

## MORAXELLA CATARRHALIS SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI VE BETA-LAKTAMAZ AKTİVİTELERİ

İftihar KÖKSAL<sup>1</sup>, Kemalettin AYDIN<sup>1</sup>, Şengül ALPAY<sup>2</sup>, Rahmet ÇAYLAN<sup>1</sup>,  
Sema KALFA<sup>3</sup>, Zehra CİRAV<sup>3</sup>

### ÖZET

*Moraxella catarrhalis* alt ve üst solunum yolu infeksiyonlarının önemli bir patojenidir. İzolatların %90'dan çoğu beta-laktamaz meydana getirmektedir. Bu çalışmada 50 *M. catarrhalis* izolatının beta-laktamaz aktivitesi ve sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiştir. Beta-laktamaz üretimi nitrosefin testi ile, antibiyotik duyarlılıkları NCCLS kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Suşların % 94'ünde (n=47) beta-laktamaz tesbit edilmiştir. Beta-laktamaz pozitif suşların tümü ampisiline dirençli bulunmuştur. Suşların tümünün ampisilin-sulbaktam, sefuroksim, sefotaksim, eritromisin, azitromisin, kloramfenikol ve grepafloksasine duyarlı olduğu saptanmıştır. Trimetoprim-sulfametoksazole % 14 direnç belirlenmiştir.

### SUMMARY

*Antimicrobial susceptibilities and beta-lactamase activities of Moraxella catarrhalis strains.*

*Moraxella catarrhalis* is an important pathogen in both upper and lower respiratory tract infections. More than 90 % of isolates produce beta-lactamase. In this study, 50 clinical isolates of *M. catarrhalis* were examined for beta-lactamase activity and susceptibility to commonly used antimicrobial drugs. Beta-lactamase production was assessed by the nitrocefin assay. Antimicrobial susceptibility was evaluated by disk diffusion method according to the NCCLS document. Beta-lactamase production was found in 94 % strains (n=47). All of the beta-lactamase positive strains were resistant ampicillin. All of the strains were susceptible to ampicillin-sulbactam, cefuroxime, cefotaxime, erythromycin, azithromycin, chloramphenicol ve grepafloxacin. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole was observed in 14 % of the strains.

### GİRİŞ

*Moraxella catarrhalis*, 1990'lı yıllardan önce üst solunum yollarının saprofit organizmalarından kabul edilmesine rağmen 1991 yılından beri, *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'dan sonra solunum yolu sekresyonlarından üçüncü sıklıkta izole edilen ve solunum yolu infeksiyonlarına yol açan patojen bakteriler içinde yer alan Gram negatif diplokoklardır (21,26). *M. catarrhalis*'in solunum yolu infeksiyonları dışında, bakteremi, endokardit, menenjit ve sepsise neden olduğuna dair bildirimler vardır (9,24). No-

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1- Infeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. 2- Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 3- Farabi Hastanesi. Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Trabzon.

zokomiyal yayılımın da giderek arttığı bildirilmektedir (19).

*M.catarrhalis*'in en önemli özelliği, izolatların büyük çoğunluğunun penisilin ve aminopenisilinler gibi beta-laktam antibiyotiklere etkili beta-laktamaz enzimi meydana getirmesidir (7). Bu çalışmada önemi giderek artan *M.catarrhalis*'in beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1998 - Nisan 1999 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran ve semptom ve klinik bulgularla solunum yolu infeksiyonu düşünülen çocuk (nazofarenks kültürlerinden) ve erişkin (balgam kültürlerinden) hastalardan izole edilen 50 *M.catarrhalis* suşu çalışmaya alınmıştır. Balgam örnekleri kültür yapılmadan önce x10 büyütmede mikroskopik olarak incelenerek, her sahada 25'den fazla lökosit, 10'dan az epitel hücresi görüldüğünde kültür yapılmıştır. Kültür için % 5 koyun kanlı trypticase soy agar (vankomisin, asetazolamid, trimetoprim ve amfoterisin B ilave edilmiş) kullanılmıştır. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda, gri-beyaz renkli, kaygan, opak, katalaz, oksidaz ve DNaz pozitif, Gram negatif diplokoklar *M.catarrhalis* olarak değerlendirilmiştir. İzole edilen *M.catarrhalis* suşlarında beta-laktamaz varlığı nitrosefin çözeltisi kullanılarak araştırılmıştır. Sarı renkte olan nitrosefin solüsyonunun rengini kırmızıya değiştiren *M.catarrhalis* suşları beta-laktamaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Ampisilin, ampisilin-sulbaktam, sefuroksim, sefotaksim, trimetoprim-sulfametoksazol, eritromisin, azitromisin, kloramfenikol ve grepafloksasin duyarlılıkları NCCLS'e göre disk difüzyon testi ile araştırılmış ve yorumlanmıştır (20).

## BULGULAR

İzole edilen 50 *M.catarrhalis* suşunun 47'sinde (% 94) beta-laktamaz aktivitesi saptanmıştır. Beta-laktamaz pozitif olan suşların tümünün ampisiline dirençli olduğu (% 94) görülmüştür. Antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçları tablo 1'de görülmektedir. Çalışmaya alınan antibiyotiklerden ampisilin-sulbaktam, sefuroksim, sefotaksim, azitromisin, kloramfenikol ve grepafloksasine direnç gözlenmemiştir. Eritromisine % 8, trimetoprim-sulfametoksazole % 6 oranında orta duyarlılık; trimetoprim-sulfametoksazole % 14 oranında direnç belirlenmiştir. Dirençli bakterilerin tümünün beta-laktamaz ürettiği saptanmıştır.

Tablo 1. *M.catarrhalis* suşlarının test edilen antibiyotiklere duyarlılıkları [n (%) olarak].

<i>M.catarrhalis</i>	Amp	Amp-sulb	Sefur	Sefot	TMP/SMX	Eritro	Azitro	Klora	Grepa
Duyarlı	3(6)	50(100)	50(100)	50(100)	40(80)	46(92)	50(100)	50(100)	50(100)
Orta duyarlı	-	-	-	-	3(6)	4(8)	-	-	-
Dirençli	47(94)	-	-	-	7(14)	-	-	-	-
Toplam	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)	50(100)

Amp: Ampisilin; Amp-sulb: Ampisilin-sulbaktam; Sefur: Sefuroksim; 4- Sefot: Sefotaksim; TMP/SMX: Trimetoprim/sulfametoksazol; Eritro: Eritromisin; Azitro: Azitromisin; Klora: Kloramfenikol; Grepa: Grepafloksasin.

## TARTIŞMA

*M.catarrhalis* alt ve üst solunum yolu infeksiyonlarına yol açabilen ve önemi giderek artan bir mikroorganizmadır. Çocuk hastalar ve immünsüprese konaklar *M.catarrhalis*'in tercih ettiği konaklardır (9). Çocuklarda otitis media, sinüzit, bronşite neden olabilmektedir. Kronik obstrüktif akciğer hastalarında akut infeksiyöz ataklara yol açan üç patojenden biridir. Viral solunum yolu infeksiyonları, *M.catarrhalis*'in solunum yolu epitel hücrelerine kolonizasyonuna ve infeksiyon sürecinin başlamasına yol açmaktadır (9,22).

Yapılan çalışmalar *M.catarrhalis*'in kış aylarında daha sık izole edildiğini göstermektedir (9). Çalışmamızdaki suşların büyük çoğunluğu da kış aylarında izole edilmiştir ve havaların ısınması ile izolasyon oranında belirgin azalma olması dikkati çekmiştir. Bölgemizde astımlı çocuk sayısının fazla olması ve bu çocuklarda kış aylarında atakların sıklığı (yayınlanmamış veri) bu mikroorganizma ile astım arasında öne sürülen ilişkiyi destekler niteliktedir (9).

*M.catarrhalis*'in en önemli özelliklerinden biri izolatların en az % 90'ının beta-laktamaz oluşturmalarıdır (7). Çalışmamızdaki 50 *M.catarrhalis* suşunun 47'sinde (% 94) beta-laktamaz aktivitesi saptanmış ve bu suşların ampisiline dirençli olduğu görülmüştür. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda *M.catarrhalis* suşlarının beta-laktamaz aktivitesini, Aslani Mehr ve ark. % 90 (2), Koç ve ark. % 85.7-100 (16), Kansak ve ark. % 65 (13), Bal % 58-83 (3), Akıncıbey ve ark. % 66 (1), Kocabeyoğlu ve ark. % 73 (14), Gür ve ark. % 81 (10) olarak bildirmişlerdir. Diğer ülkelerde ise *M.catarrhalis* suşlarının beta-laktamaz aktivitesi, Taiwan'da % 98.2 (6), Amerika Birleşik Devletleri'nde % 92.7 (23), Almanya'da % 71.3 (25), Danimarka'da % 80.4 (5), Finlandiya'da % 96 (18) olarak bildirilmiştir. Bu enzim sadece beta-laktam antibiyotikleri inaktive etmekle kalmamakta, ayrıca *S.pneumoniae* ve *H.influenzae* gibi diğer patojenlerle meydana gelen mikst infeksiyonlarda indirekt patojenite fenomeni olarak da rol oynamaktadır. Pnömonokoklarla yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda, *M.catarrhalis*'in beta-laktamaz enzimi aracılığı ile pnömonokokların adeta koruma altına alındığı ve penisilin ve amoksisilin gibi beta-laktam antibiyotiklerden etkilenmeden varlıklarını sürdürdükleri gösterilmiştir (4). *M.catarrhalis*'in pnömönili hastalarda mikst infeksiyon yaptığı Aslani Mehr ve ark. (2)'nin çalışmalarında ve onların referans gösterdikleri çalışmalarda da gösterilmiştir. Bu verilere dayanarak *M.catarrhalis*'in sadece solunum yolu infeksiyonuna neden olan bir mikroorganizma olarak değerlendirilmemesi gerekir.

Bilindiği gibi *M.catarrhalis*'in beta-laktamaz enzimleri BRO-1 ve BRO-2 olarak tanımlanan iki tiptir. En yaygın tip BRO-1 enzimidir. Çalışmamızda enzim tipini belirlememiş olmakla birlikte, Aslani Mehr ve ark. (2)'nin uyguladığı gibi Luman ve ark. (17)'nin penisilin ve sefotaksim zon çapını karşılaştırarak uyguladıkları enzim tipini belirleme yöntemine göre bizim suşlarımızda da BRO-1 tipi enzimin dominant olduğunu söyleyebiliriz.

Denenen antibiyotiklerin duyarlılık sonuçları incelendiğinde; beta-laktamaz pozitif olan suşların tümünün ampisiline dirençli olduğu görülürken, ampisilin-sulbaktam, sefuroksim, sefotaksim, azitromisin, kloramfenikol ve grepafloksasine direnç gözlenmemiş, eritromisine ise % 8 oranında orta duyarlılık saptanmıştır. Trimetoprim-sulfametoksazol ampisilin dışında direnç saptanan ikinci antibiyotik olup, bu antibiyotiğe % 14 direnç, % 6 orta duyarlılık belirlenmiştir. Ülkemizde ve yurt dışında yapılan ve ulaşabildiğimiz çalışmalarda elde edilen *M.catarrhalis*'in antibiyotik duyarlılık sonuçları tablo 2'de özetlenmiştir. Bu çalışmalar dışında Kocabeyoğlu ve ark. (15) kinolonları kapsayan çalışmaların

da *M.catarrhalis* suşlarının siprofloksasine % 95, enoksasine % 94, norfloksasine % 92, ofloksasine % 91, pefloksasine % 92 oranında duyarlı olduğunu göstermişlerdir.

Tablo 2. Çeşitli merkezlerde yapılan *M.catarrhalis* antibiyotik duyarlılık çalışmalarının sonuçları (% duyarlı olarak).

Çalışmalar	n	β-lktz	Amp	Amp-sulb	Sefur	Sefot	TMP/SMX	Eritro	Azitro	Klora	Grepa
Bu çalışma	50	94	6	100	100	100	80/6*	92/8*	100	100	100
Aslani Mehr ve ark. (2)	10	90	10	100	100	100	100	100			
Kansak ve ark. (13)	20	65		100	100	100	100		100	100	
Gür ve ark. (11)	26		23	100	100	100		92			
Gür ve ark. (10)	179	81		100			82		98		
Güriz ve Bolatlı (12)	15		26.6								
Manninen ve ark. (18)	446	96	5.6		100		99.3	99.3	100	100	
Ejlertsen ve Skov (5)	70	80.4	15.7	100	100						
Thornsberry ve ark. (23)	880	92.7		100		100					
Fung ve ark. (7)	271	98.2		100	100	100					
Traub ve Leonhard (25)	94	71.3	68	100	100	100	99	100		100	

β-lktz: Beta-laktamaz, Amp: Ampisilin; Amp-sulb: Ampisilin-sulbaktam; Sefur: Sefuroksim; Sefot: Sefotaksim; TMP/SMX: Trimetoprim/sulfametoksazol; Eritro: Eritromisin; Azitro: Azitromisin; Klora: Kloramfenikol; Grepa: Grepafloksasin; \*:Duyarlı/orta duyarlı.

Gerek ülkemizde, gerek dünyanın birçok ülkesinde neredeyse universal boyutlarda sonuçlar birbirine benzemektedir. Ampisilin direnci beta-laktamaz pozitifliğinin bir sonucu olarak dünyada giderek artış göstermektedir. Beta-laktamaz inhibitörü eklenmiş aminopenisilinler, sefuroksim/sefaklor, sefotaksim, azitromisin ve kloramfenikol, çalışmaların tümünde direnç görülmeyen antibiyotikler olarak dikkati çekmektedir. Grepafloksasin solunum yolu patojenlerinin hemen tümüne etkili, geniş spektrumlu ve yeni bir kinolon olup, beta-laktamaz pozitif olanlar dahil tüm *M.catarrhalis* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir (8). Grepafloksasin bizim çalışmamızda suşların tümüne etkili bulunmuştur.

Sonuç olarak, *M.catarrhalis*'in önemli solunum yolu patojenleri içerisindeki yerinin ihmal edilmemesi, klinik örneklerin *M.catarrhalis* yönünden de değerlendirilmesi, beta-laktamaz aktivitesinin belirlenmesi ve bugün için beta-laktamaz inhibitörü eklenmiş aminopenisilinler ve sefalosporinler tercih edilecek ilk antibiyotikler gibi görünse de antibiyotik duyarlılık sonuçlarının izlenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

- 1- Akıncıbey H, Kocagöz T, Kocagöz S: Sağlıklı erişkinlerde oral ve farengal florada *Branhamella catarrhalis* taşıyıcılığı, *Mikrobiyol Bült* 28:12 (1994).
- 2- Aslani Mehr M, Yüce A, Yuluğ N: Kronik obstruktif akciğer hastalığı olanların balgamlarında *Moraxella catarrhalis*'in sıklığı, *Mikrobiyol Bült* 28:357 (1994).
- 3- Bal Ç: Solunum sistemi örneklerinde *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* sıklığı, *Uzmanlık tezi*, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1993).

- 4- Budhani RK, Struthers JK: Interaction of Streptococcus pneumoniae and Moraxella catarrhalis: Investigation of the indirect pathogenic role of  $\beta$ -lactamase-producing Moraxellae by use of a continuous-culture biofilm system, *Antimicrob Agents Chemother* 42:2521 (1998).
- 5- Ejlersen T, Skov R: The beta-lactamases of Moraxella (Branhamella) catarrhalis isolated from Danish children, *APMIS* 104:557 (1996).
- 6- Fung CP, Lee SC, Liu PY, Jang TN, Wong FD, Kuo BI, Liu CY, Liu YC: Beta-lactam resistance and beta-lactamase isoform of Moraxella catarrhalis isolates in Taiwan, *J Formos Med Assoc* 97:453 (1998).
- 7- Fung CP, Yeo SF, Livermore DM: Susceptibility of Moraxella catarrhalis isolates to  $\beta$ -lactam antibiotics in relation to  $\beta$ -lactamase pattern, *J Antimicrob Chemother* 33:215 (1994).
- 8- Grossman RF: The role of fluoroquinolones in respiratory tract infections, *J Antimicrob Chemother* 40 (S):59 (1997).
- 9- Gröschel DHM: Moraxella catarrhalis and other gram-negative cocci, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Fourth edition" kitabında s. 1926, Churchill Livingstone, New York (1995).
- 10- Gür D, Özalp M, Sümerkan B, Kaygusuz A, Töreci K, Köksal I, Över U, Topkaya A: Prevalence of antimicrobial resistance in respiratory tract pathogens from five centers in Turkey, *8<sup>th</sup> International Congress on Infectious Diseases*, Abstract book p230, May 15-18 (1998).
- 11- Gür D, Şener B, Sümerkan B, Koç N, Ünal S: Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis ve Streptococcus pneumoniae'ye karşı çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkinliği, *ANKEM Derg* 9:115 (1995).
- 12- Güriz H, Bolatlı T: Moraxella catarrhalis'in alt solunum yolu infeksiyonlarındaki yeri, *Mikrobiyol Bül* 29:142 (1995).
- 13- Kansak N, Öksüz L, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K: Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Streptococcus pyogenes ve Streptococcus pneumoniae suşlarında antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 12:1 (1998).
- 14- Kocabeyoğlu Ö, Fidan A, Koşan E, Birinci İ: Moraxella (Branhamella) catarrhalis suşlarında beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 10:119 (1996).
- 15- Kocabeyoğlu Ö, Fidan A, Koşan E, Diler M, Birinci İ: Kinolon grubu antibiyotiklerin Moraxella catarrhalis suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması, *ANKEM Derg* 9:116 (1995).
- 16- Koç AN, Fazlı ŞA; Aydın N, Sümerkan B: Çocukların nazofarenks kültürlerinden Moraxella (Branhamella) catarrhalis'in izolasyonu ve beta-laktamaz aktivitesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 24:14 (1994).
- 17- Luman I, Wilson RW, Wallace RJ: Disk diffusion susceptibility of Branhamella of Branhamella catarrhalis and relationship of beta-lactam zone size to beta-lactamase production, *Antimicrob Agents Chemother* 30:774 (1986).
- 18- Mannien R, Huovinen P, Nissinen A: Increasing antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae and Moraxella catarrhalis in Finland, *J Antimicrob Chemother* 40:387 (1997).
- 19- McGroger K, Chang BJ, Mee BJ, Riley TV: Moraxella catarrhalis: clinical significance, antimicrobial susceptibility and BRO beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17:219 (1998).
- 20- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; *Ninth Informational Supplement M 100 S9, M2-A6*, NCCLS, Villanova (1999).

- 21- Powell M, Mervey D, Kassim MH, Chen HY, Williams JD: Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* isolated in the United Kingdom from sputa, *J Antimicrob Chemother* 28:249 (1991).
- 22- Ruuskanen O, Arola M, Putto-Laurila A: Acute otitis media and respiratory virus infections, *Pediatr Infect Dis* 8:94 (1998).
- 23- Thornsberry C, Ogilvie P, Kahn J, Mauriz Y: Surveillance of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the United States in 1996-1997 respiratory season, *Diagn Microbiol Infect Dis* 29:249 (1997).
- 24- Thorsson B, Haraldsdottir V, Kristijansson M: *Moraxella catarrhalis* bacteremia. A report on 3 cases and a review of the literature, *Scand J Infect Dis* 30:105 (1998).
- 25- Traub WH, Leonhard B: Susceptibility of *Moraxella catarrhalis* to 21 antimicrobial drugs, *Chemotherapy* 43:159 (1997).
- 26- Verghese A, Berk SL: *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Infect Dis Clin North Am* 5:523 (1991).