

# STAFİLOKOK SUŞLARININ TEİKOPLANİN DUYARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİNDE SEÇİLEN YÖNTEM VE/VEYA DEĞERLENDİRME STANDARTLARI SONUÇLARIMIZI ETKİLİYOR MU ?\*

Emel SESLİ ÇETİN<sup>1</sup>, Tuba ÖZTÜRK<sup>2</sup>, Esra ÇİFTÇİ<sup>3</sup>, Ayşe AYNALI<sup>1</sup>,  
Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

<sup>2</sup>Yalvaç Devlet Hastanesi, ISPARTA

<sup>3</sup>Serik Devlet Hastanesi, ANTALYA

## ÖZET

Stafilokok suşlarının teikoplanin duyarlılığının belirlenmesi için Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23 rehberinde disk difüzyon (DD) değerlendirme kriterleri verilmiş olsa da bu yöntemin teikoplanine orta duyarlı ya da dirençli suşları duyarlılardan ayırmadaki etkinliğinin açık olmadığı bildirilmektedir. Diğer taraftan, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ise stafilokokların teikoplanin duyarlılığının değerlendirilmesinde DD testinin güvenilir olmadığını bildirmektedir. Bu çalışmada stafilokokların teikoplanin duyarlılıklarının belirlenmesinde DD ve Gradyent strip testi (GST) yöntemlerinin sıvı mikrodilüsyon (SMD) yöntemi ile uyumlarının CLSI ve EUCAST standartları ışığında değerlendirilmesi, böylece seçilen yöntem ve/veya değerlendirme standartlarının teikoplanin duyarlılık test sonuçları üzerindeki etkisinin tartışılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 100 *Staphylococcus aureus* ve 100 koagülaz negatif stafilokok (KNS) suşunun teikoplanin duyarlılıkları SMD, GST ve DD yöntemleri ile test edilmiş, sonuçlar CLSI ve EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir. Test metotlarının birbiriyle uyumlu oluşu her bir metot ile aynı kategoride sonuç alınmış olması olarak tanımlanmış; uyumsuz sonuçlar DD veya GST ile yanlış duyarlı bulunmuş ise çok büyük hata, DD veya GST ile yanlış dirençli bulunmuş ise büyük hata, DD veya GST ile orta duyarlı bulunmuş iken referans yöntem ile dirençli veya duyarlı bulunmuş veya tersi ise küçük hata olarak kategorize edilmiştir.

*S.aureus* suşları CLSI rehberine göre değerlendirildiğinde DD ve GST, SMD ile % 100 uyumlu, EUCAST kriterleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise GST, SMD metodu ile % 92 oranında uyumlu sonuç vermiştir (% 5 çok büyük hata, % 3 büyük hata). CLSI kriterlerine göre KNS'lerin 17'si teikoplanine orta derecede duyarlı bulunurken GST ve DD yöntemleri SMD ile % 85 uyumlu sonuç vermiştir (% 15 küçük hata). KNS'lerin duyarlılık test sonuçları EUCAST kriterleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise yöntemler arası uyumun % 71 olduğu görülmüştür (% 29 çok büyük hata). Sonuç olarak, referans yöntemle teikoplanine duyarlı bulunan suşlar için yöntemler arasında uyum problemi görülmezken orta derecede duyarlı ve dirençli bulunan suşlar için DD ve GST'nin, SMD ile uyumsuz sonuçlar vermesi stafilokokların teikoplanine duyarlı olduklarının güvenle söylenebilmesi için SMD yönteminin kullanılmasının daha uygun olacağını düşündürmüştür. Ayrıca stafilokokların teikoplanin duyarlılığının değerlendirilmesinde kullanılan standartların da sonuçlarımız üzerinde önemli etkisi olduğu unutulmamalıdır.

**Anahtar sözcükler:** disk difüzyon, gradyent strip test, sıvı mikrodilüsyon, stafilokoklar, teikoplanin

## SUMMARY

### Do the Method and / or the Evaluation Standards We Use Affect Teicoplanin Susceptibility Test Results of *Staphylococcus* Strains?

Although disk diffusion (DD) interpretive criteria for the evaluation of teicoplanin susceptibility are given in the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23 document, it has been mentioned that the ability of DD method to differentiate teicoplanin-intermediate and teicoplanin-resistant staphylococci from teicoplanin-susceptible strains is not clear. On the other hand, the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) reports that DD method is unreliable for teicoplanin susceptibility testing. We aimed in this study to determine the compliance of DD and Gradient Strip Test (GST) methods with broth microdilution (BMD) method in respect of both CLSI and EUCAST standards. Thus, we will be able to discuss whether the method and / or the evaluation standards we use effect the results of teicoplanin susceptibility tests of staphylococcus strains. Teicoplanin susceptibility testing of 100 *Staphylococcus aureus* and 100 coagulase negative staphylococci (CoNS) strains were performed with DD, GST and BMD methods and evaluated according to both CLSI and EUCAST interpretive criteria. Agreement between the methods was defined as the same category of susceptibility. Errors were defined as; very major error, resulting from false susceptibility by the DD or GST method; major error, resulting from false resistance by the DD or GST method; and minor error, intermediate result by the DD or GST method and a resistant or susceptible category by the BMD method or vice versa.

Disk diffusion and GST displayed 100 % agreement with BMD method for *S.aureus* strains according to CLSI standards, while GST displayed 92 % agreement with BMD according to EUCAST standards (5 % very major error, 3 % major error). According to CLSI standards, while 17 of CoNS strains displayed intermediate susceptibility for teicoplanin with BMD method, DD and GST methods displayed 85 % agreement with BMD (15 % minor error). On the other hand, according to EUCAST standards, overall agreement between testing methods was 71 % (29 % very major error). In conclusion, although there is not any agreement problem between testing methods for the strains determined as teicoplanin-susceptible with reference method, discordant results were obtained with DD and GST methods for the strains which displayed intermediate susceptibility or resistance with BMD method. So, it can be suggested that teicoplanin susceptibilities of staphylococcus strains can only be reliably identified by reference BMD method. In addition, it should be kept in mind that that evaluation standards we use also have an effect on the results of teicoplanin susceptibility tests.

**Keywords:** broth microdilution, disk diffusion, gradient strip test, staphylococcus, teicoplanin

**İletişim adresi:** Emel Sesli Çetin. Emre Mah. 3854 Sok. No:20, Ustam Park 2 Evleri B Blok Daire:14, ISPARTA  
Tel: (0246) 211 94 59; GSM: (0535) 977 71 90  
e-posta: emelseslicetin@gmail.com

Alındığı tarih: 22.04.2016, Yayına kabul: 16.06.2016

\* 3.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No. PS132 (18-22 Kasım 2015, ANTALYA)

## GİRİŞ

Glikopeptid antibiyotikler, beta laktam direnci gösteren klinik izolatlar ve özellikle de metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'larla (MRSA) meydana gelen infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu ilaçlara duyarlılık durumunun tespiti özellikle vankomisine dirençli enterokok ve stafilokokların bildirilmeye başlamasından sonra çok önemli hale gelmiştir<sup>(2)</sup>. Stafilokokların yol açtığı infeksiyonların glikopeptidlerle tedavileri sırasında karşılaşılan yetersiz klinik yanıtın en önemli sebeplerinden biri olarak bu izolatların glikopeptidlere yüksek minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine sahip olmaları öne çıkmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda MİK değerlerindeki artışın duyarlılık sınır değerlerinin altında dahi olsa klinik yanıtı olumsuz yönde etkilediği ileri sürülmektedir<sup>(6)</sup>.

CLSI M100-S23 rehberinde tüm stafilokok izolatlarının vankomisin duyarlılığının belirlenmesinde sıvı mikrodilüsyon (SMD) yönteminin kullanılmasının gerekli olduğu, disk difüzyon (DD) yönteminin vankomisine duyarlı izolatları orta derecede duyarlı ya da dirençli izolatlardan ayırmada yeterli olmadığı bildirilirken teikoplanin için zon çapları bildirilmektedir. Bununla birlikte DD yönteminin teikoplanine orta duyarlı ya da dirençli izolatları duyarlı izolatlardan ayırmadaki etkinliğinin açık olmadığı belirtilmektedir<sup>(4)</sup>. Diğer taraftan, EUCAST rehberi ise DD yönteminin her iki antibiyotik için de güvenilir olmadığını bildirmekte ve herhangi bir zon çapı sınır değer önermemektedir<sup>(10)</sup>.

Bu iki farklı bakış açısından yola çıkarak bu çalışmada klinik stafilokok izolatlarının teikoplanin duyarlılığının belirlenmesinde DD yöntemi ve pratik bir MİK belirleme yöntemi olarak öne çıkan gradient strip testi (GST) yöntemlerinin SMD yöntemi ile uyumlarının CLSI ve EUCAST standartları ışığında değerlendirilmesi ve böylece teikoplanin duyarlılığının değerlendirilmesinde seçilen yöntem ve/veya değerlendirme standartlarının sonuçlarımız üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilip, Gram boyama, katalaz, koagülaz testlerinin ardından tam otomatik BD Phoenix 100 bakteri tanımlama sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile tanımlanması yapılmış olan 100 *S.aureus* (23 MRSA, 77 MSSA) ve 100 KNS (83 MRKNS, 17MSKNS) suşu dahil edilmiştir. Bir hastadan izole edilmiş sadece bir suş çalışmaya dahil edilmiş, tüm testler ikili olarak çalışılmıştır. Stafilokok suşlarının teikoplanin duyarlılık durumları referans yöntem olan SMD yöntemi yanında GST ve DD yöntemleri ile test edilmiştir. Disk difüzyon ve GST için her bir çalışma suşunun 0.5 McFarland bulanıklık standardında hazırlanmış süspansiyonundan Müller Hinton agar plağı (Becton Dickinson, ABD) yüzeyine yayılıp, kısa süre kurumaması beklendikten sonra teikoplanin diski (30 µg, BD BBL, Becton Dickinson, ABD) ve teikoplanin gradient test stripleri (0.016-256 mg/L) (Liofilchem, İtalya) besiyerinin yüzeyine yerleştirilip 35±1°C'de 18-24 saat inkübasyonun sonunda inhibisyon zon çapları ve MİK değerleri belirlenmiştir. Sıvı mikrodilüsyon testi ise steril mikrodilüsyon plaklarının kuyucuklarında, katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (Becton Dickinson, ABD) içerisinde 0.016-512 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde seri dilüsyonları hazırlanmış olan teikoplanin (Sanofi-Pasteur) süspansiyonu içerisine 0.5 McFarland bulanıklık standardında hazırlanmış bakteri süspansiyonu son konsantrasyonu 5x10<sup>4</sup> cfu/kuyucuk olacak şekilde eklenerek 18-24 saat inkübasyon sonrası üreme gözlenmeyen kuyucukların tespit edilmesi ile yapılmıştır<sup>(3)</sup>.

Duyarlılık test sonuçları CLSI ve EUCAST standartlarına göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir<sup>(3,10)</sup>. Test edilen tüm stafilokok suşları için CLSI standartlarına göre, ölçülen zon çapı ≥14 mm duyarlı, 11-13 mm orta derecede duyarlı, ≤10 mm dirençli; MİK değerleri ≤8 µg/mL duyarlı, 16 µg/mL orta derecede duyarlı, ≥32 µg/mL dirençli olarak değerlendirilmiştir (CLSI)<sup>(3)</sup>. EUCAST standartlarına göre ise test edilen *S.aureus*'lar için MİK değerleri ≤2 µg/mL duyarlı,

>2 µg/mL dirençli olarak değerlendirilirken, KNS'ler için ≤4 µg/mL duyarlı, >4 µg/mL dirençli olarak değerlendirilmiştir. EUCAST rehberi DD yönteminin güvenilir olmadığını bildirmekte, DD testi için herhangi bir zon çapı sınır değeri önermemektedir. Bu nedenle EUCAST standartları sadece GST ve SMD yöntemlerinin karşılaştırılmasında kullanılmıştır<sup>(10)</sup>. Kalite kontrol amacıyla *S.aureus* ATCC 29213 suşu kullanılmıştır. Çalışmaya alınan suşların izole edildikleri klinik örneklerle ve servislere göre dağılımı Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** *S.aureus* suşlarının izole edildikleri klinik örneklerle ve servislere göre dağılımı.

	Kan	İdrar	SVS*	Abse/Yara	TA**	Toplam
Yoğun bakım	8	1	1	-	14	24
Dahiliye	8	5	1	12	1	27
Cerrahi	1	2	3	37	-	43
Pediatri	2	-	-	4	-	6
<b>Toplam</b>	<b>19</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>53</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

\*SVS: Steril vücut sıvısı, \*\*TA: Trakeal aspirat

**Tablo 2.** KNS suşlarının izole edildikleri klinik örneklerle ve servislere göre dağılımı.

	Kan	İdrar	SVS	Abse/Yara	Toplam
Yoğun bakım	25	4	1	-	30
Dahiliye	19	12	3	1	35
Cerrahi	6	8	4	7	25
Pediatri	6	-	-	-	6
Acil	1	1	2	-	4
<b>Toplam</b>	<b>57</b>	<b>25</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

Duyarlılık test metodlarının birbiriyle uyumlu oluşu her bir metod ile aynı duyarlılık kategorisinde sonuç alınmış olması olarak tanımlanmıştır. Uyumsuz sonuçlar ise çok büyük hata (referans yöntem ile dirençli bulunan suşun diğer metod ile duyarlı bulunmuş olması), büyük hata (referans metod ile duyarlı bulunan suşun diğer metod ile dirençli bulunmuş olması), ve küçük hata (referans yöntem ile dirençli veya duyarlı bulunmuş suşun diğer metod ile orta duyarlı bulunmuş olması veya tersi) olarak kategorize edilmiştir. Çok büyük hata oranının ≥% 1.5, büyük hata oranının ≥% 3, ve küçük hata oranının % 10 olması kabul edilemez hata oranları olarak belirlenmiştir<sup>(7)</sup>.

## BULGULAR

### *S.aureus* suşları:

CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde suşların tamamı mikrodilüsyon yöntemi ile teikoplanine duyarlı bulunmuştur (MİK değerleri 0.25-8 arası; MİK<sub>50</sub>: 1; MİK<sub>90</sub>: 4). Bu izolatların DD ve GST ile değerlendirilmeleri sonucunda da tamamı SMD sonuçları ile uyumlu olarak duyarlı kategorisinde (% 100 uyum) sonuç vermiştir.

EUCAST kriterleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise SMD ve GST yöntemleri ile %92 oranında uyumlu sonuç elde edilmiştir. SMD ile dirençli bulunan 18 suşun 13'ü GST ile dirençli, beşi duyarlı (çok büyük hata oranı % 5) iken; GST ile teikoplanine dirençli olan 16 suştan üçü SMD ile duyarlı (büyük hata oranı % 3) bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 3.** *S.aureus*'ların sıvı mikrodilüsyon, GST ve DD yöntemleri ile elde edilen duyarlılık sonuçlarının CLSI ve EUCAST standartlarına göre değerlendirilmelerinin dağılımı (Parantez içindeki rakamlar referans yöntemle uyumsuz sonuç alınan suş sayısını göstermektedir).

S.aureus (n=100)	SMD*			GST**			DD***		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
CLSI	100	0	0	100 (0)	0	0	100 (0)	0	0
EUCAST	82	-	18	84 (5)	-	16 (3)	-	-	-

\*SMD: Sıvı mikrodilüsyon, \*\*GST: Gradyent strip testi,

\*\*\*DD: Disk difüzyon.

### KNS suşları:

CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde GST ve DD yöntemleri SMD ile % 85 uyumlu sonuç vermiştir. SMD yöntemi ile hiçbir KNS suşunda teikoplanine direnç tespit edilmemiş, 17 suş teikoplanine orta derecede duyarlı bulunmuştur (MİK değerleri 0.25-16 arası; MİK<sub>50</sub>: 4; MİK<sub>90</sub>: 16). SMD yöntemi ile orta derecede duyarlı bulunan 17 suştan yalnızca ikisinde GST ve DD difüzyon yöntemleri ile de orta derecede duyarlı sonuç elde edilmiştir. Referans yöntemle orta derecede duyarlı bulunan diğer 15 suş için ise GST ve DD ile duyarlı sonuç elde edilmiştir (% 15 küçük hata).

EUCAST kriterleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise yöntemler arası uyumun

% 71 olduğu görülmüştür. SMD yöntemi ile duyarlı bulunan 55 suşun hepsi GST ile duyarlı bulunmuştur. SMD ile dirençli bulunan 45 suşun 16'sı GST ile dirençli, 29'u duyarlı (% 29 çok büyük hata) bulunmuştur (Tablo 4).

**Tablo 4.** KNS'lerin sıvı mikrodilüsyon, GST ve DD yöntemleri ile elde edilen duyarlılık sonuçlarının CLSI ve EUCAST standartlarına göre değerlendirilmelerinin dağılımı (Parantez içindeki rakamlar referans yöntemle uyumsuz sonuç alınan suş sayısını göstermektedir).

KNS (n=100)	SMD			GST			DD		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
CLSI	83	17	0	98 (15)	2(0)	0	98 (15)	2 (0)	0
EUCAST	55	-	45	84 (29)	-	16 (0)	-	-	-

## TARTIŞMA

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar klinik stafilokok izolatlarının teikoplanin duyarlılığının değerlendirilmesinde kullanılan yöntem ve değerlendirme standartlarının her ikisinin de sonuçlar üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Test edilen suş teikoplanine duyarlı ise kullanılan yöntem ve standardın farklılığı duyarlılık kategorisini etkilemiyor gibi görünürken, özellikle SMD yöntemi ile orta derecede duyarlı ya da dirençli bulunan suşların farklı test yöntemi ve değerlendirme standartları kullanıldığında kategorik olarak farklı sonuçlar elde edilebildiği görülmüştür. Çalışmanın bulguları dikkate alındığında *S.aureus* suşlarının teikoplanin duyarlılığını değerlendirmek için CLSI standartları kullanıldığında DD ve GST yöntemlerinin referans yöntem ile % 100 uyumlu sonuçlar verdiği görülmüştür. Diğer taraftan EUCAST standartlarına göre değerlendirme yapıldığında ise GST metodu ile çok büyük hata oranının % 5, büyük hata oranının % 3 bulunmuş olması EUCAST standartlarına göre *S.aureus* suşlarının teikoplanin duyarlılıklarının tespitinde GST metodunun kabul edilemez sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur.

Koagülaz negatif stafilokok suşlarının duyarlılık test sonuçları CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde GST ve DD yöntemlerinin referans yöntem ile % 15 oranında küçük hata ile birlikte % 85 uyum gösterdiği tespit edilmiş-

tir. Hatalı sonuçların tamamı küçük hata olmakla birlikte % 15 gibi kabul edilemez oranda olması nedeniyle KNS'ler için CLSI kriterleri dikkate alındığında da DD ve GST'nin test edilen KNS suşlarının duyarlı olduklarını söylemede yeterince güvenilir olmadığı düşünülmüştür. KNS suşlarının duyarlılık test sonuçları EUCAST kriterleri dikkate alınarak değerlendirildiğinde ise GST'nin SMD ile uyumunun daha da düşük oranda olması (% 71) ve uyumsuz sonuçların tamamının çok büyük hata kategorisinde olması nedeniyle EUCAST standartları kullanılarak yapılacak teikoplanin duyarlılığının değerlendirilmesinde GST yöntemi ile elde edilecek duyarlılık sonuçlarının güvenilir olmadığı tespit edilmiştir.

Stafilokok türlerinde SMD ve DD yöntemlerinin uyumunun araştırıldığı Camargo ve ark.<sup>(1)</sup>'nin çalışmasında 63 stafilokok suşunun bu iki yöntem ile elde edilen duyarlılık sonuçlarının % 96.8 oranında uyumlu bulunduğu bildirilmiş, uyumsuz sonuç bulunan tüm stafilokokların (iki suş) *S.epidermidis* olduğu ve uyumsuzluğun minör hata düzeyinde olduğunu (DD ile orta duyarlı iken mikrodilüsyon ile duyarlı ya da dirençli olması) belirtilmiştir. Araştırmacılar bu bulgularına dayanarak DD yönteminin en azından kendi hastaneleri için halen stafilokokların teikoplanin duyarlılığını tespit etmede kullanılabilirliğini öne sürmüştür. Bununla birlikte araştırmada değerlendirilen suşların çoğunun (% 95.2) teikoplanine duyarlı olduğu, sadece üç suşun orta duyarlı kategorisinde olduğu ve değerlendirme standardı olarak CLSI rehberini kullanmış olmaları dikkate alındığında bu çalışma sonucunda varılan yargının teikoplanin dirençli ya da orta derecede duyarlı daha fazla suş içeren ve EUCAST rehberini de dikkate alan bir çalışmada daha farklı olabileceği gerçeği göz ardı edilmemelidir. Nitekim bizim çalışmamızda CLSI rehberi de kullanılsa EUCAST rehberi de kullanılsa SMD yöntemi ile orta duyarlı ya da dirençli bulunmuş suşların tamamının GST ve DD yöntemleri ile tespit edilemediği görülmüş, özellikle KNS'ler için DD ve GST yöntemlerinin teikoplanine dirençli suşları duyarlılardan ayırmada güvenle kullanılamayacağı düşünülmüştür.

Jansen B ve ark.<sup>(5)</sup> da klinik stafilokok izo-

latlarının vankomisin ve teikoplanine duyarlılıklarını agar dilüsyon (AD), GST ve DD yöntemleri ile değerlendirdikleri çalışmalarında teikoplanin için GST ile elde edilen MİK değerlerinin AD yöntemi ile elde edilenlerden biraz düşük olduğunu, teikoplanine orta derecede duyarlı ve dirençli izolatların AD sonuçları ile DD sonuçlarının arasında korelasyon bulunmadığını bildirmişler, stafilokokların rutin teikoplanin duyarlılık testlerinde dirençli suşların belirlenmesi için GST gibi bir yöntemle MİK belirlemenin DD yöntemine göre daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızın göze çarpan bulgularından biri de *S.aureus* suşlarında çok düşük olan teikoplanin direncinin KNS'lerde çok daha yüksek bulunmuş olması idi. Bulgularımıza benzer olarak Trueba ve ark.<sup>(11)</sup> 2000-2004 yılları arasında dört yıllık bir dönemde 2476 stafilokok suşunun teikoplanine direnç durumlarını değerlendirdikleri çalışmaları sonucunda *S.aureus* suşlarında teikoplanine direnç oranı çok düşük iken metisiline dirençli olduğu tespit edilmiş olan 300 *S.epidermidis* suşunun 165'inin (% 55) teikoplanine de dirençli olduğunu tespit etmiş, bu suşların sadece birinde vankomisine azalmış duyarlılık gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, KNS'lerde gözlenen yüksek teikoplanin direncinin hastanede ve toplumda hızla yayılabileceğini, bu nedenle bu duruma sebep olabilecek risk faktörlerinin detaylı araştırıldığı prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hastanemizde yatan hastalardan izole edilmiş olan KNS'lerde SMD yöntemi ile % 45 gibi azımsanamayacak düzeyde yüksek oranda teikoplanin direnci tespit edilmiş olması referans yöntem kullanılmadığında yanlış duyarlı sonuç verme olasılığımızın çok da düşük olmadığı gerçeğini öne çıkarmaktadır.

Satola ve ark.<sup>(8)</sup> 140 MRSA izolatında heterojen glikopeptid direncinin tespit edilmesine yönelik farklı yöntemlerin etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında standart E-test yöntemi ile teikoplanin için 3 µg/ml ve üzerinde MİK değeri bulunmuş olan suşların hepsinde heterojen glikopeptid direnci tespiti için referans yöntem olan popülasyon analiz profili ve eğri altında kalan alan (PAP-AUC) yöntemi

ile hVISA varlığının gösterildiğini, vankomisin içeren Beyin Kalp İnfüzyon agar tarama plağı kullanılmasının yanlış negatif hVISA sonucu verdiği iki suşun da teikoplanin MİK değerlerinin 3 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir. *S.aureus*'ların vankomisinden daha önce teikoplanine direnç kazandıkları önceki çalışmalarda da bildirilmektedir. Tüm teikoplanine dirençli suşlarda vankomisin için çapraz direncin söz konusu olmayacağı, teikoplanine dirençli *S.aureus*'ların vankomisine duyarlı olmaya devam edebileceği kabul edilse de Sieradski ve ark.<sup>(9)</sup> vankomisine azalmış duyarlılık gösteren tüm *S.aureus*'ların teikoplanine de azalmış duyarlılık gösterdiğini bu nedenle teikoplanine azalmış duyarlılığın VISA ve hVISA için faydalı bir gösterge olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda test edilen *S.aureus* suşlarının teikoplanin duyarlılık test sonuçları CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde kullanılan test metodlarının hiçbiri ile teikoplanin direnci tespit edilmemişken sonuçlar EUCAST standartları dikkate alınarak değerlendirildiğinde SMD yöntemi ile CLSI kriterlerine göre duyarlı bulunmuş suşlardan 18'inin GST yöntemi ile ise 16'sının dirençli kategorisinde olduğu, dirençli kategorisinde olduğu görülmüştür. Bu veriler, halen rutin laboratuvar uygulamalarında tespit edilmesinin zor olduğu bilinen azalmış glikopeptid duyarlılığının erken fark edilmesi açısından duyarlılık test sonuçlarının EUCAST standartları kullanılarak değerlendirmesinin daha faydalı olacağını düşündürmüştür.

Sonuç olarak, referans yöntemle teikoplanine duyarlı bulunan izolatlar için test yöntemleri arasında uyum problemi görülmezken orta derecede duyarlı bulunan izolatlar için disk difüzyon ve GST yöntemlerinde SMD ile uyumsuz sonuçlar bulunmuş olması bu izolatların teikoplanine duyarlı olduklarının güvenle söylenebilmesi için referans yöntem olan SMD yönteminin kullanılmasının daha uygun olacağını düşündürmüştür, duyarlılık test sonuçlarının değerlendirilmesinde EUCAST rehberi standart olarak kullanıldığında klinik stafilokok izolatlarının teikoplanin için duyarlılık oranlarının daha düşük bulunacağı yargısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Camargo CH, Mondelli AL, Villas Bôas PJF. Comparison of teicoplanin disk diffusion and broth microdilution methods against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*, *Braz J Microbiol* 2011;42(4):1265-8.
2. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* – New York, 2004, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004;53(15):322-3.
3. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard, 8th ed. CLSI Document M07-A8. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. (2009).
4. CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI Document M100-S23. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. (2013).
5. Jansen B, Schumacher-Perdreau F, Pulverer G. Susceptibility of staphylococci and enterococci to glycopeptides comparison of 3 test methods, *Zentralbl Bakteriolog* 1995;282(4):402-8.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80711-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80711-5)
6. Lodise TP, Graves J, Evans A et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(9):3315-20.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00113-08>
7. NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters: M23-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, P.A. (1981).
8. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method, *J Clin Microbiol* 2011;49(1):177-83.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01128-10>
9. Sieradzki K, Villari P, Tomasz A. Low-level teicoplanin resistance and heteroresistance to vancomycin, *Ann Intern Med* 1998;128(3):245.  
<http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-128-3-19980210-00021>
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015. <http://www.eucast.org>
11. Trueba F, Garrabe E, Hadeif R et al. High prevalence of teicoplanin resistance among *Staphylococcus epidermidis* strains in a 5-year retrospective study, *J Clin Microbiol* 2006;44(5):1922-3.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.44.5.1922-1923.2006>