

**DİSK DİFÜZYON VE E-TESTİ İLE MEROPENEM, OFLOKSASİN
VE SEFEPİM'İN DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI**Abbas YOUSEFI RAD¹Ahmet ARSLANTÜRK²**ÖZET**

Hastanemizin poliklinik ve yatan hastalarından gönderilen balgam, bronkoalveolar lavaj, paracentez, vb. örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* (n=15), *Klebsiella pneumoniae* (n=11) ve *Escherichia coli* (n=5) suşlarının meropenem, sefepim ve ofloksasin'e karşı duyarlılıkları E-testi ve disk difüzyon yöntemleri ile ölçüldü. Buna göre, E-testi ile *Pseudomonas aeruginosa* meropeneme %73, ofloksasine %53, sefepime %67, *Klebsiella pneumoniae* sırasıyla %100, %91, %82 ve *Escherichia coli* her üç antibiyotiğe %60 duyarlı bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi ile *Pseudomonas aeruginosa* meropeneme %73, ofloksasine %47, sefepime %53, *Klebsiella pneumoniae* sırasıyla %100, %91, %82 ve *Escherichia coli* her üç antibiyotiğe %80 duyarlı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hassasiyet testi, Gram negatif bakteriler, Meropenem, Sefepim, Ofloksasin

**DETERMINATION OF SUSCEPTIBILITY OF MEROPENEM, OFLOXACIN,
CEFEPIME WITH DISC DIFFUSION AND E-TEST****SUMMARY**

The sensitivities of some of *Pseudomonas aeruginosa* (n=15), *Klebsiella pneumoniae* (n=11) and *Escherichia coli* (n=5) isolated from the sputum, bronchoalveolar lavage, paracentesis fluid specimen etc., sent from patients of our hospitals clinic and hospitalized patients, were measured against meropenem, cefepim and ofloxacin by E-Test and disc diffusion methods. According to this, it's found that on the E-Test, *Pseudomonas aeruginosa* is sensitive 73% to meropenem 53% to ofloxacin, 67% to cefepim, *Klebsiella pneumoniae* was sensitive 100%, 91%, 82% and *Escherichia coli* was sensitive 60% to each three antibiotics. By the method of disc diffusion, it is found that *Pseudomonas aeruginosa* was sensitive 73% to meropenem, 47% to ofloxacin, 53% to cefepim, *Klebsiella pneumoniae* is sensitive in order to 100%, 91%, 82% and *Escherichia coli* is sensitive %80 to each three antibiotics.

Key Words: Susceptibility test, Gram negative bacteria, Meropenem, Cefepim, Ofloxacin

GİRİŞ

Mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında antimikrobiyal duyarlılık testleri değişik yöntemler ile yapılmaktadır. En sık kullanılan yöntemler disk difüzyon, agar dilüsyon, E-test ve son yıllarda geliştirilmiş otomatik duyarlılık testleridir (1). E-testi, disk difüzyon, agar dilüsyon ve minimum inhibisyon konsantrasyon testlerinin bir modifikasyonudur.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) saptayan yöntemlerden E-testi, agar dilüsyona göre daha kolay ve pratik olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir (1,2).

Sefepim (SEP), kimyasal yapısında dihidro-tiyazin halkasında bir kuaterner amonyum iyonu taşıması ile diğer sefalosporinlerden ayrılan bir metoksimino aminotiyazolil sefalosporindir.

¹Mesa Hastanesi Klinik Laboratuvarı, 06520 Söğütözü, Ankara

²Kütahya Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kütahya

Yazışma adresi: Ph.D.Mik.Uzm.Abbas YOUSEFI RAD, Mesa Hastanesi Klinik Laboratuvarı, Yaşam Cad. No:5, 06520 Söğütözü/Ankara

e-mail: ataner@mesa.com.tr

Tel: +90 312 292 99 19

Fax: +90 312 284 79 44

Sefepim diğer 3. kuşak sefalosporinlere kıyasla prokaryotların hücre membranlarından daha kolay geçebildiği için kromozomal sefalosporinazlardan daha az etkilenir (3-5).

Kinolon grubundan olan ofloksasin (OFX) DNA-giraz inhibisyonu ile prokaryot hücrede DNA sentezini önleyerek, özellikle Gram negatif bakterilere bakterisid etki gösterirler. Kinolonlara karşı *in vivo* şartlarda plazmidal direnç gösterilmemiştir (6-8).

Meropenem (MEP), periplazmik boşlukta yer alan β -laktamaz enzimlerinden etkilenmeyip Gram negatif bakterilerin hücre duvarından geçerek sitoplazmik membrandaki hedef proteinlere bağlanır ve böylece hücre duvarındaki bileşiklerin sentezini bozarak hücrenin ölümüne yol açar (9-11).

Gram negatif bakterilerin sebep oldukları solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan yukarıda adı geçen her üç antibiyotik, klinisyenler tarafından tercih edilen antibiyotiklerdir. Bu çalışmada MEP, SEP ve OFX antibiyotiklerinin balgam, bronkoalveolar lavaj, parasentez gibi kültürlerden izole edilen gram negatif bakterilerden *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* ve *E.coli*'ye etkileri ve bu antibiyotiklere gösterdikleri hassasiyetin E-testi ve disk difüzyon testleri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bayındır Hastanesinin Göğüs Hastalıkları Ünitesi'nde yatan hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen balgam, bronkoalveolar lavaj, parasentez gibi klinik örneklerden izole edilen suşlar mikrobiyolojik yöntemlerle *P.aeruginosa* (n=15), *K.pneumoniae* (n=11) ve *E.coli* (n=5) olarak tanımlanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ve E-test ile bu suşların MEP, SFP ve OFX'e karşı duyarlılıkları NCCLS standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Bu çalışmada standart suş olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçları istatistiki değerlendirilmesinde Khi kare (Statgraphics plus 5.1) kullanılmıştır.

BULGULAR

P.aeruginosa suşlarının OFX ve SEP'e karşı hassasiyetlerinin saptanmasında E-testi ve disk difüzyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu ($P<0.05$), MEP antibiyotiğine karşı hassasiyetin belirlenmesinde ise yöntemler

arasında bir fark olmadığı saptanmıştır ($P> 0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. *P.aeruginosa*'nın duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	<i>P.aeruginosa</i> * (n=15)					
	E-testi (%)			Disk difüzyon yöntemi (%)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
MEP	73	0	27	73	0	27
OFX	53	20	27	47	13	40
SEP	67	7	26	53	13	33

K.pneumoniae suşlarının E-test ve disk difüzyon yöntemleri ile her üç antibiyotiğe karşı aynı hassasiyet sonuçları elde edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. *K.pneumoniae*'nin duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	<i>K.pneumoniae</i> * (n=11)					
	E-testi (%)			Disk difüzyon yöntemi (%)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
MEP	100	0	0	100	0	0
OFX	91	0	9	91	0	9
SEP	82	0	18	82	0	18

Çalışmada kullanılan *E.coli* suşlarının, E-testi ve disk difüzyon yöntemi ile MEP, OFX ve SEP antibiyotik hassasiyetleri ölçüldüğünde iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P<0.05$) saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. *E.coli*'nin duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	<i>E.coli</i> * (n=5)					
	E-testi (%)			Disk difüzyon yöntemi (%)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
MEP	60	0	40	80	0	20
OFX	60	0	40	80	0	20
SEP	60	0	40	80	0	20

TARTIŞMA

Antimikrobiklerin MİK düzeylerini mikrodilüsyonla saptamak zaman alıcı bir metoddur. Buna karşın E-testi, disk difüzyon yönteminde olduğu gibi kolay uygulanması ve aynı zamanda dilüsyon yöntemlerinde olduğu gibi MİK değerlerini ortaya çıkartması nedeniyle günümüzde mikrobiyoloji laboratuvarlarının tercihi olmuştur (12).

Çalışmada, hastanemizin polikliniklerinden ve yatan hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen balgam, bronkoskobik lavaj, parasetez, vb. örneklerinden izole edilen *P.aeruginosa* (n=15), *K.pneumoniae* (n=11) ve *E.coli* (n=5) suşlarının, MEP, OFX ve SEP'e karşı E-testi ve disk difüzyon yöntemi ile duyarlılıkları karşılaştırılmıştır. *P.aeruginosa* suşlarının MEP, OFX ve SEP'e karşı hassasiyetleri E-testi ve disk difüzyon yöntemleri sırasıyla %100, %94 ve %86'lık bir benzerlik saptanmıştır. Bu antibiyotiklerin *K.pneumoniae*'ye karşı hassasiyetleri E-testi ve disk difüzyon yöntemleri ile karşılaştırıldığı zaman iki yöntem arasında %100 benzerlik olduğu bulunmuştur. Tablo 1 ve 2'de E-testi ve disk difüzyon yöntemleri ile yapılan ölçümlerde, *P.aeruginosa* ve *K.pneumoniae*'nin MEP'e karşı OFX ve SEP'den daha duyarlı ($p<0.5$) olduğu saptanmıştır. *E.coli* suşlarında ise her 3 antibiyotik için 2 yöntem arasında %80 benzerlik olduğu görülmektedir. Bu durum iki yöntem arasında antibiyotik hassasiyet ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p=0.5$) olduğunu göstermektedir. *E.coli* suşlarında her üç antibiyotikçe karşı E-test ve disk difüzyon ile aynı sayıda %60 ve %80 oranlarında aynı hassasiyet değerleri saptanmıştır (Tablo 3).

İki farklı antibiyotik hassasiyet testinin mikroorganizmalar arasındaki farklılığına bakıldığı zaman uyumlu olmayan sonuçlar elde edilmiştir. *P.aeruginosa* suşlarında iki yöntem arasında antibiyotiklere göre değişen farklı

sonuçlar elde edilmiştir (Tablo1). *K.pneumoniae* suşlarında 2 test ile aynı hassasiyet ve direnç oranları saptanmıştır (Tablo 2). *E.coli* suşlarında ise yöntemler arasında fark olmasına rağmen ($p=0.5$) aynı yöntemde her üç antibiyotikçe etkileri arasında fark gözlenmemiştir. Ancak *E.coli* suşları her iki yöntem karşılaştırıldığında ise E-testi ile suşlarında antibiyotik dirençleri daha yüksek ($p=0.3$) bulunmuştur (Tablo3).

Ulusoy ve ark. (13) 100 Gram negatif bakterinin 11 farklı antibiyotiğe duyarlılıklarını E-testi ve disk difüzyon yöntemiyle araştırdıkları çalışmalarında, iki testin uyumluluğunun değişik antimikrobialer için %92 ile %100 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Gebitekin ve ark. (14), E-testi ve disk difüzyon ile *P.aeruginosa* suşlarını MEP'e karşı duyarlılıklarını araştırmış ve her iki metodunda birbiri ile uyumlu olduğunu bildirmiştir (14).

Baker ve ark. (1) Gram negatif bakteriler ile yaptıkları bir çalışmada, E-testi sonuçlarını disk difüzyon ile karşılaştırmışlar ve iki yöntem arasında %95.1'lik uyum olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise E-testi ve disk difüzyon yöntemleri arasında %80 ile %100 arasında değişen bir uyum saptanmıştır.

Bu sonuçlara göre E-testi ve disk difüzyon metodları arasında her zaman %100 bir uyum gözlenmemektedir. Ancak mikroorganizmaların MİK değerlerinin belirlenmesinde E-testi, disk difüzyon yöntemine göre daha üstün olduğu için öncelikli yöntem olarak seçilmesinin faydalı olacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of the E-Test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol 1991; 29: 533.
2. Huang MB, Baker CN, Banerjee S, Tenover FC. Accuracy of the E-Test for determining antimicrobial susceptibility of staphylococci, enterococci, Campylobacter jejuni and Gram-negative bacteria resistant to antimicrobial agents. J Clin Microbiol 1992; 30: 3243.
3. Bryskier A. New concepts in the field of cephalosporins; C3' quaternary ammonium cepheps (Group IV). J Clin Microbiol Infect 1997; 3 (Suppl 1): 1.
4. Grassi GG, Grassi C. Cefepime: overview of activity in vivo and in vitro. J Antimicrob. Chemother 1993; 32 (Suppl B): 87.
5. Hancock REW, Bellido R. Antibacterial in vitro activity of fourth generation cephalosporins. J Chemother 1996; 8: 31.

6. Amyes SGB, Gemmell CG. Antibiotic resistance in bacteria. J Clin Microbiol 1992; 36: 4.
7. Munshi MH, Sack DA, Haider K, Ahmed ZU, Rahaman MM, Morshed MG. Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in *Shigella dysenteriae* type 1. Lancet 1987; 2: 419.
8. Wolfson JS, Hooper DC. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. Antimicrob Agents Chemother 1985; 29: 581.
9. Hikida M, Kawashima K, Yoshida M, Mitsunashi S. Inactivation of new carbapenem antibiotics by dehydropeptidase-I from porcine and human renal cortex. J Antimicrob Chemother 1992; 30(2): 129-34.
10. Bax RP, Bastain W, Featherstone A, Wilkinson DM, Hutchison M, Haworth SJ. The pharmacokinetics of meropenem in volunteers. J Antimicrob Chemother 1989; 24 (Suppl A): 311-20.
11. Jacoby GA, Carreras I. Activities of beta-lactam antibiotics against *E.coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob. Agents Chemo. 1989; 34: 855-62.
12. Martinez LM, Ortega MC, Suaeez AI. Comparison of E-test with broth microdilution and disk diffusion for susceptibility testing of *Coryneform* bacteria. J Clin Microbiol 1995; 33: 1318.
13. Ulusoy S, Arda B, Özer Ö, Çetin B, ve Özinel M.A. E-Test: Yeni bir antimikrobiyal duyarlılık testinin disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılması. Ankem dergisi 1995; 9(1): 85-9.
14. Gebitekin C. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının seftazidim, piperasilin, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine duyarlılıkları ve meropenem MİK değerlerinin E-test ile incelenmesi. (Uzmanlık tezi). Haydarpaşa Numune Hastanesi. İstanbul 1996.