



KLİNİK *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* VE *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARINDA İMİPENEM DİRENCİNİN HIZLI TESPİTİNDE AST FAST ES/NF AGAR BESİYERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF AST FAST ES/NF AGAR MEDIUM FOR RAPID DETECTION OF IMPENEM RESISTANCE IN CLINICAL KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES

Aybala TEMEL^{1*} , Yamaç TEKİNTAŞ¹ , Mine HOŞGÖR LİMONCU² ,
Feriha ÇİLLİ³ 

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 35620, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 35040, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 35040, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii* başta olmak üzere dirençli gram negatif mikroorganizmalar yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle klinik izolatların antibiyotik duyarlılıklarının en kısa sürede ve doğru tespiti kritik öneme sahiptir. Günümüzde karbapenem direnci fenotipik ve/veya genotipik yöntemlerle belirlenmektedir. Fenotipik yöntemlerde (disk difüzyon, mikrodilüsyon) hem özgüllük hem de duyarlılık açısından farklılıklar sıklıkla ortaya çıkabilmektedir. Nispeten daha güvenilir sonuçlar veren polimeraz zincir reaksiyonu gibi moleküler metotlar ise iş gücü gerektiren ve yüksek maliyetli yöntemler olduğundan, antibiyotik direncini saptamaya yönelik hızlı, güvenilir ve ekonomik yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada kromojenik AST Fast ES/NF besiyerinin EUCAST standart disk difüzyon metoduyla antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında kullanımının uygunluğu

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Aybala Temel
e-posta / e-mail: aybala.temel@ikcu.edu.tr, Tel. / Phone: +902323293535/6161

araştırılmıştır. Karbapenem dirençli olduğu moleküler yöntem/otomatize sistemle belirlenen dört *K.pneumoniae* ve beş *A.baumannii* izolatıyla çalışılmıştır.

Sonuç ve Tartışma: Çalışma sonucunda AST Fast ES/NF besiyerinde inhibisyon zon çaplarının 4-6 saat içerisinde ölçülebilir duruma geldiği belirlenmiş ve üretici firmanın önerilerine uygun şekilde izolatların duyarlılıkları belirlenmiştir. Mueller Hinton Agar kullanılarak gerçekleştirilen disk difüzyon test sonuçlarının, AST Fast ES/NF agar kromojenik besiyeriyle elde edilen sonuçlar ile büyük oranda uyumlu olduğu belirlenmiştir. Standart disk difüzyon test yönteminde önerilen inkübasyon süresinin 16-20 saat olduğu ve ancak bu süre sonunda duyarlılık kategorisinin belirlendiği düşünüldüğünde kromojenik besiyerinin zaman açısından önemli bir avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, AST fast agar, disk difüzyon metodu, kromojenik besiyeri, *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Objective: Resistant gram-negative microorganisms, especially *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*, cause life-threatening infections. Hence, it is critical to determine the antibiotic susceptibility of clinical isolates rapidly and accurately. Nowadays, carbapenem resistance is determined by phenotypic/genotypic methods. For phenotypic methods (disk diffusion, microdilution), differences in specificity and sensitivity can often occur. Since molecular methods such as polymerase chain reaction giving relatively more reliable results, are labor-intensive and costly, new fast, reliable and economical methods are needed.

Material and Method: The performance of chromogenic AST Fast ES/NF agar for the EUCAST standard disk diffusion method was investigated. Four *K. pneumoniae* and five *A. baumannii* isolates, which were determined to be carbapenem resistant by molecular method and automated system results, were included in the study.

Result and Discussion: The inhibition zone diameters were became measurable within 4-6 hours in AST Fast ES/NF and the susceptibility categories were interpreted according to the manufacturer's recommendations. The results of disk diffusion test performed with MHA, were largely consistent with the results obtained with the AST Fast ES/NF. Considering that the incubation period recommended by EUCAST in the standard disk diffusion test method is 16-20 hours and the sensitivity category is measured at the end of this period, it is thought that the chromogenic medium may provide a significant advantage.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, AST fast agar, chromogenic medium, disk diffusion method, *Klebsiella pneumoniae*

GİRİŞ

Enterobacterales ailesi; *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri başta olmak üzere insan sağlığını tehdit eden ve yüksek morbidite/mortalite oranlarıyla seyreden farklı enfeksiyonlara neden olan bakteri türlerini içermektedir [1]. Özellikle *Klebsiella pneumoniae* türü neden olduğu ciddi klinik seyirli farklı enfeksiyonlar, hastane enfeksiyonları ve yüksek antibiyotik direnç oranlarıyla öne çıkan fırsatçı patojenlerdendir [2,3]. İnsan vücudunda gastrointestinal sistem ve nazofarenkste flora elemanı olarak rastlanan *Klebsiella* türleri, üriner sistem enfeksiyonları, sepsisemi, pnömoni, nozokomiyal enfeksiyonlar, cerrahi ve kateter ilişkili enfeksiyonlarda sıklıkla hastalık etkeni mikroorganizma olarak izole edilmektedir [4,5]. Kapsül yapısı, sideroforların varlığı, lipopolisakkaritler ve fimbria yapısı bu türlerin önemli virulans faktörleridir [4]. Ayrıca *Klebsiella* türlerinin doğal/kazanılmış antibiyotik direnç mekanizmaları, enfeksiyonların mevcut antibiyotiklerle etkili bir şekilde tedavisini daha da güçleştirmektedir [6].

Hastane enfeksiyonu etkeni bakteri türlerinden *Acinetobacter* türleri, yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastalardan sıklıkla izole edilen ve çoklu ilaç direnci gösteren fırsatçı patojen türlerden bir diğeridir [7]. *Moraxellaceae* üyesi olan, Gram negatif, hareketsiz ve nonfermentatif *Acinetobacter baumannii* türleri, önceleri virulansı düşük bir patojen olarak düşünülmüşse de, yapılan araştırmalar sonucunda pek çok farklı virulans faktörüne ve antibiyotik direnç mekanizmasına sahip olduğu anlaşılmıştır [7,8]. *Acinetobacter* türleri, farklı risk faktörlerini bulunduran hastalarda, immünsupresif bireylerde ağır klinik tablolarla seyrebilen enfeksiyonlara yol açmaktadır [9]. Bu mikroorganizma

türünün başlıca virülans faktörleri; polisakkarit kapsül, lipit A yapısı, siderofor, polisakkarit kapsül, fimbria, sitotoksik dış membran proteini, çoğunluğu algılama sistemleri, biyofilm oluşumu ve antibiyotik direnç genleri olarak sıralanabilir [10]. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda biyofilm ilişkili enfeksiyonlara, kateter ilişkili bakteriyemi ve ventilatör ilişkili pnömoneye neden olan *A. baumannii* türlerinde, enfeksiyonların mortalitesinin diğer türlerin etken olduğu enfeksiyonlara kıyasla dokuz kat yüksek olduğu belirtilmektedir [9]. Bu durumun en önemli nedenlerinden birisi olarak *Acinetobacter* türlerinin doğal ve kazanılmış antibiyotik direnç mekanizmaları gösterilebilir [9,10]. Günümüzde *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotikler başta olmak üzere, farklı antibiyotiklerin tek başlarına ve/veya kombinasyonları halinde kullanılmaktadır. Tedavide yaygın olarak karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları, aminoglikozitler kullanılmaktadır [11].

Ancak son yıllarda çoklu ilaç direnci (ÇİD) gösteren, başka bir deyişle, en az üç farklı antibiyotik sınıfından birer ilaca direnç gösteren *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının sayısında dünya çapında gözlenen artış endişe verici boyutlara ulaşmıştır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2020 yılında yayınlanan antimikrobiyal direnç surveyans raporunda, ülkemizde farklı sağlık kuruluşlarından hastalardan izole *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarında çoklu ilaç direncinin sırasıyla %40 ve %80 oranlarında olduğu belirtilmiştir (Tablo 1) [12].

Tablo 1. Kan ve BOS örneklerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter* spp. izolatlarında antibiyotik direnç oranları (2019, Türkiye)

Antibiyotik	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Antibiyotik	<i>Acinetobacter</i> spp.	
	n	% R		n	% R
Piperasilin-tazobaktam	3565	60	Piperasilin-tazobaktam	-	-
Seftazidim	3742	70	Seftazidim	-	-
Amikasin	3760	27	Amikasin	2179	70
Gentamisin/tobramisin	3925	45	Gentamisin/tobramisin	2404	80
Siprofloksasin/Levofloksasin/Ofloksasin	3933	65	Siprofloksasin/Levofloksasin/Ofloksasin	2391	91
İmipenem/meropenem	4028	39	İmipenem/meropenem	2390	90
Çoklu İlaç Dirençli*	3689	40	Çoklu İlaç Dirençli**	2362	80

n: İzolat sayısı, %R: Dirençli izolatların yüzde oranı

* *Klebsiella pneumoniae* için çoklu ilaç direnci, üç antimikrobiyal grubun en az bir temsilcisine karşı kombine direnç olarak tanımlanır: florokinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin ve/veya ofloksasin), üçüncü kuşak sefalosporinler (sefotaksim, seftriakson ve/veya seftazidim) ve aminoglikozitler (gentamisin ve/veya tobramisin) ***Acinetobacter* spp. için çoklu ilaç direnci, üç antimikrobiyal grubun en az bir temsilcisine karşı kombine direnç olarak tanımlanır: florokinolonlar (siprofloksasin ve/veya levofloksasin), aminoglikozitler (gentamisin ve/veya tobramisin) ve karbapenemler (imipenem ve/veya meropenem). Bir veya daha fazla grupta eksik veri bulunan izolatlar, çoklu ilaç direnci analizinin dışında tutulur.

Tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlayan bu durum karşısında etkili bir tedavi için klinisyenler amprik tedavi ve kombinasyon terapilerine başvurmaktadır [13]. *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* türlerinde en sık görülen antibiyotik direnç mekanizmalarının başında betalaktamaz enzimlerin varlığı gelmektedir [14]. Karbapenemler, bakteri hücre duvar sentezini bozarak etki gösterir ve geniş etki spektrumuna sahip bakterisidal ajanlardır. Ancak farklı bakteri türleri çeşitli betalaktamaz enzimleriyle karbapenemlere direnç geliştirebilmektedir. DSÖ'nün surveyans raporları incelendiğinde Gram negatif bakterilerde karbapenem direncinin yüksek seviyelere ulaştığı açıkça görülmektedir. Ülkemizde 2019 yılında izole edilen *Acinetobacter* izolatlarından %90'ının, *K. pneumoniae* izolatlarının ise %39'unun karbapenem dirençli olduğu belirtilmiştir (Tablo 1) [12].

Dirençli mikroorganizmaların sıklıkla menenjit, septisemi bakteriyemi gibi ciddi enfeksiyonlara yol açtığından, klinik izolatların antibiyotik duyarlılıklarının mümkün olan en kısa sürede ve doğru şekilde tespiti kritik öneme sahiptir. Bu sayede tedaviye daha doğru antibiyotik seçimi ile daha kısa sürede başlanması, morbidite/mortalite oranlarının ve ekonomik kayıpların azaltılması mümkün

olabilecektir [15,16]. Günümüzde gelişen teknolojinin yardımıyla karbapenemaz tespiti için kullanılan çok çeşitli biyokimyasal ve moleküler tabanlı yöntemler bulunmaktadır. Karbapenem direncinin belirlenmesi genellikle fenotipik (disk difüzyon, mikrodilüsyon) /genotipik yöntemler (Polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılarak yapılmakta, sonuçlar European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) gibi uluslararası kılavuzlara göre değerlendirilmektedir. Özellikle fenotipik yöntemler arasında hem özgüllük hem de duyarlılık açısından önemli farklılıklar olabilmektedir. Nispeten daha güvenilir sonuçlar veren moleküler metotlar ise zaman alıcı ve yüksek maliyetli olduğundan, antibiyotik direncini saptamaya yönelik daha hızlı, güvenilir ve ekonomik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır [15-17]. Bu çalışmada bakterilerin metabolik faaliyetlerine bağlı olarak birkaç saat içinde renk değiştiren kromojenik bir besiyeri AST Fast ES/NF agar (Diagnostis, Türkiye) besiyeri ve Mueller Hinton agar kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle, klinik *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının imipenem duyarlılığı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda izole edilen *Klebsiella pneumoniae* (n=4) ve *Acinetobacter baumannii* (n=5) izolatı dahil edilmiştir. *K. pneumoniae* izolatları, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile blaOXA-48, blaVIM, blaNDM ve blaKPC genlerini taşıdığı bilinen izolatlardan seçilmiştir. *A. baumannii* izolatları otomatize sistemle karbapenem dirençli olduğu bildirilen ve farklı klonlardan olduğu PCR ile saptanmış izolatlardır. İzolatların imipenem duyarlılıkları disk difüzyon test yöntemi ile belirlenmiş olup bu yöntemde Mueller Hinton Agar (MHA, Merck, Germany), AST Fast ES Agar (Diagnostis, Türkiye) (*K. pneumoniae* için) ve Ast Fast NF Agar (*A. baumannii* için) kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık profillerini belirlemek için disk difüzyon metodu uygulanarak, MHA üzerinde oluşan zon çapları ve izolatların duyarlılık kategorileri EUCAST kriterleri doğrultusunda yorumlanmıştır [18]. AST Fast ES/NF agar besiyerinde oluşan zon çapları üretici firma tarafından belirtilen sınır değerlere uygun şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmada antibiyotik diski olarak imipenem (IMP, 10 µg) (Bioanalyse, Türkiye), kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

Disk difüzyon yöntemiyle imipenem duyarlılıklarının belirlenmesi için, MHA besiyerine ekilen bakteri izolatları bir gece boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan taze kolonilerden, steril bir öze yardımıyla, serum fizyolojik çözeltisi içerisinde 0.5 McFarland bulanıklık standardına uygun inokulum süspansiyonları hazırlanmıştır. İnokulasyon öncesinde oda sıcaklığında olması sağlanan agar plaklara, hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 15 dakika içerisinde steril eküvyon yardımıyla ekim yapılmıştır. Ardından imipenem içeren diskler agar plak üzerinde merkezi konuma steril bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Diskler yerleştirildikten sonra plaklar ters çevrilerek etüvde 35°C'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MHA besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zon çapları (mm), agar plak koyu renkte bir zemin üzerine konularak cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Ölçülen zon çapları EUCAST tarafından belirtilen sınır değerlerle kıyaslanarak izolatın duyarlılık kategorisi belirlenmiştir. EUCAST tarafından disk difüzyon yönteminde imipenem sınır değerleri *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* için aşağıda belirtilen şekildedir. *K. pneumoniae* için imipenem zon çapı sınır değerleri EUCAST rehberinde '≥ 22 mm duyarlı (S), < 19 mm dirençli (R)' olarak belirtilirken, *A. baumannii* için '≥24 mm duyarlı (S), < 21 mm dirençli (R)' olarak belirtilmektedir [18].

Çalışmada, EUCAST tarafından önerilen MHA besiyeri dışında, kromojenik bir besiyeri olan AST Fast Agar ES ve AST Fast Agar NF besiyerleri kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle izolatların imipenem duyarlılıkları araştırılmıştır. Bu test besiyerine bakteri izolatlarının inokulasyonu, inkübasyonu ve sonuçların değerlendirilmesi üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekimi yapılacak besiyerleri oda sıcaklığına getirilip 0.5 McFarland bulanıklık standardında bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan inokulum süspansiyonları steril eküvyon yardımıyla AST Fast Agar ES/NF besiyeri üzerine yayılarak inokulasyon tamamlanmıştır. Bunu takiben her bir agar plakta merkezi konuma bir adet IMP diski yerleştirilmiştir. Plaklar 35-37°C'ye ayarlanmış etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 4. ve 6. saatinde plaklarda oluşan inhibisyon zonları ölçülerek üretici firma tarafından belirtilen değerlendirme

standartlarına göre yorumlanmıştır. Üretici firma tarafından AST Fast Agar ES besiyeri disk difüzyon testinde imipenem inhibisyon zonu değerlendirme standartları, *K. pneumoniae* için ≤ 13 mm için dirençli, > 13 ve < 15 için sınırdadır duyarlı, ≥ 15 için duyarlı olarak belirtilmiştir. AST Fast Agar NF besiyeri imipenem inhibisyon zonu değerlendirme standartları, *A. baumannii* için ≤ 20 mm için dirençli, > 20 mm ve < 23 mm için sınırdadır duyarlı, ≥ 23 için duyarlı olarak belirtilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmamızda standart disk difüzyon testinde *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının imipenem zon çaplarının 18-20 mm arasında değiştiği ve EUCAST kriterlerine göre dokuz izolattan ikisinin imipenem orta duyarlı, yedi izolattın ise imipenem dirençli olduğu belirlenmiştir. Aynı izolatlarla disk difüzyon testi AST Fast Agar kromojenik besiyeri kullanılarak yapıldığında imipenem inhibisyon çaplarının inkübasyonun 4. saatinde 11-24 mm arasında, 6. saatinde ise 15-24 mm aralığında değiştiği saptanmıştır. Tüm izolatlar için her iki besiyerinde ölçülen zon çapı değerleri ve yorumlama kriterlerine uygun şekilde belirlenen duyarlılık kategorileri Tablo 2’de özetlenmiştir. AST Fast Agar NF ile yapılan disk difüzyon testinde ölçüm yapılan 4. ve 6. saatlerde iki *A. baumannii* izolatına ait agar plakların görüntüsü Şekil 1’de yer almaktadır.

Tablo 2. *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının imipenem duyarlılıkları ve zon çapları

İzolat	AST Fast ES/NF Agar				MHA	
	IMP zon Çapı (mm)				IMP zon Çapı (mm)	
	4.saat	Duyarlılık Kategorisi	6.saat	Duyarlılık Kategorisi	20.Saat	Duyarlılık Kategorisi
<i>Kp14</i>	12	R	18	R	19	I*
<i>Kp35</i>	11	R	24	S	20	I*
<i>Kp111</i>	10	R	19	S	11	R
<i>Kp114</i>	12	R	18	R	12	R
<i>Ab30</i>	24	S	20	R	20	R
<i>Ab35</i>	22	I*	19	R	19	R
<i>Ab50</i>	20	R	15	R	19	R
<i>Ab55</i>	20	R	15	R	18	R
<i>Ab89</i>	21	I*	20	R	19	R

IMP: İmipenem, MHA: Mueller Hinton Agar, Kp: *Klebsiella pneumoniae*, Ab: *Acinetobacter baumannii*,

S: Duyarlı (Susceptible), I: Orta duyarlı (Susceptible, increased exposure), R: Dirençli (Resistant)

EUCAST tarafından belirtilen imipenem duyarlılık/dirençlilik sınır değerleri:

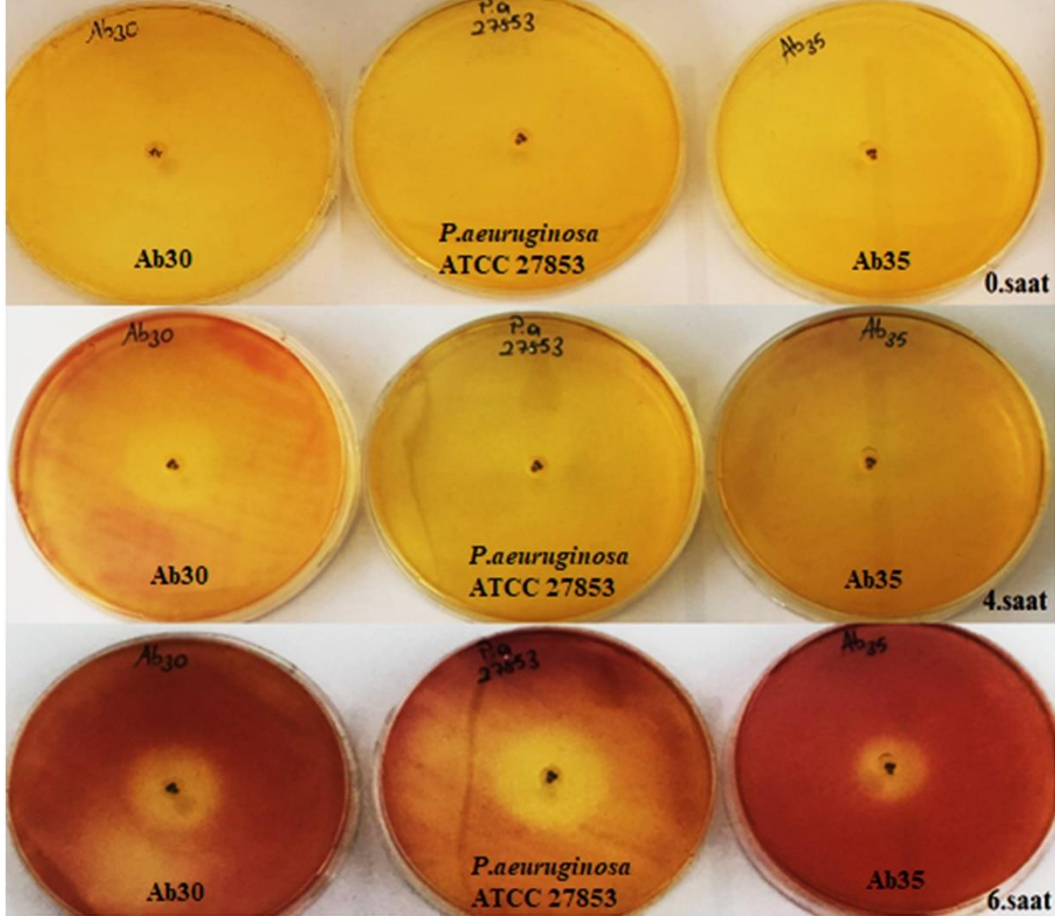
K. pneumoniae için $S \geq 22$, $R < 19$, $19 \leq I < 22$, *A. baumannii* için $S \geq 24$ $R < 21$, $21 \leq I < 24$

Üretici tarafından AST Fast ES/NF Agar için belirtilen imipenem duyarlılık/dirençlilik sınır değerleri:

K. pneumoniae için $S \geq 15$, $R \leq 13$, $13 < I < 25$, *A. baumannii* için $S \geq 23$ $R \leq 20$, $20 < I < 23$

*: Sonuçlar yorumlanırken orta duyarlı olarak saptanan izolatlar (I) dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda kromojenik test besiyerinde yapılan disk difüzyon test sonuçlarının, EUCAST standartlarına uygun şekilde MHA kullanılarak yapılan test sonuçlarıyla büyük oranda uyumlu olduğu gözlenmiştir. Test edilen kromojenik besiyerinin fermantatif ve non fermantatif mikroorganizma türleri için iki formu bulunmaktadır. Çalışmamızda test besiyerinin nonfermentatif mikroorganizmalar (*Pseudomonaceae* ve *Acinetobacter*) için üretilen formu olan AST Fast Agar NF besiyeri beş farklı klondan *A. baumannii* izolatlarının imipenem duyarlılıklarını belirlemede kullanılmıştır. Şekil 1’de görüldüğü üzere inkübasyonun ilerleyen saatlerinde başlangıçta sarı olan test besiyerinin rengi üreyen bakterilerin metabolik aktiviteleri sonucunda turuncu-kırmızı renge dönmektedir. Kromojenik besiyerinde belirgin renk değişimlerinin 3. saat itibarıyla başladığı ve söz konusu zon çaplarının 3.-6. saat aralığında ölçülebilir hale geldiği gözlenmiştir. *A. baumannii* izolatları için 6.saatte ölçülen inhibisyon zon çaplarının EUCAST standart disk difüzyon metoduyla tam uyumlu olduğu saptanmıştır.



Şekil 1. Ab ve Ab35 numaralı izolatlarının ve oluşan zon çaplarının AST Fast NF agar besiyerinde çaplarının farklı zaman aralıklarında görünümü

Çalışmamızda test besiyerinin fermentatif mikroorganizma türleri için olan formu AST Fast Agar ES, farklı betalaktamazlar taşıdığı polimeraz zincir reaksiyonu ile önceden saptanmış *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının imipenem duyarlılıklarının belirlemede kullanılmıştır. İnkübasyonun ilerleyen saatlerinde (2.5-3.saat) AST Fast Agar ES besiyerinin başlangıçta kırmızı olan renginin bakteri üremesine bağlı olarak sarıya döndüğü gözlenmiştir. Bu besiyerinde inkübasyonun 4. Saati sonunda ölçülen inhibisyon zon çapları ile belirlenen duyarlılık profillerinin, MHA kullanılarak yapılan standart disk difüzyon metodu sonuçlarıyla benzer olduğu saptanmıştır. Standart disk difüzyon test yönteminde önerilen inkübasyon süresinin 16-20 saat olduğu ve ancak bu süre sonunda MHA üzerinde zon çapının değerlendirilerek duyarlılık kategorisinin belirlendiği düşünüldüğünde kromojenik besiyerinin zaman açısından önemli bir avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan ve kolorimetrik besiyeri kullanılan bir başka çalışmada Çoban ve ark. *Staphylococcus aureus* izolatlarında metisilin direncinin hızlı tespiti için Quicolor (QC) ES agar besiyerinin kullanımını değerlendirmiştir. Çalışmada metisilin duyarlı *S. aureus* izolatlarında oksasiline ve sefoksitin sonuçlarının QC ES'de 4-7 saat (ortalama 5,5 saat) içinde alınırken, metisilin dirençli *S. aureus* izolatlarında her iki antibiyotik için 5,5-9 saat (ortalama 6,6 saat) içinde sonuç elde edilebildiğini ve sonuçların MHA besiyerinde yapılan disk difüzyon test sonuçlarıyla uyumlu olduğu bildirilmiştir [19]. Ercis ve ark. tarafından CLSI standartları izlenerek fenotipik doğrulama testi ile 50'si GSBL pozitif ve 50'si negatif olarak önceden belirlenmiş, *Enterobacterales* üyesi 100 izolat ile yapılan çalışmada disk difüzyon ve E-test kullanılarak GSBL'nin saptanmasında MHA besiyeri ile QC agar kullanımı karşılaştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına paralel şekilde, Ercis ve ark. tarafından tüm suşlar için QC agar ile 4-6 saat içinde elde edilen GSBL sonuçlarının standart besiyeri sonuçları ile uyumlu olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada E-test yöntemi ile GSBL pozitif sekiz suşun daha saptandığı belirtilmiştir

[20]. Kolorimetrik besiyerleriyle yapılan az sayıda çalışmada elde edilen sonuçlarla çalışmamızın sonuçları paralel olmakla birlikte antibiyotik direncinin hızlı tespiti açısından umut vadetmektedir. Ancak kolorimetrik besiyerinin kullanıldığı antibiyotik duyarlılık test yönteminin bazı kısıtlılıkları da bulunmaktadır. Kolorimetrik besiyerinde inhibisyon zonlarının tespiti, agar üzerinde üreyen bakteri türlerinin metabolik aktivitesi sonucu besiyerinde oluşan renk değişimi esasına dayanmaktadır. *Staphylococcus epidermidis* gibi yavaş üreyen bakteri türlerinde testin sonuçlanması daha uzun sürebilmektedir. Ayrıca test besiyeri üzerinde oluşan renkli inhibisyon zon çaplarının oluştuğu zaman aralığında (4-6 saat) ölçülerek kaydedilmelidir, bu süre içerisinde ölçüm yapılmadığında renkli zonlar kaybolabilmekte ve bir gecelik inkübasyonun sonuna kadar beklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak çoklu ilaç direnci gösteren izolatların hızlı ve doğru tespiti; hastanın en doğru tedaviye ulaşabilmesi, hastanede kalış süresinin azalması, sağlık bakım giderlerinin azaltılması ve antimikrobiyal dirençle mücadele açısından önemli bir gerekliliktir. Günümüzde gelişen teknolojinin de yardımıyla antibiyotik direncinin saptanmasında kullanılan farklı otomatize sistemler ve moleküler yöntemler mevcutsa da bu yöntemlerin oldukça maliyetli olduğu bilinmektedir. Bu noktada daha az maliyetli disk difüzyon gibi standart yöntemler yeniden gündeme gelmekle birlikte bu klasik yöntemlerle daha hızlı sonuç alınmasını sağlayacak modifikasyonlar ve araştırmalar değer kazanmaktadır. Bu kapsamda disk difüzyon yönteminde kolorimetrik AST Fast Agar ve benzeri yeni besiyerlerinin kullanım potansiyeli ve performansının değerlendirileceği daha fazla sayıda araştırmanın alana önemli katkı sunacağı düşünülmektedir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: A.T., Y.T.; Tasarım: A.T., Y.T.; Denetim: A.T., Y.T.; Kaynaklar: A.T., Y.T.; Malzemeler: A.T., Y.T., M.H.L., F.Ç.; Veri Toplama ve/veya İşleme: A.T., Y.T., M.H.L., F.Ç.; Analiz ve/veya Yorumlama: A.T., Y.T., M.H.L., F.Ç.; Literatür Taraması: A.T., Y.T.; Makalenin Yazılması: A.T., Y.T.; Kritik İnceleme: A.T., Y.T., M.H.L., F.Ç.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Semin-Pelletier, B., Cazet, L., Bourigault, C., Juvin, M.E., Boutoille, D., Raffi, F., Hourmant, M., Blanco, G., Agard, C., Connault, J., Corvec, S., Caillon, J., Batard, E., Lepelletier, D. (2015). Challenges of controlling a large outbreak of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a French university hospital. *The Journal of Hospital Infection*, 89(4), 248-253. [\[CrossRef\]](#)
2. Patel, G., Huprikar, S., Factor, S.H., Jenkins, S.G., Calfee, D.P. (2008). Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 29(12), 1099-1106. [\[CrossRef\]](#)
3. Podschun, R., Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589-603. [\[CrossRef\]](#)
4. Bagley, S.T. (1985). Habitat association of *Klebsiella* species. *Infection Control*, 6(2), 52-58. [\[CrossRef\]](#)
5. Cetinkol, Y., Yildirim, A.A., Telli, M., Calgin, M.K. (2016). The investigation of oxacillinase/metallo-beta-lactamase genes and clonal analysis in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Le Infezioni in Medicina*, 24(1), 48-53.
6. Rock, C., Thom, K.A., Masnick, M., Johnson, J.K., Harris, A.D., Morgan, D.J. (2014). Frequency of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing and non-KPC-producing *Klebsiella* species contamination of healthcare workers and the environment. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 35(4), 426-429. [\[CrossRef\]](#)

7. Asık, G. (2011). *Acinetobacter baumannii* virülansının açıklanmasında güncel yaklaşımlar *Acinetobacter baumannii*. Mikrobiyoloji Bulteni, 45(2), 371-380.
8. Peleg, A.Y., Seifert, H., Paterson, D.L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clinical Microbiology Reviews, 21(3), 538-582. [CrossRef]
9. Wong, D., Nielsen, T.B., Bonomo, R.A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., Spellberg, B. (2017). Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. Clinical Microbiology Reviews, 30(1), 409-447. [CrossRef]
10. Eraç, B., Yılmaz, F.F., Hoşgör Limoncu, M., Oztürk, I., Aydemir, S. (2014). Çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında virülans faktörlerinin araştırılması [Investigation of the virulence factors of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates]. Mikrobiyoloji Bulteni, 48(1), 70-81. [CrossRef]
11. Karah, N., Sundsfjord, A., Towner, K., Samuelsen, Ø. (2012). Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. Drug Resistance Updates, 15(4), 237-247. [CrossRef]
12. World Health Organization. Regional Office for Europe. (2020). Central asian and european surveillance of antimicrobial resistance: annual report 2020. World Health Organization. Regional Office for Europe. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345873> Erişim tarihi: 03.01.2023
13. Gordon, N.C., Wareham, D.W. (2010). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. International Journal of Antimicrobial Agents, 35(3), 219-226. [CrossRef]
14. Decousser, J.W., Jansen, C., Nordmann, P., Emirian, A., Bonnin, R.A., Anais, L., Merle, J.C., Poirel, L. (2013). Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. Euro surveillance: Bulletin European sur les maladies transmissibles = European Communicable Disease Bulletin, 18(31), 20547. [CrossRef]
15. Barenfanger, J., Drake, C., Kacich, G. (1999). Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. Journal of Clinical Microbiology, 37(5), 1415-1418. [CrossRef]
16. Schiffman, R.B., Pindur, A., Bryan, J.A. (1997). Laboratory practices for reporting bacterial susceptibility tests that affect antibiotic therapy. Archives of Pathology and Laboratory Medicine, 121(11), 1168-1170. [CrossRef]
17. Tunney, M.M., Ramage, G., Field, T.R., Moriarty, T.F., Storey, D.G. (2004). Rapid colorimetric assay for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48(5), 1879-1881. [CrossRef]
18. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. Erişim adresi: <https://www.eucast.org> Erişim tarihi: 03.01.2023
19. Coban, A.Y. (2012). Rapid determination of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* clinical isolates by colorimetric methods. Journal of Clinical Microbiology, 50(7), 2191-2193. [CrossRef]
20. Ercis, S., Sancak, B., Kocagöz, T., Kocagöz, S., Haşçelik, G., Bolmström, A. (2007). Rapid 4 to 6 hour detection of extended-spectrum beta-lactamases in a routine laboratory. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 39(9), 781-785. [CrossRef]