

Agar Dilüsyon Yöntemi İle Helikobakter Pylori İçin Metronidazol Dirençlilik Testi ve Disk Diffüzyon Yöntemi İle Amoxicilline ve Claritromicin'in H. Pylori'ye Etkisi

Dr. Fikret ŞAHİN, Dr. Ali ÖZDEN, Dr. Enver ÜNVER, Dr. Hatice ÖZENCİ,
Dr. Özden UZUNALIMOĞLU, Dr. Gültekin ATALAY, Tek. Ömer KOÇ

Özet: Klinik olarak izlenmekte olan değişik mide şikayetli, 13-73 yaş arası 14 bayan, 13 erkek toplam 27 kişiden izole edilen *H.pylori*, agar dilüsyon yöntemi ile Metronidazol'e karşı 0.5mg/lt'nin katları şeklinde 32 mg/lt'ye yükselen miktarlardaki duyarlılığı 3.5. ve 7. günlerde BHI'lu %5-10 at kanı ilaveli besiyerlerinde, mikroaerofilik ortamda araştırılmıştır. Bununla birlikte aynı izolelerden disk diffüzyon yöntemi ile Amoxicilline ve Claritromicin'e karşı aynı şekilde hazırlanmış besiyerlerinde duyarlılık çalışması yapılmıştır.

Metronidazol için yapılmış agar dilüsyon çalışmasında %48 oranında 32mg/lt'ye duyarlılık, %33 oranında 16mg/lt'ye duyarlılık, %12 oranında 8 mg/lt'ye duyarlılık, %4 oranında 4 mg/lt'ye duyarlılık tesbit edilmiştir. 2,1 ve 0.5 mg/lt'ye herhangi bir duyarlılık gözlenmemiştir.

Claritromicin için yapılan disk diffüzyon çalışmasında %62 oranında diffüzyon çapı 25-50 mm olarak bulunmuştur. %14 oranında diffüzyon çapı 15-25 mm olarak belirlenmiştir. %14 oranında 5-15 mm'lik çap elde edilmiştir ve %7 oranında hiçbir cevap alınamamıştır.

Amoxicilline için yapılan disk diffüzyon yönteminde %59 oranında 25-50 mm'lik diffüzyon çapı belirlenmiş, %7 oranında 15-25 mm'lik diffüzyon çapı gözlenmiş, %11 oranında 5-15 mm'lik diffüzyon çapı ve %21 oranında 0-5 mm'lik çap elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: H. pylori, metronidazol, dirençlilik

Günümüzde, yaygın olarak B- tipi gastritin nedeni ve peptik ülser hastalığı ile kuvvetli ilişkisi olduğu kabul edilen *H.pylori*, bu hastalıkların etyolojisinde yen bir çığır açmıştır. Bakterinin kendisi, patolojisi ve tedavisi üzerinde yoğun çalışmalar ortaya konmuştur. Bakteri ilk defa

Summary: INVITRO ACTIVITY OF METRONIDAZOL AGAINST TO *H. PYLORI* AS DETERMINED BY AGAR DILUTION METHOD AND INVITRO ACTIVITY OF AMOXICILLIN AND CLARITROMYCIN AGAINST TO *H.PYLORI* AS DETERMINED BY DISK DIFFUSION METHOD

Metronidazol (MTZ) activity against to 27 clinical isolets of *H.pylori* was evaluated by agar dilution method after 3,5 and 7 days of incubation in a microaerophilic 0,5 mg/lt MTZ to 32 mg/lt MTZ.

Standard Amoxicillin (AMX) and Cloritromycin (CLR) discs were used to evaluate activity of AMX and CLR. In agar dilution method, if MIC is accepted as 8 mg/lt for MTZ, study is concluded that 88% of *H.pylori* were resistant to MTZ. In this study 66% of *H.pylori* were found sensitive to AMX and 93 % of *H.pylori* were sensitive to CLR.

Key words: H. pylori, metronidazol, resistancy

1983 yılında izole edilmiş ve invitro üretimine başlanmış, gram (-) sarmal bakteri olarak tanımlanmış, enzimatik reaksiyonları olan katalaz, oksidaz ve üreaz'ın pozitifliği yan sıra mikroskopik tesbiti ile müsbetliği genel olarak kabul edilmiştir (1, 23).

H. pylori tedavisi, tedavi sonrası nükslerin sıklığı nedeniyle ayrı bir önem kazanmıştır. Metro-

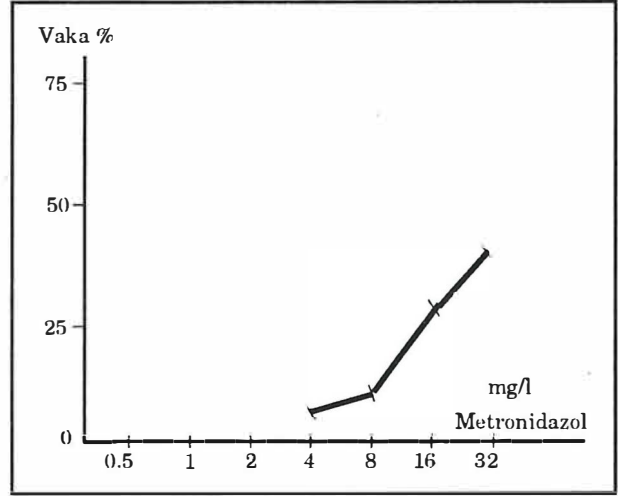
nidazol'e primer veya sonradan olması muhtemel dirençlilik meydana gelmesine rağmen, Metronidazol'un mide düşük pH'sındaki etkisi ve mide sıvısındaki yüksek miktarlarda bulunurluğu nedeniyle sık olarak kullanılmaktadır (4). Genelde düşük erdakisasyon oranına sahip olarak bilinen Amoxicillin (5) mide sıvısında ve mide mukozasında yüksek oranda bulunması nedeniyle (6) ve doz güvenilirliğinin yüksek oluşuyla kullanımı oldukça yaygındır.

Yeni bir makrolid olan Clarithromicin tek başına eradikasyona sebep olması ile önem kazanmış, fakat tedavinin gerçekleşmediği durumlarda ikinci bir deneme şansı olmaksızın direnç gelişmesi ile özellik göstermektedir (7).

Bu çalışmada Metronidazol'un gelişmekte olan ülkelerdeki yüksek orandaki dirençliliğinin, Türkiye'deki durum ile kıyaslanmasına yardımcı olması açısından Metronidazol dirençliliği 27 değişik mide şikayetli hastada agar dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca tedavideki önem nedeniyle Amoxicillin ve Clarithromicin'in H.pylori'ye etkisi disk diffüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

14 bayan, 13 erkek değişik mide yakınmalı hastanın mide antrum biyopsileri sonrası histolojik preparatlarındaki mikroskopik tanı, enzimatik reaksiyonları olan üreaz, katalaz ve oksidaz'ın pozitifliği sonunda H. pylori tesbiti yapılmış, daha sonra invitro bir ortam olarak BHI + %5-10 at kanı ilaveli Vancomicin, Trimethoprium, Amphotericin katkılı besiyerleride 3. 5. ve 7. günler içersinde yapılan kontrollerde H.pylori'nin ürediği belirlenmiş, mikroskopik ve enzimatik reaksiyonları ile doğrulanmıştır. Antibiyotik ilavesi olmaksızın hazırlanmış BHI + %5-10 at kanı ilaveli besiyerlerine, steril distile suda eritilmiş standard Metronidazol'un 0.5 mg/lt den 32 mg/ly'ye kadar katları şeklinde ilave edilerek hazırlanan besiyerlerine nutrient broth'ta Mc farland 10 üzeri 9 Coloni Forming Unit (CFU) şeklinde hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 10 üzeri 6 CFU (Mc farland) ölçüsünde bakteri süspansiyonunun Metronidazol oranı belirlenmiş petri kutularına ekimleri ya-



Grafik 1: 32 mg/lt Metronidazol miktarına %51 oranında dirençlilik tesbit edilmiştir.

pılmış ve mikroaerofilik ortamda 3.5. ve 7. günlerde üremeleri kontrol edilmiştir.

Amoxicillin ve Clarithromicin için disk diffüzyon yöntemi kullanıldı. Burada antibiyotiksiz besiyeri ortamına yukarıda belirtilen miktarda bakteri süspansiyonu inoküle edildikten sonra standard Amoxicillin 25 (Oxoid, Lot ch-B 37101, Unipat limited England) ve Clarithromicin 15 (31678BBL, Becton Dickinson System Microbiology USA) diskleri yerleştirildi ve mikroaerofilik ortamda inkübe edildiler. 3.5. ve 7. günlerdeki üremeler ve bu esnada oluşmuş diffüzyon çapları değerlendirildi. Diffüzyon çapı içersindeki bölgede CLO, gram boyama, üreaz, katalaz ve oksidaz ile bakteri varlığı araştırıldı ve diffüzyon çapının tam olarak ölçümü ve doğrulanım yapılmış oldu. Tüm bu işlemler esnasında agardilüsyon ve disk diffüzyondaki inokülasyon miktarlarına eşit bakteri her çalışmada bir kontrol plağına ekilerek takip edildi.

SONUÇ

Grafik 1'de görüldüğü üzere 32 mg/lt Metronidazol miktarına %51 oranında dirençlilik tesbit edilmiştir.

0.5,1,2 mg/lt Metronidazol miktarlarında herhangi bir duyarlılık görülmemiştir. 4 mg/lt'ye sadece bir vakada duyarlılık bulunmuş (%4), 8 mg/lt Metronidazol miktarı için 3 vakada duyar-

Tablo I: Amoxicilline ve Claritromicin için disk diffüzyon çap değerleri.

	0-5 mm	5-15 mm	15-25 mm	25-50 mm
AMOXICILLINE	% 21	% 11	% 7	% 59
CLARITRIMICIN	% 7	% 14	% 14	% 62

lık görülmüştür (%12), 16 mg/lt'ye duyarlılık 9 vakada görülmüştür (%33).

Tablo I'de görüldüğü üzere Amoxicilline için yapılan duyarlılık testinde %59 oranında 25-50 mm'lik diffüzyon çapı, yani duyarlılık oranı belirlenmiş, %7 oranında 15-25 mm arasında diffüzyon çapı elde edilmiş, %11 oranında 5-15 mm'lik diffüzyon çapı ve %21 oranında 0-5 mm'lik diffüzyon çapı gözlenmiştir.

Claritromicin için yapılan disk diffüzyon çalışmasında, yine Tablo I'de görüldüğü gibi, %62 oranında diffüzyon çapı 25-50mm olarak bulunmuştur. %14 oranında 15-25mm'lik çap belirlenmiş ve yine %14 oranında 5-15mm'lik çap elde edilmiştir. %7 oranında hiçbir cevap gözlenmiştir.

TARTIŞMA

H. pylori'nin üçlü tedavisindeki önemi nedeniyle Metronidazol için duyarlılık testi birçok ülkede yapılmış ve dirençlilik oranları belirlenmiştir (8,9,10). Tablo II'de bu değerlerden bazıları gösterilmektedir.

Metronidazol'un etkisi bir çok ülkede farklılık gösterirken, asıl farklılık gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki uçurumun derinliği ile önem kazanmıştır. Genel olarak bu farklılığın nedeni gelişmekte olan ülkelere Metronidazol'un kullanım sıklığı ile sekonder dirençliliğin artışı şeklinde yorumlanmaktadır (11,12).

Bizim sonuçlarımıza (MIC 8 mg/lt olarak kabul edildiğinde) göre bulunan %88 oranındaki dirençlilik, gelişmekte olan ülkelere paralellik gösterirken (Tablo II), sekonder bir direnç oluşturacak kadar Metronidazolun ülkemizde yaygın olarak kullanıldığı şüphelidir.

Tablo II: Ülkelere göre MTN dirençlilik değerleri.

ÜLKELER	Dirençlilik Değerleri
Australya	% 17
Hollanda	% 6,4
Belçika	% 27
Zaire	% 84
Finlandiya	% 26
Brezilya	% 65
Türkiye	% 88

Bu çalışmamızda veriler alınırken Metronidazol kullanıp kullanmadıkları ile ilgili bilgiler sağlıklı olarak alınmamıştır.

Metronidazol'un kullanıldığı üçlü tedavilerde Metronidazol'un dirençli olduğu durumlarda eradikasyonun oldukça düşük gerçekleştiği bilinmektedir (13). Ali Özden ve ark.larının yaptığı Metronidazol'lü üçlü tedavilerdeki eradikasyon oranı ile, invitro yaptığımız çalışmadaki duyarlılık oranı arasında paralellik vardır (14), (Tablo III).

Bu nedenle tedavi öncesi Metronidazol duyarlılık testi yapılması oldukça önem kazanmaktadır.

Amoxicilline'in invitro duyarlılığının genelde çok yüksek olarak belirtilmesine rağmen invivo etkinliğinin düşük olduğu bilinmektedir (8). Bizim çalışmamızda (>15 mm diffüzyon çapı duyarlı kabul edildiğinde) bulunan %66 oranında invitro duyarlılık, ülkemizde amoxicilline türevlerinin yaygın kullanımı ile çelişkili görülmektedir.

Çalışmamızda %79 oranında (>15 diffüzyon çapı duyarlı kabul edildiğinde) Claritromicin'e duyarlılık bulunmuştur. Bu yeni ilaca karşı oluşan %21 oranındaki dirençliliği primer direnç mekanizması ile açıklamak mümkün olabilir.

Tablo III: Kolloidal Bismuth+Amoxicilline+Metronidazol ile eradikasyon oranları.

Araştırmacılar	Eradikasyon Oran
Borody	% 94
Rauws	% 81
Pajares	% 90
Ali Özden ve ark.	% 57,8

KAYNAKLAR

1. Goodwin, CS; Armstrong, JA Microbial aspect of H.pylori Eur.J.Cli.Microbial Infect. Dis. 1990 Jan.
2. James D.Diel Helicobacter (Campyobacter) pylori Annu. Rev. Microbial. 1990.
4. Barry J. Marshall, M.D. Gastroenterology Clinics of North America Vol: 22 Num. 1 March 1993.
5. Mc Nulty CA, Dent JC, Ford GA. Inhibitory antimicrobial concentration against C.pylori in gastric mucosa. J. Antimic. Chemother. 22: 729-738,1988.
6. Orderda G., Vaira D., Holton J., Amoxicilline plus Tiridazol for C.pylori gastritis in children. Lancet 1:690-692, 1989.
7. Neri M., SusiD., Bovani I., Omeprazole, Bismuth, Claritromicin A new approach to the treatment of H.pylori related gastritis Gastroenterology 102: A 134-1992.
8. H.X. Xia; M.A.Daw et.all. Prevelance of Metronidazol resistant H.pylori in dyspeptic patients. Irs.J.M.Sc.March 1993.
9. Lancet Feb. 1993 MTZ resistancy in Zaire.
10. European Study Group on Antibiotics Susceptibility of H.pylori. Eur. J.Clin. Microbiol. Infect. Dis. Sept. 1992.
11. Metronidazol resistancy in H.pylori Lancet 1990 Apr. 21.
12. Coelho LGV, Pasos MCF, Chausson Duodenal ulcer and eradication of H.pylori in a developing country. Scand. J.Gastroenterol. 1992: 27.
13. Borody TJ, Brandl S, Andrew P, High efficacy, low dose triple therapy for H.pylori Gastroenterol. 102: A 43 1992.
14. Özden A, Dönderici Ö, Dumlu Ş, Işıtan F, Çetinkaya H, Uzunalımoğlu Ö, H.pylori pozitif dispepsili olgularda değişik tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi Gastroenteroloji 1993: 4,2-287-91.