

GRAM POZİTİF BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİNİN YORUMU

Zeynep GÜLAY

Yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedaviye girmesi kaçınılmaz olarak bunlara dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ile sonlanmaktadır. Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının en aza indirgenmesi, ancak standart bir yöntem ile antibiyogram uygulanması ve sonuçlarının doğru yorumlanması ile mümkündür.

Son 10-15 yıl içerisinde Gram pozitif bakteri türlerinin çoğu, infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan antibiyotiklere karşı direnç geliştirmişlerdir (Tablo 1). Örneğin, *Staphylococcus aureus* suşları vankomisin dışında hemen tüm antibiyotiklere direnç kazanmış, stafilokok ve streptokok türlerinin makrolid direnci dikkat çekici boyutlara ulaşmıştır (15).

Tablo 1. Gram pozitif bakterilerde güncel direnç problemleri (15).

Patojen mikroorganizma	Antibakteriyel ajan(lar)
Stafilokoklar	Penisilin, metisilin (tüm beta-laktam ajanlar), makrolidler, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), florokinolonlar, vankomisin
Streptokoklar	Makrolidler, tetrasiklin, penisilin ve türevleri, kloramfenikol, SXT
Enterokoklar	Vankomisin dahil tedavide kullanılan antibakteriyellerin tümü
Corynebacterium	Penisilin, klindamisin
Leuconostoc, Pediococcus, Lactobacillus	Vankomisin
Listeria	Penisilin (göreceli)*

*: Henüz direnç bildirilmemiştir.

Yeni antibakteriyellerin ve bunlara karşı direnç oranlarının gelişimine paralel olarak, son 10 yıl içerisinde bakterilerin direnç mekanizmaları ile ilgili bilgilerin de çok arttığı görülmektedir. Direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, standart antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlanmasına ve dolayısıyla akılcı tedavi seçimine katkıda bulunmaktadır.

Sürekli yeni antibiyotikler geliştirilmesine rağmen, genel olarak, bir antibiyotik ailesindeki üyelerden birine karşı duyarlılık veya direnç bulunması, diğerleri ile ilgili yorum yapılabilmesini sağlamaktadır (Tablo 2). Örneğin, başta streptokoklar olmak üzere Gram pozitif koklarda eritromisin direnci, klaritromisin, azitromisin gibi yeni makrolidlere karşı da direnç bulunduğunu göstermektedir (5). Benzer şekilde antibiyotiğin hedefini değiştiren bir direnç mekanizması yapı olarak farklı ancak aynı hedefe etkili tüm antibiyotiklere direnç gelişimine neden olmaktadır. Yine Gram pozitif koklardaki eritromisin direnci, rRNA'daki hedef bölgesinin metilasyonunu ve bunun sonucunda, yapı olarak makrolidler-

le ilişkisiz ancak aynı hedefe etkili linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı da direnç varlığını göstermektedir (23). Bunlardan başka, Gram pozitif koklarda gentamisin direnci bulunması, 2' fosfotransferaz / 6' asetil transferaz enzimi varlığını gösterir ki, in-vitro olarak duyarlı bulunsada bu suş tüm aminoglikozidlere dirençli olarak yorumlanmalıdır. Gram pozitif koklarda amikasin ve netilmisin ile alınan in-vitro sonuçlar klinik sonuçlar ile uyumsuz olduğu için duyarlılık testlerinde kullanılması anlamsızdır. Bu tip mikroorganizmalarda kanamisin direnci, amikasin için de değerlendirilebilir (5).

Tablo 2. Gram pozitif koklarda antibiyogram yorumlanmasına ilişkin örnekler (5).

Grup	Gözlenen fenotip	Çıkarılan mekanizma	Yorumlanan fenotip
Gram pozitif kok	Km ^R , Tb ^S , AK ^S , Gm ^S	APH(3')	Km ^R , Tb ^S , AK ^{VR} , Gm ^S
	Km ^R , Tb ^R , AK ^S , Gm ^S	ANT (4')	Km ^R , Tb ^R , AK ^{VR} , Gm ^S
	Gm ^R	APH (2')-AAC(6')	Tüm aminoglikozidlere dirençli
Streptococcus	Em ^R	rRNA metilaz	Tüm makrolidlere dirençli

Kısaltmalar: AK, Amikasin; Gm, gentamisin; Em, eritromisin; Km, kanamisin, Tm, tobramisin; R, dirençli; I, "ortada"; S, duyarlı; AAC, aminoglikozid asetil transferaz; ANT, aminoglikozid nükleotidiltransferaz; APH, aminoglikozit fosfotransferaz.

Bir mikroorganizmanın genetik direnç özellikleri değişmese de, çeşitli antibiyotiklerin çok veya az kullanımına bağlı olarak antibiyotiklerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ve dolayısıyla direnç sınırları ülkeden ülkeye değişebilmektedir. Bu nedenle her ülkenin antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili olarak kendi standartlarını geliştirmesi gereklidir. Ülkemizde de antibiyotik duyarlılık testlerinin standardizasyonuna ilişkin çalışmalar sürdürülmektedir. Ancak bu çalışmalar henüz sonlanmadığı için, antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında yaygın olarak National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerileri uygulanmaktadır. Bu nedenle, bu yazıda Gram pozitif bakterilerde NCCLS yönteminin uygulanması ve yorumlanması üzerinde durulacaktır.

Gram pozitif bakterilerin duyarlılık testleri için antibiyotik seçimi

Klinik tedavide kullanılabilecek antibakteriyel ajanların sayısının her geçen gün artması, rutin duyarlılık testleri için denenecek antibiyotikler arasında bir seçim yapılmasını gerekli kılmıştır. Bu seçimde, klinik etkinliğinin kanıtlanmış olması, teste uygulanabilir formunun bulunması, rutin test ve saklama koşullarında dayanıklılık, değerlendirme kriterlerinin ve alınan sonuçların aynı aileden diğer ajanlara uygulanabilirliğinin bilinmesi gibi antibakteriyel ajana ait özelliklerin yanısıra, hastanın yaşı, infeksiyon bölgesi, hastane formülleri gibi bilgiler etkili olmaktadır (2). NCCLS'in bu genel prensipler içerisinde bazı Gram pozitif bakteriler için önerdiği liste tablo 3'de özetlenmiştir.

S.aureus ve koagülaz negatif stafilokoklarda (KNS) antibiyotik duyarlılık testleri ve yorumu

A. *S.aureus* için disk difüzyon ve dilüsyon testleri

1880'li yıllarda bir yara akıntısından izole edildiğinden beri önemli bir insan patojeni olarak bilinen *S.aureus*, içerdiği virulans faktörleri nedeniyle, tüm organ sistemlerinde infeksiyon yapabilmektedir (1). Bu mikroorganizmanın nozokomiyal patojenler arasında da ön sıralarda bulunması ve antibakteriyel ajanlara direnç özelliğinin giderek artması, hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Günümüzde *S.aureus* suşlarındaki direnç sorununun odağına metisilin direnci oluşturmaktadır (1,6,8,15).

Tablo 3. Gram pozitif bakterilerin duyarlılık testleri için antibiyotiklerin seçiminde NCCLS önerileri¹(17).

	Staphylococcus spp.	Enterococcus spp.	Streptococcus pneumoniae	Diğer Streptococcus spp.	Listeria spp.
Direnç sorunu	- Metisilin direnci - Glikopeptidlere azalmış duyarlılık	- Vankomisine direnç - Yüksek düzey aminoglikozid direnci	Penisilin ve sefalosporinlere direnç	Penisilin ve türevlerine direnç	Penisilin duyarlılığında azalma
Antibiyotik kategorisi²					
A	Oksasilin Penisilin	Penisilin/ampisilin	Oksasilin diski Eritromisin SXT	Eritromisin Penisilin/ampisilin	Penisilin/ampisilin
B	Makrolidler (eritromisin, azitromisin veya klaritromisin) Klindamisin SXT Vankomisin	Vankomisin	Kinolonlar (ofloksasin, levofloksasin) Tetrasiklin Vankomisin	Kloramfenikol Klindamisin Vankomisin	
C	Kloramfenikol Kinolonlar (ofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin) Rifampin Tetrasiklin Gentamisin	Gentamisin (sadece yüksek düzey direnç tanımlaması için) Streptomisin (sadece yüksek düzey direnç tanımlaması için)	Kloramfenikol Rifampin	Sefotaksim/seftriakson Ofloksasin	
U	Norfloksasin Nitrofurantoin Sulfisoksazol Trimetoprim	Kinolonlar (siprofloksasin, norfloksasin, levofloksasin) Nitrofurantoin Tetrasiklin			

1- Corynebacterium ve Bacillus türleri için henüz duyarlılık test standartları belirlenmemiştir.

2- Kategoriler: Rutin olarak antibiyogramda yer alması ve bildirilmesi gereken antibakteriyel ajanlar A kategorisinde; başta hastane kökenli infeksiyonlar olmak üzere klinik açıdan önemli, antibiyogramda ön planda yer alması gereken ancak sonuçları seçilerek bildirilen ajanlar B kategorisinde; ilk planda kullanılan antibakteriyellere direnç prevalansının yüksek olması, ya da bunlara karşı aşırı duyarlılık bulunması durumunda test edilmesi gereken alternatif ajanlar veya epidemiyolojik açıdan duyarlılığın bilinmesinin önemli olduğu ajanlar ise C kategorisinde yer almaktadır. U Kategorisi ise idrar yolu infeksiyonlarında kullanılacak olan ajanları kapsamaktadır.

Metisilin, nafsilin, oksasilin gibi penisilinazlara dirençli penisilinlere duyarlılığı azalmış olan *S.aureus* suşları 3 gruba ayrılabilirler (6,8,24):

- Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA): Bu suşlar *mecA* genince kodlanan yeni ve düşük afiniteli bir penisilin bağlayan protein (PBP2a) yapan suşlardır.
- PBP'lerinde nokta mutasyonu veya aşırı üretim gibi bir değişiklik olan suşlar.
- Aşırı beta-laktamaz üretimi sonucunda metisilin duyarlılığı sınırdan geçen suşlar [Borderline methicilline susceptible (BSSA) veya borderline oxacilline resistant *S.aureus* (BORS)].

Metisilin (oksasilin) direncinin saptanması

Metisiline duyarlı, dirençli veya sınırdan duyarlı suşların ayırımı için çeşitli yöntemler önerilmektedir (13,18,20,22).

NCCLS önerilerine göre, stafilokok suşlarının penisilin ve oksasilin duyarlılıklarının saptanması ile tüm beta-laktam ajanlar için yorum yapılabilmektedir. Bu nedenle bunlar dışındaki beta-laktam ajanların duyarlılık testlerinde yer almasına gerek yoktur:

1. Eğer izolat penisiline duyarlı ise, tüm penisilin türevleri, sefemler, karbapenemlere duyarlıdır.

2. İzolat penisiline dirençli, oksasiline duyarlı ise, beta-laktamaz varlığı düşünülür. Bu tip suşlar, penisilin G, ampisilin, amoksisilin, azlosilin, karbenisilin, mezlosilin, piperasilin, tikarsiline dirençli; penisilnazlara dirençli penisilinler, beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları, sefemler ve karbapenemlere duyarlıdır.

Nitrosefin hidrolizi gibi direkt beta-laktamaz testi uygulaması ile de beta-laktamaz üretimi ve yukarıda sayılan ajanlara direnç saptanabilir.

3. İzolat oksasiline dirençli ise tüm beta-laktam ajanlara dirençlidir. Bu tip suşlar, in-vitro olarak sefemlere, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına, imipeneme duyarlı olarak gözükebilirler. Ancak bu ajanlarla klinik tedavi sonuçları başarısız olduğu için tüm beta-laktam ajanlara dirençli olarak rapor edilmelidirler.

Stafilokoklarda disk difüzyon ve dilüsyon testleri ile ilgili uygulama koşulları ve oksasilin duyarlılık sınırları Çizelge 1'de yer almaktadır.

3a. Metisilin duyarlılığı oksasilin 1 µg ve metisilin 5 µg'lık diskleri kullanılarak veya dilüsyon testleri ile değerlendirilebilir, ancak bu testlerde daha dayanıklı olduğundan genellikle oksasilin yeğlenir. Ayrıca, bu antibiyotikle heterorezistan suşları yakalama olasılığının daha güçlü olduğu belirtilmektedir. Disk difüzyonda direnç değerlendirilirken disk etrafındaki silik veya tek koloni şeklindeki üremeler de dikkate alınır.

3b. Eğer test sonucu ortada çıkarsa sadece *S.aureus* suşları için oksasilin-tuz agar tarama testi (Çizelge) uygulanır (18). Bu test KNS için önerilmemektedir (19).

3c. Metisiline dirençli suşların birçoğu diğer beta-laktamlar, aminoglikozidler, makrolidler, klindamisin, tetrasiklin gibi ajanlara da dirençlidirler. Bu nedenle, stafilokoklarda çoğul dirençlilik saptanması metisilin direncini düşündürmelidir.

3d. *mecA* geni içermeyen ancak oksasilin MİK değeri 2-8 mg/L olan suşlar BORSA olarak değerlendirilmektedir. 1999 yılında İsveç'te yapılan bir çalışmada, 5 µg'lık oksasilin diski ile BORSA ve MRSA ayırımı yapılabildiği bildirilmektedir (20).

BORSA suşlarının daha çok laboratuvar şartlarına bağlı olarak gözlenen bir fenotip olduğuna ilişkin bulgular mevcuttur ve bu fenotipin klinik tedavi açısından önemi de kesin değildir.

Glikopeptidlere duyarlılığı azalmış S.aureus (GISA) suşlarının saptanması

Glikopeptid grubu antibakteriyel ajanlar, çoğul dirençli Gram pozitif bakteriler ile gelişen ciddi infeksiyonların tedavisinde en güvenilir seçenekler olmalarına rağmen, 1997 yılında ilk kez Japonya'da, daha sonra da Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde vankomisine duyarlılığı azalmış (MİK: 8 mg/L) *S.aureus* suşları bildirilmiştir (4,9,10). GISA saptanması için:

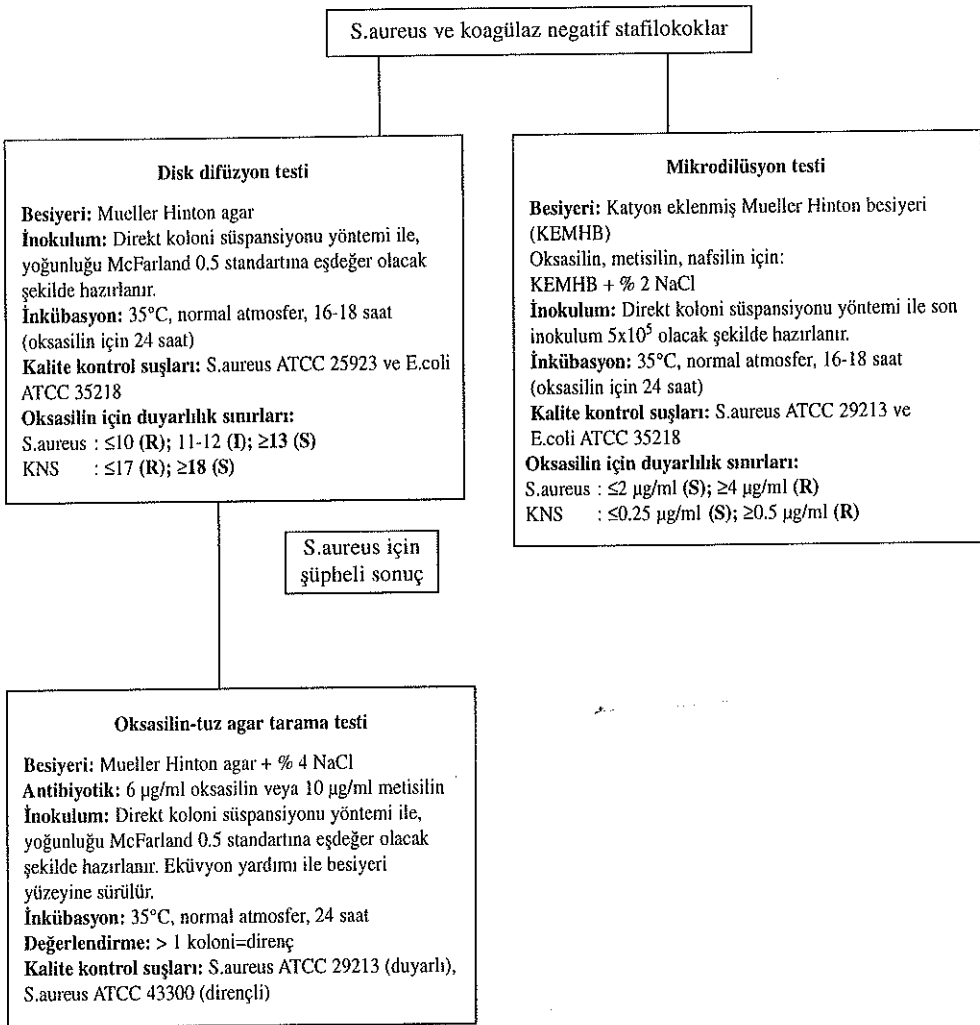
1- Vankomisinli (6 mg/L) beyin-kalp infüzyon agarda tarama testi (18),

2- Vankomisinli (5 mg/L) Mueller-Hinton agarda tarama testi yapılması, bunlarda üreme olursa MİK değerlerinin saptanması önerilmektedir (11).

B. Koagülaz negatif stafilokoklarda (KNS) duyarlılık testleri

Koagülaz negatif stafilokoklar, özellikle yabancı cisimlerle ilişkili bakteriyemi etkeni olan geniş bir grubun ortak adıdır (21). KNS türleri arasında *S.epidermidis*, *S.hominis*, *S.simulans*, *S.warneri*, *S.haemolyticus*'da *mecA* varlığı bildirilmiştir. Bu türler için önerilen duyarlılık testleri *S.aureus* ile benzer olmakla birlikte, 1999 yılında metisilin direnci ile ilgili duyarlılık sınırları değiştirilmiştir (Bkz. Çizelge 1). Ayrıca, oksasilin-tuz agar tarama testi de bu türler için önerilmemektedir (19).

Çizelge . Stafilokoklarda metisilin direncinin saptanması için disk difüzyon ve mikrodilüsyon testlerinin uygulanımı ve değerlendirilme kriterleri.



Enterokoklarda antibiyotik duyarlılık testleri ve yorumu

Enterokoklar özellikle hastane kökenli kan, yara ve idrar yolu infeksiyonlarının önde gelen etkenlerindedir. Son yıllarda enterokok türlerinde penisilinler, aminoglikozidler ve vankomisine dirençli suşların çıkması ve giderek artan oranlarda bildirilmesi, infeksiyonlarının tedavisi açısından sorun yaratmaktadır (7,16,19). Ayrıca, bu bakterilerin *S.aureus*'a laboratuvar şartlarında bile olsa, nakledilebilen genetik elemanları içermeleri, tehlikenin bir başka boyutunu oluşturmaktadır. Bu nedenle, özellikle vankomisine dirençli enterokokların (VRE) hastane ortamlarında gelişim ve yayılımının önlenmesi için sürekli olarak duyarlılık paternlerinin izlenmesi gereklidir. Ülkemizde VRE infeksiyonlarının oranı düşük olmakla birlikte, bu konudaki bildirimlerin başlamış olması yayılım açısından düşündürücüdür.

Enterokokların duyarlılık testlerinin yorumunda genel prensipler:

- 1- Sefalosporinler, aminoglikozidler (yüksek düzeyde direnç taraması hariç), klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol in-vitro olarak etkin gözükseler de klinik olarak enterokoklara etkisizdirler. Bu nedenle enterokoklar bu ajanlara duyarlı olarak rapor edilmemelidir.
- 2- Beta-laktamaz üretmeyen enterokok suşları için penisilin duyarlılığı ampisilin, amoksisilin, sulbaktam/ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin ve piperasilin/tazobaktam için genellenebilir.
- 3- Beyin omurilik sıvısı ve kan izolatları için mutlaka nitrosefin hidrolizi ile beta-laktamaz üretimi değerlendirilmelidir. Beta-laktamazı pozitif bulunan suşlar, açılmino, karboksi ve üreidopenisilinlere dirençlidirler.
- 4- İzolat, penisiline veya ampisiline duyarlı bile olsa endokardit gibi ciddi bir infeksiyon söz konusu ise tedavide mutlaka bir hücre duvarı sentezi inhibitörü ile bir aminoglikozid kombine olarak kullanılmalıdır. Aminoglikozid kombinasyonunun etkin olup olmayacağını anlaşılması için yüksek düzey gentamisin veya streptomisin direnci belirlenir. Bu amaçla, 120 µg'lık gentamisin ve 300 µg'lık streptomisin diskleri kullanılarak difüzyon testi ya da gentamisin (500 mg/L) veya streptomisin (1000 mg/L) içeren beyin-kalp infüzyon (BKİ) besiyeri kullanılarak mikrodilüsyon testi uygulanır. Bu ajanlara karşı yüksek düzeyde direnç söz konusu ise sinerjik etki ortadan kalkar.
- 5- Vankomisin duyarlılığı 24 saat inkübasyondan sonra değerlendirilir. Disk difüzyonda plak ışığa tutularak inhibisyon zonu içerisindeki ince üreme de değerlendirilmelidir. Ayrıca vankomisine direnç araştırılmasında vankomisin-agar tarama testi de uygulanabilir. Bu amaçla 6 mg/L vankomisin içeren BKİ agarı kullanılmaktadır.

Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ve vankomisin direncinin saptanması için NCCLS tarama testi önerileri tablo 4'de gösterilmiştir.

Pnömokoklarda antibiyotik duyarlılık testleri ve yorumu

Başta penisilin grubu olmak üzere beta-laktam ajanlara dirençli *Streptococcus pneumoniae* kökenleri tüm dünyada giderek artan oranlarda bildirilmektedir (3). Bu türde beta-laktam direncinin rutin testlerle ve erken olarak tanımlanabilmesi klinik tedavi açısından çok önemlidir. Çünkü pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek penisilindir ve penisiline duyarlılık azalmışsa, özellikle menenjit gibi infeksiyonlarda, tedavi başarısızlıklarının oranı çok artmaktadır (12).

Pnömokoklarda penisilin direncinin taranması amacıyla oksasilin (1 µg) ile disk difüzyon testi uygulanmaktadır. Ancak sefalosporin duyarlılığının taranması için kullanılabilen yöntem arayışları sürmektedir.

Oksasilin disk tarama testinde inhibisyon zon çapı ≥ 20 mm olan suşlar, penisiline duyarlıdır (MİK ≤ 0.06 mg/L); buna karşın inhibisyon zon çapı ≤ 19 mm olan suşlar, penisiline dirençli (MİK ≥ 2 mg/L), orta (düşük düzeyde dirençli) (MİK 0.12-1 mg/L) veya duyarlı olabilmektedir. Bu nedenle inhibisyon zonu çapı 19 mm ve daha küçük olan suşlarda penisilin ve ayrıca seftriakson veya sefotaksim MİK değerleri güvenilir bir dilüsyon yöntemi ile ölçülmelidir. Kanada'da yapılan bir çalışmada, ancak disk etrafında hiç inhibisyon zonunun bulunmadığı durumlarda suşların ya yüksek ya da düşük düzeyde dirençli olduğu, bu nedenle de böyle bir durumla karşılaşıldığında sonucun "penisiline dirençli" olarak verilebileceği öne sürülmektedir (14).

Tablo 4. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ve vankomisin direnci saptanmasında önerilen tarama testleri.

	Genamisin (Yüksek düzey direnç)	Streptomisin (Yüksek düzey direnç)	Vankomisin direnci
Besiyeri	BKI sıvı besiyeri veya agan	BKI sıvı besiyeri veya agan	BKI agar
Antibiyotik konsantrasyonu	500 µg/ml	Sıvı besiyeri: 1000 µg/ml Agar: 2000 µg/ml	6 µg/ml
İnokulum hazırlanması	Sıvı besiyerinde üretme veya direkt koloni süspansiyonu yöntemi ile 0.5 McFarland bulanıklığında bir süspansiyon hazırlanır. Agar taramada: Bu süspansiyondan 10 µl agar yüzeyine damlatılır. Sıvı besiyeri ile tarama yönteminde ise, standart sıvı dilüsyon önerilerine uyulmalıdır.	Genamisin için belirlenen öneriler geçerlidir.	Sıvı besiyerinde üretme veya direkt koloni süspansiyonu yöntemi ile 0.5 McFarland bulanıklığında bir süspansiyon hazırlanır. Bu süspansiyondan 10 µl agar yüzeyine damlatılır.
İnkübasyon şartları	35°C, normal atmosfer	35°C, normal atmosfer	35°C, normal atmosfer
İnkübasyon süresi	24 saat	24-48 saat (24 saatte duyarlı ise inkübasyon sürdürülür)	24 saat
Sonuçlar	Agar: > 1 koloni üretme=dirençli Sıvı: Tüm üremeler=dirençli Dirençli: hücre duvarına etkili ajanlarla beraber kullanıldığında sinerjistik etki göstermesi beklanmaz.	Agar: > 1 koloni üretme=dirençli Sıvı: Tüm üremeler=dirençli Dirençli: hücre duvarına etkili ajanlarla beraber kullanıldığında sinerjistik etki göstermesi beklanmaz.	> 1 koloni üretme=olası direnç Vankomisin MLK değeri belirlenir. Ayrıca, hareket, pigment üretimi vb. değerlendirilerek kazanılmış direnç (Van A, van B, van D, van E) ile intrinsik direnç (van C) ayırtedilmeye çalışılır.
Kalite kontrol suşları	Duyarlı: hücre duvarına etkili ajanlarla beraber kullanıldığında sinerjistik etki gösterir. E.faecalis ATCC 29212 (duyarlı) E.faecalis ATCC 54299 (dirençli)	Duyarlı: hücre duvarına etkili ajanlarla beraber kullanıldığında sinerjistik etki gösterir. E.faecalis ATCC 29212 (duyarlı) E.faecalis ATCC 54299 (dirençli)	E.faecalis ATCC 29212 E.faecalis ATCC 54299

Pnömonoklar için NCCLS'ce önerilen duyarlılık test yöntemleri tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. NCCLS'e göre pnömonoklar için önerilen disk difüzyon ve dilüsyon test şartları.

	Disk difüzyon	Mikrodilüsyon
Besiyeri	% 5 koyun kanlı Mueller Hinton agar	KEMHB + % 2-5 lize at kanı
İnokulum hazırlanması	Direkt koloni süspansiyonu yöntemi ile 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanır.	Direkt koloni süspansiyonu ile son hacimde 5×10^5 koloni/ml olacak şekilde hazırlanır.
İnkübasyon şartları	35°C, % 5-10 CO ₂ , 24 saat	35°C, normal atmosfer, 20-24 saat
Yorum	≥ 20 mm: duyarlı ≤ 19 mm: dirençli	≥ 2 mg/L : dirençli 0.12-1 mg/L : orta düzeyde dirençli ≤ 0.06 mg/L : duyarlı
Kalite kontrol suşları	Streptococcus pneumoniae ATCC 49619	Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 E.coli ATCC 35218

Pnömonoklarda antibiyogram sonuçlarının yorumunda genel prensipler

1. Pnömonok infeksiyonlarının tedavisinde amoksisilin, ampisilin, sefepim, seftriakson, sefotaksim, sefuroksim, imipenem/meropenem kullanılabilir. Ancak bunlar için henüz güvenilir bir disk difüzyon testi bulunmamaktadır. Oksasilin diski ile tarama yapılır. İnhibisyon zon çapı 19 mm ve daha darsa penisilin MİK değerleri saptanır. Buna karşın zon çapı 20 mm ve üstünde olanlar penisilin G ve amoksisilin, ampisilin, sefepim, seftriakson, sefotaksim, sefuroksim, imipenem/meropenem, seftibuten, sefaklor, sefdinir, seftizoksim, lorakarbefe duyarlı kabul edilir. Bu ajanlar ayrıca test edilmemelidir.
2. Kan ve BOS izolatları için penisilin, seftriakson/sefotaksim, meropenem/imipenem ve vankomisin MİK değerleri rutin olarak bildirilmelidir.
3. Penisiline düşük veya yüksek düzeyde direnç saptandığında sefotaksim ve seftriakson MİK değerleri belirlenmelidir.
4. Pnömonoklarda eritromisin duyarlılığı diğer makrolidlere duyarlılık veya direncin yorumlanması için kullanılabilir.
5. Ofloksasin duyarlılığı, levofloksasin duyarlılığını da göstermektedir.

S.pneumoniae dışı streptokok türlerinde antibiyotik duyarlılık testleri

S.pneumoniae dışındaki streptokok türleri için önerilen duyarlılık testi uygulama koşulları, agar dilüsyon yöntemi dışında *S.pneumoniae* için bildirilenlerle genel olarak aynıdır (18).

Beta-hemolitik streptokoklar içerisindeki en önemli tür olan *S.pyogenes*'in penisilin duyarlılığına bakılması genellikle gerekmez. Çünkü *S.pyogenes* suşları halen penisiline duyarlıdır. Buna karşın *S.agalactiae* suşlarında penisilinlere azalmış duyarlılık söz konusudur.

Streptokok suşları penisiline duyarlı ise, diğer beta-laktamlara da duyarlı kabul edilir. Eğer penisilin veya ampisilin duyarlılığı "ortada" çıkarsa, o zaman tedavide bir aminoglikozid ile kombinasyon uygulanması önerilir.

Steril boşluklardan üretilen viridans streptokokların penisilin duyarlılığı dilüsyon yöntemleri ile saptanmalıdır. Pnömonoklarda olduğu gibi diğer streptokoklarda da eritromisin duyarlılığı ile ilgili sonuçlar tüm makrolidler için genellenebilir.

Sonuç olarak, Gram pozitif kok türlerinin antibakteriyellere direnç mekanizmaları ile ilgili bilgilerimiz ışığında, doğru uygulanan ve doğru yorumlanan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının, klinik tedavi açısından en akılcı seçimin yapılmasına olanak sağlayacağı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Archer GL: Staphylococcus aureus; a well armed pathogen, *Clin Infect Dis* 26:1179 (1998).
- 2- Arman D: Etkene göre antibiyotik seçimi, *Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı* kitabında s. 9, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No. 33, İstanbul (1998).
- 3- Campbell GC, Silberman R: Drug-resistant Streptococcus pneumoniae, *Clin Infect Dis* 26:1188 (1998).
- 4- Centers for Disease Control and Prevention: Update: Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin-United States, 1997, *Morbidity Mortality Weekly Rep* 46:813 (1997).
- 5- Courvalin P: Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme), *Clin Microbiol Infect* 2 (Suppl 1):S26 (1996).
- 6- Hackbarth CJ, Kocagöz T, Kocagöz S, Chambers HF: Point mutations in Staphylococcus aureus PBP 2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance, *Antimicrob Agents Chemother* 39:103 (1995).
- 7- Handwerger S, Raucher B, Altarac D, et al: Nosocomial outbreak due to Enterococcus faecium highly resistant to vancomycin, penicillin and gentamicin, *Clin Infect Dis* 16:750 (1993).
- 8- Henze UU, Berger-Bachi B: Penicillin binding protein 4 overproduction increases beta-lactam resistance in Staphylococcus aureus, *Antimicrob Agents Chemother* 40:2121 (1996).
- 9- Hiramatsu K, Hanaki T, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus, strain with reduced vancomycin susceptibility, *J Antimicrob Chemother* 40:135 (1997).
- 10- Howe RA, Bowker KE; Walsh TR, Feest TG, MacGowan AP: Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus *Lancet* 351:602 (1998).
- 11- Hubert SK, Mohammed JM, Fridkin SK, Gaynes RP, Gowan JE, Tenover FC: Glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus, evaluation of a novel screening method and results of a survey of selected US hospitals, *J Clin Microbiol* 37:3590 (1999).
- 12- Kaplan SL, Mason EO: Management of infections due to antibiotic resistant Streptococcus pneumoniae, *Clin Microbiol Rev* 11:628 (1998).
- 13- Kohner P, Uhl J, Kolbert C, Persing D, Cockerhill III F: Comparison of susceptibility testing methods with mec A gene analysis for determining oxacillin (methicillin) resistance in clinical isolates of Staphylococcus aureus and coagulase-negative Staphylococcus spp, *J Clin Microbiol* 37:2952 (1999).
- 14- Jette LP, Sinave C: Use of an oxacillin disk screening test for detection of penicillin and ceftriaxone-resistant pneumococci, *J Clin Microbiol* 37:1178 (1999).
- 15- Moellering RC, Jr: Problems with antimicrobial resistance in Gram positive cocci, *Clin Infect Dis* 26:1177 (1998).
- 16- Montecalvo MA, Horowitz H, Gedris C, et al: Outbreak of vancomycin, ampicillin, and aminoglycoside resistant Enterococcus faecium bacteremia in an adult oncology unit, *Antimicrob Agents Chemother* 38:1363 (1994).
- 17- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 8th Informational Supplement M-100-S8*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA (1998).

- 18- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 9th Informational Supplement M 100-S9*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA (1999).
- 19- National Nosocomial Infections Surveillance System: *National Nosocomial Infections Surveillance System Report*, data summary from October 1986-April 1996, *Am J Infect Control* 24:380 (1996).
- 20- Petersson AC, Kamme C, Miörner H: Disk with high oxacillin content discriminates between methicillin-resistant and borderline methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in disk diffusion assays using a low salt concentration, *J Clin Microbiol* 37:2047 (1999).
- 21- Raad I, Alwahrani A, Rolston K: *Staphylococcus epidermidis*; emerging resistance and need for alternative agents, *Clin Infect Dis* 26:1182 (1998).
- 22- Resende CA, Figuerido MS: Discrimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from borderline resistant and susceptible isolates, *Med Microbiol* 46:145 (1997).
- 23- Seppala H, Skurnik M, Soini H, Roberts MC, Huovinen P: A novel erythromycin resistance methylesterase gene (*ermTR*) in *Streptococcus pyogenes*, *Antimicrob Agents Chemother* 42:257 (1998).
- 24- Song M, Wachi M, Doi M, Ishimo F, Matsubashi M: Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion, *FEMS Lett* 221:167 (1987).
- 25- Tenover FC, Jones RN, Swenson JM, et al: Methods for improved detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci, results of a multicenter study, *J Clin Microbiol* 37:4051 (1999).

Oturumdan notlar

Soru: Stafilokoklar için sadece penisilin ve oksasilin disklerinin kullanılması tüm beta-laktam ajanlar için yeterli mi?

Yanıt: Stafilokoklarda sadece penisilin ve oksasilin diskleri kullanılarak tüm beta-laktam ajanlar için nasıl yorum yapılabileceği oturum içinde tartışılmıştır. Notlarda da yer aldığı gibi bir stafilokok suşu penisiline duyarlı ise tüm beta-laktam ajanlara duyarlı kabul edilmelidir. Penisiline direnç, oksasiline duyarlılık söz konusu ise bu durumda suşun beta-laktamaz ürettiği düşünülür. Böyle bir suş, penisilin G, ampisilin, amoksisilin, azlosilin, karbenisilin, mezlosilin, piperasilin, tikarsiline dirençli; penisilinazlara dirençli penisilinler, beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları, sefamler ve karbapenemlere duyarlıdır. Oksasiline dirençli suşlarda ise PBP değişimi düşünülür. Bu tip bir suş tüm beta-laktamlara dirençli olarak rapor edilmelidir.

Soru: MRSA-BORSA ayırımı kesin olarak nasıl yapılabilir?

Yanıt: MRSA-BORSA suşlarının kesin olarak ayırımı ancak *mecA* veya PBP 2a varlığının gösterilmesi ile yapılabilir. Bunun dışında oksasilin MİK değerlerinin yüksek olması ve çoğul direnç durumu suşun MRSA olduğuna dair ipuçları taşımaktadır.

Soru: BORSA suşlarının klinik önemi nedir?

Yanıt: Aşırı beta-laktamaz üretimine bağlı olarak oksasilin MİK değerlerinin 2-8 mg/L olduğu ve özellikle hetero-MRSA suşları ile karışabilen BORSA suşlarının klinik önemi bilinmemektedir. Ancak laboratuvar şartları özellikle de yüksek tuz konsantrasyonları ile geliştirilebilen bir fenotip olduğu düşünülmektedir.

Soru: Penisilin MİK değerleri duyarlı sınırdaki olduğu halde pnömokoksik menenjitte tedaviye yanıtırsızlık olabilir mi?

Yanıt: Hastaya ve hastalık aşamasına bağlı olarak olabilir. Ancak bu türde penisilin MİK değeri ≤ 0.06 mg/L olduğu halde penisiline direnç olabilen gizli bir direnç mekanizması bulunmamaktadır.