



MİKROBİYOLOJİ BÜLTENİ

CİLT : 9

1975

SAYI : 1

ORİJİNAL YAZILAR

ANTİBİYOTİK DİRENÇ TESTLERİNDE

HANGİ BESİYERİ (**)

Dr. Nuran YULUĞ (*)

Antibiyotik direnç testlerinde çeşitli unsurların sonucu etkilediği bilinmektedir. Besiyeri çeşidi de bu unsurlardan biridir.

Bundan önceki bir çalışmamızda değişik besiyerleri kullanılması durumunda aynı antibiyotik aynı bakteri suşunu farklı değerlerde etkilediğini göstermiştik. (11) Aynı çalışmada; sonuçlardaki bu farklılığın besiyerlerindeki iyon konsantrasyonlarının farklılığı ile ilgili olduğu da saptanmıştı. Bu bulguya dayanarak insan vücudunun vereceği değerlere en yakın değerleri hangi besiyerinin verebileceğini araştırdık. Bu amaç ile giriştiğimiz araştırmalar her insan serumunun bakteri suşlarına karşı farklı besiyerleri kullanılması durumundaki gibi değişik değerleri yarattığını göstermiş bulunmaktadır. Dolayısıyla, her besiyerinin ve insan serumunun antibiyotiklerin bakteri üzerinde gösterdiği etkiye tesir ederek M.I.C. değerini farklılaştırması nedeni ile kritik durumlarda, nüküslerde, hatta normal seyirli hastalarda tedaviden önce hastadan alınacak kanın (2.5 ml serum 8 çeşit antibiyotik denemesi için yeterlidir) laboratuvara gönderilmesi ve böylece hastanın bizzat kendi serumunun besiyeri olarak kullanılması ile ulaşılan sonucun en geçerli olacağı kanısına varmış bulunuyoruz.

Giriş

Antibiyotik direnç testleri ile alınacak sonuçlar çeşitli unsurların etkisi dolayısıyla değişik olabilmektedir. Besiyeri de bu unsurlardan biridir. Bundan önceki bir çalışmamızda belirli bir antibiyotik yine belirli bir bakteri suşunu, besiyeri çeşidine göre, dirençli değerden

(*) Hacettepe Üniversitesi, Mikrobiyoloji Doçenti.

(**) 16. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde tebliğ edilmiştir.

duyarlığa kadar değişebilen sonuçlar verecek şekilde etkiliyebildiğini göstermiştik (11). Aynı çalışmada, sonuçlardaki bu farklılığın nedeni besiyerlerindeki iyon miktarlarının farklı oluşuna bağlanmaktadır.

Bu çalışmamızda ise, invitro testlerde kullanılan çeşitli besiyerlerinden hangisinin vücudun vereceği cevaba en yakın değeri gösterdiği araştırılmaktadır.

M a t e r y e l v e M e t o d

Çalışmamızda, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarında izole edilen *Ps. aeruginosa* suşları kullanılmış ve bu suşların ticari besiyerleri ile, besiyeri olarak kullanılan insan serumunda aynı antibiyotiğe karşı yarattıkları değerler birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Besiyeri olarak :

Dextrose broth (Difco)
Mueller Hinton broth (Difco)
Trypticase Soy broth (BBL)
Nutrient broth (BBL)

kullanılmıştır.

Deneylelerimizde kullandığımız antibiyotik ve potansiyelleri :

Chloramphenicol	1 mg - 990 mcgr.
Streptomycin	1 mg - 745 mcgr.
Tetracyclin	1 mg - 975 mcgr.
Kanamycin	1 mg - 795 mcgr.
Gentamycin	1 mg - 579 mcgr.

Antibiyotik stok solusyonları distile su içerisinde yapıp Zeiss süzgeçlerinden geçirildikten sonra 2 ml miktarlarında steril tüplere dağıtılmış ve -20 derecede saklanmıştır. Her test için stok solusyonlardan gerektiği kadar alınmıştır. Yalnızca tetracyclin ile yapılan çalışmalarda antibiyotik solusyonları daima taze hazırlanmıştır.

Normal insan serumları gönüllü laboratuvar teknisyenlerinden sağlanmıştır. Bu gönüllülerin bir haftadan beri antibiyotik almamışları saptanmıştır. 56 derecede 20 dakika tutularak inaktif yapılan se-

rumların anti - bakteriyel kudreti bulunmuştur. Serum çalışmalarında, serumların bu antibakteriyel değeri başlangıç noktası olarak alınmıştır. Serumlar da deneye sokuluncaya kadar —20 derecede saklanmıştır.

Bakteri kültür dilüsyonları her besiyeri için ayrı hazırlanmıştır. Bakterinin 18 - 24 saatlik (o/n) kültürleri ml'de 10^5 bakteri olacak şekilde sulandırılmıştır (Ekim yapılan pleyt çukurlarında bakteri sayısı $5 \cdot 10^4$ /ml olacak şekildedir). İnsan serumları ile yapılan deneylerde insan serumunun antibakteriyel değerinin üzerine diğer besiyelerinde uygulanan bakteri sayısı eklenmiştir.

Bakteri sulandırılmaları için serum fizyolojik kullanılması nedeni ile bütün deneylerde bakteri kültür ortamı % 50 sulanmış olmaktadır.

Deneyler mikrotitrasyon aletinde yapılmıştır. Muhtemel hataları önleme amacı ile her deney iki defa yapılmış ve sonucun farklı olması durumunda deney tekrarlanmıştır.

B u l g u l a r

Çalışmamız sırasında, duyarlık sınırı yönünden antibiyotiklerin kandaki terapötik düzeyleri gözönünde tutulmuştur (^{6 9}). Bu değerler chloramphenicol için 20, streptomycin için 50, tetracyclin için 5, kanamycin için 20 ve Gentamicin için 2 mcgr/ml olarak alınmıştır. Deney sonuçlarımız tablo I'de gösterilmiştir. Deney yaptığımız bütün suşlarda tablo I'de gösterilen suşta bulmuş olduğumuz gibi farklı sonuçlar görülmüştür.

Chloramphenicol ile yapılan deneylerde bütün besiyelerlerinden alınan MIC değerleri dirençli görülmektedir. Ancak nutrient broth'daki değer, diğer besiyeleri kullanıldığında bulunan değerlerden daha düşük kalmaktadır. Besiyeri olarak insan serumunun kullanılmasında alınan sonuçlar ise çok daha düşük değerdedir.

Streptomycin kullanıldığında nutrient broth'da düşük bulunan MIC değeri diğer besiyelerinde ve insan serumlarında yüksek bir değer taşımaktadır.

Tetracyclin ile yapılan çalışmalarda; bu antibiyotiğin besiyelerinde gösterdiği etkinin insan serumlarında gösterdiği etkiden farklı olduğu saptanmıştır, Besiyelerinde bulunan MIC değerleri serumda bulunan MIC değerlerinden daha düşüktür.

TABLO I

Besiyerleri	Kullanılan antibiyotikler ve MIC değerleri				
	Chloram- phenicol mcgr/ml	Strep- tomycin mcgr/ml	Tetra- cyclin mcgr/ml	Kana- mycin mcgr/ml	Genta mycin mcgr/ml
Dextrose broth	1000	125	31.2	31.2	0.5
Mueller - Hinton broth	1000	1000	15.6	62.5	2
Trypticase - soy broth	500	1000	15.6	62.5	62.5
Nutrient broth	500	3.9	15.6	7.8	0.12
İnsan serumu 1.	7.8	1000	1000	15.6	7.8
» » 2.	7.8	1000	500	15.6	31.2
» » 3.	7.8	1000	1000	15.6	7.8
» » 4.	31.2	1000	1000	250	62.5
» » 5.	31.2	1000	1000	62.5	7.8
» » 6.	7.8	1000	1000	3.9	7.8
» » 7.	15.6	1000	1000	62.5	3.9
» » 8.	7.8	1000	1000	15.6	15.6
» » 9.	31.2	1000	1000	15.6	62.5
» » 10.	7.8	1000	1000	15.6	7.8

Çeşitli besiyerlerinde ve insan serumları besiyeri olarak kullanıldığında aynı bakteri suşunun çeşitli antibiyotikler yönünden verdiği sonuç.

Kanamycin için bulunan değerler de birbirinden farklı olmuştur.

Gentamycin ile yapılan deneylerde ise insan inaktif serumları kullanılmasında bulunan dirençli durum trypticase soy broth hariç diğer besiyerlerinde duyarlı bir sonuç yaratmaktadır.

İnsan serumlarının besiyeri olarak kullanılmasıyla alınan sonuçlara arasında da bazı farklılıklar olduğu ayrıca saptanmıştır.

T a r t ı Ő m a v e S o n u ç

Antibiyotik duyarlık testlerinde çeşitli yöntemlerin uygulanması sonucu değiştirmektedir (3 4 5 10).

Streptomycin kanamycin ve gentamycin için nutrient broth'da (Difco) bulunan değerlerin çok düşük olduğu göze çarpmaktadır (Tablo I). Ca, Na ve K iyonlarının streptomycin, Mg iyonlarının gentamycin (4 5 8) ve kanamycin'in (7) etkisini azalttığı bilinmektedir.

Garrod ve arkadaşları çeşitli firmalara ait nutrient broth'ların aminoglikosid antibiyotiklerde çok farklı sonuçlar verdiğini göstermişlerdir. Bundan önceki çalışmalarımızda (11) nutrient broth'da

(Difco) daha düşük MIC değerleri bulmamızın nedeni besiyerinde mevcut iyon konsantrasyonu azlığı ile açıklanmaktadır.

Bulger ve ark (2) Mueller - Hinton besyeri ve normal insan serumu kullanarak yaptıkları çalışmalarda benzer sonuç almaları nedeni ile antibiyotik direnç testlerinde bu besiyerinin kullanılmasını önermişlerdir. Bunun yanında, invitro testlerde besiyerlerine % 10 serum ilâve edilmesi ile proteine bağlanan antibiyotikler yönünden MIC değerinin %50'ye kadar yükselme gösterdiği de saptanmıştır(3).

In vitro çalışmalarda kullanılan çeşitli besiyerlerinden hangisinin insan serumunun vereceği sonuçlara paralel bir değer gösterdiği kesinlikle bilinmemektedir.

Hangi besiyerinin insan vücuduna yakın sonuç vereceğini saptamak üzere girişilen bu çalışmamızda, çeşitli insan serumu kullanarak yapılan deneyler açısından, her kişi serumunun pek ufak farklarla da olsa değişik ve kişisel bir yapı göstermesi nedeni ile değişik bir besiyeri teşkil ettiği ortaya çıkmıştır.

Besiyerinde mevcut iyon konsantrasyonlarının farklı oluşu invitro olduğu gibi in vivo olarak da sonuç değeri düşürebilecek veya yükseltebilecektir.

Her besiyerinin ve kişi serumunun antibiyotiklerin bakteri üzerinde gösterdiği aktiviteyi etkileyerek MIC değerini farklılaştırması nedeni ile kritik durumlarda, nüküslerde ve hatta normal seyirli hastalarda tedaviden önce hastadan alınacak kanın (2.5 ml serum 8 çeşit antibiyotik denemesi için yeterlidir.) laboratuvara gönderilmesi ve böylece hastanın bizzat kendi serumunun besiyeri olarak kullanılması ile ulaşılan sonucun en geçerli olacağı kanısına varmış bulunuyoruz.

Summary

CHOICE OF MEDIA IN ANTIBIOTIC - SUSCEPTIBILITY TESTS.

Nuran YULUĞ M. D. (*)

Usually, various results were attained when different media used for *in - vitro* antibiotic susceptibility tests. It is ideal to define a media which respond as human body. In the present study, various human sera were used for antibiotic susceptibility tests. As a result of repeated experiments, it has found that each human serum given different result. Therefore, it is concluded that the use of patient's sera is more advisable than chemically defined media in antibiotic susceptibility tests.

Kaynaklar

- 1 — Branch, A., Starkey, D. H. Power, E. E. : Diversification in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganism. *Ann. Microb.* 13; 169, 1965.
- 2 — Bulger, R. J.; Nielson K. : Effect of different media in vitro studies of antibiotic combinations. *Appl. Microbiol.* 16; 890, 1968.
- 3 — Garrod, L.P., O'Grady F : Antibiotic and Chemotherapy. Harris and Coleman (ed) Livingstone, 1971.
- 4 — Garrod, L.P., Waterworth P. M. : Test of bacterial sensitivity to drugs. *Disease of month*, July. 1971.
- 5 — Gürer, I. : Disk plak diffüzyon metodu kullanarak yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlarına etki yapan faktörler üzerinde araştırma ve bulgular. *Mikrobiol. Bült.* 5 : 1971, Sayı 4 eki
- 6 — O'Kell, R., Knepper, D.F., Spoon, B.D., Elliott, J. R. : Influence of antibiotics on laboratory tests. *Clinical chemistry.* 17; 325, 1971.
- 7 — Kunin, C. M., Finland M. : Susceptibility and bacteria to streptomycin, neomycin, paromycin, kanamycin. *Ann. NY Acad. Sci.* 76; 42, 1958.
- 8 — Medeiros, A., O'Brien, T. F., Wacker, W.E.C., Yuluğ, N. : Effect of salt concentration on the apparent *in - vitro* susceptibility of pseudomonas and other gram negative bacilli to gentamycin. *J. Infect. Dis.* 124. 1971 supplement, december.
- 9 — Primavesi, C.A.. : Bakteriologische untersuchungen mit gentamicin. *Ther di Gegenw.* 1172, 1966. In Muller, F. E. Gentamycin in the treatment of pseudomonas infections complicating burns. *Genter. First Int. Symposium*, Paris, 1967.
- 10 — Yuluğ, N., İmir, T. : Antibiyotik direnç testlerinde sonucu etkileyen faktörler. *Mikrobiyol. Bült.* 6 : 187, 1972.
- 11 — Yuluğ, N. : Antibiyotik direnç testlerinde besiyeri yapısının sonuca etkisi. *Mikrobiyol. Bült.* 4 : 309, 1973.

(*) Assoc. Professor in Microbiology, Univ. of Hacettepe, Ankara/Turkey.