

AKILCI ANTİBİYOTİK TEDAVİSİNDE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARININ ÖNEMİ

Arif KAYGUSUZ*

Bakteriyel bir infeksiyonun tedavisinde öncelikli (ilk seçenek) olarak ve ilk seçenek kullanılamayacaksa alternatif seçenek olarak kullanılacak antibiyotikler, uzun yıllar alan in-vitro, in-vivo ve klinik çalışmalar sonucunda belirlenmektedir. Dolayısıyla bir infeksiyondan izole edilen veya infeksiyondan sorumlu olduğu tahmin edilen bir bakteriye karşı tedavide kullanılacak ve kullanılmayacak antibiyotikler kolayca bilinir. Bakteri adı bize tedavide kullanılmayacağımız antibiyotikler konusunda oldukça açık bilgiler verir. Çünkü bazı bakteriler bazı antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Örneğin anaerob bakteriler ve streptokoklar aminoglikozidlere, Gram negatif çomaklar penisilin, eritromisin, klindamisin ve vankomisine doğal olarak dirençlidirler (Tablo 1). Bazı bakterilerde ise bazı antibiyotiklere direnç hiç gelişmemiştir veya çok seyrek. Örneğin bir boğaz salgısı örneği raporunda 'A grubu -hemolitik streptokok üredi' cümlesi bir kontrendikasyon yoksa, duyarlılık sonucuna bakmadan tedavide penisilin kullanılmasını gerektirir. Benzer şekilde *Neisseria gonorrhoeae*'ye bağlı bir üretrit de seftriakson kullanmak için duyarlılık sonucuna gerek olmaz. Ama pratikte çoğunlukla bakteri bu örneklerde olduğu gibi tedavide ilk veya alternatif seçenek olarak kullanılacak antibiyotiklere duyarlılığı önceden kestirilemeyen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* veya *Pseudomonas aeruginosa*... gibi bir bakteridir. Temel kitaplar ve tedavi rehberlerinde etken ve infeksiyon bölgesine göre tedavide kullanılacak seçeneklerden, bakterinin dirençli bulduklarını tedavide kullanamayacağımızdan, etkenin kullanmayı düşündüğümüz antibiyotiklerden hangilerine dirençli bulunduğunu bilmek isteriz. İşte duyarlılık deneyinin asıl amacı, etkenin tedavide kullanabilecek bu seçeneklerden hangisine dirençli olduğunu (yani seçeneklerden hangisinin kullanılmayacağını) saptamaktır. Geçmişte sadece üretilen etkenin in-vitro duyarlılığını araştıran ve antibiyotik kullanımında aktif bir rol almayan mikrobiyoloji laboratuvarı, günümüzde artık antibiyotiklerin akılcı kullanımında aktif rol amaya başlamıştır. Bu amaçla bakterilere karşı denenecek antibiyotiklerin seçiminde (seçimli antibiyogram), sonuçlarının bildirilmesinde (destekleyici bildirim), hatalı olabilecek sonuçların ayıklanmasında ve elde edilen sonuçların yorumlanmasında bu yazıda bahsedilecek bazı kurallar oluşturulmuştur.

SEÇİMLİ ANTİBİYOGRAF

Her antibiyotik her bakteriyeye etkili olmadığı gibi, bir bakteriyeye in-vitro etkili olan bir antibiyotik tedavide etkisiz olabilir. Bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen bir bakteriyeye karşı tedavide etkinliği kanıtlanmış antibiyotikler denir. Böylece klinisyenin in-vitro etkili bulunan ama tedavide etkisiz kalan bir antibiyotiğe yönelmesi önlenir. Denenecek çok sayıda antibiyotik vardır ve hepsinin denemesi tedaviye etkisi açısından gereksizdir, ayrıca gereksiz masrafa ve zaman kaybına neden olur. Bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarı çalıştığı kurum ve ülkeyi göz önüne alarak, diğer dal uzmanları, farmakolog ve eczacı ile birlikte uygun bir liste hazırlayarak deneyeceği antibiyotikleri seçmektedir. Geçmişte tedavide kullanılan tüm antibiyotikler, Gram negatif çomaklar için eritromisin ve penisilin gibi denemesinin gereksizliği çabucak göze batan bir-iki istisnası dışında, hemen her etken için denenirdi. Aslında bu uygulamalar doğru değildi ve tedaviyi yanlış yönlendirecek sonuçlar da içeriyordu. Örneğin 1. ve 3. kuşak sefalosporinler metisiline dirençli olmayan stafilokoklara in-vitro etkili bulunurlar fakat 1. kuşak sefalosporinler tedavide daha etkili olduğundan tercih edilen ilaçlardır. O zamanlar 3. kuşak sefalosporinler de denir ve sonuçları bildirilirdi. Benzer şekilde *Pseudomonas*'lara etkinlikleri belirgin olan seftazidim ve sefoperazon gibi 3. kuşak sefalosporinler yanında, *Pseudomonas*'lara etkinlikleri zayıf olan seftriakson ve sefotaksim gibi diğer 3. kuşak sefalosporinler de denir ve sonuçları da bildirilirdi. Sefalosporinler enterokok infeksiyonlarının tedavisinde tamamen etkisiz olmasına karşın, bu bakteriler için de sefalosporinler denir ve sonuçları bildirilirdi. Başta da belirttiğimiz üzere Bu şekilde in-vitro duyarlı bulunan ama tedavide az etkili veya etkisiz olan antibiyotikler duyarlılık deneylerinde denememelidir.

Duyarlılık deneylerinde denenecek antibiyotik seçilirken etkenin izole edildiği infeksiyon bölgesi de dikkate alınmalıdır. Geçmişte idrardan izole edilen bakteriler için, karaciğerde metabolize edilen ve dolayısı ile idrardaki yoğunluğu yeterli olmayan, eritromisin ve kloramfenikol gibi antibiyotikler de denerek sonuçları bildirilirdi. Bunun tedaviyi zora sokacak bir uygulama olacağı açıktır.

* İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tablo 1. Bakterilerin doğal olarak dirençli buldukları antibiyotikler.

Enterobacteriaceae	Penisilin, fusidik asit, makrolid, linkozamid, linezolid, streptograminler, glikopeptid, mupirosin
Klebsiella, Citrobacter diversus	Ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, tikarsilin
Enterobacter, Citrobacter freundii	Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin+klavulanik asit, 1.kuşak sefalosporinler, sefoksitin
Morganella morganii	Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin+klavulanik asit, 1.kuşak sefalosporinler, sefuroksim, kolistin, nitrofurantoin
Providencia	Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin+klavulanik asit, 1.kuşak sefalosporinler, sefuroksim, gentamisin, netilmisin, tobramisin, kolistin, nitrofurantoin
Proteus mirabilis	Tetrasiklinler, kolistin, nitrofurantoin
Proteus vulgaris	Ampisilin, amoksisilin, sefuroksim, kolistin, nitrofurantoin
Serratia	Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin+klavulanik asit, 1.kuşak sefalosporinler, sefuroksim, kolistin
Yersinia enterocolitica	Ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, tikarsilin, 1.kuşak sefalosporinler
Nonfermentatif Gram negatif çomaklar	Penisilin, fusidik asit, makrolid, linkozamid, linezolid, streptograminler, glikopeptid, mupirosin
Acinetobacter baumannii	Ampisilin, amoksisilin, 1.kuşak sefalosporinler, nitrofurantoin, trimetoprim
Pseudomonas aeruginosa	Ampisilin, amoksisilin, amoksisilin+klavulanik asit, ampisilin+sulbaktam, 1.ve 2. kuşak sefalosporinler, nalidiksik asit, trimetoprim
Burkholderia cepacia	Ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, tikarsilin, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, aminoglikozidler, kolistin
Stenotrophomonas maltophilia	Tikarsilin+klavulanik asit dışında tüm β -laktamlar, aminoglikozidler
Haemophilus influenzae	Penisilin, eritromisin, linkozamid, glikopeptid
Neisseria	Linkozamid, glikopeptid, trimetoprim
Moraxella	Trimetoprim, linkozamid, glikopeptid
Tüm Gram pozitif bakteriler	Aztroenam, temosilin, kolistin, nalidiksik asit
Streptokok, enterokok	Aminoglikozidler*
Micrococcus	Nitrofurantoin
Enterococcus faecalis, Listeria, Nocardia	Linkozamid
Lactobacillus, Leuconostoc	Vankomisin
Pediococcus, Nocardia	Vankomisin
Erisipelotrix rhusiopathiae	Vankomisin
Bacillus anthracis	2. ve 3. kuşak sefalosporinler
Listeria	Tüm sefalosporinler
Anaerop bakteriler	Aminoglikozidler, aztroenam
Clostridium difficile	Sefoksitin

* Sinerjik (bakterisid) etki amacıyla kullanılabilir.

Günümüzde etkene ve infeksiyon bölgesine göre tedaviye kullanılacak ve dolayısı ile laboratuvar tarafından denenecek antibiyotikleri belirleyen standartlar belirtilen sakıncaları ortadan kaldırmaktadır. Duyarlık deneyleri bu şekilde yani antibiyotikler arasından belirli prensiplere uyularak bir seçim ile (seçimli antibiyogram) yapıldıktan sonra sıra elde edilen sonuçların bildirilmesine gelir.

KISITLI BİLDİRİM

Eskiden duyarlılık deneyinde elde edilen tüm sonuçlar bildirilirdi. Hatta eski, ucuz ve güvenilir birçok antibiyotiğe

duyarlı bulunan bir bakteri için, yeni çıkan, çok pahalı ve belki de hem daha az etkili hem de daha toksik olan yeni bir antibiyotiğin sonuçları da bildirilirdi. Bugün bu uygulamalar da giderek değişmektedir. Üretilen etken eski, ucuz ve dar spektrumlu da olsa bir antibiyotiğe duyarlı ise, o antibiyotiğe benzer grupta bulunan veya benzer kullanım alanı olan, pahalı, toksik ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin sonuçları bildirilmemektedir. Bu uygulama kısıtlı bildirim olarak adlandırılmaktadır (selective reporting). Kısıtlı bildirim ile aslında klinisyenin akılcı olmayacak antibiyotik kullanımı (etkili, ucuz, az toksik ve dar spektrum-

lu antibiyotikler varken, tedavide daha pahalı, daha toksik ve daha geniş spektrumlu antibiyotikleri kullanma) bir başka deyişle yanlış antibiyotiği seçme özgürlüğü kısıtlanmakta ve doğru antibiyotiği seçmesine yardımcı olunmaktadır. Bu nedenle kullandığı araç değil de hedeflediği amaç dikkate alınarak, yapılan bu uygulamanın aslında doğru antibiyotiği seçmeyi destekleyen bir bildirim (supportive reporting!) olduğu gözden uzak tutulmamalıdır.

Denenecek antibiyotiklerin seçiminde ve sonuçların bildirilmesinde hastanede bulunan Antibiyotik Kontrol Komitesi'nin (AKK) önerilerine de uyulmalıdır. Çünkü etki spektrumları ve kullanım alanları birbirlerine benzeyen çok sayıda antibiyotik arasından toksik etkileri ve tedavi maliyetleri daha az olan birkaç antibiyotiğin seçilip hastane eczanesinde bulundurulması yanında, hastanede belirli bir antibiyotiğe karşı oluşan direncin azaltılması ve belirli bir antibiyotiğe karşı direnç oluşmasının geciktirilmesi amacıyla, antibiyotik kullanımının belirli kurallara bağlanması AKK'nin görevleri arasındadır. Kısıtlı bildirim uygulamasının hiçbir sakıncası yoktur çünkü hastanın özel bir durumu nedeniyle sonucu bildirilen antibiyotiklerden hiçbiri kullanılamayacaksa, laboratuvarından diğer antibiyotiklere ait sonuçlar da istenebilir. Bir grup içindeki antibiyotiklerin etkinlikleri genellikle yenilerden eskilere doğru hiyerarşik bir düzen gösterir ve bu nedenle bir grup içinde daha eski bir antibiyotiğe duyarlı bulunan bir etken o antibiyotiğin daha yeni üyelerine, istisnaları olmakla birlikte, genellikle duyarlıdır ve bu nedenle sonucu bildirilmeyen birçok antibiyotiğin duyarlılık sonucu kolayca tahmin edilebilir. Bu kuralı bozan antibiyotiklerin (gentamisine duyarlı, amikasin dirençli veya seftriaksona duyarlı, imipeneme dirençli bir Gram negatif çomak için, gentamisine birlikte amikasin veya seftriaksonla birlikte imipenemin) sonuçlarının herhangi bir yanlışlığa meydan vermemek için bildirilmesini önerenler de bulunmaktadır.

DUYARLILIK DENEYLERİ İLE İLGİLİ SORUNLAR

Uzun yıllardan beri antibiyotik duyarlılık deneyleri tedavide en uygun antibiyotiğin seçimine yardımcı olmak üzere kullanılmaktadır. Bununla birlikte tüm laboratuvar testlerinde olduğu gibi çeşitli nedenlerle, antibiyotik duyarlılık deneylerinde de hatalı sonuçların alınması olasıdır. Mikrobiyologların ve klinisyenlerin antibiyotik duyarlılık deneylerinin ayrıntıları ve eksiklikleri konusunda bilgilendirilmeleri, bu gibi hataları fark etmelerine yardımcı olacaktır. Antibiyotik duyarlılık deneyleri ile ilgili ve tedavide önemli olabilecek problemler ile bunların anlaşılabilirliği ve çözümü için nelere dikkat edilmesi gerektiği yazının bundan sonraki kısmında özetlenecektir.

Bakterinin in-vitro duyarlı bulunduğu antibiyotik tedavide etkisiz kalabilir
Antibiyotiklerin in-vitro etki spektrumları ile klinik etki

spektrumları bakteriye ve konağa ait çeşitli faktörler nedeniyle farklı olabilir. Bu durumlarda in-vitro etkili bulunan bir antibiyotik tedavide etkisiz kalabilir. Bir bakterinin duyarlılık deneyi sonucunda bir antibiyotiğe dirençli bulunması, o antibiyotiğin tedavide faydalı olamayacağını gösterirse de, bir bakteri belirli bir antibiyotiğe duyarlı bulunduğu, bu sonuç antibiyotiğin tedavide etkili olacağını garanti etmez! Çünkü antibiyotiklerin tedavideki etkinlikleri, mikroorganizmanın belirli antibiyotiğe duyarlı olmasından başka; o antibiyotiğin infeksiyon bölgesine ulaşabilmesine, antibiyotiğin etki mekanizmasına, antibiyotiğin farmakolojik özelliklerine, infeksiyon bölgesinde yabancı cisim ve/veya abse varlığına, altta yatan diğer ciddi hastalıklara, nötrofil sayısı gibi immün sistemi etkileyen faktörlere de önemli ölçüde bağlıdır. Örneğin eritromisin idrar ve BOS'da yeterli konsantrasyona ulaşamadığından, bu bölgelerde oluşan infeksiyonların tedavisinde düşünülmez. Bu nedenle idrar veya BOS'dan izole edilen bir bakterinin eritromisine duyarlı bulunması bir anlam taşımaz. Bakteri konak hücre içinde yaşayıp çoğalabilen bir bakteri ise, konak hücre bakteriyi hem konak savunmasından hem de antibiyotiklerden koruyabilir. Örneğin, Salmonella typhi birçok antibiyotiğe in-vitro duyarlı bulunur. Bununla birlikte bakterinin genellikle fagositik hücreler içinde bulunması nedeniyle in vivo cevap bu duyarlılıktan tahmin edilemez. S.typhi suşlarına in-vitro etkili olan aminoglikozidler hücre içi penetrasyonlarının az olması ve fagositik hücreler içindeki düşük pH'dan etkilenmeleri nedeniyle tifo tedavisinde etkisiz kalırlar. Benzer şekilde Chlamydia'lar zorunlu hücre içi parazitlerdir ve tedavide bu bakterilere etkili olan ve hücre içinde konsantre olan tetrasiklin ve makrolidler kullanılır. Mikobakteri, Brucella, Listeria, Legionella gibi fakültatif hücre içi bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin de konak hücreleri içinde konsantre olabileme özellikleri olmalıdır. Başarılı bir tedavi için gerekli birçok diğer koşulun yeterince sağlanamaması nedeniyle, duyarlılık deneylerinde (in-vitro) etkili bulunan bazı antibiyotikler, bazı bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde (in-vivo) etkisiz kalmaktadır (Tablo 2). Tüm bunlar antibiyotik duyarlılık deneyleri sonuçlarının, tedavide etkili olabilecek tüm diğer faktörlerin göz önünde bulundurulması yorumlanması gerektiğini göstermektedir. Antibiyotiklerin tedavide etkinliğini gösteren güvenilir bilgiler klinik çalışmalardan elde edilir ve bu nedenle duyarlılık deneylerinden elde edilen sonuçlar, antibiyotiklerin klinik etkinliklerini araştıran çalışmalardan elde edilen bilgiler dikkate alınarak yorumlanmalıdır. Klinik çalışmalarla etkinliği gösterilmeyen, ilgili temel kitaplar ve güncel tedavi rehberlerinde infeksiyon etkenleri, infeksiyon bölgesi ve hastanın özellikleri dikkate alınarak önerilen tedavi şemalarında kullanılacak bir seçenek olarak yer almayan bir antibiyotiğin, in-vitro etkili olsa da tedavide etkisiz kalabileceği bilinmelidir.

Ülkemizdeki antibiyotik prospektüslerinde antibiyotiğin etkinliği belirtilirken in-vitro ve in-vivo etkinliğin bir tutu-

Tablo 2. *İn-vitro etkili bulunsa bile tedavide kullanılmaması gereken antibiyotikler.**

Enterokoklar için	Sefalosporinler, klindamisin, kotrimoksazol, tek başına aminoglikozidler
Streptokoklar için	Tek başına aminoglikozidler
Salmonella ve Shigella için	Aminoglikozidler, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler
Anaerop bakteriler için	Aminoglikozidler
Yersinia pestis için	Penisilin

* Tablo 1'deki birçok antibiyotik-bakteri çifti için de geçerlidir.

olarak yanlış anlamalara meydan verilmektedir. Oysa ABD'de prospektüslerde yer alan bilgilerde in-vitro etkinlik ile klinik etkinliğin farklı olabileceği açıkça vurgulanmakta ve/veya antibiyotiğin hangi bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılabileceği klinik endikasyonlar başlığı altında ayrıca ve açıkça ifade edilmekte, böylece yanlış ve eksik anlamaya meydan verilmemektedir. Endikasyon ve kullanım başlığı altındaki bilgilendirmelerde bile azami dikkat gösterilmekte ve bir antibiyotiğin klinik kullanımı konusundaki bilgiler az sayıda ise bu durum da ayrıca belirtilmektedir. Ülkemizdeki ilaç firmalarının prospektüslerinde ise; önce antibiyotiğe in-vitro duyarlı bulunan bakteriler sıralanmakta ve daha sonra da endikasyonlar bölümünde " in-vitro etkili olduğu bakterilere bağlı aşağıdaki infeksiyonlarda kullanılır " şeklinde bir genelleme ile açıklanarak, in-vitro etkinlik ile klinik etkinlik bir tutulmaktadır. Bu nedenle bazı prospektüslerden, aminoglikozid antibiyotiklerin ve bazı beta-laktam antibiyotiklerin Salmonella ve Shigella gastroenteritlerinde hiç seçenek olmadıkları halde, sanki tedavide kullanılabileceği anlamı çıkabilmektedir.

Standardizasyon ile ilgili problemler hatalı sonuçlara neden olabilir

Duyarlılık deneyleri stafilokok, enterokok, streptokoklar, Streptococcus pneumoniae, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp, Stenotrophomonas maltophilia, Burkholderia cepacia, Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Helicobacter pylori, Brucella spp, Burkholderia mallei, Burkholderia pseudomallei, Francisella tularensis, Bacillus anthracis, Yersinia pestis, Vibrio cholera, anaerop bakteriler ve Mycobacterium tuberculosis gibi klinik örneklerden sık olarak izole edilen veya klinik önemi fazla olan ve antibiyotiklere duyarlılıkları değişiklik gösteren bakteriler için standardize edilmiştir. Standardize edilmemiş bir yöntem ile duyarlılık deneyinin bir yararı olmaz hatta yanlış sonuçların alınmasına yol açabilir. Bu nedenle standardizasyonun sağlanmadığı diğer bakteriler için duyarlılık deneyi yapılmadan ampirik tedavi yapılmalıdır. Bundan başka antibiyotik tedavisi endikasyonu bulunmayan durumlarda antibiyogram yapılmasının gereksizliği ortadadır. Bu durumlarda, aslında antibiyotiklerin uygun kullanımı için geliştirilmiş olan bir testin, çeşitli şekilde antibiyotiklerin yersiz ve uygunsuz kullanımı

na neden olacağı unutulmamalıdır. Örneğin üst solunum yolları infeksiyonlarında, etkenin viral olma olasılığı hesaba katılmadan rutin olarak flora bakterilerine duyarlılık deneyi yapılması gereksiz antibiyotik kullanımına, Salmonella typhimurium gastroenteritinde duyarlılık deneyi yapılması ise portörlük olasılığını/süresini artıran yanlış (kontrendike) bir antibiyotik kullanımına yol açar.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Enterobacteriaceae için β -laktam+inhibitör kombinasyonlarının sadece birinin denenmesini ve elde edilen sonucun diğer β -laktam+inhibitör kombinasyonları için de geçerli kabul edilmesini önermekte ise de, bir β -laktam+inhibitör kombinasyonuna dirençli bulunan bir suş, başka bir β -laktam+inhibitör kombinasyonuna duyarlı bulunabilmektedir. Penisilin+ β -laktam inhibitörü kombinasyonları ile elde edilen duyarlılık testlerinin klinik anlamı, duyarlılık deneyleri standardize edilirken seçilen antibiyotik+inhibitör konsantrasyonları ile sınır değerlerinin uygun olmaması nedeniyle halen tartışmalıdır ve bu kombinasyonlarla duyarlılık testlerinde, yanlış dirençlilik (ampisilin+sulbaktam) veya yanlış duyarlılık (tikarsiklin+klavulanik asit) sonuçları alınabileceği bildirilmiştir. Örneğin bir çalışmada disk difüzyonu ile ampisiline dirençli suşların % 10' u amoksisilin+klavulanik asite, % 44' ü de ampisilin+sulbaktama dirençli bulunmuştur. Tikarsiklin+klavulanik asit ile disk difüzyonunda CLSI'in sonradan değiştirilen yorumlama kriterlerine bağlı olarak % 65-77 oranında yanlış duyarlılık olduğu bildirilmiştir. Halen kullanılmakta olan sefoperazon+sulbaktam diski ile yapılan duyarlılık deneyleri dilüsyon testleri ile karşılaştırıldığında, disk içeriğinde fazla miktarda bulunan sefoperazon ve sulbaktama bağlı olarak, % 7-16 kadar yanlış duyarlılık saptanmıştır. 'Çok büyük hata' olarak tanımlanan bu yanlış duyarlılıklar FDA tarafından kabul edilebilir sayılan \leq %1.5 oranının birkaç kat üzerindedir. Bu bulgular duyarlılık deneylerinde kullanılan inhibitörler ve β -laktam miktarları, oranları ve yorumlama kriterleri konusunda halen eksiklikler olduğunu doğrulamaktadır. Tüm bu verilerden bir β -laktam+inhibitör kombinasyonuna dirençli bulunan bir Enterobacteriaceae üyesi ile oluşan infeksiyonda, suşun duyarlı bulunduğu başka bir β -laktam+inhibitör kombinasyonunun tedavide kullanımına karar verilirken, özellikle yaşamı tehdit eden ciddi infeksiyonlarda dikkatli olmak gerektiği anlaşılmaktadır.

Bakterilerin antibiyotiklere direncini belirlemede kullanılan sınır (breakpoint) değerleri (mg/l olarak ifade edilen MİK değerleri veya mm olarak ifade edilen inhibisyon zonu çapları) ülkeler arasında farklılık gösterebilmekte, bir ülkede dirençli sayılan bir suş başka bir ülkede duyarlı kabul edilebilmektedir. Farklı sınır değerleri kullanan ülkelere ait sonuçlar karşılaştırılırken bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Duyarlılık deneyleri hatalı sonuçlar verebilir

Her test gibi antibiyotik duyarlılık testlerinin tekrarlanabilir ve doğru sonuç vermesi beklenir. Tekrarlanabilirlik aynı ölçümün, aynı koşullarda tekrar tekrar yapıldığında sonuçların birbirine yakın olmasını belirtir. 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. 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 yapıp yapılmadığını anlamak için, incelenen izolatlarla birlikte, duyarlılığına tekrar bakılan ve beklenen sonuç alınıp alınmadığı gözlenen 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 ile elde edilen sonuçlar tekrarlanabilirliği > % 95 oranında belirli sınırlar arasında olan suşlardır. Duyarlılık deneylerinin tekrarlanabilirliği konusundaki bu kaçınılmaz eksiklik nedeniyle, pek seyrek de olsa aslında duyarlı bir suşun dirençli, dirençli bir suşun da duyarlı bulunması mümkündür. Bir duyarlılık deneyinde bir bakterinin yanlış şekilde duyarlı saptanması 'çok büyük hata', yanlış şekilde dirençli saptanması 'büyük hata' olarak değerlendirilir. Çünkü bir bakterinin bir antibiyotiğe yanlış duyarlı bildirilmesi o antibiyotikle yapılan tedavinin etkisiz kalmasına, yanlış dirençli bildirilmesi ise tedavide daha az etkili, daha pahalı veya daha toksik olabilecek bir başka antibiyotiğin seçimine neden olacaktır. Örneğin metisiline dirençli bir *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşunun, metisiline duyarlı olarak bulunması, bu suş ile oluşan infeksiyonlarda tamamıyla etkisiz olan bir β -laktam antibiyotiğin, metisilin direnci olmayan bir *S. aureus* suşunun metisiline dirençli olarak bildirilmesi ise, β -laktamlardan daha az etkili, daha toksik ve çok daha pahalı glikopeptid bir antibiyotiğin tedavide kullanımına yol

açar. Bu nedenle duyarlılık testinin bu şekildeki istenmeyen ve bazen oldukça tehlikeli de olabilecek sonuçları vermesi pek istenmez. Bununla birlikte en iyi standardize edilmiş yöntemlerle yapılsa bile, test koşullarını etkileyen birçok faktör nedeniyle duyarlılık deneylerinde tekrarlanabilirlik ve doğruluk % 100 sağlanamaz ve az da olsa bazı hataların kabul edilmesi zorunludur. Örneğin FDA (ABD'de) bir duyarlılık testinin; çok büyük hata oranı % 1.5 (direnci saptayamama), büyük hata oranı % 3 (yanlış dirençli bulma) olduğunda testin kullanılabilirliğini onaylamaktadır. 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 'çok büyük hata' oranı % 1 olan bir testle alınan duyarlı sonucunun yanlış olabileceği düşünülüp deney tekrarlanırsa, aynı hatanın peş peşe iki kez oluşması olasılığı onbinde 1, peş peşe üç kez oluşması olasılığı ise milyonda 1' dir! Hatanın ileride belirtileceği gibi, belirli bir testin yetersizliğinden kaynaklandığı durumlarda ise, testin tekrarının hatalı sonucu anlamaya bir yararı olmaz. Bu durumda testte gerekli değişikliklerin yapılması veya başka bir testin kullanılması gerekir.

Duyarlılık deneyleri antibiyotik direncini saptamada yetersiz kalabilir

Duyarlılık deneylerinde kullanılan standardize yöntemlerden birinin diğerine genel bir üstünlüğünden söz edilemez. Her yöntemin eksikleri bulunur ve bu da başka bir test veya yöntemle giderilebilir. Bu nedenle seçilen yöntemlerin doğru yerde ve doğru şekilde kullanılması gereklidir. Hatalı sonuçlardan kaçınmak için, her yöntemin eksiklikleri bilinmeli, yöntemlerde yapılan değişiklikler takip edilmeli ve sorun olan direnç şekillerini saptamak için gerektiğinde diğer yardımcı testlerden veya yöntemlerden yararlanılmalıdır. Disk difüzyonu, en kolay, en ucuz, en iyi standardize edilmiş, tekrarlanabilirliği en iyi, dolayısı ile sanılanın aksine en güvenilir yöntemlerden biridir. İstisnai durumlar dışında (Tablo 3) kantitatif sonuç veren yöntemlerle minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) saptanmasının tedavi açısından daha yararlı olacağını savunmak güçtür. Bu nedenle test seçimi aslında laboratuvarın ekonomik kaynaklarına, iş yoğunluğuna ve işleyişine bağlı stratejik bir seçimdir.

Rutinde kullanılan duyarlılık testleri ile bazı direnç şekillerinin değişik nedenlerle saptanamaması duyarlılık deneyleri ile ilgili önemli bir sorundur. Stafilkoklarda heterojen metisilin direncinde olduğu gibi, direncin bakteri popülasyonunun az bir kısmı tarafından oluşturulduğu veya *Moraxella catarrhalis* ile *H. influenzae*' de β -laktamaza bağlı dirençte olduğu gibi, dirence neden olan enzimin bazen düşük düzeyde sentezlendiği, ya da *Klebsiella pneumoniae*' de genişlemiş spektrumlu β -laktamazlara (GSBL) bağlı dirençte olduğu gibi, enzimin değişik antibiyotikleri farklı şekilde etkilediği durumlarda, duyarlılık deneyleri antibiyotik direncini saptamada yetersiz kalabilir. Birçok ticari

ve otomatize sistemlerde genellikle, düşük inokulum kullanılması ve inkübasyon süresinin kısa olmasına bağlı olarak, stafilokok ve enterokollarda glikopeptid direncinin, enterokollarda yüksek düzeyde aminoglikozid direncinin, stafiloklarda metisilin direncinin, metisiline dirençli

Tablo 3. MİK bakılmasının gerekli olduğu durumlar.

- Disk difüzyonu ile güvenilir sonuç alınamayan bakteri-antibiyotik çiftleri için (Örneğin *S.pneumoniae* için 3.kuşak sefalosporin direnci araştırılması).
- Mueller- Hinton agarda (disk difüzyonunda) üremeyen bakteriler için.
- Disk difüzyonu ile tedavide vazgeçilemez özellikteki bir antibiyotikle alınan sonuç şüpheli (orta) ise
- Disk difüzyon testi sonucu ile tedavi sonucu uyuşmuyor ise
- Anaerop bakteriler için
- Mantarlar için

stafilokoklarda birçok antibiyotiğe direncin, Gram negatif çomaklarda GSBL ya da düşük veya yüksek düzeyde sentezlenen kromozomal β -laktamazlara bağlı 3. kuşak sefalosporin direncinin saptanması seyrek olmayarak sorun olmaktadır. Bu eksiklikler testlerde inkübasyon süresinin uzatılması, inokulum konsantrasyonunun artırılması gibi yapılan değişikliklerle zamanla giderilmektedir. Çeşitli firmalara ait otomatize sistemlerde, *P. aeruginosa* imipenem ve aztroenama anlaşılmayan nedenlerle yanlış olarak dirençli bulunabilmektedir.

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.

MİK'in farmakolojik sınır değerinden aşağıda olması tedavide etkili tek faktör değildir.

Çünkü MİK üzerindeki değerlerde antibiyotiklerin bakterisid etkileri bir dereceye kadar giderek artar ve artmış bakterisid etki ile daha iyi yanıt alınacağını gösteren veriler bulunmaktadır. Bundan başka antibiyotiklerin bakterisid etkilerinin zamana veya konsantrasyona bağlı olarak artışını gösteren farmakodinamik parametrelerin de tedavide çok önemli olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle geçmişte farmakokinetik parametreleri esas alarak oluşturulan farmakolojik breakpointin, günümüzde farmakodinamik parametreler de dikkate alınarak oluşturulması önerilmektedir. Bu parametrelerden EAA (Eğri altında kalan alan) / MİK değerinin florokinolonlar için 100-125, zirve konsantrasyonu / MİK değerinin aminoglikozidler için 8-12 ve $T > MIC$ (MİK üzerindeki konsantrasyon zamanı) değerinin ise beta-

laktamlar için $> \% 50-60$ olması ile daha başarılı bir tedavi elde edileceği gösterilmiştir (Şekil 1 ve içindeki tablo).

HATALI SONUÇLAR NASIL ANLAŞILIR?

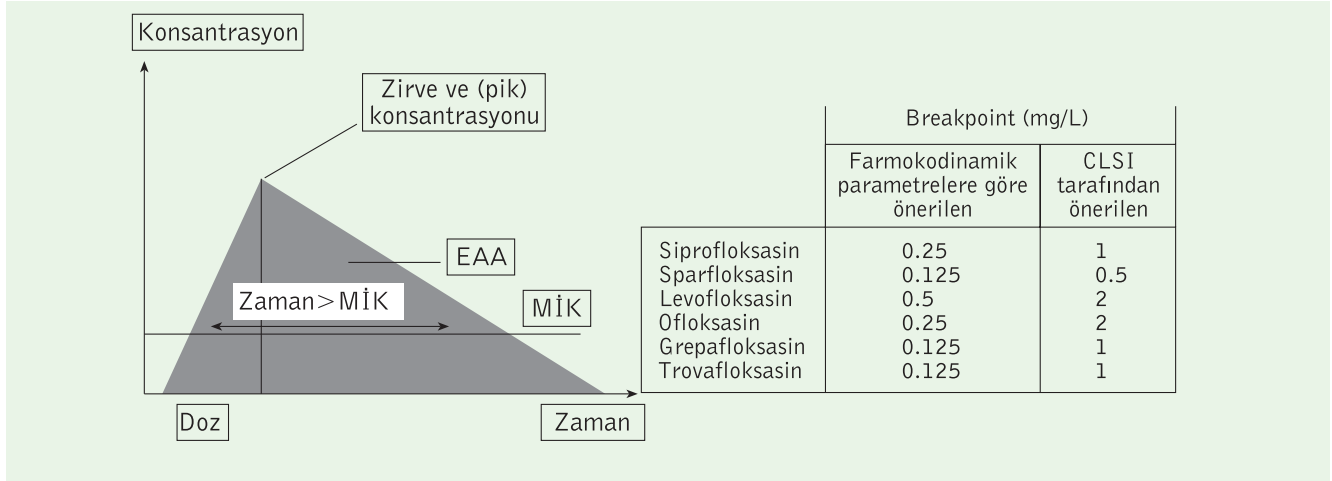
Duyarlılık deneylerinin doğası nedeniyle karşılaşılan bu eksiklik ve yanlışlıklar, bakterilerin doğru şekilde tanımlanmaları, bakterilerdeki antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve bakterilerdeki antibiyotik direnci sıklığı konusundaki bilgiler dikkate alınarak ortaya çıkarılabilir. Bu amaçla:

1. Bakterilerin doğru identifikasyonuna önem verilmelidir.
2. Bakterilerdeki direnç mekanizmaları ve direnç mekanizmalarını en iyi belirleyen antibiyotikler bilinmelidir.
3. Bakterilerin antibiyotiklere direnci konusundaki istatistiksel bilgilerden yararlanılmalıdır.

Bakterilerin doğru identifikasyonuna önem verilmelidir

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 geliştirmediklerini göstermektedir. Tüm bu nedenlerle, doğru bir identifikasyon bir bakterinin doğal olarak dirençli olduğu ve hiç dirençli olamayacağı antibiyotikler konusunda kesin bilgi verir. Örneğin kromozomal β -laktamazları nedeniyle *Klebsiella* suşları aminopenisilinlere; *Enterobacter*, *Serratia* ve *C. freundii* suşları aminopenisilinlere, β -laktamaz inhibitörlü penisilin kombinasyonlarına, 1.kuşak sefalosporinlere ve sefoksitine; *Serratia* ve *P. vulgaris* 1. kuşak sefalosporinlere ve sefuroksime; *S. maltophilia* karbapenemlere; *B. anthracis* 2. ve 3. kuşak sefalosporinlere doğal olarak dirençlidirler (Tablo 1). 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. Bu nedenle duyarlılık deneyleri sonuçlarının bakteri identifikasyonu ile birlikte değerlendirilmesi gerekir. En iyi yöntemlerle yapılan duyarlılık deneyleri ile bile hatalı sonuçlar alınması olasıdır ve bu nedenle bir bakterinin, doğal olarak dirençli bulunduğu antibiyotiklerle, ya da uzun yıllar boyunca hiç direnç geliştirmedikleri antibiyotiklerle denenmesi, küçük bir oranda da olsa yanlış sonuç alınmasına neden olabilir. Örneğin, A grubu β -hemolitik streptokok olarak tanımlanan 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 du-

Şekil 1. Tedavide etkili olabilen farmakodinamik parametreler ve bu parametreler ışığında standart dozlarda uygulanan florokinolonlar için önerilen breakpoint değerleri.



yarıllık deneylerinin küçük de olsa hata yapma potansiyelinden kaynaklanmaktadır.

Bakterilerdeki direnç mekanizmaları ve direnç mekanizmalarını en iyi belirleyen antibiyotikler bilinmelidir

Aynı kimyasal grupta bulunan, benzer etki mekanizmaları ve benzer etki spektrumu olan birçok antibiyotik (örneğin; β -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. Çapraz direnç, makrolid, linkozamid ve streptograminler gibi kimyasal yapıları aynı ama bakteri hücrelerinde etkili oldukları hedef ortak olan farklı antibiyotik grupları için bile söz konusudur (Tablo 4).

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 saptanması sorun olan antibiyotik direnci ortaya çıkarılabilir. 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. Örneğin, Gram pozitif koklarda duyarlılık deneyinde sadece eritromisin ve linkozamidlerden birinin (bazı direnç mekanizmalarından daha çok etkilendiğinden, tercihan

klindamisin yerine linkomisin) denenmesi, bakterilerin tüm makrolid, linkozamid ve streptogramin B (MLSB) grubu antibiyotiklere direnci konusunda bilgi verecektir. Gram pozitif koklarda eritromisin direnci ya indüklenemeyen veya devamlı sentez edilen rRNA-metilaz enzimine ya da antibiyotiklerin aktif atılımına bağlıdır. Gram pozitif koklarda 14 ve 15 üyeli eritromisin, klaritromisin ve azitromisin gibi makrolidler hem rRNA-metilaza hem de aktif atılıma bağlı direnç mekanizmalarından etkilenirler. Dolayısıyla bu bakterilerde eritromisin direnci aynı zamanda klaritromisin ve azitromisin direncinin de göstergesidir. rRNA-metilaz devamlı sentezlendiğinde 16 üyeli makrolid, linkozamid ve streptogramin B grubu antibiyotiklere de direnç sağlar. Bu nedenle linkomisine (veya klindamisine) direnç bu bakterilerde 16 üyeli makrolid, linkozamid ve streptogramin B grubu antibiyotiklere de direnci gösterir. rRNA-metilaz enzimini devamlı sentezleyen stafilokoklarla oluşan infeksiyonlarda, bakterisid etkisinin rRNA-metilaz tarafından giderilmiş olması nedeniyle quinupristin/dalfopristin dozunun artırılması önerilmektedir. rRNA-metilaza bağlı indüklenebilir direnç stafilokoklarda linkozamidlere direnç oluşumunu kolaylaştırır ve bu nedenle eritromisine dirençli linkozamidlere duyarlı bulunan stafilokoklarla oluşan infeksiyonların tedavisinde linkozamid kullanımından kaçınmanın yerinde olacağı da savunulmaktadır. Eritromisinden daha aktif olan 16 üyeli bir makrolidin Gram pozitif koklarda tek başına denenmesi, indüklenemeyen rRNA-metilaza bağlı 14 ve 15 üyeli makrolid direncinin saptanamamasına (çok büyük hataya) neden olabilir.

Benzer şekilde stafilokoklarda sadece metisilin ve penisilin direncinin araştırılması, bakterinin tüm diğer β -laktamlara direnci konusunda yeterli bilgi verir. Çünkü stafilokoklarda β -laktam direnci sağlayan başlıca iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan mecA geni ile oluşan mekaniz-

Tablo 4. *Stafilokok ve streptokoklarda makrolid, linkozamid ve streptogramin antibiyotiklere çapraz direnç sağlayan mekanizmalar (Di: Dirençli, Du: Duyarlı, O: Orta).*

Bakteri	Direnç Mekanizması	14 veya 15 üyeli makrolid ¹	16 üyeli makrolid ²	Linkosamid ³	SgB ⁴	SgA ⁵	Sg ⁶
Stafilokok	İndüklenebilir rRNA-metilaz ⁷	Di	Du	Du	Du	Du	Du
	Aktif atılım ⁷	Di	Du	Du			
	Devamlı sentezlenen rRNA-metilaz	Di	Di	Di	Di	Du	Du
Streptokok	İndüklenebilir rRNA-metilaz ⁷	Di	O/ Di	O/ Di	O/ Di	Du	Du
	Aktif atılım ⁷	Di	Du	Du			
	Devamlı sentezlenen rRNA-metilaz	Di	Di	Di	Di	Du	Du

- 14 üyeli makrolidler: Eritromisin, klaritromisin, roksitromisin, dritromisin, oleandomisin. 15 üyeli makrolid: Azitromisin.
- Spiramisin, josamisin.
- Linkomisin, klindamisin.
- Quinupristin.
- Dalfopristin.
- Pristinamisin, virginiamisin.
- İndüklenebilir rRNA-metilaza bağlı direnç, aktif atılıma bağlı dirençten eritromisin'in klindamisinini antagonize etmesi ile ayrılır. Antagonizma disk difüzyonunda aralarında ~20 mm uzaklık olacak şekilde eritromisin diskinin yanına konulan klindamisin diskinin eritromisin diskine bakan tarafında üreme olması (zon yarıçapının daralması) ile kolayca ortaya konabilir. Antagonizm yoksa direnç aktif atılıma bağlıdır.

ma (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 antistafilokok aktiviteye sahip birçok β-laktam tedavide güvenle kullanılabilir. Suş oksasiline duyarlı penisiline dirençli ise, suşun sadece penisilinaz yaptığı ve suşun stafilokok penisilinazlarından etkilenmeyen penisilinlere, β-laktamaz inhibitörlü penisilinlere ve antistafilokok aktivitele-ri olan sefalosporinlere ve karbapenemlere duyarlı olduğu anlaşılır. Bu nedenle oksasilin ve penisilin dışındaki β-laktamların duyarlılık deneylerinde denenmesi gereksizdir. Bundan başka oksasiline dirençli suşlar duyarlılık deneylerinde, denedikleri bazı β-laktam antibiyotiklere yanlış olarak duyarlı da bulunabilir (çok büyük hata) ve böyle bir sonucun bildirilmesi, antibiyotikler hakkında yeterli bilgisi olmayan klinikçileri yanlış yönlendirebilir. Oksasilin direnci önemi nedeniyle standart yöntemlerle araştırılmalıdır. CLSI tarafından oksasilin direncini araştırmada standart yöntem olarak belirtilen agarda tarama yöntemi ile de seyrek bile olsa metisiline dirençli suşlar saptanamayabilmektedir. Şüpheli durumlarda PCR ile mecA geni veya lateks

aglutinasyonu ile mecA geni ürünü PBP 2a araştırılması daha güvenilir sonuçlar verebilmektedir.

Tedavide kullanılmayan bir antibiyotik direnç mekanizmalarının tahmini için kullanılabilir. Örneğin, tedavide kullanılmadıkları halde sefpodoksim, seftazidim ve seftoksimin klavulanik asitli kombinasyonları, *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında, GSBL'leri saptamak için duyarlılık deneylerinde kullanılacak en iyi seçeneklerdir. Günümüzde tedavide pek kullanılsa bile Gram pozitif koklarda amikasin direncini ortaya koyacak en uygun antibiyotik kanamisinidir. Buna karşın yukarıda verilen örneklerden kolayca anlaşılacağı üzere, tedavide kullanılsalar bile stafilokoklarda oksasilin ile penisilin dışındaki β-laktamlar; streptokoklarda 16 üyeli makrolidler; stafilokok, streptokok ve enterokoklarda kanamisin ve gentamisin dışındaki aminoglikozidler direnci saptamada yetersiz kalabilmektedir.

Direnç neden olan mekanizma duyarlılık deneyleri yapılmadan da bilinebilir. Bakterilerin doğru şekilde identifikasyonu daha önce de belirtildiği gibi doğal direnç mekanizmalarını da gösterir. Bundan başka bir bakteride antibiyotik direncine neden olan bir enzimin varlığının biyokimyasal yöntemlerle gösterilmesi, enzim tarafından sağlanan antibiyotik direncini, konvansiyonel duyarlılık de-

Tablo 5. Gram pozitif bakterilerde aminoglikozid değiştiren enzimlerin direnç oluşturduğu aminoglikozidler.

Mekanizma	Gentamisin	Tobramisin	Amikasin	Netilmisin	Kanamisin
APH (2 ⁿ) + AAC (6')	+	+	±	±	+
ANT (4') - I	-	+	±	-	+
APH (3') - II	-	-	±	-	+

neylerinden daha hızlı ve duyarlı şekilde gösterir. Örneğin, H.influenzae için nitrosefin diski ile çok az teknik detay gerektiren ve birkaç dakikada sonuç veren β -laktamaz testi, bakterinin ampisilin direnci konusunda, birçok teknik ayrıntıya dikkat edilerek yapılan ve saatler sonra sonuç verecek olan en standardize duyarlılık yöntemlerinden bile daha güvenilir sonuç verir. Benzer şekilde moleküler biyolojik veya serolojik yöntemlerle dirence neden olan genin veya enzimin saptanması, rutinde kullanılan standart duyarlılık deneylerinden daha hızlı ve duyarlı şekilde, bakterinin dirençli olacağı antibiyotikleri gösterir. Stafilokoklarda mecA geninin PCR ile veya bu gen ürününün serolojik yöntemlerle saptanması ile β -laktam; enterokoklarda vanA, vanB ve vanC genlerinin saptanması ile glikopeptid direncinin belirlenmesi buna örnek olarak gösterilebilir.

Farklı biyokimyasal olaylarla oluşan direnç mekanizmaları, bakterilerde sıklıkla birlikte bulunabilmektedir. Bu durum belirli bir suşla oluşan epidemilerden kaynaklanacağı gibi, birçok antibiyotiğin birlikte kullanılmasının neden olduğu seleksiyon sonucu da oluşabilir (coselection). Bu durumlarda aynı genetik yapı üzerinde (plazmid, transpozon, integron) genellikle birbirleriyle fiziksel ilişkili halde bulunan antibiyotik direnç genleri birlikte eksprese edilirler (coresistance). Bu şekilde birbirleriyle ilişkili antibiyotik direncinde, belirli bir antibiyotik direnci yapısal veya fonksiyonel hiçbir benzerliği olmayan başka bir antibiyotiğe direncin de habercisi olabilir. Çünkü bu durumda, suşun güçlü şekilde ekprese edebildiği homojen ve stabil bir antibiyotik direnci, daha zayıf şekilde ekprese edilen heterojen ve labil bir antibiyotik direncinin göstergesi olabilir. Örneğin Fransa'da bazı hastanelerde metisiline dirençli S. aureus suşlarının % 99' u gentamisine dirençli bulunmaktadır. Metisilin direncinin saptanması, heterojen bir direnç olması nedeniyle özel besiyerleri ve inkübasyon koşulları gerektirirken, 2"-fosfotransferaz-6'-asetiltransferaz enzimi ile oluşturulan gentamisin direncinin saptanması daha kolaydır. Her iki direncin birlikte bulunması sıklığı (% 99), metisilin direncini saptayan tekniklerin duyarlılığından daha büyük olduğundan, bu hastanelerde stafilokoklarda saptanan gentamisin direnci büyük bir olasılıkla metisilin direncinin varlığının da göstergesidir. Bu şekilde epidemiyolojik bulguları olan yerlerde gentamisin direnci metisilin direncinin iyi bir göstergesi kabul edilebilir. Benzer durum başka bakteri-antibiyotik çiftleri için de olasıdır. Örneğin İ-

stanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları servisinde yatan çocuk hastalardan izole edilen ve GSBL oluşturan K.pneumoniae suşlarının > % 75' i gentamisin, tobramisin, netilmisin ve amikasin dirençli bulunmaktadır. GSBL genlerinin birçok antibiyotiğe direnç sağlayan genlerle aynı plazmid üzerinde bulunması ve genellikle birlikte aktarılması bu durumdan sorumludur ve dolayısı ile bu bölümden izole edilen ve tüm aminoglikozidlere direnç gösteren K. pneumoniae suşlarının, saptanması sorun olabilecek GSBL oluşturma yönünden de dikkatle incelenmeleri gerekir.

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. Örneğin, stafilokok ve enterokoklarda APH (2ⁿ) + AAC (6') enzimi taşıyan suşlar gentamisin, tobramisin ve kanamisine dirençli, netilmisin ve amikasin duyarlı bulunurlar (Tablo 5). 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 amikasin de dirençli oldukları kabul edilmelidir. Gentamisine duyarlı suşlarda sinerjik etki için gentamisinin kullanımı yeterli olacağından rutin testlerde sadece gentamisin duyarlılığının araştırılması yeterlidir. Ayrıca duyarlılık testinde denendiğinde amikasin veya netilmisin ile yanlış şekilde duyarlı (çok büyük hatalı) sonuç alınabilir veya aminoglikozid direnci sağlayan herhangi bir mekanizmaya sahip olmadığından gentamisine duyarlı bulunan suşlarda, denenen diğer aminoglikozidlerin sonuçlarının bildirilmesi gentamisin dişında daha paha-

Tablo 6. Çeşitli bakterilerde duyarlılık deneyleri sonucunda saptanan antibiyotik direncinin anlamı.

Bakteriler	Bakterilerin dirençli buldukları antibiyotikler	Saptanan dirence neden olan mekanizma	Direnç mekanizmasından etkilenen diğer antibiyotikler
Stafilokok	Metisilin	mecA	Tüm β -laktam antibiyotikler
Gram pozitif kok	Gentamisin	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
Enterobacteriaceae	3.kuşak sefalosporin	GSBL** veya ampC derepresyonu	Karbapenem dışı tüm β -laktamlar (Sefepim ampC enziminden etkilenmez)
E.coli, P.mirabilis	Ampisilin	Pensilinaz	Üriner sistem infeksiyonları dışındaki infeksiyonlarda 1.kuşak sefalosporinler dirençli kabul edilmelidir

* Stafilokoklarda tedavide klindamisin direnci gelişebilir.

** K.pneumoniae ve E.coli suşlarında seftazidim veya sefotaksim ile klavulanik arasında sinerji saptanması, direncin GSBL'ye bağlı olduğunu gösterir. GSBL oluşturmayan ve ampC derepresyonu nedeniyle 3. kuşak sefalosporin direnci gösteren Enterobacteriaceae üyelerine, ampC enziminden korunabilen sefepim gibi antibiyotikler etkilidir.

lı bir aminoglikozidin tedavide kullanımına neden olabilir. 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. Benzer şekilde GSBL oluşturan suşlar da duyarlı buldukları sefalosporinlerin bakterisid etkisinden korunabilmektedir.

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 çıkarılabilirse de çok sayıda bakteri ve çok sayıda direnç mekanizması bulunması nedeniyle, bu şekilde yorumda bulunmak her zaman kolay değildir. Bu nedenle antibiyotik duyarlılık deneyleri sonuçlarının yorumu konusunda, gerektiğinde mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları uzmanlarından yardım istenmesi duyarlılık deneyleri sonuçlarının değerlendirilmesini kolaylaştırabilir. Ticari olarak bulunan otomatize sistemlerden bazıları, duyarlılık deneyi sonuçlarına bakarak direnç mekanizmalarını tahmin edebilecek ve sonuçları

yorumlayabilecek bilgisayar programlarından da yararlanmaktadır. Tablo 6' da antibiyotik duyarlılık deneyleri sonucuna bakarak, bazı bakterilerde bulunan önemli direnç mekanizmalarının nasıl tahmin edilebileceği ve sonuçların nasıl yorumlanacağı gösterilmiştir.

Bakterilerin antibiyotiklere direnci konusundaki istatistiksel bilgilerden yararlanılmalıdır

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. Genetik elementlerin bakteriler arasında aktarılması ile sonradan kazanılan direnç şekillerinin bile, kazanılan genetik yapının her bakteride stabil kalamaması (yabancı DNA'nın konak restriksi-

* 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.

Tablo 7. Hiç rastlanmayan veya çok seyrek rastlanılan ve genellikle identifikasyon veya duyarlılık deneyi hatasını gösteren direnç şekilleri.

S.aureus	Vankomisin, qinupristin/dalfopristin, linezolid, daptomisin direnci Sadece linkozamid direnci Sadece tobramisin direnci
Koagülaz negatif stafilokok	Vankomisin, linezolid, daptomisin direnci
Enterokok	Daptomisin direnci Sadece tobramisin direnci Sadece gentamisin direnci
S.pneumoniae	Penisilinaz oluşturma nedeniyle penisilin direnci Vankomisin, linezolid, meropenem, 3.kuşak sefalosporin, florokinolon direnci
A,B,C,G grubu ,-hemolitik streptokok	Penisilin, vankomisin, linezolid, daptomisin direnci
Viridans streptokoklar	Vankomisin, linezolid, daptomisin direnci
Jeikeium grubu korinebakteriler	Vankomisin, linezolid direnci
Enterobacteriaceae	Karbapenem direnci
E.coli*, P.mirabilis, Salmonella*, Shigella	3. kuşak sefalosporin, aztroenam, amikasin direnci
Acinetobacter,P. aeruginosa	Kolistin direnci
H. influenzae	3. kuşak sefalosporin direnci, karbapenem direnci
Neisseria meningitidis	Penisilin, siprofloksasin direnci
N.gonorrhoeae	3. kuşak sefalosporin direnci, karbapenem direnci
M. catarrhalis	Siprofloksasin direnci
Anaerop bakteriler	Metronidazol direnci
B. fragilis	Amoksisilin+klavulanik asit, karbapenem direnci
C.difficile	Vankomisin direnci

* Ülkemizde hastane kaynaklı E.coli ve gastroenterit etkeni Salmonella suşlarında direnç yüksektir!

yon enzimleri tarafından yıkılması, yabancı DNA'nın rekombinasyon için homolog bölgeler bulamaması, yabancı DNA'nın ekprese edilememesi gibi) nedeniyle, genellikle kırsal sayıda bakteri türleri arasında yayıldığı ve bu şekilde sonradan kazanılan direnç şekillerinin de bazı türlerde sık bulunurken, bazı türlerde hiç bulunmayabildiği veya çok seyrek olarak bulunabildiği bilinmektedir.

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. Tablo 7' de çeşitli bakteri türlerinde hiç rastlanmayan veya çok seyrek rastlanılan direnç şekilleri gösterilmiştir.

Duyarlılık deneyleri sonuçlarının bakteri identifikasyonu, bakterilerdeki antibiyotik direnç mekanizmaları ve direnç istatistikleri ile birlikte değerlendirilmesi aynı zamanda devamlı bir kalite kontrolü de sağlar. Duyarlılık deneyi pek

beklenmeyen bir sonuç vermişse, duyarlılık deneyinde veya identifikasyonda bir hata olabileceğini düşünmek yerinde olacaktır.

Tedavi sırasında da direnç gelişebileceği bilinmelidir

Bakteri tedavide kullanılan antibiyotiğe başlangıçta duyarlı bulunsa bile, spontan oluşan mutasyonlarla antibiyotiğe dirençli hale geçebilir. Bazı bakterilerde tedavi sırasında bazı antibiyotiklere direnç çabuk gelişir ve bu nedenle bakteri daha önce duyarlı bulunduğu antibiyotiğe, tedavi süresinde dirençli hale gelebilir. Bu şekilde direnç M. tuberculosis enfeksiyonlarının tedavisinde önem taşır. Örneğin M. tuberculosis suşları INH ve rifampine sırasıyla yaklaşıklık olarak 10-6 ve 10-8 oranında spontan mutasyonla direnç kazanabilirler. Kaviter lezyonlarda bakteri 10⁹ gibi yüksek sayıda bulunabildiğinden, bu ilaçlardan birinin tek başına kullanılması dirençli mutantların çabucak seçilmesine neden olur. Buna karşın her iki antibiyotik birlikte kullanıldığında spontan mutasyonla her iki antibiyotiğe birden dirençli suşların oluşma olasılığı 10-14 gibi pratik olarak gerçekleşmeyecek kadar çok düşük bir olasılıktır.

Antibiyotiğin enfeksiyon bölgesindeki konsantrasyonu mutant bakterilerin oluşumu ve seçiminden sorumlu önemli bir faktördür. Konsantrasyon düştükçe dirençli mutantla-

Tablo 8. Tedavi sırasında oluşan mutasyon nedeniyle bakterilerin sık olarak direnç geliştirebileceği antibiyotikler.

Stafilokoklar	Florokinolonlar, rifampisin, fusidik asit
Eritromisine dirençli stafilokoklar	Klindamisin
S.pneumoniae	Siprofloksasin
Paeruginosa	Kolistin dışındaki tüm antibiyotikler
B. cepacia	Tüm antibiyotikler
Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Morganella	3. kuşak sefalosporinler
Enterobacteriaceae	Nalidiksik asit
Nalidiksik asite dirençli	Florokinolonlar
Enterobacteriaceae	
Serratia marcescens	Netilmisin, tobramisin, amikasin, kanamisin

rın ortaya çıkması kolaylaşır. Benzer şekilde bir bakterinin belirli bir antibiyotiğe duyarlı bulunan suşlarının MİK'ları, duyarlılık testi sonucunu yorumlamak için belirlenen sınıır değerlerine (breakpoint) veya başka bir deyişle antibiyotiğin tedavi sırasında serumda erişilebilir konsantrasyonlarına yakınsa, tedavide dirençli bakterilerin seçilmesi olasılığı yüksektir. Bu nedenle Pseudomonas' larda tüm antibiyotiklere ve stafilokoklarda 4-florokinolonlara dirençli mutantların oluşması sıklıdır (Tablo 8).

Enterobacteriaceae'de florokinolon ve GSBL direncinde olduğu gibi bazı direnç şekillerinde, direncin belirgin hale gelmesi ancak bakteride dirence neden olan gen üzerinde birkaç mutasyonun birikmesi ile mümkündür. Biriken mutasyonlar antibiyotik direncinin derecesini yükseltir ve spektrumunu genişletir. Bu direnç şekillerinde düşük düzeyde ve bir antibiyotiğe karşı oluşan bir direnç, daha yüksek düzeyde ve geniş spektrumlu bir direncin kolayca gelişebileceğinin habercisi olabilir. Örneğin gyrA mutasyonu enterik Gram negatif çomaklarda nalidiksik asit direncine neden olur ama böyle suşların florokinolon MİK'lerinde küçük bir artış olmakla birlikte klinik olarak etkilerini yitirmezler. Bununla birlikte bu suşlar bir direnç mekanizmasına sahip olmuşlardır ve siprofloksasin veya ofloksasinle monoterapi esnasında ikinci bir mutasyonla dirençli hale gelmeleri kolaylaşır. Benzer şekilde indüklenebilen MLS direnci olan stafilokoklar 16 üyeli makrolidlere, lincosamidlere kolaylıkla dirençli hale gelebilirler. Stafilokoklarda rifampisin direnci sağlayan mutasyonlar sıklıdır ve bu nedenle rifampisinle monoterapi önerilmemektedir. İndüklenebilen β -laktamaz oluşturan Enterobacter, Citrobacter, Serratia ve Pseudomonas gibi bakteri türleri, karbapenemler dışındaki birçok β -laktam antibiyotiğe tedavi sırasında % 20-80 gibi yüksek oranlarda direnç geliştirmektedirler. Bu bakterilerde başlangıçta duyarlı buldukları β -laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişimi yüksek olduğundan, bu bakteriler izole edildiğinde klinisyenin uyarılması ve direnç gelişiminin klinik laboratuvar işbirliği ile yakından izlenmesi için kültür ve antibiyotik duyarlılık deneylerinin sık aralarla tekrarlanması gerekir.

Sonuç

Duyarlılık deneylerinin etkene ve infeksiyon bölgesine göre klinikte etkili olacak şekilde seçilen antibiyotiklerle yapılması (seçimli antibiyogram), sonuçların bildirilmesinde etkili, en dar spektrumlu, en az toksik ve en ucuz antibiyotiklere öncelik tanıyarak belirli bir algoritma izlenmesi (kısıtlı ve destekleyici bildirim) antibiyogramın klinik önemini artırır ve antibiyotiklerin akılcı kullanımına yardımcı olur.

Antibiyotik duyarlılık deneylerinde de her testte olduğu gibi hata yapılması olasıdır. Bundan başka bu testler doğaları gereği küçük de olsa hata potansiyeli taşımaktadır. Hatalı sonuçlar bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmalarının, bakterilerin doğal olarak dirençli veya duyarlı buldukları antibiyotiklerin bilinmesi ve bakterilerdeki antibiyotik direnci konusundaki istatistiklerden yararlanılması ile farkedilebilir. Elde edilen sonuçlar laboratuvar hatasını düşündürüyorsa testler tekrarlanmalıdır. Laboratuvar hatasından değil de duyarlılık testinin doğasından kaynaklandığı düşünülen hatalar ise, antibiyotiklere direnç oluşturan mekanizmalar ve bu mekanizmalardan etkilenen antibiyotikler ile bakterilerin doğal olarak dirençli veya duyarlı buldukları antibiyotikler gözönüne alınarak yorumlanmalı ve düzeltilmelidir. İn-vitro etkili ama tedavide etkisiz olacak antibiyotikler duyarlılık deneylerinde denenmemeli, makul bir nedenle denendiğinde de sonuçları bildirilmemelidir.

KAYNAKLAR

1. Anđ Ö, Erturan Z. Tüberkülozun dönüşü ve direnç sorunu. In: Anđ Ö, Uzun M (eds). Tüberküloz: Tanı, Direnç, Tedavi. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını;26, 1996: 17.
2. Babaoğlu G, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K. Duyarlılık deneyleri sonuçları identifikasyon hatalarımızı açığa vuruyor. ANKEM Derg 1997; 11: 415-8.
3. Baquero F. Low-level antibacterial resistance: a gateway to clinical resistance. Drug Resist Updat 2001; 4:93-105.
4. Bedenic B, Beader N, Zagar Z. Effect of inoculum

size on the antibacterial activity of cefpirome and cefepime against *Klebsiella pneumoniae* strains producing SHV extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 626-35.

5. Berezin EB. Interactions among antibiotics, bacteria and the human immune system: The relevance of in vitro testing. *J Chemother* 1997; 9 (Suppl 1): 109-15.
6. Bingen E, Fitoussi F, Doit C, Cohen R, Tanna A, George R, Loukil C, Brahimi N, Le Thomas I, Deforche D. Resistance to macrolides in *Streptococcus pyogenes* in France in pediatric patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1453-7.
7. Bradford PA, Sanders CC. Use of a predictor panel for development of a new disk for diffusion tests with cefoperazone-sulbactam. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 394-400.
8. British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Disc Sensitivity Testing. <http://www.bsac.org.uk/>.
9. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:781-791.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement, M100-S16, Wayne: CLSI, 2006.
11. Courvalin P. Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. *ASM News* 1992; 58: 368-75.
12. Courvalin P. Impact of molecular biology on antibiotic susceptibility: Testing and therapy. *Am J Med* 1995; 99 (6A: Suppl 1): S21-5.
13. Courvalin P. Interpretive reading of in vitro antimicrobial susceptibility tests (the antibiogramme). *Clin Microbiol Infect* 1996; 2 (Suppl 1): S26-34.
14. Courvalin P, Trieu-Cuot P. Minimizing potential resistance: the molecular view. *Clin Infect Dis* 2001; 33 (Suppl 3): S138-46.
15. Crowley BD. Extended-spectrum beta-lactamases in blood culture isolates of *Klebsiella pneumoniae*: seek and you may find! *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:728-9.
16. Cunha BA. Third-generation Cephalosporins. A Rationale Basis for Selection, New Jersey: Health Communication Press, 1985.
17. Cunha BA. Problems arising in antimicrobial therapy due to false susceptibility testing. *J Chemother* 1997; 9 (Suppl 1): 25-35.
18. Cunha BA, Ortega AM. Antibiotic failure. *Med Clin North Am* 1995; 79: 663-72.
19. Eady EA, Ross JI, Tipper JL, Walters CE, Cove JH, Noble WC. Distribution of genes encoding erythromycin ribosomal methylases and an erythromycin efflux pump in epidemiologically distinct groups of staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31:211-7.
20. Ferraro MJ, Jorgensen JH. Instrument-based antibacterial susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Sixth edition, Washington: ASM Press, 1995: 1379-84.
21. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 597-608.
22. Gould IM. Determinants of response to antibiotic therapy. *J Chemother* 1998; 10: 347-53.
23. Greenwood D. Antibiotic effects in-vitro and prediction of clinical response. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 499-501.
24. Hiendler J. Selecting antimicrobial agents for testing and reporting. In: Isenberg HD (ed). *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. Washington: ASM Press, 1998: 241-7.
25. Hiendler J. Antibiograms as a supplemental quality control measure for antimicrobial susceptibility tests. In: Isenberg HD (ed). *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. Washington: ASM Press, 1998: 248-54.
26. Hooper DC. Minimizing potential resistance: the molecular view - A comment on Courvalin and Trieu-Cuot P. *Clin Infect Dis* 2001; 33 (Suppl 3): S157-60.
27. İnce D. Metisiline ve gentamisine direçli *Staphylococcus aureus* suşlarında glikopeptid antibiyotiklerle netilmisin kombinasyonunun in vitro etkinliği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Tıp Fakültesi, 1997.
28. Jehl F, Chomar M, Weber M, Gerard A. Antibiyotik duyarlılık testinden reğeteye. Biomerieux Yayınları (2004).
29. Johnston NJ, De Azavedo JC, Kellner JD, Low DE. Prevalence and characterization of the mechanisms of macrolide, lincosamide, and streptogramin resistance in isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2425-6.
30. Jorgensen JH. Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 785-802.
31. Kaygusuz A. Antibiyogram: Düzenleme, değerlendirme ve bildirme ilkeleri. *ANKEM Derg* 1998; 12:406-17.
32. Kaygusuz A. Antibiyotik duyarlılık testlerinde sorunlar: *Neisseria-Moraxella*. In: Gür D, Söyletir G, Bal Ç, Dündar V, Sümerkan B, Köksal İ, Çiftçi U (eds). *Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını: 33, 1998: 44-9.
33. Kaygusuz A. İn vitro duyarlılık testlerinin önemi ve duyarlılık deneyleri ile ilgili sorunlar. In: Yücel A, Öztürk R, Tabak F, Mert A (eds). *Günümüzde Antimikrobik Tedavi*, İstanbul: Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayını: 12, 1998: 34-41.
34. Kaygusuz A. Antimikrobiyal tedavide in-vitro duyar-

- lılık testlerinin önemi. Antimikrob Tedavi Bült 2000; 4:10-2.
35. Kaygusuz A. Antibiyotik seçimini etkileyen mikroorganizmaya ait faktörler. ANKEM Derg 2000; 14: 497-501.
 36. Kaygusuz A. Hastanede sık rastlanılan antibiyogram örnekleri. ANKEM Derg 2000; 14: 522-27.
 37. Kaygusuz A. Karbapenamazlar ve inhibitörlere dirençli beta-laktamazlar. In: Eraksoy H ve Yenen OŞ (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji 2000. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000: 277-83.
 38. Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K. Çocuk hastalardan izole edilen Enterobacteriaceae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı. ANKEM Derg 1997; 11: 432-44.
 39. Kaygusuz A, Töreci K. Antibiyotik tedavisinde önemli olabilecek parametreler. Flora 1998; 3: 143-64.
 40. Kaygusuz A. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının doğru yorumu. Flora 2000; 5:13-23.
 41. Kaygusuz A. Ülkemizdeki antibiyotik prospektüsleri doğru bilgi veriyor mu? ANKEM Derg 2003;4:438-41.
 42. Kaygusuz A. Duyarlılık testleri ve klinik korelasyon. Ege İnfeksiyon Günleri Simpozyumu Kitapçığı 2003: 100-109.
 43. Leclercq R, Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1267-72.
 44. Leclercq R, Nicolas-Chanoine MH, Nordmann P, Philippon A, Marchais P, Buu-Ho A, Chardon H, daberat H, Doucet-Popularie F, Grasmick C, Legrand P, Muller-Serieys C, Nguyen J, Ploy MC, Reverdy ME, Weber M, Courcol RJ. Multicenter evaluation of an automated system using selected bacteria that harbor challenging and clinically relevant mechanisms of resistance to antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 626-35.
 45. Livermoore D M. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8:557-84.
 46. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J Antimicrob Chemother 2001; 48 (Suppl 1): 87-102.
 47. Lorian V, Burns L. Predictive value of susceptibility tests for the outcome of bacterial therapy. J Antimicrob Chemother 1990; 25: 175-81.
 48. Martineau F, Picard FJ, Grenier L, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 231-238.
 49. Mouton Y, Dubreuil L. In vitro antibiotic testing and its relationship to clinical activity. J Chemother 1997; 9 (Suppl 1): 93-9.
 50. Mulder RH, Farnham SM, Grinius B. Evaluating antimicrobial susceptibility test system. In: Isenberg HD (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington: ASM Press, 1992: (5.23.1-15).
 51. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Aerop Üreyen bakteriler için Dilüsyon Yöntemi ile Antimikrobik Duyarlılık Testleri-Dördüncü Baskı; Onatlanmış Standart: M7-A4. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 2000.
 52. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Antimikrobik Disk Difüzyon Testleri için Uygulama Standartları- Altıncı Baskı; Onaylanmış Standart: M2-A6, Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 2000.
 53. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onbirinci Bilgi Eki: M100-S11, Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 2001.
 54. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard M2-A6, Sixth edition, Wayne: NCCLS, 1997.
 55. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard M7-A5, Fifth edition, Wayne: NCCLS, 2000.
 56. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Teststing; Eleventh Informational Supplement, M100-S11, Wayne: NCCLS, 2001.
 57. O'Shaughnessy EM, Fahle GA, Witebsky FG. Corelation of in-vitro susceptibility results for amoxicillin-clavulanat and ampicillin-sulbactam tested against Escherichia coli. J Clin Microbiol 1997; 35: 1902-3.
 58. Öngen B, Erdoğan H, Öksüz L, Gürler N, Töreci K. A grubu beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması. ANKEM Derg 2000; 14: 129.
 59. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, McCormack JG, Yu VL. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2001;39 :2206-12.
 60. Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Comparison of susceptibility testing methods and analysis of mecA-positive susceptible strains. J Clin Microbiol 2001; 39: 3946-51.

61. Sanders CC. A problem with antimicrobial susceptibility tests. *ASM News* 1991; 57: 187-90.
62. Sanders CC. ARTs versus ASTs: where are we going? *J Antimicrob Chemother* 1991; 28: 621-3.
63. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of β -lactam resistance among nonfastidious Gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin North Am* 1993; 7: 411-24.
64. Shetty N, Hill G, Ridgway GL. The Vitek analyser for routine bacterial identification and susceptibility testing: protocols, problems and pitfalls. *J Clin Pathol* 1998; 51: 316-23.
65. Shortridge VD, Doern GV, Brueggemann AB, Beyer JM, Flamm RK. Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotic resistance surveillance study conducted in the United States in 1994-1995. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1186-8.
66. Snell JJS, Brown DFJ. External quality assesment of antimicrobial susceptibility testing in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 801-10.
67. Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1817-24.
68. Tenover FC, Jorgensen JH, Turnidge JD. Antimicrobial agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition, Washington: ASM Press, 1999: 1467-623.
69. Thompson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC β -lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 333-6.
70. Thomson KS, Sanders CC, Moland ES. Use of microdilution panels with and without β -lactamase inhibitors as a phenotypic test for β -lactamase production among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1393-1400.
71. Tigaud S Jr: Improvement of susceptibility testing by interpretive reading: A tool of quality. In: Bal Ç, Gür D, Söyletir G, Sümerkan B, Dündar V (eds). 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler, Program ve Özet Kitabı, İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını: 37, 1999: 175.
72. Töreci K. Antibiyotik duyarlılık deneyleri sonuçları ile antibiyoterapi sonuçları arasında uyumsuzluk nedenleri. *ANKEM Derg* 1987; 1: 400-8.
73. Töreci K. Antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyon. *ANKEM Derg* 1995; 9: 209-16.
74. Töreci K. Antibiyotik duyarlılık deneylerinin önemi. *ANKEM Derg* 1996; 10: 201-4.
75. Töreci K. Antimikrobiyallerin etki mekanizmaları. *Antimikrob Tedavi Bült* 2000; 4: 77-82.
76. Valisena S, Falci C, Mazzariol A, Cornaglia G, Cocuzza CE, Nicoletti P, Rescaldani R, Fontana R. Molecular typing of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* strains with the M phenotype isolated in Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:260-4.
77. Verbist L. Relevance of antibiotic susceptibility testing for clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12 (Suppl 1): S2-5.
78. Waites K, Johnson C, Gray B, Edwards K, Crain M, Benjamin W Jr. Use of clindamycin disks To detect macrolide resistance mediated by *ermB* and *mefE* in *Streptococcus pneumoniae* isolates from adults and children. *J Clin Microbiol* 2000;38:1731-4.
79. Washington II J A, Knapp C C, Sanders CC. Accuracy of microdilution and autoMicrobic system in detection of β -lactam resistance in Gram negative bacterial mutants with derepressed β -lactamase. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 824-9.
80. Wiedemann B: Evaluation of data from susceptibility testing. *Antibiotics Chemotherapy* 1999; 3: 15.
81. Yazıcı H: Tanı koymakta ana kavramlar. *Deri Hast ve Frengi Arşivi* 1992; 26: 9-11.
82. Yu VL, Merigan Jr TC, Barriere SL. *Antimicrobial Therapy and Vaccines*. Williams and Wilkins, Baltimore (1999).