

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıklarının E Testi ile Araştırılması

Kenan Keskin¹, Oral Öncül¹, Haluk Germeyan², O. Şadi Yenen¹

Özet: Çeşitli kaynaklardan izole edilmiş 30 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun siprofloksasin, seftizoksim, seftriakson, seftazidim, sefotaksim, aztreonam, amikasin ve tobramisine duyarlılığı hem disk difüzyon yöntemi, hem de E testi kullanılarak araştırılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Denenen antibiyotikler arasında siprofloksasine en yüksek oranda duyarlılık saptanmıştır. İki yöntemle elde edilen sonuçlar genel olarak uyumlu bulunmakla birlikte özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerde bazı uyumsuzluklar saptanmıştır. Ülkemiz koşullarında pahalı bir test olmakla birlikte özellikle disk difüzyon yöntemi ile karar verilemeyen veya tedaviye in vitro sonuçlarla uyumsuz yanıt alınan durumlarda E testinin yararlı bir test olacağı düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: E testi, disk difüzyon testi, *Pseudomonas aeruginosa*, siprofloksasin.

Summary: Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to various antibiotics using E test. The sensitivity of 30 *Pseudomonas aeruginosa* isolates from various sources to ciprofloxacin, ceftizoxime, ceftiraxone, ceftazidime, cefotaxime, aztreonam, amikacin, and tobramycin has been studied by both disk diffusion test and E test, and results were compared. Among the used antibiotics, sensitivity to ciprofloxacin has been found the highest degree. Although results obtained by two methods are generally comparable each other, some discrepancies have been observed in testing with third generation cephalosporins. Our results suggested that given its relatively higher cost E test could be used in our country, especially when drawing any conclusion is difficult from the result of disk diffusion test and when response to therapy is insufficient regarding in vitro results.

Key Words: E test, disk diffusion test, *Pseudomonas aeruginosa*, ciprofloxacin.

Giriş

Pseudomonas aeruginosa toplumda kazanılmış infeksiyonlara ve hastane infeksiyonlarına yol açabilen önemli patojenlerdendir. Hastane suşları yaygın direnç nedeni ile önemli bir sorun olmaktadır. Özellikle belirli predispozan durumların varlığında daha çok infeksiyon ve sepsise neden olabilmektedir. Günümüzde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın biçimde kullanılması direnç sorununun bu denli önemli boyutlara ulaşmasının kuşkusuz önde gelen sebeplerinden birisi olmaktadır.

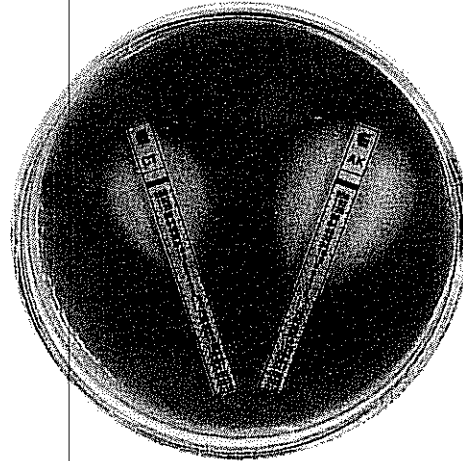
Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz üreten bakterilerde ve indüklenebilir direnç genlerine sahip bakterilerde antibiyotiklere karşı direncinin saptanması sorun olmaktadır. Rutin olarak kullanılan disk difüzyon yöntemi ile bu bakterilerde özellikle β -laktam antibiyotiklerine direnç doğru olarak saptanması mümkün olmamaktadır. Bu amaçla önerilen üç boyutlu test ve çift disk difüzyon gibi bazı testler de henüz standardize edilemediğinden rutin olarak kullanılmamaktadır (1). Gülay ve arkadaşları (2), çift disk difüzyon yönteminde diskler arasındaki uzaklığın sonuçları etkilediğini, bu uzaklığın 30 yerine 20 mm olmasının genişlemiş spektrumlu β -laktamaz saptanmasında daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Gerek agar dilüsyon, gerekse buyyon dilüsyon yöntemleri ile MIC saptanması pratik olmadığı, zaman aldığı ve hata kaynakları fazla olduğu için çoğu zaman rutin olarak kullanılmazlar (1).

Bu klasik yöntemlere alternatif olarak günümüzde bir uçtan diğer uca giderek artan antibiyotik konsantrasyonu içeren stripler kullanılarak MIC saptamaya yarayan bir test (E test, AB Biodisk, Sweden) geliştirilmiştir. Bu yöntemle disk difüzyon yöntemine eş zaman ve emek harcanarak sonuç alınabilmektedir (3-5).

Bu çalışmada hem disk difüzyon yöntemini, hem de bu yeni E testini kullanarak *P. aeruginosa* suşları arasında bazı antibiyotiklere direnç durumunun saptanması ve sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler

Bu çalışmada GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi Laboratuvarında çeşitli kaynaklardan izole edilen 30 *P. aeruginosa* suşunun siprofloksasin, seftizoksim, seftriakson, seftazidim, sefotaksim, aztreonam, amikasin ve tobramisine duyarlılığı, NCCLS M2-A4 standartlarına göre disk difüzyon ve E testi (E test, AB Biodisk, Sweden) yöntemleri ile araştırılmıştır. E testinde standard disk difüzyon yönteminde olduğu gibi en az 4 mm kalınlığında Mueller-Hinton agar plakları üzerine, 18-24 saatlik kültürden 0.5 McFarland standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu inoküle edilmiş ve antibiyotik diski yerine bir uçtan diğer uca doğru antibiyotik konsantrasyonu giderek artan özel stripler kullanılmıştır (Resim 1). Yirmi dört saatlik inkübasyon periyodu sonunda inhibisyon zonu nun sınırı hangi konsantrasyonu gösteriyorsa bu değer bu suş için o anti-



Resim 1.
E testinin görünüşü.

(1) GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, Haydarpaşa-İstanbul

(2) Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haydarpaşa-İstanbul

Tablo 1. *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları (n=30)

Antibiyotik	E Testi Sonuçları			Disk Difüzyon Sonuçları		
	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Siprofloksasin	1	1	28	-	2	28
Seftizoksım	17	10	3	17	12	1
Seftriakson	5	20	5	8	21	1
Seftazidim	4	1	25	5	2	23
Sefotaksim	4	13	13	6	17	7
Aztreonam	3	1	26	4	1	25
Amikasin	2	-	28	2	-	28
Tobramisin	5	-	25	2	3	25

biyotiğin MIC değeri olarak kaydedilmiş ve sonuçlar disk difüzyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar

E testi ile siprofloksasine 1 suş dirençli, 1 suş orta duyarlı bulunmuş, disk difüzyon yöntemi ile iki suş orta duyarlı bulunmuş, dirençli suş bulunmamıştır. En yüksek direnç oranı her iki yöntemle de seftizoksime karşı saptanmıştır. Her iki yöntemle 17 suş dirençli bulunmuş, ayrıca disk difüzyon yöntemi ile 12 suş orta duyarlı, sadece 1 suş duyarlı; E testi ile 10 suş orta duyarlı, 3 suş duyarlı bulunmuştur. Tüm sonuçlar Tablo 1'de sunulmuştur.

İrdeleme

E testinin penisiline dirençli pnömokoklar, *Neisseria gonorrhoeae*, stafilokoklar, enterokoklar, *Campylobacter jejuni* ve dirençli Gram-negatif bakterilerde antibiyotik duyarlılığı araştırmalarında güvenle kullanılabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (6-8). Rautelin ve arkadaşları (5) E testinin *P.aeruginosa* suşlarında tobramisine duyarlılığı göstermede konvansiyonel testler kadar kullanışlı bir test olduğunu bildirmişlerdir. Abacıoğlu ve arkadaşları (9) genişlemiş spektrumlu β -laktamaz saptanmasında E testi ile çift disk sinerji yöntemlerini karşılaştırmışlar, çift disk sinerji yönteminin hem daha duyarlı, hem de daha ucuz olduğunu bildirmişlerdir. Ulusoy ve arkadaşları (10), 100 Gram-negatif bakterisi suşunda E testi ve disk difüzyon yöntemlerini kullanarak 11 değişik antibiyotiğe duyarlılığı araştırmışlar iki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında % 96 uyumluluk bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da iki yöntemle elde edilen sonuçlar genel olarak uyumlu bulunmakla birlikte özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlılık oranlarında bazı uyumsuzluklar görülmüştür. *P.aeruginosa* suşları arasında siprofloksasine karşı E testi ile sadece bir suşta direnç saptanmış, bu suş disk difüzyon yöntemi ile de orta duyarlı bulunmuştur. En düşük direnç bakımından siprofloksasinden sonra amikasin ikinci sırada gelmiştir. Amikasin her iki yöntemle de iki suş dirençli bulunmuştur. Üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı daha yüksek oranda direnç saptanmıştır; bunun üçüncü kuşak sefalosporinlerin prensiplere uymadan ve rastgele kullanımına bağlı olduğu düşünülmüştür. Ülkemiz koşullarında rutin uy-

gulama için pahalı bir test olmakla birlikte özellikle disk difüzyon yöntemi ile karar verilemeyen veya tedaviye in vitro sonuçlarla uyumsuz yanıt alınan durumlarda MIC saptamak gerektiğinde E testinin agar ve buyyon dilüsyon yöntemlerine göre daha kolay ve daha az hata ile uygulanabilirlik avantajına sahip olduğu düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. Sanders CC, Thompson KS, Bradford AB. Problems with detection of β -lactam resistance among nonfastidious Gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin North Am* 1993; 7: 411-24
2. Güllay Z, Abacıoğlu YH, Yuluğ N. Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi. *İnfeks Derg* 1995; 9: 89-92
3. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thomsberry 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* 1994; 29: 533-8
4. Miller LA, Rittenhouse SF, Utrup LJ, Poupard JE. Comparison of three methods for determining of a single MIC of an antimicrobial agent. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1373-5
5. Rautelin H, Renkonen I, Renkonen OV. Evaluation of the E test in testing susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to tobramycin. *Eur J Clin Microbiol* 1992; 11: 177-80
6. Macias EA, Mason JR EO, Oceria HY, Larocco MT. Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 430-2
7. Van Dyck E, Smet H, Piot P. Comparison of E test with agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1586-8
8. Huang MB, Baker CN, Banerjee S, Tenovel FC. Accuracy of the E test for determining antimicrobial susceptibilities of staphylococci, enterococci, *Campylobacter jejuni*, and Gram-negative bacteria resistant to antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3243-8
9. Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Güllay Z, Yuluğ N. Extended spectrum β -laktamaz saptanmasında E testi ile çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması. *İnfeks Derg* 1995; 9: 93-5
10. Ulusoy S, Arda B, Özer Ö, Çetin B, Özinel MA. Yeni bir antimikrobiyal duyarlılık testinin disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılması. *Ankem Derg* 1995; 9: 85-9