

Karbapenem-Sefaperazon / Sulbaktam Kombinasyonlarının *Acinetobacter Baumannii* Suşları Üzerine in vitro Aktivitesi

In-vitro Activity of Carbapenem/Sulbactam Combination against *Acinetobacter baumannii* Strains

Fatma Mutlu Sarıgüzel

Specialist, M.D.
Department of Microbiology and Clinical Microbiology
Faculty of Medicine, Erciyes University
fmutluguzel@gmail.com

Bülent Sümerkan

Prof., M.D.
Department of Microbiology and Clinical Microbiology
Faculty of Medicine, Erciyes University
bsumerkan@hotmail.com

Gökhan Metan

Asist. Prof., M.D.
Department Infectious Diseases and Clinical Microbiology
Faculty of Medicine, Erciyes University
gokhanmetan@gmail.com
metan@hacettepe.edu.tr

Özet

Amaç: Çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde sulbaktam ve karbapenemler sık tercih edilen ilaçlardır. Bu çalışmada, karbapenem-sefoperazon/ sulbaktam kombinasyonlarının, kan kültürlerinden izole edilen *A. baumannii* izolatları üzerine in vitro sinerjistik etkisine bakılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Şubat 2007- Mart 2008 ayları arasında Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi kliniklerindeki hastalardan gönderilen kan kültürü örneklerden izole edilen 100 *A. baumannii* suşu çalışmaya alındı. Karbapenem-sefoperazon/sulbaktam kombinasyonlarının izolatlar üzerine in vitro sinerjistik etkisine E-test yöntemi ile bakılmıştır.

Bulgular: İmipenem- sefoperazon/sulbaktam ve meropenem-sefoperazon/sulbaktam kombinasyonları için sırası ile %43 ile %49 oranlarında sinerjistik aktiviteye sahip olduğu saptandı. Bu kombinasyonlarda antagonistik aktivite bulunmamıştır.

Sonuç: İn vitro çalışma sonuçlarımıza göre, karbapenem- sulbaktam kombinasyonunun çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde bir alternatif olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: **Acinetobacter baumannii; Karbapenemler; Sinerji; Sulbaktam.**

Abstract

Purpose: Carbapenems and sulbactam are often the drug of choice for the treatment of infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. The present study aimed to evaluate the in vitro synergistic activity between carbapenem and sulbactam against *A. baumannii* isolated from blood cultures of patients.

Material and Method: The 100 *A. baumannii* strains isolated from blood culture specimens of patients hospitalized at Erciyes University Medical Faculty Gevher Nesibe Hospitals between February 2007 and March 2008, were included in this study. The in vitro synergistic activities of carbapenem-cefoperazone/ sulbactam combination on 100 *A. baumannii* strains were studied by E-test method.

Results: With the combination of imipenem- cefoperazone/ sulbactam and meropenem-cefoperazone/ sulbactam on 43% and 49% of the strains respectively, synergistic activity was detected. No antagonism was detected with any combination.

Conclusion: According to our in vitro study results, carbapenem-cefoperazone/ sulbactam combination can be an alternative for the treatment of infections caused by multidrug-resistant *A. baumannii*.

Key words: **Acinetobacter baumannii; Carbapenems; Sulbactam; Synergy.**

Submitted : October 20, 2008
Revised : February 13, 2009
Accepted : November 04, 2009

Corresponding Author:

Uzm. Dr. Fatma Mutlu Sarıgüzel
Department of Microbiology and Clinical Microbiology
Faculty of Medicine, Erciyes University
Kayseri / Turkey

Telephone : +90- 505 205 30 87
E- mail : fmutluguzel@gmail.com

Giriş

Acinetobacter baumannii nozokomiyal enfeksiyonlara ve çoğul ilaç direncinden dolayı yüksek mortaliteye neden olan önemli bir patojendir. Karbapenemler, bakteri tarafından üretilen beta laktamaz enzimlerinin hidrolizine karşı stabil olmaları sebebiyle dirençli *A. baumannii* enfeksiyonların tedavisinde iyi bir seçenek olmuştur (1). Ancak son yıllarda birçok antibiyotik gruplarına olduğu gibi karbapenemlere de kısa sürede direnç geliştirmeleri nedeniyle bu etkenle oluşan enfeksiyonların tedavisinde alternatif olması amacıyla karbapenem/ sulbaktam antibiyotik kombinasyonlarının kullanımı gündeme gelmiştir (2- 5).

Antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerinin anlaşılabilmesi için uygulanan tüm *in vitro* duyarlılık işlemlerine sinerji testleri denilmektedir. Bu amaçla iki boyutlu sulandırım (Dama Tahtası “Chequerboard”) yöntemi, öldürme- zaman kinetik yöntemi, difüzyon yöntemi uygulanabilmektedir. Difüzyon yöntemlerinden biri de E-test yöntemidir (6, 7).

Bu çalışmada, imipenem- sefoperazon/sulbaktam ve meropenem- sefoperazon/sulbaktam kombinasyonlarının laboratuvarımızda bakteriyemili hastaların kan kültürlerinden izole edilen 100 *A. baumannii* suşları üzerine *in vitro* etkilerini E-test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Şubat 2007- Mart 2008 ayları arasında Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi kliniklerindeki hastalardan bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültürü örneklerden izole edilen 100 *A. baumannii* suşu çalışmaya alındı.

Kan kültürü örneklerinden izole edilen suşlar Microscan Walkaway (Dade Behring, West Sacramento, CA, USA) otomatize sistem ile tanımlandıktan sonra katalaz, oksidaz ve indol reaksiyonları, 44°C’ de üreyebilme, kanlı agarda hemoliz özellikleri, Eozin Metilen Blue agarda laktoza etkileri değerlendirildi.

Çalışmaya alınan *A. baumannii* izolatları üzerine imipenem ile sefoperazon/ sulbaktam ve meropenem ile sefoperazon/ sulbaktam antibiyotiklerinin E- test yöntemiyle sinerjistik etkisine bakıldı. Her izolat için 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agar içeren iki adet petri yüzeyine steril pamuklu

çubuk kullanılarak sürüldü (8). Birinci petriye kombinasyon etkisinin aranacağı antibiyotiklerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerini elde etmek amacı ile E-test şeritleri yerleştirildi. İkinci petriye A ve B antibiyotik E-test şeritleri ayrı ayrı yerleştirildi ve etüvde 35± 2 °C’ de bir saat inkübe edildi. Ön inkübasyon sonrasında A antibiyotiğine ait E-test şeriti kaldırıldı ve aynı yere B antibiyotiğine ait E-test şeridi yerleştirildi. B antibiyotiğine ait E-test şeridi kaldırıldı ve aynı yere A antibiyotiğine ait E-test şeriti yerleştirildi ve etüvde 35± 2 °C’ de 16- 18 saat inkübe edildi. Her bir antibiyotik için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) değeri aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$FİK(A) = \frac{MİK A (B' \text{ nin varlığında } A (A+B))}{MİK A (A \text{ tek başına})}$$

$$FİK(B) = \frac{MİK B (A' \text{ nin varlığında } B (B+A))}{MİK B (B \text{ tek başına})}$$

$$\Sigma FİK = FİK(A) + FİK(B)$$

Elde edilen Σ FİK değerleri 0,5’den küçük ise sinerjis; 0,5 ile 1,0 arasında ise kısmi sinerjist; 1,0 ise aditif; 1 ile 4 arasında ise indiferent ve 4 ve daha büyük ise antagonist olarak yorumlandı (6). Kalite kontrol için *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.

Bulgular

İzole edilen *A. baumannii* suşlarının imipenem, meropenem ve sefoperazon/ sulbaktam için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ile MİK aralıkları ve duyarlılık oranları Tablo I’ de gösterilmiştir. E-test yöntemi ile suşların %34’ nün imipeneme, %24’ nün meropeneme ve %31’ nin sefoperazon/sulbaktama duyarlı olduğu belirlendi.

İmipenem- sefoperazon/sulbaktam ve meropenem- sefoperazon/sulbaktam kombinasyonlarının suşlar üzerine sinerjistik aktivitesi Tablo II’ de gösterildi. Bu antibiyotikler arasında antogonistik aktivite bulunmadı. İmipenem- sefoperazon/sulbaktam ve meropenem- sefoperazon/sulbaktam kombinasyonları için sırası ile %43 ile %49 oranlarında sinerjistik aktivite olduğu görüldü.

Tablo I. A. baumannii suşlarının imipenem, meropenem ve sefoperazon/ sulbaktam için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ile MİK aralıkları ve duyarlılık oranları.

Antibiyotik	MİK (µg/ mL)			Duyarlılık oranları(%)	
	Aralık	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Duyarlı	Dirençli*
İmipenem	0.006- > 32	32	> 32	34	66
Meropenem	0.125- >32	32	> 32	24	76
Sefoperazon/sulbaktam	0.25- 256	32	256	31	69

*Orta duyarlı olan suşlar dirençli kabul edildi.

Tablo II. E-test yöntemi ile imipenem - sefoperazon/ sulbaktam ve meropenem-sefoperazon/ sulbaktam kombinasyonlarının sinerjistik aktivitesi.

Kombiasyon	Sinerji (≤ .5)	Kısmi Sinerji (> 0.5- < 1)	Aditif 1	İndiferent > 1- < 4	Antagonist ≥4
IP-CPS	43	22	19	16	-
MP-CPS	49	30	8	13	-

IP-CPS: imipenem- sefoperazon/ sulbaktam; MP-CPS: meropenem- sefoperazon/ sulbaktam

Tartışma

oğul dirençli A. baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde hem başarıyı sağlamak hem de direnç gelişimini önlemek amacıyla kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir (9). Bu suşların meydana getirdiği enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olması amacıyla karbapenem/ sulbaktam antibiyotik kombinasyonlarının sinerjistik aktivitesini araştıran birçok çalışma yapılmıştır (2- 5).

Kiffer ve arkadaşları (5) 48 A. baumannii suşunda meropenem ve sulbaktam arasındaki antibiyotik etkileşimini dama tahtası yöntemi ile araştırmışlar, izolatların meropenem ve sulbaktam için MİK₅₀ değerlerini sırasıyla 1µg/ mL ve 1µg/ mL, MİK₉₀ değerlerini ise 8µg/mL ve 32 µg/mL olarak bulmuşlardır. Bu kombinasyon, suşların %29,2'sinde sinerjistik, %47,9'unda kısmi sinerjistik ve %6,2'sinde ise antagonistik etki göstermiştir. Ko ve arkadaşları (4) oğul dirençli bir A.baumannii suşunun meropenem/sulbaktam kombinasyonuna sinerjistik etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, farelerdeki intraperitoneal enfeksiyonunun tedavi başarisının meropenemi ve sulbaktamı ayrı ayrı verdiklerinde %35 olduğunu, kombine kullanımında ise bu başarının %87 olduğunu göstermişlerdir. Choi ve arkadaşları (2) ikisi çoğul ilaç dirençli, biri IMP- 1 tipi MBL enzimine sahip dört A.baumannii suşunda imipenem/sulbaktam kombinasyonun sinerjistik aktiviteye sahip olduğunu

bildirmişlerdir. Song ve arkadaşları (3) imipenem ve sulbaktam için MİK₅₀ değerlerini sırasıyla 32 µg/ mL ve 16 µg/ mL, MİK₉₀ değerleri ise 32 µg/ mL ve 32 µg/ mL olan 43 A.baumannii suşunda imipenem/sulbaktam kombinasyonun in vitro aktivitelerinin etkili olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda 100 A.baumannii suşunun imipenem, meropenem ve sefoperazon/sulbaktam antibiyotikleri için sırası ile MİK₅₀ değerleri 32 µg/mL, 32 µg/mL ve 32 µg/mL, MİK₉₀ değerleri ise > 32 µg/mL, > 32 µg/mL ve 256 µg/mL olarak bulunmuştur (Tablo I). Bu izolatların, imipenem ve sefoperazon/ sulbaktam kombinasyonuna karşı %43'   sinerjistik, % 22' si kısmi sinerjistik, %19' u aditif, %16' sı indiferent aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Meropenem ve sefoperazon/ sulbaktam kombinasyonuna ise %49' u sinerjistik, %30' u kısmi sinerjistik, %8' si aditif, %13'   indiferent aktivite gösterdiği saptanmıştır (Tablo II). Suşların her iki kombinasyonla da antagonistik etkileşiminin olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamız, karbapenem- sefoperazon/ sulbaktam kombinasyonuna in vitro sinerji oranların yüksek olması ve antagonistik etkileşimlerinin olmaması nedeniyle, bu kombinasyonun çoğul dirençli A.baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde iyi bir seçim olabileceğini düşündürmüştür.

Kaynaklar

1. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens. Microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 148- 65.
2. Choi JY, Park YS, Cho CH, et al. Synergic *in vitro* activity of imipenem and sulbactam against *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 1098- 1101.
3. Song JY, Kee SY, Hwang IS, et al. *In vitro* activities of carbapenem/ sulbactam combination, colistin, colistin / rifampicin combination and tigecycline against carbapenem - resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrobiol Chemother* 2007; 60: 317- 322.
4. Ko WC, Lee HC, Chiang SR, et al. *In vitro* and *in vivo* activity of meropenem and sulbactam against a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain. *J Antimicrobiol Chemother* 2004; 53: 393- 395.
5. Kiffer CRV, Sampaio JL, Sinto S, et al. *In vitro* synergy test of meropenem and sulbactam against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diag Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 317- 322.
6. Moody J. Susceptibility tests to evaluate synergism. In: Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology procedures handbook*. Washington, DC: ASM Press; 2004. pp. 5.18.1– 15.
7. Haddad FA, Van Horn K, Carbonaro C, Agüero-Rosenfeld M, Wormser GP. Evaluation of antibiotic combinations against multidrug- resistant *Acinetobacter baumannii* using E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 577- 579.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement*. CLSI document M100-S16 Clinical and Laboratory Standard Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898 USA, 2006.
9. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PM, Waites KB. Comparative *in vitro* antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 881- 885.