

ANTİBİYOTİK DUYARLILIK DENEYLERİNİN ÖNEMİ

Kurtuluş TÖRECI

Importance of antibiotic susceptibility tests.

Antibiyotik duyarlılık deneylerinin yapılmasındaki amaç bir etkenle olan enfeksiyonda hangi antibiyotik veya kemoterapötikler kullanılırsa tedavide başarılı olma olasılığının daha yüksek olduğunu belirlemektir(12). Burada bir "olasılıktan" söz edilmektedir. Dolayısıyla bu deneylerde etkenin duyarlı bulunduğu bir antibiyotiğin tedavide etkili olması, dirençli bulunduğu bir antibiyotiğin de tedavide etkisiz kalması kesin değildir. Antibiyotik kullanımında in-vitro deneylerden beklediğimiz sonuçları değiştiren birçok in-vivo faktör vardır. Yine de duyarlılık deneylerinin tedavide seçilecek antibiyotiği belirlerken çok faydalı olduğu birçok çalışma ile kanıtlanmıştır(4,10).

Yaptığımız işe duyarlılık deneyi diyorsak da, asıl geçerli olan etkenin dirençli olduğu antibiyotikleri belirlemektir(7). Çünkü etkeni in-vitro duyarlı bulduğumuz bir antibiyotiğin in-vivo da etkili olması birçok faktöre bağlıdır. Örneğin antibiyotik enfeksiyon yerine yeterli dozda ulaşmıyorsa in-vitro etkili bulunmasının bir değeri olmayacaktır. Halbuki etkenin in-vitro dirençli bulunması tedavide başarısız bir sonuç ile daha büyük bir paralellik gösterir. Bu nedenle duyarlılık deneylerinde "direnç" sütununda gösterilen antibiyotiklerin tamamı tedavide seçilmemesi gereken, seçilmeleri halinde büyük olasılıkla başarısız bir sonuçla karşılaşılacak antibiyotiklerdir. "Duyarlı" sütundaki antibiyotiklerin ise herhangi biri değil, ilacın farmakokinetiği, verilebilecek dozu, enfeksiyonun lokalizasyonu, hastanın özellikleri ... dikkate alınarak uygun olanları kullanılabilir.

Bir duyarlılık deneyinin sonucuna güvenilebilmesi için standart bir yöntemle yapılması, yinelenebilir ve doğru sonuçlar vermesi ve bu sonuçların klinik sonuçlarla uyumlu olması gerekir. Rastgele yapılan uygulamalar çok değişik, rastgele, güvenilmez sonuçlar verir. Bu nedenle belirli bakteriler veya belirli antibiyotiklerle yapılan duyarlılık deneyleri için uzun çalışmalar sonucunda, en ufak detaylarına kadar standardize edilmiş yöntemler geliştirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık deneylerinin standardizasyonu birçok kongrede konu olarak ele alınmıştır(11). Ancak standardize edilmiş bir yöntemle yapılan çalışmaların sonuçları birbiri ile karşılaştırılabilir. Nitekim bu kongredeki posterlerin birçoğunda NCCLS yöntemleri ile çalışıldığı belirtilmektedir. Deneylerin standart bir yöntemle uyularak yapılması halinde yinelenebilir ve doğru sonuçlar alınması gerekir. Sonuçların yinelenebilir olması doğru olduğu anlamına gelmez. Aynı hata her seferinde tekrarlanıyorsa yinelenebilir fakat doğru olmayan sonuçlar alınır. Bu koşulları sağlamak için her laboratuvar deneylerine standart suşları ilave etmeli ve belirli limitler içinde sonuç alınmalıdır. Bu "iç kalite kontrolü"na, "dış kalite kontrolü"nun da eklenmesi idealdir. Dış kalite kontrolü, bu iş için oluşturulmuş kuruluşlardan gönderilen suşların duyarlılık deneylerini yapıp sonuçların o kuruluşa bildirilmesi ve laboratuvarın performansının o kuruluşça belirlenmesi ile yapılır(11). Bir duyarlılık deneyinde etkenin aslında dirençli olduğu bir antibiyotiğe duyarlı olarak bildirilmesi "çok büyük hata", aslında duyarlı olduğu bir antibiyotiğe dirençli olarak bildirilmesi "büyük hata", orta derecede duyarlı olduğu bir antibiyotiğe duyarlı veya dirençli olarak bildirilmesi ise "küçük hata" olarak sınıflandırılır.

Standart bir yöntemle alınan sonuçların tedavide alınacak sonuçlarla uyumlu olacak şekilde değerlendirilmesi standardizasyon işleminin en zor yanındır. Hangi zon çaplarının veya MIC değerlerinin duyarlılık, orta veya az duyarlılık, "intermediate" ya da dirençlilik işareti sayılacağı uzun zaman, çok materyal ve çok dikkatli gözlemler isteyen, yasal ve etik kuralları zorlayan çalışmalarla belirlenebilir. Antibiyotik duyarlılık deneylerinde hangi bakteriler için hangi antibiyotiklerin denenmesi gerektiğini belirlemek, alınan sonuçlara göre o bakteride hangi direnç mekanizmalarının bulunduğunu öngörmek, buna göre sonuçları yorumlayarak bildirmek giderek ayrı bir uzmanlık dalı haline gelmekte, bazı laboratuvarlarda sonuçları yorumlama bilgisayar programları ile gerçekleştirilmektedir(1). Dolayısıyla duyarlılık deneyleri sonuçlarının in-vitro saptanan MIC değerine veya disk çevresindeki zon çapına göre duyarlı-dirençli şeklinde bildirilmesi yeterli ve geçerli bir laboratuvar hizmeti olmamaktadır. Klinik mikrobiyolog izole edilen bakteride hangi direnç mekanizmalarının bulunduğunu saptamak ve bunun in-vitro ve in-vivo sonuçlarını dikkate almak zorundadır. Örneğin bakterinin aminoglikozidlere direnci çeşitli aminoglikozid modifiye eden enzimler (fosfotransferaz, asetiltransferaz, adeniltransferaz) veya permeabilite mutasyonları ile sağlanabilir ve bazıları tedavide kullanılan, bazıları ancak in-vitro deneylerde kullanılan bir aminoglikozid paneli ile veya bu enzim genlerinin problemleri ile yapılan deneylerde bir bakterideki enzimin türü, buna göre sahip olacağı direnç paterni saptanabilir(5). 3'-Fosfotransferaz veya 2"-fosfotransferaz-6'-asetiltransferaz enzimlerine sahip bir Gram pozitif kokta bu enzimler amikasin ve netilmisin bakteriyostatik etkisini etkilemezler ve in-vitro olarak suş duyarlı bulunur. Ancak bu enzimler varlığında bu iki aminoglikozidin bakterisit etkisi kaybolur ve aminoglikozid ile beta-laktam antibiyotikler arasında sinerjinin gerektiği durumlarda tedavide başarısız kalınır; dolayısıyla in-vitro deneylerin verdiği sonuç aksine bu suş amikasin ve netilmisine dirençli kabul edilmelidir(1). Birçok bölgede *S.aureus* suşlarında gentamisin direnci ile metisilin direnci arasındaki korelasyon % 99'un üzerindedir ve metisilin direncini uygun yöntemlerle bile bu oranda saptamak zor olduğundan, bu bölgelerde gentamisine dirençli suşlar metisiline de dirençli bildirilir(1). Metisiline dirençli stafillokok suşlarından bazıları ile in-vitro deneylerde beta-laktam antibiyotiklere duyarlı işareti sayılan sonuçlar alındığı, fakat bu suşlarla oluşan infeksiyonlarda beta-laktam antibiyotiklerle tedavi sağlanmadığı, bu nedenle bu suşların bütün beta-laktam antibiyotiklere dirençli olarak bildirilmesi gerektiği herkesce bilinmektedir. Stafillokok infeksiyonlarında metisilin direncinin önemi ve heterojen dirençli suşların saptanmasındaki zorluk nedeniyle fenotipik direnç yerine *mecA* geninin arandığı yöntemler geliştirilmiştir. Bu Kongrede de kanda *mecA* geninin PCR yöntemi ile amplifiye edilerek saptanması, bu şekilde izolasyonundan daha kısa sürede kanda metisiline dirençli *S.aureus* bulunduğunun belirlenmesi konulu bir poster bulunmaktadır(2).

Duyarlılık deneylerinin sonuçlarını yorumlamak için bakterinin doğru olarak identifiye edilmiş olması gerekir. Bakteri cinsine ve türüne göre duyarlılık deneylerinde denenmesi gereken antibiyotik panelleri farklı olduğu gibi, in-vitro saptanan direncin klinik önemi de farklıdır. Örneğin *Enterobacteriaceae* suşlarında makrolid antibiyotiklere direncin klinik önemi Gram pozitif koklardaki dirençten çok daha az önemlidir. Aynı direnç mekanizması farklı bakterilerde değişik sonuçlar doğurur. Örneğin *E.coli*'de 6-aminoglikozid asetiltransferaz enzimi az sayıda aminoglikozide direnç sağlarken, *Pseudomonas* türlerinde çok daha geniş spektrumlu bir dirence yol açar. Bir pnömokok suşunda ampisilinin 0.1 µg/ml ve daha büyük MIC değeri direnç işareti iken, bunun 40 katı (4 µg/ml) konsantrasyon bile *E.coli*'de duyarlılık işaretidir(1).

Duyarlılık deneylerinde bir suşun beta-laktamaz oluşturup oluşturmadığını saptamak artık rutin bir işlem olmuştur(3). Beta-laktamaz oluşturan stafillokok, *Haemophilus*, gonokok suşları,

MIC değeri veya zon çapı ne bulunursa bulunsun, dirençli suşlar olarak kabul edilmelidir. Ancak birçok durumda beta-laktamaz oluşturanın saptanması yeterli olmamakta, örneğin *Enterobacteriaceae* ailesinden bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturanın veya indüklenbilir beta-laktamaz oluşturan dereprese mutantların belirlenmesi tedavide uygun antibiyotik seçimini etkileyecek önemli hususlar olarak kabul edilmektedir(6,8,9). Bu Kongrede de bu türlü suşlarla ilgili çok sayıda poster bulunmaktadır. Enterokoklarda beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnci belirlemek kadar yüksek düzeyde direnci de belirlemek gerekmektedir. Pnömonoklarda yüksek düzeyde penisilin direnci yanında nisbi dirençli suşların belirlenmesi de, özellikle menenjit gibi infeksiyonlarda, gözardı edilmemesi gereken pratik bir öneme sahiptir.

Duyarlılık deneyleri bazan bakteri idantifikasyonunda yardımcı olduğu gibi bazan yalnız bir idantifikasyonun da göstergesi olabilir. Tedavide kullanılmasalar da optokini *S.pneumoniae*, basitrasini *S.pyogenes* idantifikasyonunda yardımcı deneyler olarak kullanıyoruz. Grup A, C veya G olarak saptanan bir streptokok suşu penisiline, bir *S.aureus* suşu vankomisine dirençli bulunduğu; bir enterokok suşu teikoplanine dirençli, vankomisine duyarlı bulunduğu; bir *Citrobacter diversus* suşu aminopenisilinler veya karboksipenisilinlere, *P.vulgaris* veya *Serratia* suşları sefamandol veya sefuroksime, *Citrobacter* veya *Enterobacter* suşları sefoksitine, *Proteus*, *Providencia* veya *Serratia* suşları kolistine duyarlı bulunduğu ya bakteri idantifikasyonunun ya da duyarlılık deneyinin yanlış yapıldığını düşünmek gerekir(1). Bunlar henüz inandırıcı bir şekilde gösterilememiş örneklerdir ve böyle bir duruma ilk rastlayanın bunu çok detaylı belgelemesi gerekecektir.

Duyarlılık deneylerinin sonuçlarının tedavide alınacak sonuçla ilgisi elbette yukarıda özetlenen hususlarla sınırlı değildir. Antibiyotik toleransı, antibiyotik sonrası etki, sub-MIC veya supra-MIC'daki antibiyotiğin bakteri üzerine etkisi, bir direnç geninin farklı bakteri türlerinde farklı derecede fonksiyonu gibi birçok başka özellik, ayrıca hastaya ait burada sözü edilemeyecek birçok faktör tedavi sonucunda önemli etkilere sahiptir.

Kısa süreli bir oturumda duyarlılık deneylerinde dikkate alınması gereken her konuyu ele almak olanaksızdır. Bu nedenle bu oturumda sadece laboratuvarında sık izole edilen veya izolasyonu ayrı bir önem taşıyan bazı bakterilerle ilgili hususlar ele alınacaktır. Önce Doç.Dr.Gülay bize *Enterobacteriaceae* ailesinden bakterilerin, Prof.Dr.Derbentli stafilokok ve enterokokların, Doç.Dr.Sümerkan *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *Neisseria* ve *Moraxella*'ların duyarlılık deneylerinde göz önünde tutulması gerekli hususları özetleyecekler, sonra Doç.Dr.Gürler ülkemizde hâlâ birçok mikrobiyoloji laboratuvarında göz ardı edilen ve Dünyada da duyarlılık deneyleri konusu tartışmalı olan anaerop bakterilerin duyarlılık deneylerinden söz edecek ve daha sonra Prof.Dr.Kuştimur, bir ara sinmiş gibi görülen, ancak son yıllarda çok önemli bir problem olarak tekrar beliren *Mycobacterium* cinsi bakterilerde duyarlılık deneylerinin ne şekilde yapılması gerektiğini anlatacak. Tabii ki oturumun başarısı sizlerin katılımı ve katkısı ile sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

- 1- 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).
- 2- Kocagöz S, Ünal S: Metisiline dirençli stafilokokların kanda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile belirlenmesi (özet), *ANKEM Derg* 10:81 (1996).
- 3- Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8:557 (1995).
- 4- Lorian V, Burns L: Predictive value of susceptibility tests for the outcome of antibacterial therapy, *J Antimicrob Chemother* 25:175 (1990).

- 5- Miller GH, Sabatelli FJ, Mann P, Woloj M, Naples L, Hare RS, Shaw KJ: *The Utilization of Aminoglycoside Resistance Phenotypes for the Determination of Aminoglycoside Resistance Mechanisms*, Schering-Plough Research Institute, New York (1995).
- 6- Quinn JP: Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13(Suppl 1):S39 (1994).
- 7- Sanders CC: ARTs versus ASTs: where are we going, *J Antimicrob Chemother* 28:621 (1991).
- 8- Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA: Problems with detection of beta-lactam resistance among nonfastidious Gram-negative bacilli, *Infect Dis Clin North Am* 7(2):411 (1993).
- 9- Sirot D: Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases, *J Antimicrob Chemother* 36(Suppl A):19 (1995).
- 10- Stratton CW IV: In vitro testing: Correlations between bacterial susceptibility, body fluid levels and effectiveness of antibacterial therapy, "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3rd ed." kitabında s.849, Williams and Wilkins, Baltimore (1991).
- 11- Töreci K: Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon, *ANKEM Derg* 9:209 (1995).
- 12- Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy: A guide to sensitivity testing, *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl D):1 (1991).