ANKEM Derg 16 (No. 3): 171-173 (2002)

GRAM POZİTİF BAKTERİLERDE ANTİBİYOGRAM YORUMU

Arif KAYGUSUZ

Tüm laboratuvar testlerinde olduğu gibi çeşitli nedenlerle, antibiyotik duyarlılık deneylerinde de hatalı sonuçların alınması olasıdır ve seyrek de olsa dirençli bir bakteri duyarlı, duyarlı bir bakteri dirençli bulunabilir. Rutinde kullanılan duyarlılık testleri ile bazı direnç şekillerinin, direncin populasyonun az kısmı tarafından oluşturulması veya direnç sağlayan enzimin düşük düzeyde sentezlenmesi gibi değişik nedenlerle saptanamaması da duyarlılık deneyleri ile ilgili önemli bir sorundur. 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 belirli infeksiyonlarda tedaviyi olumsuz etkileyebilir (5). Antibiyogramın yorumlanmasından amaç; duyarlılık deneyleri sonuçlarının bakteri identifikasyonu, bakterilerdeki antibiyotik direnci sıklığı konusundaki istatistiksel bilgiler, bakterilerdeki direnç mekanizmaları ve bu mekanizmalardan etkilenen antibiyotikler dikkate alınarak, hatalı sonuçlardan kaçınmak ve olabildiğince doğru bir sonuca ulaşmaktır.

Bakteri identifikasyonu ile birlikte antibiyogram yorumlanması

Antibiyotiklerin bakterilere etkisi konusunda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar bazı bakteri türlerinin, antibiyotiğin bakteriye penetre olamaması, antibiyotiğin bakteride etkileyeceği hedefi olmaması veya antibiyotikleri inaktive eden enzimler nedeniyle bazı antibiyotiklere doğal olarak dirençli olduklarını, bazı bakterilerin ise belirli antibiyotiklere direnç geliştirmediğini göstermektedir (1). Tüm bu nedenlerle, doğru bir identifikasyon bir bakterinin doğal olarak dirençli olduğu ve hiç dirençli olamayacağı antibiyotikler konusunda kesin bilgi verir. Örneğin, A grubu β-hemolitik streptokok olarak identifiye edilen bir bakteride penisilin direnci beklenmez çünkü bu bakterilerde penisiline direnç sağlayan bir mekanizma henüz gösterilememiştir. A grubu β-hemolitik streptokok suşlarında penisilin direnci bulunmamakla birlikte bu bakterinin penisiline dirençli bulunduğunu bildiren sonuçlara seyrek te olsa rastlanılır. Aslında bu sonuçlar laboratuvar hatasından veya duyarlılık deneylerinin küçük de olsa hata yapma potansiyelinden kaynaklanmaktadır ve tekrarlanan deneyler identifikasyon veya testte hata yapıldığını ortaya çıkaracaktır.

Antibiyotik direnci konusundaki istatistiksel bilgilerden yararlanılarak antibiyogram yorumlanması

Belirli bir antibiyotiğe direnç ne kadar seyrekse, duyarlılık deneyinin o antibiyotiğe karşı saptadığı direncin doğru olma olasılığı da o ölçüde düşük olur. Örneğin teikoplanin direnci % 1 dolaylarında seyrettiği bir populasyonda, duyarlı bir suşu dirençli bulma (büyük hata) oranı % 3 olan standart bir testle 1000 stafilokok suşunda teikoplanin direnci araştırılırsa, deney sonunda 30 şuş teikoplanine dirençli bulunabilir. Eğer dirençli bir suşla hastane infeksiyonu epidemisi söz konusu değilse aslında bu suşların 10 tanesi gerçekten dirençli, 20' si ise test hatasına bağlı olarak dirençlidir ve bu durumda duyarlılık testinin teikoplanin direncini doğru olarak göstermesi olasılığı ancak 10/30 (% 33) gibi düşük bir olasılıktır! Rastlantısal olarak ve düşük oranda oluşan bir hatalı sonucun deneyin tekrarında da oluşması olasılığı çok düşüktür. Bu nedenle beklenilmeyen duyarlılık-dirençlilik durumlarında deneyin tekrarı hemen daima hatalı sonucun anlaşılmasına yarar. Örneğin, yukardaki durumda alınan sonucun yanlış olma olasılığının yüksek olduğu düşünülüp deney tekrarlanırsa, aynı hatanın peşpeşe iki kez oluşması olasılığı onbinde 9, peşpeşe üç kez oluşması olasılığı ise milyonda 27'dir! Hatanın testin yetersizliğinden veya yanlış uygulanmasından kaynaklandığı durumlarda testin tekrarının anlamsız olacağı açıktır. Bu durumda testte gerekli değişikliklerin yapılması veya başka bir testin kullanılması gerekir.

Eğer dirençli bir suşla epidemi söz konusu değilse, bakterilerde direnç artışlarında ani değişiklikler identifikasyonda veya duyarlılık deneylerinde hata yapıldığını gösterir. Örneğin, *Enterococcus faecalis* suşlarında düşük düzey vankomisin direncinde ani artış *Enterococcus gallinarum* suşlarının *E.faecalis* suşları olarak, stafilokoklarda linkozamid direncinde ani artışlar enterokok suşlarının stafilokok olarak identifiye edildiğini gösterebilir. Çeşitli bakterilerde kotrimoksazol direncinde ani artışlar besiyerlerinde kullanılan timidin içeriğinin fazla olduğunu gösterebilir (1).

Bakterilerdeki direnç mekanizmaları ile antibiyogram yorumlanması

Aynı kimyasal grupta bulunan, benzer etki mekanizmaları ve benzer etki spektrumu olan birçok antibiyotik (örneğin; b-laktamlar, makrolidler, aminoglikozidler, kinolonlar gibi) genellikle aynı direnç mekanizmalarından etkilenirler (çapraz direnç). Duyarlılık deneyleri sonucunda belirli bir antibiyotiğe karşı saptanan direnç, çapraz direnç nedeniyle çoğu zaman antibiyotiğin içinde bulunduğu grubun diğer üyeleri için de önem taşır. Bakterilerde aynı gruptan birçok antibiyotiğe birden (çapraz) direnç sağlayan mekanizmalar oldukça sıktır 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

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı, Cerrahpaşa, İstanbul.

saptanması sorun olan antibiyotik dirençleri ortaya çıkarılabilir. Bu nedenle antibiyotik duyarlılık deneyleri, direnç mekanizmalarını saptayabilecek şekilde düzenlenmeli ve sonuçlar saptanan direnç mekanizmaları ile birlikte değerlendirilmelidir (1,7). 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. Tabloda antibiyotik duyarlılık deneyleri sonucuna bakarak, stafilokok ve streptokoklarda önemli direnç mekanizmalarının nasıl tahmin edilebileceği ve sonuçların nasıl yorumlanacağı gösterilmiştir.

Tablo. Stafilokok ve streptokoklarda duyarlılık deneyleri sonucunda saptanan antibiyotik direncinin anlamı (1-11).

Bakteriler	Bakterilerin dirençli bulundukları antibiyotikler	Saptanan dirence neden olan mekanizma	Direnç mekanizmasından etkilenen diğer antibiyotikler
Stafilokok	Oksasilin 1 µg	*mecA*	Tüm β-laktam antibiyotikler
Stafilokok Enterokok	Gentamisin 10 µg veya 120 µg*	APH(2")+AAC(6')	Netilmisin, tobramisin ve amikasin
Gram pozitif kok	Kanamisin	ANT (4') - I veya APH (3') - II	Amikasin
Gram pozitif kok	Eritromisin	İndüklenebilir rRNA-metilaz** veya aktif atılım	14 ve 15 üyeli makrolidler (Klaritromisin, azitromisin)**
Gram pozitif kok	Eritromisin + linkomisin	Devamlı sentezlenen rRNA-metilaz	MLS_B grubu antibiyotikler. Quinupristin/dalfopristin'in bakterisid etkisi kaybolur: stafilokok infeksiyonlarında doz artırılmalıdır
Stafilokok	Linkomisin	Nükleotidil transferaz	Klindamisin
S.pneumoniae	Oksasilin 1 µg	PBP değişikliği	Penilin ve/veya 3. kuşak sefalosporin direnci***

* Enterokoklar için 120 µg' lık gentamisin diski ile yüksek konsantrasyonlara direnç araştırılmalıdır.
** İndüklenebilen rRNA-metilaza bağlı direnç, aktif atılıma bağlı dirençten eritromisinin klindamisini antagonize etmesi ile ayrılır. Antagonizma klindamisin diskinin eritromisin diskine bakan tarafında üreme olması (zon yarıçapının daralması) ile kolayca ortaya konabilir. Antagonizm yoksa direnç aktif atılıma bağlıdır. İndüklenebilen rRNA metilaza bağlı direnç streptokoklarda tüm makrolidlere, linkozamidlere ve streptogramin B' ye, stafilokoklarda ise 14 ve 15 üyeli makrolidlere direnç oluşturur. İndüklenebilen rRNA metilaza bağlı direnç oluşturan stafilokoklarda tedavide klindamisin direnci gelişebilir.
*** Penisilin ve 3. kuşak sefalosporin için MİK araştırılmalıdır.

Antibiyotik duyarlılık deneylerinde de her testte olduğu gibi hata yapılması olasıdır. Bundan başka bu testler doğaları gereği küçük de olsa hata potansiyeli taşımaktadır. Duyarlılık deneyi beklenmeyen bir sonuç vermişse, duyarlılık deneyinde veya identifikasyonda bir hata olabileceğini düşünmek yerinde olacaktır. Elde edilen sonuçlar laboratuvar hatasını düşündürüyorsa testler tekrarlanmalıdır. Laboratuvar hatasından değil de duyarlılık testinin doğasından kaynaklandığı düşünülen hatalar ise bakteri identifikasyonu ile birlikte antibiyotiklere direnç oluşturan mekanizmalar ve bu mekanizmalardan etkilenen antibiyotikler gözönüne alınarak yorumlanmalı ve düzeltilmelidir.

KAYNAKLAR

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

2- Gülay Z: Gram pozitif bakterilerde antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu, *ANKEM Derg 14*:512 (2000).

3- Gür D: Gram pozitif koklarda direnç mekanizmaları, *ANKEM Derg15*:384 (2001).

4- İnce D: Metisiline ve gentamisine dirençli Staphylococcus aureus suşlarında glikopeptid antibiyotiklerle netilmisin kombinasyonunun in vitro etkinliği, *Uzmanlık Tezi,* İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1997).

5- Kaygusuz A: Hastanede sık rastlanılan antibiyogram örnekleri, *ANKEM Derg 14*:522 (2000).

6- Leclercq R, Courvalin P: Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification, *Antimicrob Agents Chemother 35*:1267 (1991).

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

8- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Aerop Üreyen bakteriler için Dilüsyon Yöntemi ile Antimikrobik Duyarlılık Testleri*, Dördüncü Baskı; Onaylanmış Standart: M7-A4. Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara (2000).

9- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Antimikrobik Disk Difüzyon Testleri için Uygulama Standartları*, Altıncı Baskı; Onaylanmış Standart: M2-A6, Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara (2000).

10- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları*, Onbirinci Bilgi Eki: M100-S11, Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara (2001).

11- Tenover FC, Jorgensen JH, Turnidge JD. Antimicrobial agents and susceptibility testing, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology,* 7th edition" kitabında s. 1467, ASM Press, Washington (1999).