

Çeşitli Antibiyotiklerin Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine İdrarın Etkisinin Farklı *Escherichia coli* Fenotiplerinde Araştırılması

Özden BÜYÜKBABA-BORAL(*), Nevriye GÖNÜLLÜ (**),
Ömer KÜÇÜKBASMACI (**), Mine ANĞ-KÜÇÜKER (*), Özdem ANĞ (*)

(*)İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa-İstanbul
(**)İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Çapa-İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bazı antibiyotiklerin in vitro aktivitesi üzerine idrarın etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 30 *Escherichia coli* suşu kullanılmıştır. Suşların 10'u ampisiline duyarlı, 10'u ampisilin ve ampisilin+sulbaktama dirençli ve 10'u ise genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E.coli* fenotipinden seçilmiştir. Ampisilin, ampisilin+sulbaktam, sefalotin, sefuroksim, seftriakson, amikasin, siprofloksasin, sulfametoksazol ve trimetoprim antibiyotiklerinin minimal inhibitör konsantrasyonları, mikrodilüsyon yöntemi ile Mueller Hinton broth ve insan idrarında paralel olarak çalışılmıştır. Sefalotin dışında tüm antibiyotiklerin MİK90'ü idrar ortamında istatistiksel açıdan önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada bazı antibiyotiklerin aktivitesinin idrardan etkilendiği ve böylece standart duyarlılık testlerinin, idrar yolu infeksiyonlarında kullanılan bazı antibiyotiklerin aktivitesini olduğundan yüksek gösterebileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: İdrar, MİK, *Escherichia coli*, antibiyotikler

SUMMARY

The Influence of Urine on the in vitro Antimicrobial Activity of various Antibiotics against Different *Escherichia coli* Phenotypes

The influence of urine on the in vitro activities of various antibiotics used in the therapy of urinary tract infections was assessed by the microbroth dilution method. Thirty *Escherichia coli* strains were used in this study: ten strains susceptible to ampicillin, ten strains resistant to ampicillin and ampicillin+sulbactam and ten were extended spectrum beta-lactamase producer strains. The MICs of ampicillin, ampicillin+sulbactam, cephalothin, cefuroxime, ceftriaxone, amikacin, ciprofloxacin, sulfamethoxazole and trimethoprim were performed parallel in Mueller Hinton broth and human urine by the microbroth dilution method. The MIC90 of all antibiotics except cephalothin were higher in the urine. MICs performed in the urine were found significantly higher than those performed in broth media. This study demonstrated that MICs of antibiotics are influenced by the human urine and MICs of some antibiotics used in the treatment of urinary tract infections may be overestimated by the standard antibiotic testing methods.

Key Words: Urine, MIC, *Escherichia coli*, antibiotics

GİRİŞ

İdrar yolu infeksiyonları en sık rastlanan bakteri infeksiyonları arasındadır. Son yıllarda, hastane infeksiyonu etkeni olan suşların antibiyotik direnci çok artmıştır. Ayrıca toplumda kazanılmış idrar yolu infeksiyonları etkenlerinin de antibiyotik direncinde bir artış gözlenmektedir. Bu bakımdan, in vitro duyarlılık testlerinin sonuçları hastaların tedavisi için çok büyük önem taşımaktadır (1).

Bazı araştırmalar, komplike olmayan alt idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin aktivitesinin standart duyarlılık testleri ile olduğundan daha az bir aktivite gösterdiklerini kanıtlamaktadır. Konvansiyonel duyarlılık testleri akut piyelonefrit için iyi standardize edilmiştir. Ayrıca, standart duyarlılık testlerinin, komplike idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin etkisini olduğundan daha yüksek gösterdiğini kanıtlayan çalışmalarda yapılmıştır (2).

İletişim : Özden Büyükbaba Boral
e-posta obboral@yahoo.com

İdrar yolu infeksiyonu etkeni olan bakterilerin duyarlılık testlerinde, idrarın bu antibiyotikler üzerindeki etkisi dikkate alınmamaktadır. Bu çalışma, idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bazı antibiyotiklerin aktivitesi üzerine idrarın etkisinin belirlenmesi amacı ile planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteri: Bu çalışmada, idrar yolu infeksiyonu etkeni olan 30 *Escherichia coli* suşu kullanılmıştır. Bakteriler 10'ar suştan oluşan üç gruba ayrılmıştır: birinci grup ampisiline duyarlı suşlar içermektedir; ikinci grup ampisilin ve ampisilin+sulbaktam dirençli ve inhibitör dirençli beta-laktamaz (IRT) salgılayan fenotipine sahip olan suşlardan oluşmaktadır; üçüncü grup ise çift-disk sinerji yöntemi ile tespit edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *E.coli* suşlarını kapsamaktadır.

Antibiyotikler: Çalışmada kullanılan antibiyotikler aşağıda sıralanmıştır: ampisilin, sulfometoksazol, trimetoprim (Fako, İstanbul); ampisilin+sulbaktam (Bilim, İstanbul); sefalotin (Lilly, İstanbul); sefuroksim (GlaxoSmith Kline, İstanbul); seftriakson (Deva, İstanbul); amikasin (Mustafa Nevzat, İstanbul); siprofloksasin (Bayer, İstanbul).

Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK):

Antibiyotik içermeyen ve pH'sı 6.4 olduğunu tespit edilen insan idrarı, 0.2 µm por çapı olan filtreden süzülerek steril edilmiştir. MİK mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır(3). Antibiyotiklerin 100'er µl kasyon ayarlı Mueller Hinton broth ve insan idrarı içeren mikropleytlerde çift seri dilüsyonları yapılmıştır. Standart suş olarak ATCC *E.coli* 25922 suşu kullanılmıştır. Logaritmik üreme fazında bulunan bakteri süspansiyonları yaklaşık 5x10⁵ CFU/ml Mueller Hinton broth ve idrar içeren kuyucukların içine inoküle edilmiştir. 35°C'de 24 saatte üreme olmayan en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak kabul edilmiştir.

İstatistik

İstatistik inceleme Mann-Whitney testi ile yapılmıştır.

BULGULAR

Farklı üç bakteri grubunun çeşitli antibiyotiklere karşı MİK dağılımı, MİK aralıkları ve MİK90'ı tablo 1, 2 ve 3'te gösterilmiştir.

İdrar ortamında sefalotin dışında tüm antibiyotiklerin MİK90 değeri daha yüksek bulunmuştur. Sefalotin için MİK90 her iki ortamda ampisilin duyarlı ve IRT grubunda eşit bulunmuştur. Ampisilin duyarlı *E.coli* grubunda amikasin ve siprofloksasin için MİK90 değeri idrarda, buyyona oranla 128 kat daha yüksek bulunmuştur. MİK90 değerlerinde en düşük düzeyde farklılık, ampisilin+sulbaktam için IRT ve GSBL grubunda iki kat, seftriakson için IRT grubunda iki kat ve trimetoprim için her üç grupta iki kat olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel incelemede MİK değerlerin yükselmesi, sefalotin dışında tüm antibiyotikler için anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

TARTIŞMA

Rutin duyarlılık testleri hastaların tedavisi için çok önemli bilgiler sağlamaktadır ancak duyarlılık testlerinin güvenilirlik sınırları da vardır, örneğin bazı vakalarda in vitro şartlarda elde edilen bulgular klinik gelişme ile uyumlu olmamaktadır. Antibiyotiklerin idrardaki düzeyleri, serum veya diğer dokulara göre çok daha yüksektir. Stamey ve ark. (4) idrar yolu infeksiyonlarının tedavi edilmesinin serumdaki antibiyotik konsantrasyonuna bağlı olmadığını, esasında idrardaki antibiyotik konsantrasyonuna bağlı olduğunu ve bu infeksiyonlar için yeni ve spesifik kriterlerin bulunmasını önermiştir. Bu çalışmada oral yoldan verilen penisilinin serumdaki konsantrasyonu 1 µg/ml altında iken, idrardaki konsantrasyonu 150 µg/ml civarında bulunmuş, etken suşun ise penisiline karşı MİK'inin 25 µg/ml olduğu bildirilmiştir. Eudy (5), 545 idrar yolu infeksiyonu olan hasta ile yaptığı çalışmada, bu hastalardan duyarlı suşlar ile infekte olanların, %66'sının, dirençli suşlar ile infekte hastalarının ise %60'ının tedavi edilebildiğini bildirmiştir.

Ampisilinin idrarda subinhibitör konsantrasyonda olacak şekilde verilmesinin dahi, bakterilerin idrar

Tablo 1. Duyarlı *Escherichia coli* grubu: MİK dağılımı, MİK aralığı, MİK90 ve duyarlılık oranları

Antibiyotikler	≤0.002	0.004	0.008	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	>1024	MİK Aralığı	MİK ₉₀	%R	%I	%S
Ampisilin	Broth								1	3	2	4										0.5-4	4		100	
	İdrar								3			1	2		3	1						1-64	32			
Ampisilin + subbaktam	Broth						1	1	3	3	2											0.25-4	4		100	
	İdrar									2	3	1	1	2	2		1					2-128	32			
Sefalotin	Broth	1										1	1	2	5							≤0.002-32	32	50	20	30
	İdrar								2	1	1	2	1	2	1	1						1-64	32			
Sefuroksim	Broth						2	1	2	3	2											0.25-4	4		100	
	İdrar								1		3				1	1	2	1	1	1		1-512	128			
Seftriakson	Broth		1		1	3	4			1	1											0.004-2	0.06		100	
	İdrar				2				4	2		1	1									0.015-8	4			
Amikasin	Broth								1	1	4	2	1									≤0.002-8	4		100	
	İdrar														1	5	2	1	1	1		64-1024	512			
Siprofloksasin	Broth	4	2	3					1													≤0.002-0.5	0.008		100	
	İdrar							4	4	1		1										0.25-8	1			
Sulfometoksazol	Broth										1	1			2	3	2	2				8-256	256		100	
	İdrar															1	1	2	1	4	1	64->1024	1024			
Trimetoprim	Broth					1		2	1	1	1						4					0.03-128	128	40	60	
	İdrar							1			1	2			1	1	1	4				0.25-256	256			

R: dirençli I: orta duyarlı S: duyarlı

Tablo 2. İnhibitör dirençli beta-laktamaz oluşturan *Escherichia coli* grubu: MİK dağılımı, MİK aralığı, MİK₉₀ ve duyarlılık oranları

Antibiyotikler		≤0.002	0.004	0.008	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	18	16	32	64	128	256	512	1024	>1024	MİK Aralığı	MİK ₉₀	%R	%I	%S	
		Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth	İdrar	Broth
Ampisilin	Broth														1					1	1	2	5	16>1024	>1024	90	10	
	İdrar																			1	3	3	3	256->1024	>1024			
Ampisilin + sulbaktam	Broth																						1	8->1024	256	90	10	
	İdrar																						1	64->1024	512			
Sefalotin	Broth						1															1	0.06-1024	256	50	50		
	İdrar																							16-512	256			
Sefuroksim	Broth												4	2	1	2	1							4-64	32	30	30	40
	İdrar													1	2	2	3							8-256	256			
Seftriakson	Broth				1																			0.015-32	16		30	70
	İdrar										1	1	2	1	2	1	4							0.015-32	32			
Amikasin	Broth											3	2	3	2									2-16	16			
	İdrar																							64-128	128		100	
Siprofloksasin	Broth						1																	0.06-128	128	30		
	İdrar											3												1->1024	>1024		70	
Sulfonoksazol	Broth															1								32->1024	>1024	60		
	İdrar																							512->1024	>1024		40	
Trimetoprim	Broth																1							0.5-128	128	80		20
	İdrar																							64-512	256			

R: dirençli I: orta duyarlı S: duyarlı

Tablo 3. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan Escherichia coli grubu: MİK dağılımı, MİK aralığı, MİK90 ve duyarlılık oranları.

Antibiyotikler	≤0.002	0.004	0.008	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	>1024	MİK Aralığı	MİK ₉₀	%R	%I	%S
Ampisilin	Broth																			10	>1024	>1024	>1024	100		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Ampisilin + sulbaktam	Broth									1					1	5	2	2				32-256	256	100		
	İdrar														1	3	3	3				64-512	512			
Sefalotin	Broth																			10	>1024	>1024	>1024	100		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Sefuroksim	Broth																			10	>1024	>1024	>1024	100		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Seftriakson	Broth																			10	>1024	>1024	>1024	100		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Amikasin	Broth										1	1	1	2	4	1	1					4-128	64	20	40	40
	İdrar																	2	3	3	2	256->1024	>1024			10
Siprofloksasin	Broth								1						3	3	3	1	1	1		0.5-1024	512	90		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Sulfometoksazol	Broth																			10	>1024	>1024	>1024	100		
	İdrar																			10	>1024	>1024	>1024			
Trimetoprim	Broth													1	6	3	3					64-256	256	100		
	İdrar														1	6	3					128-512	512			

R: dirençli I: orta duyarlı S: duyarlı

yolu epiteline aderansını azalttığı gösterilmiştir. Ben Redjeb ve ark.(6) 20 kişilik kadın hasta grubunda yaptıkları klinik çalışmada, ampisilin çok küçük dozlarda bile (10 mg/günde, 3 gün) idrar yolu infeksiyonlarının %85'inin 2-3 gün içinde iyileşmesini göstermişlerdir. Bu çalışma da, standart antibiyogramın, komplike olmayan idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde, bir çok antibiyotiğin etkisini olduğundan daha az gösterdiğini kanıtlamaktadır (2).

Bu araştırmalar iki yaklaşıma yol açmıştır: birincisinde, idrarda yüksek konsantrasyona ulaşan bazı antibiyotikler için, yüksek antibiyotik konsantrasyonu içeren diskler kullanılmasıdır. Bu konuda yapılan çalışmaların sayısı az olduğu gibi klinik deneyimlerde yetersizdir. İkinci yaklaşım ise National Committee for Clinical Laboratory Standards tarafından ortaya atılmıştır. Buna göre "orta duyarlı" suşlar idrar örnekleri için duyarlı olarak değerlendirilmelidir.

İdrarda antibiyotiklerin aktivitesini etkileyen bir çok faktör vardır. Kalsiyum, magnezyum, pH gibi faktörler duyarlılık testlerin sonucunu etkilemektedir. Aagaard ve ark. (7) yaptıkları in vitro çalışmada, insan idrarının ve prostatik sıvısının E.coli suşlarında siprofloksasinin ve trimetoprimin MİK değerlerini etkilediğini bulmuşlardır. Prostat sıvısı trimetoprimin MİK değerini artırırken, siprofloksasinin MİK'ini düşürmüştür. İdrar ise her iki antibiyotiğin MİK düzeyini artırmıştır.

Zhanel ve ark. (8) *E.coli* suşlarında insan idrarının siprofloksasinin üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, MİK Mueller Hinton broth (pH 5.5 ve 7.3) ve insan idrarında (pH 5.5 ve 7.5) karşılaştırılmıştır. İdrarda (pH 5.5) çalışılan MİK değeri 64 kat daha yüksek (0.016-1024 µl/ml) bulunmuştur. Asidik pH'nın MİK değerinin yükselmesine neden olduğu belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada çeşitli antibiyotiklerin aktivitesi Mueller Hinton broth ve idrar ortamında

paralel olarak ölçülmüştür ve sefalotin dışında tüm antibiyotiklerin idrarda daha düşük aktiviteye sahip olduğunu bulunmuştur. İdrardan elde edilen MİK değerleri Mueller Hinton brohtaki MİK değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada bazı antibiyotiklerin aktivitesinin insan idrarından etkilendiği ve standart duyarlılık testlerinin antibiyotiklerin etkisini olduğundan daha yüksek gösterebileceği üzerine dikkat çekilmek istenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1. Nicolle LE:** Measurement and significance of antibiotic activity in the urine. "V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine", p.793, Williams and Wilkins, Baltimore (1996).
- 2. Caron F:** Bases pharmacologiques de l'antibiothérapie des infections urinaires (1re partie): données expérimentales in vitro. *Antibiotiques* 1: 27 (1999).
- 3. National Committee for Clinical Laboratory Standards:** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 5th edn. Approved Standard M7-A5. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, (2000).
- 4. Stamey TA, Govan DE, Palmer JM:** The localization and treatment of urinary tract infections: the role of bactericidal urine levels as opposed to serum levels. *Medicine* 44: 1 (1998).
- 5. Eudy WW:** Correlations between in vitro sensitivity testing and therapeutic response in urinary tract infections. *Urology* 2: 519 (1973).
- 6. Ben Redjeb S, Slim A, Horchani S, Zmerilli S, Boujnah A, Lorian V:** Effects of ten milligrams of ampicillin per day on urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 481 (1982).
- 7. Aagaard J, Gasser T, Rhodes P, Madsen PO:** MICs of ciprofloxacin and trimethoprim for *Escherichia coli*: influence of pH, inoculum size and various body fluids. *Infection* 19 Suppl 3: S167 (1991).
- 8. Zhanel GG, Karlowsky JA, Davidson RJ, Hoban DJ:** Influence of human urine on the in vitro activity and postantibiotic effect of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. *Chemotherapy* 37: 218 (1991).