

# Çiğ Sütten İzole Edilen Stafilokokların Sefalosporinlere ve Karbapenemlere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması\*

S. Aslıhan Cengiz\*\*, Güven Uraz\*\*\*

## Özet:

**Amaç-Metod:** Süt fabrikasından çeşitli zaman dilimlerinde alınan süt örneklerinden 16 koagülaz pozitif stafilokok (KPS) ve 22 koagülaz negatif stafilokok (KNS) üretilmiştir. Bu stafilokokların sefalosporinlere (Sefradin:CE, Sefuroksim:CXM, Seftizoksime:ZOX) ve karbapenem grubundan imipeneme (IPM) duyarlılık-dirençlilik oranları araştırılmıştır.

**Bulgular:** KPS ve KNS olmak üzere 38 suşun duyarlılık oranları CXM için %18.42, CE için %26.31, ZOX için %7.9 ve IPM için %13.16 bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu bulgu KPS ve KNS infeksiyonlarında antibiyogram sonuçlarına göre tedavi rejimlerinin seçilmesi gereğini yansıtmaktadır.

**Anahtar kelime:** Çiğ süt, stafilokok, sefalosporin, karbapenem, duyarlılık

İmipenem, karbapenem sınıfından bir betalaktam antibiyotiktir. *Streptomyces catteleya* tarafından oluşturulan thienamycin'in sentetik bir derivativesidir. Bisiklik çekirdeğin 1. pozisyonundaki sülfürün yerinde karbon atomu olması nedeniyle "karbapenem" adını alır. Ayrıca diğer betalaktam antibiyotiklerden farklı olarak asilamino yan zinciri yerine, betalaktamaz stabilitesini sağlayan hidroksietil yan zinciri bulunur (1,2). İmipenem, diğer betalaktamlar gibi, bakteri sitoplazmik membranında bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak, bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan sentezini inhibe eder (2,3,4). Sefalosporinler ise *Cephalosporium acromonium*'un fermentasyon ürünlerinden elde edilen antibiyotiklerdir. Leblebicioğlu ve ark (5) 140 stafilokok'tan metisiline duyarlı (MSSA) tüm suşların imipeneme duyarlı, metisiline dirençli (MRSA) olanların ise %43'ünün imipeneme dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar sefalotin, sefadroksil ve sefazolin'den oluşan 1. kuşak sefalosporinlere ise %58.6 duyarlılık saptamışlardır. Özcan (6) ise *S.aureus*'ların sefaleksin duyarlılığını %94 olarak açıklamışlardır.

Keskin ve ark (7) 45 stafilokok suşunun sefalotin duyarlılığını %64, sefuroksim duyarlılığını %68 olarak açıklamışlardır. Arslan (8) ise 154 *S.aureus*'un sefaklor'a dirençli veya az duyarlı olduğuna işaret etmişlerdir. Çetin ve ark (9), *S.aureus* için sefalotin duyarlılığını %82, sefotaksim için %68 olarak açıklamaktadır. Başka bir çalışmada *S.aureus* ve *S.epidermidis*'e sefuroksim %95-93, sefotaksim %90-84 oranlarında etkili bulunmuştur (10).

Göğüs ve beyin cerrahisi, hematoloji, ortopedi, yenidoğan, diyaliz ve yoğun bakım ünitelerinde birden çok antibiyotiğe dirençli koagülaz negatif stafilokok (KNS)'lar, dominant olarak saptanmaktadır (11,12,13,14). Bu ünitelerde hastaların kalış süreleri ile birden çok antibiyotiğe dirençli KNS'ların deri kolonizasyonu arasında kolonizasyon bulunduğuna işaret edilmektedir (12,15). Jarlov (16), kan kültürlerinden ürettiği 499 KNS'un 285'ini *S.epidermidis* olarak belirlemiştir. KNS'ların %41'ini metisiline, %77'sini penisiline, %33'ünü gentamisine, %30'unu fusidik aside ve %28'ini eritromisine dirençli bulmuştur. Bu direnç oranlarını amikasin için %28, tetrasiklin için %17, kloramfenikol için %10 şeklinde açıklamıştır. Refsahl ve Andersen (17) ise çeşitli kaynaklardan soyutlanan 131 KNS'un direnç oranlarını penisilin %81, metisilin %31, gentamisin %31, eritromisin %14, fusidik asit %33, tetrasiklin %46, kloramfenikol %44 ve trimetoprim %42 şeklinde vermişlerdir.

Bu çalışmada Atatürk Orman Çiftliği (AOÇ) süt fabrikasından değişik zaman dilimlerinde alınan çiğ süt örneklerinden üretilen stafilokokların sefalosporin ve imipenem duyarlılığı araştırılmıştır.

\* XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (9-13 Ekim 2000, Antalya) poster olarak sunulmuştur

\*\*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans (master) Öğrencisi, ANKARA

\*\*\*Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

**Yazışma Adresi:** S.Aslıhan CENGİZ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Morfoloji Binası 3. kat Sıhhiye 06100 ANKARA

Faks: 0 312 310 63 70

Tablo 1. Çiğ sütlerden üretilen stafilocokların bazı sefalosporinlerle imipeneme duyarlılık-dirençlilikleri

Direnc Oranları	Antibiyotik			
	CXM	CE	ZOX	IPM
Dirençli (R)	%81.57	%73.68	%92.10	%86.84
Duyarlı (S)	%18.42	%26.31	%7.9	%13.16

## Gereç ve Yöntem

AOÇ süt fabrikasından sağlanan çiğ süt örneklerinde bakteriyolojik çalışma ile stafilocok izolasyonu yapılmıştır.

Besiyerinde üreyen bakterilerin kültür, hareket, beta hemoliz, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri, katalaz, koagülaz, gram boyanma ve novobiyosin duyarlılığı gibi verilerine bakılarak koagülaz pozitif stafilocok (KPS) ve ayırımına gidilmiştir (18,19,20,21).

Stafilocokların disk diffüzyon yöntemi ile, Müller-Hinton besiyerinde sefalosporin ve imipenem duyarlılığı irdelenmiştir (5,22,23).

Sefradin (CE) için 30 µg/disk ile, 37°C'de 24 saat inkübasyonu takiben üreme önlenim alanı çapına göre, ≤14 mm dirençli, 15-17 mm orta duyarlı, ≥18 mm duyarlı, Seftizoksime (ZOX) için 30 µg etkin madde içeren diskler kullanılarak; ≤14 mm dirençli, 15-19 mm orta duyarlı, ≥20 mm duyarlı, Sefuroksime (CXM) için de 30 µg/disk ile, 37°C'de 24 saat inkübasyonu takiben üreme önlenim alanı çapına göre, ≤14 mm dirençli, 15-17 mm orta duyarlı, ≥18 mm duyarlı değerlendirimi yapılmıştır.

İmipenem (IPM) için 10 µg etkin madde içeren diskler (Oxoid) kullanılmıştır, ≤14 mm dirençli, 14-15 mm orta duyarlı, ≥16 mm duyarlı değerlendirimi yapılmıştır (5,24).

## Bulgular

Bu çalışmada süt fabrikasından çeşitli zamanlarda alınan süt örneklerinden 16 koagülaz pozitif ve 22 koagülaz negatif stafilocok üretilmiştir. Bu bakterilerin sefalosporin grubu olan çeşitli antibiyotiklere (CXM, CE, ZOX) ve karbapenem grubundan olan imipeneme (IPM) karşı duyarlılık ve dirençlilik yüzdelerine bakılarak, bunlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

## Tartışma

Streptococcus pneumoniae suşlarında penisilin direnci hızla gelişmekte ve bazı ülkelerde %40'lara ulaşmaktadır (25,26). Bu bakteride sefotaksim ve seftriakson gibi 3. kuşak sefalosporinlere de direnç ortaya çıkmaktadır (27). Bu nedenle imipenem Streptococcus pneumoniae ve Listeria monocytogenes

menenjitlerinde alternatif bir uygulama olmaktadır. Nötropenili hastaların ampirik tedavisi seçeneklerinde de imipenem öne çıkmaktadır. Ancak bu antibakteriyel de, invitro duyarlılık deneylerinin sonuçlarına göre tedavi rejimine girmelidir. Gram pozitif aerobik kokların çoğunluğunun imipeneme duyarlı olduğu bilinmektedir. Betalaktamazlara son derece dayanıklıdır. Ancak inokulum miktarı invitro çalışmaları etkileyen en önemli faktördür. Mikroorganizma miktarının 10<sup>3</sup>-10<sup>6</sup> arasında olması önerilmektedir. Besiyerinin bileşimi, saklanma ısısı ve ortamın pH'sı da önemli etkenlerdir (24). Bizim çalışmamızda çiğ sütlerden üretilen 16 KPS ve 22 KNS olmak üzere toplam 38 stafilocok bakterisinin %86.84'ü IPM'e dirençli bulunurken, %13.16'sı duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Bu da direnç gelişiminin önemini ve hızını yansıtmaktadır.

Kurt ve ark (28), 935 KPS ve 582 KNS'un sefalosporin duyarlılık yüzde oranlarını; sefalotin %88-96, sefaleksim %79-81, sefradin %77-88, sefuroksim %84-94, sefaklor %80-81, sefotaksim %87-97, sefoparazon %86-93, seftriakson %81-86, seftizoksime %80-94, seftazidim %79-96 şeklinde açıklamışlardır. Kurt ve ark (28), KPS'lara ve KNS'lara; 1. kuşaktan sefalotinin %88-96, 2. kuşaktan sefuroksimin %84-94, 3. kuşaktan ise sefotaksim %87-97 oranları ile en etkin sefalosporin olduğunu açıklamışlardır.

Çeşitli araştırmacılar stafilocokların sefuroksim duyarlılığını %89-96.7 oranlarında vermişlerdir (9,29,30). Türet ve ark (31), stafilocoklarda seftriakson duyarlılığını %85 olarak açıklamışlardır. Günaydın ve ark (32), 74 KNS'un sefalosporinlere direnç oranlarını sefazolin ve sefalotin için %37.8, seftriaksone için ise %39.2 olarak vermişlerdir. Klinik örneklerden elde edilen KNS'lar aminoglikozidlere sıklıkla dirençli bulunmuştur (16). Düşük yüzdelerde netilmisin ve amikasin dirençleri de bildirilmiştir (11). Benzer oranlarda amikasin ve gentamisin dirençleri veren çalışmalar da yapılmıştır (33,34). Rifampisin yüksek oranda etkin bulunmuş ve klinik izolatlarda dirençli KNS, %0-9 oranlarında saptanmıştır (11,17,33). Fakat rifampisin profilaksi amaçlı yaygın kullanımından dolayı, dirençli deri izolatları rapor edilmeye

başlanmıştır (35). Siprofloksasin gibi kinolonlar, metisiline duyarlı ve dirençli stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde yaygın kullanılan antibiyotiklerdir. Bunların mükemmel invitro etkinlikleri raporlanmıştır. Ancak siprofloksasin dirençli mutantların ortaya çıktığı bildirilmektedir (36,37). Diğer kinolonlar için çapraz direnç olasılığına da işaret edilmektedir (36,38). Bu nedenlerle günümüzde stafilokokal infeksiyonların kinolonlarla tedavisinden kaçınılması olasılığı gündeme gelmiştir (37,38,39).

Dubin ve ark (40)'nın çalışmasında florokinolonlara dirençli KNS içinde *S.haemolyticus* ve *S.hominis* çoğunlukta bulunmuştur. Pinna ve ark (41), kronik blefaritli, pürülan konjonktivitli ve süpüratif keratitli hastalardan 42 *S.epidermidis*, 4 *S.warneri*, 3 *S.capitis*, 2 *S.hominis* ve 1'er tane *S.xylosum*, *S.simulans*, *S.equorum*, *S.lugdunensis* identifiye etmişlerdir. KNS'lardan 37'si (%67) penisiline, 12'si (%22) gentamisine, 28'i (%57) tetrasikline, 18'i (%33) eritromisine, 4'ü (%7) siprofloksasine ve 16'sı (%29) üç veya daha fazla antibiyotiğe dirençli bulunmuştur.

Çok sayıda antibiyotiğe bu denli yüksek direnç gelişiminin söz konusu olmasından hareketle, stafilokokların imipenem ve sefalosporinlere duyarlılığını araştırdık.

Çalışmamızda çiğ sütlerden izole edilen 38 stafilokok, 2. kuşak sefalosporinlerden sefuroksime %81.57 dirençlilik göstermiştir. Sefradin için %73.68 ve seftizoksime için %92.10 oranları elde edilmiştir. Bu bulgu stafilokokların, sefalosporinlere ciddi bir direnç geliştirdiğini yansıtmaktadır. Bu bakımdan, stafilokok infeksiyonlarında, antibiyogram sonuçlarına göre tedavi programları yapılmalıdır.

### Cephalosporins and Carbapenems Sensitivity of Staphylococci Isolated from Raw Milk Samples

#### Abstract:

**Aim and Method:** 16 of coagulase positive staphylococci (CPS) and 22 of coagulase negative staphylococci (CNS) were isolated from milk samples taken at several time periods in a milk factory. Resistance and susceptibility rates of them against both cephalosporins (cephradine:CE, cefuroxime:CEM and ceftizoxime:ZOX) and imipenem (a carbapenem) were coincidentally investigated.

**Results:** Susceptibility rates of total 38 isolates for CEM, CE, ZOX and IPM were 18.42%, 26.31%, 7.9% and 13.16%, respectively.

**Conclusion:** This finding reflects the necessity for choice of therapy regimens according to the susceptibility tests in these CNS and CPS infections.

**Key words:** Raw milk, staphylococcus, cephalosporine, carbapenem, susceptibility

#### Kaynaklar

1. Birnbaum J, Kaban FM, Kropp H, Mac Donald JS: Carbapenems, a new class of betalactam antibiotics. Am J Med 78:3-21, 1985.
2. Lipman B, Neu HC: Imipenem – a new carbapenem antibiotic. Med Clin of North Am 72:567-579, 1988.
3. Almeida AF: Antibiotics in clinical practice. Recom – Publishers, Basel, 1991.
4. Jones RW: Review of the invitro spectrum of activity of imipenem. Am J Med 78:22-35, 1985.
5. Leblebicioğlu H, Günaydın M, Furtun F, Göz M, Pirinççiler M: İmipenem ve 1. kuşak sefalosporinlerin stafilokok suşlarına invitro etkinliklerinin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 24:5-7, 1993.
6. Özcan S: Stafilokokların penisilinaz aktiviteleri ve değişik antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. Uzmanlık tezi, Ankara, 1986.
7. Keskin K, Çavuşlu S, Sakarya S, Yenen OŞ: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen bakterilerde penisilinaz enzimi ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılığın araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 23: 76-79, 1993.
8. Arslan H: Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Staphylococcus aureus*'larda metisilin direncinin saptanması ve epidemiyolojik tiplendirme, Uzmanlık tezi, Ankara, 1995.
9. Çetin ET, Töreci K, Batur S, Erdeniz H: Muayene maddelerinden izole edilen bakterilerin bazı aminoglikozid, sefalosporin, penisilin grubu antibiyotiklere, betalaktamaz inhibitörü ile birlikte kullanılan penisilinlere ve ofloksasine duyarlılıkları. Ankem Derg 1:423-428, 1987.
10. Noone P, Sage R, Guimales MA: The invitro activity of betalactam antibiotics against hospital pathogens. Scan J Infect Dis. 20:461, 1988.
11. Jarlov JO, Hoiby N: Coagulase negative staphylococci in a major Danish University Hospital: Diversity in antibiotic susceptibility between wards. Apmis 106:411-416, 1998.
12. Thore M, Kühl I, Löfdahl S, Burman LG: Drug-resistant coagulase-negative skin staphylococci. Evaluation of four marker systems and epidemiology in an orthopaedic ward. Epidemiol Infect 105:95-100, 1990.
13. Hedin G, Hambræus A: Screening tests for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus epidermidis*. J Antimicrob Chemother 28:681-694, 1991.
14. Mouton RP, Hermas J, Simons-Smith AM, Hoogkamp-Korstanje JA, Degener JE, Van Klिंगeren B: Correlations between consumption of antibiotic and methicillin resistance in coagulase negative staphylococci., J Antimicrob Chemother 26:573-583, 1990.

15. Levy MF, Schmitt DD, Edmiston CE, Bandyk DF, Krepel CJ, Seabrook GR, Towne JB: Sequential analysis of staphylococcal colonization of body surfaces of patients undergoing vascular surgery. *J Clin Microbiol* 28:664-669, 1990.
16. Jarlov O: Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Apmis* 107 (suppl 91):22-25, 1999.
17. Refsahl K, Andersen BM: Clinically significant coagulase-negative staphylococci: Identification and resistance patterns. *J Hosp Infect* 22:19-31, 1992.
18. Kloos WE, Jorgensen JH: Staphylococci In: Lennette EH, Balows A, Hausler JR, Shadomy HJ: *Manuel of Clinical Microbiology* 4th ed. Washington DC, American Society for Microbiology. p: 143, 1985.
19. Cengiz AT: Staphylococcus. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ed: Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Güneş Kitabevi, Ankara 1999, s:339-338.
20. Archer GL: *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase negative staphylococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practise of Infectious Diseases* 4th ed. New York-Churchill-Livigstone 1995, pp: 1777- 1784.
21. Bengisun JS, Palabıyıköglü İ: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 200 stafilokok suşunun tiplendirilmeleri ve fusidik asit duyarlılıklarının invitro değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 29:44-46, 1999.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Performance standarts for antimicrobial disc susceptibility test 4th ed. Approved standart NCCLS document M2-A4, Villanova, Pa: NCCLS, 1990.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standarts: Performance standarts for antimicrobial disc susceptibility test 4th ed. Approved standart NCCLS document M100-S7, Villanova, Pa: NCCLS, 1997.
24. Özkuyumcu C: İmipenem:Antibakteriyel aktivitesi. *Ankem Derg* 6:317-319,1992.
25. Friedland IR, Klugman KP: Failure of chloramphenicol therapy in penicillin-resistant pneumococcal meningitis. *Lancet* 339:405-408, 1992.
26. Klugman KP: Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 3:171-196, 1990.
27. Klugman KP: Pneumococcal resistance to the 3rd generation cephalosporins: Clinical, laboratory and molecular aspects. *Int Antimicrob Agents* 4:63-67, 1994.
28. Kurt H, Tural D, Tekeli E, Onul M: Stafilokokların antibiyotiklere invitro duyarlılığı. *AÜTFM* 45:541-548, 1992.
29. Tuncer Eİ, Baykan M, Kurt H, Baysal B: Klinik örneklerden izole edilen *S.aureus* suşlarının sefuroksim ve diğer bazı antimikrobiyalere duyarlılığı. *Mikrobiyol Bült* 28:127-130, 1994.
30. Baysal B, Günaydın M, Tuncer İ, Saniç A: Farklı klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antimikrobiklere duyarlılıkları. *S.Ü. Tıp Fak Derg* 6:341-346, 1990.
31. Türet S, Rota S, Kuştımur S, Karabiber N: Kardiyovasküler cerrahide sıklıkla kullanılan bazı antibiyotiklerin stafilokoklara etkinlikleri ve MIC değerleri. *İnfeksiyon Derg* 4:375-379, 1990.
32. Günaydın M, Leblebicioğlu H, Saniç A, Pirinççiler M: Koagülaz negatif stafilokoklarda slime yapımı ve antibiyotik direnci ile ilişkisi. *Mikrobiyol Bült* 29:26-31, 1995.
33. Jarlov JO, Hojbjerg T, Busch-Sorensen C, Scheibel J, Moller JK, Kolmos HJJ, Wandall DA: Coagulase-negative staphylococci in Danish blood cultures: Species distribution and antibiotic susceptibility. *J Hosp Infect* 32:217-227, 1996.
34. Gill VJ, Selepak ST, Williams EC: Species identification and antibiotic susceptibilities of coagulase-negative staphylococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 18:1314-1319, 1983.
35. Archer GL, Climo MW: Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 38:2231-2237, 1994.
36. Hoiby N, Jarlov JO, Kemp M, Tvede M, Bangsborg JM, Kjerulf A, Pers C, Hansen H: Excretion of ciprofloxacin in sweat and multiresistant *Staphylococcus epidermidis*. *Lancet* 349:167-169, 1997.
37. Kotilainen P, Nikoskelainen J, Haovinen P: Emergence of ciprofloxacin-resistant coagulase-promised patients receiving ciprofloxacin. *J Infect Dis* 161:41-44, 1990.
38. Forstall GJ, Knapp CC, Washington JA: Activity of new quinolones against ciprofloxacin-resistant staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1679-1681, 1991.
39. George RC, Ball LC, Norburg PB: Susceptibility to ciprofloxacin of nosocomial gram-negative bacteria isolated in the UK. *J Antimicrob Chemother* 26 suppl F: 145-156, 1990.
40. Dubin DT, Fitzgibbon JE, Nahvi MD, John JF: Topoisomerase sequences of coagulase-negative staphylococcal isolates resistant to ciprofloxacin or trovafloxacin. *Antimicrob Agents Chemother (AAC)* 43 (7):1631-1637, 1999.
41. Pinna A, Zanetti S, Sotgiu M, Sechi LA, Fadda G, Carta F: Identification and antibiotic susceptibility of coagulase-negativ staphylococci isolated in corneal / external infections. *Br J Ophthalmol* 83(7):771-773, 1999.