

SULBAKTAM-AMPİSİLİN VE AMOKSİSİLİN- KLAVULANİK ASİTİN ESCHERICHIA COLI VE KLEBSIELLA PNEUMONIAE SUŞLARINA ETKİNLİĞİNİN GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VARLIĞI İLE İLİŞKİSİ

Zeynep GÜLAY*, Ayşe YÜCE**, Selma GÖLLER*, Nedim ÇAKIR**, Nuran YILMAZ*

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı: *
D.E.Ü. Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Anabilim Dalı: **

ÖZET

Klavulanik asit ve sulbaktam özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlara (extended spectrum beta-lactamases; ESBL) etkili beta-laktamaz inhibitörü ajanlardır. Klavulanik asit- amoksisilin (AMC) ve sulbaktam-ampisilin (SAM) kombinasyonları klinik tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. AMC ve SAM için farklı duyarlılık paternleri bildirilmesi nedeniyle, çalışmamızda, ESBL üreten ve üretmeyen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında bu iki antibakteriyel ajanın *in vitro* etkinliği karşılaştırılmış olarak incelendi. ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının %25'inin AMC'ye, %30'unun SAM'a duyarlı olduğu saptandı. ESBL üretmeyen suşlarda ise bu oranların, AMC için %54, SAM için %46 olduğu belirtindi. Benzer şekilde, ESBL üretmeyen *E. coli* suşlarında her iki ajana eşdeğer olmak üzere % 80 oranında duyarlılık saptandı. ESBL üreten suşlarda ise bu oranlar SAM ve AMC için sırasıyla %33 ve %50 olarak bulundu.

Anahtar kelimeler: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, sulbaktam - ampisilin, klavulanik asit - amoksisilin, genişletilmiş spektrumlu beta - laktamazlar, *in vitro* duyarlılık

Amoksisilin - klavulanik asit (AMC) ve sulbaktam - ampisilin (SAM), kombinasyonları klinik tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (1,2). Genel olarak bu ajanlar *in vitro* ve *in vivo* etkinlik açısından eşdeğer kabul edilmekte, bu nedenle birinin duyarlılık testi sonucunun diğerini için de kullanılabileceği belirtilmektedir (3). Ancak, bu iki beta-laktamaz inhibitörü arasında hem etkinlik hem de farmakokinetic yönden çeşitli farklar bulunduğu da bildirilmektedir (4,5). Örneğin, bazı türlerde klavulanik asit

SUMMARY

*Clavulanic acid and sulbactam are beta-lactamase inhibitors that are effective against extended-spectrum beta-lactamases (ESBL). Clavulanic acid-amoxycillin (AMC) and sulbactam-ampicillin (SAM) combinations have been widely used in clinical therapy. As a disparity between the susceptibility results for AMC and SAM was observed in several studies, we compared the *in vitro* efficacy of these agents against *E. coli* and *K. pneumoniae* strains which did or did not produce ESBLs. Twenty five % and 30 % of ESBL positive *K. pneumoniae* were susceptible to AMC and SAM, respectively. The susceptibility rates of ESBL negative isolates were 54 % for AMC and 46% for SAM. When these two agents were evaluated against ESBL producing *E. coli* isolates, 50% were susceptible to AMC and 33% to SAM, while 80% of ESBL negative *E. coli* strains were susceptible to both agents.*

Key words: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, sulbactam - ampicillin, clavulanic acid - amoxycillin, extended spectrum beta - lactamases, *in vitro* susceptibility.

sulbaktama kıyasla daha güçlü bir beta-laktamaz inhibitöridür (6). Buna karşın, sulbaktamın doku penetrasyonunun ve stabilitesinin daha iyi olması ve kromozomal beta-laktamazları indükleyici etkisinin bulunmaması bu farkı kapatmaktadır (1,3,7).

AMC ve SAM için farklı duyarlılık paternleri bildirilmesi nedeniyle, çalışmamızda, bu iki antibakteriyel ajanın ESBL üreten ve üretmeyen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları üzerine *in vitro* etkinliği karşılaştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar: Çalışmaya klinik örneklerden soyutlanan 72 E. coli ve 44 K. pneumoniae suşu alındı.

Antibiyotik duyarlılık testleri: Suşların AMC ve SAM duyarlılıklarını disk difüzyon tekniği ile saptandı (3). AMC için, 18 milimetreden(mm) ve üstü "Duyarlı (Sensitive;S)", 14-17mm "Ortada (Intermediate; I)", 13 mm ve altı "Dirençli (Resistant; R); SAM için, 15mm ve üstü "S"; 12-14 mm "I" ve 11mm ve altı ise "R" olarak değerlendirildi (3).

Çift Disk Sinerji Yöntemi (ÇDSY): Bu amaçla Mueller-Hinton Agar (Oxoid) besiyeri yüzeyine bulanıklığı McFarland 0.5 eşeline göre ayarlanmış bakteri süspansiyonu yayıldıktan sonra merkeze bir AMC(20/10 µg) diskı ve çevresine, disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde, sefotaksim (CTX), seftazidim (CAZ), aztreonam (ATM) diskleri yerleştirildi. Bir gece 37°C' de inkübasyondan sonra, sefalosporin diskleri çevresindeki inhibisyon alanının beta-laktamaz inhibitörü diskine doğru genişlemesi ESBL olumluğunu olarak değerlendirildi (8). Inhibisyon zon çaplarının dar olduğu (15mm altında) durumlarda, diskler arası uzaklık azaltılarak modifiye ÇDSY uygulandı (9).

İstatistiksel analiz: İki antibiyotik kombinasyonunun çalışmaya alınan suşlar üzerindeki etkinliği Fisher Kesin Testi ile incelendi. Antibiyotik etkinliğinin ESBL üretimi ile değişimisinin değerlendirilmesinde ise iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı (10).

BULGULAR

ESBL üreten 20 K. pneumoniae suşunun 5'i (% 25) AMC'ye, 6'sı (%30) SAM'a duyarlı, ESBL üretmeyen 24 K. pneumoniae suşunun 13'ü (% 54.1) AMC'ye, 11' i(% 45.8) SAM'a duyarlı olarak saptandı (Tablo 1).

ESBL varlığı saptanan 12 E. coli suşunun 6'sı (%50) AMC'ye, 4'ü (%33.3) SAM'a duyarlı, ESBL varlığı saptanmayan 60 E.coli suşununu 48'i (%80) AMC'ye, 48'i SAM'a duyarlı olarak bulundu (Tablo 1).

ESBL üretimi saptanan suşlarda saptanmayanlara kıyasla, iki beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonuna karşı direnç oranının yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$). Çalışmaya alınan suşların AMC ve SAM'a duyarlılık oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak, AMC diskı ile "intermediate" bulunan 11 suş (% 10.4) SAM'a dirençli olarak değerlendirildi (Tablo 1).

TARTIŞMA

İlk kez 1983 yılında bildirilen ve plazmidlerle taşınan genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar (Extended spectrum beta-lactamases; ESBL) Enterobacteriaceae üyelerinin etken olduğu infeksiyonların sağlığında giderek büyüyen bir sorun yaratmaktadır (8,11,12). Bunlar köken aldığı TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi beta-laktamazlardan 1-4 aminoasit değişikliği ile türemiş olup ana enzime kıyasla daha yavaş fakat daha geniş spektrumlu enzimlerdir (6,11). Diğer beta-laktamazlar gibi bu enzimler de klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır (6).

Izole enzimler ile yapılan inhibisyon çalışmalarında klavulanik asitin sulfaktama kiyasla genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlara daha yüksek etkili olduğu belirtilmiştir (13).

Thomson ve ark.(14), tarafından yapılan çalışmada Enterobacteriaceae üyelerinde beta-laktam / beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına duyarlığın mikroorganizma tarafından üretilen beta-laktamazın sınıfı ve miktarı ile değişebildiği bildirilmektedir. Çalışmamızda, ESBL saptanan suşlarda, saptanmayanlarla karşılaştırıldığında her iki beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonuna karşı direnç oranının yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak, AMC ve SAM'ın çalışmamıza alınan suşlar üzerindeki in vitro etkinliği kiyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum, çalışmaya alınan ESBL üreten suş sayısının az olmasına bağlı olabileceği gibi, özellikle hastane suşlarında inhibisyon kinetikleri birbirinden farklı birden fazla beta-laktamaz bulunabilmesi ile de açıklanabilir. O'Shaughnessy ve arkadaşlarının

çalışmasında (4), E.coli suşlarının in vitro AMC ve SAM duyarlılık sonuçları arasında uyumsuzluk bulunabildiği ve bu durumun özellikle "intermediate" ve "dirençli" kategorilerinde belirginleştiği bildirilmektedir. Aynı çalışmada, duyarlılık sonuçlarına rağmen AMC ve SAM'ın eşdeğer klinik etkinlikte olmaları nedeniyle, bu iki ajan için bildirilen duyarlılık kategorilerinin yeniden ele alınmasının gereği öne sürülmektedir. Benzer şekilde çalışmamıza alınan suşlardan 11'i AMC ile "intermediate", ancak SAM ile "dirençli" bulunmuştur. Beta-laktamaz inhibitörleri kullanılarak duyarlılık testi uygulanmasında izlenen yöntemlerin standart olmaması önemli bir sorundur. Özellikle de "intermediate" tanımlamasının yöntemden yöntemde değişebildiği belirtilmektedir (15).

Sonuç olarak, çalışmamızda incelenen suşların farklı beta-laktam/ beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına in vitro duyarlılık sonuçları benzer bulunmasına rağmen etkinlik açısından yorum yapılabilmesi için klinik tedavi sonuçlarının izlenmesinin gereği düşünülmektedir.

Tablo 1. Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarının amoksisin-klavulanik asit ve sulfaktam-ampisiline duyarlılık sonuçları ve bunun ESBL üretimi ile ilişkisi

Tür (sayı)	Suş sayısı (%)					
	AMC			SAM		
	S ≥ 18*	I 14-17*	R 13 ≥*	S ≥ 15*	I 12-14*	R 11 ≥*
K.pneumoniae(44)						
ESBL (+) (20)	5 (25)	10 (50)	5 (25)	6 (30)	4 (20)	10 (50)
ESBL (-) (24)	13 (54)	8 (33)	3 (12)	11 (45)	6 (25)	7 (29)
E. coli (72)						
ESBL (+) (12)	6 (50)	1 (8)	5 (41)	4 (33)	2 (16)	6 (50)
ESBL (-) (60)	48 (80)	10 (16)	2 (3)	48 (80)	8 (13)	4 (6)

* Duyarlık kategorisi için inhibisyon alanı çapı, milimetre olarak ifade edilmektedir.

Kısaltmalar: S: Duyarlı; I: Ortada; R: Dirençli

— KAYNAKLAR —

1. Akova M. Beta-laktam/ beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlu antibiyotikler. In: Akalın HE, ed. Antibiyotikler ve diğer antimikrobiyal ilaçlar, birinci basım. Ankara: Güneş Kitapevi Ltd. Şti. 1994; 143-53.
2. Chambers HF, Neu C. Other beta-lactam antibiotics. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, fourth ed. New York: Churchill Livingstone 1995; 264-72.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, standard M2-A5, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa 1993.
4. O'Shaughnessy EM, Fahle GA, Witebsky FG. Correlation of in vitro susceptibility results for amoxycillin-clavulanate and ampicillin-sulbactam tested against *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1902-1903.
5. Özenci MV, Kirdar S, Yüce A, Yuluğ N. Üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suslularının sulbaktam-ampisilin ile amoksiksilin-klavulanik asit duyarlılıklarının karşılaştırılması. 5.Uluslararası Infeksiyon Hastalıkları Kongresi, 4-6 Eylül 1995, İstanbul. Kongre Kitabı. İstanbul:Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti 1995;49.
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
7. Easton CJ, Knowles JR. Correlation of the effect of beta-lactamase inhibitors on the beta-lactamase in growing cultures of Gram negative bacteria with their effect on the isolated beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26: 358-363.
8. Jarlier V, Nicolas H, Fournier G, Philippon A. Extended broad spectrum beta-lactamase conferring resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*, hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 867- 878.
9. Gülay Z, Abacıoğlu YH, Yuluğ N. Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonucu etkisi. *İnfeksiyon Derg* 1995; 9: 89-92.
10. Sümbüloğlu K. Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Birinci basım. Ankara: Matiş Yayınları, 1978; 126-128.
11. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SGB. TEM and SHV derived extended spectrum beta-lactamases: relation between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 7-22.
12. Philippon A, Arlett G, Le Grange PII. Origin and impact of plasmid mediated extended spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13(Suppl 1): S17-29.
13. Bush K. Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin Microbiol Rev* 1988; 6: 109-123.
14. Thomson KS, Weber DA, Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactamase production in members of the family Enterobacteriaceae and resistance to beta-lactam - enzyme inhibitor combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 622-627.
15. Stapleton P, Wu J, King A et al. Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxycillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2478-2482.