

SEFTAZİDİMİN TEK BAŞINA VE AMİKASİN İLE KOMBİNASYON HALİNDE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARI ÜZERİNE OLUŞTURDUĞU POSTANTİBİYOTİK ETKİNİN ARAŞTIRILMASI

A. Alev GERÇEKER, Kadriye SARAÇOĞLU

ÖZET

Çalışmamızda seftazidim ve amikasinin tek başına ve kombinasyon halinde dört klinik *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı oluşturdukları postantibiyotik etkinin (PAE) süresi araştırılmıştır. Logaritmik üreme fazındaki bakteriler ile 1 saat temasta bırakılan antibiyotikler dilüsyon yöntemi ile ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra, test kültürlerinden belirli aralıklarla alınan örneklerde canlı bakteri sayımı yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Amikasinin 0.70 - 3.10 saat arasında değişen PAE gösterdiği saptanmıştır. Seftazidim tek başına belirgin bir PAE oluşturmazken (-0.20 - 0.45 saat), amikasin ile kombine edildiğinde, artan konsantrasyonlarına bağlı olarak, amikasinin minimum inhibitör konsantrasyonuna eşit konsantrasyonda oluşturmuş olduğu PAE'nin süresini 2.65 saate kadar uzattığı saptanmıştır. Sonuç olarak, bulgularımız antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanıldığı tedavilerde doz aralıklarının tayin edilmesinde PAE'ye ait sürenin önemli bir etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Postantibiyotik etki, *Pseudomonas aeruginosa*, seftazidim, amikasin

SUMMARY

Postantibiotic effect of ceftazidime, alone and in combination with amikacin, on Pseudomonas aeruginosa strains.

The postantibiotic effects (PAE) of ceftazidime, alone and in combination with amikacin, were investigated on four clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Organisms in logarithmic phase of growth were exposed for 1 hour to antibiotics, drugs were removed by dilution method, and recovery periods of test cultures were evaluated using viable counting. Amikacin produced a PAE ranging from 0.70 to 3.10 hours. Although ceftazidime didn't show any significant PAE alone (-0.20 - 0.45), when combined with amikacin, it prolonged to 2.65 hours the PAE of amikacin which was obtained at a concentration equal to minimum inhibitory concentration in a dose dependent manner. In conclusion, the finding of our study shows the importance of PAE for its potential influence on establishing the dosing intervals during therapy with antimicrobial combinations.

Key words: Postantibiotic effect, *Pseudomonas aeruginosa*, ceftazidime, amikacin

GİRİŞ

Klinik kullanımda antibiyotiklerin, immün sistemi baskılayan kemoterapötiklerin ve sofistike yaşam-destek cihazlarının artışı sonucunda fırsatçı mikroorganizmalarla enfeksiyona yakalanma riskinin yüksek olduğu bir hasta grubunun ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu fırsatçı mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas aeruginosa* hastane genelinde en sık rastlanılan etken olmamasına rağmen, ölümlü sonuçlanan olguların başında yer almaktadır (10). Özellikle immün sistemi baskılanmış, kanser, kistik fibroz, yanık ve travmatik yaralanmalarda, organ ve hücre nakli gibi belirli hasta gruplarında mortaliteye neden olan başlıca etkenlerden biridir (2). Yüksek risk altında olan bu hastalarda *P.aeruginosa* enfeksiyonları hızla geliştiğinden, başarılı sonuçlar ancak uygun bir tedavi şekli zamanında ve doğru bir şekilde uygulandığı tak-

tirde elde edilebilmekte ve bu amaçla genellikle bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerin kombinasyon halinde oluşturdukları etkilerinden yararlanılmaktadır (1). Ancak uygun antibiyotik seçiminin yanı sıra uygulanan doz rejiminin de tedavinin başarısında önemli bir katkısı olmaktadır. Doz aralıkları belirlenirken kullanılan geleneksel ölçütler, genellikle antibiyotik serum düzeyinin minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) veya minimum bakterisidal konsantrasyonunun (MBK) üzerinde kalmasını hedeflemektedir (13). Oysa, bu rejimler antibiyotik konsantrasyonunun enfeksiyon bölgesinde optimal süre boyunca yeterli konsantrasyonda tutulmasını sağlayarak, dirençli suşların seçilme riskini azaltırken enfeksiyon etkeninin tamamıyla ortadan kaldırılmasını hedefleyen farmakodinamik parametreleri dikkate almamaktadır (4, 8).

Antibiyotiklerin göstermiş olduğu farmakodinamikler bakterisidal aktivite ve kalıcı baskılayıcı etkiden oluşmakta, bunlardan postantibiyotik etki (PAE) mikroorganizmaların antibiyotikle kısa süreli temasından sonra devam eden kalıcı baskılayıcı etkiyi incelemektedir. PAE'nin klinik kullanımındaki önemi, doz aralıklarının belirlenmesinde potansiyel bir etkisinin olması, dolayısıyla uzun süreli PAE gösteren antibiyotiklerin,

etkilerini kaybetmeden klinikte yaygın bir şekilde uygulanan-dan daha uzun aralıklarla kullanılmasına olanak sağlamasıdır. Bu çalışmanın amacı söz edilen riskli hasta gruplarında gelişen *P.aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen seftazidim-amikasin kombinasyonunun bu mikroorganizma üzerinde oluşturduğu PAE'nin tek başına oluşturdukları etkiden farklı olup olmadığının araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mikroorganizmalar: İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın rutin laboratuvarlarında izole edilen dört adet klinik (208, 305, 311 ve 320) ve bir adet standart (ATCC 27853) *P.aeruginosa* suşu kullanılmıştır.

Antibiyotikler: Seftazidim GlaxoSmithKline İlaçları San. ve Tic. A.Ş., amikasin ise Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. tarafından temin edilmiştir. Antibiyotiklerin uygun çözücülerinde çözüldürülerek hazırlanan 2000 µg/ml'lik stok çözeltileri bir ay içinde deneylerde kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Besiyerleri: MİK ve PAE'ye ait değerlerin saptanması için litresinde 25 mg Mg²⁺ ve 50 mg Ca²⁺ iyonu içeren Mueller-Hinton buyyonu (Difco) (katyon ilaveli Mueller-Hinton buyyonu, KİMHB), kolonilerin sayımı için Petri kutularında hazırlanan triptik soya agarı (Difco) kullanılmıştır.

MİK'in saptanması: MİK değerleri NCCLS'in öngördüğü şekilde mikrodilüsyon yöntemiyle saptanmıştır (15). Buna göre antibiyotiklerin KİMHB'da bir seri dilüsyonu yapılarak hazırlanan ikinin katlarındaki çözeltilerine, mikrop-laktaki son konsantrasyonu ml'de 5 x 10⁵ koloni oluşturan birim (CFU/ml) olacak şekilde hazırlanan bakterinin 4-5 saatlik sıvı kültürü ilave edilmiştir. 37°C'de 18-20 saat inkübe edildikten sonra üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak tanımlanmıştır.

PAE'nin saptanması: PAE'ye ait değerler canlı mikroorganizmaların sayımına dayanan standart yöntemle saptanmıştır (5). Bu amaçla "0" zamanda, çalışmada araştırılan an-

tibiyotikleri içeren ve içermeyen 9.9 ml KİMHB bulunan tüplere, deney tüpündeki son konsantrasyonu 10⁶ CFU/ml olacak şekilde logaritmik üreme fazındaki bakteri süspansiyonundan 100'er µl ilave edilmiştir. Antibiyotik içeren tüplerdeki amikasin veya seftazidimin konsantrasyonu MİK'e eşit veya MİK'in 10 katı olacak şekilde, antibiyotiklerin kombinasyon halinde buldukları tüpler ise amikasinin MİK'e eşit ve seftazidimin MİK'e eşit, MİK'in 10 veya 20 katı konsantrasyondaki çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan deney tüpleri 37°C'lik çalkalayıcı su banyosunda 1 saat inkübe edildikten sonra, ortamdaki antibiyotik önceden 37°C'ye getirilmiş, antibiyotik içermeyen KİMHB'da 100 defa sulandırılmasıyla uzaklaştırılmıştır. Aynı işlem antibiyotik içermeyen kontrol tüpünde de uygulanmıştır. Tüplerin içerdiği bakteri sayısı (CFU/ml), 0 zamanda, dilüsyonun hemen öncesinde ve sonrasında, dilüsyondan 6 saat sonrasına kadar inkübe edilen test ve kontrol tüplerinden bir saat arayla alınan örneklerin gerektiği kadar seyreltilerek Petri kutusundaki besiyerinin yüzeyine yayılması sonucunda, ertesi gün oluşan kolonilerin sayılmasıyla tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, PAE = T - K formülüne uygulanarak PAE'nin süresi belirlenmiştir (5). Burada T değeri, antibiyotiğin ortamdaki uzaklaştırıldığı andaki canlı mikroorganizma sayısının 1 log₁₀ artması (10 kat) için geçen süreyi verirken; K değeri, antibiyotikle temas etmemiş ancak aynı işlemlerden geçmiş kontrol kültüründeki mikroorganizma sayısının 1 log₁₀ artması için geçen süreyi vermektedir.

BULGULAR

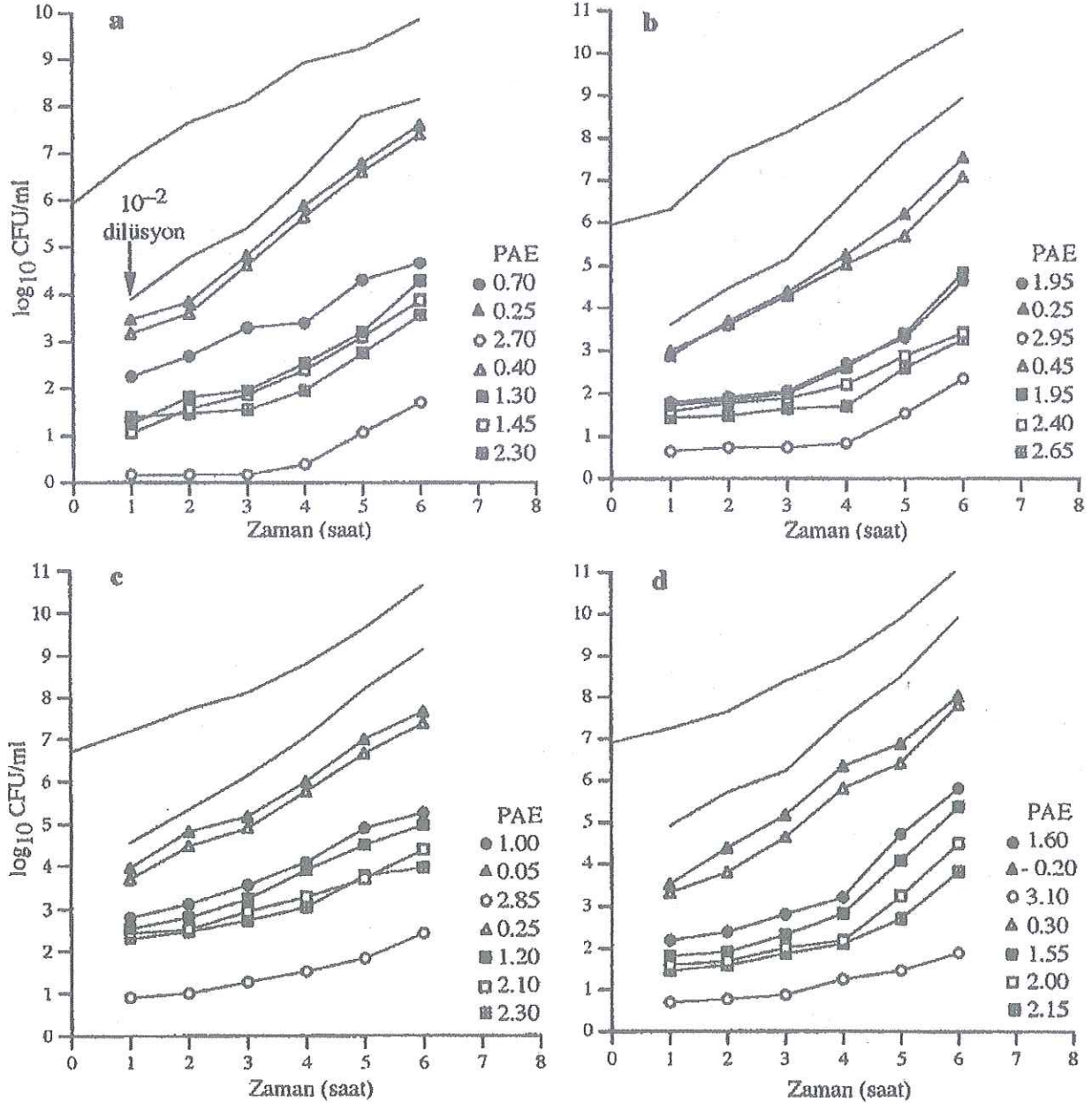
Çalışmada kullanılan beş *P.aeruginosa* suşuna karşı amikasin ve seftazidimin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri tabloda gösterilmiştir. Seftazidim ve amikasinle tek başına ve kombinasyon halinde bir saat süreyle temasta bırakılan dört klinik *P.aeruginosa* suşunun göstermiş olduğu üreme eğrileri ve PAE'ye ait değerler ise şekilde gösterilmiştir. Deneyde kullanılan tüm suşlara karşı amikasin MİK değerine eşit konsantrasyonlarda 0.70 ile 1.95 saat arasında değişen PAE oluşturmuş, uygulanan amikasin konsantrasyonunun 10 x MİK'e arttırılmasıyla bu sürenin 2.70 - 3.10 saate kadar uzadığı tespit edilmiştir. Seftazidim

MİK değerine eşit konsantrasyonlarda PAE oluşturmazken (-0.20 - 0.25), konsantrasyonun 10 x MİK'e arttırılmasıyla 0.25 - 0.45 saat arasında değişen kısa da olsa üremeyi baskılayan bir sürecin olduğu gözlenmiştir.

Şekilde görüldüğü gibi, MİK değerine eşit konsantrasyonlarda amikasin ve seftazidim kombine edildiğinde 1.20 - 1.95 saat arasında değişen değerler gösteren PAE'nin amikasinin tek başına oluşturduğu etkiye yakın olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, amikasinin oluşturmuş olduğu bu PAE'ye ait sürelerin seftazidimin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak uzadığı tesbit edilmiştir.

Tablo. Antibiyotiklerin çalışmada kullanılan *P.aeruginosa* suşlarına karşı saptanan MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$).

Antibiyotik	ATCC 27853	Suş 208	Suş 305	Suş 311	Suş 320
Seftazidim	4	2	2	2	4
Amikasin	4	4	8	8	4



Şekil. Amikasinin 1 x MİK (●), 10 x MİK (○), seftazidimin 1 x MİK (▲), 10 x MİK (△)'e eşit konsantrasyonlarda tek başına; 1 x MİK konsantrasyondaki amikasinin 1 x MİK (■), 10 x MİK (□) ve 20 x MİK (⊞) konsantrasyondaki seftazidim ile kombinasyon halinde 1 saat süreyle maruz bırakılan *P.aeruginosa* 208 (a), 305 (b), 311 (c) ve 320 (d) suşlarına ait üreme eğrileri ile PAE'ye ait değerler (saat). - : Kontrol.

TARTIŞMA

Diğer farmakodinamik parametrelerin yanı sıra doz aralıklarının belirlenmesinde potansiyel bir etkisi olan ve antibiyotik ile mikroorganizma arasında önemli bir etkileşim şekli olan PAE'nin araştırıldığı çalışmamızda, seftazidim ve amikasinin seçmemizin başlıca nedeni bu antibiyotiklerin *P.aeruginosa* suşlarına karşı olan etkilerinin kanıtlanmış olması ve bu antibiyotiklerin kombinasyon halinde genellikle sinerjistik etki göstermeleridir. Araştırmamız sonucunda amikasinin denenen *P.aeruginosa* suşları üzerinde belirgin bir PAE gösterdiği saptanmıştır ki, elde ettiğimiz bu bulgu diğer araştırmacıların bulgularıyla da uygunluk göstermektedir (9, 12). Amikasin ile saptadığımız bir diğer bulgu ise, konsantrasyonun MİK değerinin 10 katına kadar artırılması sonucunda PAE'nin 3.10 saate kadar uzamasıdır. Görülüyor ki, oluşan PAE uygulanan amikasin konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bilindiği gibi, aminoglikozitler mikroorganizmalara karşı öldürücü etkilerini konsantrasyona bağımlı olarak göstermektedirler (4,8). Dolayısıyla oluşturdukları bu öldürücü etki, konsantrasyonlarının artırıldığı ölçüde daha fazla ve daha uzun süreli olmaktadır. Ayrıca konsantrasyonları artırıldığı ölçüde artarak oluşturdukları bu uzun süreli PAE, antibiyotik serum düzeyi MİK'in altına düşse dahi bakterinin tekrar üremesini bir süre için engellediğinden yüksek dozların uzun aralıklarla uygulanması mümkün olabilmektedir.

β -laktam grubunda yer alan antibiyotikler ise Gram pozitif koklara karşı yaklaşık iki saat süreyle PAE oluştururken; karbapenemler hariç, Gram negatif çomaklara karşı yok denecek kadar az, hatta bizim ve diğer araştırmacıların çalışmalarında da görüldüğü gibi bazen negatif değerlerin elde edildiği etkiler göstermektedirler (3,5). Bu negatif değerler, Gram negatif çomakların antibiyotiğe maruz kaldığında 20 kadar bakteriden oluşan filaman şekillerine dönüşmesi ve antibiyotik ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra hızla bölünmeleri sonucunda, kontroldeki bakterilerden daha hızlı üreyormuş hissini vermelerinden kaynaklanmaktadır (14). Çalışmamızda, seftazidimin konsantrasyonu ancak MİK değerinin 10 katına yükseltildiğinde denenen *P.aeruginosa* suşları üzerinde

kısa da olsa (0.40 saat) bir PAE oluşturduğu gözlenmiştir.

Seftazidimin her ne kadar *P.aeruginosa* suşlarına karşı etkili bir antibiyotik olduğu kabul ediliyorsa da, tek başına uygulandığında tedavi sırasında direnç gelişimi gözlenebilmektedir (11). Bunu önlemek amacıyla ciddi infeksiyon riski altında olan, özellikle immün sistemi baskılanmış, kanser, yanık ve travmatik yaralanmalar ve ağır pnömonilerin gelişebildiği kistik fibroz gibi belirli hasta gruplarının tedavisinde bir β -laktam grubu antibiyotik bir aminoglikozitle kombinasyonu önerilmektedir (1, 2). Yapılan çalışmalarda seftazidim-amikasin kombinasyonunun *P.aeruginosa* suşlarına karşı, klinik açıdan da anlamı olan, yüksek oranda sinerjistik etkileşim gösterdikleri saptanmıştır (1,6,7). Bu olumlu etkileşimin amikasinin oluşturduğu PAE'ye ait sürenin uzamasına yol açabileceği düşüncesinden yola çıkarak, çalışmamızda amikasinin konsantrasyonunu sabit tutarak (1 x MİK) kombinasyonda bulunan seftazidimin konsantrasyonunu kademeleli olarak arttırmamız sonucunda (1 x-, 10 x-, 20 x MİK) oluşan PAE'deki değişimi inceledik. Elde ettiğimiz bulgular amikasinin oluşturmuş olduğu PAE'ye ait sürenin seftazidimin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak uzadığını göstermiştir. Öyle ki, kombinasyonda bulunan seftazidimin konsantrasyonu 10 x MİK'e arttırıldığında 1.45 - 2.40 saat, 20 x MİK'e arttırıldığında ise 2.30 - 2.65 saat arasında değişen PAE süresi gözlenmiştir.

PAE hakkındaki bilgilerin artması antibiyotiklerin optimal şekilde kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bu tür bulguların antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanıldıkları tedavilerde doz aralıklarının belirlenmesinde önemli katkıları olabildiği gibi, geniş doz aralıklarıyla uygulanmaları sonucunda antibiyotiklerin beklenen yan etkilerinde azalmanın görülmesine de neden olabilmektedir. Sonuç olarak, bulgularımız hızlı bir şekilde bakterisidal etkilerini gösteren seftazidim-amikasin kombinasyonunun, potansiyel olarak direnç gelişimini önleyebilecekleri gibi *P.aeruginosa*'ya karşı oluşturdukları PAE'nin varlığıyla bu bakterinin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde önemli bir yeri olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Allan JD, Moellering RC Jr: Management of infections caused by gram-negative bacilli: The role of antimicrobial combinations, *Rev Infect Dis* 7 (Suppl 4):2 (1985).
- 2- Bodey GP, Bolivar R, Fainstein V, Jadeja L: Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Rev Infect Dis* 5:279 (1983).
- 3- Bustamante CI, Drusano GL, Tatem BA, Standiford HC: Postantibiotic effect of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 26:678 (1984).
- 4- Craig WA: Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: the rationale for antibacterial dosing in mice and men, *Clin Infect Dis* 26:1 (1998).
- 5- Craig WA, Gudmundsson S: The postantibiotic effect, "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4. baskı" kitabında s. 296, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD (1996).
- 6- Eliopoulos GM, Moellering RC Jr: Antimicrobial combination, "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4. baskı" kitabında s. 330, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD (1996).
- 7- Gerçeker AA, Gürlü B: In vitro activities of various antibiotics, alone and in combination with amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 36:707 (1995).

- 8- Gunderson BW, Ross GH, Ibrahim KH, Rotschafer JC: What do we really know about antibiotic pharmacodynamics? *Pharmacotherapy* 21 (Suppl 11):302 (2001).
- 9- Isaksson B, Hanberger H, Maller R, Nilsson LE, Nilsson M: Synergic postantibiotic effect of amikacin in combination with β -lactam antibiotics on Gram-negative bacteria, *J Antimicrob Chemother* 28:25 (1991).
- 10- Jarvis WR, Martone WJ: Predominant pathogens in hospital infections, *J Antimicrob Chemother* 29 (Suppl A):19 (1992).
- 11- Jones RN, Kirby JT, Beach ML, Biedenbach DJ, Pfaller MA: Geographic variation in activity of broad-spectrum beta-lactams against *Pseudomonas aeruginosa*: summary of the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000), *Diagn Microbiol Infect Dis* 43:239 (2002).
- 12- Karlowsky JA, Zhanel GG, Davidson RJ, Hoban DJ: Postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa* following single and multiple aminoglycoside exposure in vitro, *J Antimicrob Chemother* 33:937 (1994).
- 13- Kunin CM: Dosage schedules of antimicrobial agents: A historical review, *Rev Infect Dis* 3:4 (1981).
- 14- Lorian V, Ernst J, Amaral L: The post-antibiotic effect defined by bacterial morphology, *J Antimicrob Chemother* 23:485 (1989).
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, 5. baskı, Approved standard, NCCLS Document M7-A5, Villanova (2000).