

DUYARLILIK DENEYLERİ SONUÇLARI İDENTİFİKASYON HATALARIMIZI AÇIĞA VURUYOR!*

Gülçin BABAĞLU, Arif KAYGUSUZ, Betigül ÖNGEN,
Kurtuluş TÖRECİ

ÖZET

Bir bakterinin belirli bir antibiyotiğe intrinsik olarak duyarlı veya dirençli bulunması, bakterinin identifikasyonunu doğrulamada veya yanlış bir sonucu düzeltmede oldukça yararlıdır. Eğer duyarlılık veya dirençlilik sonucu identifikasyonla uyuşmuyorsa, duyarlılık deneyinin ve/veya identifikasyonun tekrarı gerekir. Tek bir bakteri suşuna ait sonuç gözden kaçabilirse de, çok sayıda suşa ait sonuçlar incelenirken hatalar birikerek görünür hale geçer ve araştırmacıyı uyarır. *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Proteus vulgaris* ve *Morganella morganii* türe özgü aktivite gösteren indüklenebilir kromozomal beta-laktamazları nedeniyle ampisilin ve birinci kuşak sefalosporinlere dirençlidir. Bunlara ilaveten *P.vulgaris* dışındakiler amoksisilin+klavulanik asite, *Serratia*, *M.morganii* ve *P.vulgaris* sefuroksime, *Enterobacter* ve *Citrobacter freundii* ise sefoksitine dirençli bulunurlar. Bu bildiride antibiyotiklere duyarlılıkları ile identifikasyonları arasında uyuşmazlık saptanan ve 1996 yılında izole edilen *Enterobacteriaceae* suşları özetlenmiştir.

SUMMARY

Antibiotic susceptibility test results disclose our misidentifications.

Intrinsic resistance or susceptibility can be useful in correcting or confirming bacterial identifications. If a susceptibility result does not fit with the identification, susceptibility testing and/or identification should be rechecked. Some errors can be overlooked in a single isolate, but when the results of more isolates are reviewed together, cumulated errors would be revealed and warn the researcher. *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Proteus vulgaris* and *Morganella morganii* produce species specific chromosomal AmpC beta-lactamases and are resistant to ampicillin and first generation cephalosporins. In addition, with the exception of *P.vulgaris* these bacteria are resistant to amoxicillin + clavulanic acid, *Serratia*, *M.morganii* and *P.vulgaris* are resistant to cefuroxime, *Enterobacter* and *Citrobacter freundii* are resistant to cefoxitine. In this report, the discrepancies observed between our susceptibility and identification results in *Enterobacteriaceae* strains isolated in 1996 were reviewed.

HATALI SONUÇLARIMIZ

Bazı bakterilerde belirli antibiyotiklere hiç direnç saptanmaz veya çok az direnç saptanır ve bu da bakterilerin identifikasyonunda yardımcı olur. Mikrobiyoloji laboratuvarının A grubu beta-hemolitik streptokok ve pnömokok ayırımı için kullandığı basitrasin ve optokin duyarlılığı buna örnek olarak gösterilebilir.

* 12. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (2-6 Haziran 1997, Antalya).

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

Bazı bakteriler ise belirli antibiyotiklere intrinsik olarak dirençlidir. Bu dirençten, hem çeşitli flora bakterilerinin bulunduğu muayene maddelerinden bu bakterilerin izolasyonu için selektif besiyeri hazırlanmasında, hem de bu bakterilerin identifikasyonunda yararlanır. Gram negatif bakterilerin linkomisin ve vankomisine, Gram pozitif bakterilerin kolistin, nalidiksik asit ve aztroenama, anaerop bakterilerin ve streptokokların aminoglikozidlere, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın karbapenemlere, *Haemophilus*, *Listeria* ve *Neisseria*'ların linkomisine dirençli olmaları (1) bu konuda örnek olarak verilebilir.

Bugüne kadar antibiyotik direncinin mekanizmaları konusunda yapılan çalışmalar, bakterilerde bulunan intrinsik ve/veya sonradan kazanılan birçok direnç mekanizmasını ortaya koymuştur. *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Proteus vulgaris* ve *Morganella morganii* türe özgü aktivite gösteren indüklenebilir kromozomal beta-laktamazları nedeniyle tablo 1'de gösterilen beta-laktam antibiyotiklere intrinsik olarak dirençli bulunurlar (1,4,5). Bu bakterilerde identifikasyon sonucu ile duyarlılık deneyi sonucu arasında uyumsuzluk bulunması, ya identifikasyonda ya da duyarlılık deneyinde hata yapıldığını gösterir (1).

Tablo 1. Türe özgü indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz oluşturan bakteriler ve intrinsik olarak dirençli oldukları beta-laktamlar.

İdentifikasyon sonucu	Duyarlılık deneyi sonucu				
	AMP	AMC	CFZ	CFU	FOX
<i>Enterobacter</i>	Di	Di	Di		Di*
<i>C.freundii</i>	Di	Di	Di		Di**
(<i>C.diversus</i> ***)	Di/Du	Du	Di/Du		Du)
<i>Serratia</i>	Di	Di	Di	Di	
<i>Morganella</i>	Di	Di	Di	Di	
<i>Providencia</i>	Di	Di	Di		
<i>P.vulgaris</i>	Di		Di	Di****	

Di: Dirençli, Du: Duyarlı

AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin+klavulanik asit, CFT: Sefalotin, CFZ: Sefazolin, CFU: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin

* *Klebsiella* duyarlıdır ve indüksiyon saptanmaz!

** *E.coli* duyarlıdır ve indüksiyon saptanmaz!

*** *C.freundii*'den sonra en sık izole edilen tür olduğundan belirtilmiştir.

**** *P.mirabilis* duyarlıdır ve indüksiyon saptanmaz!

Ancak biyolojik olaylarda fiziksel olaylardaki gibi kesinlikten bahsedilemez ve bazan ayrıcalıkların görülmesi doğaldır. Bakterinin direnç sağlayan geninin, açıklanması her zaman kolay olmayacak bir nedenle eksprese olmaması bu bakterilerde az sayıda da olsa duyarlı suşların bulunmasına neden olabilir (4,5). Nadiren rastlanılabilecek beklenmeyen duyarlılıklar veya direnç nedeniyle tek tek örneklerde gözden kaçabilen hatalar ise, çok sayıda suşa ait toplu sonuçlar incelendiğinde açığa çıkar ve çalışanları bunları tekrarlamamak için ikaz edebilir.

1996 yılında izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesinden Gram negatif çomaklara ait sonuçlarımız (Tablo 2) bu açıdan incelendiğinde, aşağıdaki hatalar farkedilmiş ve bu hataların önlenmesi konusunda önlemler alınmaya başlanmıştır.

Poliklinik hastalarından izole edilen 15 *Enterobacter* suşunun 7'si sefoksitine, 6'sı ampisilin+sulbaktama; yatan hastalardan izole edilen 27 suşun 9'u ampisilin+sulbaktama duyarlı bulunmuş! *Enterobacter* suşlarında bu iki antibiyotiğe bu sıklıkta duyarlılık bulunamaz. Duyarlı suşların *Klebsiella* olup olmadığı hareket, lizin ve ornitin dekarboksilaz özellikleri, *Serratia* olup olmadığı ise DNAz özelliği (3) dikkatlice ve tekrar incelenerek ortaya konabilirdi.

Toplam 14 *Citrobacter* suşunun 8'i ampisilin+sulbaktama, 6'sı sefoksitine duyarlı bulunmuş! Sefoksitine duyarlı bulunanların *E.coli* olup olmadığı, suşların lizin dekarboksilaz ve sitrat özelliklerine (3) bakılarak ortaya çıkarılabilirdi.

Poliklinik hastalarından izole edilen 16 *P.vulgaris* suşunun 10'u ampisiline, 11'i sefazolin ve sefuroksime duyarlı bulunmuş! *P.vulgaris* suşlarının kromozomal beta-laktamazları sefuroksimaz özelliği gösterdiğinden (4) suşların yarısından fazlasının sefuroksime duyarlı olması beklenemez! Sefuroksime duyarlı bulunan suşların indol oluşturma (3) özelliklerine tekrar bakılarak, bunların *P.mirabilis* olup olmadığına karar verilebilirdi.

Tablo I. Poliklinik (P) ve yatan (Y) hastalardan 1996 yılında, izole edilen bazı Enterobacteriaceae türlerinde rutin deneylerle bazı beta-laktam antibiyotiklere dirençli bulunan suş sayıları.*

Bakteriler (n)	AMP	AMS**	CFZ	CFU	FOX
Enterobacter P (15)		9	14	14	8
Y (27)		18	24	19	23
Citrobacter P (7)		2	7	4	4
Y (7)		4	5	3	4
P.vulgaris P (16)	6	0	5	5	0
Y (26)	25	4	24	22	2
K.pneumoniae P (27)	26	17	9	6	0
Y (88)	87	51	71	63	8
K.oxytoca P (11)	11	8	8	3	0
Y (19)	19	13	18	11	2

* 2 numaralı kaynaktan kısaltılarak alınmıştır.

** AMS: Ampisilin+sulbaktam, diğer kısaltmalar için tablo 1'e bakınız.

Yatan hastalardan izole edilip *K.pneumoniae* veya *K.oxytoca* olarak tanımlanmış 107 suştan 10'u sefoksitine dirençli bulunmuş! Sefoksitine dirençli (sefamisinaz oluşturan) *Klebsiella* suşlarına çok nadir rastlanır (4) ve böyle birkaç suş uluslararası bir yayına konu edilebilir. Sefoksitine dirençli bulunan bu suşların bir kısmının *Enterobacter* olup olmadığı, suşların hareket, lizin ve ornitin dekarboksilaz özellikleri (3) incelenerek anlaşılabilirdi.

Bu bulgular mikrobiyoloji laboratuvarının görevinin izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık deneylerini yapmakla bitmediğini, tek tek gözden kaçabilen ama zamanla birikerek görülür hale gelen tutarsız sonuçlardan kaçınmak için, elde ettiği sonuçları karşılıklı değerlendirerek bir çeşit dolaylı kalite kontrolü yapması gerektiğini göstermektedir. Bu şekilde, hatalı sonuçlar bildirilmeden farkedilebilir ve doğru sonuca ulaşmak için gerekli incelemeler yapılabilir. Tekrarlanan sonuçlar identifikasyonun doğruluğunu gösterdiğinde, identifikasyon sonucu ile uyumsuz gibi görünen antibiyotik duyarlılık sonuçları, yeni bir direnç mekanizmasının habercisi olabilir (1).

KAYNAKLAR

- 1- Courvalin P: Interpretive reading of in-vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme), *Clin Microbiol Infect* 2 (Suppl 1): S26 (1996).
- 2- Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K: Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci ve genişlemiş-spektrumlu beta-laktamaz oluşturma sıklığı, *ANKEM Derg* 11: 108 (1997).
- 3- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Lippincott Company, Philadelphia (1993).
- 4- Livermore DM: β -lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8: 557 (1995).
- 5- Livermore DM, Williams JD: β -lactams: Mode of actions and mechanisms of bacterial resistance, "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4.baskı" kitabında s.502, Williams and Wilkins, Baltimore (1996).