

HASTANEDE SIK RASTLANILAN ANTİBİYOGRAFİK ÖRNEKLERİ

Arif KAYGUSUZ

Her test gibi antibiyotik duyarlılık testlerinin tekrarlanabilir ve doğru sonuç vermesi beklenir. Tekrarlanabilirlik aynı ölçümün, aynı koşullarda tekrar tekrar yapıldığında sonuçların birbirine yakın olması belirtir (18). Tekrarlanabilirlik bir ölçümün güvenilirliğini sağlar. Dolayısı ile tekrarlanabilirliği olmayan bir ölçümün güvenilirliği de kalmaz. Duyarlılık deneylerinde örneğin biyokimyasal bir test olan pH ölçümünde olduğu gibi tekrarlanabilirlik sağlanması güçtür. Çünkü kullanılan canlı bir organizma nedeniyle duyarlılık deneyleri biyolojik bir testtir ve test koşullarındaki küçük değişiklikler bile tekrarlanabilirliği önemli ölçüde etkiler (14). Bu nedenle duyarlılık deneyleri yapılırken test sonucuna etki edebilecek faktörlerin uygunluğu her zaman kalite kontrol suşları ile kontrol edilir. Kalite kontrol suşları duyarlılık sonucu bilinen ve bu nedenle bir duyarlılık testinin doğru yapıldığı yapılmadığını anlamak için, sonucu testle birlikte yinelenen suşlardır. Deney sırasında kalite kontrol suşu bilinen sonucu vermezse, duyarlılık deneylerinin standartlara uygun (doğru) şekilde yapılmadığı anlaşılır ve test tekrarlanır. Bu anlatılanlardan kalite kontrol suşlarının her zaman aynı tekrarlanabilir minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) veya inhibisyon zonu ölçümünü veren suşlar olduğu anlaşılabilirse de gerçekte durum böyle değildir ve duyarlılık deneylerinde kullanılan kalite kontrol suşları, deney sonuçlarının tekrarlanabilirliği $\geq \% 95$ oranında olan suşlardır (10,11,17) (Tablo 1).

Tablo 1. Ampisilin E.coli ATCC 25922 kalite kontrol suşu ile tekrarlanan ölçümler sonucu elde edilebilecek MİK (mg/l) dağılımları.

MİK (mg/l)	≤ 0.125	0.25-1	2-8	16-32	≥ 64
%	0.4	~ 2	≥ 95	~ 2	0.4

Tablodan da görüleceği üzere suşun MİK değerleri $> \% 95$ oranında 2-8 mg/l bulunmakta, bu sınır dışında hatta ≤ 0.125 mg/l gibi çok düşük ve ≥ 64 mg/l gibi çok büyük sonuçlar da alınabilmektedir. Seyrek bulunan bu sınır dışındaki sonuçlar pek önemsenmez ve böyle hatalı sonuçları $\% 5$ 'den fazla olmayan laboratuvarın kalite kontrolüne önem verdiği kabul edilir (10,11). Duyarlılık deneylerinin tekrarlanabilirliği konusundaki bu kaçınılmaz eksiklik nedeniyle, pek seyrek de olsa aslında duyarlı bir suşun dirençli, dirençli bir suşun da duyarlı bulunması mümkündür (9,15). Bundan başka rutinde kullanılan duyarlılık testleri ile bazı direnç şekillerinin değişik nedenlerle saptanamaması da duyarlılık deneyleri ile ilgili önemli bir sorundur (7). Tedavi açısından oldukça önemli olabileceğinden, stafilokoklarda tüm beta-laktamlara direnç sağlayan metisilin direnci ve Gram negatif çomaklarda tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama direnç sağlayan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz direnci buna örnek gösterilebilir. Ayrıca rutinde kullanılan duyarlılık deneyleri antibiyotiklerin sadece bakteriyostatik etkinliklerini araştırmakta ama bakterisid aktiviteleri konusunda bilgi vermemektedir. Oysa bakteriyostatik etkide azalma

olmadan bakterisid etkide azalmaya neden olabilen direnç mekanizmaları vardır ve bakterisid etkideki azalma tedaviyi olumsuz etkileyebilir.

Duyarlılık deneylerinin doğası nedeniyle karşılaşılan bu eksiklik ve yanlışlıklar, bakterilerdeki antibiyotiklere direnç mekanizmaları, bakterilerdeki antibiyotik direnci sıklığı ve duyarlılık deneylerinin eksiklikleri konusundaki bilgiler dikkate alınarak ortaya çıkarılabilir. Bu amaçla:

Bakterilerde bilinen doğal direnç veya duyarlılığı saptamak için identifikasyonun doğru ve olabildiğince alt taksonlara kadar yapılmasına önem verilmelidir

Antibiyotiklerin bakterilere etkisi konusunda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar bazı bakterilerin antibiyotiklere doğal olarak dirençli olduklarını, bazı bakterilerin belirli antibiyotiklere direnç geliştirmedeğini, bazı bakterilerde belirli antibiyotiklere direncin çok seyrek olduğunu göstermektedir. Tüm bu nedenlerle, doğru bir identifikasyon, bir bakterinin doğal olarak dirençli olduğu, hiç dirençli olamayacağı antibiyotiklerin bilinmesine yardımcı olur. Örneğin kromozomal beta-laktamazları nedeniyle *Klebsiella* suşları aminopenisilinlere; *Enterobacter*, *Serratia* ve *Citrobacter freundii* suşları aminopenisilinlere, aminopenisilinlerin beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlarına, 1. kuşak sefalosporinlere ve sefoksitine; *Serratia* ve *Proteus vulgaris* 1. kuşak sefalosporinlere ve sefuroksime; *Stenotrophomonas maltophilia* karbapenemlere; *Bacillus* suşları sefalotin ve sefotaksime, doğal olarak dirençlidirler (2,3,8). Bu bakteriler, doğal olarak dirençli buldukları antibiyotiklere, birçok teknik ayrıntıya dikkat edilerek yapılan ve saatler sonra sonuç verecek olan en standardize yöntemlerle bile, küçük bir oranda olsa da yanlış şekilde duyarlı bulunabilirler. Buna karşın bakterinin morfolojisi, üreme özellikleri ve basit birkaç biyokimyasal özelliğine bakılarak yapılabilecek doğru bir identifikasyon ile bu bakterilerdeki doğal direnç kolaylıkla ortaya çıkarılabilir. Bakterilerin tür düzeyinde identifiye edilmesi, bakterinin dirençli olamayacağı antibiyotikleri belirlemede, de yardımcı olur. Örneğin, A grubu beta-hemolitik streptokok olarak identifiye edilen bir bakteride penisilin direnci beklenmez, çünkü bu bakterilerde penisiline direnç sağlayan bir mekanizma henüz gösterilememiştir. A grubu beta-hemolitik streptokok suşlarında penisilin direnci bulunmamakla birlikte bu bakterilerin belirtilen antibiyotiklere dirençli bulunduğunu bildiren antibiyogramlar sizleri şaşırtmamalıdır! Laboratuvarında zaman zaman böyle sonuçlar alınır ama tekrarlanan deneyler de bu sonuçların hemen daima hatalı sonuçlar olduğunu ortaya koyar. Çünkü duyarlılık deneylerinde rastlantısal olarak ve düşük oranda oluşan bir hatalı sonucun deneyin tekrarında da oluşması olasılığı çok düşüktür (örn: hata oranı yüzde 2 ise aynı hatanın peşpeşe iki defa oluşması olasılığı onbinde 4'dür).

Bakterilerin antibiyotiklere direnci konusundaki istatistiksel bilgilerden yararlanılmalıdır

Çünkü belirli bir antibiyotiğe direnç ne kadar seyrekse, Bayes teoremi gereğince* duyarlılık deneyinin o antibiyotiğe karşı saptadığı direncin doğru olma olasılığı da o ölçüde düşük olur. Örneğin imipenem direncinin % 0.1 olduğu bir Gram negatif bakteri türünde, büyük hata oranı % 3 olan standart bir testle 1000 suşta imipenem direnci araştırılırsa, deney sonunda 30 suş imipeneme dirençli bulunabilir. Eğer dirençli bir suşla hastane infeksiyonu epidemisi söz konusu değilse, aslında bu suşların bir tanesi gerçekten dirençli, 29'u ise test hatasına bağlı olarak dirençlidir ve bu durumda duyarlılık testinin imipenem direncini doğru olarak göstermesi olasılığı ancak 1/30 (% 3 !)'dur. Bir bakterinin belirli bir an-

* Thomas Bayes (1702-1761): Bir testin ve klinik belirtinin tanıdaki değerinin duyarlılık ve özgüllük yanında, bu testin veya klinik belirtinin ait olduğu hastalığın toplumdaki sıklığına bağlı olduğunu açıklayan teoremi geliştiren İngiliz asıllı ilahiyatçı ve matematikçidir. Teoremi tıpta ve bilgisayar uygulamalarında yaygın kullanım alanı bulmuştur (17, Ana Britannica, Discovery Channel).

tibiyotiğe devamlı olarak duyarlı, doğal olarak dirençli veya çok seyrek olarak dirençli bulunması, bakterinin identifikasyonunu doğrulamada veya yanlış bir sonucu düzeltmede oldukça yararlıdır ve bu nedenle duyarlılık deneyleri sonuçlarının bakteri identifikasyonu ve direnç istatistikleri ile birlikte değerlendirilmesi aynı zamanda devamlı bir kalite kontrolü de sağlar (2,3,5,16). Eğer duyarlılık veya dirençlilik sonucu identifikasyonla uyuşmuyorsa, duyarlılık deneyinin veya identifikasyonun tekrarı gerekir (1-3,5,16).

Bakterilerdeki direnç mekanizmaları ve direnç mekanizmalarını en iyi belirleyen antibiyotikler bilinmelidir

Bakterilerdeki antibiyotiklere direnç mekanizmalarının ve bu direnç mekanizmalarını en iyi belirleyen antibiyotiklerin bilinmesi antibiyotik direncini belirlemeyi kolaylaştırır. Çünkü bakterilerde aynı gruptan birçok antibiyotiğe birden (çapraz) direnç sağlayan mekanizmalar oldukça sığır ve bu nedenle duyarlılık testlerinde elde edilen bir antibiyotik direncinden, o antibiyotiğin içinde bulunduğu gruba karşı direnç sağlayan mekanizmalar tahmin edilebilir ve tahmin edilen direnç mekanizmasından etkilenen ama bazen saptanması sorun olan antibiyotik dirençleri ortaya çıkarılabilir (2-4,16). Bu nedenle antibiyotik duyarlılık deneyleri, direnç mekanizmalarını saptayabilecek şekilde düzenlenmeli ve sonuçlar saptanan direnç mekanizmaları ile birlikte değerlendirilmelidir. Direnç mekanizmasından en çok etkilenen (genellikle grupta en az aktif olan) en az sayıda antibiyotiğin duyarlılık deneyinde kullanılması hem duyarlılık deneylerinde ekonomi sağlar, hem de duyarlılık testinde olabilecek hataları azaltır (2-4). Örneğin, Gram pozitif koklarda duyarlılık deneyinde sadece eritromisin ve linkozamidlerden birinin denenmesi, bakterilerin tüm makrolid, linkozamid ve streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotiklere direnci konusunda bilgi verecektir. Çünkü streptokoklarda saptanan eritromisin direnci, indüklenebilir rRNA metilaz enzimi varlığını gösterdiğinden, bu bakteriler tüm makrolidlere dirençli kabul edilmelidir. Gram pozitif koklarda eritromisin ve linkozamid direncinin birlikte saptanması ise rRNA metilaz enziminin devamlı olarak sentez edildiğini ve bakterinin aynı mekanizmadan etkilenen, tüm makrolidler, linkozamidler ve streptogramin B'ye dirençli (MLS_B direnci) olduğunu gösterir (4). Eritromisinden daha aktif olan 15 üyeli azitromisinin veya 16 üyeli bir makrolidin streptokoklarda tek başına denenmesi, indüklenebilir rRNA metilaza bağlı direncin saptanamamasına (çok büyük hataya) neden olabilir. Bu konuda bu kongrede Öngen ve ark. (13) tarafından sunulan ve A grubu beta-hemolitik streptokok suşlarında makrolidlere direnç fenotipinin araştırıldığı çalışma da güzel bir örnek teşkil etmektedir. Benzer şekilde stafilokoklarda sadece metisilin ve penisilin direncinin araştırılması, bakterinin tüm diğer β -laktamlara direnci konusunda yeterli bilgi verir (12). Çünkü stafilokoklarda β -laktam direnci sağlayan başlıca iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan *mecA* geni ile oluşan mekanizma (oksasilin direnci ile anlaşılır) tüm β -laktamlara karşı (çapraz) dirençten, stafilokok β -laktamazı ile oluşan mekanizma ise, penisilinaze dirençli olanlar dışında tüm penisilinlere karşı (çapraz) dirençten sorumludur. Bu nedenle oksasiline duyarlı bir suş penisiline de duyarlı bulunursa (ki günümüzde bu pek az suşta mümkündür) suşun penisilinaz da yapmadığı anlaşılır ve penisilinler dahil anti-stafilokok aktiviteye sahip birçok β -laktam tedavide güvenle kullanılabilir. Suş oksasiline duyarlı penisiline dirençli ise, suşun sadece penisilinaz yaptığı ve suşun stafilokok penisilnazlarından etkilenmeyen penisilinlere, β -laktamaz inhibitörlü penisilinlere ve anti-stafilokok aktiviteleri olan sefalosporinlere ve karbapenemlere duyarlı olduğu anlaşılır (12). Bu nedenle oksasilin ve penisilin dışındaki β -laktamların duyarlılık deneylerinde denenmesi gereksizdir. Bundan başka oksasiline dirençli suşlar duyarlılık deneylerinde, denendikleri bazı β -laktam antibiyotiklere yanlış olarak duyarlı da bulunabilir (4) ve böyle

bir sonucun bildirilmesi (çok büyük hata), antibiyotikler hakkında yeterli bilgisi olmayan klinisyenleri yanlış yönlendirebilir. Burada metisiline dirençli stafilokokların % 90'ının ülkemizde yeni kullanılan bir aminopenisilin+beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonuna in-vitro duyarlı bulunduğunu ve bunun ilgili firma dökümanları ile hekimleri yanlış yönlendirecek şekilde iletildiğini de üzülerek hatırlatmak isterim.

Bakterisid aktivitesi bozan ve tedavide önemli olabilecek direnç mekanizmaları bilinmelidir

Antibiyotik aktivitesi konusunda yapılan çalışmalar bazı direnç mekanizmalarının antibiyotiklerin bakteriyostatik etkisini bozmadığı halde, bakterisid etkisini azaltabileceğini ve bu etkinin tedavide önemli olabileceğini göstermektedir. Rutin olarak kullanılan duyarlılık testlerinin tümü antibiyotiklerin sadece bakteriyostatik aktivitelerini saptamak üzere düzenlenmiştir. Bakterisid etkiyi saptayabilen testler ise komplike olmaları nedeniyle rutin olarak kullanılmazlar. Bu durumda tedaviyi etkileyecek şekilde bakterisid etkide azalma oluşturan direnç mekanizması, bakteriyostatik etkisi de azalan, dolayısı ile rutin duyarlılık testinde dirençli bulunacak olan antibiyotik aracılığı ile ortaya konabilir (2-4). Örneğin, stafilokok ve enterokoklarda APH (2')+AAC (6') enzimi taşıyan suşlar gentamisin, tobramisin ve kanamisine dirençli bulunurken, netilmisin ve amikasinine duyarlı bulunurlar. Çünkü bu enzim netilmisin ve amikasinin bakteriyostatik aktivitelerini etkilemez. Buna karşın netilmisin ve amikasinin bakterisid etkileri enzim tarafından giderildiğinden, netilmisin ve amikasinin β -laktamlarla kombinasyonu ile bakterisid etkide artış (sinerji) olmayacağından, böyle suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde netilmisin ve amikasin de etkisiz kalır. Bu nedenle gentamisine dirençli Gram pozitif kokların, duyarlılık deneyleri sonucuna bakılmaksızın netilmisin ve amikasinine de dirençli oldukları kabul edilmelidir (2,3,6). Gentamisine duyarlı suşlarda sinerjik etki için gentamisinin kullanımı yeterli olacağından, rutin testlerde sadece gentamisin duyarlılığının araştırılması yeterlidir (6). Ayrıca duyarlılık testinde denendiğinde amikasin veya netilmisin ile yanlış şekilde duyarlı (çok büyük hatalı) sonuç alınabilir (4) veya aminoglikozid direnci sağlayan herhangi bir mekanizmaya sahip olmadığından gentamisine duyarlı bulunan suşlarda, denenen diğer aminoglikozidlerin sonuçlarının bildirilmesi gentamisin dışında daha pahalı bir aminoglikozidin tedavide kullanımına neden olabilir. Benzer şekilde linkozamid nükleotidil transferaz oluşturan stafilokoklar, linkomisine dirençli, klindamisine duyarlı bulunurlar ama suşların klindamisin ile elde edilen minimal bakterisidal konsantrasyonları (MBK) oldukça yükselir ve bu nedenle suşlar klindamisine de dirençli kabul edilmelidir (2,3).

Antibiyotik duyarlılık deneylerinin doğru yorumlanması, antibiyotiklerin biyokimyasal yapılarının, etki mekanizmalarının, direnç mekanizmalarının ve sonucunda oluşan direnç fenotiplerinin, mikroorganizmaların doğal olarak dirençli buldukları antibiyotiklerin, antibiyotiklerin farmakolojik özelliklerinin bilinmesi ile mümkündür. Çok sayıda bakteri ve çok sayıda direnç mekanizması bulunması nedeniyle, bu şekilde yorumda bulunmak, rutin laboratuvar çalışmaları sırasında her zaman kolay değildir. Her mikrobiyologun tüm bu konularda ayrıntılı ve yeterli bilgi sahibi olması beklenemeyeceğinden, antibiyotik duyarlılık deneyleri sonuçlarının yorumu konusunda, gerektiğinde bilgisayarlardan yararlanılması duyarlılık deneyleri sonuçlarının bu şekilde değerlendirilmesini kolaylaştırabilir. Ticari olarak bulunan otomatize sistemlerden bazıları, duyarlılık deneyi sonuçlarına bakarak direnç mekanizmalarını tahmin edebilecek ve sonuçları yorumlayabilecek şekilde tasarlanmışlardır. Sık karşılaşılabilecek antibiyogram örnekleri ve sonuçlarının yorumu tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Bazı antibiyogram sonuçlarında yorum.

Bakteri/antibiyotik	Sonuç	Yorum
S.aureus		
Penisilin	Dirençli	Penisiline dirençli, metisiline duyarlı stafilkokklar, aminopenisilin+beta-laktamaz inhibitörlerine, antistafilkokal sefalosporinlere ve karbapenemlere duyarlıdır.
Oksasilin	Duyarlı	
Oksasilin	Dirençli	Metisiline dirençli stafilkokklar tüm beta-laktamlara dirençlidir.
Eritromisin	Dirençli	Eritromisine dirençli stafilkokklar tüm makrolidlere dirençlidir.
Gentamisin	Dirençli	Gentamisine dirençli stafilkokklar tobramisin, netilmisin ve amikasine de dirençlidir.
K.pneumoniae		
Seftazidim	Dirençli	Üretilen suş genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturduğundan tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama dirençli kabul edilmektedir.
Sefotaksim	veya	
Seftriakson	Orta	
Aztreonam		
P.aeruginosa		
Piperasilin	Duyarlı	Üretilen suş indüklenen beta-laktamaz oluşturmaktadır. Tedavide karbapenemler dışındaki beta-laktamlara kolaylıkla direnç gelişebileceğinden, gerektiğinde kültür ve antibiyogram tekrarlanmalıdır.
Seftazidim	Duyarlı	
Enterobacteriaceae		
İndüklenebilen kromozomal beta-laktamaz üreten <i>Enterobacter</i> , <i>C.freundii</i> , <i>Serratia</i> ve <i>P.vulgaris</i> gibi türlerin identifikasyonlarının doğru bir şekilde yapılması ile bu türlerin doğal olarak dirençli buldukları beta-laktamlar bilinir. Tedavide karbapenemler dışındaki beta-laktamlara kolaylıkla direnç gelişebileceğinden, gerektiğinde kültür ve antibiyogram tekrarlanmalıdır.		

KAYNAKLAR

- 1- Babaoğlu G, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K: Duyarlılık deneyleri sonuçları identifikasyon hatalarımızı açığa vuruyor, *ANKEM Derg* 11:415 (1997).
- 2- Courvalin P: Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests, *ASM News* 58:368 (1992).
- 3- Courvalin P: Interpretive reading of in vitro antimicrobial susceptibility tests (the antibiogramme), *Clin Microbiol Infect* 2 (Suppl 1):S26 (1996).
- 4- Courvalin P: Impact of molecular biology on antibiotic susceptibility: Testing and therapy, *Am J Med* 99 (6A: Suppl 1):S21 (1995).
- 5- Hiendler J: Antibiograms as a supplemental quality control measure for antimicrobial susceptibility tests, "Isenberg HD (ed): *Essential Procedures for Clinical Microbiology*" kitabında s. 248, ASM Press, Washington (1998).

- 6- İnce D: Metisiline ve gentamisine dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında glikopeptid antibiyotiklerle netilmisin kombinasyonunun in vitro etkinliği, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1997).
- 7- Jorgensen JH: Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance, *Infect Dis Clin North Am* 11:785 (1997).
- 8- Livermoore DM: β -lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8:557 (1995).
- 9- Mulder RH, Farnham SM, Grinius B: Evaluating antimicrobial susceptibility test system, "Isenberg HD (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*" kitabında s. 5.23.1, ASM Press, Washington (1992).
- 10- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 6. baskı, Approved Standard M2-A6, NCCLS, Wayne (1997).
- 11- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, 4. baskı, Approved Standard M7-A4, NCCLS, Wayne (1997).
- 12- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Ninth Informational Supplement, M100-S9, NCCLS, Wayne (1999).
- 13- Öngen B, Erdoğan H, Öksüz L, Gürler N, Töreci K: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması, *ANKEM Derg* 14:129 (2000).
- 14- Tığaud S Jr: Improvement of susceptibility testing by interpretive reading: A tool of quality, "Bal Ç, Gür D, Söyletir G, Sümerkan B, Dündar V (eds): *4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler*" Program ve Özet Kitabı'nda s. 175, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No. 37, İstanbul (1999).
- 15- Töreci K: Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon, *ANKEM Derg* 9:209 (1995).
- 16- Töreci K: Antibiyotik duyarlılık deneylerinin önemi, *ANKEM Derg* 10:201 (1996).
- 17- Wiedemann B: Evaluation of data from susceptibility testing, *Antibiot Chemother* 3:15 (1999).
- 18- Yazıcı H: Tanı koymakta ana kavramlar, *Deri Hast Frengi Arş* 26:9 (1992).