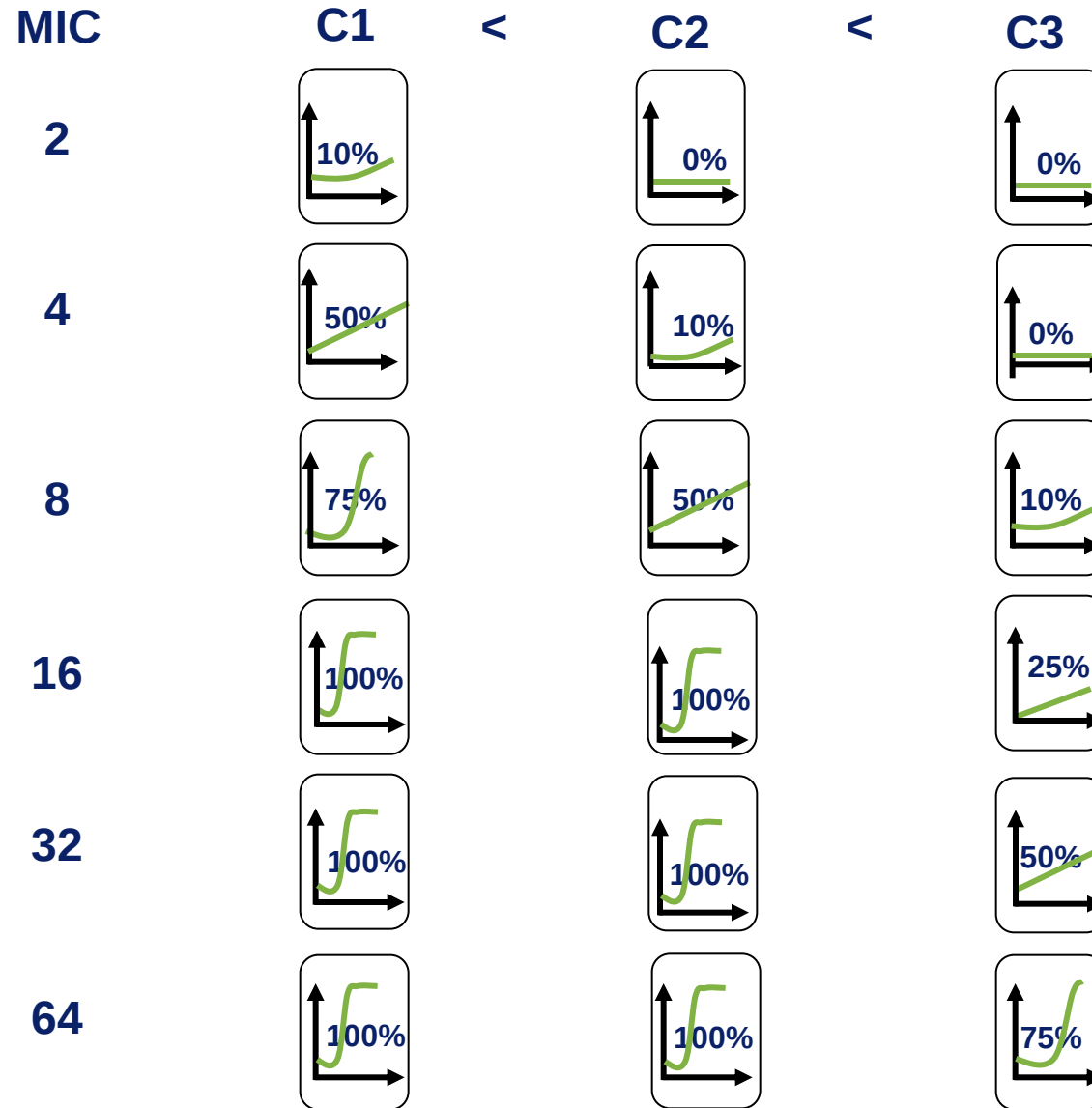


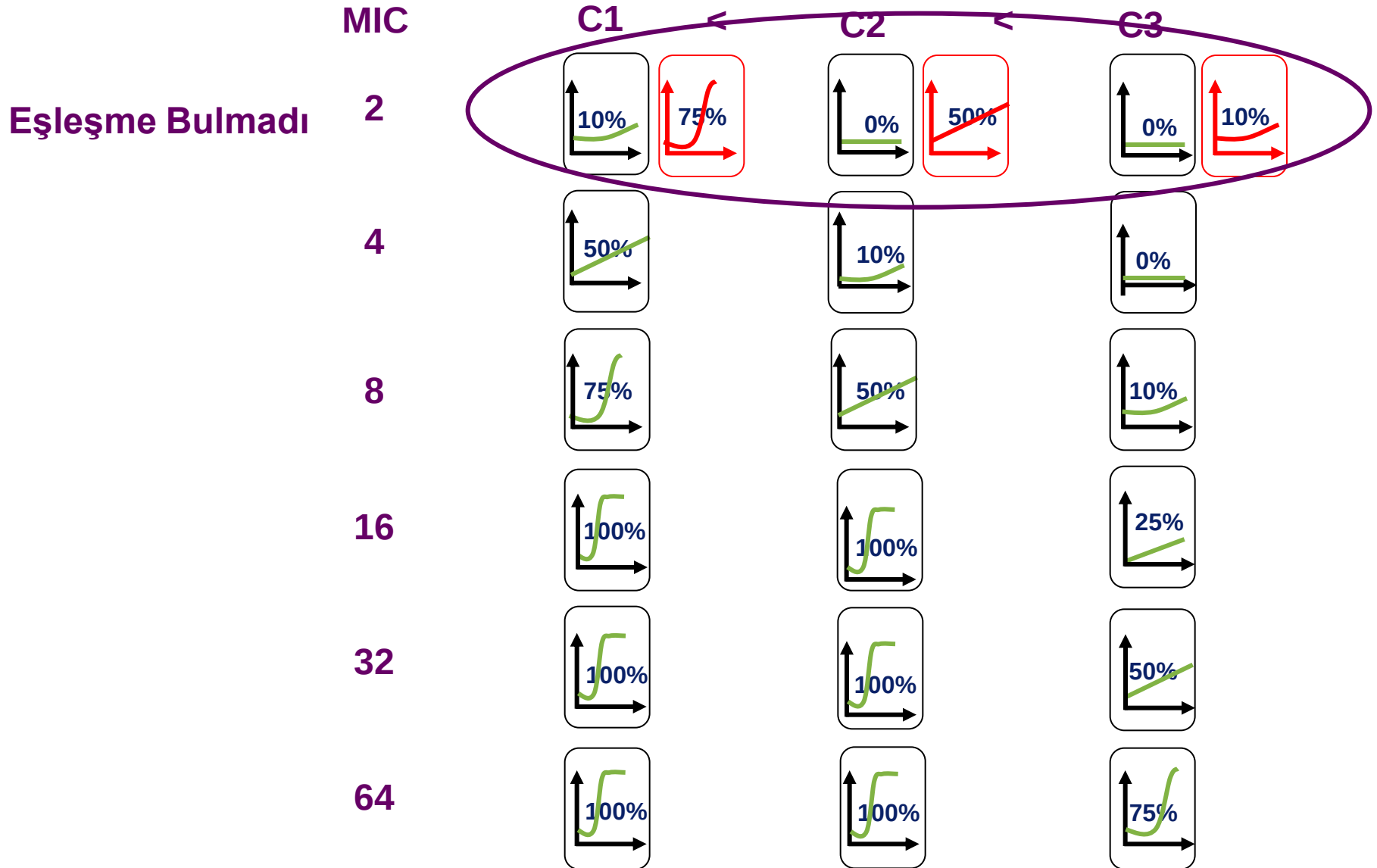
3 konsantrasyon okuma bilgileri

Vitek 2 kart kuyusu Sonuçları

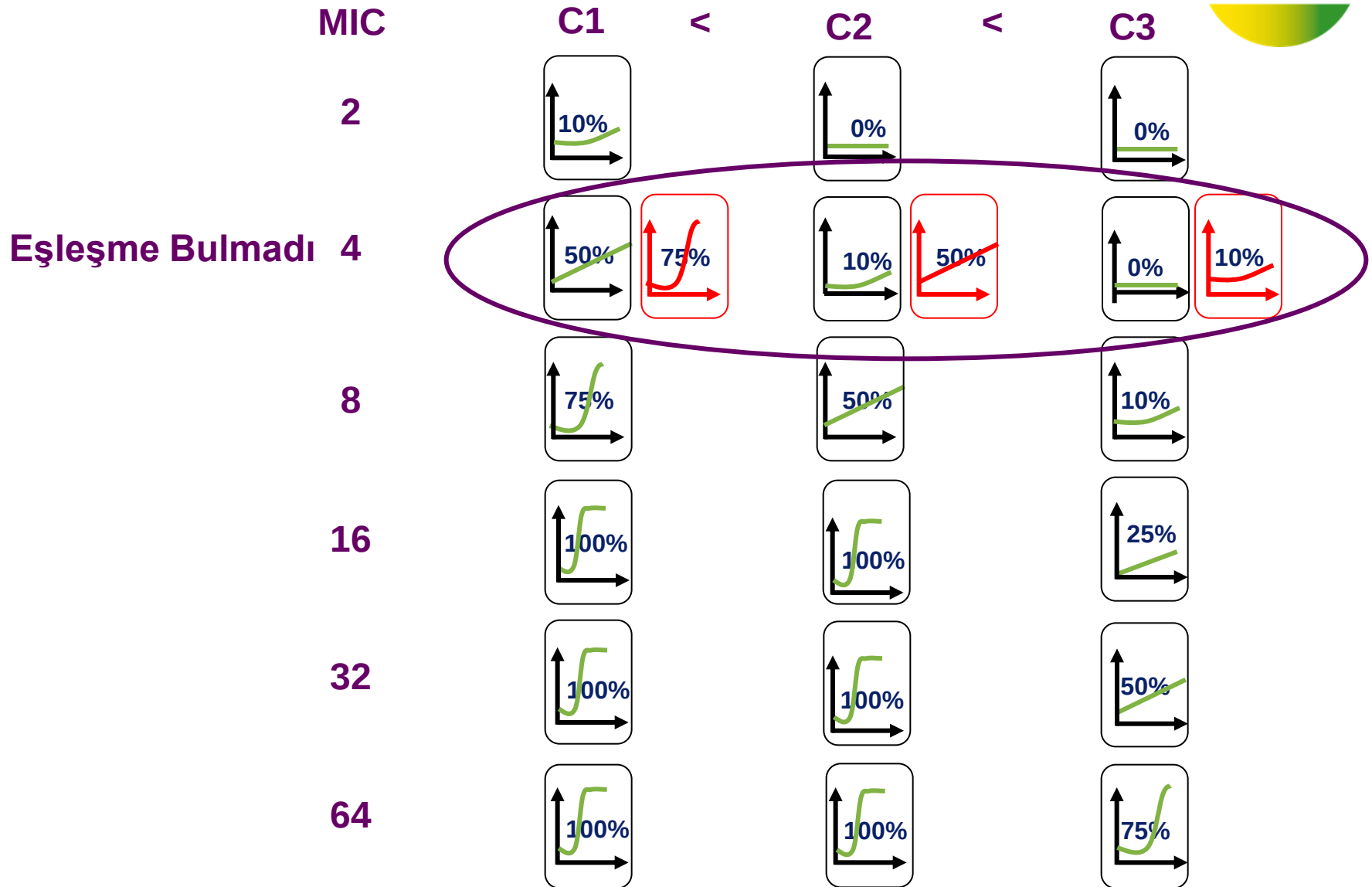


Sonnra – Algoritm veritabanı taranır

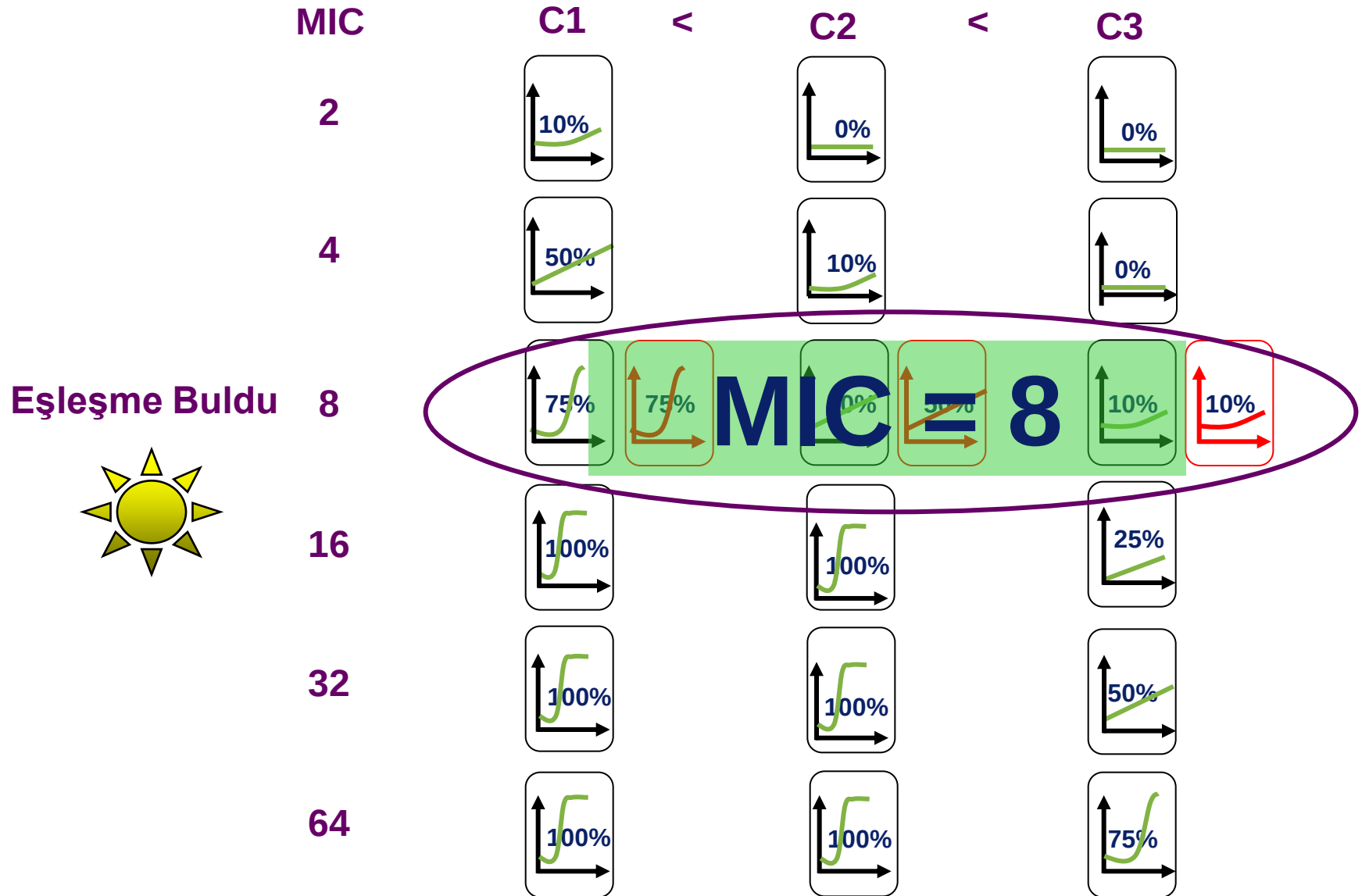




Algoritma veritabanı



Algoritma veritabanı





1

2

3

Expert sistem neden faydalıdır ?

- ☐ “Duyarlı ya da Dirençli şeklindeki sınıflandırma, çoğu zaman tek başına yeterli değildir” *.
- ☐ Uzman bir sistemle yapılan yorumlama, genel duyarlılık paterninin analizine imkan sağlar.
 - ☐ Expert System laboratuvarı şu hususlarda uyarır:
 - ☐ Ender dirençler
 - ☐ İndikatör ilaçlar (Marker) ile direnç mekanizmaları tespiti
 - ☐ Mümkün olmayan direnç fenotipleri
 - ☐ Şüpheli sonuçlar için onay gerekliliği
 - ☐ Laboratuvar, sürekli bir kalite kontrol sürecine sahiptir.

* Interpretative reading : recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes, David M Livermore et all, march 2004, chapter 11



1

2

3

Nasıl çalışır?

- ☐ Birinci nesil expert sistemler, kural tabanlıydı (Disk diffüzyon, miniAPI veya VITEK1 gibi).
- ☐ Bu, “eğer...” ilgili bakteri ” **ve / veya** “ ilgili antibiyotik”... **ise ...**” yorumlar ”... gibi kuralların bir listesinden oluşuyordu.
 - ☐ Bu kurallar,
 - ☐ Tüm olası kombinasyonları karşılayamaz
 - ☐ Genellikle terapötik kategoriye (S / I / R) dayanır ve MİK’e dayanmaz.
 - ☐ Tüm olası fenotipleri kapsayamaz
 - ☐ Güncelleme işlemi çok karmaşıktır.
 - ☐ Kombinasyon kural olarak uygulanmadıysa herhangi bir yorum raporlanmaz.



1

2

3

Nasıl çalışır?

Categorization	MIC ug/mL
----------------	--------------

Cefepime	S	4
Amikacin	S	8
Imipenem	S	2
Levofloxacin	S	1
Ciprofloxacin	S	0.12
Piperacillin Tazobactam	S	8
Ceftazidim	S	4

➤ AES, organizmalar için, her bir antibiyotik ailesi için fenotip tanımlaması yapar.

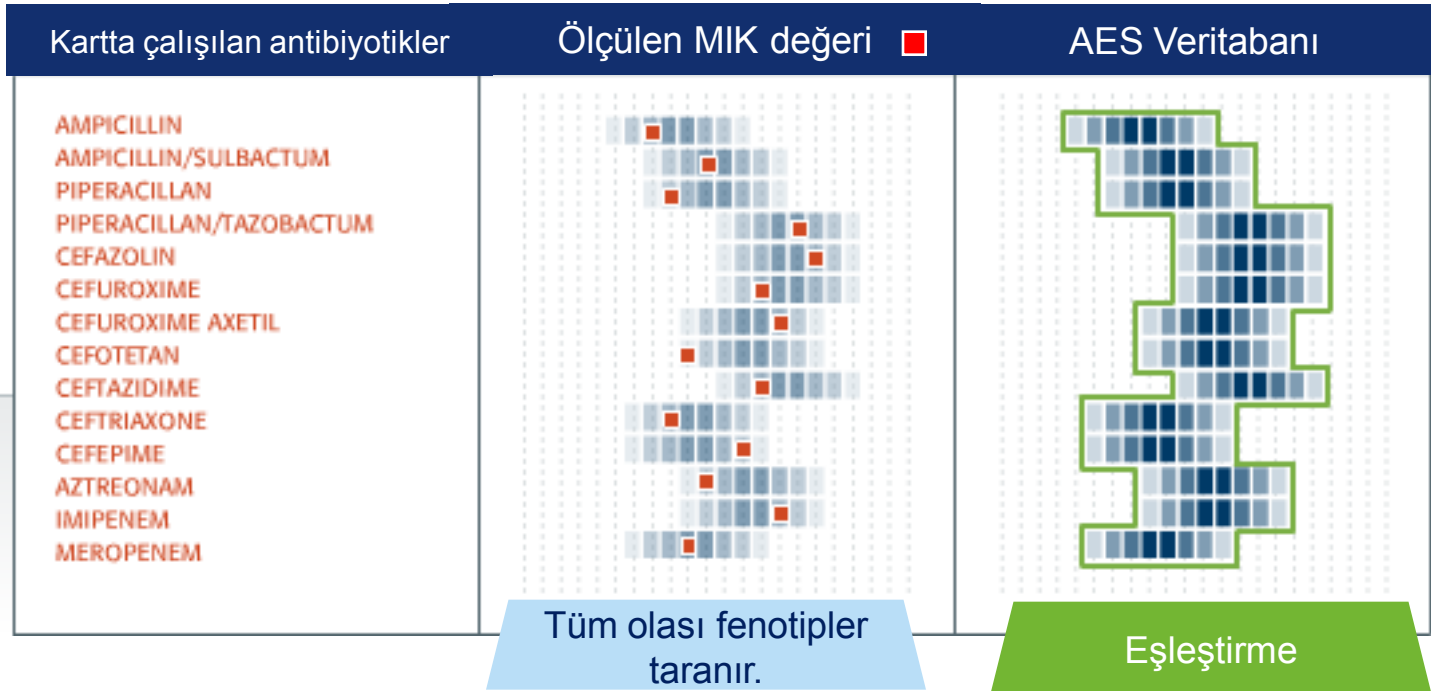
➤ Sonuçlar, teknik açıdan güvenilir mi?

- ✓ Antibiyotik eşleştirmesi
- ✓ Fenotipik eşleştirme
- ✓ Kalite eleştirilmesi

❑ Veritabanı çok geniştir ve 4.000'den fazla fenotip ve 1.500 direnç mekanizmasını kapsayan 55.000'den fazla MIC dağılımı içermektedir.

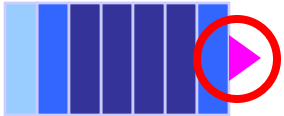
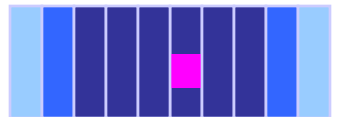
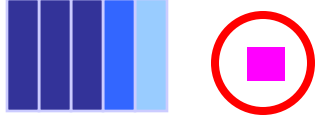
FENOTİP TESPİTİ İÇİN BİYOLOJİK VALİDASYON

- ❑ AES, bulunan MİK değerlerini inceler ve gözlemlenen MİK'lerin, referans literatür ve laboratuvar testleri tarafından gerekçelendirilmiş kapsamlı bir bilgi tabanı kullanılarak test edilen organizma ve antibiyotikler için beklenen sonuca yakınlığını tespit eder.



1.ADIM : BİYOLOJİK VALİDASYON: FENOTİP UYUMU



E. coli	Wild	Acc Base	ESBL
Ampicillin ≥ 32	 (0.5 -16)	 (≥ 256) ✓	 (≥ 256) ✓
Cefazolin = 8	 (0.25 - 8) ✓	 (0.5 - 64) ✓	 (≥ 8) ✓
Ceftazidime = 4	 (≤ 0.25)	 (≤ 0.5)	 (2 - 512) ✓



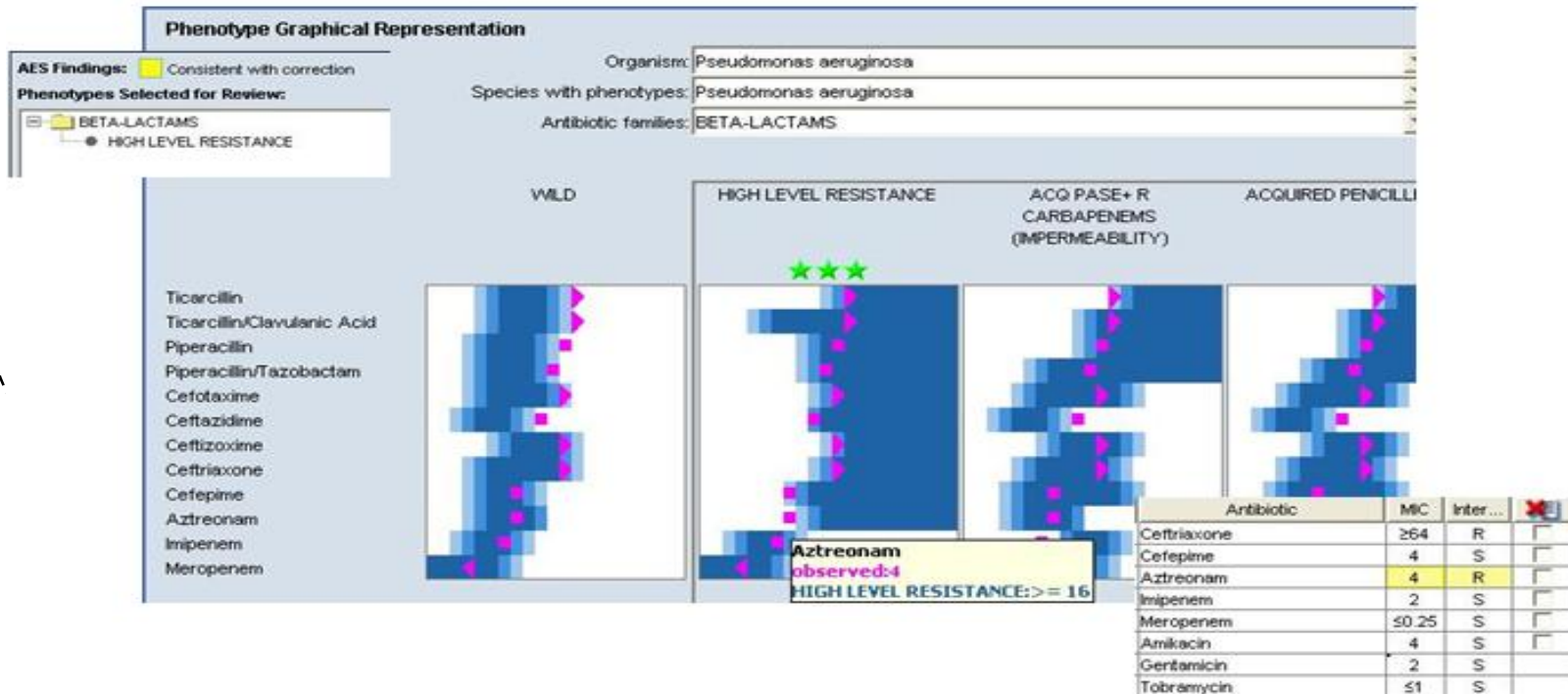
1

2

3

BİYOLOJİK VALİDASYON, DÜZELTMELERE İZİN VERİR

- ❑ Tüm karttaki bir antibiyotiğin tek bir MİK değeri, en muhtemel fenotip ile uyuşmuyorsa, AES fenotipi mükemmel şekilde eşleştirmek için bu MİK için bir düzeltme önerecektir.
- ❑ Sonuçlar, düzeltilme ile tutarlı olacak ve gözden geçirilmeyi bekleyecektir.



Biyolojik Validasyon

Sınır değeri yorumlaması

Biyolojik Düzeltme



1

2

3

BİYOLOJİK VALİDASYON, DÜZELTMELERE İZİN VERİR

- Yeni direnç mekanizması, kontaminasyon veya başka bir sebeple en az 2 MİK düzeltmesi gerekmesi sebebiyle herhangi bir eşleşme yoksa, sonuçlar tutarsız olarak rapor edilir ve kullanıcı uyarılır.

The screenshot displays the 'View and Maintain Isolate Results' window. On the left, a tree view shows a list of isolates, including '2-1 Citro. freundii'. The main panel shows details for 'Patient Name: 2', 'Organism: Citro. freundii (97%)', 'Review Status: To be reviewed', 'Bionumber: 4413615554161211', 'ID Confidence: Excellent identification', and 'Analysis Status: 9.25 hr - Final'. A warning message is displayed: 'AES Findings: Inconsistent. Phenotypes Selected for Review: Observed results do not match any phenotype in the AES knowledge base. Verify organism identification and check isolate purity. Retest if deemed necessary.' Below the warning, a table lists antibiotics: Ampicillin, Ampicillin/Sulbactam, Ticarcillin/Clavulanic Acid, Piperacillin, Piperacillin/Tazobactam, Cefazolin, and Cefuroxime.

View and Maintain Isolate Results

Patient Name ::

Lab ID: 2

Organism: Citro. freundii (97%)

Review Status: To be reviewed

Bionumber: 4413615554161211

ID Confidence: Excellent identification

Analysis Status: 9.25 hr - Final

AES Findings: ☒ Inconsistent

Phenotypes Selected for Review:

Observed results do not match any phenotype in the AES knowledge base. Verify organism identification and check isolate purity. Retest if deemed necessary.

Analysis Messages:

Antibiotic

☒	Ampicillin
☐	Ampicillin/Sulbactam
☐	Ticarcillin/Clavulanic Acid
☐	Piperacillin
☐	Piperacillin/Tazobactam
☐	Cefazolin
☐	Cefuroxime

12/29/05 3:47 PM LabAdmin VITEK 2 compact



1

2

3

BİYOLOJİK VALİDASYON, DÜZELTMELERE İZİN VERİR

AES Findings: ■ Inconsistent

- ☐ Kırmızı kutu, AES Veritabanı'nda yer alan herhangi bir fenotip ile eşleşme olmadığı anlamına gelir.
- ☐ Kırmızı gösterge, sonuçta teknik bir sorun olabileceğini veya organizmanın AES Bilgi Tabanında bulunmayan bir fenotipi ifade ettiğini göstermektedir.

Kontrol edilmesi gereken teknik aşamalar:

- Tanımlanan organizma? (Manuel giriş ya da ID kart ile.)
- Saf kültür?
- Doğru besiyeri?
- Yeni pasaj?
- Doğru inokulum?
- Salin solusyon sterilitesi



1

2

3

TERAPÖTİK DÜZELTME

- ❑ AES, fenotip ve ilgili, direnç mekanizmasına dayalı izolat sonuçlarına terapötik düzeltmeler uygular.
- ❑ Bazı direnç mekanizmalarına göre, bazı moleküllerin *In vitro*'da Duyarlı olabileceğini ancak *In Vivo*'da olmayacağını biliyoruz.
- ❑ Bu durumda uzman, terapötik nedenlerden dolayı antibiyotik üzerinde düzeltme yapılmasını önerebilir ve böylelikle klinisyene yanlış rapor vermekten kaçınılır.

Örnek: *E coli*

AMO	R
AMC	S
TIC	S
CFT	S
...	S



AMO	R
AMC	S
TIC	R
CFT	S
...	S

**Kazanılmış
Penisilinaz**

★★★★ Best phenotype



1

2

3

TERAPÖTİK DÜZELTME

Biyolojik Validasyon esnasında

> MIK dağılımının dışında>

Biyolojik düzeltme

AES Findings:  Consistent with correction

	Antibiotic	MIC	Inter...		Antibiotic	MIC	Inter...
☐	Beta-Lactamase	POS	+	☐	Moxifloxacin	≤0.25	S
☐	Oxacillin Screen		R	☐	Norfloxacin	2	S
☐	Benzylpenicillin	≥0.5	R	☐	Erythromycin	≥8	R
☐	Oxacillin	1	R	☐	Clindamycin	≥8	R
☐	Gentamicin	≥16	R	☐	Quinupristin/Dalfopristin	0.5	S
☐	Tobramycin	≥16	R	☐	Linezolid	2	S
☐	Ciprofloxacin	≤0.5	S	☐	Teicoplanin	≤0.5	S
☐	Levofloxacin	0.25	S	☐	Vancomycin	≤1	S

Terapotik düzeltme esnasında

> Doğal direnç, fenotip kurallarına göre tespit edildi (CLSI, EUCAST).

Terapötik düzeltme



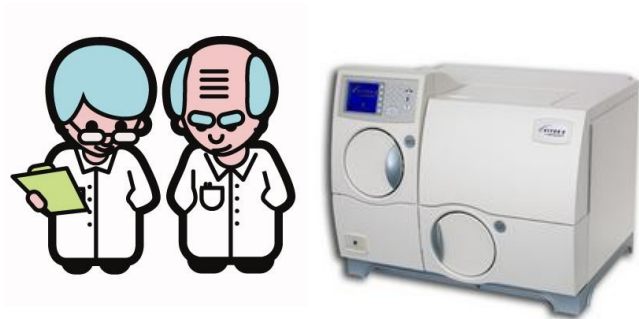
1

2

3

ANTİBİYOTİK ÇIKARIMLARI

- Kartta gerçekten test edilmemiş, ancak AES Veritabanında mevcut olan antibiyotiklerin rapor edilmesini sağlar.



- **AES detay raporu 4 bölümden oluşur:**

- ✓ Fenotipler
- ✓ Terapotik Yorumlar
- ✓ MIK/Test Farklılıkları
- ✓ Antibiyotik Çıkarımları

Antibiotic Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT GEN TOB NET AMI
QUINOLONES	DECREASED SUSCEPTIBILITY
FURANES	RESISTANT
TRIMETHOPRIM/SULFONAMIDES	RESISTANT

Antibiotic	Interpretation Changes	Reason (rule or phenotype)
Piperacillin/Tazobactam	Change I to R	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)
Ceftazidime	Change S to R	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)
Cefepime	Change S to R	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)
Imipenem	Change I to R	MIC Pattern Discrepancy

Antibiotic Family	Antibiotic(s)/Test	Detected Phenotypes	Description of Findings
BETA-LACTAMS	Imipenem	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)	MIC value 1 dilutions too low for best phenotype match.

None



3 VITEK 2 V. 9.02



1

2

3

Resistance Mechanism	CARBAPENEMASE (+ OR - ESBL)
Drug Family	BETA-LACTAMS
Bacteria Name	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>ozaenae</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Salmonella</i> spp except <i>typhi</i> / <i>paratyphi</i> A and B, <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>cloacae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter braakii</i> , <i>Citrobacter youngae</i> , <i>Morganella morganii</i> ssp <i>morganii</i> , <i>Morganella morganii</i> ssp <i>sibonii</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Resistance Mechanism Definition	Plasmidic production of carbapenemases in Enterobacteriaceae, mainly <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. cloacae</i> . Diversity of enzymes, belonging to different classes: KPC, GES (class A ESBLs derivated), VIM, IMP, NDM (class B metallo-enzymes), OXA-48 (class D oxacillinases).
Typical Antibigram and Phenotypic Characteristics	Very variable resistance level to carbapenems: screening test with ertapenem, sensitive but not specific for carbapenemase production. Strains producing KPC or other class A carbapenemases are resistant to all beta-lactams including aztreonam. Poor susceptibility to clavulanic acid, inhibited by boronic acid. Strains producing metallo-enzymes (NDM, IMP, VIM...) are resistant to all beta-lactams except aztreonam. They are not susceptible to clavulanic acid but are inhibited by EDTA or dipicolinic acid. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae is often associated with extended-spectrum β -lactamase (ESBL). When isolates of Enterobacteriaceae are suspicious for carbapenemase production, the Modified Hodge Test, the carba NP test and/or a molecular assay should be performed.
Resistance Spectrum	Very Broad
Transmissibility	Likely to be associated with an outbreak
References (PMID)	Birgy A. Phenotypic screening of carbapenemases and associated β -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol. (2012) 50(4):1295-302. PMID: 22259214 CLSI Document M100-S27: 2017. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th ed. Wayne : PA, 2017.

SONUÇ

- ☐ Duyarlılık sonuçlarını yorumlamak için en güçlü araçtır.

- ☐ Fenotip eşleşmesine dayalı analiz yapılır.

- ❑ **Bilgi Bankası 4.000'den fazla fenotip içerir.**

- ☐ Hem CLSI hem de EUCAST sınır değerleri mevcuttur.





TMC-ADTS Duyuru Bilgilendirme

EUCAST yöntemi ile antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının değerlendirilmesi ve bildiriminde güncel uygulamalara ilişkin bilgilendirme notu

ADTS, Ekim 2020



DUYURU

KLİNİK PAZARLAMA

EUCAST BİLGİLENDİRMESİ

Tarih: 06.11.2020

Konu: VITEK 2 Compact Cihazlarında EUCAST Kısıtlı Bildirim Güncellemesi
Duyuru No: 810



1

2

3

- Enterobacterales: *Morganella morganii*, *Proteus* spp. ve *Providencia* spp.'de sefazolin, sefuroksim iv ve imipenem
- *Pseudomonas* spp.: Piperasilin, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin, tikarsilin-klavulanik asit, sefepim, seftazidim, imipenem, aztreonam, siprofloksasin ve levofloksasin
- *Stenotrophomonas maltophilia*: Trimetoprim-sülfametoksazol
- *Acinetobacter* spp.: Siprofloksasin
- *Staphylococcus* spp.: Siprofloksasin, levofloksasin ve ofloksasin
- *Enterococcus* spp.: İmipenem
- *Streptococcus* grup A, B, C ve G: Levofloksasin
- *Streptococcus pneumoniae*: Levofloksasin
- *Haemophilus influenzae*: Amoksisilin oral, amoksisilin-klavulanik asit oral ve sefuroksim oral
- *Moraxella catarrhalis*: Sefuroksim oral
- *Burkholderia pseudomallei*: Amoksisilin-klavulanik asit, seftazidim, doksisisiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametoksazol”

TEŞEKKÜRLER



PIONEERING DIAGNOSTICS