ANKEM Derg 16 (No. 3): 168-170 (2002)

ANTİBİYOGRAM VE BAKTERİYOLOJİK TANI İLİŞKİLERİ

Kurtuluş TÖRECİ

1960'lı yıllarda makalelerimize veya kongre konuşmalarımıza "infeksiyon hastalıklarının uygun tedavisi için etkenin izole edilmesi, antibiyotik duyarlılığın yapılması ve hastaya etkenin duyarlı bulunduğu bir antibiyotiğin verilmesi gerekir" diye başlardık. Hatta bazı kişiler "bakterinin ne olduğunun önemi var mı? Nasılsa onu inhibe eden bir antibiyotiği duyarlılık deneyinde seçiyoruz" ya da "bir bakteri florası içeren muayene maddelerini uygun bir besiyerine yayar, antibiyotik disklerini koyarsın. Etrafında hiç üreme olmayan diskteki antibiyotik etken olan bakteriyi de inhibe ediyor demektir, tedavide kullanılabilir" şeklinde görüş bildiriyordu. 1970'lere geldiğimizde duyarlılık deneylerinin standardizasyonunun gerekliliğini anladık. Deneyleri nasıl yaparsak yapalım, yazılarımızda önceleri Kirby-Bauer, sonraları NCCLS yöntemlerini uyguladık demeye başladık. 1980'lerde, etkenin in-vitro duyarlı bulunduğu bir antibiyotikle bildiğiniz nedenlerle her zaman tedavinin başarılamadığından kalkarak, bir etkeni antibiyotiğe duyarlı bulmak mı önemli, yoksa dirençli bulmak mı? sorusu aklımıza takıldı ve acaba "duyarlılık deneyi" yerine "direnç deneyi" mi desek diye düşünmeye başladık. 1990'larda ise bazı direnç mekanizmalarının in-vitro deneylerde kendini belli etmediğini fakat tedavide başarıyı engelleyebildiğini farkederek "etkendeki direnç mekanizmalarının meydana konmasının" tek tek antibiyotiklerinin MİK'unu veya verdiği inhibisyon zonunu değerlendirmekten daha önemli olduğunu anladık. Duyarlılık deneylerinde seçimli antibiyotik kullanıp, kısıtlı bildirim yapmaya başladık. Bu gelişmeler sonucu antibiyotik duyarlılık deneyi yapmak, sonuçları yorumlayarak bildirmek uzmanlık isteyen bir uğraş haline geldi. Antibiyogram yorumlaması etkenin duyarlılık paternini analiz ederek altta yatan direnç mekanizmalarının öngörülmesi demektir (3,9). Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi için bazen tedavide kullanılmayacak, sonucu hekimlere bildirilmeyecek antibiyotiklerin, çeşitli gruplardan yeterli sayıda antibiyotiğin deneylerde kullanılması gerekir. Bu gereksinim seçimli antibiyogram prensiplerine ters diye düşünülemez, çünkü bu antibiyotikler hastaya verilecek raporda yer almaları için değil, bir direnç mekanizmasının daha iyi endikatörü oldukları için kullanılmaktadır (9). Örneğin stafilokoklarda ve pnömokokta oksasilini beta-laktamlara direnci, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae*'da nalidik asidi florokinolonlara direnci, Gram pozitif koklarda kanamisini aminoglikozid direncini meydana koydukları için deneriz (3,9).

Bu oturumda konuşmacı arkadaşlarım size Gram pozitif ve negatif bakterilerde antibiyogram yorumlamasından ve bu yorumlamanın tedavideki öneminden söz edecekler. Doğal olarak söyleyecekleri bakteri tanımlamasının (identifikasyonunun) ve duyarlılık deneyinin doğru yapılmış olması halinde geçerli olacak. Yanlış bir identifikasyon ya da uygun yapılmamış bir duyarlılık deneyinden kalkarak doğru bir yorumlama yapmak elbette olanaksızdır. Ben biraz bu konu üzerinde durmak, onlara konuşma zeminini temiz bırakmak istiyorum.

Bazı bakterilerde bazı antibiyotiklere direnç veya duyarlılık saptanması, büyük olasılıkla idantifikasyon ya da duyarlılık deneyinde hata yapıldığını gösterir. Bunlar alınması (hemen hemen) mümkün olmayan sonuçlardır. Örneğin (birkaç suş izole edilmişse de) *Staphylococcus aureus*'da vankomisin ve teikoplanin direnci, *Streptococcus pyogenes*'de penisilin direnci, *Streptococcus pneumoniae*'da meropenem, vankomisin ve teikoplanin direnci, *Enterobacteriaceae* ailesinde meropenem ve *Proteus* türleri dışındakilerde imipenem direnci, *H.influenzae*'de ve *N.gonorrhoeae*'de 3. kuşak sefalosporin direnci, anaerob bakterilerde metronidazol direnci büyük olasılıkla identifikasyon ya da duyarlılık deneyindeki yanlışın işaretidir. Bir bakteride bugüne kadar rastlanmamış bir direnç hiç rastlanmayacak demek değildir. Ancak böyle bir direnç saptanınca bunu doğru olarak kabul etmeden hem bakteriyolojik tanıyı, hem duyarlılık deneyini tekrarlamak, yine aynı sonuç alınırsa suşu bir referans laboratuvarına göndererek doğrulanmasını istemek akılcı bir davranış olur (9). Ülkemizde maalesef böyle referans laboratuvarları yoktur. Çeşitli bakteri grupları için idantifikasyon ve duyarlılık deneylerinde başvurulacak referans laboratuvarlarına çok ihtiyacımız var. Yine de belirli bakterilerde daha fazla deneyimi olan merkezler ve kişiler var. Yalnız dünyada hiç rastlanmamış veya nadir rastlanan bir direnç paterninde değil, ülkemizde ilk defa rastladığımız bir direnci doğrulamak için de birbirimizden yardım isteyebiliriz. Yıllar önce bir ANKEM kongresinde vankomisine dirençli enterokok suşları bildirilmişti. İsteğim üzerine bildiri sahipleri suşlarını göndermeyi vadettiler fakat göndermediler ve o bildiri "dikkate alınmayacaklar" kategorisine göçtü. Ülkemizde vankomisine direnci kanıtlanmış ilk enterokok suşu 1998'deki 13. ANKEM Kongresi'nde Antalya'dan *Enterococcus casseliflavus* olarak bildirilmiş, sonra Hacettepe grubu ile yapılan işbirliği sonucu bu suşun VanA direnç fenotipinde *Enterococcus faecium* olduğu meydana konmuştur (10).

Örnekteki gibi yurt içinde yardımlaşma mümkün olmadığında beklenmeyen önemli sonuçlar için yurt dışındaki referans merkezlerine de başvurulabilir. Bu durumda bazı sürprizlere de hazırlıklı olmalıdır. Örneğin dünyada hiç izole edilmemişken 1961'de Çetin ve Anğ (4) metisiline dirençli bir

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı emekli öğretim üyesi.

S.aureus suşu izole etmişler, bunu doğrulatmak için Londra'ya göndermişlerdi. Bir süre sonra Londra'dan ilk metisiline dirençli *S.aureus* bildirildi (!), sonra direnci doğrulanan İstanbul suşu tıp literatüründe prioriteyi kaçırmış olarak yer aldı.

Bir yanlışa işaret eden sonuçlar yalnız direnç değil, duyarlı bulgusu ile de karşımıza çıkabilir. Birçok bakteri bazı antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Örneğin *Enterobacteriaceae* glikopeptidlere, penisilin G'ye, makrolidlere; *Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia, Yersinia enterocolitica* ve *Serratia* türleri ampisilin, amoksisilin ve 1. kuşak sefalosporinlere; Gram pozitif bakteriler aztreonama; *S.pneumoniae* aminoglikozidlere; enterokoklar penisilin G, sefalosporinler ve karbenisiline; *Listeria* 3. kuşak sefalosporinler ve florokinolonlara doğal olarak dirençlidir. Böyle bir bakteri-antibiyotik duyarlılığı örneğine rastlandığında yine idantifikasyon ya da duyarlılık deneyinde hata yapıldığını düşünmek, deneyleri tekrar etmek, aynı sonuçlar alınırsa doğrulatmak için başka merkezlerden yardım istemek uygun olur.

Buraya kadar verilen örneklerdeki beklenmeyen ve olası bir hataya işaret eden sonuçlar tek bir bakteriye ait duyarlılık deneyinde bile dikkati çeker. Ancak bazan bir bakteriye ait sonuçta dikkati çekmeyen, fakat uzun bir periyotta çok sayıda suşa ait sonuçların analizi ile farkedilen hatalar da vardır. Bu hatalar genellikle bakteriyolojik tanı sonuçları ile ilgilidir. Bir bakteri türünde örneğin % 3-4 oranında direnç görülen bir antibiyotiğe denediğiniz suşun dirençli bulunması mümkündür, nadir dirençli suşlardan biri olabilir. Fakat o türden çok sayıda suşla alınan sonuçları analiz ettiğinizde dirençli suşlarınız % 30 gibi bir oranı buluyorsa sonuçları mercek altına almanız gerekir. Bu durumda en azından şunları düşünmek gerekir: 1) Dirençli bir suşun serviste yayılması söz konusudur ve aynı suş çeşitli materyalden tekrar tekrar izole edilmektedir. 2) O antibiyotik diskinin potensi düşmüştür (kontrol suşlarının göstermesi gerekir!). 3) Zon çapı veya MİK değeri yanlış değerlendirilmektedir. 4) Duyarlılık deneyinde uygun besiyeri ve inkübasyon koşulları kullanılmamaktadır. 5) Bazı suşların bakteriyolojik tanısında hata yapılmakta, dirençli bir bakteri türü o tür olarak idantifiye edilmektedir.

Bu örneğin tersi, bir antibiyotiğe nadiren duyarlı suş bulunan bir türde yüksek oranda duyarlı suş bulunması da aynı durumu yaratır.

Doğru idantifikasyon duyarlılık deneyindeki hataları ortaya çıkarabilirse de (6), bu durumlarda hata çok defa bakteriyolojik tanıdadır. İstanbul Tıp Fakültesi'nde yaptığımız küçük çaplı bir analiz sonuçlarını 12. ANKEM Kongresinde "Duyarlılık deneyleri idantifikasyon hatalarımızı açığa vuruyor!" başlığı ile sunmuştuk (1). Aynı bildiriyi tekrarlamamak için yalnız iki örneği tekrarlayacağım:

"- Yatan hastalardan izole edilip *Klebsiella pneumoniae* veya *Klebsiella oxytoca* olarak idantifiye ettiğimiz 107 suştan 10'unu sefoksitine dirençli bulmuşuz! Sefoksitine dirençli (sefamisinaz oluşturan) *Klebsiella* suşlarına çok nadir rastlanır ve böyle birkaç suş uluslararası bir yayına konu edilebilir. Muhtemelen bu suşlarımız (veya çoğunluğu) *Enterobacter* olmalı. Çözüm: Hareket, lizin/ornitin dekarboksilaz özelliklerine dikkat.

- Toplam 14 *Citrobacter* suşunun 8'i ampisilin-sulbaktama, 6'sı sefoksitine duyarlı bulunmuş! Bu suşlar *Citrobacter diversus* olabileceği gibi *Escherichia coli* de olabilir. Çözüm: Lizin dekarboksilaz ve sitrat özelliklerine dikkat."

Sonuçların geniş bir perspektif içinde analiz edilmesi, mevcut verilerle karşılaştırılması, açık yüreklilikle ortaya konması hatalı idantifikasyonların devamını durduracak, laboratuvar sonuçlarını daha güvenilir kılacak ve antibiyogram yorumlamasında da yanlışa düşülmesini önleyecektir.

Bakterilerde doğal (intrensek) ve kazanılmış direnç mekanizmaları çok defa bir arada bulunur. Bu bakımdan doğru bir idantifikasyon yapılmamışsa biyokimyasal mekanizmalar açısından direnç fenotipinin doğru bir analizi, yani doğru bir antibiyogram yorumlaması mümkün değildir. İntrensek direncin öngörülmesi ancak tür düzeyinde doğru bir idantifikasyon ile mümkündür. Ayrıca bir direnç mekanizmasının klinik önemi de bakteriden bakteriye farklı olabilir. Örneğin MLS direnç mekanizması *Enterobacteriaceae*'de Gram pozitif bakterilerdekine göre çok daha az önemlidir. Aminoglikozid asetiltransferans-6′ enzimi *Pseudomonas*'da birçok aminoglikozide, *E.coli*'de ise az sayıda aminoglikozide direnç sağlar. Ayrıca biyokimyasal ve klinik direnç de birbirinden farklıdır. Örneğin *E.coli* kromozomal bir sefalosporinaz oluşturur ama bu aminopenisilinlerin, karboksipenisilinlerin, sefalosporinlerin klinik etkinliğini yok etmez. Stafilokoklarda, *Haemophilus*'da ve gonokoklarda ise penisilinaz oluşturma, MİK değeri ne bulunursa bulunsun, klinik etkinliği ortadan kaldırır (3). Bunlar antibiyogram yorumlamada doğru bir idantifikasyonun gerekliliğini gösteren örneklerden sadece birkaçıdır.

Antibiyogram yorumlaması metisiline dirençli stafilokokların bütün beta-laktam antibiyotiklere dirençli olarak bildirilmesi, seftazidim veya sefpodoksime dirençli *Klebsiella* suşlarının bütün sefalosporinlere dirençli bildirilmesi gibi örneklerle çeşitli ülkelerde uzun bir süredir yapılagelen fakat bütünlükten yoksun bir uygulamadır. Courvalin (2,3)'in öncülüğü ile en yaygın ve çeşitli verileri kapsayan bir bütün olarak kullanıldığı ülke Fransa olmuştur.

Courvalin (3) antibiyogram yorumlamasında antibiyotiğin kimyasal yapısı ve etki mekanizmasının, direnç mekanizmalarının ve bunların sağladığı fenotipik direnç paternlerinin, antibiyotiğin vücut sıvılarında ve dokudaki farmakokinetiğinin, antibiyotiğin metabolizmasının, bakterilerde türlere göre değişen intrensek direncin, bakteri popülasyonunda MİK dağılımının, in-vitro sonuçlarla in-vivo etkinlik arasındaki ilişki veya farklılıkların dikkate alınmasının gerekliliğini öne sürmektedir. Konuda uzman olan kişilerin bile her ol-

guda bu kadar çok faktörü değerlendirmesi güç başarılabilecek bir iştir. Bunun üstesinden gelmek için bilgisayar programları oluşturulmuş ve bazı otomatik idantifikasyon ve duyarlılık deneyi sistemlerine monte edilmiştir (mini API, VITEK gibi) (5).

Bu sistemler *K.pneumoniae*'nin ampisiline, *Enterobacter cloacae*'nin sefazoline duyarlı; *E.coli*'nin imipeneme, *Enterococcus faecalis*'in ampisiline, *S.pyogenes*'in penisiline ve ampisiline, bütün streptokokların vankomisine, *H.influenzae*'nin geniş spektrumlu sefalosporinlere ve florokinolonlara dirençli bulunması gibi ya hiç rastlanmamış ya da çok nadir rastlanan idantifikasyon-duyarlılık paterni eşleşmelerinde kullanıcıyı uyarır ve deneylerin tekrarını ve doğrulanmasını ikaz eder (5). Bu sistemler eritromisine dirençli stafilokok suşlarının azitromisine ve klaritromisine, gentamisine dirençli *Enterobacteriaceae* ve *P.aeruginosa* suşlarının tobramisine de dirençli olacağı şekilde çapraz direnç ve türlere göre rastlanan intrensek direnç konularında da uygulayıcıya uyarılar verir. Bu "uzman" sistemler geniş bir zaman dilimindeki sonuçların istatistiğini de vererek tek tek örneklerde farkedilmeyebilen fakat çok sayıda suşta alınan ortalamalardan farklı sonuçları ortaya koyarak idantifikasyon veya duyarlılık deneylerinde bir hatanın olasılığına da dikkati çeker. Ayrıca aynı uzman sistemi kullanan laboratuvârlar arasında idantifikasyon ve duyarlılık deneylerinde standardizasyon sağlaması da bu sistemlerin bir yan faydasıdır (5).

Avrupa'da 10 laboratuvarda önemli direnç genotiplerini kapsayacak şekilde 42 referans suş ve her laboratuvarın kendi suşlarından 76 ile 106 arasında değişen sayıda suş VITEK 2 Advanced Expert System (AES) (geliştirilmiş uzman sistemi) ile incelenmiş, suşların % 88-89'unda direnç genotipi ile tam uyumlu sonuçlar alınmış, suşların % 5-6'sında ise suştaki direnç mekanizması olası mekanizmalardan biri olarak belirlenmiştir (8). Bu şekilde VITEK 2 uzman sistemi suşların % 90'dan fazlasında en doğru yorumlamayı yapmış, uyuşmayan idantifikasyon-duyarlılık sonuçları için uyarıcıyı ikaz etmiştir.

Bakterilerin sınıflanmasında hemen hemen devamlı olarak bazı değişiklikler yapılmakta, bazı türlerdeki suşlar farklı türlere ayrılmakta ya da ait oldukları cinsler değiştirilmektedir. Bunun yanında yeni antibiyotikler de kullanıma sürülmekte ve yeni direnç mekanizmaları keşfedilebilmektedir. Bu değişikliklerin uzman sistemlere (AES) ait bilgisayar programlarında da zaman zaman değişiklik yapılmasını gerekli kılması doğaldır.

Antibiyotik duyarlılık deneyini zaman zaman bakterinin doğru idantifikasyonu için de kullanmaktayız. Örneğin *S.pneumoniae* idantifikasyonunda optokin duyarlılığı, tedaviyle ilgili olarak değil, idantifikasyon amacı ile kullanılır. 10 µg kolistin diski ile *Pseudomonas* türlerinde daima duyarlı, *Burkholderia* ve *Brevondimonas* cinslerinde, *Ralstonia pickentti* ve *Ralstonia mannitolytica* türlerinde ise daima dirençli sonuç alınması da idantifikasyonda yararlanılan bir husustur (7).

Bu yazıda verilen örneklerin benzeri daha birçok durum vardır ve verilenler çoğunlukla Livermore ve ark. (9) ve Courvalin (3)'in makalelerinden alınmıştır. Çalışmalarında aldıkları sonuçlardaki "mümkün olmayan" ya da "nadir rastlanan" paternleri belirlemek isteyenlere bu iki makaleyi ve tablolarını incelemeyi öneririm.

KAYNAKLAR

1- Babaoğlu G, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K: Duyarlılık deneyleri idantifikasyon hatalarımızı açığa vuruyor! *ANKEM Derg 11:*87 (1997).

2- Courvalin P: Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. Molecular analysis and therapeutic interpretation of in vitro tests to improve antibiotic therapy, *ASM News 58:*368 (1992).

3- Courvalin P: Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility test (the antibiogramme), *Clin Microbiol Infect 2 (Suppl 1):*S26 (1996).

4- Çetin ET, Anğ Ö: Staphylococci resistant to methicillin ("Celbenin"), *Brit Med J 2:*51 (1962).

5- Ferraro MJ, Jorgensen JH: Susceptibility testing instrumentation and computerized expert systems for data analysis and interpretation, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed." kitabında s. 1593, ASM Press, Washington (1999).

6- Kaygusuz A: Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının doğru yorumu, *Flora 5:*13 (2000).

7- Laffineur K, Janssens M, Charlier J, Avesani V, Wauters G, Delmée M: Biochemical and susceptibility tests useful for identification of nonfermenting Gram-negative rods, *J Clin Microbiol 40:*1085 (2002).

8- Livermore DM, Struelens M, Amorim J, Baguero F, Bille J, Canton R, Henning S, Gatermann S, Marchese A, Mittermayer H, Nonhoff C, Oakton KJ, Praplan F, Ramos H, Schito GC, Van Eldere J, Verhaegen J, Verhoef J, Visser MR: Multicenter evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests, *J Antimicrob Chemother 49:*289 (2002).

9- Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP: Interpretive reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes, *J Antimicrob Chemother 48 (Suppl 1):*87 (2001).

10- Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G: Vankomisine dirençli Enterococcus faecium suşu, *ANKEM Derg 13:*1 (1999).