

KLİNİK İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNDE VİTEK SİSTEMİ VE DİSK DİFÜZYON SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Nuran ESEN, Zeynep GÜLAY, Tuba ATAY, Meral BİÇMEN, Derya MUTLU, Sibel ÖZSU CAYMAZ, Nuran YULUĞ

ÖZET

Antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında Vitek sistemi (bioMerieux Vitek, Hazelwood, Mo.) ile disk difüzyon testi uyumlarının belirlenmesi amacıyla, klinik örneklerden izole edilen toplam 200 suşun her iki yöntemle elde edilen duyarlılık sonuçları karşılaştırılmıştır. En uyumlu sonuçların, stafilocoklarda penisilin ve ampicilin, Gram negatif çomaklarda ise imipenem ve sefazolin ile alındığı görülmüştür. Çalışmaya dahil edilen tüm test sonuçları karşılaştırıldığında, % 5.7'si küçük, % 2.8'i büyük, % 1.3'ü ise çok büyük olmak üzere toplam hata oranının % 9.8 olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar ışığında, Vitek otomatize sisteminin Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde; hızlı, kolay uygulanabilir ve güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Duyarlılık testleri, Vitek sistemi, otomatize duyarlılık testleri, ticari sistemler

SUMMARY

Comparison of the results of Vitek system and disk diffusion method for testing antimicrobial susceptibility of clinical isolates.

In order to determine the agreement of the antibiotic susceptibility testing by Vitek system (bioMerieux Vitek, Hazelwood, Mo.) and disk diffusion test, a total of 200 clinical isolates were examined by these methods and the results were compared. The most concordant results were obtained with penicillin and ampicillin for staphylococci and imipenem and cefazolin for Gram-negative rods. Minor errors, major errors, very major errors and the total category rate were 5.7%, 2.8%, 1.3%, and 9.8% respectively. In conclusion, Vitek system is a rapid, user friendly and accurate automated system for performing antimicrobial susceptibility testing in clinical microbiology laboratories.

Key words: Susceptibility testing, Vitek system, automated susceptibility methods, commercial systems

GİRİŞ

Son yıllarda, Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, izole edilen birçok bakterinin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin kısa sürede sonuçlanmasını sağlayan otomatize ve yarı otomatize sistemler yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Bunlardan biri olan Vitek otomatize (bioMerieux Vitek, Hazelwood, Mo.) sistemi ile etkeninin kısa sürede tanımlanması ve buna etkili antibakteriyel ajanın saptanması birçok infeksiyon hastalığının etkin tedavisine daha erken başlanmasına olanak sağlamaktadır. Otomatize sistemlerle

yapılan uygulamaların güvenilirliğini belirlemek için sonuçlar, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından standart kabul edilen yöntemlerle alınan değerlerle karşılaştırılmaktadır. Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen altı farklı bakteri türüne ait izolatların antibiyotik duyarlılıkları her iki yöntemle çalışılarak, Vitek sistemi ile disk difüzyon test sonuçları arasındaki uyumların saptanması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteriler: Çalışmaya klinik örneklerden soyutlanan 32 *Escherichia coli*, 23 *Klebsiella pneumoniae*, 23 *Acinetobacter baumannii*, 17 *Pseudomonas aeruginosa*, 5 *Enterobacter cloacae*, 100 *Staphylococcus aureus* olmak üzere top-

lam 200 bakteri alınmıştır. Kalite kontrolü amacıyla *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşlarının duyarlılıkları da birlikte araştırılmıştır.

Duyarlılık yöntemleri: Çalışma kapsamına alınan tüm bakterilerin saf kültürleri, kanlı agar plaklarına pasajlanıp bir gece inkübe edildikten sonra çalışma gerçekleştirilmiştir. Gram negatif çomakların amikasin, ampisilin, ampisilin-sulbaktam, gentamisin, imipenem, piperasilin, sefazolin, seftaksim, seftazidim, seftriakson, siprofloksasin, tobramisin, trimetoprim-sulfametoksazol ve tikarsilin-klavulanat; stafilkokların ise ampisilin, ampisilin-sulbaktam, eritromisin, gentamisin, penisilin, sefazolin, siprofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve vankomisin duyarlılıkları her iki yöntemle belirlenmiştir.

a) Bakterilerin beyin kalp infüzyon buyyonunda McFarland 0.5 bulanıklığına göre hazırlanan süspansiyonlarından NCCLS standartlarına uygun olarak disk difüzyon testi uygulanmıştır (6). Bakteri inokülasyonu ve ardından antibiyotik diskleri yerleştirildikten sonra besiyerleri bir gece 35°C'de inkübe edilmiş, ertesi gün zon çapları ölçülerek,

NCCLS tarafından belirlenen kriterlere göre, sonuçlar S (duyarlı), I (orta) ve R (dirençli) olarak belirlenmiştir.

b) Vitek üretici firma önerilerine göre Gram negatif çomaklar için GNS-112, stafilkoklar için ise GPS-101 kartları kullanılarak otomatize duyarlılık testleri gerçekleştirilmiştir. 8 saatlik inkübasyon sonunda; üretici firma önerilerinde yer alan sınır değerlerine göre sonuçlar S (duyarlı), I (orta) ve R (dirençli) olarak belirlenmiştir.

Hataların sınıflandırılması: Disk difüzyon ve Vitek testi ile elde edilen sonuçlar aynı kategoride ise (örneğin, R-R, I-I ve S-S) uyumlu, disk difüzyon sonucu R (dirençli) iken, Vitek sonucu S (duyarlı) bulundu ise çok büyük hata, disk difüzyon sonucu S (duyarlı) iken, Vitek sonucu R (dirençli) bulundu ise büyük hata, I (orta) sonuçlar başka bir kategoride saptandı ise (örneğin, I-R, I-S, R-I, S-I) küçük hata olarak tanımlanmıştır.

BULGULAR

Vitek sistemi ile disk difüzyon test sonuçları karşılaştırıldığında *E.cloacae* için % 96, *S.aureus* için % 93, *E.coli* için % 90, *A.baumannii* için % 88, *P.aeruginosa* için % 85 ve *K.pneumoniae* için % 84 oranında uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Çok büyük hatalar sadece *K.pneumoniae*'de % 4, diğerlerinde ise % 1 veya altında saptanmıştır. Büyük hatalarda ise *P.aeruginosa* % 6 ile en yüksek orana sahip bulunmaktadır (Tablo 1).

Gram negatif çomakların duyarlılıkları karşılaştırıldığında imipenem, sefazolin, seftriakson, trimetoprim-sulfametoksazol, ampisilin-sulbaktam ve tobramisin sonuçlarının

daki hata oranları % 10'un altında bulunurken, seftazidim ve tikarsilin-klavulanat sonuçlarında % 20'nin üzerinde hata saptanmıştır (Tablo 2).

Stafilkoklarda ise penisilin ve ampisilin sonuçları % 100 uyumlu bulunurken, gentamisin, sefazolin, siprofloksasin, ampisilin-sulbaktam ve vankomisin sonuçlarında da hata % 10'un altında saptanmıştır. Trimetoprim-sulfametoksazol sonuçlarında % 13 oranında saptanan hataların tümü büyük hataydı. Eritromisin sonuçlarında ise % 33 oranında bulunan hataların 1/3'ünden fazlası çok büyük hata idi (Tablo 3).

Tablo 1. Çalışmaya alınan bakterilerde disk difüzyon ve Vitek yöntemleriyle elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

Bakteri	Uyumlu sonuç n (%)	Çok büyük hata n (%)	Büyük hata n (%)	Küçük hata n (%)
<i>Escherichia coli</i>	401 (90)	6 (1)	11 (2)	30 (7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	270 (84)	12 (4)	10 (3)	30 (9)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	284 (88)	4 (1)	12 (4)	22 (7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	202 (85)	1 (1)	15 (6)	20 (9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	67 (96)	1 (1)	0 (0)	2 (3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	833 (93)	13 (1)	19 (2)	35 (4)

Tablo 2. Gram negatif bakterilerde disk difüzyon ve Vitek yöntemleriyle elde edilen sonuçların karşılaştırılması (%).

Antibiyotik	Uyumlu sonuç	Çok büyük hata	Büyük hata	Küçük hata
İmipenem	96	0	2	2
Sefazolin	95	1	0	4
Seftriakson	94	1	2	3
Trimetoprim-sulfametoksazol	94	1	3	2
Ampisilin-sulbaktam	93	3	2	2
Tobramisin	92	2	3	3
Siprofloksasin	87	3	2	8
Ampisilin	86	3	1	10
Sefotaksim	85	1	1	13
Piperasilin	84	3	5	8
Amikasin	83	1	5	11
Gentamisin	82	1	8	9
Seftazidim	79	2	5	14
Tikarsilin-klavulanat	74	2	9	15

Tablo 3. Staphylococcus aureus izolatlarında disk difüzyon ve Vitek yöntemleriyle elde edilen sonuçların karşılaştırılması (%).

Antibiyotik	Uyumlu sonuç	Çok büyük hata	Büyük hata	Küçük hata
Penisilin	100	0	0	0
Ampisilin	100	0	0	0
Gentamisin	99	0	0	1
Sefazolin	98	0	1	1
Siprofloksasin	97	0	1	2
Ampisilin-sulbaktam	95	0	1	4
Vankomisin	90	0	3	7
Trimetoprim-sulfametoksazol	87	0	13	0
Eritromisin	67	13	0	20

TARTIŞMA

Otomatize ve yarı otomatize antibiyotik duyarlılık sistemleri; kısa sürede sonuç vermesi, iş gücünü azaltması yanında sistemde yer alan bilgisayar sayesinde doğal olarak dirençli mikroorganizmaların duyarlı olarak verilmesi gibi hataların en aza indirilmesini sağlamaktadır. Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından Amerika Birleşik Devletlerindeki klinik laboratuvarlarda kullanılması onaylanan sadece iki otomatik sistem mevcuttur (4). Bunlardan biri olan Vitek sistemi; gerek testin hazırlanma aşamasında kısa sürede ve kolay uygulanabilirliği, gerekse testin değerlendirilmesinde objektiflik, sürenin kısa olması ve güvenilir sonuçlarıyla klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık kullanılmaktadır. Duyarlılık sonuçlarının NCCLS önerilerine göre standardize edilebilmesi, bu standartları uygulayan laboratuvarlarca da kullanılabilmesini sağlamaktadır. Bunun yanısıra özellikle duyarlı ve dirençli sonuçların MİK değerlerine göre belirlenmesi disk difüzyon testine diğer bir üstünlüğü olarak değerlendirilebilmektedir (7). Zor tanımlanan mikroorganizmalarla ilgili sorunlar bulunmasına rağmen Vitek sistemi ile uygulanan antibiyogram testinin sık izole edilen Gram negatif mikroorganizmalarda disk difüzyonla uyumlu olduğu göste-

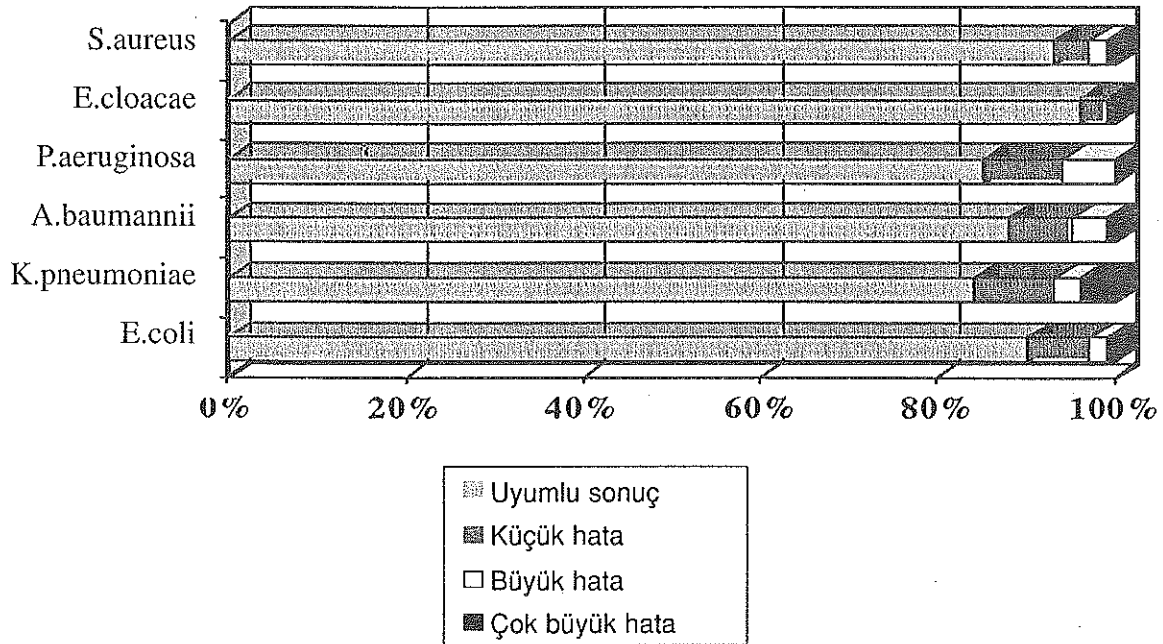
rilmiştir (3,8). NCCLS önerilerine uygun olarak referans yöntem sonuçlarıyla karşılaştırıldığında toplam hata oranının % 10'un, büyük hataların % 3'ün, çok büyük hataların ise % 1.5'in altında olması gerekmektedir (4,5). Çalışmamızda, *S.aureus* sonuçlarında eritromisin dışındaki ajanlarda çok büyük hatanın olmaması, trimetoprim-sulfametoksazolde ise büyük hataların diğerlerinden fazla bulunmasına karşın toplam hatada yukarıda belirtilen şartları sağlaması, bu türün antibiyotik duyarlılık sonuçlarının değerlendirilmesinde Vitek sisteminin kullanılabileceğini göstermektedir (Tablo 2). Carmichael ve ark. (1)'in çalışmasında (1), disk difüzyon ve agar dilüsyon metodlarıyla trimetoprime karşı duyarlı bulunan *S.aureus* suşlarının % 37'si Vitek ile dirençli bulunup, % 22'si ise tekrarlanan testlerde farklı sonuçlar verdiği için stafilkokların trimetoprim duyarlılıklarının belirlenmesinde Vitek sisteminin güvenilir olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda benzer şekilde *S.aureus* izolatlarının trimetoprim-sulfametoksazol duyarlılıklarında sadece disk difüzyonla duyarlı olup Vitek ile dirençli bulunmasının büyük hatalara neden olduğu saptanmıştır.

Gram negatif çomakların antibiyotik duyarlılık sonuçlarında türlere göre değişmekle birlikte trimetoprim-sulfametoksazolde Vitek sisteminin disk difüzyonla % 84-96 oranında uyumluluk göstermesi ve çok büyük hata oranının % 1.5'in altında olması nedeniyle, özellikle sık izole edilen Gram negatif çomaklar için kullanılabilirliği düşünülmüştür. Uyumsuz sonuçların en sık tikarsilin-klavulanat ve seftazidim ile alındığı görülmüştür. Bu nedenle özellikle bu iki antibakteriyel ajan ile yine uyumsuz sonuçların görüldüğü ampisilin, amikasin, gentamisin, piperasilin, sefotaksim, siprofloksasin sonuçlarının disk difüzyonla desteklenmesinin uygun olduğu düşünülmüştür. Tüm izolatlarda çok büyük hataların birkaç istisna dışında genellikle bir izolatta görüldüğü ve hataların esas olarak küçük hatalar olduğu saptanmıştır (Tablo 3). *A.baumannii* izolatlarında toplam hatalar en fazla seftazidim, gentamisin ve tobramisin, *E.cloacae* izolatlarında ampisilin ve piperasilin, *E.coli* izolatlarında ampisilin, tikarsilin-klavulanat ve piperasilin için görülmektedir. *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* izolatları ise diğer izolatlardan daha fazla hata oranına sahip bulunması nedeniyle özellikle *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* Vitek duyarlılık test sonuçlarının disk difüzyonla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır (Şekil 1).

Doern ve ark. (2)'ın klinik örneklerden elde edilen toplam 1082 Gram negatif çomağın duyarlılıklarını karşılaştır-

dıkları dört merkezli çalışmada imipenem, siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazolün; çalışmamızda ise imipenem ve sefazolinin iki yöntem arasındaki en uyumlu sonuçları verdiği bulunmuştur. Tsakris ve ark. (8)'nin çalışmasında *A.baumannii* suşlarının imipenem duyarlılıklarının belirlenmesinde Vitek sistemi ile disk difüzyon arasında saptamış oldukları uyumsuzluklara çalışmamızda rastlanmamıştır. Çalışmamızda *A.baumannii* suşlarının imipenem sonuçları karşılaştırıldığında biri hariç diğerleri uyumlu bulunmuştur.

İnfeksiyon etkeni mikroorganizmaların hızlı ve güvenilir olarak tanımlanması ve tedavide kullanılacak olan uygun antibiyotik belirlenmesi; morbidite ve mortalitenin düşmesine ve enfeksiyonun yayılmasına engel olacağından çok önemlidir. Son yıllarda geliştirilen otomatize sistemlerin tercinde; duyarlılık test panellerinde bulunan antibiyotik seçenekleri, sonuçlarının güvenilirliği, kolay uygulanabilirliği ve kalite kontrol maliyetleri etkili olmaktadır (3,7). Bu sistemlerden biri olan Vitek sisteminin hızlı, kolay uygulanabilen ve güvenilir sonuçlar veren bir yöntem olması nedeniyle, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında eritromisin ve trimetoprim-sulfametoksazol dışında *S.aureus* suşları için koşulsuz, *Enterobacteriaceae* ailesi suşları için ise ancak disk difüzyonla desteklenerek kullanılabilirliği düşünülmektedir.



Şekil 1. Çalışmaya alınan bakterilerin disk difüzyon ve Vitek yöntemleriyle elde edilen sonuçlarının karşılaştırılması.

KAYNAKLAR

- 1- Carmichael I C, Godfrey V, Nicholson G: Errors associated with determining the susceptibilities of staphylococci to trimethoprim by the Vitek GPS-AK card, *J Antimicrob Chemother* 44:293 (1999).
- 2- Doern G V, Brueggemann A B, Perla R, Daly J, Halkias D, Jones R N, Saubolle M A: Multicenter laboratory evaluation of the bioMerieux Vitek antimicrobial susceptibility testing system with 11 antimicrobial agents versus members of the family Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*, *J Clin Microbiol* 35:2115 (1997).
- 3- Felmingham D, Brown D F J: Instrumentation in antimicrobial susceptibility testing, *J Antimicrob Chemother* 48 (Suppl S1):81 (2001).
- 4- Ferraro M J, Jorgensen J H: Susceptibility testing instrumentation and computerized expert systems for data analysis and interpretation, "P R Murray, E J Baron, M A Pfaller, F C Tenover, R H Tenover (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 7.baskı" kitabında s. 1593, ASM Press, Washington DC (1999).
- 5- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Development of in vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*: Approved guideline M23-A2, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa (1997).
- 6- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, Approved standard M2-A6, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. (1997).
- 7- Shetty N, Hill G, Ridgway GL: The Vitek analyzer for routine bacterial identification and susceptibility testing: protocols, problems, and pitfalls, *J Clin Pathol* 51:316 (1998).
- 8- Tsakris A, Pantazi A, Pournaras S, Maniatis A, Polyzou A, Sofianou D: Pseudo-outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* resulting from false susceptibility testing by a rapid automated system, *J Clin Microbiol* 38:3505 (2000).