ANKEM Derg 9 (No. 3) 209-216 (1995)

ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİNDE STANDARDİZASYON*

Kurtuluş TÖRECİ

Standardization in antibiotic susceptibility tests.

Antibiyotik duyarlılık testi bir bakteriyoloji laboratuvarında klinisyenin hastasından gönderdiği muayene maddesi ile ilgili olarak yapılan işlemlerin genellikle son ve sonucunun en çok önemsendiği kademesidir. Kontrol amacı ile gönderilen muayene maddeleri dışında, klinisyen laboratuvara bir muayene maddesi gönderdiğinde bir etkenin izole edilmesini arzular. "Steril kaldı" şeklinde bir laboratuvar cevabı, ne kadar doğru olsa da, klinisyeni memnun etmez. Bu durumda genellikle ön klinik tanıyı yeniden gözden geçirmek, yeni bazı testler yapmak zorunluluğu ortaya çıkar ve asıl amacı olan hastayı tedavi için seçeceği yolda beklediği ışıktan yoksun kalır. Bir bakteri üremişse bu bakterinin ne olduğu konusuna verdiği dikkat ve önem de çoğu kez sınırlıdır. Bir idrardan üreyen bakterinin *Escherichia, Citrobacter, Klebsiella* veya *Enterobacter* olması onun için ikinci derecede öneme sahiptir. Asıl önem verdiği reçetesine hangi antibiyotiği yazdığında başarılı bir tedavi sağlayacağıdır. Bu söylenenlere aykırı durumlar elbette vardır, fakat uygulamada genel tabloya en yakın ve bir bakıma da olması gereken durum budur. Bu nedenle antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçları klinisyen ve bakteriyolog ilişkisinde en önemli halkayı oluşturur.

Laboratuvar etken olan bakterinin çeşitli antibiyotiklere duyarlı, orta duyarlı veya dirençli olduğunu bildirmekle klinisyene tedavide yol gösterecektir. Duyarlılık testlerinin tedavide antibiyotik seçimindeki önemini gösteren pek çok çalışma vardır. Fakat tedavide etkenin duyarlı olduğu bir antibiyotik veya antibiyotikler kullanıldığında hastanın mutlaka iyileşeceğini, uygun bir antibiyotik kullanılmadığında ise iyileşmeyeceğini düşünmemek gerekir. İn-vitro deney sonuçları ile in-vivo cevap arasında uyumsuzluğa yol açan birçok neden vardır (15). Ayrı bir konuşma veya simpozyum konusu olacak bu nedenleri bir tarafa bırakırsak, bir duyarlılık testinde "duyarlı" olarak bildirimin infeksiyonun o antibiyotiğe yanıt vermesinin daha muhtemel olduğunu, "dirençli" olarak bildirimin infeksiyonun yanıt vermesinin pek muhtemel olmadığını ifade ettiğini söyleyebiliriz (17). Ülkemizde yapılan araştırmaların birçoğunda "orta duyarlı" veya "az duyarlı" olarak bildirilen sonuçlar NCCLS tarafından "moderately sensitive" ve "intermediate" olarak iki ayrı terimle ele alınmaktadır. "Moderately sensitive" olarak bildirilen sonuçlarda antibiyotik yüksek dozlarda kullanılabiliyorsa (örneğin beta-laktamlar) veya infeksiyon bölgesinde konsantre ediliyorsa (örneğin idrarda) tedavide başarılı sonuç alınması olasıdır. "Intermediate" olarak bildirilen sonuçlar ise teknik güçlükler nedeniyle güvenilir olmayan ve değerlendirme kriterleri kuşkulu olan, etken kullanılabilecek bir başka antibiyotiğe duyarlı değilse bu sonucun alındığı antibiyotiğin kullanılabileceği bir duruma işaret eder. Böyle bir sonuca göre kullanılacak antibiyotikle alınacak klinik cevap önceden kestirilemez veya düşük düzeyde olması beklenir (11).

---

* 10. Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, " Genel Oturum 1: Antibiyotiklerde Temel Sorunlara Bakış" sunularından (6 - 9 Haziran 1995, Antalya).

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

Klinisyenin asıl beklentisi olan, hastanın sağlığı yönünden bu kadar önem verilen, hangi antibiyotik(ler) uygun şekilde kullanıldığında başarılı bir tedavinin daha muhtemel olduğunu gösterecek bir sonucun doğru olması gerekir. Yaptığımız duyarlılık testlerinin:

1- Yinelenebilir olması gerekir. Aynı suşu aynı gün veya izleyen günlerde birçok defa denediğimizde aynı veya kabul edilebilir farklılıkta zon çapları veya MIC değerleri elde edilmelidir.

2- Doğru olması gerekir. Aslında 15 mm zon verecek bir suşu birçok defa denediğimizde hep 20 mm zon alıyorsak, ya da MIC değerini gerekenin hep 2 tüp öncesi olarak saptıyorsak sonuçlarımız kendi içinde tutarlı, yinelenebilir sonuçlardır fakat doğru değildir. Biz daha geniş zon alıyoruz diye o suşla olan infeksiyon o antibiyotiğe yanıt vermeyecektir. Sonuçların doğru olması laboratuvarlar arasında farklı sonuçlar alınmasını da önleyecektir.

3- Sonuçların değerlendirilmesi, alınması muhtemel klinik yanıtı öngördürecek şekilde yapılmalıdır. Belirli bir zon çapı veya MIC değerinin antibiyotik normal dozlarda kullanıldığında denenen bakteri ile oluşan o tür infeksiyonlarda ne anlama geldiği çeşitli klinik çalışmalarla saptanmış olmalı, değerlendirme bu şekilde belirlenmiş kriterlere göre yapılmalıdır.

Bu gerekleri sağlayabilmek, duyarlılık testlerinin uygulanmasında standart yöntemlerin kullanılmasını, iç ve dış kalite kontrolunu, laboratuvar sonuçları ile klinik sonuçların devamlı karşılaştırılmasını gerektirir.

Duyarlılık testleri disk difüzyon, sıvı besiyerinde makrodilüsyon veya mikrodilüsyon, agar dilüsyon, E test gibi çeşitli yöntemlerle veya otomasyon cihazları ile yapılabilir. Bu yöntemlerin herbirinin belirli avantaj ve dezavantajları vardır. Her laboratuvar iş ve eleman kapasitesine, hizmet verdiği kitlenin istek ve gereksinimine göre bu yöntemlerden bir veya birkaçını kullanır. Önemli olan yöntemi standardize edildiği şekilde kullanması, hem kendi içinde tutarlı, hem doğru sonuçlar almasıdır.

Penisilin ile antibiyotik çağının başlamasıyla beraber çeşitli suşlar arasında duyarlılık farkı olabildiği ve bazı suşların direnç kazandığının anlaşılması, tedaviden önce etken olan suşun duyarlılığının belirlenmesi gereksinimini doğurmuştur. Fleming'in kendisi 1929'da penisilini bildirdiğinde, agarda açılan bir oluğa antibiyotik çözeltisini koyarak uyguladığı agar difüzyon yöntemini ve daha sonra buyyonda tüp dilüsyon yöntemini tarif etmiştir (6). Bu yöntemler çok çeşitli modifikasyonlarla yaygın olarak kullanılmış, 1945'de Morley (8) penisilin ve sulfatiazol emdirilmiş kurutma kağıdı diskleri kullanarak yara bakterilerinin bu antibakteriyellere duyarlılığını belirlemiştir. Bu yöntemin bugün en sık kullandığımız disk difüzyon yönteminin temelini oluşturduğu kabul edilebilir. Daha sonraki yıllarda antibiyotiklerin çeşitlenmesi, kullanımlarının süratle artması ve duyarlılık testlerinin pek çok laboratuvarda rutin olarak yapılması, bu iş yapılırken herkesin kendisine uygun bulduğu koşullarda yöntemler geliştirmesi ve değerlendirmeler yapması bir standardizasyon gerekliliğini ortaya koymuştur. 1960'da DSÖ bir uzmanlar grubu oluşturmuş ve bu grup, duyarlılık testlerinde izlenmesi gereken bir dizi kural belirlemiştir (4). Bu arada birçok araştırıcı birçok standardize edilmiş yöntem tarif etmişse de muhtemelen en yaygın kullanılan, NCCLS standartları girene kadar ülkemizde de pek çok makalede izlendiği yazılan, Bauer ve ark (5) tarafından 1966'da yayınlanan ve Bauer-Kirby veya Kirby-Bauer yöntemi olarak anılan standardize disk difüzyon yöntemidir.

Standardize yöntem dendiğinde bütün dünyada kullanılan bir yöntem akla gelmemelidir. Çeşitli gelişmiş ülkeler kendi standartlarını oluşturmuştur. Doğru sonuç almak için önemli olan kullandığımız yöntemi A'dan Z'ye kadar aynen uygulamaktır. Halen en çok kullanılanlar olarak:

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards
WHO : World Health Organization (DSÖ)
BSAC : British Society for Antimicrobial Chemotherapy
SFM : Societé Française de Microbiologie
DIN : Deutsches Institute für Normung
SIR : Swedish Reference Group for Antibiotics
WRG : Werkgroep Richtlijnen Govoeligheidsbepalinden (Hollanda)

tarafından oluşturulmuş standartlar sayılabilir.

Bu standartların oluşturulması genellikle konunun uzmanlarından oluşturulmuş, özerk kuruluşlarca sağlanmaktadır. Bir örnek olarak halen ülkemizde en çok izlendiği yazılan NCCLS standartlarının oluşturulması verilebilir.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) A.B.D.'de 1968'de kurulmuş, kazanç amacını taşımayan, destekleyen kuruluşlar ve sattığı yayınlarla giderlerini karşılayan bir eğitim organizasyonudur. Center for Disease Control (CDC), Food and Drug Administration (FDA) gibi resmi kuruluşlardan, Üniversite ve çeşitli araştırma enstitülerinden, ilaç endüstrisinden temsilcilerin katılımı ile oluşturulan bu organizasyon tamamen özerk bir kuruluştur ve dışarıdan emir almadığı gibi kararlarının da başkaları için kesin bağlayıcı yönü yoktur. Ancak çok sayıda laboratuvar yaptıkları işin başkalarınca ciddiye alınması ve sonuçlarına güvenilmesi, hepsinden önce doğru olması en olası sonuçlara varabilmek için bu kuruluşun koyduğu standartları kendilerine rehber olarak kabul ederler. Ayrıca konu ile ilgili resmi düzenlemelerin yapılması, yasal kuralların konulmasında da bu standartlardan faydalanılması bazılarına yasal bir zorunluluk görüntüsü verebilir.

NCCLS'in çalışma kapsamına bütün laboratuvar branşları girer. NCCLS bugüne kadar çeşitli laboratuvar işlemleri için 100'ün çok üzerinde standart yayınlamıştır. Bunların bir kısmı duyarlılık testleri ile ilgilidir (12). Mikrobiyoloji, klinik biyokimya, hematoloji, toksikoloji.... gibi her laboratuvar branşı için NCCLS Board'una bağlı bir komite (örneğin mikrobiyoloji branşı için Area Committee on Microbiology) vardır ve o branş içinde çeşitli konular için bu komiteye bağlı olarak çalışan alt komiteler ve bu alt komitelere bağlı çalışma grupları oluşturulur (Örneğin Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing ve Working Group on Antimicrobial Susceptibility Testing on Anaerobic Bacteria). Bu komitelerin oluşturulmasında da üniversiteleri, resmi kuruluşları ve endüstriyi temsil eden üyelerin bulunmasına dikkat edilir (18). Alt komiteler çalışmalarında danışman (advisor) olarak belirlenen çok sayıda kişiden de yararlanırlar. Antibiyotik duyarlılık testleri ile ilgili olarak Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri, Antifungal Duyarlılık Testleri, Antimikobakteriyel Duyarlılık Testleri, Otomatize Mikrobiyolojik Yöntemler, Antimikrobiyal Testlerin Geliştirilmesi gibi alt komiteler çalışmaktadır (2).

NCCLS'in yayınları 3 kategoride toplanabilir. "Standart" başlığında yayınlananlar genel bir uzlaşma sonucu çıkarılan, materyal, metod ve uygulamayı açık ve detaylı bir şekilde bildiren, modifiye edilmeden uygulanması gereken dökümanlardır. "Rehber (guideline)" başlığı ile yayınlananlar yine genel bir uzlaşma sonucu çıkarılan, materyal, metod ve uygulama için kriterler belirleyen, aynen uygulanabileceği gibi

kullanıcının amaç, gereksinme ve olanaklarına göre modifiye edilebilecek dökümanlardır. Yönetim Kurulu (Board of Directors) tarafından yayınlanan ve henüz üzerinde genel bir uyuşma sağlanmayan dökümanlar ise "rapor" başlığı altında yayınlanır.

NCCLS'e bir konuda standart oluşturulması için öneri geldiğinde bunun önce ilgili branş komitelerinde incelenmesi, komiteden ve sonra kuruldan "olur" alması gerekir. Sonra bu proje ilgili alt komitede ele alınır ve önce bir "standart önerisi (proposed standard)" hazırlanır ve yayınlanır. Bu öneri en az 60 gün her isteyenin teknik ve yazım yönünden eleştirilmesine açık bulundurulur ve gelen eleştiriler dikkate alınarak gerekli düzeltmeler yapılıp "geçici standart (tentative standard)" olarak yayınlanır. Bu geçici standart, en az bir yıl uygulanması sonunda genel bir kabul görmesi halinde, bu uygulama sırasında belirecek düzeltme ve değiştirmeler de dikkate alınarak "onaylanmış standart (approved standard)" haline getirilir. Onaylanmış standart da her zaman, herkesin eleştirisine açıktır ve antibiyotiklerle ilgili periyodiklerde bu standartların eleştirilerine ait yayınlara oldukça sık rastlanmaktadır. Onaylanmış bir standart genellikle 3 yılda bir, çok gerekirse daha kısa sürede biriken bilgilere göre gözden geçirilir ve gerekiyorsa yenileme, ilave ve değiştirmeler yapılır. Bunlar da apendiks olarak yayınlanır.

Oluşturulan bir standardın bir teknik yönü, bir de değerlendirme yönü vardır. Teknik yönünde kullanılacak besiyerinden, besiyerinin hazırlanmasına, inokolumun hazırlanmasına, inkübasyon koşullarına, sonuçların okunmasına kadar laboratuvarda genellikle bir laborantın yaptığı bütün işlemler bütün detayları ile tarif edilir ve belirli kademeler için sonucu değiştirmeyecek seçenekler sunulur. Varsa standardın bazı bakteriler, bazı antibiyotikler veya belirli bakteri-antibiyotik çiftleri için ya da genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, indüklenebilir beta-laktamaz gibi belirli direnç mekanizmalarını saptamadaki yetersizlikleri belirtilir. Bu kademeler laboratuvarda istendiği kadar tekrar edilebilecek, çeşitli faktörlerin etkileri test edilebilecek kademelerdir. Buna karşılık değerlendirme kriterlerinin, örneğin inhibisyon çapları veya MIC değerlerinin ne olduğunda duyarlılık ve dirence işaret edeceğinin belirlenmesi, standart koymanın en güç ve uyuşma sağlanmasının daha zor olduğu kısmıdır. Bu kriterlerin (break-point'lerin) belirlenmesinde antibiyotiğin etki spektrumu, çeşitli bakterilerin o antibiyotik için sahip olabildikleri direnç mekanizmaları, duyarlılık testlerinde o antibiyotikle ilgili teknik özellikler gibi mikrobiyolojik verilerden, antibiyotiğin kanda ve çeşitli vücut dokularında eriştiği tepe ve çukur konsantrasyonlar, zaman-konsantrasyon eğrisinde eğri altında kalan alan (area under curve), yarılanma süresi, vücutta metabolize olması, metabolitlerin etkinliği, atılım şekli gibi farmakokinetik verilerden yararlanılır. Bu verilerle geçici (tentative) değerlendirme kriterleri konur. Doğal olarak bu değerlendirme kriterlerinin klinik sonuçlarla uyumunun belirlenmesi gerekir. Belirlenen kriterlere göre sonuç duyarlı olarak bildirildiğinde tedavide başarılı olma, dirençli olarak bildirildiğinde başarısız kalma olasılıkları uyum içinde olmalıdır. Klinik çalışmaları, genellikle kontrol tedavisine en azından eşit derecede iyi sonuç alınacak şekilde planlanır; belirlenen ön kriterlere göre dirençli bulunan bir etkenle olan infeksiyonu o antibiyotikle tedavi etmeye çalışarak dirençlilik kriterinin klinik sonuçlara uygunluğunu göstermek etik kurallarının dışına çıkar. Ayrıca değerlendirmede mikst infeksiyonlar, bir absenin cerrahi boşaltımı, hastanın çeşitli parametreleri gibi birçok faktör rol oynar. Bu nedenle değerlendirme kriterlerinin belirlenmesi, bir standardizasyonun en zor, subjektif ve zaman içinde toplanacak klinik verilere dayandırılması gereken vazgeçilemez kademesidir (7).

Çeşitli ülkelerde duyarlılık deneyleri için farklı standart yöntemler geliştirildiği belirtilmişti. İngiltere'de kullanılan ve aynı Petri'de aynı disk etrafında denenen suş ile kontrol suşunun verdiği inhibisyon zonlarının karşılaştırılmasına dayanan Stokes yöntemine göre yapılan disk difüzyon yöntemi dışında, bu kuruluşların önerdiği disk difüzyon, buyyon ve agar dilüsyon yöntemleri arasında bazı teknik farklılıklar varsa da asıl önemli ve tartışılan farklılıklar; duyarlı, belirsiz, orta duyarlı, dirençli kategorileri belirleyecek sınırları (break point) belirlemededir. İngiltere ve Almanya'da uygulanan standartlar genellikle daha düşük, A.B.D. ve Fransa'da uygulanan standartlar genellikle daha yüksek sınırlar kabul eder (3). Bu sınırlar arasındaki fark (varsa), dilüsyon deneylerinde çok defa 1, bazen 2 dilüsyon; disk difüzyon deneylerinde 1-3 mm kadardır (1, 3). Disk difüzyon deneyinde farklı konsantrasyonda disk kullanıldığında (örneğin Fransa ve İsveç'te 30 µg'lık ampisilin diski) doğal olarak diğer standartlardan çok farklı zon çapları sınır değer olarak alınmaktadır. Bu durumda daha fazla antibiyotik içeriği olan disk kullanan yöntemlerde duyarlılığın alt sınırı olarak daha geniş inhibisyon çapı kabul edildiğinden, genellikle değerlendirme sonuçları birbirine yakın olmaktadır. Ancak yine de standardize edilmiş iki yöntemin inhibisyon zonu çaplarını veya MIC değerlerini belirleyen sınırlar arasındaki farklar bazen pratikte önemli farklılıklara yol açabilmektedir. Örneğin İsveç'te *E.coli* için ampisilinin MIC değeri 4 µg/ml, A.B.D.'de ise 16 µg/ml olduğunda suş dirençli olarak kabul edilmektedir. Suşların çoğunda MIC 4 veya 8 µg/ml olarak saptandığında bu iki ülkede ampisiline dirençli *E.coli* suşlarının oranı birbirinden çok farklı bulunacak, bu fark bir epidemiyolojik farklılıktan değil fakat saptanan farklı değerlendirme sınırlarından kaynaklanacaktır (16).

Değerlendirme kriterleri dışında standardize edilmiş her yöntem; kullanılacak besiyerlerini, inokulumu, testin yapılışını, inkübasyonunu, sonuçların okunmasını detaylı bir şekilde açıklar. Örneğin bir disk difüzyon deneyi..de kullanılacak besiyerini; besiyerinin timidin, tuz, Ca, Mg içeriğinin ne olmasının gerektiğini; bu içerikteki farklılıkların hangi bakteri türlerinde, hangi antibiyotikler için ne gibi farklı sonuçlara yol açacağını; pH'ın ayarlanmasını; besiyerinin optimal kalınlığının ne olması gerektiğini, daha ince veya kalın dökerseniz ne gibi farklı sonuçlar alacağınızı; çeşitli bakteriler için inokulum hazırlama yöntemlerini; ekim yöntemlerini; inkübasyon koşullarını ve süresini; değerlendirmeyi; hatta bu kongrede "5. birlikte çalışalım" oturumunun konusu olan hangi bakteriler için hangi antibiyotikleri denemek ve hangi sonuçları bildirmek gerektiğini; yöntemin hangi bakteriler için standardize edildiğini; hangi bakteriler için (Örneğin *N.gonorrhoeae*) veya hangi antibiyotikler için (örneğin polimiksinler) için yetersiz olduğunu; çeşitli durumlarda (örneğin beta-laktamaz oluşturan *S.aureus* suşları, genişlemiş spektrumlu veya indüklenebilir beta-laktamaz oluşturan suşlar) başka hangi yöntem veya deneylere başvurmak gerektiğini, standardize edilmiş yöntemi açıklayan manuskriptlerde bulabilirsiniz. Burada tek bir yöntemin bile açıklanmasına ne zamanımız yeter, ne de gerek vardır. Esasen bu kongreye duyarlılık testleri sonuçlarını getiren dinleyicilerin bu yöntemlerden birini kullanıyor olmaları gerekir. Benim belirtmek istediğim standart bir yöntemi seçen araştırıcının tutarlı ve doğru sonuçlar almak için yöntemin her kademesini aynen uygulaması gerektiğidir. Örneğin besiyerinin ince dökülmesi, koyu inokulum kullanılması, inkübasyon süresinin kısa veya uzun tutulması sonuçların güvenilirliğini yok edecektir.

Duyarlılık testi yapan bir laboratuvar standardize edilmiş bir yöntemi uygulasa bile sonuçlarının kalitesini kontrol etmelidir. Kalite kontrolu iç ve dış kalite kontrolu olarak ikiye ayrılabilir.

İç kalite kontrolu laboratuvarın çalışma düzeyinin ve çalışanların devamlı denetim altında tutulması, değişik lotlardan hazırlanan besiyerinin uygun mikroorganizmalarla denenmesi, yeni hazırlanan çözeltilerin uygun yöntemlerle kontroluyla başlar. Duyarlılık testlerinin iç kalite kontrolu yönünden, hastalardan elde edilen suşlarla aynı zamanda ve aynı şekilde belirli standart suşların da duyarlılığı denenmelidir. Örneğin disk difüzyon deneyinde fakültatif bakteriler için iç kalite kontrolunda, NCCLS şu standart suşların kullanımını önermektedir:

1- *E.coli* ATCC 25922
2- *S.aureus* ATCC 25923
3- *P.aeruginosa* ATCC 27853
4- *E.coli* ATCC 35218
5- *E.faecalis* ATCC 29212
6- *H.influenzae* ATCC 49247
7- *H.influenzae* ATCC 49766
8- *N.gonorrhoeae* ATCC 49226
9- *H.influenzae* ATCC 10211
10- *S.pneumoniae* ATCC 49619

Bu suşların herbiriyle çeşitli antibiyotikler için kabul edilebilir zon çapları veya MIC değerleri tablolar halinde düzenlenmiştir. Kalite kontrol deneylerini her gün yapan bir laboratuvar için zon okumalarının % 95 ve fazlası kabul edilebilir sınırlar içinde bulunmalıdır. Ancak NCCLS'in öngördüğü günlük iç kalite kontrol deneyleri oldukça zahmetli ve masraflı olduğundan bunun haftada bire indirilmesi eğilimi vardır. Haftada bir yapılan kalite kontrolunda bütün zonların kabul edilebilir sınırlar içinde olması istenir (10).

Bir duyarlılık testinde çeşitli yönde yapılacak hataların önemi farklıdır (9):

Çok büyük hata: Bakterinin aslında dirençli olduğu bir antibiyotiğe duyarlı olarak bildirilmesi. Böyle bir hata, özellikle yanlış olarak duyarlı bildirilen antibiyotik ilk sırada seçilecek antibiyotikse veya suş endokardit, osteomiyelit, septisemi gibi ciddi bir infeksiyondan veya bağışıklık yetmezliği olan bir hastadan izole edilmişse, vahim sonuçlar doğurabilir. Örneğin oksasiline dirençli *S.aureus*'un, tobramisine dirençli *P.aeruginosa*'nın, sefotaksime dirençli *Enterobacter*'in duyarlı olarak bildirilmesi bu türlü hatalara örnek olarak verilebilir.

Büyük hata: Duyarlı bir suşun dirençli olarak bildirilmesidir. Örneğin metisiline veya oksasiline duyarlı bir *S.aureus*'un dirençli olarak bildirilmesi hekimi vankomisin kullanmaya yönlendirecek, bakım ve ilaç masrafları, yan etkiler yönünden hasta için olumsuzluklara yol açacaktır. Sefazoline duyarlı bir *K.pneumoniae* suşunun dirençli olarak bildirilmesi de bir aminoglikozid veya 3. kuşak sefalosporin kullanılmasına yol açarak masrafı arttıracak, hastayı aminoglikozidlerin toksik etkilerine maruz bırakabilecektir.

Küçük hata: Orta derecede duyarlı bir suşun duyarlı veya dirençli olarak bildirilmesi ya da duyarlı veya dirençli olan suşların orta duyarlı olarak bildirilmesi. Böyle bir hata bir *Enterobacter* suşunun seftriaksona duyarlılığını belirlemede olursa evde damar içi tedavi planlayan bir hekim için yanılgıya yol açabilecektir. Bir *P.aeruginosa* suşunun tobramisin duyarlılığını belirlemede olursa hekim tobramisin ve amikasin arasında yanlış tercih yapabilecektir.

Bir standart yöntemin uygulanmasında dış kalite kontrolu da aranabilir. Ülkemizde bunu yapacak bir organizasyon yoksa da gelişmiş ülkelerde devlete ait bir kuruluş olmayan, ancak resmi kuruluşların da yapılanmasına katkıda bulunduğu, kâr amacı gütmeden istekli laboratuvarların dış kalite kontrolunu yapan organizasyonlar veya programlar vardır. Örneğin böyle organizasyonlardan biri İngiltere'deki Milli Dış Kalite Planı veya Programıdır (National External Quality Assessment Scheme, NEQAS). Bu kuruluşa yaptıkları işin kalitesinin başkalarınca kontrol edilmesini isteyen, buna cesaret eden laboratuvarlar başvurmakta ve herbiri için ayrı ücret ödeyerek 1992'de sayısı 17 olan çalışma konusundan istediklerinde kalite kontroluna tabi olmaktadırlar. Antibiyotik duyarlılık testlerinde dış kalite kontrolu da bu 17 konudan biridir. Kuruluş, kontrol isteyen laboratuvara periyodik olarak örnek kültürler göndermekte ve belirli bir sürede sonuçlarını almaktadır. Bu sonuçların doğruluk derecesi ve İngiltere'de bu programa dahil olan 500 üzerinde, dünyanın çeşitli ülkelerinde 200 üzerinde laboratuvarda alınan sonuçların ortalamaları laboratuvara bildirilmektedir. Bu şekilde laboratuvar yanlışlarını öğrenmekte, kendi performansının diğer laboratuvarlar arasındaki yerini belirleyebilmektedir. Bu programda 1991'de İngiltere'deki laboratuvarlar duyarlılık testlerini % 97 oranında doğru yapmışlar, değişik bakteri-antibiyotik çiftlerinde doğruluk oranı % 81-100 arasında değişmiştir (13). Buna karşılık bir başka çalışmada aynı kuruluşun gönderdiği yüksek düzeyde gentamisin direnci olan ve olmayan üçer *Enterococcus* suşunda laboratuvarların doğru sonuç alma oranları yüksek düzeyde dirençli suşları belirlemede % 96-98 olmuş, buna karşılık % 12-41'i yüksek düzeyde gentamisin direnci olmayan suşlarda bu tür direnç bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda laboratuvarlar deşifre edilmemekte, dolayısıyla sizin doğru veya yanlış sonuçlarınızı yalnız siz öğrenmekte, yüzlerce laboratuvarın ortalaması ile karşılaştırabilmektesiniz.

Dünyanın gittikçe küçüldüğü, Türkiye'nin Avrupa Birliği'nin kapısını çaldığı günümüzde ülkemizdeki bütün laboratuvarların da belirli standart yöntemlerle çalışması, iç ve dış kalite kontrollarına tâbi olup yaptığının doğru olduğundan kendisinin emin olması, başkalarına da bunu ispatlaması çok acil bir gereksinim olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

1- Acar J F, Goldstein F W: Disk susceptibility test, "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3 rd ed" kitabında s.17, Williams and Wilkins, Baltimore (1991).

2- Akalın H E: Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon," Akalın H E (ed): *Antibiyotiklerde Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlık Testleri*' kitabında s.95, Pfizer İlaçları A.Ş.

3- Baquero F: European standarts for antibotic susceptibility testing: Towards a theoretical concensus, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis 9:* 492 (1990).

4- Barry A L: *The Antimicrobic Susceptibility Tests: Principles and Practices*, Lea and Febiger, Philadelphia (1976).

5- Bauer A W, Kirby W M M, Sherris J C, Turck M: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *Am J Clin Pathol 45:* 493 (1966).

6- Fleming A: On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B.influenzae, *Br J Exp Pathol 10:* 226 (1929).

7- Jorgensen J H: NCCLS Antimicrobial Susceptibility Testing Subcommittee decisions affect susceptibility testing practices and prescribing patterns, *ASM Newsletter 5:* 4 (1993).

8- Morley D C: A simply method for testing the sensitivity of wound bacteria to penicillin and sulphathiazole by use of unpregnated blotting paper discs, *J Pathol Bacteriol 57:* 379 (1945).

9- Mulder R H, Farnham SM, Grinius B: Evaluating antimicrobial susceptibility test systems, "Isenberg H D (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook,* Vol.1, Hindler J (sec.ed.): Antimicrobial susceptibility testing" kitabında s.23, Am Soc Microbiol, Washington (1992).

10- Munro S: Disk diffusion susceptibility testing, "Isenberg H D (ed): *Clinical Microbiolölgy Procedures Handbook*, Vol.1; Hindler J (sec.ed.): Antimicrobial susceptibility testing" kitabında 5.1, Suppl 1, Am Soc Microbiol, Washington (1992).

11- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, *Approved Standards M7-A2,* 2nd ed, Vol.10, No.8, NCCLS, Villanova (1991).

12- National Committee for Clinical Laboratory Standars: *NCCLS Documents M2-A4, MT-A2, M11-A2, M20-CR, M21-T, M23-T2, M24-P, M26-T, M27-P, M100-S4,* NCCLS, Villanova (1985-1992).

13- Quality Assurance Laboratory: *UK National External Quality Assessment Scheme for Microbiology,* Annual Report-1992, PHLS, London (1992).

14- Snell J J S, Brown D F J, Perry S F, George R: Antimicrobial susceptibility testing of enterococci: Results of a survey conducted by the United Kingdom National External Quality Assessment Scheme for Microbiology, *J Antimicrob Chemother 32:* 401 (1993).

15- Töreci K: Antibiyotik duyarlık deneyleri sonuçları ile antibiyoterapi sonuçları arasında uyumsuzluk nedenleri, *ANKEM Derg 1:* 400 (1987).

16- Wiedemann B, Atkinson B A: Susceptibility to antibiotics: Species incidence and trends. "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine,* 3rd ed" kitabında s.962, Williams and Wilkins, Baltimore (1991).

17- Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy: A guide to sensitivity testing, *J Antimicrob Chemother 27 (Suppl D):* 1 (1991).

18- Zabransky R J: NCCLS-Organization and consensus, *ASM Newsletter 5:* 3 (1993).