

## İNDÜKLENEBİLİR BETA-LAKTAMAZ SALGILADIĞI GÖSTERİLEBİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARINDA SEFEPİMİN İN-VİTRO ETKİNLİĞİNİN E TEST YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI\*

Gözde ÖNGÜT, Dilara ÖĞÜNÇ, Derya MUTLU, Hadiye DEMİRBAKAN, Duygu DAĞLAR,  
Dilek ÇOLAK, Meral GÜLTEKİN

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

### ÖZET

*Sefepimin induklenebilir beta-laktamaz (İBL) salgıladığı gösterilebilen Pseudomonas aeruginosa suşlarına in-vitro etkinliğinin E test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.*

*Ocak 2003-Ocak 2004 tarihleri arasında izole edilen 36 P.aeruginosa suşu incelenmiştir. AmpC beta-laktamaz üretimi disk antagonizm yöntemi ile direkt induksiyon yapılarak belirlenmiştir. Sefepim duyarlılığı E test yöntemi ile saptanmıştır. Üç suşun sefepime orta duyarlı olduğu bulunmuş, sefepime dirençli suş saptanmamıştır.*

*Çalışmamızın sonuçlarına göre sefepim İBL üreten P.aeruginosa suşlarına karşı etkin bir antibiyotiktir.*

**Anahtar sözcükler:** induklenebilir beta-laktamaz, P.aeruginosa, sefepim

### SUMMARY

#### Investigation of in vitro Activity of Cefepime Against Inducible Beta-lactamase Production Proved *P. aeruginosa* Isolates by E Test Method

*The aim of this study is to evaluate the antimicrobial activity of cefepime against inducible beta-lactamase (IBL) production proved P.aeruginosa strains.*

*During January 2003-January 2004, a total of 36 P. aeruginosa isolates were analyzed. AmpC beta-lactamases were detected by the disk antagonism method. The susceptibilities to cefepime were determined by the E test method. Although there was no resistance to cefepime, three isolates showed intermediate resistance.*

*The results of the study indicated that cefepime is an effective antimicrobial agent against IBL producing P. aeruginosa strains.*

**Keywords:** cefepime, inducible beta-lactamase, P.aeruginosa

### GİRİŞ

Gram negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere direncinde en önemli mekanizma beta-laktamaz üretimidir<sup>(11)</sup>. Beta-laktamazlar kromozom, plazmid veya transpozonlarla kodlanan enzimlerdir ve sınıflandırılmalarında genellikle iki şema kullanılır: Ambler klasifikasyon şeması ve Bush-Jacoby-

Medeiros klasifikasyon sistemi<sup>(12)</sup>.

AmpC beta-laktamazları Ambler sınıflandırmasında grup C (Bush-Jacoby-Medeiros grup 1)'de yer alan, hemen hemen tüm Gram negatif bakterilerden değişen oranlarda salgılanan enzimlerdir<sup>(12)</sup>. İndüklenebilir veya indüklenemeyen özellik gösteren AmpC beta-laktamazları sefalosporinleri penisilinlerden daha etkin parçalamaktadır<sup>(7)</sup>. Beta-laktam/beta-

**Yazışma adresi:** Gözde Öngüt, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

Tel.: (0242) 227 43 43/44153, (0533) 639 06 35

e-posta:gongut@akdeniz.edu.tr

Alındığı tarih: 04.08.2005, revizyon kabulü: 06.09.2005

\* 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri'nde sunulmuştur (8-10 Nisan 2004, İstanbul)

laktamaz inhibitörleri bu enzimi üreten suşlara etkisizdir<sup>(11)</sup>.

*Acinetobacter*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Providencia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia marcescens* izolatları indüklebilir beta-laktamaz üretmektedir<sup>(13)</sup>. Bu enzimler ortamda indükleyici antibiyotik yoksa düşük düzeyde yapılmakta, indükleyici beta-laktam antibiyotik varlığında ise sentezleri geçici olarak artmaktadır. Farklı antibiyotiklerin AmpC beta-laktamaz salgısını indükleme yeteneği farklıdır. Örneğin imipenem ve sefoksitin güçlü indükleyici iken sefoksitin indüklediği enzimle hızla parçalanır, imipenem ise enzimin etkisine dayanıklı olduğundan tedavide sorun teşkil etmez. Üçüncü kuşak sefalosporinler AmpC beta-laktamazları için zayıf indükleyicidir, enzim yüksek düzeyde salgılanmadığı sürece sorun oluşturmazlar<sup>(5,7)</sup>. Dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepim ise sefalosporinler arasında özellikle AmpC beta-laktamazlarına karşı iyi stabilite gösteren bir ajandır<sup>(5,7,10)</sup>.

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve antibiyotik duyarlılık testlerinde indüklebilir beta-laktamaz (İBL) varlığı gösterilebilen *P.aeruginosa* suşlarında sefepimin in-vitro etkinliğinin, E test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2003-Ocak 2004 tarihleri arasında, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve antibiyotik duyarlılık testlerinde İBL varlığı gösterilebilen 36 *P.aeruginosa* suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların identifikasyonu konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. Bütün *P.aeruginosa* suşlarının indüklebilir beta-laktamaz oluşturduğu biliniyorsa da çeşitli yöntemlerin bunu gösterme yetkinliği farklıdır. Bu çalışmada indüklebilir beta-laktamaz varlığını göstermek için, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan rutin antibiyotik duyarlılık testinde uygun disk dizilimi sağlanarak direkt indüksiyon testi yapılmıştır. Bunun için; 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonları Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra, ortaya güçlü beta-laktamaz indükleyicisi imipenem diski (IP, Oxoid, 10 µg), bundan 25 mm uzaklığa seftazidim (CAZ, Oxoid, 30 µg) ve sefotaksim (CTX, Oxoid, 30 µg) diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 37°C'de bir gece inkübe edildikten sonra, seftazidim ve sefotaksim imipeneme bakan yüzlerinde, inhibisyon zonlarında belirgin olarak daralma görülmesi, bakteri suşunda İBL pozitifliğinin ispatı olarak değerlendirilmiştir<sup>(8)</sup>.

Suşların sefepime duyarlılıkları E test yöntemi ile araştırılmıştır. E test stripleri (AB Biodisk, İsveç) üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmış, sonuçlar National Committee for Clinical Laboratory Standards kriterlerine göre

yorumlanmıştır. Buna göre MİK değeri  $\leq 8$  µg/ml bulunan suşlar duyarlı, 8-32 µg/ml arasında bulunan suşlar orta duyarlı,  $\geq 32$  µg/ml bulunan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir<sup>(9)</sup>. Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

## BULGULAR

Değerlendirmeye alınan 36 *P.aeruginosa* suşunun izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı tabloda gösterilmiştir.

**Tablo:** Suşların izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı.

Klinik örnek	Sayı (%)
Kan	20* (56)
Kateter ucu	9 (25)
BOS	2 (6)
Periton sıvısı	2 (6)
Bronş lavajı	2** (6)
Plevra sıvısı	1 (3)
Toplam	36

\*Sefepime ikisi orta duyarlı (MİK 16 µg/ml),

\*\* biri orta duyarlı (MİK 12 µg/ml), diğer suşlar duyarlıdır (MİK  $\leq 8$  µg/ml).

Çalışmaya alınan suşların 10'u (% 28) Reanimasyon Servisi'nde yatan hastalardan, diğerleri sırasıyla Dahiliye (7), Genel Cerrahi (5), Nöroşirurji (2), Nöroloji (2), Dahiliye Yoğun Bakım (2), Pediatri (2), Acil Servis (2), Göğüs Hastalıkları (2), Plastik Cerrahi (1), Hemodiyaliz (1) Servisleri'nde yatan hastalardan izole edilmiştir.

İncelenen suşların 33'ü (% 92) sefepime duyarlı, üçü (% 8) orta duyarlı olarak belirlenmiş, sefepime dirençli suşa rastlanmamıştır. Sefepimin MİK değer aralığı 0.50-16 µg/ml olarak bulunmuştur. *P. aeruginosa* suşlarında sefepimin MİK50 ve MİK90 değerleri, sırasıyla, 1 µg/ml ve 3 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sefepime orta duyarlı bulunan üç *P. aeruginosa* suşundan ikisi kan (MİK değerleri 16 µg/ml), biri bronş lavajı örneğinden (MİK değeri 12 µg/ml) izole edilmiştir.

## TARTIŞMA

Dördüncü kuşak sefalosporinler tüm sefalosporinler içinde en geniş etki spektrumuna sahip gruptur. Bakteremi, pnömoni, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, komplike idrar yolu infeksiyonları gibi infeksiyonlarda etkileri kanıtlanmıştır<sup>(2)</sup>. Sefepim ve sefpirom bu grupta yer alan antibiyotikler olup ülkemizde sadece sefepimin ticari preparatı bulunmaktadır.

Bir beta-laktam antibiyotiğin etkinliği, beta-laktamaz enzimlerini indükleme kapasitesine, beta-laktamazla hidrolize dayanıklılığına ve hedefine penetrasyon yeteneğine göre belirlenir<sup>(2)</sup>. Sefepimin zwitterion iyon yapısı ile Gram negatif

bakterilerin dış membranından diğer sefalosporinlere göre daha hızlı geçmesi, periplazmik aralıkta yüksek konsantrasyonda bulunması ve beta-laktamazları indüklemeye kapasitesinin düşük oluşu ile bu enzimi üreten suşlara etkinliğinin diğer sefalosporinlere göre daha fazla olduğu bildirilmektedir<sup>(1)</sup>.

Çalışmamızda kullandığımız yöntemle İBL salgıladığı gösterilebilen *P.aeruginosa* suşlarının 33'ü (% 92) sefepime duyarlı bulunmuştur.

Zer ve ark.<sup>(14)</sup> sefepimin anti-*Pseudomonas* etkinliğini araştırdıkları çalışmada suşların % 81'inin sefepime duyarlı olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada sefepime duyarlı bakteriler sadece *P.aeruginosa* suşlarını değil aynı zamanda *Aeromonas* ve birçok antibiyotiğe intrinsek olarak dirençli olduğu bilinen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarını da içermektedir. Erdem ve ark.<sup>(3)</sup> toplum kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen Gram negatif bakterilerin sefalosporinlere etkinliğini araştırdıkları çalışmada, *P.aeruginosa* suşlarının % 19.3'ünün sefepime dirençli olduğunu ve sefepimin etkili antibiyotik olduğunu bildirmişlerdir.

Kizirgil ve ark.<sup>(6)</sup> Gram negatif bakterilerin sefepim duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında *P.aeruginosa* suşlarının % 84'ünün sefepime duyarlı olduğunu saptamışlardır.

Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa, İsrail ve Türkiye'nin dahil olduğu SENTRY antimikrobiyal sürveyans programı çerçevesinde 1997-1999 yılları arasında izole edilen 6631 *P.aeruginosa* izolatının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları belirlenmiştir. Bu çalışmada suşların sefepime duyarlılık oranları % 66.2 ile % 91.2 arasında değişmektedir. Araştırmacılar Latin Amerika'da sefepim duyarlılığının düşük oluşunun bu bölgedeki suşlardaki ESBL varlığı nedeni ile, Kanada ve ABD'deki sefepim duyarlılık oranının yüksek oluşunun ise suşlardaki AmpC enzimi varlığı nedeni ile olabileceğini belirtmişlerdir<sup>(4)</sup>. Çalışmamızda İBL salgıladığı gösterilebilen *P.aeruginosa* suşlarının sefepime duyarlılık oranları Kanada'dan izole edilen suşlarla benzerdir.

Yapılan çalışmalara göre suşların antibiyotiklere direnç oranları coğrafik bölgelere, hastaneden hastaneye hatta bölümlere göre değişebilmektedir. Bu farklılığın nedeni her zaman açıklanamasa da ülkeler veya hastanelerin antibiyotik kullanım politikaları, infeksiyon kontrol önlemleri gibi faktörlerden kaynaklanabileceği bildirilmektedir<sup>(4)</sup>.

*P.aeruginosa* suşlarında AmpC enzimi, ESBL, karbapenemaz, efluks, permeabilite değişikliği nedeniyle beta-laktam antibiyotiklere direnç geliştirebilmektedir<sup>(4)</sup>. Çalışmamızda *P.aeruginosa* suşlarında saptanan yüksek duyarlılık oranı, bu suşlarda AmpC beta-laktamazı dışında farklı direnç mekanizmalarının olmamasına bağlı olabilir.

Çalışmamızın sonuçları İBL salgıladığı gösterilebilen *P.aeruginosa* suşlarında in-vitro duyarlılık sonuçlarına göre sefepimin etkin bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Andes DR, Craig WA: Cephalosporins, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 6. baskı" kitabında s.294-311, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
2. Eliopoulos GM, Gold HS: Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): Infectious Diseases, 3. baskı" kitabında s.289-99, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2004).
3. Erdem H, Kılıç S, Pahsa A, Beşirbellioğlu B: Gram-negative bacterial resistance to cephalosporins in community-acquired infections in Turkey, J Chemother 2005;17(1):61-5.
4. Gales AC, Jones RN, Turnidge J, Rennie R, Ramphal R: Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: Occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, Clin Infect Dis 2001; 32(Suppl 2):S146-55.
5. Gülay Z: İndüklebilir beta-laktamazlar: Özellikleri, epidemiyolojisi ve klinik önemi, "Ulusoy S (ed): Mezuniyet Sonrası Eğitim Dizisi-2: Beta-laktamazlar ve Klinik Önemi" kitabında s. 45-69, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
6. Kizirgil A, Tatar S, Yılmaz M: Gram negatif bakterilerin sefepim duyarlılıklarının araştırılması, Fırat Tıp Fak Derg 2001;2(3):271-3.
7. Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, Clin Microbiol Rev 1995;8(4):557-84.
8. Livermore DM, Brown DFJ: Detection of beta-lactamase-mediated resistance, J Antimicrob Chemother 2001;48(Suppl 1):59-64.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement M100-S14, NCCLS, Villanova, PA (2004).
10. Pfaller MA, Jones RN, Mystic Study Group (Europe): Antimicrobial susceptibility of inducible AmpC beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Programme, Europe 1997-2000, Int J Antimicrob Agents 2002;19(5):383-8.
11. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA: Plasmid-determined AmpC  $\beta$ -lactamases, Antimicrob Agents Chemother 2002;46(1):1-11.
12. Rice LB, Sahn D, Bonomo RA: Mechanisms of resistance to antimicrobial agents, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. baskı" kitabında s.1074-101, ASM Press, Washington, DC (2003).
13. Swenson JM, Hindler JF, Jorgensen JH: Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. baskı" kitabında s.1178-95, ASM Press, Washington, DC (2003).
14. Zer Y, Balcı İ, Karlıgil T, Bayram A, Ekşi F: Çeşitli örneklerden izole edilen *Pseudomonas*'ların tiplendirilmesi, antibiyotik duyarlılıkları ve sefepimin anti-*Pseudomonas* etkinliği, Klimik Derg 2000;13(1):33-5.