

MUAYENE MADDELERİNDEN İZOLE EDİLEN SUŞLARIN AMPİSİLİNE VE AMPİSİLİN+SULBAKTAM KOMBİNASYONUNA DUYARLIKLARI

İsmet CANDAN¹, Kurtuluş TÖRECI²

ÖZET

Muayene maddelerinden izole edilmiş 744 bakteri suşuna ampisilinin ve ampisilin+sulbaktam (1/1) kombinasyonunun (Duocid) etkisi disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Ampisiline 413 olan dirençli suş sayısı kombinasyon için 34 olarak saptanmıştır. Sulbaktamın ampisilinin etkisini en az potansiyelize ettiği bakteri *Klebsiella* olmuş, ampisiline direnç oranı % 95'den kombinasyonda % 30'a düşmüştür. Diğer bakteri cins veya türlerinde direnç oranı 1/10 dolayına düşmüş, bazılarında kombinasyona dirençli suşa rastlanmamıştır. Tek başına ampisiline dirençli suşların % 92'si ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna duyarlı veya orta duyarlı bulunmuştur.

SUMMARY

Ampicillin and ampicillin+sulbactam susceptibilities of bacterial strains isolated from clinical specimens.

The susceptibilities of 744 clinical isolates to ampicillin and ampicillin+sulbactam (1/1) combination (Duocid) were determined by disk diffusion method. The number of resistant strains dropped from 413 for ampicillin to 34 for combination. The least potentiation of ampicillin activity by sulbactam was observed for *Klebsiella* strains, the ratio of resistant strains dropping from 95 % to 30 %. In other bacterial genus or species, the number of strains resistant to combination decreased to about 1/10 of that to ampicillin resistant strains, and no combination resistance was observed for some bacteria. 92 % of ampicillin resistant strains was found to be sensitive or moderately sensitive to ampicillin+sulbactam combination.

GİRİŞ

Beta-laktam antibiyotikler bakteri hücre duvarında peptidoglikan moleküllerinin sentezini sağlayan ve transpeptidaz, karboksipeptidaz ya da endopeptidaz aktivitesine sahip enzim moleküllerini inaktive ederek etkili olurlar. Bu enzim molekülleri

1. SSK Okmeydanı Hastanesi, Şişli, İstanbul.

2. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

penisilinlerle (ve diğer beta-laktam antibiyotiklerle) bağlandığı için penisilin bağlayan protein (PBP) olarak adlandırılır. Bir bakteride çok sayıda ve çeşitli (*E.coli*'de en az 10 farklı) PBP'ler bulunur (19). Bir beta-laktam antibiyotik bakterinin PBP'lerinden bir veya birkaçına bağlanabilir. Çeşitli antibiyotiklerin çeşitli bakteri türlerindeki PBP moleküllerine afinitesi farklı olduğundan etki dereceleri de farklı olur.

Bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere direnç mekanizmalarında çeşitli mekanizmalar rol oynar. Bunlardan biri antibiyotiğin afinitesinin yüksek olduğu PBP'(ler)de mutasyonal değişiklik olması, antibiyotiğin PBP'e bağlanmaması ve bakteriyi etkileyememesidir (12). Ancak beta-laktam antibiyotiklere direnç kazanmada bakterinin antibiyotik molekülünü inaktive eden enzimler oluşturması daha önemli bir direnç mekanizmasıdır.

Bakteriler beta-laktam antibiyotikleri inaktive eden 3 tür enzim oluşturabilirler. Bunlar sefalosporinlerde dihidrotiazin halkasının 3. konumdaki karbon atomuna bağlı yan dalı etkileyen esteraz; penisilinler ve sefalosporinlerde beta-laktam halkasında penisilinde 6., sefalosporinlerde 7. konumdaki karbon atomuna bağlı yan dalı etkileyen asilaz; her iki grup antibiyotikte beta-laktam halkasını (penisilinlerde 4. konumdaki azot ile 7. konumdaki karbon molekülleri arasındaki, sefalosporinlerde buna karşılık olan 5. konumdaki azot ile 8. konumdaki karbon molekülleri arasındaki bağı kopararak) hidrolize eden beta-laktamaz enzimleridir (8). Bu enzimlerden direnç sorunu yaratmada önemli olanı beta-laktamazlardır.

Bakteriler çok çeşitli beta-laktamaz enzimleri oluşturur. Bu enzimler bakteri kromozomu, plasmid veya bir transpozonla kodlanabilirler; konstitütif veya indüklenebilen türde olabilirler; yalnız penisilinleri, yalnız sefalosporinleri veya her iki grup antibiyotiği hidrolize edebilirler. Çeşitli beta-laktamazların beta-laktam antibiyotik grupları içinde substrat profili, izoelektrik noktası, moleküler ağırlığı, immunojenik aktivitesi de farklıdır (8, 13). Buna göre çeşitli beta-laktamazlar değişik ad ve kısaltmalarla gösterilir. Muayene maddelerinden izole edilen beta-laktamazlar içinde en sık rastlanana, geniş etki spektrumu olan TEM-1'dir ve tek başına *Enterobacteriaceae* ailesinden bakterilerde saptanan beta-laktamazların % 75'ini oluşturur (13).

Bakterilerin oluşturduğu beta-laktamazlar bir beta-laktam antibiyotik molekülünü hidrolize ettiklerinde, diğer birçok enzim-substrat ilişkisinde olduğu gibi, enzim molekülü değişmeden kalır, başka antibiyotik moleküllerini de hidrolize ederek inaktif kılmaya devam eder. Beta-laktamazlara bağlı bakteri direncinin üstesinden gelmek için beta-laktamaz inhibitörleri denilen maddeler kullanılır. Bu maddelerin, kendilerine kemoterapi alanında bir uygulama sahası sağlamayacak kadar antibakteriyel aktiviteleri vardır. Fakat beta-laktamaz ile birleştiklerinde enzim molekülüyle kovalan olarak bağlı kalan, böylece enzim molekülünü inaktive eden fragmanlar haline parçalanırlar. Sonuçta enzim molekülünü inaktive ederken kendisi de tahrip olduğu için bu maddelere intihar (suicide) inhibitörler denilir. Halen ülkemizde beta-laktam antibiyotiklerle kombine edilmiş iki beta-laktamaz inhibitörlü (klavulanik asit ve sulbaktam) preparasyon kullanım halindedir.

Bu çalışma İstanbul'da muayene maddelerinden izole edilen çeşitli bakterilere ampicilinin ve ampicilin+sulbaktam kombinasyonunun etkilerinin karşılaştırılması için yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ampisiline ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna duyarlılıkları denenen bakteri suşları, her yaştan hastadan her türlü muayene maddesini kabul eden SSK Okmeydanı (İstanbul) Hastanesinde rutin bakteriyolojik yöntemlerle izolasyon ve idantifikasyonu yapılmış toplam 744 suştur. İncelenen suşların cins veya tür düzeyindeki tanıları ve sayıları tablo 1'de gösterilmiştir. *Pseudomonas* suşları çalışma kapsamına alınmamıştır.

Tablo 1. İncelenen suşlar.

E.coli	153	Salmonella	22
S.aureus	134	S.pyogenes	18
Koag (-) stafilokok	128	Shigella	13
Haemophilus	81	Providencia	8
Klebsiella	57	Citrobacter	7
Proteus	53	N.gonorrhoeae	5
Enterokok	39	Serratia	3
Enterobacter	23	Toplam	744

Duyarlık deneyleri Kirby-Bauer yöntemine göre disk difüzyon metoduyla Mueller-Hinton jelozunda yapılmıştır. Deneylerde 10 µg ampisilin içeren disk ve 10 µg ampisilin+10 µg sulbaktam içeren kombinasyon diski kullanılmıştır. 37 °C'de yaklaşık 18 saatlik inkübasyondan sonra 11 mm ve daha dar inhibisyon zonları direnç, 12-13 mm'lik inhibisyon zonları orta duyarlık, 14 mm ve daha geniş inhibisyon zonları duyarlık işareti olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Gram pozitif kok şeklinde bakterilerin ampisilin ve ampisilin+sulbaktama bu çalışmada saptanan duyarlı, orta duyarlı ve dirençli sayıları ile dirençli suşların oranı tablo 2'de gösterilmiştir. *S.aureus* suşlarında % 69 olan ampisiline direnç oranı, ampisilin+sulbaktam kombinasyonu için % 1 bulunmuş, koagulaz negatif stafilokokların % 37'si, enterokokların % 10'u ampisiline dirençli iken kombinasyona dirençli suşa rastlanmamıştır.

Tablo 2. Gram pozitif kokların ampisilin (A) ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna (A+S) duyarlılıkları.

Bakteri	Suş sayısı	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli (%)	
S.aureus	134	A	17	24	93 (69)
		A+S	124	9	1 (1)
Koagulaz (-) stafilokok	128	A	48	34	46 (37)
		A+S	126	2	0 (0)
Enterokok	39	A	27	8	4 (10)
		A+S	39	0	0 (0)
S.pyogenes	18	A	17	1	0 (0)
		A+S	18	0	0 (0)

Enterobacteriaceae ailesinden 339 suşla alınan sonuçlar tablo 3'de gösterilmiştir. *Klebsiella* suşlarında ampisiline direnç oranı % 95 iken ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna direnç % 30'a düşmüştür. Diğer cins veya türlerde bu düşüş daha belirgin olmuş, kombinasyona dirençli suşlar ampisiline dirençli olanların % 10'u dolayında bulunmuştur. *Enterobacteriaceae* ailesinden suşların tamamı dikkate alınca % 90 olan ampisilin direncine karşılık ampisilin+sulbaktama dirençli suş oranı % 10'da kalmıştır.

Tablo 3. *Enterobacteriaceae* ailesinden bakterilerin ampisilin (A) ve ampisilin-sulbaktam (A+S) kombinasyonuna duyarlılıkları.

Bakteri	Suş sayısı	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli (%)
E.coli	A	32	12	109 (71)
	A+S	123	21	9 (6)
Klebsiella	A	3	0	54 (95)
	A+S	23	17	17 (30)
Proteus	A	11	2	40 (75)
	A+S	36	14	3 (6)
Enterobacter	A	6	1	16 (70)
	A+S	19	3	1 (4)
Salmonella	A	0	1	21 (95)
	A+S	16	4	2 (9)
Shigella	A	2	2	9
	A+S	11	1	1
Providencia	A	1	1	6
	A+S	8	0	0
Citrobacter	A	1	0	6
	A+S	7	0	0
Serratia	A	0	0	3
	A+S	3	0	0
Toplam	A	56	19	264 (90)
	A+S	246	60	33 (10)

Gram pozitif koklar ve *Enterobacteriaceae* dışında ampisilin ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna duyarlılığı denenen *Haemophilus* cinsinden bakteriler ve *N.gonorrhoeae* suşlarıyla alınan sonuçlar tablo 4'de gösterilmiştir. *Haemophilus* suşlarının % 7'si ampisiline dirençli iken, kombinasyona dirençli suşa rastlanmamıştır.

Tablo 4. *Haemophilus* cinsinden bakterilerin ve *N.gonorrhoeae*'nin ampisiline (A) ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna (A+S) duyarlılıkları.

Bakteri	Suş sayısı	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli (%)
Haemophilus	A	66	9	6 (7)
	A+S	81	0	0 (0)
N.gonorrhoeae	A	2	3	0
	A+S	5	0	0

Bütün suşlar bir arada ele alınca muayene maddelerinden izole edilen ve % 55.5'i ampisiline dirençli bulunan 744 bakteri suşunda ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna direnç oranı % 4.6'ya düşmüştür (Tablo 5). Bir diğer deyişle ampisiline dirençli 413 suşun 379'u (% 92'si) kombinasyondan etkilenmiştir.

Tablo 5. İncelenen 744 suşun ampisiline ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna duyarlılığı.

	Duyarlı		Orta duyarlı		Dirençli	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	233	31.3	98	13.2	413	55.5
Ampisilin+sulbaktam	639	85.9	71	9.5	34	4.6

TARTIŞMA

Beta-laktamaz inhibitörleri ile birlikte kullanılmaları halinde beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamaz oluşturan bakterilere etkinliğinin önemli ölçüde arttığı bundan on yıl önce başlayan çalışmalarla gösterilmiştir (6). Kendi başlarına antibiyotik etkileri çok düşük düzeyde olan beta-laktamaz inhibitörlerinin beta-laktam antibiyotiklerin etkilerini arttırmaları, doğal olarak, beta-laktamaz oluşturan suşlar için söz konusudur (8, 10). Beta-laktamaz oluşturmayan suşlarda bir inhibitörle kombine edilmiş beta-laktam antibiyotiğin etkisi, tek başına kullanıldığı durumdakine hemen hemen eşittir. Ancak muayene maddelerinden en sık izole edilen bakteriler olan *S.aureus* ve Gram negatif çomakların çoğunun beta-laktamaz oluşturmaları ve bu nedenle beta-laktam antibiyotiklere dirençli bulunmaları, beta-laktamaz inhibitörlerinin faydasını arttırmaktadır. Çalışmamızda da *Pseudomonas* dışında, muayene maddelerinden izole edilmiş 744 bakteri suşunda ampisiline dirençli olanların % 92'sinin sulbaktamla kombine edilmiş ampisilinden etkilenmesi bunu göstermektedir.

Ülkemizde ampisilin+sulbaktam kombinasyonu ile yapılmış çeşitli çalışmalarda da sulbaktamın ampisilinin etkisini çok arttırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda düşük duyarlılık oranlarından birini Özkuyumcu ve arkadaşları (14) bulmuşlar ve denedikleri 179 suşun % 30'unu duyarlı olarak bildirmişlerdir. *S.aureus* suşlarına ampisilin ve sulbaktamla kombinasyonunun etkisi ele alındığında çalışmamızda % 69 olan ampisilin direnci kombinasyon için % 1 bulunmuştur. Bu oranlar Çetin ve arkadaşlarının (4) çalışmasında % 99 ve % 1, Tokbaş ve arkadaşlarının (16) çalışmasında ise % 96 ve % 17 olarak bildirilmiştir. Töreci ve arkadaşları (17) *S.aureus* suşlarında ampisilin+sulbaktam direncini % 14, metisiline dirençli suşlarda % 29.5 olarak saptamışlardır. Ayaşlıoğlu ve arkadaşları (2) ampisilin ve kombinasyonuna *S.aureus* suşlarında duyarlılık oranlarını % 2.5 ve % 75, koagülaz negatif suşlarda % 17.6 ve % 20.9, Willke ve arkadaşları (20) ise *S.aureus* suşlarında % 5 ve % 96, koagülaz negatif suşlarda % 29 ve % 96 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda % 37'si ampisiline dirençli olan 128 koagülaz negatif stafilokok suşunda ve streptokok suşlarında kombinasyona dirençli

olana rastlanmamıştır. Sonuçlar stafilokok suşlarında ampisilin direncinin çok yüksek düzeyde fakat ampisilin+sulbaktam direncinin çok düşük düzeyde olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada İstanbul'da izole edilen *S.aureus* suşlarının % 91'inin beta-laktamaz oluşturduğunun gösterilmesi de beta-laktamaz inhibitörü olan sulbaktamın ampisilinin etkisini bu derecede arttırmasını açıklamaktadır (9).

Ampisilinin *Enterobacteriaceae* ailesinden suşlara çok düşük düzeyde etkili olduğu, ampisilin+sulbaktam kombinasyonunda ise bu etkinin önemli derecede arttığı ülkemizde yapılan başka çalışmalarla da gösterilmiştir (4, 16, 20). Bu çalışmaların bulguları temelde aynı yönde olmakla birlikte verilen oranlar arasında önemli farklar bulunması, ülkemizde duyarlık deneylerinde bir standardizasyon sağlanması gereğini bir defa daha vurgulamaktadır. Çalışmamızda % 90'ı ampisiline dirençli olan *Enterobacteriaceae* suşlarında ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna direnç, diğer çalışmalardakinden daha düşük, ortalama % 10 bulunmuştur. Bunun bir nedeni muayene maddelerinin pek çoğunun poliklinik hastalarından alınması, suşlarımızın hastane değil toplum suşları olmasıdır.

Terzioğlu (15) *E.coli* ile infekte 12 hastanın idrarlarının ekildiği besiyerlerinden 25'er koloni almış ve bunların ampisilin ve ampisilin+sulbaktam kombinasyonuna duyarlılığını araştırmıştır. Bu çalışmada aynı hastadan elde edilen çeşitli kolonilerin duyarlıklarında farklar olabildiği, 5 hastada hem ampisilin hem kombinasyona duyarlı bakterileri içeren kolonilerin yanında ampisiline dirençli, kombinasyona duyarlı kolonilerin de bulunduğu gösterilmiştir.

Pseudomonas infeksiyonlarının tedavisinde bu kombinasyonun kullanılması pek düşünülemeyeceğinden, bu bakteri çalışma kapsamı dışında tutulmuştur. Diğer çalışmalarda bulunmayan bir sonuç olarak çalışmamızda *Haemophilus* cinsinden 81 suştan ampisiline dirençli bulunan 6'sının kombinasyona duyarlı bulunduğu belirtilebilir.

Ülkemizde ampisilin+sulbaktam kombinasyonu ile çeşitli tedavi çalışmaları da yapılmış, bu kombinasyonun çeşitli infeksiyonlarda (11), idrar yolu infeksiyonlarında (1), yumuşak doku infeksiyonlarında (18), akciğer infeksiyonlarında (3), batın içi infeksiyonlarda (7), kulak-boğaz-burun infeksiyonlarında (5) başarı ile kullanılabileceği gösterilmiştir.

Bu sonuçlar sulbaktam ile kombine edildiğinde ampisilinin tekrar geniş spektrumlu bir antibiyotik özelliğini kazandığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Alkibay T, Bozkırlı İ, Tokuçoğlu H, Kuştımur S, Demirel F, Deniz N: Üriner infeksiyonlarda amoksisilin-potasyum klavulanat ve sulbaktam-ampisilin'in etkinliği (özet), *ANKEM Derg* 2: 136 (1988).
2. Ayaşlıoğlu E, Arman D, Balık İ, Altay G: Koagülaz negatif ve pozitif stafilokokların ampisilin, penisilin, ampisilin+sulbaktam ve amoksisilin+klavulanat'a duyarlılıkları (özet), *ANKEM Derg* 2: 111 (1988).
3. Berk M: Akciğer infeksiyonlarında sulbactam/ampicillin, *ANKEM Derg* 1: 230 (1987).

4. Çetin E T, Töreci K, Badur S, Erdeniz H: Muayene maddelerinden izole edilen bakterilerin bazı aminoglikozid, sefalosporin, penisilin grubu antibiyotiklere beta-laktamaz inhibitörleri ile birlikte kullanılan penisilinlere ve ofloksasine duyarlılıkları, *ANKEM Derg 1*: 423 (1987).
5. Ege Y, Can B: Kulak-burun-boğaz infeksiyonlarının tedavisinde sulbaktam/ampisilin (sulbactam/ampicillin)'in etkinlik ve emniyeti, *İnfeksiyon Derg 2*: 205 (1988).
6. English A R, Retsema J A, Girard A E, Lynch J E, Barth W E: CP-45, 899, a beta-lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of beta-lactams: Initial bacteriological characterization, *Antimicrob Agents Chemother 14*: 414 (1978).
7. Kaymak E, Deneçli A, Atalay F, Esin C: Batıniçi enfeksiyöz komplikasyonlardan korunma ve tedavide betalaktamaz ve sulbaktamın önemi (özet), *ANKEM Derg 2*: 164 (1988).
8. Laden S K, Hamilton C W, Romankiewicz J A, Acar J F: Overview of antimicrobial agent resistance, "J F Acar (ed): *Beta-lactamase Inhibition: Pharmacology, Antimicrobial Activity, and Pharmacokinetics*" kitabında s.7, Adv Therap Co Inc, Secaucus (1985).
9. Mamagani-Bonaby A, Töreci K: S.aureus, P.mirabilis, S.typhimurium suşlarında amoksisilin, klavulanik asit ve amoksisilin+klavulanik asit kombinasyonunun etkilerinin karşılaştırılması, *ANKEM Derg 2*: No 3-4 (1988) (Baskıda).
10. Moosdeen F: Inhibition and induction of beta-lactamases by inhibitors, *ANKEM Derg 1*: 409 (1987).
11. Müderrisoğlu İ H, Sivri B, Akalın H E: Sulbactam - ampisilin'in değişik infeksiyonlarda kullanımı (özet), *ANKEM Derg 2*: 138 (1988).
12. Neu H C: Changing mechanisms of bacterial resistance, *Amer J Med 77*: 11 (1984).
13. Neu H C: Beta-lactamases: A perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance, *Postgrad Med Sept/Oct*: 7 (1984).
14. Özkuyumcu C, Durupınar B, Dikmen N: Aztreonam ve sulbaktam/ampisilin'in Gram negatif bakterilere in-vitro aktiviteleri (özet), *ANKEM Derg 2*: 129 (1988).
15. Terzioğlu O: Tek enfeksiyon kaynaklarındaki Escherichia coli'lerin beta-laktamaz antibiyotik preparatlarına karşı direnç farklılıkları (özet), *ANKEM Derg 1*: 132 (1987).
16. Tokbaş A, Tokbaş G, Ulusoy S: Çeşitli bakteriler üzerinde sulbaktam/ampisilin kombinasyonunun in vitro etkisinin disk difüzyon yöntemiyle araştırılması, *İnfeksiyon Derg 1*: 151 (1987).
17. Töreci K, Gürler N, Çalangu S, Sarpel C, Eraksoy H, Özsüt H, Çetin E T: Methicillin resistance in Staphylococcus aureus strains isolated in İstanbul, *ANKEM Derg 2*:No. 3-4 (1988) (Baskıda).
18. Ülgen N, Özçekiç N, Yıldız A, Akcan M: Yumuşak doku infeksiyonlarının tedavisinde sulbaktam-ampisilin ile alınan sonuçlar, *ANKEM Derg 1*: 238 (1987).
19. Wilkins J, Fareau G E, Patzakis J: The mechanisms of action for beta-lactam antibiotics and inhibitors of bacterial protein synthesis, *Clin Orthop 190*: 23 (1984).
20. Willke A, Tural D, Gültaş K, Tekeli E: Ampisilin ve beta-laktamaz inhibitörlü kombine preparatların bazı bakterilere karşılaştırmalı etkinlikleri (özet), *ANKEM Derg 2*: 127 (1988).