

# İMİPENEMİN ÇEŞİTLİ BAKTERİ SUŞLARINA ETKİNLİĞİNİN MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI\*

Ömer KOCABEYOĞLU, ErdoğaN KOŞAN, İlhan BİRİNCİ,  
Mustafa KANMAZ, Mustafa YILMAZ

## ÖZET

Klinik örneklerden izole edilen 207 Gram negatif çomak ve 207 stafilocok suyu olmak üzere toplam 414 bakteri suyu üzerine imipenemin etkinliği mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Gram negatif çomakların % 96'sı, stafilocokların ise % 88'i imipeneme duyarlı bulunmuştur. MIC<sub>90</sub> değerleri Gram negatif çomaklarda 1-8 mg/l arasında değişirken stafilocoklar için bu değerler 1-16 mg/l arasında bulunmaktadır. İmipenemin Gram negatif bakteriler üzerine etkinliğinin bazı stafilocoklardan daha fazla olduğu saptanmıştır.

## SUMMARY

*Investigation of efficacy of imipenem on various bacteria by microdilution technique.*

Effect of imipenem on various bacterial strains including 207 Gram negative rods and 207 staphylococci was investigated by microdilution assay. Ninety-six percent of Gram negative rods and 88 % of staphylococci were found susceptible to imipenem. MIC<sub>90</sub> of imipenem for Gram negative rods varied from 1 to 8 mg/l. However, MIC<sub>90</sub> for staphylococci was found between 1 and 16 mg/l. It is observed that imipenem has wide antibacterial activity on all bacteria but its antibacterial activity against Gram negative rods is more than that on some *Staphylococcus* species.

## GİRİŞ

Karbapenemlerin ilk üyesi olan imipenem, beta-laktam antibiyotikler içerisinde etki spektrumu en geniş olanıdır (4,5,8). Klinik önemi olan bakterilerin en az % 90'ı 8 mg/l ve daha az imipenem tarafından inhibe edilmektedir(1). Diğer beta-laktam antibiyotikler ile imipenem arasında çapraz direnç oluşumu bildirilmemiştir(10). Hem Gram pozitif, hem de Gram negatif bakterilere karşı geniş bir etki spektrumuna sahip olan imipenem 1993 yılı başında Türkiye'de piyasaya sunulmuştur. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere imipenemin etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Bakteriler:** Değişik kliniklerden gelen materyallerin % 5 koyun kanı ilave-li beyin-kalp infüzyon jelozuna ekimleri yapılmış ve 35°C'de 18 saat inkübe edilmişlerdir. Gram pozitif koklar katalaz (% 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), mannitole etkileri, lüp yöntemiyle koagülaz oluşturmaları ve biyokimyasal özelliklerine göre tür düz-

\* 8. Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur (22-28 Mayıs 1993, Antalya).  
Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul.

yne kadar idantifiye edilmişlerdir. Gram negatif bakterilerin % 3 KOH ile Gram negatif oldukları doğrulanmıştır. Bu bakterilerin EMB ve McConkey besiyerlerine ekimleri yapılmış ve biyokimyasal özelliklerine göre idantifikasiyon işlemi tamamlanmıştır.

**Mikrodilüsyon yöntemi:** İmipenemin Müller-Hinton buyyonu içerisinde 128 mg/l-0.125 mg/l arası seri dilüsyonları hazırlanmış ve mikrotitrasyon plaqının dikey sıralarının her birine 100 µl ilave edilmiştir. Böylece, antibiyotığın yatay sıralarda 128-0.125 mg/l arası 2 katlı azalan dilüsyonları elde edilmiş ve mikrodilüsyon plaqının her yatay sırası bir suş için kullanılmıştır. Yatay sıradaki tüm çukurlara 10<sup>7</sup>/ml bakteri süspansiyonundan 0.005 ml ilave edilmiş ve plaklar steril şeffaf bant ile kapatılarak 35°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Her bakteri suşu için kontrol amacıyla antibiyotik içermeyen ve sadece 100 µl besiyeri içeren bir çukur ayrılmış, üzerine 0.005 ml bakteri süspansiyondan ilave edilmiştir (11).

**Sonuçların değerlendirilmesi:** İnkübasyon süresi sonucunda plaklar çiplak gözle kontrol edilmiş ve her sırada bulanıklık görülmeyen en son çukurdaki antibiyotik konsantrasyonu o suş için minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) olarak değerlendirilmiştir (11).

## BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan stafilocok suşlarından *S. haemolyticus* % 100, *S.saprophyticus* % 97, *S.epidermidis* % 87, *S.aureus* suşları ise % 77 oranında imipeneme duyarlı bulunmuştur. Tüm stafilocok suşlarında duyarlılık oranı % 88, orta duyarlılık oranı % 3, dirençlilik oranı ise % 9 olarak saptanmıştır. Gram negatif çomaklardan *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* ve *Klebsiella spp.*'da % 100 duyarlılık, *Proteus spp.*'de % 75 duyarlılık, *Escherichica coli* suşlarında ise % 96 duyarlılık saptanmıştır. Gram negatif çomakların total duyarlılık oranı % 95.6, orta duyarlılık oranı % 4, dirençlilik oranı ise % 0.4 olarak bulunmuştur.

Sonuçlar Gram negatif bakteriler için tablo 1'de, stafilocoklar için tablo 2' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gram negatif bakterilerin imipeneme duyarlılık oranları ile MIC<sub>50</sub> ve MIC<sub>90</sub> değerleri.

Bakteri	Sayı	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	MIC <sub>50</sub> (mg/l)	MIC <sub>90</sub> (mg/l)
E.coli	84	81 (96)*	2 (2)	1 (1)	0.25	2
Proteus spp.	24	18 (75)	6 (25)	0	4	8
Pseudomonas spp.	40	40 (100)	0	0	1	4
Enterobacter spp.	35	35 (100)	0	0	0.25	1
Klebsiella spp.	24	24 (100)	0	0	0.5	2
Toplam	207	198 (95.6)	8 (4)	1 (0.4)		

\* Sayı (%).

Tablo 2. Stafilocokların imipeneme duyarlılık oranları ile MIC<sub>50</sub> ve MIC<sub>90</sub> değerleri.

Bakteriler	Sayı	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	MIC <sub>50</sub> (mg/l)	MIC <sub>90</sub> (mg/l)
S.aureus	53	41 (77)*	2 (4)	10 (19)	0.5	16.0
S.epidermidis	76	66 (87)	2 (3)	8 (11)	0.25	8.0
S.saprophyticus	64	62 (97)	2 (3)	0	0.25	2.0
S.haemolyticus	14	14 (100)	0	0	0.25	1.0
Toplam	207	183 (88)	6 (3)	18 (9)		

\* Sayı (%).

### TARTIŞMA

İmipenem son yılların yeni ve güçlü bir antibiyotигidir. Etki spektrumunun Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin çogunu kapsaması, ampirik tedavide ve polimikrobik infeksiyonların tedavisinde bu antibiyotik için tercih nedenidir. İmipenem kromozomal ve plazmide baгlı beta-laktamazlara dirençlidir (10). Minimal inhibitör konsantrasyonu ile minimal bakterisidal konsantrasyonun i-nokulum büyüklüğünden etkilenmemesi bu antibiyotik için önemli bir özellik olarak görülmektedir (8).

*P.aeruginosa* suшları genelde antibiyotiklere dirençli bakterilerdir. Kropp ve ark. (10) *Pseudomonas* suшları için imipenemin MIC<sub>90</sub> değerini 3.65 mg/l olarak bildirmiшlerdir. Çalışmamızda ise 4 mg/l olarak bulunmuş olup Kropp ve ark.nın bulgularıyla uyumludur. Aynı suшlarla disk diffüzyon yöntemi ile yaptığımız bir başka çalışmada *Pseudomonas spp.* suшlarının % 10 oranında imipeneme dirençli olduğu saptanmıştır (9). Aradaki farklılığın yöntem farklılığından kaynaklandığı ve mikrodilüsyon yönteminin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir. Mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan bu çalışmada *Pseudomonas spp.* suшlarının tamamı imipeneme duyarlı bulunmuştur. Fujita ve ark. (3) *P.aeruginosa* suшlarının % 84.2 oranında imipeneme duyarlı olduğunu bildirmiшlerdir. Watana-be ve ark. (15) ise imipeneme % 28.7 oranında direnç saptamışlardır. Gaynes ve Culver (4) eğitim hastanesinden izole edilen *P.aeruginosa* suшlarında, imipeneme başlangıчta saptanan % 16.1lik direncin 2 yıl sonra % 25'e yükseldiğini belirtmişlerdir. Jones (8) enterobakterilerin mikrodilüsyon yöntemiyle % 99.8 oranında imipeneme duyarlı olduklarını bildirmiшlerdir. Türkiye'de yeni kullanılmaya başlanan ve oldukça etkili bir antibiyotik olduğu gözlenen imipenemin bilinci bir şekilde kullanılması gerekmektedir. Aksi halde bu antibiyotige dirençli *Pseudomonas* suшlarının ortaya çıkması ve yaygınlaşması kaçınılmaz olacaktır. Szczygiel ve ark. (14) Gram negatif bakterilerin % 96.8 oranında imipeneme duyarlı olduğunu bildirmiшlerdir. Gill ve ark. (6) ise *E.coli* ve *Klebsiella* suшlarının tamamını mikrodilüsyon yöntemiyle imipeneme duyarlı bulmuşlardır. Çalışmamızda *E.coli* suшlarında imipeneme % 1 oranında direnç saptanmış olup, *Klebsiella* suшlarının tamamı imipeneme duyarlı bulunmuştur.

Gram pozitif bakterilerdeki imipeneme dirençlilik oranı genelde Gram negatif bakterilerden daha fazladır (7,9, 12, 13, 14). Barr ve ark. (2) *S.aureus* suшları için imipenemin MIC<sub>90</sub> değerini 0.25 mg/l olarak bildirmiшler, çalışmamızda bu değer 8 mg/l olarak bulunmuştur. *S.aureus* ve *S.epidermidis* suшlarının inhibisyonu için çok daha fazla imipenem konsantrasyonuna ihtiyaç bulunmaktadır. Ancak imipenem için dirençlilik sınırı >8 mg/l olduğundan *S.aureus* suшlarının % 77si, *S.epidermidis* suшlarının ise % 87si imipeneme duyarlı

bulunmuştur. *S.saprophyticus* ve *S.haemolyticus* suşlarının ise tamamı imipeneme duyarlı bulunmuş olup, bu suşlar için MIC<sub>90</sub> değeri sırasıyla 2 mg/l ve 1 mg/l'dır. Çalışmamızda metisiline dirençli (MR) stafilocok ayrimı yapılmamıştır. Ancak MR stafilocok suşlarında imipenemin MIC<sub>90</sub> değeri oldukça yüksek olup bu değer sırasıyla MR *S.aureus* suşları için 27.2 mg/l ve MR koagülaz negatif stafilocok suşları için 50 mg/l olarak bildirilmiştir (8).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre imipenem için elde edilen MIC<sub>50</sub> ve MIC<sub>90</sub> değerleri Amerika ve Avrupa kaynaklı yaynlarda bildirilenlerden genelde çok daha yüksektir (2, 3, 8, 10). Buna karşın duyarlılık oranlarının uyumlu olduğu görülmektedir. Bulgularımız, imipenemin özellikle Gram negatif bakteriler, *S.saprophyticus* ve *S.haemolyticus* suşları için oldukça etkili bir antibiyotik olduğunu, buna karşın *S.aureus* ve *S.epidermidis* suşlarına aynı ölçüde etkili olmadığını göstermektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Acar JP, Goldstein FW, Krrzis MD, Gutmann L: Activity of imipenem on aerobic bacteria, *J Antimicrob Chemother* 12 (Suppl D): 37 (1993).
2. Barr JG, Smyth ETM, Hogg GM: In vitro antimicrobial activity of imipenem in combination with vancomycin or teicoplanin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9: 804 (1990).
3. Fujita J, Negayama, K, Takigawa K, Yamagishi Y, Kubo A, Yamaji Y, Takahara J: Activity of antibiotics against resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 29: 539 (1992).
4. Gaynes RP, Culver DH: Resistance to imipenem among selected Gram negative bacilli in the United States, *Infect Control Hosp Epidemiol* 13: 10 (1992).
5. Geddes AM, Roylance PJ: Clinical experience with imipenem/cilastatin: a 5 -year overview, *Curr Opin Infect Dis* 4 (Suppl 1): 53 (1991).
6. Gill CS, Ponticas S, Shungu DL, Guerriero S: In vitro activities of antibacterial agents against clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* species from intensive care units, *Clin Ther* 13: 25 (1991).
7. Igari J: Susceptibilities of clinical bacterial isolates to antimicrobial agents, 1989. A study mainly focused on imipenem. The research group for testing imipenem susceptibilities of clinical isolates, *Jpn J Antibiot* 44: 1329 (1991).
8. Jones RN: Review of the in vitro spectrum of activity of imipenem, *Am J Med* 78 (Suppl 6A): 22 (1985).
9. Koşan E, Kocabeyoğlu Ö, Özperçin İ, Yılmaz M, Birinci İ, Özer MT: İmipenem ile bazı antibiyotiklere Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerdeki dirençlilik oranlarının karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 7: 68 (1993).
10. Kropp H, Gerckens L, Sundelof JG, Kahan FM: Antibacterial activity of imipenem: The first thienamycin antibiotic, *Rev Infect Dis* 7 (Suppl 3): 389 (1985).
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, second edition; Approved standard, NCCLS Document M7-A2, Villanova (1990).
12. Neu HC, Labthavikul P: Comparative in vitro activity of N-formimidoyl thienamycin against gram positive and gram negative aerobic and anaerobic species and its betalactamase stability, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 180 (1982).
13. Potel G, Baron D: Imipenem/cilastatin for treatment of acute bacterial peritonitis: a French multicenter study, *Highlights From Infections in Medicine* 7: 30 (1992).
14. Szczygiel B, Pertkiewicz M, Meszaros J, Otto M, Grachawiecki T, Rudmika J, Haćel I, Solecka-Lasak M: Imipenem in the treatment of patients with severe surgical infection, *Pol Tyg Lek* 47: 29-30, 638-41 (1992).
15. Watanabe M, Hiruma R, Katsu K: Comparative in-vitro activities of newer cephalosporins cefclidin, cefepime and cefpirome against ceftazidime or imipenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 30: 633 (1992).