



**Sinerji Testleri : Laboratuvardan kliniğe yaklaşımlar**

# **Sinerji Sonuçlarının Klinikteki Yeri**

**Prof. Dr. İftihar Köksal**  
**Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı**  
**Trabzon**

[iftihar@yahoo.com](mailto:iftihar@yahoo.com)

**XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi**  
**11 Kasım 2010 Girne**

# Konuşma planı

- Sinerji testlerinin tanımı
- Tarihçe
- Sinerjik kombinasyonlar
- Sinerjiden yararlanılabilecek bakteriler
- Sinerjiden yararlanılabilecek hastalıklar
- Sinerji çalışmalarından rnekler
- Klinik sonuçlar

# Sinerji

- **İn vitro sinerji testleri**
  - Antibiyotik kombinasyonlarının in vivo etkisini saptamak için kullanılan testler
- **Kombinasyon şekilleri**
  - **Sinerji**
    - antibiyotikler tek başlarına kullanıldıklarında elde edilen etkilerin toplamından daha fazla etki
  - **Antagonizma**
    - antibiyotikler tek başlarına kullanıldıklarında elde edilen etkilerin toplamından daha düşük etki
  - **İndiferan (aditif) etki**
    - antibiyotikler tek başlarına kullanıldıklarında elde edilen etkilerin toplamına eşitse

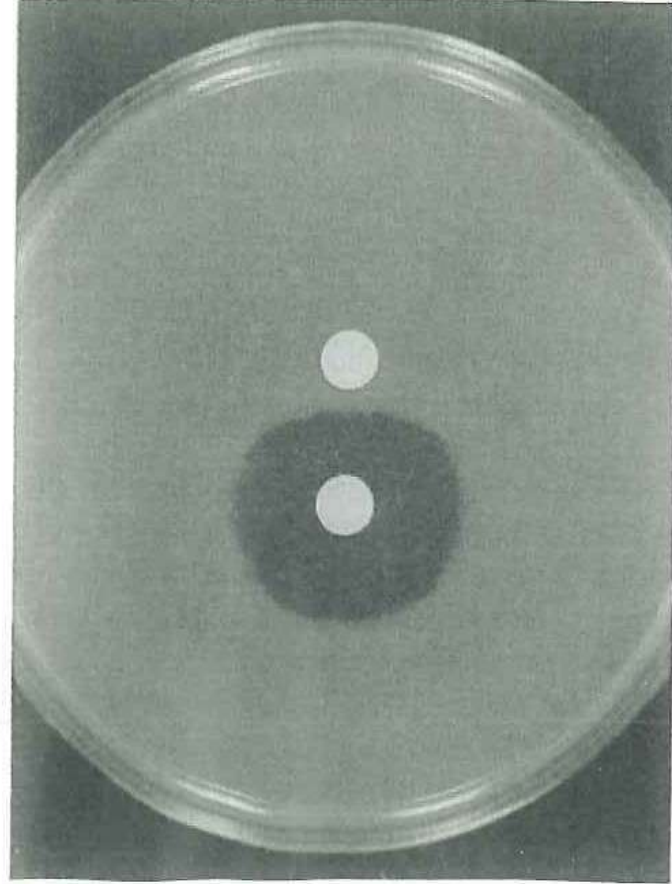
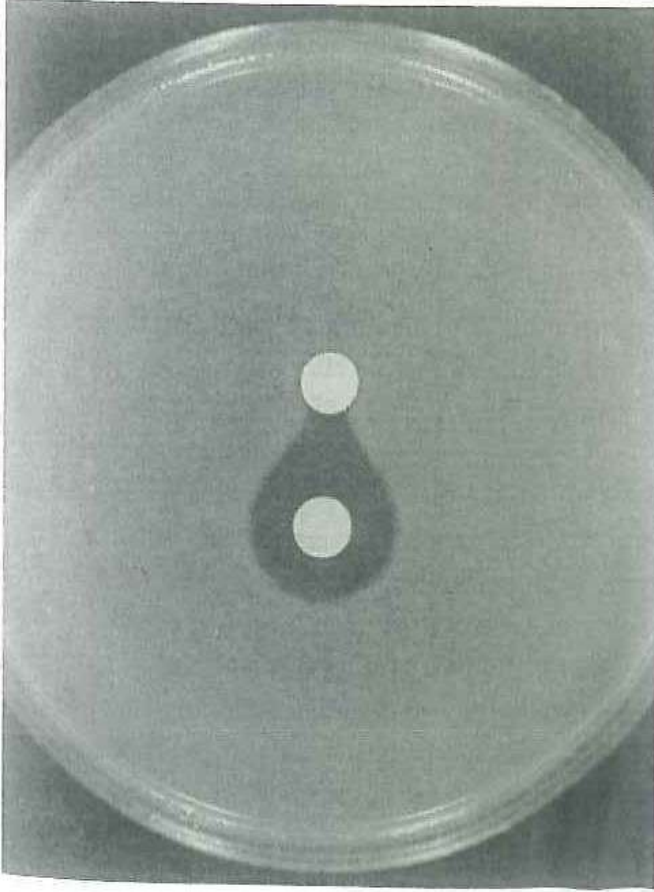
# Sinerji

- Sinerjinin bir diğer tanımı;
  - Tek başına bir antibiyotiğin MIK değerine oranla, aynı antibiyotiğin kombinasyon MIK'inde en az dört kat düşüş olması
- Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler
  1. Checkerboard (Dama tahtası) yöntemi
  2. Zamana bağlı öldürme (time-kill) yöntemleri
  3. Disk difüzyon yöntemi
  4. E test yöntemi

# Kirby Bauer disk difuzyon yöntemi

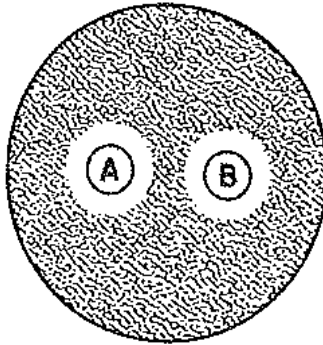
- Çift disk sinerji yönteminde metod aynı
- Diskler arası mesafe
  - diskler tek tek çalışıldığında elde edilen zon çaplarının toplamına eşit ya da daha fazla olmasına dikkat edilmelidir
  - İnkubasyon sonrası değerlendirmede iki zon çapının birbirine bakan tarafında genişleme ya da köprü oluşumu sinerji olarak tanımlanmaktadır

# Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi

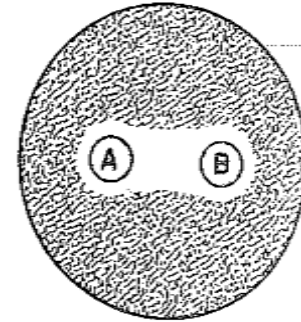


# Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi

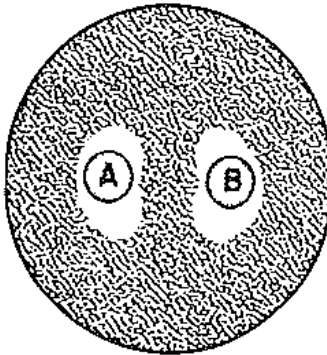
A. ADDITIVE  
(indifferent)



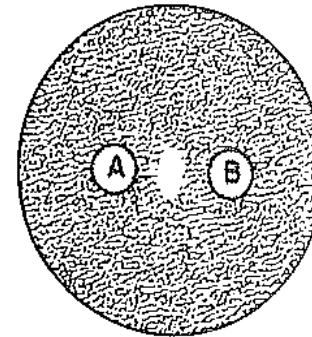
B. SYNERGISTIC



C. ANTAGONISTIC



D. SYNERGISTIC



# Dama tahtası

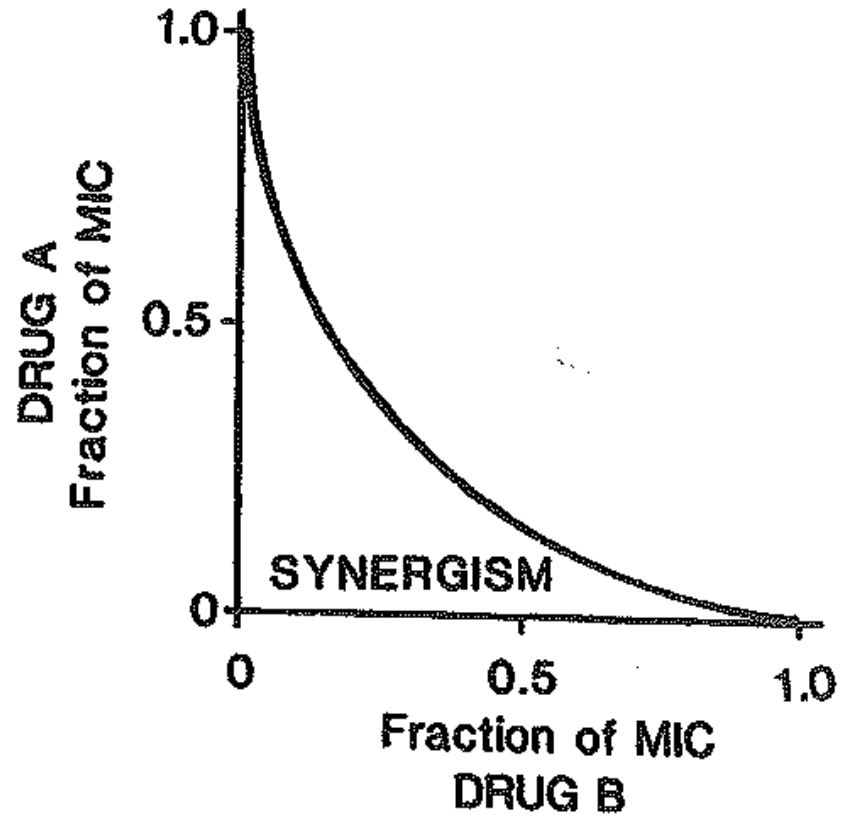
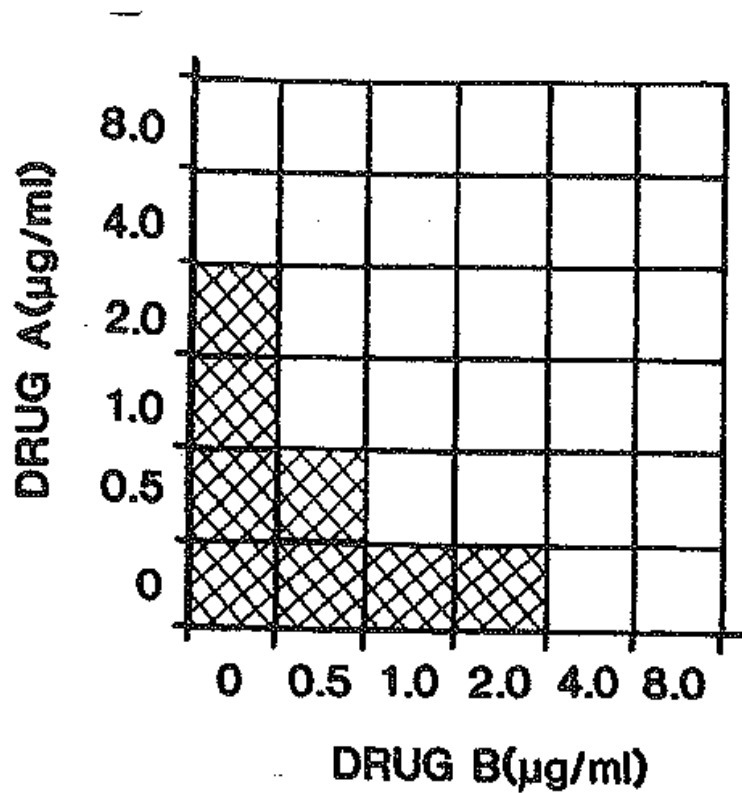
- Mikro sıvı dilüsyon yöntemi
  - Bakterisidal etki de çalışılabilir
- Agar tarama
  - *Mycobacterium* türlerinde inkübasyon uzatılabilir
- Her ilaç önceden çalışılarak MİK değerleri saptanmalı



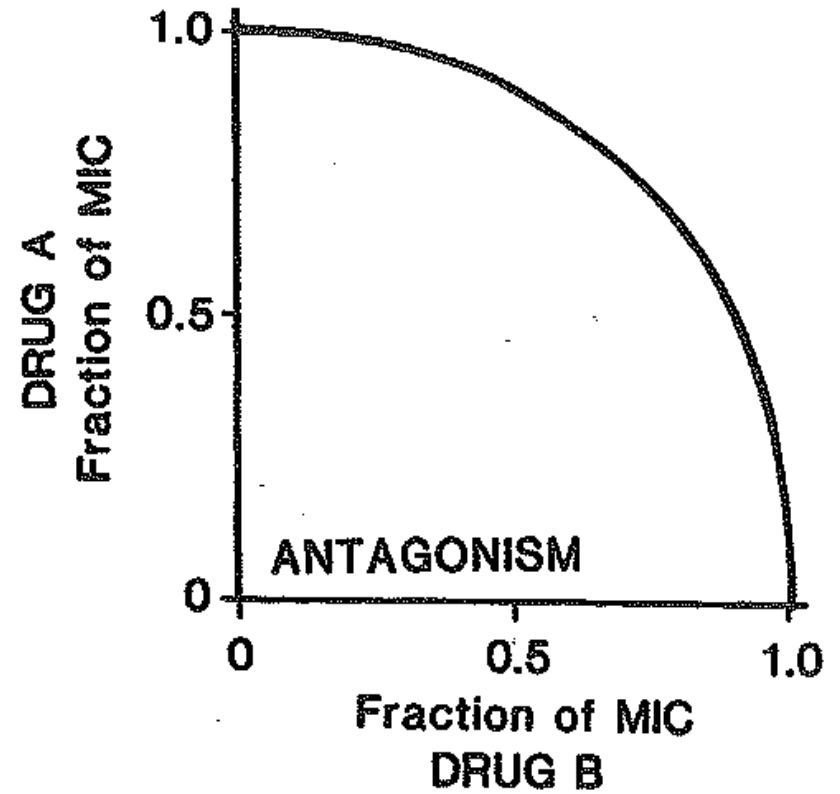
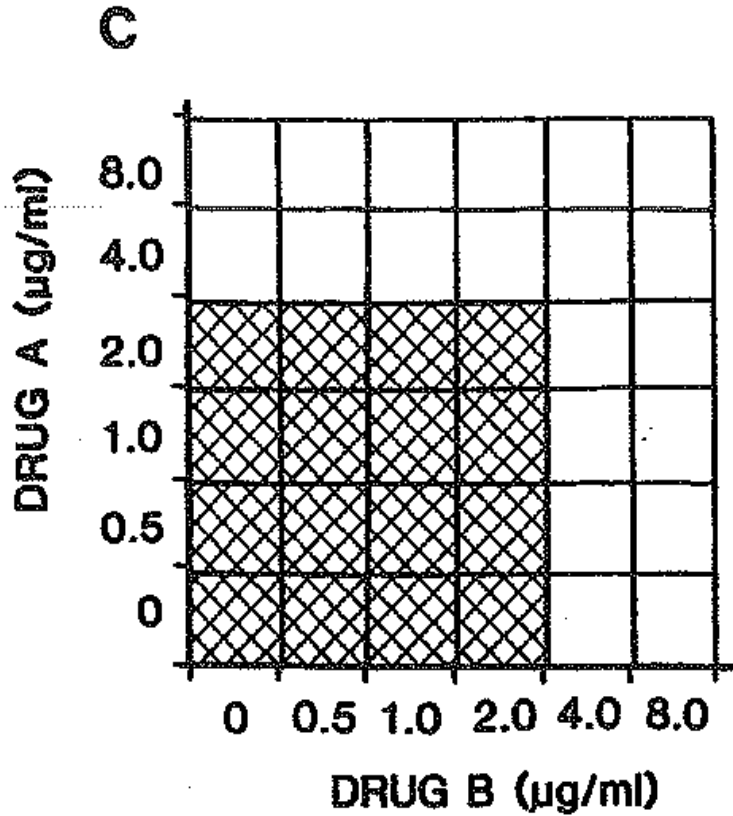
# Dama tahtası

- Saptanmış olan MİK değerlerinin en az iki kez iki kat yüksek konsantrasyondan başlanmalı
- En az  $\frac{1}{4}$  konsantrasyona kadar dilüsyona devam edilmelidir
- Yine aynı iki kat artan dilüsyonlarla çalışmak değerlendirmede kolaylık sağlayacaktır

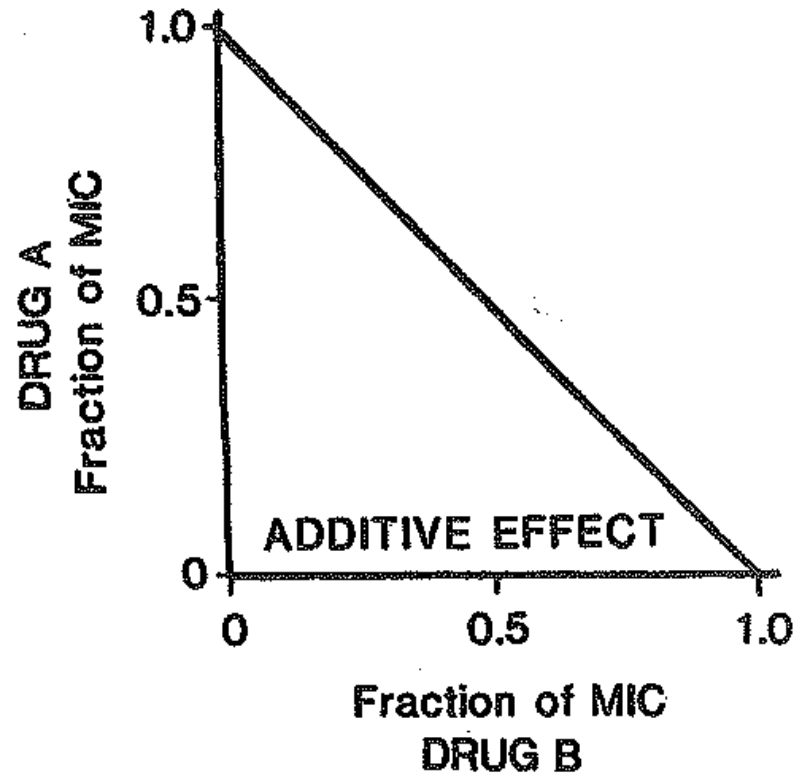
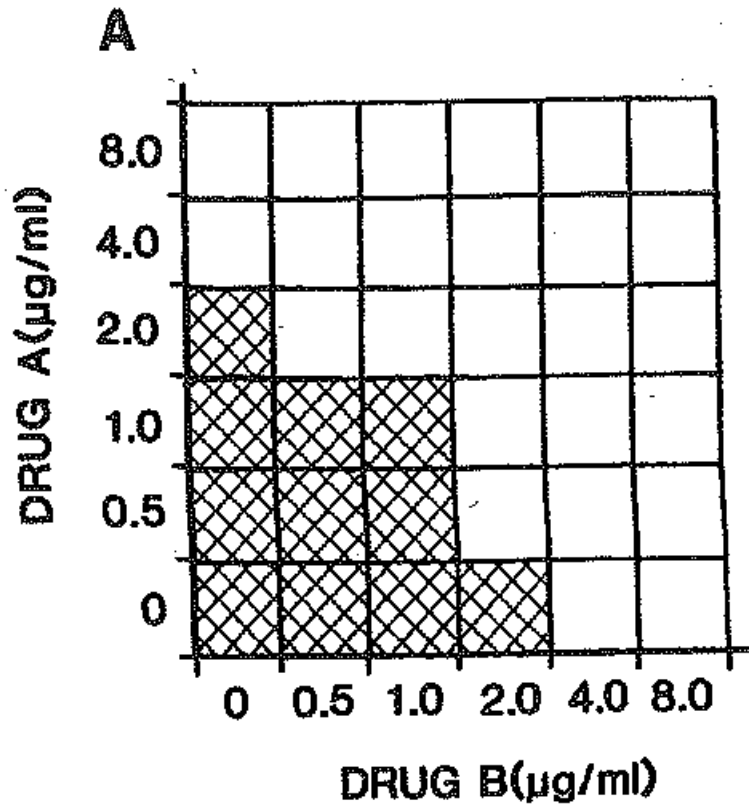
# Dama tahtası-değerlendirme



# Dama tahtası-değerlendirme



# Dama tahtası-değerlendirme



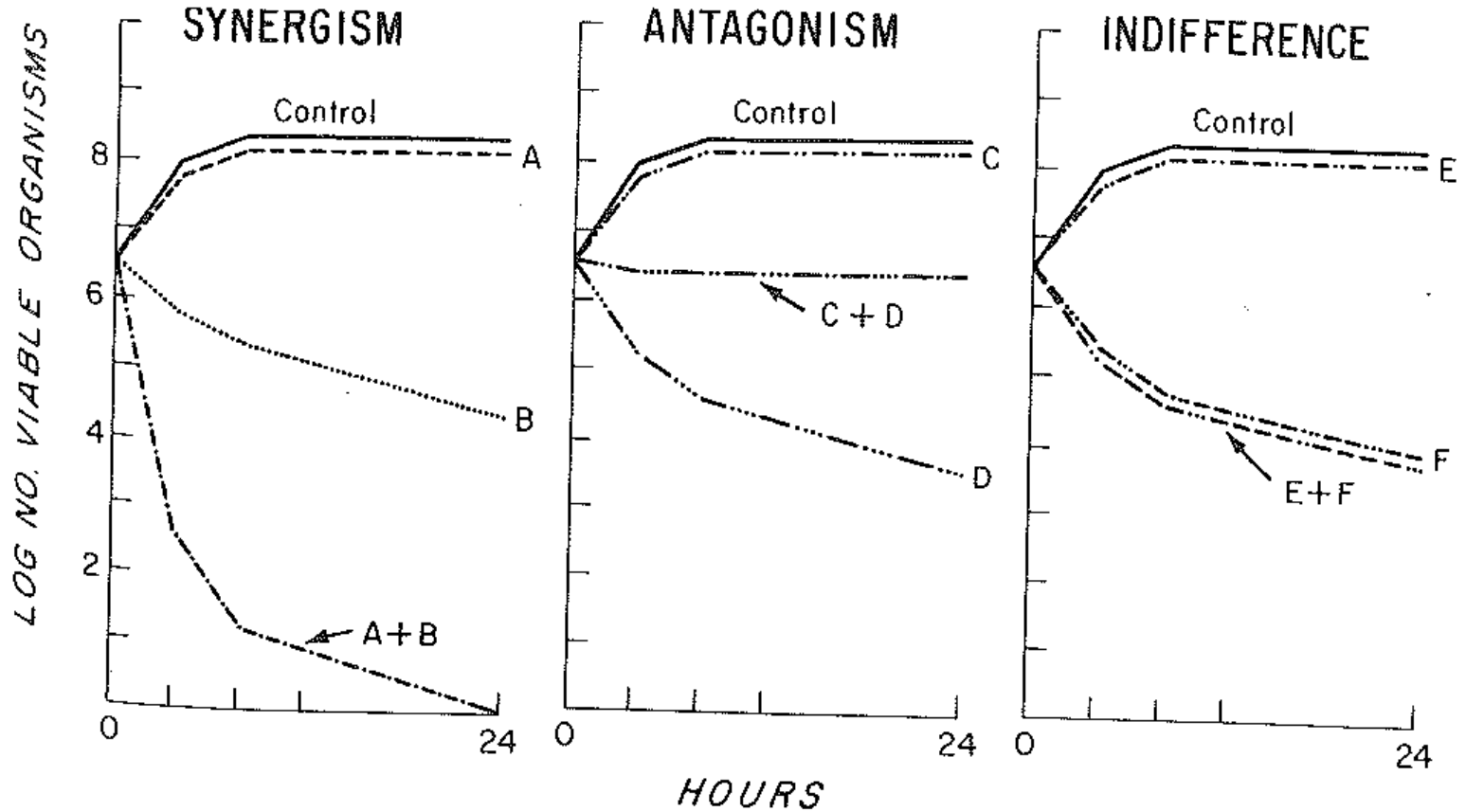
# Kinetik öldürme eğrisi

- Sinerji yayınlarının yarıya yakınında yer almakta
- Vakit alan, zahmetli bir test
- İlaçların tek tek ve kombine olduğu tüplere ekim yapılır
- 24 saatlik inkübasyon sırasında belli aralıklarla katı besiyerine pasajlanır

# Kinetik öldürme eğrisi

- Sonuçlar semilogaritmik kağıtta işaretlenir
- Sinerji: 24 saatte en yüksek etkiden 100 kat daha fazla bakteri ölümü gerçekleşmiş olmalı,
- antagonist etki: 100 kat daha az bakterisidal etki görülmeli

# Kinetik öldürme eğrisi



# E test

- Pratik ve sıklıkla tercih edilmeye başlanmış bir yöntem
- Test her zaman olduğu gibi çalışılır
- Plağa ekim yaptıktan sonra
  - İki ilaca ait stripler yerleştirilir
  - İlaçlardan birine ait ikinci bir strip yerleştirilir
  - Oda ısısında 1 saat beklenir
  - Birinci ilaca ait ikinci strip kaldırılır, ikinci ilaca ait ikinci strip aynı yere yerleştirilir ve inkübatöre kaldırılır



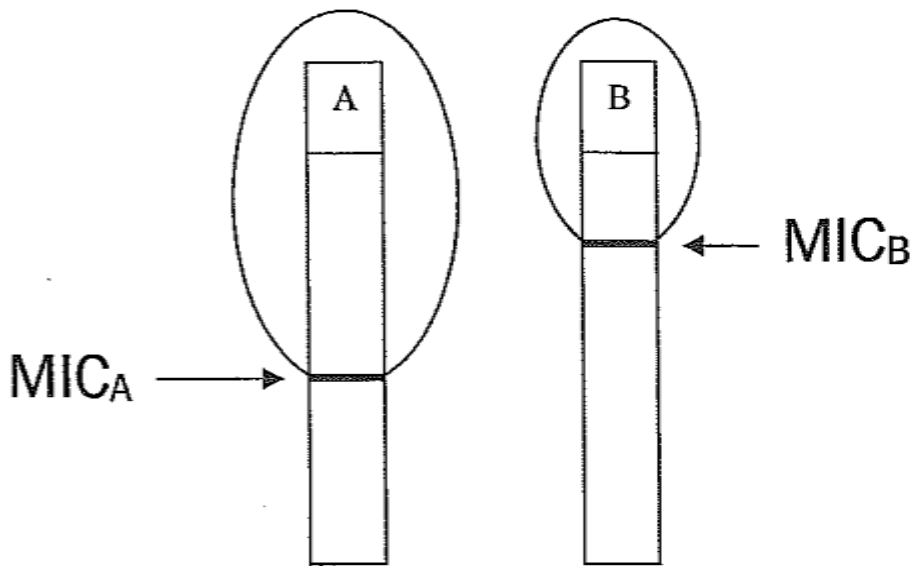
# E test

- Strip değiştirirken dikkat edilmesi gereken noktalar:
  - İlk stripin başlangıç ve bitiş yerleri plağın arkasından işaretlenmelidir
  - Eğer striplerin antibiyotik konsantrasyonları farklı değerlerden başlıyorsa, her iki stripte de ör. 32  $\mu\text{g/ml}$  değeri aynı yere gelecek şekilde yerleştirilmelidir

# E test

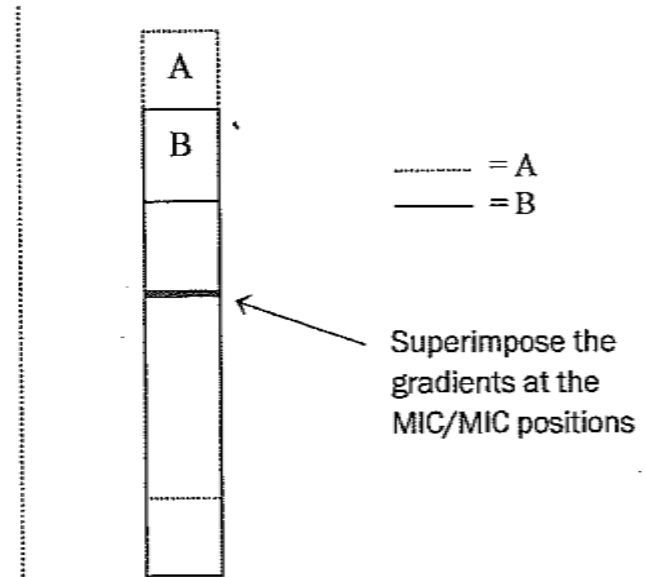
- MIC/ MIC Ratio**

MIC of single drugs



Combination testing

MICs of A & B known/ Ratio A: B =  $MIC_A$ :  $MIC_B$



# E test

- Strip değiştirirken dikkat edilmesi gereken noktalar:
  - Bunun için önce yüksek konsantrasyondan başlayan strip yerleştirilmeli, daha sonra düşük konsantrasyondan başlayan strip, bir önceki stripin başlama noktasından içeriye doğru kaydırılarak aynı konsantrasyon değerleri aynı hizaya gelecek şekilde ayarlanmalıdır

# E test-değerlendirme

- FIK indeksi kullanılabilir
- Ya da kombine edildiğinde elde edilen MİK değeri, tek başına çalışıldığında daha aktif olan ilacın MİK değerinden
  - en az iki dilusyon düşük: sinerji
  - en az iki dilusyon yüksek: antagonizma
  - Bu ikisinin arasında: aditif etki

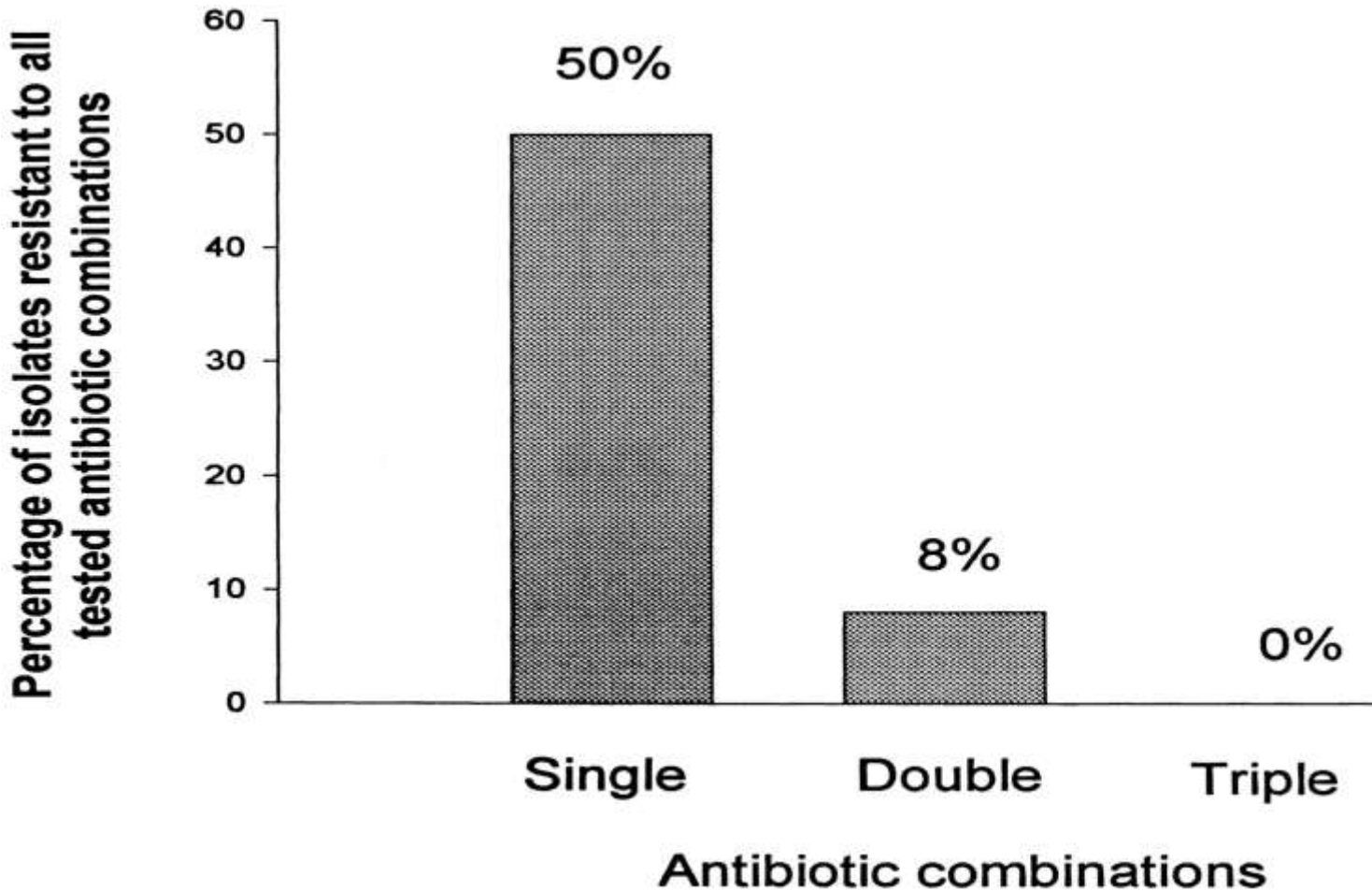
# Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon (FIK) İndeksi

- $FIC (A+B) = (MIC_{AB} / MIC_A) + (MIC_{AB} / MIC_B)$
- $\leq 0.5$  sinerji
- $> 0.5 - < 1.0$  aditif etki
- $> 1.0 - < 2.0$  değişiklik yok
- $\geq 4$  ise antagonizm

# Çoklu kombinasyon bakterisidal test (Multiple combination bactericidal test)

- Şu gruplardan en az ikisinde tüm ajanlara direnç olması
  - $\beta$ -lactam antibiotics, aminoglycosides, ve fluoroquinolones
- İkili, üçlü kombinasyonlar çalışılmakta
- Hem MİK değerleri saptanmakta, hem de subkültür yapılarak bakterisidal etki bakılmakta

# Çoklu kombinasyon bakterisidal test (Multiple combination bactericidal test)



## Sinerjinin tarihçesi

- Antibiyotiklerin keşfi
  - “Tek ilaç etkili ise iki ilaç daha etkilidir”
- Penisilin G+ sulfanamid
- 1940; entrokokal endokardit
  - Penisilin + streptomisin



2. *Lepper, M. H., Dowling, H. F.:* Treatment of pneumococcal meningitis with penicillin compared with penicillin plus aureomycin. *Arch. Inter. Med.* 88 (1951) 489.

## Sinerjinin tarihçesi

- “Pnömonoksik menenjit tedavisinde bakterisidal (penisilin) + bakteriyostatik (kloramfenikol, tetrasiklin) kombinasyon tedavisinde klinik cevap tek başına penisilinden daha düşüktür”

3. *Young, L. S., Martin, W. J., Meyer, R. D., Weinstein, R. J., Anderson, E. T.:* Gram-negative rod bacteremia: Microbiologic, immunologic, and therapeutic considerations. *Ann. Intern. Med.* 86 (1977) 456–471.

## Sinerjinin tarihçesi

- “immün yetmezliği olan, nötropenik ve şok gelişmiş olan hastaların gram negatif bakteremilerinde kombinasyon tedavilerinde mortalite yüksektir”
- Hızla fatal seyreden hastalarda kombine tedavilerle monoterapiler arasında fark yok
  - Erken tedavinin önemi!

Kombine antibiyotik tedavisi-  
Sinerji farkı

# **Kombine Antibiyotik Tedavisi Endikasyonlar (I)**

- Miks infeksiyonların tedavisi
- Antibiyotiklere karşı gelişen direncin önlenmesi ya da geciktirilmesi
- Tek başlarına verildiğinde toksik etkileri fazla olan antibiyotiklerin bu etkilerinden kaçınmanın düşünüldüğü vakalar

# Kombine Antibiyotik Tedavisi

## Endikasyonlar (II)

- Sepsis gibi ciddi infeksiyonların ampirik tedavisi
- İmmün düşkün hastalar
- Antimikrobiyal etkinliğin arttırılması
- Dirençli patojenlerin tedavisi

# Kombine Antibiyotik Tedavisi

- Kombine tedavilerde sinerjik etkinliği olan kombinasyonlar kullanılmalı
  - FİK (fraksiyonel inhibitör konsantrasyon)
    - Antibiyotik kombinasyonlarının sinerjik etkilerini in vitro olarak tespit etmek için yapılan hesaplaması

# Sinerjik antibiyotik kombinasyonları

- Monoterapi ile başarısızlık ve/veya direnç gelişme prevalansının yüksek olduğu durumlar
  - *P. aeruginosa* infeksiyonları
    - *P. aeruginosa* infeksiyonları
      - Antipseudomonal etkili bir beta-laktam + aminoglikozid
        - » hayvan ve insan çalışmalarında kanıtlanmış etkinlik
    - Epidemiyolojik verilere ve bölgesel duyarlılık sonuçlarına dikkat

# Sinerjik antibiyotik kombinasyonları

- Tek tek MIK değerlerine bakmak ve kombinasyon hakkında yorum yapmak yanıltıcı olabilmekte
  - Antibiyotiklerden birisi dirençli olsa bile sinerjik etkinlik saptanabilmekte
  - Her iki antibiyotiğin de dirençli olduğu durumlarda sinerjik etkinlik sağlanabilmekte
  - Tam tersi sonuçların alındığı çalışmalar



# Birçok antibiyotik in vitro bakterisidal sinerji gösterir

## Hangi Bakteri?

- *Enterococcus faecalis*
  - Penisilin-Streptomisin
- Streptokoklar (pnömokoklar dahil)
- *Staphylococcus aureus*
- *Listeria*
- *Brucella sp*
- *M. tuberculosis*
- *Escherichia coli*
- *Enterobacter*
- *Klebsiella*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Acinetobacter sp*
- Çoğul dirençli her bakteri?

Birçok antibiyotik in vitro bakterisidal sinerji gösterir

## Hangi antibiyotik?

Hücre duvarına etkili antibiyotikler+ aminoglikozidler

- penicillin G
  - oxacillin
  - nafcillin
  - ampicillin
  - cephalosporins
  - imipenem
  - ureidopenicillin
  - Vankomisin
- +
- aminoglikozidler
    - streptomycin
    - gentamicin
    - amikacin

Direnç nedeni ile sinerji her zaman mümkün olmaz  
Yüksek düzey ag direnci!

# Biri diğeri tamamlayan ardışık etki mekanizması ile temel metabolitlerin sentezinin inhibisyonu

- Trimetoprim-sulfametaksazol
- Sıra dışı endikasyonlar
  - *B. cepacia*
  - *S. maltophilia*
  - Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)
  - *Listeria monocytogenes*

# Hücre duvarına etkili iki ilacın kombinasyonu

- İnvitro sinerji olabilir
  - Klinik kullanım çok çok nadir
- Amdinocillin
  - Kombine edilen betalaktamın bakterisidal etkisini artırır
    - Amdinocillin'in primer hedefi *E. coli*'de PBP2
      - Sınırlı kullanım
- Fosfomycin ve beta-laktamlar
  - PBP sentezini etkiler
  - In vitro beta-laktamlarla synerjistik etki
    - Stafilokoklar ( MRSA dahil)

# Hücre duvarına etkili iki ilacın kombinasyonu

- Vankomisin penisilin veya sefalosporinlerle kombine edildiğinde sinerjistik olabilir
  - Penisiline dirençli *S.pneumoniae*
  - Glikopeptid dirençli enterokoklar
- Vankomisin penisilin veya sefalosporinlere aminoglikozidler eklenerek bakterisidal etki artırılabilir (hayvan çalışmaları)
  - Enterokokal endokardit
  - VISA

# 50s Ribosomal Subunitlerine bağlanan antibiyotikler

- Streptograminler
  - Quinupristin ve dalfopristin,
    - Gram pozitif bakteriler
      - *S. aureus* (MRSA dahil)
      - *S. pneumoniae* (macrolides ve beta-lactam-resistant suşlar dahil)
      - *E. faecium* (VRE dahil)
    - Solunum yolu patojenleri
      - Streptokoklar/atipik respiratuar patojenler
      - *Chlamydia*, *Mycoplasma*
      - *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*
      - Anaeroblar (*Bacteroides fragilis* hariç)

# Enzim inhibitörleri ile kombine antibiyotikler

- Amoksisilin klavulonat
- Ampisilin sulbaktam
- Tikarsillin-klavulanik asid
- Sefoperazon-sulbaktam
- Piperasillin-tazobaktam

# Sinerjik etkili diğer antibiyotikler

- Sinerji etki mekanizmaları bilinmeyenler
  - Lipopeptidler (polymyxin B, colistin)-sulfonamidler
    - *P. aeruginosa*
  - Florokinolonlar ve rifampin
    - Enterobacteriaceae
- Florokinolonların beta laktamlarla veya aminoglikozidlerle kombinasyonu aditif veya sinerjistik
  - *P. aeruginosa*'da özellikle beta-laktamlar ve siprofloksasin
- Rifampisin ile
  - makrolidler, tetrasiklinler gibi bakteriyostatik ilaçlar sinerjistik aktivite gösterir



# Sinerjiden yararlanan klinik durumlar

# Combination Antibiotic Therapy for Infective Endocarditis

Thuan Le and Arnold S. Bayer

**Clinical Infectious Diseases** 2003; 36:615–21

## IN VITRO SYNERGY AGAINST PATHOGENS COMMONLY RESPONSIBLE FOR IE

### Studies of Antibiotic Combinations that Demonstrate In Vitro Synergy

In many published in vitro studies, combinations of antibiotics have demonstrated synergistic activities against the pathogens that commonly cause IE. We have reviewed pivotal published studies on combinations that have demonstrated in vitro synergy. Selected aspects of such studies are discussed below.

**Enterococci.** Therapy for enterococcal IE has classically depended on the bactericidal activity of the combination of CWAs and aminoglycosides. Moellering et al. [16] were among the first investigators to demonstrate synergy of penicillin G and gentamicin against enterococci (30 of 30 enterococcal strains). Numerous studies then followed, reconfirming such in vitro synergy [17, 18]. Because of concerns about the nephrotoxic effects of high, sustained serum levels of aminoglycosides, subsequent in vitro studies focused on defining a minimum aminoglycoside concentration required to maintain synergistic activity. Matsumoto et al. [19] showed that regimens including a sustained penicillin G concentration of  $\geq 5$   $\mu\text{g/mL}$  plus either 3 or 5  $\mu\text{g/mL}$  of gentamicin were equally synergistic in vitro.

Because of increasing prevalences of *Enterococcus faecalis* isolates with high-level resistance to aminoglycosides (HLRAG), Mainardi et al. [10] explored the potential synergistic interaction between 2  $\beta$ -lactams against enterococci. In 50 clinical strains of *E. faecalis*, a bactericidal synergistic effect between amoxicillin and cefotaxime was seen in most strains with use of a disk diffusion assay. In 48 of 50 strains, the MIC of amoxicillin decreased from 0.25–1  $\mu\text{g/mL}$  to 0.01–0.25  $\mu\text{g/mL}$  in the presence of only 4  $\mu\text{g/mL}$  of cefotaxime. The authors speculated that the synergy could be explained by the partial saturation of PBPs 4 and 5 by amoxicillin at a low concentration (0.06  $\mu\text{g/mL}$ ), combined with the total saturation of PBPs 2 and 3 by cefotaxime at 4  $\mu\text{g/mL}$ . Thus, PBPs 2 and 3 may not be essential  $\beta$ -lactam binding targets, but they may participate in building the cell wall when other PBPs (like 4 and 5) become inactivated [10]. Furthermore, with use of vancomycin-aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecium* strains, Brandt et al. [11] combined amoxicillin and imipenem and showed a bactericidal synergistic effect. These investigators also postulated a similar synergy mechanism (i.e., the saturation of different PBPs).

# Combination Antibiotic Therapy for Infective Endocarditis

Thuan Le and Arnold S. Bayer

## SUMMARY

There are few proven synergistic approaches for the treatment of IE that have been globally demonstrated in experimental IE models. The clinical benefit of combination therapy for the treatment of IE remains uncertain. Although synergistic combination therapy with a beta-lactam and an aminoglycoside regimens recommended by clinicians for *S. aureus* IE, there remains no definitive existing human data that demonstrate the clinical benefit of such an approach.

**İnfektif endokardit tedavisinde invitro sinerji çok sayıda çalışma ile doğrulanmıştır  
Ancak klinikte dikkatli olmalı  
Sinerjistik nefrotoksisite!**

# Klinikte sinerji testlerinden yararlanılabilecek kombine antibiyotik kullanım endikasyonları

- **Endokardit**

- Enterokokal endokardit

- Penicillin G ve ampicillin, streptomisin veya gentamisin ile kombine
      - İnvitro testlerle sinerjizm test edilmeli

- Streptokokal endokardit

- Penisilin G-aminoglikozid
      - MIK değerleri ve sinerji test edilmelidir

- Stafilokoksik endokardit

- Toleran suşlar

# Klinikte kombine antibiyotik kullanım endikasyonları

- **Menenjit**
- Yeni doğan menenjitleri
  - *Grup B streptokoklar, E. coli, Listeria.*
    - Ampicillin ve cefotaxime
    - Ampicillin/gentamicin (streptococcus B, *Listeria*)
    - Cefotaxime/gentamicin (*E. coli*)
      - Gentamicin ilk 5 gün
- Pnömonokokal menenjitler
  - *S. pneumoniae* penisilin G direnci (MIC 1 mug/mL),
    - Vankomisin +cefotaxime

# Klinikte kombine antibiyotik kullanım endikasyonları

- **Ciddi Pseudomonas infeksiyonları**
  - Bakteremi, pnömoni
  - Tikarsillin, mezlosillin, piperasillin, seftazidim, sefepim, imipenem
    - tobramisin, gentamisin veya amikasin ile sinerji
- **Yoğun bakım hastalarının ciddi ve dirençli infeksiyonları**
  - *Stenotrophomonas* sp
  - *Acinetobacter* sp

# Klinikte kombine antibiyotik kullanım endikasyonları

- **Febril nötropeni**
  - Seftazidim/amikacin, piperacillin/tobramycin, piperacillin/tazobactam/amikacin
- **Brusellozis**
  - Tetracycline + streptomycin
  - Doxycycline + streptomycin
  - Doxycycline + rifampisin
  - Doxycycline + gentamicin
  - TMP-SMX + gentamicin
  - TMP-SMX + rifampin
- ***H.pylori* infeksiyonları**

# Sinerji Çalışmaları



Research

Open Access

***In-vitro* activity of polymyxin B in combination with imipenem, rifampicin and azithromycin versus multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemases**

David W Wareham\*<sup>†1,2</sup> and David C Bean<sup>†1</sup>

Address: <sup>1</sup>Centre for Infectious Disease, Institute of Cell and Molecular Science, Barts and The London, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, London, UK and <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Barts and The London NHS Trust, London, UK

Email: David W Wareham\* - [d.w.wareham@qmul.ac.uk](mailto:d.w.wareham@qmul.ac.uk); David C Bean - [d.c.bean@qmul.ac.uk](mailto:d.c.bean@qmul.ac.uk)

\* Corresponding author †Equal contributors

Published: 21 April 2006

Received: 21 March 2006

*Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2006, **5**:10 doi:10.1186/1476-0711-5-10

Accepted: 21 April 2006

## Abstract

**Background:** *Acinetobacter baumannii* has emerged as a major nosocomial pathogen worldwide. Many of the circulating strains exhibit multi-drug resistance remaining consistently susceptible only to polymyxins. *In-vitro* studies have reported that polymyxins combined with carbapenems, rifampicin or azithromycin are synergistic against these strains despite *in-vitro* resistance to these agents alone. The use of antimicrobial combinations have therefore been advocated for the treatment of severe *A. baumannii* infection in man. In order to determine whether such combinations are synergistic against the prevalent clones of multi-drug resistant *A. baumannii* causing infection in the UK, we performed synergy testing against representative isolates using two rapid Etest methods.

**Methods:** The activity of polymyxin in combination with imipenem, azithromycin or rifampicin was assessed against five strains of multi-drug resistant *A. baumannii* encoding OXA-23 carbapenemase. Synergy studies were performed by Etest-agar dilution and a combined Etest strip method. Synergy was defined as a FICI of  $\leq 0.5$ .

**Results:** All strains were resistant to  $\beta$ -lactams, carbapenems and aminoglycosides but were susceptible to polymyxins. Marked synergy was seen between polymyxin B and imipenem, rifampicin or azithromycin against all strains. No synergy was seen against one strain belonging to the *AB1957* clone using any of the methods used only.

**Conclusion:** *In-vitro* synergy between polymyxin B and imipenem, rifampicin or azithromycin is highly variable. Synergy could not be demonstrated against the prevalent UK strains of multi-drug resistant *A. baumannii*. Such combinations should not be used for empirical treatment of serious multi-drug resistant *A. baumannii* infection in the UK. The optimal treatment for serious multi-drug resistant *A. baumannii* infection and the role of combination therapy should be addressed in a prospective clinical trial.

Maliyet yüksekliği

Test başına maliyet 300 Dolar!

## Conclusion

The optimal treatment of multi-drug resistant *Acinetobacter* infections remains controversial. Despite reports of enhanced activity of polymyxin combined with imipenem, rifampicin or azithromycin we were unable to detect reliable *in-vitro* synergy between polymyxin B and any of these agents versus epidemic strains of *A. baumannii* with high level carbapenem resistance due to OXA-23 carbapenemases. At present we do not advocate empirical use of these combination regimens in the UK until more clinical data on their efficacy is available.

In-vitro antibiotic synergy in extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii*: the effect of testing by time-kill, checkerboard and Etest

Tan TY, et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Oct

- İn-vitro polymyxin B, tigecycline ve rifampisin kombinasyonu ile polimiksin etimisin kombinasyonu ile *A. baumannii* üzerindeki sinerji araştırılmış
  - İzlenimler: time-kill metodu ile in-vitro sinerji
  - %17'sinde checkerboard metodu ile in-vitro sinerji
  - %2'sinde Etest metodu ile in-vitro sinerji

Yöntemler arası uyumsuzluk

# Synergy Testing by Etest(R), Microdilution Checkerboard, and Time-kill Methods for Pan Drug Resistant *Acinetobacter baumannii*

(I)

Sopirala MM, et al *Antimicrob Agents Chemother.* 2010

- Pan-drug resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* önemli nosokomiyal patojen
- PDR *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde
  - tigecycline tek başına veya colestimethate, imipenem ve/veya amikacin ile kombine kullanıldı

## Synergy Testing by Etest(R), Microdilution Checkerboard, and Time-kill Methods for Pan Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* (II)

Sopirala MM, et al *Antimicrob Agents Chemother.* 2010

- İn vitro duyarlılık testleri
  - epsilometrik (Etest(R))
  - checkerboard (CB)
  - time-kill metodu ile araştırıldı
- İmipenem, tigecycline ve amikacin arasında CB ile ve time-kill ile sinerji
- Sonuç;
  - PDR *A. baumannii* infeksiyonlarında sinerji testlerinden yararlanılabilir

In vitro synergistic/additive activity of levofloxacin with meropenem  
against *Stenotrophomonas maltophilia*

Pankey GA, Ashcraft DS.

Diagn Microbiol Infect Dis. 2010 Jul;67(3):297-300

- Levofloxacin ve meropenem
- Etest ve time-kill assay (TKA)
- *Stenotrophomonas maltophilia* izolatları
- Sinerji
  - Etest ile izolatların %60'ında
  - TKA ile %43'ünde
- Metodlar arası uyum
  - İzolatların % 83'ünde

## Comparison of different antimicrobial susceptibility testing methods for *Stenotrophomonas maltophilia* and results of synergy testing

Gülmez D, Cakar A, Sener B, Karakaya J, Haşçelik G.  
J Infect Chemother. 2010 Oct;16(5):322-8.

- MDR *S. maltophilia*
- Disk diffusion, E-test, Phoenix system ve referans agar dilusyon metodu
- 12 farklı antibiyotik kombinasyonu
- CB ile konfirmasyon
- *S. maltophilia* için Tigecycline, TMP-SMX ve doxycycline en etkili ilaçlar
- Yöntemler arasında farklı sonuçlar

Comparison of different antimicrobial susceptibility testing methods for *Stenotrophomonas maltophilia* and results of synergy testing.

Gülmez D, Cakar A, Sener B, Karakaya J, Haşçelik G.  
J Infect Chemother. 2010 Oct;16(5):322-8.

- Sinerjistik etki
  - TMP-SMX + ticarcillin/clavulanate (CB'da indiferen etki)
  - TMP-SMX + ceftazidime
  - Ticarcillin/clavulanate ve ciprofloxacin E-test sonuçları kabul edilebilir
  - TMP-SMX her ilaçla sinerjik
- Başka çalışmalara gerek var



# Stenotrophomonas maltophilia Suşlarında Çeşitli Antibiyotiklerin İn-vitro Sinerji Testleri

Gürdal Yılmaz<sup>1</sup>, Rahmet Güner<sup>2</sup>, Neşe Kaklıkkaya<sup>3</sup>, Kemalettin Aydın<sup>1</sup>, İftihar Köksal<sup>1</sup>

## Giriş

*Stenotrophomonas maltophilia* özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan, malignite, immünsüpresyon gibi alta yatan hastalıkları olan hastalarda önemi giderek artan bir hastane patojenidir. İnvazif girişimlerin tanı ve tedavi amacıyla kullanımının artması ve antibiyotiklerin akılcı olmayan kullanımı önemli risk faktörleridir. Bu mikroorganizma beta-laktamaz, aminoglikozid asetil transferaz, eritromisini inaktive eden enzimleri ve eflüks pompaları kodlayan genleri nedeniyle çok sayıda antibiyotiğe intrinsek dirençlidir. Bu nedenle tedavide sorunlarla karşılaşmakta ve mortalite oranı da artmaktadır. Çalışmamızda *S.maltophilia* suşlarının oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan trimethoprim-sülfametoksazol (SXT), levofloksasin (LVX), tikarsilin-klavulanik asit (TLC) ve kolistin (CO) duyarlılıkları ve bu antibiyotiklerin kombinasyonlarının in-vitro sinerji durumlarının belirlenmesi amaçlandı.

## Materyal ve Metod

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hastanesinde Ocak 2000 ve Aralık 2006 tarihleri arasında klinik izolatlarda üretilen ve otomatize Sceptor sistemi aracılığıyla identifikasyonu sağlanıp -20°C'de saklanan 156 *S.maltophilia* suşu çalışmaya alındı. Çalışmada SXT, LVX, TLC ve CO duyarlılıkları ve bu antibiyotikler arasındaki kombinasyonların in-vitro sinerji testleri E-test metodu kullanılarak yapıldı. Her antibiyotiğin tek başına ve kombine olarak minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ve fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksleri (FİKİ) belirlendi. MİK değerlerinin yorumlanması Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre yapıldı (Tablo 1). FİKİ hesaplaması  $FİKİ (A+B) = (A+B \text{ kombinasyonu MİK değeri} / \text{tek başına A MİK değeri}) + (B+A \text{ kombinasyonu MİK değeri} / \text{tek başına B MİK değeri})$  formülü kullanılarak yapıldı. FİKİ değerlerinin yorumlanması tablo 2'de görülmektedir.

**Tablo 1:** *S.maltophilia* için MİK yorumlama standartları

Antibiyotik	MİK (µg/mL)		
	S	I	R
Kolistin için CLSI'nin <i>Acinetobacter</i> spp. için belirlediği MİK yorumlama standardı kullanılmıştır.			
<b>Bulgular</b>			
156 <i>S.maltophilia</i> suşunun 144(%92.3)'ü SXT'ye, 132(%84.6)'si LVX'e, 110(%70.5)'i TLC'ye ve 84(%53.8)'ü CO'e hassastı. Antibiyotik kombinasyonlarının sinerji testi sonuçları tablo 3'de görülmektedir.			
Çalışmamızda SXT'ye duyarlı olmadığı tespit edilen 12 <i>S.maltophilia</i> suşu değerlendirildiğinde; SXT-LVX kombinasyonunda %33.3, SXT-TLC kombinasyonunda %66.7 sinerjistik etki elde edildiği ve SXT'nin hassas hale geldiği belirlendi.			

**Tablo 2:** FİKİ değerlerinin yorumlanması

FİKİ değeri			
Sinerjik etki	Aditif etki	Kısmi sinerji	Antagonist etki
≤0.5	0.5-0.75	>0.5 ve <1	≥1

**Tablo 3:** *S.maltophilia* suşlarında çeşitli antibiyotiklerin in-vitro sinerji test sonuçları

Levofloksasin	≤2		4	≥8		SXT+CO n (%)	Kısmi sinerji	TLC+LVX n (%)	TLC+CO n (%)	>0,5 ve <1 CO+LVX n (%)
	SXT+LVX n (%)	SXT+TLC n (%)	SXT+LVX n (%)	SXT+TLC n (%)						
Sinerjik etki	8 (5.1)	18 (11.5)	26 (16.7)	18 (11.5)	42 (26.9)	8 (5.1)				
Tikarsilin-klavulanik asit Kısmi sinerji	≤16/2 54 (34.6)	32/2-64/2 38 (24.4)	≥128/2 32 (20.5)	Aditif etki	42 (26.9)	1	24 (15.4)			
Aditif etki	8 (5.1)	2 (1.3)	6 (3.8)	8 (5.1)	4 (2.6)	2 (1.3)				
<b>Tartışma</b>										
Bu çalışma <i>S.maltophilia</i> suşlarına en duyarlı antibiyotiğin SXT olduğunu, kombine antibiyotik kullanımında sinerjizm oranının düşük olduğunu göstermiştir. Ancak dikkat çekici bir bulgu olarak SXT dirençli <i>S.maltophilia</i> suşlarında SXT'nin kolistin ile in vitro sinerjistik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçta SXT dirençli <i>S.maltophilia</i> infeksiyonlarında bu kombinasyonun değerlendirilmesi kullanılabilirliğini göstermektedir.										
Antagonist etki	8 (5.1)	14 (9.0)	6 (3.8)	14 (9.0)	16 (10.3)	18 (11.5)				
							Antagonist etki			≥=4

Antibiotic synergy testing should not be routine for patients with cystic fibrosis who are infected with multiresistant bacterial organisms

*Aaron SD. Paediatric Respiratory Reviews (2007) 8, 256–261*

- Antibiyotik-dirençli bakteriyel infeksiyonlar dünyada büyük problem
- Kistik fibrozis bu dirençten etkilenen hastalıklardan biridir
  - Hastaların %25-45'i çoğul dirençli bakterilerle kronik solunum yolu infeksiyonuna sahip
    - Beta-laktam, aminoglikozid ve kinolondan en az ikisine direnç olduğunda çoğul direnç kabul edilmekte
  - En önemli patojen *P.aeruginosa*
    - Yüksek mortalite

# Meta analiz sonuçları

- Gram negatif bakteriler
  - Beta laktam-siprofloksasin kombinasyonunda bakteriyemide mortalite daha düşük
    - İzole edilen bakterilerin %20-50'sinde
  - Aminoglikozid daha sinerjistik
  - Amikasin, siprofloksasin kombinasyonunda mortalite daha düşük
    - Nefrotoksisite daha az

**İnvivo-invitro uyumsuzluk**

# Meta analiz sonuçları

- Kombinasyon tedavilerinin riskleri
  - Dirençli bakterilerin kolonizasyonu
  - Süperinfeksiyon
- Mikrobiyolojik yarar her zaman klinik yarara dönüşmez

# Klinik sorunlar nedir?

- Sinerji testlerine göre sinerjik antibiyotik kombinasyonları hastanın klinik gidişine etkili olabilecek midir?
- Direnç gelişimini önleyebilecek midir?

Cevap oldukça karmaşık

# Klinik kanıt gerekli mi?

## Laboratuardan kanıta dayalı tıbb

- Laboratuar sonuçları her zaman konakla uyum sağlamaz
- Konakta kan antibiyotik konsantrasyonlarını etkileyen faktörler (farmakolojik özellikler)
  - Doz
  - Dağılımı hacmi
  - Eliminasyon hızı
  - Hastanın yaşı
  - Renal ve hepatik fonksiyonları
  - Bireysel özellikler
  - İnfeksiyonun sahası
  - Bağlanmamış ilaç aktif
    - hipoalbuminemi antibiyotik konsantrasyonunu etkiler

# Antibiyotik Kullanımının

## Farmakokinetik ve Farmakodinamik Prensipleri

- İnfeksiyon sahasına antibiyotik penetrasyonu
  - Menenjit
  - Endokardit
  - Osteomyelit
- İnfeksiyon sahasında suboptimal antibiyotik konsantrasyonu
  - Mikrobiyal dirençte artış
  - Tedavi başarısızlığı

# Klinik kanıt gerekli mi?

## Laboratuardan kanıta dayalı tıbb

- Antibiyotik infeksiyon sahasında etkin olmalıdır
  - Aminoglikozidler anaerobik ve asidik ortamlarda etkisizdir
- Bakteri yoğunluğu
  - konaktan konağa
  - İnfeksiyonun ciddiyetine göre
  - İnfeksiyonun yerine göre değişim
- İn vitro değerlendirmelere göre in vivo uyumsuzluk
- Klinisyen genellikle kendi uygulamaları ve deneyimleri çerçevesinde karar verir
- Antibiyotik kombinasyonlarının yan etkileri klinik yararın önüne geçebilir



# Klinik sorular nedir?

- Sinerji testi beklenmeli mi?
- Ampirik tedavi mi başlanmalı?
  - Erken tedavi klinik seyir için çok önemli
  - Testler sonuçlanmadan tedavi başlanmalı
    - Çoğu kez bakteri dökümante edilmeden ampirik

# Antibiyotik Sinerji testleri nerede işe yaramaz?

- Antibakteriyel tedavinin bakterisidal olmayan etkileri
- Bakterilerin duyarlılıklarında değişiklik
- Biyofilm
- Duyarlılık testleri ile klinik cevaparasında uyumsuzluk

# Sonuç

Sinerji testleri ile antibiyotik kombinasyonlarının araştırılması ve doğru uygulanması, dirençli mikroorganizmalara karşı yeni ajanlar bulununcaya kadar insanoğlunun infeksiyonlarla olan savaşında önemli bir faktör olarak görünmekte

Ancak

# Sonuç

- Maliyet yüksek
- Standardize değil
  - Metodlar arasında farklılık
- Sonuç için zamana ihtiyaç var
  - Tedavide gecikme
- İn vivo- in vitro uyumsuzluk
- Daha fazla çalışma

**Teşekkürlerimle..**