

silin direncinin artmasıyla glikopeptidler tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Van-komisine karşı da direncin bildirilmeye başlandığı günümüzde, fusidik asit alternatif bir ilaç olarak önerilmektedir (3). Dünyada 1962 yılında kullanılmaya başlanan fusidik asit, fusidinaz grubundan steroid benzeri bir antibiyotik yapısındadır (16). Ülkemizde 1998 yılından itibaren *S.aureus* ve KNS suşlarının yol açtığı pek çok hastalıkta anti-stafilokokal bir ajan olarak kullanılmaktadır (12).

Fusidik asit, bakteride protein sentezini inhibe eder. Bu etkisini elongasyon faktör G-GDP inorganik fosfat kompleksini stabilize etmek suretiyle, GDP hidrolizi ve polipeptid zincirinin uzamasını önleyerek gösterir (6).

Bu çalışmada, çeşitli örneklerden izole edilen metisilin dirençli *S.aureus*, metisilin duyarlı *S.aureus* ile metisilin duyarlı ve dirençli koagülaz negatif stafilokok suşlarının fusidik aside in-vitro duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Ocak-Aralık 1999 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakterioloji laboratuvarına çeşitli servis ve polikliniklerden gönderilen kültür materyallerinden izole edilen toplam 528 *S.aureus* ve 960 KNS suşu kullanılarak yapılmıştır. Stafilokok suşlarının identifikasyonunda koloni büyüklüğü, pigment yapısı, Gram boyama, % 6.5 NaCl içeren agarda üreme ve koagülaz özelliklerinin yanısıra API ID 32 Staphy (Bio Meireux) kiti kullanılmıştır. Duyarlılık deneyleri için bakterilerin saf kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığına göre süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton agar besiyerine yayılıp, üzerine 1 µg oksasilin (Oxoid) ve 10 µg fusidik asit (Oxoid) diski yerleştirilmiş ve 24 saat 35 derecede inkübe edilmiştir. Metisilin direnci NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) kriterlerine göre (14,15), fusidik asit duyarlılığı Fransız Mikrobiyoloji Antibiyotik Duyarlılık Testleri Komitesi'nin önerdiği standartlara göre 22 mm ve üzerindeki zon çapları duyarlı, 16-21 mm zon çapları orta duyarlı, 15 mm ve altı dirençli olarak değerlendirilmiştir (8). Kontrol suşu olarak *S.aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.

BULGULAR

İzole edilen toplam 1488 stafilokok suşunun 528'i *S.aureus* (% 35.4), 960'ı KNS (% 64.6) olarak tanımlanmış, *S.aureus* suşlarının 233 (% 44.2)'ü, KNS suşlarının 347 (% 36.2)'si metisiline dirençli bulunmuştur. İncelenen 233 MRSA suşunun 9'u (% 3.9) fusidik aside dirençli, 5'i (% 2.1) orta duyarlı; 347 MRKNS suşunun 54'ü (% 15.6) dirençli, 63'ü (% 18.1) orta duyarlı olarak bulunmuştur. Buna karşılık MSKNS suşlarında % 7.5 orta duyarlılık ve % 11.5 direnç belirlenirken, MSSA suşlarında % 2.7 orta duyarlılık ve % 2.4 direnç saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Stafilokok suşlarının fusidik asit duyarlılıkları.

Bakteri (n)	Duyarlı		Orta duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Metisilin duyarlı <i>S.aureus</i> (295)	280	94.9	8	2.7	7	2.4
Metisilin dirençli <i>S.aureus</i> (233)	219	94	5	2.1	9	3.9
Metisilin duyarlı KNS (613)	497	81	46	7.5	70	11.5
Metisilin dirençli KNS (347)	230	66.3	63	18.1	54	15.6

TARTIŞMA

Metisilin dirençli *S.aureus* ve KNS suşları insanda bazı durumlarda ölümcül olabilen infeksiyonlara yol açarlar. Bu infeksiyonların büyük bir bölümü hastane infeksiyonları şeklindedir (5,21). İngiltere’de metisilin direnci 1990’dan 1993’e sırasıyla % 1.7’den % 3.8’e ve 1997’de % 32’den 1998’de % 34’e yükselmiştir (18). Bu infeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotikler vankomisin ve teikoplanindir. Ancak her iki antibiyotikğin hem önemli yan etkilerinin olması, hem de tedavinin pahalı olması bu antibiyotiklerin kullanımını kısıtlamaktadır. Metisiline dirençli suşlarda bu glikopeptidlerin giderek artan sıklıkta kullanılması sonucu, vankomisine karşı direnç gelişimi ile ilgili yayınlar dikkati çekmektedir (10). Dolayısıyla bu önemli hastalıkların tedavisinde ilaç seçimi dikkatlice yapılmalıdır. Bu infeksiyonların tedavisinde, glikopeptid grubundan olup ancak steroid etkinliği olmayan fusidik asit iyi bir alternatif gibi görülmektedir.

Kocabeyoğlu ve ark. (13) MSSA ve MSKNS suşlarında fusidik aside karşı direnç saptamazlarken, MRSA’da % 2, MRKNS’da % 4 oranında direnç saptamışlardır. Çavuşoğlu ve ark. (6) yaptıkları çalışmada metisiline duyarlı *S.aureus* suşlarının % 7.6’sı, KNS suşlarının ise % 17.7’si fusidik aside dirençli olarak bulunmuştur. Metisilin dirençli suşlar için bu oran *S.aureus*’da % 13.6, KNS’da % 20.3 olarak bulunmuştur. Hoşgör ve ark. (9) 140 *S.aureus* kökeninin 131’ini MRSA, 9’unu MRSA olarak belirlemişlerdir. 129 (% 98) suşu hem disk difüzyon hem de mikrodilüsyon yöntemi ile fusidik aside duyarlı bulurlarken, 3 (% 2) suşu orta derecede duyarlı saptamışlardır. Öngen ve ark. (16) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri stafilokok suşlarında sırasıyla fusidik aside direnci MSSA (n: 112)’da % 3, MRSA (n: 43)’da % 5, MSKNS (n: 65)’da % 15 ve MRKNS(n: 34)’da % 35 oranlarında bulmuşlardır. Bir başka çalışmada, Kaygusuz ve ark. (12) MRSA (n: 25) ve MSSA (n: 21)’da fusidik aside karşı direnç saptamazlarken, MRKNS (n: 25) ve MSKNS (n: 24)’da bu oranı sırasıyla % 12 ve % 13 olarak tesbit etmişlerdir. Beğendik ve ark. (4) MSSA ve MSKNS suşlarında fusidik aside direnç belirlememişlerdir. İnceledikleri 24 MRSA suşunun 2 (% 8)’sini fusidik aside dirençli, 1 (% 4)’ini orta duyarlı olarak tesbit ederlerken, 37 MRKNS suşunun 4 (% 11)’ünü dirençli, 2 (% 5.5)’sini orta duyarlı bulmuşlardır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda stafilokoklardaki fusidik asit direnci sırasıyla; MSSA’da % 1-7.6, MRSA’da % 1.6-13.6, MSKNS’da % 4-17.7 ve MRKNS’da % 4-35 oranları arasında değişmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda stafilokok suşlarında bildirilen fusidik aside direnç oranları.

Çalışma	MSSA (%)	MRSA (%)	MSKNS (%)	MRKNS (%)
Altun ve ark. (1)	-	6	-	8
Beğendik ve ark. (4)	-	8	-	11
Çavuşoğlu ve ark. (6)	7.6	13.6	17.7	20.3
Karadenizli ve ark. (11)	5	8	-	-
Kaygusuz ve ark. (12)	-	-	13	12
Kocabeyoğlu ve ark. (13)	-	2	-	4
Öngen ve ark. (16)	3	5	15	35
Öztürk ve ark. (17)	1.8	1.6	16.7	8
Şalcıoğlu ve ark. (19)	5	3.5	4	11.5
Bu çalışma	2.4	3.9	11.5	15.6

Araştırmamızın sonuçları ülkemizdeki diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre fusidik asit direnci; MSSA, MRSA, MSKNS ve MRKNS suşlarında sırasıyla, % 2.4, % 3.9, % 11.5 ve % 15.6 oranlarında saptanmıştır. Tablo 1'de görüldüğü gibi orta duyarlı suşlar da bu oranlara dahil edilecek olsa bile, metisilin direncinin yüksekliği yanında fusidik asit direnci daha az görülmektedir.

KNS suşlarında fusidik asit direnci *S.aureus* suşlarına göre daha yüksektir. Son yayınlarda, metisiline dirençli suşların tedavisinde alternatif ilaç olarak fusidik asit tavsiye edilmektedir. Yapılan in-vitro çalışmalar da bu fikri desteklemektedir. Fusidik asidin metisilin dirençli stafilocok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmasını önermekle birlikte, konuyla ilgili geniş çaplı klinik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- 1- Altun B, Kocagöz S, Uzun Ö, Akova M, Ünal S: Türkiye'deki stafilocokların fusidik asit ve diğer dört antibiyotik ile birlikte direnç durumunun karşılaştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.164, Antalya (1998).
- 2- Amyes SGB: The rise in bacterial resistance, *Brit Med J* 320:199 (2000).
- 3- Aygen B: Nozokomiyal stafilocok bakteriyemileri, *Hastane Enfeksiyonu Derg* 2:210 (1998).
- 4- Beğendik MF, Fidan I, Sultan N, Türet S: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının fusidik aside direnç durumu, *ANKEM Derg* 14:45 (2000).
- 5- Birengel S, Kurt H, Boşca A, Balık İ, Tekeli E: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocokların metisilin direncine göre çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Enfeksiyon Derg* 3:121 (1994).
- 6- Çavuşoğlu C, Badak Z, Zünger A, Hilmioglu S, Güzelant A, Bilgiç A: Kan kültürlerinden soyutlanan *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilocok izolatlarının fusidik aside in-vitro duyarlılıkları, *Enfeksiyon Derg* 12:467 (1998).
- 7- Durmaz B: Hastanede MRSA kontrol politikası, MRSA kolonizasyonunun eradikasyonu, *Hastane Enfeksiyonu Derg* 3:212 (1999).
- 8- Française Comité de L'antibiogramme de la Société de Microbiologie: 18. Communiqué 1996, *Path Biol* 44:1 (1996).
- 9- Hoşgör M, Emertcan Ş, Eraç B: Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* kökenlerinin fusidik aside in vitro duyarlılığı, *Enfeksiyon Derg* 14:95 (2000).
- 10- Jofenson D: Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* reported, *Brit Med J* 315:697 (1997).
- 11- Karadenizli AY, Katırcıoğlu I, Bingöl R: Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında fusidik asit duyarlılığının araştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.160, Antalya (1998).
- 12- Kaygusuz S, Meriç P, Köksal İ, Öksüz R, Kostakoğlu V: Değişik klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarının fusidik asit duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 14:39 (2000).
- 13- Kocabeyoğlu Ö, Diler M, Emekdaş G, Erdemoğlu A, Kutlu H: Türkiye'de yeni kullanıma giren fusidik asidin stafilocok suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.159, Antalya (1998).
- 14- NCCLS: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 6th edition, Approved Standards M2-A6, Villanova (1997).
- 15- NCCLS: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, Document M100-58, Villanova (1998).

- 16- Öngen B, Otağ F, Gürler N, Töreci K: Klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında fusidik asit ve diğer antimikrobik maddelere direnç, *ANKEM Derg* 14:36 (2000).
- 17- Öztürk R, Akın EA, Hepgenç I, Tabak F: Değişik klinik örneklerden izole edilen oksasilin duyarlı ve dirençli stafilocok kökenlerinin fusidik asit ve diğer antimikrobik maddelere direnç durumu, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.158, Antalya (1998).
- 18- Reacher MH, Shah A, Livermore D, Wale MCJ: Bacteremia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis, *Brit Med J* 320:213 (2000).
- 19- Şalcıoğlu M, Bal Ç, Anğ Ö: Stafilocoklarda fusidik asit duyarlılığı, *XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı* 12.165, Antalya (1998).
- 20- Ulusoy S: Dirençli Gram pozitif bakteri enfeksiyonları, *Hastane Enfeksiyonu Derg* 3:212 (1999).
- 21- Yüce K: Koagülaz negatif stafilocokların neden olduğu hastane enfeksiyonları, *Hastane Enfeksiyonu Derg* 2:143 (1998).

KLEBSIELLA VE E.COLI SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZLARIN BELİRLENMESİNDE ÜÇ BOYUTLU YÖNTEM, ÇİFT DİSK SİNERJİ VE E TEST YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Selma GÖKAHMETOĞLU, Duygu EŞEL, Nuriye KARACA, Bülent SÜMERKAN

ÖZET

Klinik örneklerden izole edilen 53 *Klebsiella* ve 47 *Escherichia coli* suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı üç boyutlu yöntem, çift disk sinerji ve E test yöntemleriyle araştırılmıştır. Üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji testi aynı plakta çalışılmıştır.

Klebsiella suşlarının 33'ünde (% 62), 47 *E.coli* suşunun 6'sında (% 13) GSBL varlığı gösterilmiştir. Üç boyutlu yöntem ile *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında GSBL oluşturduğu belirlenenlerin oranı sırasıyla % 58 ve % 13 olarak bulunmuştur. Çift disk sinerji yöntemiyle aynı oranlar yine % 58 ve % 13 olarak, E test yöntemi ile ise % 58 ve % 9 olarak saptanmıştır.

Her üç yöntemden herhangi biri GSBL tayininde tarama metodu olarak kullanılabilir. Testlerin birlikte kullanılması test sonuçlarının yorumunu kolaylaştırmaktadır.

SUMMARY

Comparison of three dimensional method, double disk synergy and E test methods for extended spectrum beta-lactamase production in Klebsiella spp. and E.coli strains.

In this study, 53 *Klebsiella* and 47 *E.coli* strains isolated from clinical specimens were examined by double disk synergy, E test and three dimensional methods for extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production. Double disk synergy and three dimensional methods were studied on the same plate.

ESBL were detected in 33 of 53 *Klebsiella* strains (62%) and 6 of 47 *E.coli* strains (13%). By three dimensional method, the percentages of strains in which ESBL detected were found as 58% and 13% for *Klebsiella* spp. and *E.coli*, respectively. The same percentages were found also by double disk synergy method. By E test the ESBL production was detected as 58% and 9%, respectively.

Any one of the three methods can be used as a screening method for ESBLs. Using of tests together makes it easier to interpret test results.

GİRİŞ

İlk kez 1983 yılında bildirilen ve plazmidlerde kodlanan geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) Gram negatif bakterilerin etken olduğu infeksiyonların sağaltımında gide-

rek büyüyen bir sorun yaratmaktadır (14). Bunlar köken aldıkları TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi beta-laktamazlardan 1-4 aminoasit değişikliği ile türemiştir. GSBL'lar penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinlerin yanısıra sefotaksim, seftazidim, aztreonam gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yer aldığı oksimino sefalosporinleri de inaktive ederler. Bakterilerin GSBL üretiminin, rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile belirlenmesi kolay değildir (13).

GSBL üreten suşların in-vitro koşullarda tanınabilmesi için laboratuvarında uygulanması önerilen bazı yöntemler; antibiyotik duyarlılık testlerinde daha yoğun bakteri inokulumu kullanılması veya beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü sinerjisinin gösterilmesidir. GSBL ürettiği belirlenen mikroorganizmalar sefamisinler (sefoperazon, sefamandol...) hariç tüm sefalosporinlere dirençli olarak bildirilir (9).

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakterioloji Ünitesine gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında bulunan GSBL'ların üç boyutlu yöntem, çift disk sinerji ve E test yöntemleri ile araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakterioloji Ünitesine 1999 yılının Kasım ayında gönderilen farklı hastalara ait klinik örneklerden izole edilen 53 *Klebsiella* ve 47 *E.coli* suşu çalışmaya alınmıştır.

44 *Klebsiella* suşu Crystal (Becton Dickinson) sistemle *Klebsiella pneumoniae*; 9 suş ise *Klebsiella oxytoca* olarak tanımlanmıştır.

Çift disk sinerji testi ile üç boyutlu test aynı plak üzerinde çalışılmıştır. Mueller-Hinton agar içeren 90 mm çaplı plağın ortasına 4 mm çapında delik açılmıştır. Besiyeri üzerine 0.5 McFarland standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu yayılmıştır. Açılan delikten 2 mm uzaklığa seftriakson diski yerleştirilmiştir. Üç boyutlu test için 4 mm çapındaki deliğe McFarland 5 standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 30 µl konmuştur. Çift disk sinerji testi için seftriakson diskinden (merkezden merkeze) 30 mm uzağa amoksisilin-klavulanik asit (AMC) diski yerleştirilmiştir. Plakların 35°C'de 18-20 saatlik inkübasyonundan sonra seftriakson diskinin inhibisyon zonunun AMC diskine doğru belirgin olarak genişlemesi pozitif çift disk sinerji testi olarak değerlendirilmiştir. Seftriakson diski etrafındaki inhibisyon zonunda kesilme üç boyutlu test için pozitif olarak yorumlanmıştır (17). Eğer E test veya üç boyutlu yöntemden herhangi birisiyle GSBL saptanıp çift disk sinerji ile saptanamadıysa çift disk sinerji testi diskler arası mesafe 20 mm'ye düşürülüp tekrar çalışılmıştır. E test yöntemi ile GSBL belirlenebilmesi için bir tarafında seftazidim (CAZ) diğer tarafında CAZ+klavulanik asit (CL) bulunan E test şeritleri (AB Biodisk, Solna) kullanılmıştır. Mueller-Hinton agar besiyeri üzerine 0.5 McFarland standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu yayılmıştır. Test şeritleri her plağa birer adet olacak şekilde yerleştirilmiş, 35°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri okunmuştur. Seftazidim MİK/seftazidim+klavulanik asit MİK oranı ≥ 8 olması halinde test GSBL pozitif olarak değerlendirilmiştir (12). Üç yöntemden herhangi biriyle GSBL saptanması, GSBL varlığı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

GSBL yaptığı belirlenen suşların yöntemlere göre dağılımı tabloda gösterilmiştir. *Klebsiella* suşlarının 29'unda (% 55), *E.coli* suşlarının ise 4'ünde (% 9) her üç yöntemle de GSBL saptanmıştır. *Klebsiella* suşlarının 2'sinde (% 4), *E.coli* suşlarının da 2'sinde

(% 4) çift disk sinerji ve üç boyutlu testle GSBL pozitif bulunurken, E test ile GSBL gösterilememiştir. *Klebsiella* suşlarının 2'sinde (% 4) ise çift disk sinerji ve üç boyutlu testle GSBL negatif iken, E test ile GSBL pozitif olarak bulunmuştur. Sonuç olarak *Klebsiella* suşlarının 33'ünde (% 62), *E.coli* suşlarının ise 6'sında (% 13) GSBL varlığı gösterilmiştir. Diskler arası mesafe 30 mm iken çift disk sinerji testi ile saptanamayan 12 suşta mesafe 20 mm'ye inince GSBL saptanmıştır.

Tablo. GSBL yaptığı belirlenen suşların yöntemlere göre dağılımı.

Bakteri	ÇDS*	%	ÜBY**	%	E test	%
<i>Klebsiella</i> (n: 53)	31	58	31	58	31	58
<i>E.coli</i> (n: 47)	6	13	6	13	4	9

*Çift disk sinerji, **Üç boyutlu yöntem.

TARTIŞMA

GSBL ilk kez Almanya'da tanımlanıp, daha sonra Fransa başta olmak üzere dünyanın çeşitli ülkelerinde tedavi başarısızlığına neden olan önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır (9). Geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı gelişen bu aktarılabılır direnç, önce *Klebsiella pneumoniae* suşlarında tanımlanmıştır. Daha sonra *E.coli* ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan diğer mikroorganizmalarda da daha az sıklıkta olmakla birlikte bu enzim aktivitesinin bulunduğu gösterilmiştir. GSBL üreten mikroorganizmalar, çoğunlukla hastane infeksiyonu etkeni olan izolatlardır (4,8).

GSBL'lar tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. İngiltere'de yapılan bir çalışmada *K.pneumoniae* suşlarının % 16'sının GSBL ürettiği bildirilmiştir (11). Ülkemizde İzmir'den Gülay ve ark. (6) 44 *K.pneumoniae* suşunda GSBL üretim oranını % 88.6 olarak bildirmiştir. Abacıoğlu ve ark. (1)'nin çalışmasında nozokomiyal salgın döneminde bir yenidoğan ünitesinde izole edilen 34 *K.pneumoniae* suşunun tümünün GSBL oluşturduğu bildirilmiştir.

Pratik uygulamada GSBL saptanmasında çift disk sinerji testi, üç boyutlu test ve E test uygulanmaktadır. Üç yöntemden en sık kullanılanı çift disk sinerji yöntemidir. Birçok araştırmacı GSBL tayininde bu yöntemin önerilebileceğini belirtmişlerdir. Ancak çift disk sinerji testinin duyarlılığı için disklerin uygun olarak yerleştirilmesi, farklı aralıklarla testin tekrarlanması, klavulanat içeren disklerin doğru koşullarda saklanması ve belirli aralarla kontrol testlerinin yapılması önem taşımaktadır. Klavulanatın tüm GSBL'ları inhibe edememesi, kromozomal sefalosporinaz oluşturan mikroorganizmaları saptayamaması ve optimal disk aralığına karar verilememesi, çift disk sinerji testinin duyarlılığını azaltır (15). Diskler arasındaki uzaklığın 30 mm olarak ayarlandığı çalışmalarda yanlış negatif sonuçlar elde edildiği bildirilmekte ve böyle durumlarda diskleri yakınlaştırarak deneyin tekrarlanması önerilmektedir (7).

Thomson ve Sanders (15)'in yaptığı çalışmada üç boyutlu yöntem ile GSBL saptanmasında en duyarlı indikatörlerin sefotaksim ve seftriakson olduğu bildirilirken; Vercauteren ve ark. (17)'nin çalışmalarında bu indikatörün seftriakson olduğu bildirilmiştir. Vercauteren (17)'a göre çift disk sinerji ve üç boyutlu yöntemle yalancı pozitif sonuç alabilme dezavantajı E test yönteminde yoktur. Ancak CAZ+CL içeren E test şeritleri ile TEM türevi β -laktamazlar iyi saptanırken, SHV türevi β -laktamazlarda başarısızlık görülmüştür

(17). Son zamanlarda bu SHV türevi β -laktamazları saptayabilmek için sefotaksim ve sefotaksim+klavulanat içeren E test şeritlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir (3).

Thomson ve Sanders (15) GSBL oluşturduğu bilinen suşlarla yapılan araştırmalarında, çift disk sinerji yöntemi ile % 79, üç boyutlu yöntemle % 93 oranında pozitif sonuç elde etmişlerdir. Vercauteren ve ark. (17)'nin yaptığı çalışmada 33 GSBL üreten suşun 31'inde çift disk sinerji yöntemi ile GSBL varlığı gösterilirken, üç boyutlu yöntemle 33 suşun 30'unda GSBL gösterilmiştir. İki çalışmanın sonuçlarının farklı olması kullanılan yöntemlerin farklılığına bağlı olabilir.

Çalışmamızda çift disk sinerji ile 100 suşun 37'sinde, üç boyutlu yöntemle 37'sinde, E test ile 35'inde GSBL varlığı belirlenmiştir. Derbentli ve ark. (5)'nce çift disk sinerji ile suşların % 35'nin GSBL oluşturduğu belirlenmiş, üç boyutlu yöntem ile ise aynı oran % 43 olarak bulunmuştur; ancak yapılan istatistiksel değerlendirmede iki deney sonucu arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Hoşgör ve ark. (10) çift disk sinerji ve üç boyutlu test ile 51 *E.coli* suşunun sırasıyla 9 ve 13'ünün (% 18 ve % 25), 46 *K.pneumoniae* suşunun 29 ve 34'ünün (% 30 ve % 35) GSBL oluşturduğunu saptamışlardır.

Çift disk sinerji ile E test yönteminin karşılaştırmalı olarak uygulandığı çalışmalarda; Abacıoğlu ve ark. (2) E test ile 24 *K.pneumoniae* suşunun 12'sinde, çift disk sinerji testinde ise sefotaksim ve seftazidim veya aztreonam diskleri birlikte kullanıldığında suşların 15'inde enzim varlığı saptamışlardır. Ülker ve ark. (16)'nın çalışmasında çift disk sinerji yönteminde GSBL oluşturduğu belirlenen suşların tamamı E test yöntemi ile de pozitif bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre çift disk sinerji ve üç boyutlu yöntemin, GSBL saptamasında bir fark bulunmadığı görülmüştür. Çift disk sinerji ve seftriaksonla üç boyutlu yöntemin birlikte kullanılması GSBL tayini için iyi bir tarama metodu olarak önerilebilir. Testlerin kombine kullanılması test sonuçlarının yorumunu kolaylaştırmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- Abacıoğlu YH, Asslani Mehr M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N: Reisotyping and plasmid profile analysis of multiply resistant Klebsiella pneumoniae strains isolated during a nosocomial outbreak, *İnfeksiyon Derg* 9:63 (1995).
- 2- Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, Yuluğ N: Extended spectrum beta-lactamases saptanmasında E testi ile çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 9:93 (1995).
- 3- Bolmström A, Qvarnström A, Karlsson A, Ho P, Lewis MT, Johnson DM, Jones RN: Validation of new E test ESBL strips for the detection and confirmation of strains producing extended spectrum β -lactamases (ESBL): a trial using FDA criteria for susceptibility testing devices, 39th *Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy (ICAAC)*, Abstract Book poster no: 0898, San Francisco (1999).
- 4- Cormican MG, Marshall SA, Jones RN: Detection of ESBL producing strains by the E test ESBL screen, *J Clin Microbiol* 34:1880 (1996).
- 5- Derbentli Ş, Katrancı H, Nakipoğlu Y: Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 10:1 (1996).
- 6- Gülay Z, Amyes SGB, Yuluğ N: Hastane infeksiyonlarından soyutlanan Klebsiella pneumoniae suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlılığının ve beta-laktamaz tiplerinin incelenmesi, *Mikrobiyol Bül* 30:1 (1996).

- 7- Gülay Z, Abacıoğlu YH, Yuluğ N: Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi, *İnfeksiyon Derg* 9:89 (1995).
- 8- Gültekin M, Öđünç D, Günderen F, Çolak D, Kırbas I, Mamıkoğlu M: Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 13:4 (1999).
- 9- Gür D: Beta-laktamazlar, *Flora* 2:3 (1997).
- 10- Hoşgör M, Özkan F, Tünger A, Yapar N, Özinel MA: Gram olumsuz çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların araştırılması, 8. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Kongre Kitabı, s. 708, Antalya (1997).
- 11- Liu PYF, Gür D, Hall LMC: Survey of the prevalence of beta-lactamases among 1000 Gram negative bacilli isolated consecutively at the Royal London Hospital, *J Antimicrob Chemother* 30:429 (1992).
- 12- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Ninth Informational Supplement, NCCLS document M100-S9, NCCLS, Wayne (1997).
- 13- Philippon A, Arlet G, Lagrange PH: Origin and impact of plasmid-mediated extended spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13 (Suppl 1):S17 (1994).
- 14- Philippon A, Labia R, Jacoby G: Extended spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 33:1131 (1989).
- 15- Thomson KS, Sanders CC: Detection of extended spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: Comparison of the double-disk and three-dimensional tests, *Antimicrob Agents Chemother* 36:1877 (1992).
- 16- Ülker ÜGB, Tülek N, Mert A: Gram olumsuz basillerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanmasında çift disk sinerji ve E test yöntemleri, *İnfeksiyon Derg* 13:3 (1999).
- 17- Vercauteren E, Descheemaeker P, Leven M, Sanders CC, Goossens H: Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates of *E.coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian Teaching Hospital, *J Clin Microbiol* 35:2191 (1997).