

ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALARDA KONSANTRASYON VE DEĞİŞİK BESİ YERLERİNİN ANTİBİYOTİK DUYARLIK TESTİ ÜZERİNDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Meliha CAMBAZO/LU (*)

L İ T E R A T Ü R B İ L G İ S İ

A — ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİNİN KULLANIM ALANI :

Her ne kadar hangi antibiyotiklerin hangi bakterilere etkin olduğu antibiyotikleri üreten firmalarca verilse de zamanla bakterilerin dirençlilik kazandıkları bilinmektedir. Bu nedenle de antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması zorunlu olmaktadır. Örneğin Penicilline Staph. aureus bakterilerine etkin bir antibiyotik olarak bilinmektedir. Değişik ülkelerde yapılan araştırmalarda bu bakterilerin % 70-80'i bu antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Dirençli Staph. aureus bakterileri Penicilline'e karşı 'penicillinase' enziminin salgılayarak bu antibiyotiğin etkisini engellemektedirler (12, 16).

Enfeksiyöz hastalıkların sağıtımında sağlık hizmeti veren laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılık testleri yapılmaktadır. Burada amaç enfeksiyonu doğuran bakterinin teşhisi ve en etkin antibiyotiğin kısa sürede saptanmasıdır.

Rutin laboratuvar çalışmaları yanı sıra antibiyotik duyarlılık testlerinin teknik problemlerine çözüm getirmek amacıyla dünyada ve yurdumuzda yoğun çalışmalar (Antibiyotik duyarlılık testlerinin geliştirilmesi, standardizasyonu, uygun besi yerinin seçilmesi vs. gibi) yapılmaktadır (6, 8, 15, 18, 25, 26, 27, 28).

B — ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST YÖNTEMLERİ :

Antibiyotiklere olan duyarlılıkların belirlenmesi dilüsyon (sulandırma) ve difüzyon (yayınma) olmak üzere iki temel yöntemle yapılmaktadır (1, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 15).

(*) Etilik Vet. Kont. ve Araşt. Bakteriyoloji ve Salgılar Uzmanı.

Sulandırma yöntemleri sıvı ve katı ortamlarda olmak üzere iki şekilde yapılır. Sıvı ortamda sulandırma testlerinde antibiyotik sıvı besiyerinde gittikçe azalan oranlarda tüplerde sulandırılır. Daha sonra tüplere bakteri ekilir. İnkübasyona bırakılan tüplerde bakterinin hangi antibiyotik konsantrasyonundan itibaren üremediği belirlenerek duyarlılık derecesi saptanır. Katı ortamda sulandırma testleri ise, pek kullanışlı bir yöntem olmakla beraber kesin sonuç vermesi bakımından yarar sağlamaktadır. Bu testte otoklavda eritilen agar besiyeri hemen petri kütularına dökülür çizgi yöntemi, basınçlı plak yöntemi ve kanal yöntemi kullanılarak duyarlılık testleri yapılır. Çizgi yönteminde sulandırılmış antibiyotik serileri agar yüzeyine yayılır ve duyarlılığı saptanacak olan bakterinin 24 saatlik buyyon kültüründen alınarak jeloz yüzeyine 2.5 cm uzunluğunda ve 0.5 cm aralıklarla ekim yapılır. Denenen her suş kontrol petri ile karşılaştırılarak kültürün kısmi inhibisyon veya ürememesi saptanır (3, 4, 6).

Sulandırma testleri doğru kantitatif (nicel) değerler ve değişik antibiyotikler arasında direk karşılaştırmaya olanak verirler. Bir bakteri için bir kaç antibiyotik test edilerek antibiyotiklerin antogonist ve sinerjik etkileri hakkında bilgi edinilebilir. Günümüzde teknik bazı nedenlerle ve anerob bakteriler için difüzyon yöntemlerine sulandırma yöntemleri tercih edilmektedir. Bu geçerliliğine karşın sulandırma yöntemleri önemli sakıncalar içermektedir (1, 3, 6) :

- Standart difüzyon yöntemlerine oranla daha fazla beceri ve dikkat isterler,
- Kemoterapötiklerin elle doldurulması ve sulandırılması hataların kaynağını oluşturur,
- Kontaminasyonun kontrol edilmesi ve ölçülmesi zordur,
- Direnç değişim aralığı çok yaygın olduğundan M.İ.C. (minimum inhibisyon konsantrasyonu) in belirlenmesi zordur,
- Ekim miktarındaki değişikliklerin M.İ.C. etkilenir,
- M.İ.C. değerleri yaygın olduğundan toksik ve sağıctıcı değer sınırları yakın olan antibiyotikler için önemli bir problemdir.

Klasik sulandırma yöntemleri yorucu, zaman alıcı, personel ve ekipman açısından pahalıdır. Klinik çalışmalar için arzu edilmezler. Bu yöntemle doğru M.I.C. değerleri elde etmek için mikrosulandırma teknikleri, otomasyon ve ekim cihazları geliştirilmektedir. Geliştirilmekte olan bu yöntemler standart yöntemlerle karşılaştırıldıklarında olumlu sonuçlar alınmaktadır (6).

Difüzyon yönteminde test edilecek bakteri kendine özgü sulandırması yapıldıktan sonra homojen olarak bir agar besiyerine yayılır. Konsantrasyonu bilinen antibiyotikler bunun üzerine konur. Antibiyotikler ya antibiyotik emdirilmiş bir kâğıt disk veya şerit (1, 4, 6, 7, 11, 12, 15, 18, 25) şeklinde, ya da yüzük şeklinde silindirik halka veya oluk (3, 4, 23) içine konularak kullanılmaktadır. Difüzyon dinamik bir süreç olup antibiyotik, disk etrafında, agar içine difüze olarak bir limite ulaşır. Difüzyon antibiyotik miktarı ile orantılıdır. Difüzyon hızı, etkin antibiyotik molekülleri ve ortamdaki bakteriler arasında birbirlerine karşı oluşturacakları etkilere bağlı olmaktadır. Ayrıca bu yöntem çok sayıda değişkenden etkilenmektedir (1, 6) :

- Antibiyotik miktarı ve difüze edebilirliği,
- Besiyerinin yoğunluğu ve kalınlığı,
- Besiyerinin bileşimi, pH ve iyonik gücü,
- Ekilen bakteri miktarı ve metabolik faaliyetleri,
- İnkübasyon süresi,
- Antibiyotik ve agarın saklanabilme koşulları.

Difüzyon yöntemleri ile 37°C de inkübasyondan sonra elde edilen önlenim zonlarından bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları saptanmaktadır. Aynı bakteri için her antibiyotiğin önlenim zonu farklı olabilir fakat bu farklı zonlar farklı etkilenme olarak değerlendirilemezler. Örneğin Polypeptite'ler ve Polymy'inler küçük önlenim zonları Penicilline ise geniş önlenim zonları vererek aynı oranda duyarlı olabilmektedirler (6).

Sulandırma yöntemleri ile aynı koşullarda aynı sonuçları veren, çok özel bir standartlaşma gerektirmeyen, Amerika Birleşik Devletleri ve diğer ülkelerde geniş uygulama alanı bulmuş veteriner pratiğe de girmiş olan difüzyon yöntemi Kirby - Bauer adıyla bilinen yöntemdir. Kirby - Bauer yönteminde antibiyotik

emdirilmiş diskler kullanılmaktadır ve yöntem bir antibiyotik üzerinde ölçülen önlenim zonları büyüklüğünün en az önlenim konsantrasyonuna (M.I.C.) ters orantılı olarak bağlılık prensibine dayanmaktadır (6).

Difüzyon yöntemleri disk ve multi-disk kullanılarak yapılmaktadır. Bazı araştırmalarda düşük potensli disk testlerinin geçerliliği savunulmuşsa da yüksek potensli disk kullanımının klinik testler için uyumlu sonuçlar verdiği görülmüştür (6).

Antibiyotik duyarlılık test yöntemleri (disk, multi-disk, sıvı ve katı ortamlarda sulandırma) Staphylococcus türünden 100 bakteri üzerinde 5 antibiyotik test edilerek karşılaştırılmıştır. Disk, sıvı ve katı ortamlarda sulandırma testlerinde alınan sonuçlar aynı olmaktadır. Örneğin bu üç testte Staphylococcus türleri Tetracycline ve Stroptomycine'e dirençli bulunurlarken multi-disk testlerinde orta duyarlı zonlar gözlenmiştir. Disk ve multi-disk difüzyon testleri ile sulandırma testlerinde ulaşılan sonuçlar karşılaştırıldığında, sulandırma testlerine oranla disk testlerinin % 0.2 sinde multi-disk testlerinin ise % 17 sinde uyumsuzluk gözlenmiştir (6).

Disk difüzyon testlerinin multi-disk difüzyon testlerinden daha uyumlu sonuçlar verdiği yapılmış araştırmalardan ortaya çıkmaktadır. Ayrıca disk testlerinin hızlı, kolay ve çabuk sonuç alınmasına yardımcı oldukları bu nedenle sıvı ortamda sulandırma testlerine üstünlük sağladıkları diğer araştırmacılar tarafından da paylaşılmaktadır (6, 15, 22).

C — ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST ÇALIŞMALARI :

Son yıllarda gerçekleştirilen bir çok araştırmada değişik kaynaklardan izole edilmiş çeşitli bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının saptanabilmesi amaçlanmaktadır. Laboratuvarlar arasında geçerli standartlaşmaya henüz gidilememiş olması nedeniyle her laboratuvar farklı duyarlılık teknikleri ve farklı dozlarda değişik antibiyotikler kullanmaktadır. Bu uygulamaların sonucu olarak bir çok araştırmanın sonuçları karşılaştırılmamaktadır. Diğer bir deyişle bu çalışmalar kendilerine özgü olarak kalmaktadırlar.

Süt numunelerinden izole edilen Staph. aureus bakterileri Necmycine ve Chloramphenicol'e duyarlı, Penicilline, Bacitracin, Polymxin B ve Erythromycine'e dirençli bulunmuşlardır (21).

Köpeklerden izole edilen 398 Staph. aureus bakterilerinin ise sadece 8'i Neomycine'e, 15'i Ampycilline'e, 23'ü Lincomycin'e ve 4'ü Cloxacillin'e dirençli bulunmuştur (19).

Sığır ve domuzların bağırsak enfeksiyonlarının sağıtımı amacıyla ve hayvanlardan izole edilen E. colilerin hemen hepsi Amicacin, Colistin, Gentamycin ve Polymxin B'ye duyarlı (9) sütlerden izole edilen E. coliler ise Colistin ve Neomycine'e duyarlı Streptomycine, Chlortetracycline, Chloramphenicol ve Kanamycin'e dirençli bulunmuşlardır (22).

Salmonellaların bir çok türünün Chloramphenicol, Ampycilline, Streptomycine, Tetracycline ve Catrimoxazol'e duyarlı olduğu bilinmektedir (11). Ayrıca hayvanlardan izole edilenlerin hepsinin Gentamycin, Tobramycin, Amicacin, Chloramphenicol, Trimethoprim, Sulfonamid, Colistin ve Nitrofurantoin'e duyarlı % 50'sinin Tetracycline'e ve % 36'sının Kanamycin'e dirençli olduğu saptanmıştır (10).

P. multocida bakterilerinin Penicilline, Erythromycine, Tetracycline, Streptomycine ve Sulphonamidlere duyarlı oldukları bilinmektedir (11). Buzağı, yaban domuzu, koyun, tavşan gibi hayvanlardan izole edilen Pesteurellaların hepsi ise Nitrofurantoin'e duyarlı Ampycilline, Dihydrostreptomycine, Oxytetracycline ve Tetracycline'e dirençli bulunmuştur (24). Hindilerden izole edilmiş 181 P. multocida bakterilerinin ise % 96'dan fazlası Chlortetracycline, Chloramphenicol, Erythromycine, Novobiocin, Penicilline, Polymxin, B. Oxytetracycline, Tetracycline, Furacin, Furadantin ve Furazolidon'a duyarlı % 82'sinin Bacitracine'e dirençli olduğu görülmüştür (14).

Sonuç olarak zamanla bakterilerin antibiyotiklere direnç kazandıkları diğer bir deyişle antibiyotiklere olan duyarlılıklarının azaldığı bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (12, 16, 20). Örneğin dana, koyun, domuz, at, köpek, diğer ev hayvanları ve kuşlardan izole edilen Salmonella, coliform bakterileri, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus, Listeria ve Pasteurella bakterilerinin antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değiştiği ileri sürülmektedir. Chloramphenicol'un coliform bakterilere karşı etkinliği 1964 de % 90 iken 1975 de % 10'a düşmüş 1977 de ise % 26.7'ye yükselmiştir. Streptomycine'in coliform bakterilere karşı etkinliği ise 1963 de % 10 iken 1969 da % 40'a çıkmış 1977 de yeniden % 10'a düşmüştür (20).

GEREÇ VE YÖNTEM

A — ARAŞTIRMADA KULLANILAN GEREÇLER :

Araştırmada kullanılan gereçler üç bölümde toplanabilir: Suşlar, Besiyerleri ve Antibiyotik diskleri.

Suşlar : Çalışmada test edilen suşlar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji, Salgın Hastalıklar ve Mikoloji Bölümünden sağlanan stok suşlardır. Bunlar şunlardır :

- 1 — Staphylococcus aureus,
- 2 — Streptococcus uberis,
- 3 — Escherichia coli,
- 4 — Salmonella gallinarum,
- 5 — Pasteurella multocida.

Besiyerleri : Besiyerleri olarak suşların üreyebileceği ve işlevlerine zarar vermeyen besiyerleri kullanılmıştır. Bu besiyerleri şunlardır:

Sıvı besiyerleri.

- 1 — Buyyon, pH 7.2 - 7.4
- 2 — Serumlu buyyon (buyyona % 10 inaktif sığır serumu ilâve edilerek hazırlanmıştır), pH 7.2 - 7.4

Katı besiyerleri:

- 1 — Agar besiyeri (difco), pH 7.2, % 05 NaCl (suşların duyarlı oldukları tuz miktarını saptamak için NaCl % 01 - % 10 aralığında değiştirilmiştir).
- 2 — Kanlı agar (Agar besiyerine % 7 - 10 arasında defibrine koyun kanı ilâve edilerek hazırlanmıştır), pH 7.2
- 3 — D.S.T. agar (OXOID No CM 261), pH 7.4

4 — Serum dekstroz agar (Agar besiyerine 45°C de % 50 inaktif at serumu ve % 50 dekstroz ilâve edilerek hazırlanmıştır, pH 7.4

Antibiyotik diskleri : Testlerde kullanılan antibiyotik diskleri Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Antibiyogram ve Disk Üretim Laboratuvarında hazırlanmış disklerdir. Diskler whatman No 1 standart kâğıdından 0.6 mm çapında kesildikten sonra nötr boyalarla kotlanarak hazırlanmışlardır. Daha sonra disklere antibiyotik emdirilmiş ve kurutulmuştur. Disklerin antibiyotik içerikleri ve önlenim zonlarına göre sonuçlar değerlendirilmiş olup laboratuvar kriterleri tablo 1 de gösterilmiştir.

B — ARAŞTIRMA YÖNTEMİ :

Denemelerde literatür bölümünde tartışılan disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır.

Denemelerin yapılışı : İlk önce denemelerde kullanılan suşların bakteriyolojik yöntemlerle makroskopik ve mikroskopik incelemeleri ile temizlik kontrolleri yapıldı. Sonra aşağıdaki sıraya göre denemeler gerçekleştirildi :

- Suşların buyyon kültürlerinden 0.1 ml alınarak buyyona veya serumlu buyyona ekildi. 37°C de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra sulandırmaları yapıldı.
- Sulandırma önceden hazırlanan 10 ml buyyon içeren 6 tüpte yapıldı. Tüpler bir spora dizildi ve her tüpün üzerine suşun adı ve sulandırma oranları yazıldı.
- Denemelerde kullanılacak katı besiyeri 15 cm çapındaki petri kutularına 3 mm kalınlığında (50 ml) döküldü. Sulandırma tüplerinde yapıldığı gibi 6 petri üzerine suşun adı ve sulandırma oranı yazıldı.
- 18 saatlik kültürden 1 ml alınarak ilk tüpe kondu. Pipetle iyice karıştırıldı. Tekrar 1 ml ilk tüpten alınarak ikinci tüpe kondu. Bu sulandırma işlemi en son tüpe kadar yapıldı. En son tüpten 1 ml alınıp atıldı. Böylece sulandırma tamamlandı.
- Bütün sulandırmalardan ayrı ayrı petrilere 5 ml alınıp kondu.

- Petrilerde katı besiyerine konan sulandırılmış suşların yüzeye iyice yayılması için petriler sağa sola hareket ettirildi. 3 - 5 dakika bekletildi. En son petrilen başlıyarak bir başka pipetle yayılan suşun fazlası toplandı. Alevde petriler kurutuldu.
- Steril koşullarda petrilere antibiyotik diskleri yerleştirildi. Yerleştirme işlemi antibiyotiklerin antogonist ve sinerjik etkileri göz önünde bulundurularak belirli bir sıraya göre ve petri kutusu çevresinden 1 cm, diskler arasında ise 1.5 - 2 cm uzaklık olacak şekilde yapıldı. Kullanılan antibiyotiklerin konumu şekil 1 de verilmektedir.
- 15 dakika bekletilen petriler ters çevirilerek 37°C de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Sonra değerlendirildi.

Denemelerin değerlendirilmesi : İnkübasyondan sonra petrilerde oluşan önlemin zonları ölçülerek deneme sonuçları değerlendirildi. Duyarlı olan suşlarda antibiyotik diskleri etrafında üremenin önlenildiği (inhibe edildiği) bakterisiz bir alan gözlenir. Bu alanda antibiyotik difüze olmuş ve suş ürememiştir. Antibiyotik difüze olduğu bu alana 'önlenim zonu' adı verilir ve iki boyutu mm olarak ölçülür. Ölçülen önlenim zonları her antibiyotik için saptanmış dirençli, orta duyarlı ve duyarlı zonlarla karşılaştırılarak değerlendirilir (Denemelerde kullanılan antibiyotiklerin dirençli, orta duyarlı ve duyarlı zonları tablo 1 de verilmiştir.).

TABLE 1. DİSK LERİN ANTİBİYOTİK İÇERİKLİ
VE
ÖNLENİM ZONLARI

ANTİBİYOTİĞİN ADI İÇERİĞİ		Önlenim Zonu Çapı (mm)		
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
TETRACYCLINE	30 mcg	12	13 — 16	17
AMPYCILLINE	10 mcg	11	12 — 13	14
STRETOMYCINE	30 mcg	11	12 — 14	15
OXYTETRACYCLINE	30 mcg	14	15 — 19	21
ERYTHROMYCINE	10 mcg	13	14 — 17	18
CHLORAMPHENICOL	30 mcg	12	13 — 17	18
PENICILLINE	10 ü	20	21 — 28	29
CHLORTATRACYCLINE	30 mcg	13	14 — 18	20
NITROFURANTOINE	300 mcg	14	15 — 16	17
NEOMYCINE	30 mcg	12	13 — 16	17
COLISTIN	100 mcg	8	9 — 10	11
CARBENICILLINE	15 mcg	17	18 — 22	23
TRIVETRIN	25 mcg	8	9 — 12	13

Tablo : 5 — Antibiyogram Test Sonuçları

ste tabi tutulan kroorganizmaların		x Disk Çeşitleri ve Duyarlılık Oranları (%)													
Türü	Sayısı	Ox	Er	Te	Kl	Amp	St	Klo	Tr	Ri	Pe	Kar	Ne	Ko	Ni
filokok	173	45,8	55,5	43,2	60,1	60,6	69,3	48,5	62,6	58,5	64,7	67,6	71,6	34,5	48,3
teptokok	149	16,1	36,4	48,3	32,8	25,5	57,7	74,4	63,8	69,7	57,7	75,6	67,1	16,1	32,8
coli	48	52,0	64,5	68,7	16,6	22,9	29,1	39,5	75,0	56,2	39,5	37,5	33,3	79,1	65,0
pyoneges	42	11,9	59,5	11,9	33,3	71,4	33,3	65,2	30,9	40,4	52,3	28,5	38,0	38,0	26,1
bovis	9	44,4	55,5	d**	11,1	88,8	11,1	33,3	44,4	66,6	22,2	22,2	44,4	11,1	d
aeruginosa	3	66,6	100,0	40,0	d	d	d	d	66,6	d	d	d	d	33,3	d
ebsiella spp.	4	25,0	d	d	25,0	25,0	50,0	d	d	75,0	75,0	d	d	25,0	d
subtilis	5	50,0	100,0	d	50,0	d	100,0	50,0	d	50,0	100,0	50,0	100,0	d	50,0
vulgaris	12	d	66,6	58,3	25,0	75,0	16,6	75,0	83,3	58,3	d	66,6	16,6	33,3	33,3
pneumonia	9	33,3	22,2	44,4	77,7	22,2	33,3	88,8	11,1	55,5	66,6	55,5	33,3	22,2	11,1

x : Kullanılan antibiyotik disk rumuzları

xx : d = Dirençli

Tablo : 6 — 1 Diskte Bulunan Antibiyotik Miktarı ve Zon Değerleri

	Disk Potensi	Dirençli	Orta	Duyarlı
Ox: Oksitetrasiklin	30 mcg	14 mm	15-19 mm	21 mm
r: Eritromisin	15 mcg	13 mm	14-17 mm	18 mm
e: Tetrasiklin	30 mcg	12 mm	13-16 mm	17 mm
Cl: Klortetrasiklin	30 mcg	13 mm	14-18 mm	20 mm
mp: Ampisilin	10 mcg	11 mm	12-13 mm	14 mm
t: Streptomisin	30 mcg	11 mm	12-14 mm	15 mm
lo: Kloramfenikol	30 mcg	12 mm	13-17 mm	18 mm
r: Trivetrin	Sulfametotaxsol: 23,75 mcg Trimetoprim: 1,25 mcg	19 mm	21-24 mm	28 mm
i: Rifamisin	200 mcg	21 mm	22-23 mm	23-25 mm
ar: Karbenisilin	100 mcg	17 mm	18-22 mm	23 mm
e: Neomisin	30 mcg	12 mm	13-16 mm	17 mm
pe: Penisilin	10 mcg	20 mm	21-28 mm	29 mm
ko: Kolistin	10 mcg	8 mm	9-10 mm	11 mm
ni: Nitrofurantion	300 mcg	14 mm	15-16 mm	17 mm

x : Rumuzlar

B U L G U L A R

A — ANTİBİYOGRAM KOŞULLARININ SAPTANMSI

1 — DEĞİŞİK BESİYERLERİNİN UYGULAMA OLANAKLARI

Burada Staph. aureus, Str. uberis, E. coli, S. gallinarum ve P. multocida suşlarının buyyon ve serumlu buyyondaki kültürlerinin değişik katı besiyerlerinde (Agar besiyeri, kanlı agar, D.S.T. agar ve serum dekstroz agar) yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin bulguları her suş için ayrı ayrı verilmiş bu tablo- larla gösterilmiştir.

1) Staphylococcus aureus ile yapılan denemelerden alınan sonuçlar.

Staph. aureus'ün değişik sulandırmalarında ve değişik besiyerindeki antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 2'de verilmektedir.

— Agar besiyeri :

Buyyon sıvı besiyerinde Staph. aureus 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol ve Shlortatracycline'e; 1/100 sulandırmada ise Penicilline, Nitrofurantoin, Neomycine, Colistin ve Carbenicilline'e duyarlıdır. Dirençli olduğu antibiyotik ise Trivetrim'dir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Erythromycine, Carbenicilline ve Trivetrim'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline ve Penicilline'e; 1/10.000 sulandırmada Chloramphenicol'e; 1/100.000 sulandırmada Chlortatracycline ve Colistin'e; 1/1.000.000 sulandırmada ise Neomycine'e duyarlıdır. 1/10 sulandırmada Nitrofurantoin'e orta duyarlıdır.

— **D. S. T. agar :**

Buyyon besiyerinde Str. uberis 1/10 sulandırma Ampyciline ve Nitrofurantoine'e; 1/100 sulandırmada Erythromycine ve Trivettrin'e; 1/1.000 sulandırmada Chloramphenicol'e duyarlı. 1/100.000 sulandırmada penicilin'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Streptomycine, Oxytetracycline Chlortetracycline, Neomycine, Colistine ve Carbenicilin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde 1/100 sulandırmada Ampyciline ve Nitrofurantoine'e; 1/1.000 sulandırmada Erythromycine ve Colistin'e; 1/10.000 sulandırmada Chloramphenicol'e; 1/100.000 sulandırmada Trivettrin'e; 1/1.000.000 sulandırmada Carbenicilline'e duyarlı, 1/10.000 sulandırmada Chlortetracycline'e; 1/100.000 sulandırmada Chlortetracyclin'e; 1/100.000 sulandırmada Tetracycline'e orta duyarlıdır. Streptomycine, Oxytetracycline, Penicilline ve Neomycin'e dirençlidir.

— **Serum dekstroz agar :**

Buyyon besiyerinde Str. uberis 1/10.000 sulandırmada Ampyciline, Erythromycine, Chloramphenicol ve Nitrofurantoine'e duyarlıdır. Tetracycline, Streptomycine, Oxytetracycline, Penicilline, Chlortetracycline. Neomycine, Colistin, Carbenicilline ve Trivettrin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde 1/10 sulandırmada Erythromycine'e; 1/10.000 sulandırmada Ampycilline ve Nitrofurantoine'e; 1/1.000.000 sulandırmada Chloramphenicol'e duyarlıdır. 1/100.000 sulandırmada Carbenicilline'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Streptomycine, Oxytetracycline, Penicilline, Chlortetracycline, Neomycine, Colistin ve Trivettrin'e dirençlidir.

3) Escherichia coli ile yapılan denemelerden alınan

sonuçlar :

E. coli'nin değişik sulandırmalarında ve değişik besiyerindeki çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 4'de verilmektedir.

— Agar besiyeri :

Buyyon sıvı besiyerinde E. coli 1/10 sulandırmada Nitrofurantoin'e; 1/1.000 sulandırmada Colistin'e duyarlı, 1/1.000 sulandırmada Trivetrin'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chlortetracycline, Chloramphenicol, Neomycine, Penicilline ve Carbenicillin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde 1/1.000 sulandırmada Nitrofurantoin'e; 1/10.000 sulandırmada Colistin'e duyarlı, 1/100.000 sulandırmada Streptomycine ve Erythromycine'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Oxytetracycline, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortetracycline, Neomycine, Carbenicilline ve Trivetrine'e dirençlidir.

— Kanlı agar :

Buyyon sıvı besiyerinde 1/10 sulandırmada sadece Colistin'e; 1/10.000 sulandırmada Nitrofurantoin'e; 1/1.000.000 sulandırmada ise Streptomycine'e duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortetracycline, Neomycine, Carbenicilline ve Trivetrin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde 1/10 sulandırmada Colistin'e; 1/100 sulandırmada Nitrofurantoin'e; 1/1.000.000 sulandırmada ise Neomycine'e duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortetracycline, Carbenicilline ve Trivetrin'e dirençlidir.

— D.S.T. agar :

Buyyon sıvı besiyesinde E. coli 1/10 sulandırmada Colistin ve Trivetrin'e; 1/100 sulandırmada Nitrofurantoin'e duyarlı olup 1/10.000 sulandırmada Carbenicilline'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Penicilline, Oxytetracycline, Erythromycine, Chlortetracycline ve Neomycine'e dirençlidir. Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Trivetrin'e; 1/100 sulandırmada Wtistin'e; 1/10.000 sulandırmada Nitrofurantoin'e duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Carbenicilline, Erythromycine, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortetracycline ve Neomycine dirençlidir.

— Serum dekstroz agar :

Buyyon sıvı besiyerinde E. coli 1/10 sulandırmada Colistin ve Trivetrin'e; 1/100 sulandırmada Nitrofurantoine'e; 1/10.000 sulandırmada Neomycine'e duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortatracycline ve Carbenicilline'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/1.000 sulandırmada Nitrofurantocine'e; 1/10.000 sulandırmada ise Colistin'e duyarlıdır. Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Chloramphenicol, Erythromycine, Penicilline, Chlortatracycline, Neomycine, Carbenicilline ve Trivetrin'e dirençlidir.

4) **Salmonella gallinarum ile yapılan denemelerden alınan sonuçlar:**

S. gallinarum'un değişik sulandırmalarında ve değişik besiyerlerinde çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 5'de verilmiştir.

— Agar besiyeri :

Buyyon sıvı besiyerinde S. gallinarum 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Chloramphenicol, Chlortatracycline, Nitrofurantoine, Colistin, Carbenicilline ve Trivetrin'e; 1/100 sulandırmada ise Neomycine'e duyarlıdır. Erythromycine ve Penicilline'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyesinde ise 1/10 sulandırmada Streptomycine'e; 1/100 sulandırmada Ampycilline, Neomycine ve Carbenicilline'e; 1/1.000.000 sulandırmada Tetracycline, Oxytetracycline, Chloramphenicol ve Chlortatracycline'e; 1/10.000 sulandırmada ise Trivetrin'e duyarlıdır. Penicilline ve Erythromycine'e dirençlidir.

— Kanlı agar :

Buyyon sıvı besiyerinde S. gallinarum 1/10 sulandırmada Streptomycine, Nitrofurantoine ve Colistin'e; 1/100 sulandırmada Neomycine'e; 1/1.000 sulandırmada Chloramphenicol ve Carbenicilline'e; 1/10.000 sulandırmada Ampycilline'e; 1/100.000 sulandırmada Oxytetracycline'e duyarlıdır. 1/10.000 sulandırmada Erythromycine'e orta duyarlıdır. Tetracycline, Penicilline, Chlortatracycline ve Trivetrin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Ampycilline, Streptomycine ve Nitrofurantoine'e; 1/1.000 sulandırmada Neomycine, Colistin ve Carbenicilline'e; 1/10.000 sulandırmada Oxytetracycline ve Chloramphenicol'e; 1/100.000 sulandırmada Tetracycline'e duyarlıdır. Erythromycine, Penicilline, Chlortatracycline ve Trivettrin'e dirençlidir.

— D.S.T. agar :

Buyyon sıvı besiyerinde *S. gallinarum* 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol, Chlortatracycline, Nitrofurantoine, Neomycine, Colistin, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline'e; 1/1.000 sulandırmada Penicilline'e; 1/10.000 sulandırmada Erythromycine'e duyarlıdır.

Serum buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Nitrofurantoine, Neomycine ve Colistin'e; 1/100 sulandırmada Tetracycline, Streptomycine ve Chloramphenicol'e; 1/1.000 sulandırmada Oxytetracycline ve Carbenicilline'e duyarlıdır. Erythromycine ve Penicilline'e dirençlidir.

— Serum dekstroz agar :

Buyyon sıvı besiyerinde *S. gallinarum* 1/10 sulandırmada Nitrofurantoine ve Neomycine'e; 1/100 sulandırmada Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol ve Colistin'e; 1/1.000 sulandırmada Carbenicilline'e; 1/10.000 sulandırmada Tetracycline'e duyarlıdır. 1/10.000 sulandırmada Oxytetracycline'e orta duyarlıdır. Erythromycine, Penicilline, Chlortatracycline ve Trivettrin'e dirençlidir.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Ampycilline, Streptomycine, Nitrofurantoine ve Neomycine'e; 1/100 sulandırmada Colistin'e; 1/10.000 sulandırmada Chloramphenicol'e; 1/100.000 sulandırmada Tetracycline, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/1.000.000 sulandırmada Oxytetracycline'e duyarlıdır. 1/1.000 sulandırmada Chlortatracycline'e orta duyarlıdır. Erythromycine ve Penicilline'e dirençlidir.

5) *Pasteurella multocida* ile yapılan denemelerden alınan sonuçlar.

P. multocida'nın değişik sulandırmalarında ve değişik besiyerlerindeki değişik antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 6'da verilmiştir.

— Agar besiyeri :

Buyyon sıvı besiyerinde P. multocida 1/10 sulandırmada Tetracycline, Chloramphenicol ve Colistin'e; 1/100 sulandırmada Ampycilline, Streptomycine, Nitrofurantoine, Neomycine ve Carbenicilline'e; 1/1.000 sulandırmada Oxytetracycline, Erythromycine ve Trivettrin'e; 1/10.000 sulandırmada Penicilline ve Chlortetracycline'e duyarlıdır.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol, Nitrofurantoine, Colistin, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline'e; 1/1.000 sulandırmada Erythromycine'e; 1/100.000 sulandırmada Penicilline ve Neomycine'e duyarlıdır.

— Kanlı agar :

Buyyon sıvı besiyerinde P. multocida 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol, Colistin, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline ve Erythromycine'e; 1/1.000 sulandırmada Chlortetracycline, Nitrofurantoine ve Neomycine'e; 1/10.000 sulandırmada Penicilline'e duyarlıdır.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine ve Chloramphenicol'e; 1/100 sulandırmada Erythromycine, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/1.000 sulandırmada Oxytetracycline, Nitrofurantoine, Neomycine ve Colistin'e; 1/100.000 sulandırmada Penicilline'e duyarlıdır.

— D.S.T. agar :

Buyyon sıvı besiyerinde P. multocida 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol, Chlortetracycline, Colistin ve Carbenicilline'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline, Erythromycine, Penicilline, Nitrofurantoine, Neomycine ve Trivettrin'e duyarlıdır.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Colistin, Chlortetracycline, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/100 de Streptomycine, Nitrofurantoine ve Neomycine'e duyarlıdır. Penicilline'e dirençlidir.

— Serum dekstroz agar :

Buyyon sıvı besiyerinde P. multocida 1/10 sulandırmada Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Colistin, Chloramphenicol, Nitrofurantoine, Neomycine, Carbenicilline ve Trivettrin'e; 1/10.000 sulandırmada Chlortetracycline'e duyarlıdır. 1/10 sulandırmada Penicilline'e orta duyarlıdır.

Serumlu buyyon sıvı besiyerinde ise 1/10 sulandırmada Ampycilline, Streptomycine, Erythromycine, Chloramphenicol, Colistin ve Trivettrin'e; 1/100 sulandırmada Oxytetracycline, Nitrofurantoine, Neomycine ve Carbenicilline'e; 1/1.000 sulandırmada Chlortetracycline'e duyarlıdır. 1/10.000 sulandırmada Penicilline'e orta duyarlıdır.

Bu sonuçlara göre; incelenen suşlar için uygun olabilecek besiyerlerini karşılaştırmak amacıyla değişik besiyerlerinde her suşun duyarlı olduğu antibiyotik sayıları esas alınabilir. Diğer bir deyişle, suşlar test edildikleri 13 antibiyotik ile karşılaştırılabilir. Karşılaştırma suşların sulandırmaları göz önüne alınmadan sadece 'duyarlı' ve 'orta duyarlı + duyarlı' bulunan antibiyotik sayıları ile yapılabilir. İncelenen suşların buyyon ve serumlu buyyon kültürlerinin katı besiyerinde duyarlı bulunan antibiyotik sayıları tablo 7'de verilmiştir. Tablodan aşağıdaki sonuçlara ulaşılmaktadır :

1. İncelenen 5 suşun buyyon kültürleri test edildikleri 4 katı besiyerinde toplam 260 antibiyotiğin 172 ine duyarlı olurlarken, serumlu buyyon kültürleri ancak 165 ine duyarlı olmaktadır. Bu suşların 'duyarlı + orta duyarlı' bulunan antibiyotik sayısı buyyon besiyerinde 184, serumlu buyyon besiyerinde ise 174 olmaktadır. Buradan suşların buyyon besiyerindeki kültürleri serumlu buyyon besiyerindeki kültürlerinden duyarlılık testleri için daha elverişli olduğu ortaya çıkmaktadır.

2. İncelenen 5 suşun buyyon kültürleri 4 katı besiyerinde test edildikleri 65 antibiyotikten duyarlı oldukları antibiyotik sayısı D.S.T. agarda 47, Agar besiyerinde 44, Serum dekstroz agar da 41 ve Kanlı agarda 40'dır. Suşların aynı koşullarda 'duyarlı + orta duyarlı' antibiyotik sayılarında aynı uyumu göstermektedir; D.S.T. agar 49, Agar besiyeri 48, Serum dekstroz agar ve Kanlı agar 43. Bu değerlerden suşlar için en uygun katı besiyerleri şöyle sıralanmaktadır; D.S.T. agar, Agar besiyeri, Serum dekstroz agar ve Kanlı agar.

3. Etkin besiyeri buyyonda suşların, toplam 4 katı besiyerinde veya her katı besiyerinde ayrı ayrı, duyarlılıkları şöyle sıralanmaktadır; *P. multocida* test edilen antibiyotiklere en duyarlı suş olup onu *Staph. aureus*, *S. gallinarum*, *Str. uberis* ve *E. coli* izlemektedir.

2 — UYGUN SULANDIRMANIN SAPTANMASI

İncelenen suşların buyyon kültürleri için uygun sulandırma- lar 'duyarlı + orta duyarlı' antibiyotik sayılarından saptanabilir. Suşların 'duyarlı + orta duyarlı' antibiyotik sayıları her besiyeri için ve her sulandırma için tablo 8'de verilmiştir.

Suşların değişik sulandırmalarında her besiyerinde duyarlı oldukları antibiyotik sayıları farklı olmaktadır. Bu nedenle de sulandırma direk olarak suşun üremeye bırakıldığı katı besiyerine bağlı olmaktadır. Ancak D.S.T. agar ve Agar besiyerlerinin diğer besiyerlerine oranla antibiyotik duyarlılık testleri için daha uygun besiyerleri oldukları gözönüne alındığında suşların uygun sulandırmaları saptanabilir. Uygun sulandırmalar şöyle olmaktadır :

- *Staphylococcus aureus* için 1/100,
- *Streptococcus uberis* için 1/100 - 1/100.000,
- *Escherichia coli* için 1/1.000 - 1/10.000,
- *Salmonella gallinarum* için 1/10 - 1/10.000,
- *Pasteurella multocida* için 1/1.000 - 1/10.000.

3 — UYGUN TUZ ORANININ SAPTANMASI

Antiyotik duyarlılık testleri için uyyun besiyerinin Buyyon - D.S.T. agar ile Buyyon - Agar besiyerleri oldukları yukarıdaki bö-

lümelerde saptanmıştı. Ancak geliştirilmiş ve hazır bir besiyeri olan D.S.T. agarda tuz oranının değiştirilmesi sorun olduğundan suşların tuz oranında duyarlılıklarının incelenmesi için agar besiyeri seçilmiştir. Denemeler Agar besiyerinde % 01, % 02.5, % 03.5, % 05, % 1, % 2.5, % 5, % 7.5 ve % 10 tuz oranlarında suşların aşağıdaki sulandırmalarında yapılmıştır: *S. gallinarum* 1/10; *Staph. aureus* ve *Str. uberis* 1/100; *E. coli* ve *P. multocida* 1/1.000. Antibiyogram bulguları tablo 9'da verilmiştir.

Agar besiyerinde suşların değişik tuz oranlarında üremeleri şöyle olmaktadır;

- 1 — *Stafaureus* % 7,5 tuz oranına kadar üremektedir. % 01 tuz oranında üreme zayıftır.
2. *Str. uberis* % 5 tuz oranına kadar üremektedir.
3. *E. coli* % 2.5 tuz oranına kadar üremektedir. % 5 tuz oranında ise üreme çok zayıftır.
4. *S. gallinarum* % 1 tuz oranına kadar üremektedir.
5. *P. multocida* sadece % 05 tuz oranında normal, % 01 - % 03.5 tuz oranında ise çok zayıf üremektedir.

Değişik tuz oranlarında incelenen suşların antibiyotiklere duyarlılıkları ise, eğer suş üreyebilmişse, daha önce agar besiyerinde % 05 tuz oranında alınan sonuçlara yakın olmaktadır. Örneğin *Staph. aureus*'e 1/100 sulandırmada etkin bulunan antibiyotikler bu suşun üreyebildiği tuz oranlarında önlenim zonları vermektedirler.

Yukarıdaki gözlemlerin ışığında suşların buyyon kültürlerinin Agar besiyerinde değişik tuz oranlarında üreyebilme aralıkları ve antibiyotik duyarlılık testleri için uygun tuz oranları tablo 10'da verilmiştir.

B — DEĞİŞİK SUŞLAR ARASINDA ETKİN ANTİBİYOTİKLERİN KARŞILAŞTIRILMASI VE ALINAN SONUÇLAR

İncelenen suşların buyyon kültürlerine 4 değişik katı besiyerinde antibiyotiklerin etkinlikleri tablo 11'de verilmiştir. Burada aşağıdaki sonuçlara ulaşılmaktadır;

1. Staph. aureus'e Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Neomycine, Carbenicilline ve Colistin 4; Chlortetracycline ve Nitrofurantoin 3; Penicilline 2 Trivetrin 1 katı besiyerinde etkin olmaktadır.

2. Str. uberis'e Ampycilline, Erythromycine, Chloramphenicol ve Nitrofurantoin 4; Penicilline ve Carbenicilline 2; Streptomycine ve Trivetrin 1 katı besiyerinde etkin olan antibiyotiklerdir. Tetracycline, Oxytetracycline, Colistin, Chlortetracycline ve Neomycine ise Str. uberis'e etkimeyen antibiyotiklerdir.

3. E. coli'ye Nitrofurantoin ve Colistin 4; Trivetrin 3; Neomycine ve Carbenicilline 1 katı besiyerinde etkin olan antibiyotiklerdir. Tetracycline, Chloramphenicol, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Penicilline ve Chlortetracycline E. coli'ye etkimeyen antibiyotiklerdir.

4. S. gallinarum'a Ampycilline, Streptomycine, Chloramphenicol, Neomycine, Nitrofurantoin, Colistin ve Carbenicilline 4; Tetracycline ve Oxytetracycline 3; Erythromycine, Chlortetracycline ve Trivetrin 2; Penicilline 1 katı besiyerinde etkin olan antibiyotiklerdir.

5. P. multocida'ya test edilen 13 antibiyotiğin hepsi 4 katı besiyerinde de etkindir.

Sonuç olarak suşların buyyon kültürlerine 4 katı besiyerinde etkin antibiyotiklerin Nitrofurantoin (incelenen suşların hepsine), Ampycilline ve Chloramphenicol (incelenen suşlardan E. coli hariç diğerlerine), Colistin (incelenen suşlardan Str. uberis hariç diğerlerine) olduğu ortaya çıkmaktadır.

TARTIŞMA

Rutin çalışmaların yanı sıra antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulama ve değerlendirilmesi üzerinde karşılaşılan sorunları çözümlenmek amacıyla testlerin geliştirilmesi, standardizasyonu, uygun besiyerlerinin seçimi, disk hazırlanış tekniklerinin geliştirilmesi vs. gibi konularda yoğun çalışmalar yapılmaktadır (2,3, tirilmesi vs. gibi konularda yoğun çalışmalar yapılmaktadır (2, 3, 6, 8, 13, 15, 18, 25, 26, 27, 28).

Bizde denemelerimizde 13 değişik antibiyotik diski kullanarak çeşitli besiyerlerinde önlenim zonlarının durumunu, uygun sulandırılmaları, uygun tuz oranlarını ve incelenen suşlara etkin antibiyotikleri inceledik.

Bazı araştırmacılar Mueller - Hinton besiyerlerinin en iyi besiyerleri olarak bilindiğini vurgulamaktadırlar (18, 28). Bir çalışmada ise, besiyeri olarak kalp - beyin infüzyon jelozu Mueller - Hinton besiyerinden daha ucuz olması nedeniyle önerilmekte ve antibiyotik duyarlılık testlerinde besiyeri kalınlığı, besiyerine katılan maddeler, besiyerindeki jeloz miktarı ve cinsi ile besiyeri pH sınırının önemine dikkat çekilmektedir (18). Bir diğer çalışmada ise, besiyeri yapısının (iyonik bileşim) antibiyotik duyarlılık testlerinde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (28). Bir başka çalışmada ise, hastaların hastalanmadan önce alınmış kendi serumlarının en elverişli besiyeri olabileceği ileri sürülmektedir (27).

Biz ise çalışmalarımızda besiyerlerin bileşiminden çok laboratuvarlarda çok kullanılan besiyerlerinden hangilerinin incelenen suşlara uygun olabileceği sorusuna yanıt aradık ve D.S.T. agar'ın en iyi besiyeri olduğunu bu besiyerini Agar besiyerinin izlediğini saptadık.

Suşların sulandırılması ile ilgili olarak; *Sitaph. aureus* için 1/100 - 1/500, *Str. uberis* için saf kültür 1/10, *E. coli*, *S. gallinarum* ve *P. multocida* için, 1/1.000 - 1/10.000 sulandırmalar antibiyotik duyarlılık testlerinde önerilmektedir (4). Bu değerler diğer araştırmacılar tarafından da paylaşılmaktadır (3, 25).

Bizde *Staph. aureus*, *E. coli*, *S. gallinarum* ve *P. multocida* için önerilen sulandırma organlarına yakın sonuçlar elde ettik. (*Staph. aureus* için 1/100, *E. coli* için 1/100 - 1/10.000, *S. gallinarum* için 1/10 - 1/10.000) yalnız *Str. uberis* için 1/100 - 1/100.000 sulandırma oranlarını en iyi sulandırma aralığı olarak bulduk. Bu değerler *Str. uberis* için literatürde verilen sulandırmalardan fazla olmaktadır.

Antibiyotik duyarlılık testleri için % 02.5 - % 05 tuz oranlarının uygun olabileceği önerilmektedir. (7) Günümüzde antibiyogram laboratuvarlarında rutin işlerde kullanılan besiyerlerinin (Agar besiyeri, D.S.T. agar, Kanlı agar vs. gibi) tuz oranları yukarıda verilen tuz oranları civarındadır. Diğer taraftan *Staph. aureus* gibi suşların yüksek tuz oranlarında bile üreyebildikleri bilinmektedir (11). Örneğin; *Staph. aureus*'ün bu özelliğinden yararlanarak bu suşun % 7 - % 10 tuz oranlarında ortamda bulunan diğer bakterilerden ayrılması için seçimli kültürleri yapılmaktadır.

Bizde çalışmamızda yaygın olarak kullanılan tuz oranlarında suşların antibiyotiklere duyarlılıklarını ve bu suşların değişik tuz oranlarındaki üreyebilmelerini inceledik. Literatürde verildiği gibi *Staph. aureus*'ün % 7.5 tuz oranına kadar üreyebildiğini saptadık. Ayrıca *Str. uberis*'in % 5, *E. coli*'nin % 2.5 ve *S. gallinarum*'un % 1 tuz oranlarına kadar *P. multocida*'nın ise sadece % 05 tuz oranında üreyebildiğini saptadık.

İncelediğimiz suşlara etkin olarak bulduğumuz ve bulgular bölümünde verilen sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldıklarında aşağıdaki sonuçlara varılmaktadır. Süt numunelerinden izole edilen *Staph. aureus*'e Neomycine ve Chloramphenicol etkin antibiyotikler olarak bulunmuştur (21). Bizde çalışmamızda bu iki etkin antibiyotiklerin bu suşa etkin olduğunu bulduk. Ancak Peniciline (2, 21) ve Erythromycine (21) ise dirençli bulunmuştur. Biz ise bu antibiyotikleri bu suşa etkin bulduk. Kanatlı hayvanlardan izole edilen *E. coli*ler üzerinde yapılan ylni bir çalışmada bu suşlar 11 antibiyotikte test edilmiş ve suşların hepsinde çoğul dirençlik saptanmıştır (13). Suşların % 100'ü Penicilin'e, % 91.8'i Erythromycine'e ve Bacitracine'e, % 70.5'i Chlortetracycline'e, % 67.2'i Oxytetracyclin'e, % 65.5'i Tetracycline'e, % 60.6'i Ampycline'e, % 37.7'i Nlomycin'e,

% 21.3'i Streptomycin'e ve % 31.1'i Chloramphenicol'e dirençli bulunmuştur. Bir diğer araştırmada ise yine çoğul dirençlilik bulunmuş ve en etkin antibiyotik olarak bizim denemlerimizde kullanmadığımız Kanamycin (% 44.2 si dirençli) bulunmuştur (2). Ayrıca daha önce yapılan çalışmalarda da E. colilere Neomycine ve Colistin etkin, Streptomycine, Chlortetracycline ve Chloramphenicol dirençli antibiyotikler olarak bulunmuştur (9, 22). Bizim bulgularımızla literatür bulguları uyum göstermektedir.

S. gallinarum üzerinde daha önce yapılmış çalışmalarda Chloramphenicol, Ampycilline, Streptomycine, Tetracycline, Colistin ve Nitrofurantoin bu suşa en etkin antibiyotikler olarak verilmektedir (11, 10). Bizim sonuçlarımızla bu değerler uyum sağlamaktadırlar.

Daha önce yapılmış çalışmalarda Penicilline, Erythromycine, Tetracycline, Streptomycine (11), Nitrofurantoin (24), Chlortetracycline, Chloramphenicol, Oxytetracycline (14) P. multocida'ya etkin bulunan antibiyotiklerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyum göstermektedirler.

Ö Z E T

Çalışmada değişik suşların farklı besiyerlerinde çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş olup denemelerde kullanılan gereçler şunlardır;

Suşlar : Staphylococcus, aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli, Salmonella gallinarum ve Pasteurella multocida,

Besiyerleri : Sıvı besiyerleri : Buyyon ve Serumlu buyyon,

Katı besiyerleri . Agar besiyeri, Kanlı agar, D.S.T. agar ve Serum dekstroz agar.

Antibiyotikler : Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Penicilline, Chlortetracycline, Nitrofurantoin, Neomycine, Colistin, Carbenicilline ve Trivetrin.

Çalışmada ulaşılan sonuçlar şunlardır;

1. Uygun besiyerleri : İncelenen suşlara en uygun besiyerleri olarak Buyyon - D.S.T. agar ve Buyyon - Agar besiyeri en uygun besiyerleri bulunmuştur

2. Suşların sulandırılmaları: Antibiyotik duyarlılık testleri için Staph. aureus'ün 1/100, Str. uberis'in 1/100 - 1/100.000, E. coli'nin 1/100 - 1/10.000, S. gallinarum'un 1/10 - 1/10.000, P. multocida'nın 1/1.000 - 1/10.000 oranlarında sulandırmalarının uygun olacağı saptanmıştır.

3. Tuz oranı : Suşların buyyon kültürlerinin agar besiyerinin değişik tuz oranlarında antibiyotiklere duyarlılıkları test edilmiş ve Staph. aureus'ün % 7.5, Str. uberis'in % 5, E. coli'nin % 2.5, S. gallinarum'un % 1 tuz oranına kadar P. multocida'nın ise sadece % 05 tuz oranında üreyebildiği bulunmuştur.

4. Test edilen antibiyotiklere suşların duyarlılıkları : P. multocida in duyarlı suş olup sırasıyla bu suşu Staph. aureus, S. gallinarum ve Str. uberis izlemektedir. Test edilen suşlar arasında en az antibiyotiğe duyarlı suşun ise E. coli olduğu saptanmıştır.

5. Etkin antibiyotikler : Nitrofurantoin (incelenen 5 suşta), Ampycilline ve Chloramphenicol (E. coli dışındaki diğer suşlara ve Colistin (Str. uberis dışındaki diğer suşlara) en etkin antibiyotikler olarak bulunmuştur.

R E S U M E (Fransızca Özet)

Dans cette recherche, en vue de déterminer les sensibilités des différents souches aux antibiotiques en divers milieu de culture les essais d'antibiogramme sont effectués par procédé de diffusion en utilisant les antibiotiques sous forme de disque. Au cours de ces essais les matériels suivant ont été employés;

Comme souche : Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli, Salmonella fallinarum et Pasteurella multocida.

Comme les milieux du culture : Le bouillon et Le bouillon au sérum (m. aqu.) Nutrient agar, gélose au sang, D.S.T. agar et sérum dextrose agar (m. solide).

Comme les disques d'antibiotiques: Tetracycline, Ampycilline, Streptomycine, Oxytetracycline, Erythromycine, Chloramphenicol, Peniciline, Chlortatracycline, Nitrofurantoine, Neomycine, Colistin, Carbeniciline et Trivetrin.

Des essais effectués, on arrive à conclure;

1. Les milieux du culture : Le bouillon - D.S.T. agar et le bouillon - Nutrient agar sont trouvés comme les milieux du culture le plus convenable.

2. Les dilutions des souches : Leur dilutions trouvées sont ci-dessous; pour Staph. aureus 1/100, pour Str. uberis 1/100 - 1/100.000, pour E. coli 1/100 - 10.000, pour S. gallinarum 1/10 - 1/10.000 pour multocida 1/1.000 - (1/10.000)

3. Le rapport du sel NaCl : Dans Nutrient agar, ce rapport est examiné dans l'intervalle de 0,1 % à 10 %. Staph. aureus jusqu'à 7,5 %, Str. uberis jusqu'à 5 %, E. coli jusqu'à 2,5 % et S. gallinarum jusqu'à 1 % peuvent se développer. Mais P. multocida, elle peut seulement se développer à 0,5 % du sel.

4. Les sensibilités des souches aux antibiotiques étudiés : La plus sensible souche est celle de P. multocida et ensuite Staph. aureus, S. gallinarum, Str. uberis qui la suivent. Entre les souc-

hes etudiées c'est E. coli qui est trouvée la souche moins sensible aux antibiotiques.

5. Les antibiotiques favorable : Nitrofurantoin (à toutes les souches), Ampycilline et Chloramphenicol (en dehors de E. coli), et Colistin (en dehors de Str. uberis) on été trouvés comml les antibiotiques plus favorable.

KAYNAKLAR

- 1 — **AKMAN, M; GÜLMEZOĞLU, E** (1976) : Tıbbi Mikrobiyoloji, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A - 15, Ankara
- 2 — **AKMAN, M** (1976) : Patojen Stafılakok, Koliform bakteri, proteus ve Pseudomonas, Aeruginasa suşlarının Antibiyotiklere direnç durumları, Mikrobiyoloji Bult., 1 (2) : 102 - 115
- 3 — **AYDIN, N** (1979) : Antibiyotik Duyarlılık «Antibiyogram» Teknikleri, Pendik Vet. Kont. ve Araş. Enst. Eğt. Mer. Uygul. Hiz. içi Eğt., 5-10/7/1979, 20 sayfa.
- 4 — **BOURDON, J. L; MARCHAL, N** (1973) : Biologie appliquée, Techniques bactériologiques, Doin editeurs, 8. Place de L'Ondéon, Paris 6^e.
- 5 — **BİLGEHAN, H** (1981) : Genel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Ege Üniversitesi Ege Tıp Fakültesi yayını No. 84.
- 6 — **CARTER, G.** (1979) : Diagnostic Procedures in Veteriology and Mycology, Chapter 35, by Harold A. Mcallister. Charles, C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, Third Edition, A.B.D.
- 7 — **CHAMBERT, Y.A** (1963) : L'Antibiogramme, Sensibilité et Résistance des bactéries aux antibiotiques, Editions de la Tourelle, 5. Rue Guynemer, 5 St Mandé.
- 8 — **CİPRİANİ, S; MASCI, M; TACANNİ, R; MARSİLLİ, G** (1979) Studio comparativo della sesibita bacteria agli antibiotici can il metodo pr diffusion in Agar can di chi, Ann. Sclova, İTA., 21 (5) : 635 - 645.

- 9 — **COATES, S. R; HOOPES, K.H. (1980)** : Sensivites of Escherichia coli isolated from bovine and porcine enteric infections to antimicrobial antibiotics,
Vet. Res., 41 (11) : 1882 - 1883.
- 10 — **COX, H.U (1980)** : In vitro antimicrobial susceptibily of Salmonella from animals in Louisiana,
A.J. Vet. Res., 41 (5) : 809 - 811.
- 11 — **CRUICKSHANK, R; DUGUID, J. P; MARMION, B, P; SWAIN, R.H.A (1975)** : The practic of madcal microbiology, Twelfth Edtion, Volume Two, Churchill Livingstone Edinburgh, Londra.
- 12 — **ÇETİN, E.T (1968)** : Pratik Mikrobiyoloji,
Mentş Matbaası, 2. Baskı, İstanbul.
- 13 — **DEMİRÖZÜ, K (1980)** : Kanatlıların Coliform enfeksiyonlarından izole edilen E. coli suşlarının biyokimyasal ve antibiyotik duyarlılık özellikleri üzerine inceleme,
Pendik Vet. Mikr. Enst. Dergisi., 12 (1) : 48 - 52.
- 14 — **DONAHUE, J. M; OLSON, L.D (1972)** : The in vitro sensitivity of Pasteurella multocida of turkey origin to various chemotherapeptic agents,
Avian Dis., 16 (3) 506 - 511.
- 15 — **FERREIRO, L; BİBERSTEİN, E.L (1978)** : Comparation between diffusion and dilution methots for testng antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus cultures drived bovine mastits,
J. Vet. Phar and Thérap., 1 (4) : 273 - 278.
- 16 — **GEDEK, W (1978)** : Penicillinase formation and minimum inhibitory cocentrations of beta - lactum - antibiotics against mastitsStaphylo. cocci,
Berl. und Münc. Tierarz. Woch., 91 (18) : 367 - 368.
- 17 — **GOREN, E (1979)** : Antibiotic sensivity tests on Escherichia coli isolated from poultry : signifiante of mixed strain inocula,
Avian Path., 8 (1) : 13 - 22.
- 18 — **GÜRER, İ (1971)** : Disk - plakdifüzyon metodu kullanarak yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonuçlarına etki yapan çeşitli faktörler üzerinde araştırmalar ve bulgular,
Mikrobiyoloji Bult., 5 (4) : Ek 1, 24 sayfa.

- 19 — **HINTON, M; MARSTON, M; HEDGES, S (1978)** : The antibiotic resistance of pathogenic Staphylococci and Streptococci isolated from dogs, J. of Small Anim. Procc., 19 (4) : 229 - 235.
- 20 — **HYPÄ, P; KAHLCKE, A (1978)** : Evaluation of antibiograms, Tierarzt. Umschau, 33 (4) : 222 - 225.
- 21 — **JHALA, V.M (1976)** : In vitro trials on antibiotic sensitivity of bacteria in milk samples received at Gujarat Veterinary College, Anand, Indian Vet. J., 53 (4) : 247 - 251.
- 22 — **JOHANNSEN, E (1972)** : Sensivity to antibiotics of coliform bacteria from mastits and the environment, Inogural Diss. Tierarz. Hochs., 91 sayfa
- 23 — **ROLINSON, G. N; RUSELL, E.J (1972)** : New method for antibiotic susceptibility testing, Antimic. Agents and Chemot., 2 (2) : 51 - 56.
- 24 — **SHARMA, K. N; MEHROTRA, P. K; KHANNA, V.K. (1979)** : A note on characterization and antibiotics sensitivity of Pasteurella, J. of Anim. Sci., 49 (2) : 142 - 145.
- 25 — **ÖZBÜTEV, T (1976)** : Antibiyotik duyarlılık disklerinin hazırlanması uygulamadaki standardizasyonu ve antibiyotiklerin birbirine etkileri, Ank. Ün. Vet. Fak. Bak. ve Sal. Has. Kür. Seminer No 1.
- 26 — **YULUG, N ; İMER, T (1972)** : Antibiyotik direnç testinde sonucu etkileyen faktörler, Mikrobiyoloji Bült., 6 (2) : 187 - 195.
- 27 — **YULUG, N (1973)** : Antibiyotik direnç testlerinde besiyeri yapısının sonuca etkisi, Mikrobiyoloji Bült., 7 (4) : 309 - 320.
- 28 — **YULUG, N (1975)** : Antibiyotik direnç testlerinde hangi besiyeri, Mikrobiyoloji Bült., 9 (1) : 5 - 10.