



HİDER

TÜRK HASTANE İNFEKSİYONLARI ve KONTROLÜ DERNEĞİ

hider.org.tr

İleri Eğitim Programı

Tanısal Yönetişim



Uygulamalı
Eğitim

*"Laboratuvardan Kliniğe:
Doğru Tanı, Etkili Müdahale, Dirence Karşı Güç Birliği!"*

HIZLI TANI TESTLERİ

&

ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Fenotipik Testler



Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İbn-i Sina Hastanesi
Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı
ckarahan@medicine.ankara.edu.tr



- **Giderek artan hasta sayısı**
- **Giderek artan hasta çeşitliliği**
- **Hızlı tanı/tedavi baskısı**
- **Ödeme/geri ödeme güçlüğü (SUT!)**
- **Azalan (kalifiye) iş gücü → 7/24 hizmet**



- **Ödeme/geri ödeme güçlüğü (SUT!)**
- **Azalan (kalifiye) iş gücü → 7/24 hizmet**



- **Giderek artan test sayısı**
- **Giderek artan test çeşitliliği**
- **Hızlı sonuç verme baskısı**

«HIZ» NEDEN ÖNEMLİ?

- **Hasta yönetimi**
 - Antibiyotik başlama/devam etme/durdurma
 - Hastanın ayaktan takibi/hastaneye yatırılması
 - Ek test istenmesi (laboratuvar/görüntüleme)
- **Enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması**
 - Hastanın izolasyonu/temaslı takibi vb.
- **Halk sağlığı sürveyans kapasitesinin geliştirilmesi**
 - Etken/kaynak tespiti
 - Salgınların erken tespiti → Önlemlerin alınması
 - Etkenlerin epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi
 - Antimikrobiyal direnç sürveyansı

- ✓ Hasta morbidite ve mortalitesinde ↓
 - ✓ Hasta/hekim memnuniyetinde ↑
- ✓ Hastanede/YBÜ'de yatış süresinde ↓
- ✓ Tanı/tedavi masraflarında ↓
 - ✓ Maliyet-etkin hasta yönetimi
- ✓ Gereksiz antibiyotik kullanımında ↓
 - ✓ Direnç gelişimin önlenmesi
 - ✓ Yan etkiler, inönlenmesi

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI

Enfeksiyon etkeninin **hızlı ve doğru** izolasyonu ve tanımlanması

Antimikrobiyal duyarlılığının **hızlı ve doğru** belirlenmesi

Kümülatif antibiyogram raporları düzenlenmesi

Sürveyans ve salgınların tespiti ve izlemi

Konsültasyon

Eğitim...



GELENEKSEL TANI

- Etkene yönelik test istemi
- Hasta özellikleri?
- Enfeksiyon alanı?
- Hedef mikroorganizma(lar)?
- Tedavi alternatifleri?
- Testin sonuçlanma süresi?
- Laboratuvarın donanımı?
- Laboratuvarın tecrübesi?
- Geri ödeme?



MİKROBİYOLOJİK TANI YÖNTEMLERİ

- Hangi hasta?
- Hangi etken?
- Ne kadar hızlı?
- Ne kadar kesin?
- Bütçe, geri ödeme?
- **Laboratuvar olanakları?**

Biyobelirteçler
Biyosensörler

Mikroskopi

Kültür

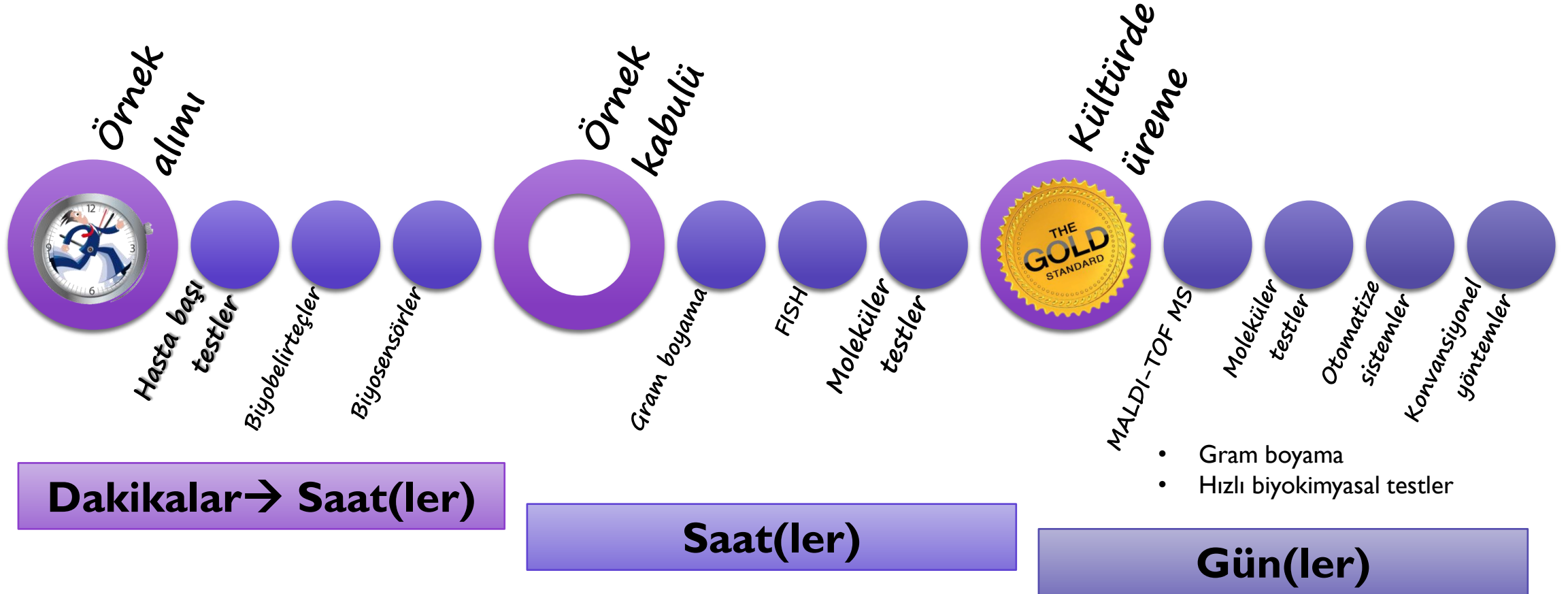
Seroloji

Moleküler testler

MALDI-TOF MS



NE KADAR HIZLI??



FENOTİPİK TANIMLAMA

Mikroorganizmaların gözlenebilir özellikleri ve davranışları ile tanımlama

■ Morfolojik özellikler

- Hücre şekli, büyüklüğü, kapsül varlığı, hareketlilik, vb.
- Koloni morfolojisi (şekli, büyüklüğü, yüksekliği, kenarlarının düzgünlüğü, S/R/M tipi, pigment üretimi, kokusu)

■ Üreme yeteneği

- Atmosfer şartları, sıcaklık, tuzlu/asidik ortam, alkol varlığı vb.

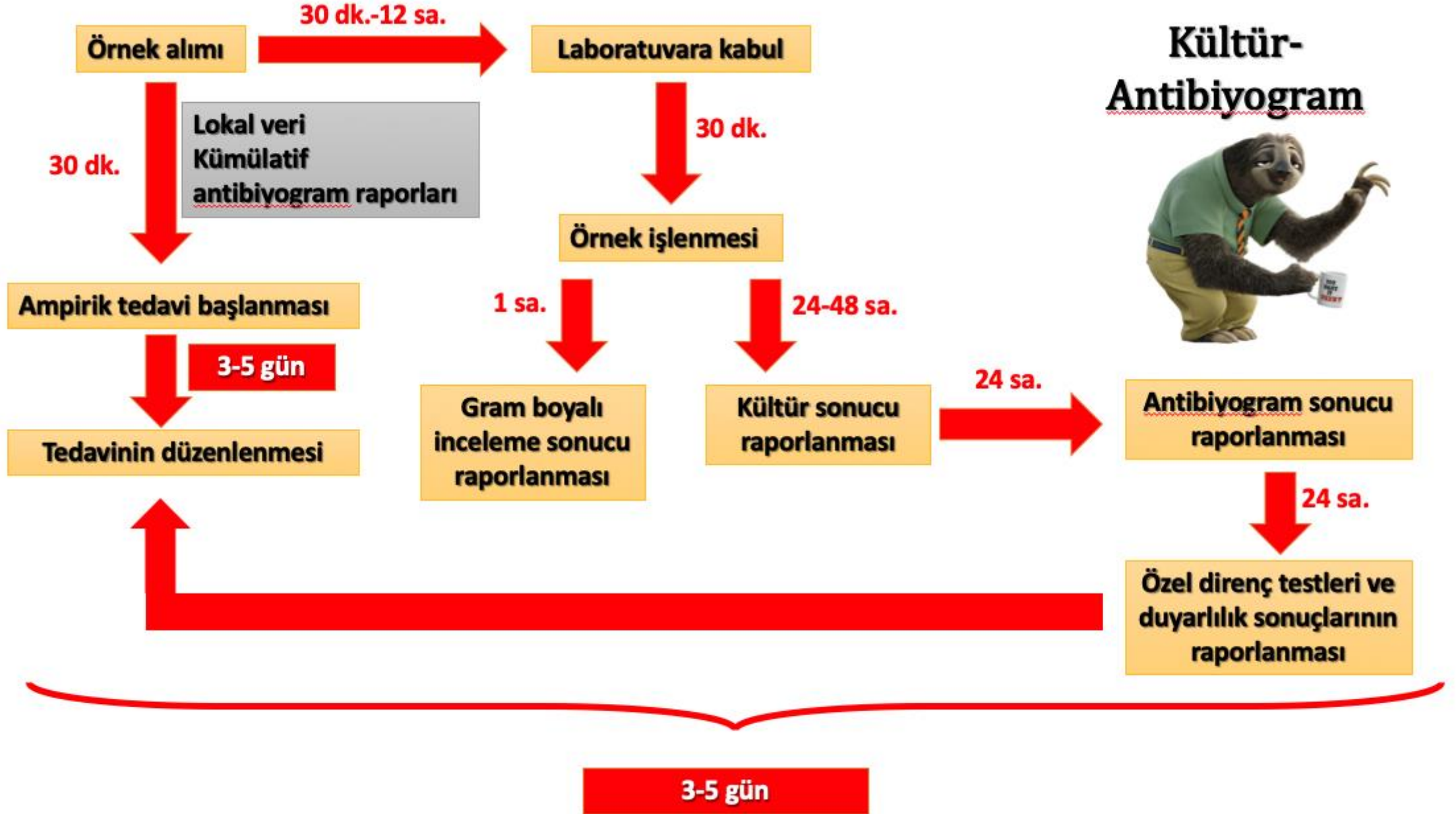
■ Biyokimyasal özellikler

- Enzim üretimi → katalaz, oksidaz, vb.
- Kullandığı metabolik yolların tanımlanması → Karbonhidrat fermentasyonu, son ürünlerin tespiti

■ Antijenik Özellikleri

- Organizmaya ait spesifik antijenlerin tespiti → Serotipleme

Kültür- Antibiyogram



HIZLI FENOTİPİK TANI?

- Klinik örnekte üremeyi öngörmek?
- Klinik örnekte etkeni tanımlamak?
- Üreme süresini kısaltmak?
- **Tanımlama süresini kısaltmak?**

ÜREMEYİ ÖNGÖRMEK/ETKENİ TANIMLAMAK

■ Mikroskopi

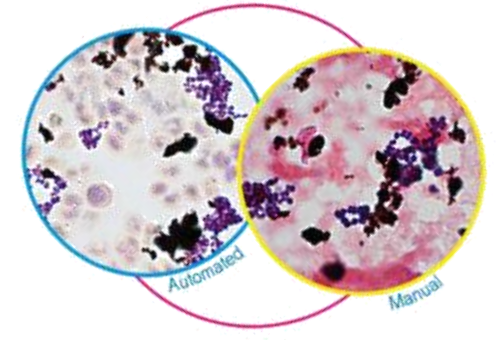
■ En hızlı sonuç!

- Direkt mikroskopi
- Boyalı mikroskopi

■ Gram boyama**

- ARB, Çini mürekkebi, Giemsa, ...

■ FISH**



JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2000, p. 830-838
0095-1137/00/\$04.00+0

Vol. 38, No. 2

Copyright © 2000, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Fluorescent In Situ Hybridization Allows Rapid Identification of Microorganisms in Blood Cultures

VOLKHARD A. J. KEMPF, KARLHEINZ TREBESIUS, AND INGO B. AUTENRIETH*

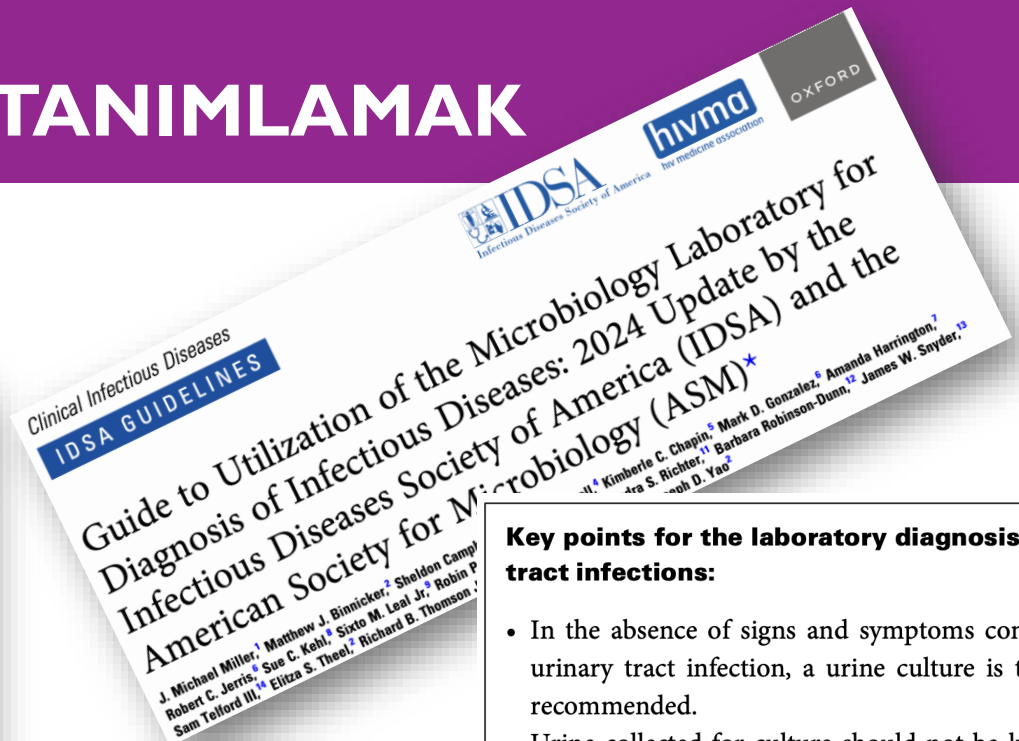
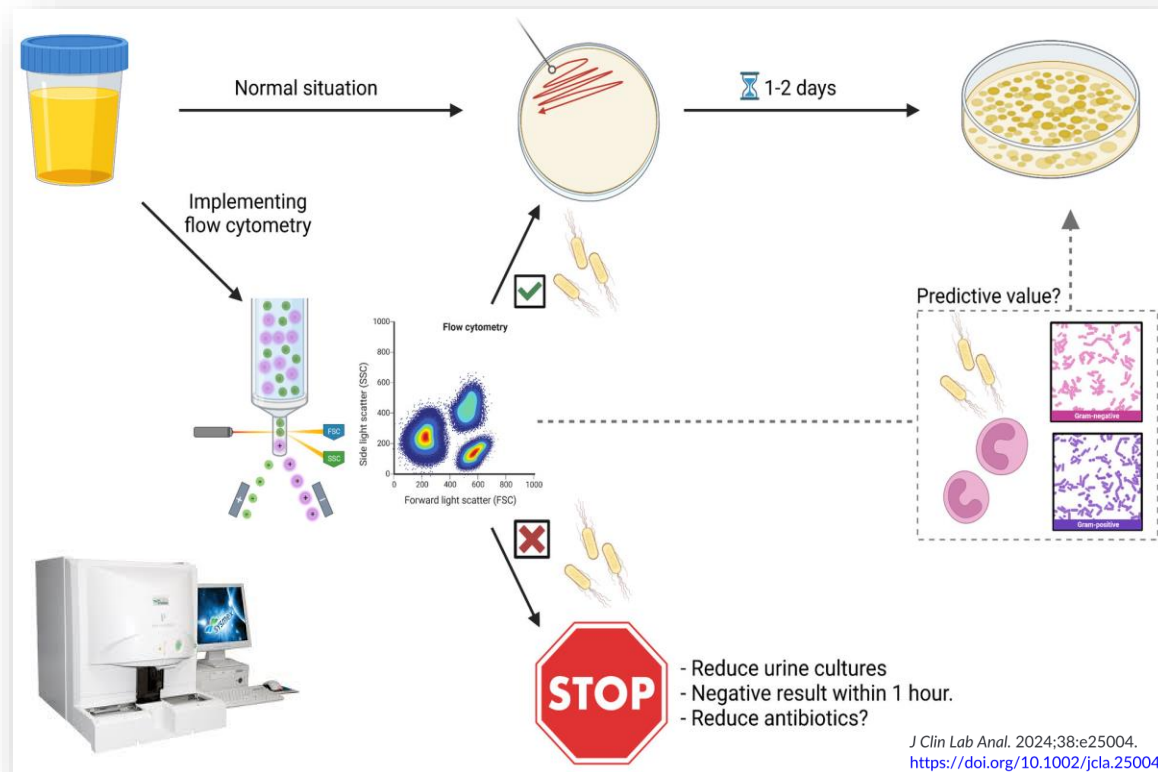
Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie,
Ludwig Maximilians Universität München, D-80336 Munich, Germany

Received 30 July 1999/Returned for modification 20 September 1999/Accepted 20 October 1999

Using fluorescent in situ hybridization (FISH) with rRNA-targeted fluorescently labeled oligonucleotide probes, pathogens were rapidly detected and identified in positive blood culture bottles without cultivation and biotyping. In this study, 115 blood cultures with a positive growth index as determined by a continuous-reading automated blood culture system were examined by both conventional laboratory methods and FISH. For this purpose, oligonucleotide probes that allowed identification of approximately 95% of those pathogens typically associated with bacteremia were produced. The sensitivity and specificity of these probes were 100%. From all 115 blood cultures, microorganisms were grown after 1 day and identification to the family, genus, or species level was achieved after 1 to 3 days while 111 samples (96.5%) were similarly identified by FISH within 2.5 h. Staphylococci were identified in 62 of 62 samples, streptococci and enterococci were identified in 19 of 20 samples, gram-negative rods were identified in 28 of 30 samples, and fungi were identified in two of two samples. Thus, FISH is an appropriate method for identification of pathogens grown in blood cultures from septicemic patients.

ÜREMEYİ ÖNGÖRMEK/ETKENİ TANIMLAMAK

■ Flow sitometri



Key points for the laboratory diagnosis of urinary tract infections:

- In the absence of signs and symptoms consistent with urinary tract infection, a urine culture is typically not recommended.
- Urine collected for culture should not be kept at room temperature for more than 30 minutes. Hold at refrigerator temperatures or utilize a preservative tube if not processed by the laboratory within 30 minutes.
- **Reflexing to culture based on a positive pyuria screen may be considered. If a reflexive algorithm is implemented, it should be a locally approved policy guided by clinicians and laboratorians.**
- Three or more species of bacteria in a urine specimen usually indicates contamination at the time of collection and interpretation remains challenging.

Decreased Mortality Associated With Prompt Gram Staining of Blood Cultures

Joan Barenfanger, MD,¹ Donald R. Graham, MD,² Lavanya Kolluri, MD,^{3*} Gaurav Sangwan, MD,³ Jerry Lawhorn,¹ Cheryl A. Drake,¹ Steven J. Verhulst, PhD,⁴ Ryan Peterson,⁶ Lauren B. Moja, PharmD,⁷ Matthew M. Ertmoed, PharmD,⁷ Ashley B. Moja,⁵ Douglas W. Shevlin, MD,¹ Robert Vautrain, MD,^{1*} and Charles D. Callahan, PhD¹

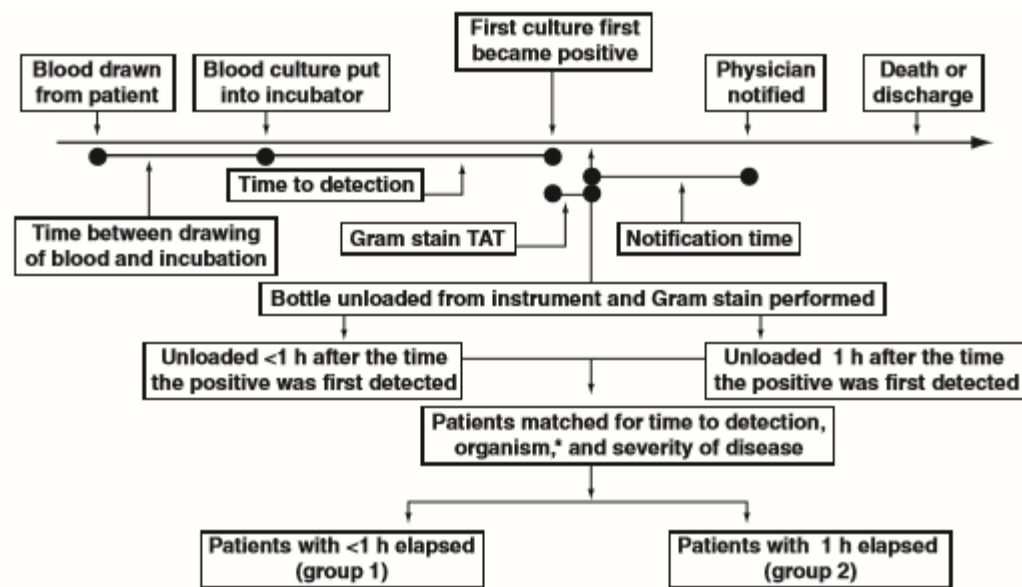


Figure 1 Diagram of a study of turnaround time (TAT) of Gram stains. * *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus* groups B and G, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*.

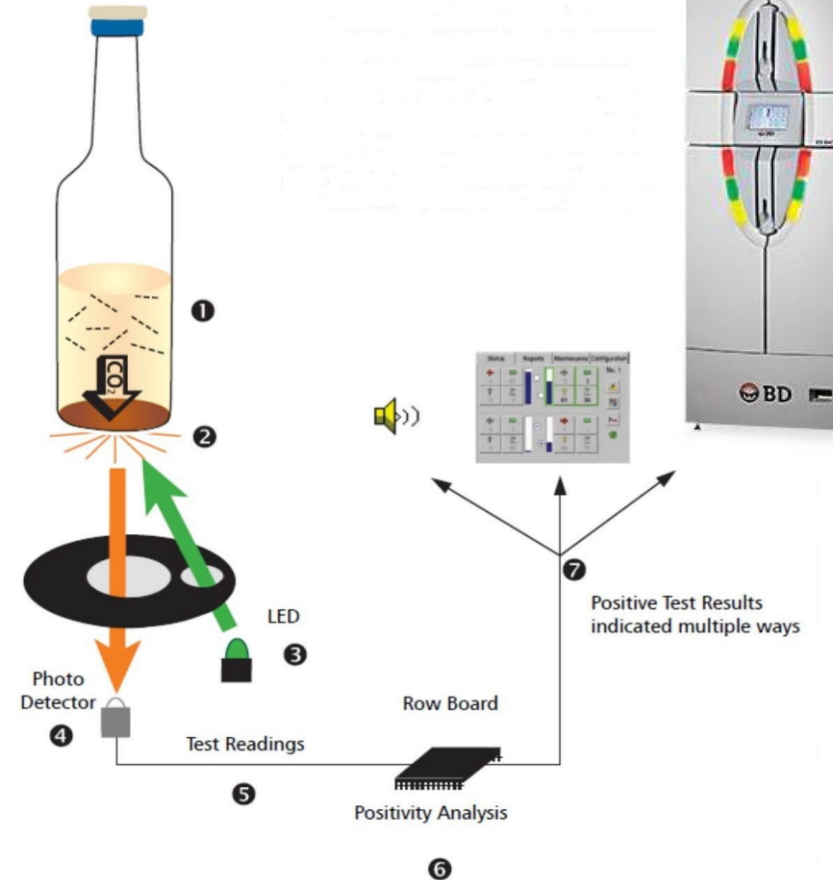
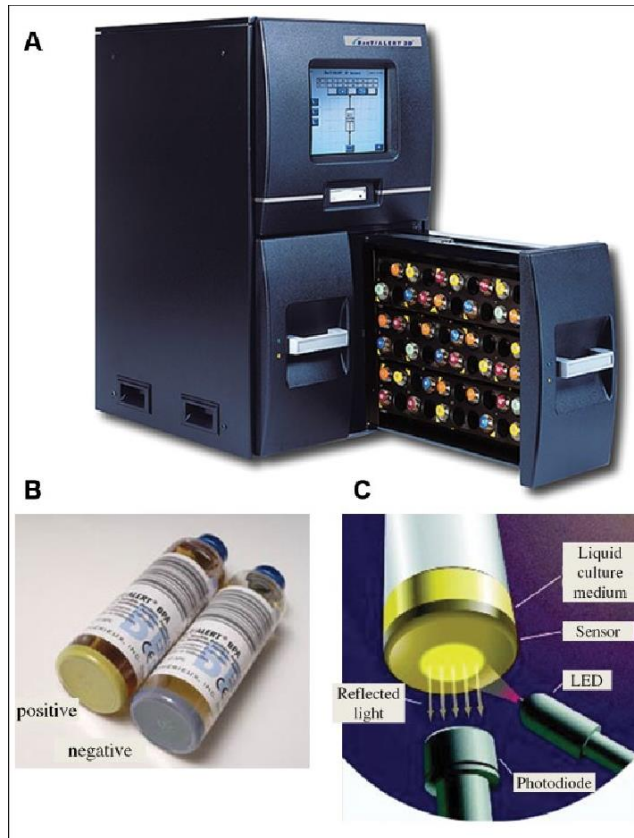
Abstract

Gram stains of positive blood cultures are the most important factor influencing appropriate therapy. The sooner appropriate therapy is initiated, the better. Therefore, it is reasonable to expect that the sooner Gram stains are performed, the better. To determine the value of timely Gram stains and whether improvement in Gram stain turnaround time (TAT) is feasible, we compared data for matched pairs of patients with cultures processed promptly (<1 hour TAT) with data for patients with cultures not processed promptly (≥1 hour TAT) and then monitored TAT by control charting.

In 99 matched pairs, average difference in time to detection of positive blood cultures within a pair of patients was less than 0.1 hour. For the less than 1 hour TAT group, the average TAT and crude mortality were 0.1 hour and 10.1%, respectively; for the 1 hour or longer TAT group, they were 3.3 hours and 19.2%, respectively (P < .0001 and P = .0389, respectively). After multifaceted efforts, we achieved significant improvement in the TAT for Gram stains.

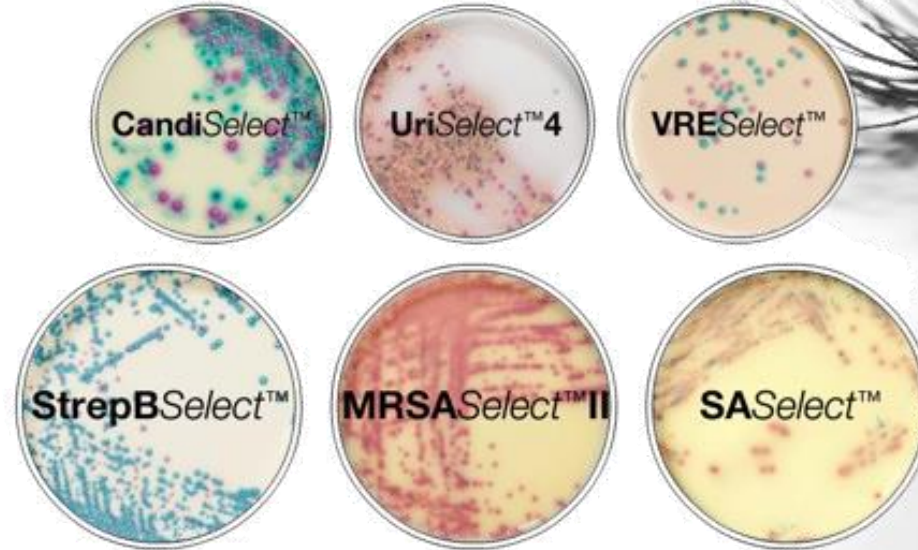
ÜREME SÜRESİNİ KISALTMAK?

- Sürekli monitörizasyon yapan tam otomatik kan kültürü sistemleri



ÜREME SÜRESİNİ KISALTMAK?

- **Kromojenik besiyerleri**
 - MRSA, VRE, CRE, *C.difficile*, *C. auris*...
 - Artmış duyarlılık +/- özgüllük
 - Daha kısa inkübasyon
 - 24 sa X 48-72 sa



TANIMLAMA SÜRESİNİ KISALTMAK

➤ Hızlı Fenotipik Tanı Testi

➤ Testin uygulandığı gün sonucun alındığı testler

➤ ≤ 10 dk (*rapid test*), 1-4 saat (*quick test*)

➤ Hızlı Fenotipik Tanı Yaklaşımı

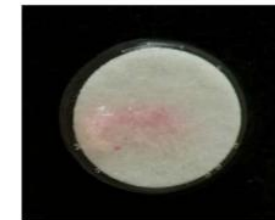
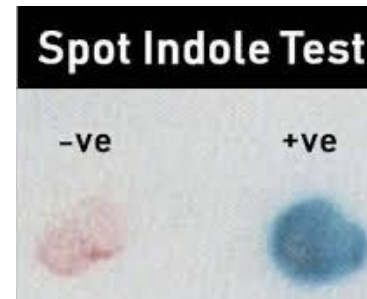
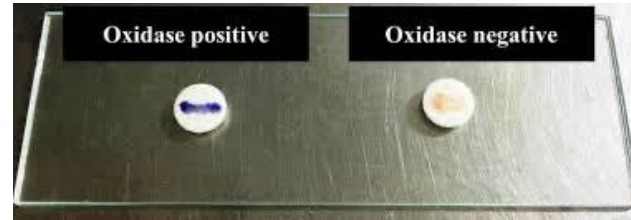
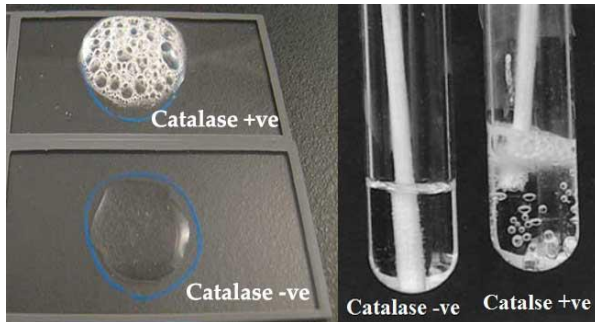
➤ Konvansiyonel tanımlama yöntemlerinde kullanılan bakteri inokulum miktarının arttırılması, sübstrat hacminin azaltılması (örn; karbonhidrat fermentasyon testleri)

➤ Enzimatik aktivitenin varlığını gösterecek özgün sübstratlar kullanılması (örn; tek enzim testleri)

➤ Serolojik testlerle antijenik tanımlama (örn; aglütinasyon testleri)

TANIMLAMA SÜRESİNİ KISALTMAK?

- **Tek enzim testleri (→ dakikalar içerisinde sonuç)**
 - Katalaz (özellikle Gram-pozitif bakterilerin tanımlanmasında)
 - Oksidaz (özellikle Gram-negatif bakterilerin tanımlanmasında)
 - Spot indol testi (indol-pozitif enteriklerin/anaerobların tanımlanmasında)
 - PYR testi (*S. pyogenes* ve enterokokların tanımlanmasında)



PYR positive
(pink)

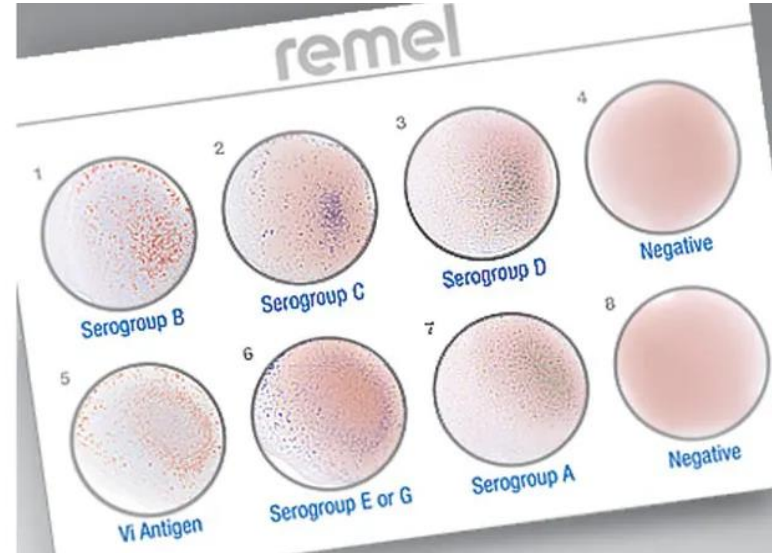
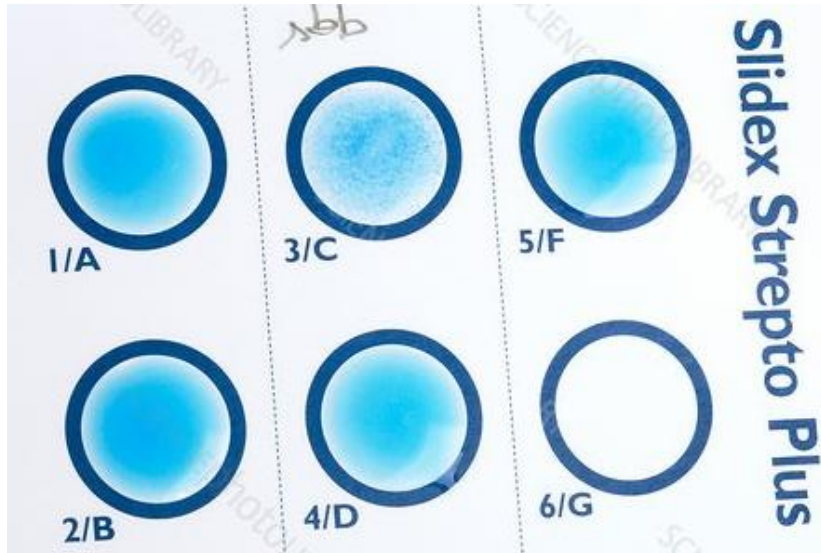


PYR negative
(no color)

TANIMLAMA SÜRESİNİ KISALTMAK?

■ Serolojik Tanı

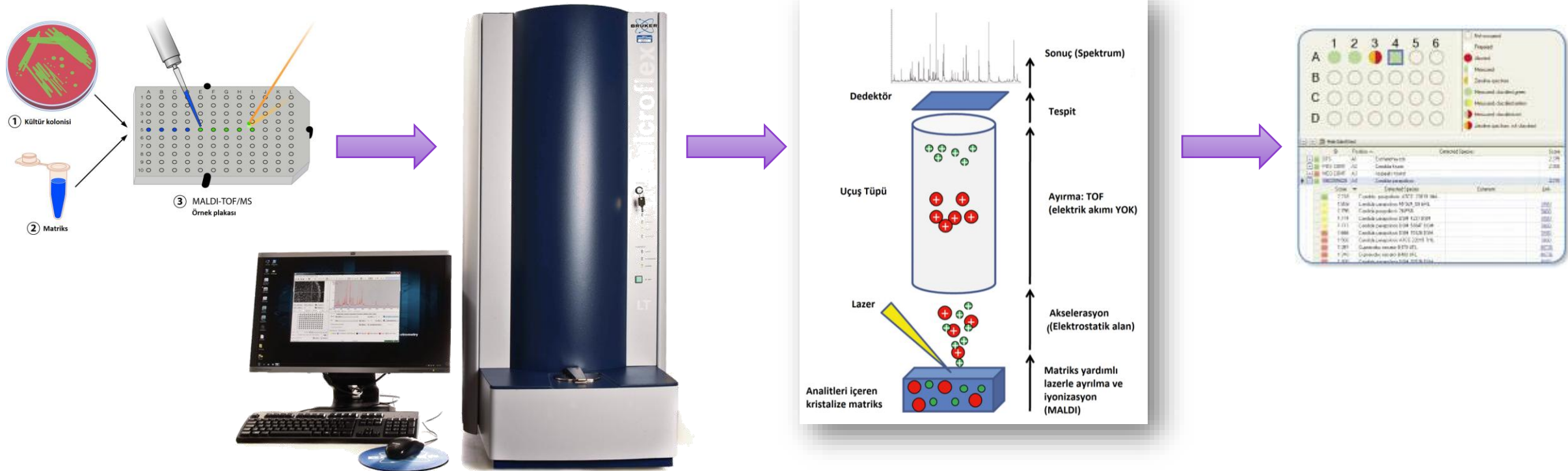
- Streptokoklarda grup tayini, *S. aureus* tanımlanması
- *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* türlerinin/serotiplerinin tanımlanması, ...



TANIMLAMA SÜRESİNİ KISALTMAK?

MALDI-TOF MS

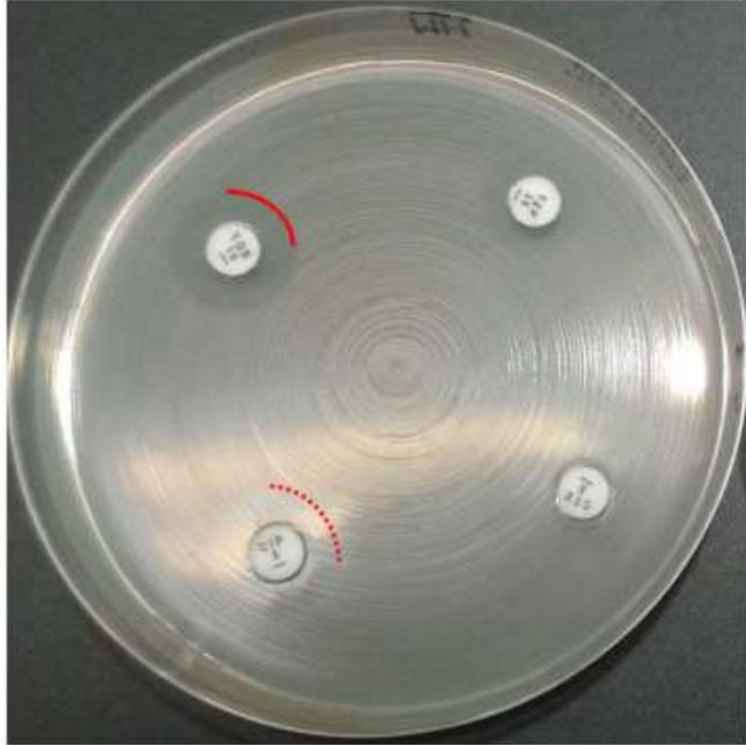
«*MATRIX ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION-TIME OF FLIGHT MASS SPECTROMETRY*»



ADT SÜRESİNİ KISALTMAK?

- Kan kültürü şişelerinden HADT (GSBL & KPaz)

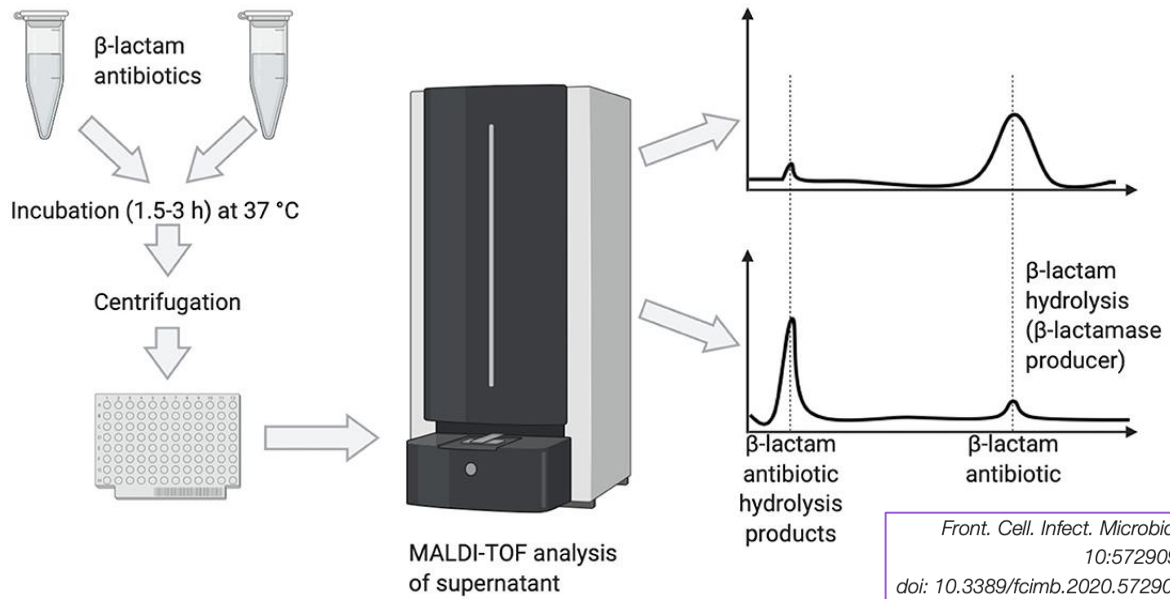
 **EUCAST** European Committee
on Antimicrobial
Susceptibility Testing



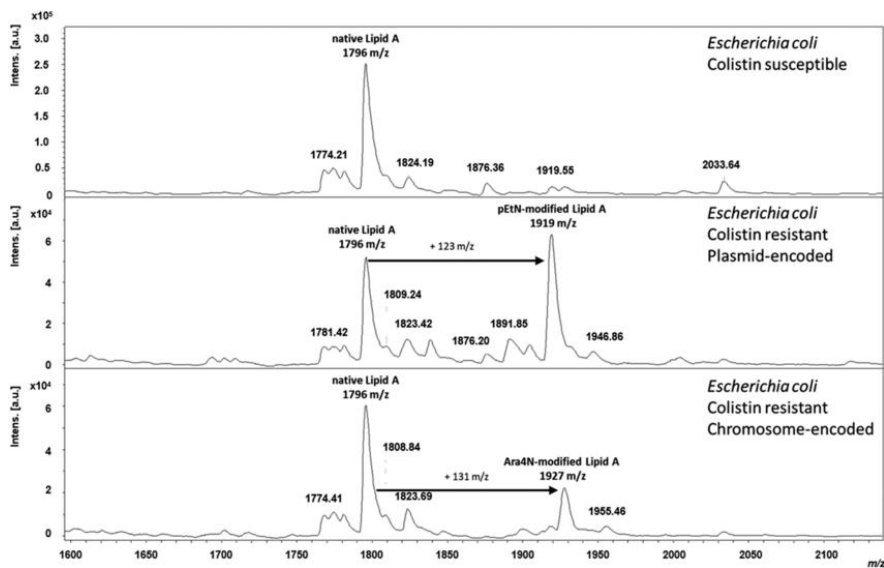
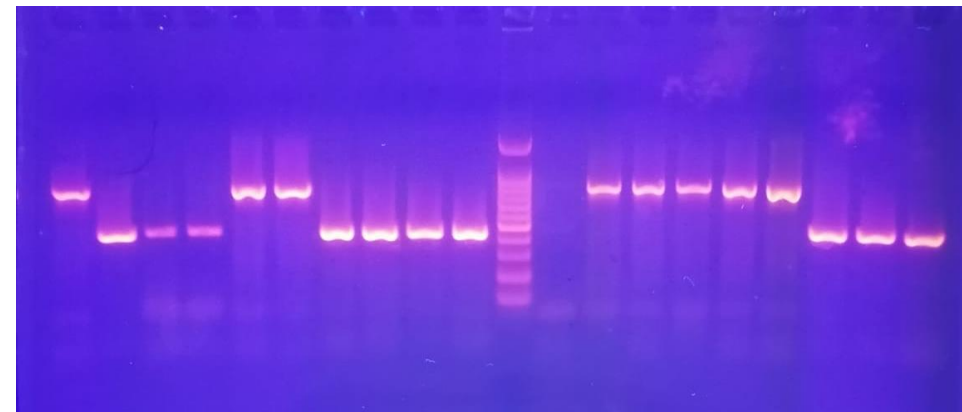
4-18 saatte sonuç



6-16 saatte sonuç



Front. Cell. Infect. Microbiol.
 10:572909.
 doi: 10.3389/fcimb.2020.572909



European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2023)
<https://doi.org/10.1007/s10096-023-04587-9>



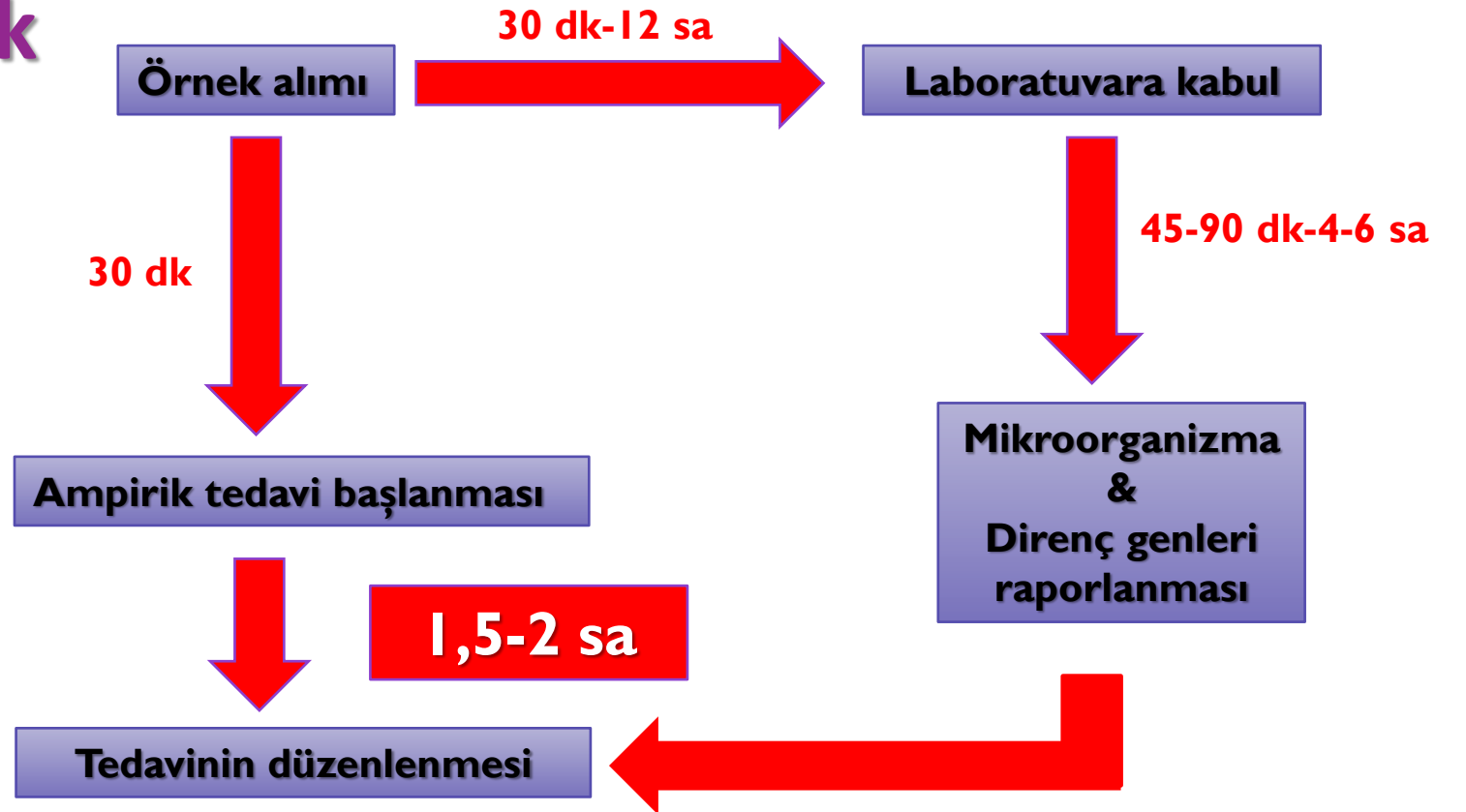
BD MAX System Training
 Specimen Preparation
 BD MAX™ MRSA XT and
 BD MAX™ StaphSR assays

BD MAX System Training
 Specimen Preparation
 BD MAX™ Multi Drug Resistant
 Tuberculosis (MDR-TB)

BD MAX System Training
 Specimen Preparation
 BD MAX™
 Check-Points CPO Assay

HEPSİNİ BİR ARADA YAPMAK???

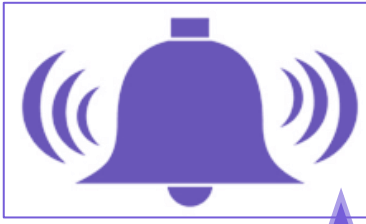
Moleküler Sendromik Testler





Kan alınır ve kültür şişesine inoküle edilir

Otomatize kan kültürü sistemine yüklenir



NEGATİF SONUÇLANIR

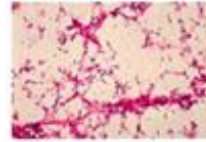
POZİTİF SİNYALİ ALINIR

Hızlı tanımlama
(MALDI-TOF MS)

Dakikalar içinde sonuç!



Şişeden Gram Boyama



Pasajlar yapılır,
Hızlı ADT çalışılır

(24 saat)



48 saat
İdentifikasyon ve ADT



BioFire FilmArray Blood Culture Identification 2 (BCID2) Panel

Gram-negative Bacteria

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex
Bacteroides fragilis
Enteric Bacteria
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Klebsiella aerogenes
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae group
Proteus spp.
Salmonella spp.
Serratia marcescens
Haemophilus influenzae
Neisseria meningitidis
Pseudomonas aeruginosa
Stenotrophomonas maltophilia

Yeast

Candida albicans
Candida auris
Candida glabrata
Candida krusei
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Cryptococcus neoformans/gattii

Gram-positive Bacteria

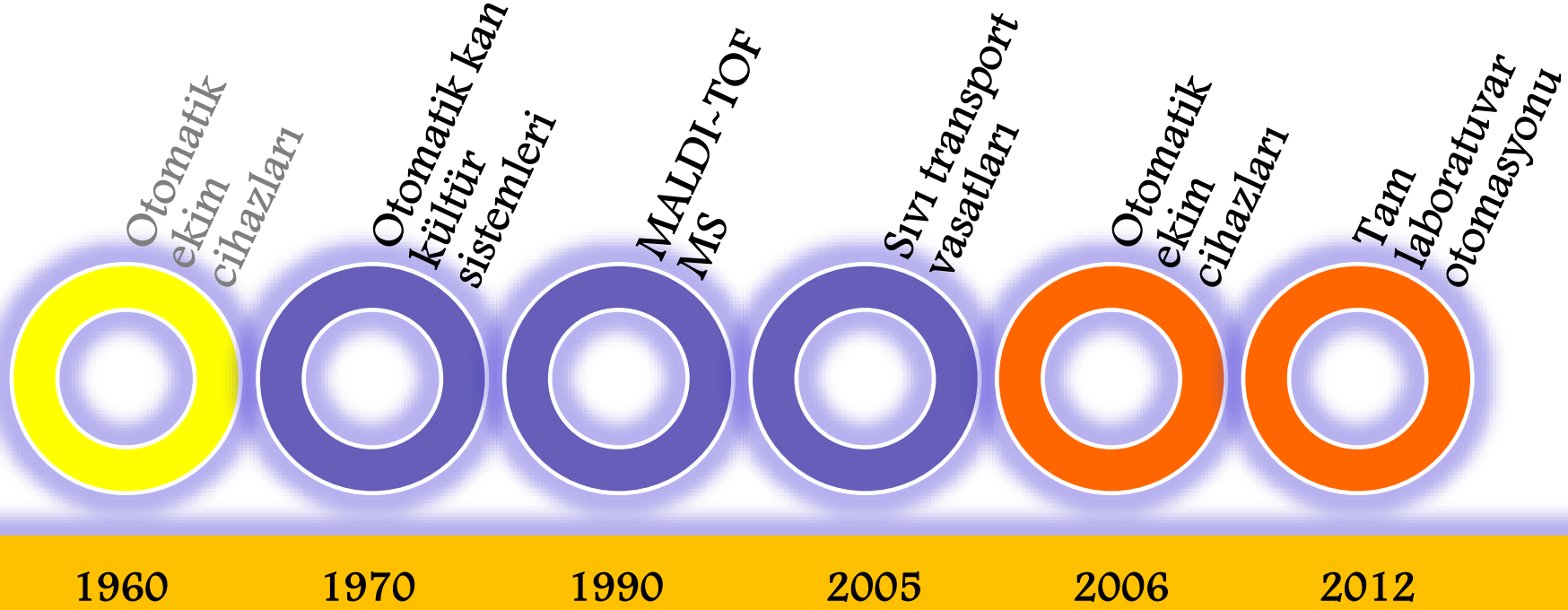
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Listeria monocytogenes
Staphylococcus spp.
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus spp.
Streptococcus agalactiae (Group B)
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (Group A)

Antimicrobial Resistance Genes

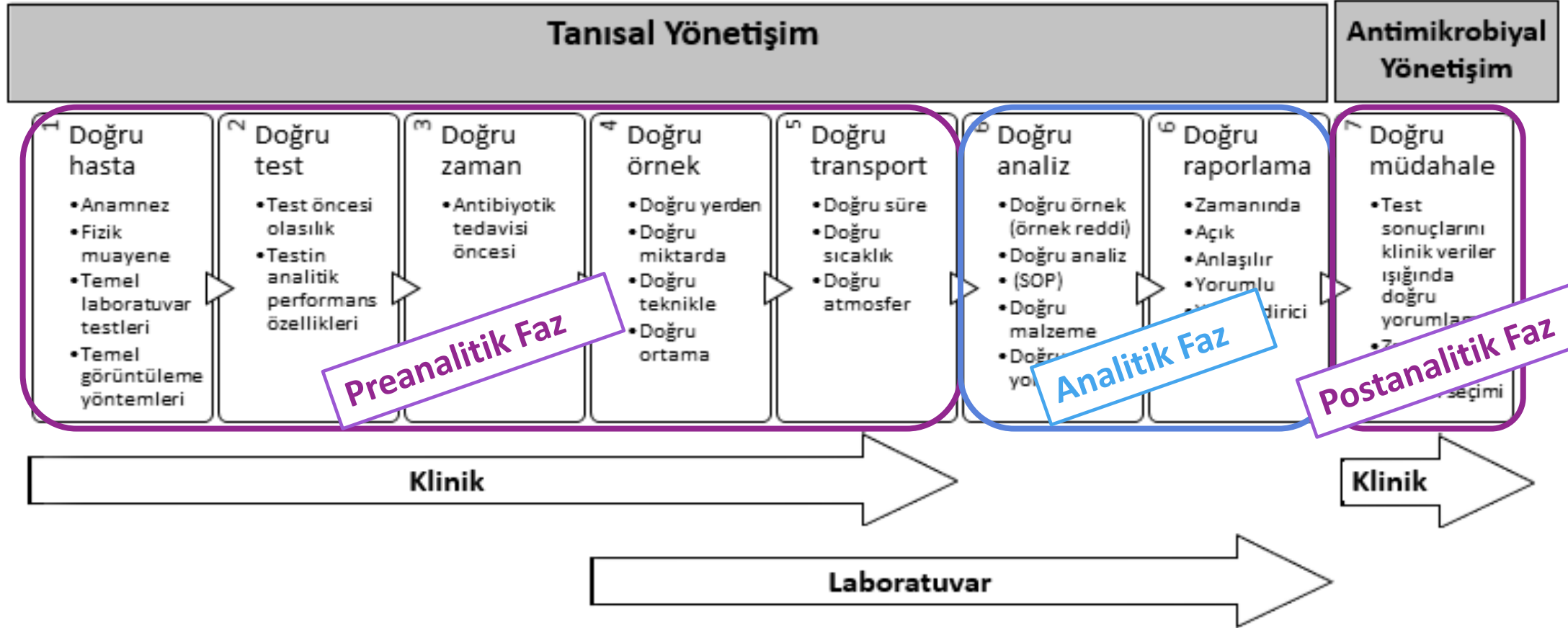
*bla*_{CTX-M}
*bla*_{IMP}
*bla*_{KPC}
mcr-1
mecA/C and MREJ
*bla*_{NDM}
*bla*_{OXA-48-like}
*bla*_{VIM}
vanA/B



TÜM LABORATUVAR OTOMASYONU

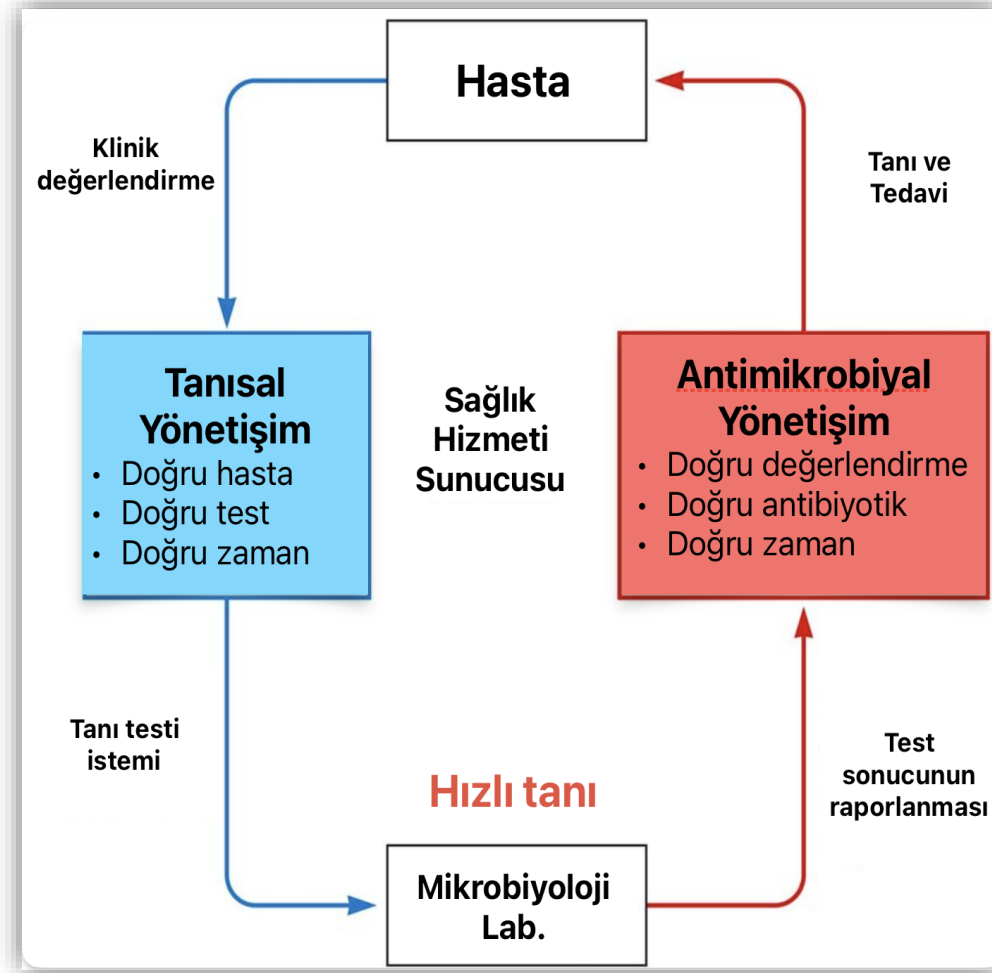


TANISAL YÖNETİŞİM



TANISAL YÖNETİŞİM

- Tanı testlerinin doğru kullanımı
- Gereksiz test isteminin azaltılması
- Gereksiz test maliyetlerinin azaltılması
- Zamanında doğru tanı
- **HASTA YARARI**



ANTİMİKROBİYAL YÖNETİŞİM

- Hastaya zamanında doğru tedavi başlanması
- Gereksiz antibiyotik kullanımının azaltılması
- Tedavi maliyetlerinin düşürülmesi
- Antibiyotik kullanımına bağlı istenmeyen sonuçların azaltılması
- **HASTA YARARI**

