

Kobaylarda Klebsiella pneumoniae ile Oluşturulan Pnömoni Modelinde Sefodizim ve Sefpirom Etkinliklerinin Karşılaştırılması

Nevriye GÖNÜLLÜ(*), Ömer KÜÇÜKBASMACI(*), Özden BÜYÜKBABA BORAL(**), Gülseren AKTAŞ(**), Hayriye KIRKOYUN UYSAL(**), Nilgün DİNÇER SAHİP(**), Mine ANĞ KÜÇÜKER(**), Özdem ANĞ(**)

ÖZET

Kobaylarda oluşturulan Klebsiella pneumoniae pnömoni modelinde farklı iki sefalosporin grubundan olan sefodizim ve sefpiromun etkinlikleri karşılaştırılmıştır. 20'şer kobaydan oluşan 4 deney grubuna intratrakeal yoldan 6×10^8 bakteri verilmiştir. Sefodizim ve sefpirom gruplarına 30 mg/kg günde bir kez, negatif kontrol grubuna ise steril serum fizyolojik verilmiştir. 0, 12, 24. ve 48. saatinde kobaylar öldürülmüş, akciğerler tartıldıktan sonra homojenize edilmiş ve kantitatif bakteri sayısı cfu/g olarak saptanmıştır.

Deney sonunda her iki antibiyotik de kontrol grubuna göre akciğerde mikroorganizma sayısını düşürmekle beraber aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sefodizim-kontrol $p > 0.05$, sefpirom-kontrol $p > 0.05$).

Anahtar kelimeler: Klebsiella pneumoniae, sefodizim, sefpirom, deneysel enfeksiyon

GİRİŞ

Sefalosporinlerin keşfi yaklaşık 55 yıl öncesine dayanır. Sefalosporinlerin ana çekirdeği olan ve sefam çekirdeği olarak da isimlendirilen 7-aminosefalosporanik asite çeşitli yan zincirlerin sistematik olarak bağlanması ile farklı sefalosporinler elde edilmiştir. Sefalosporin C adıyla bilinen ilk sefalosporin 1948 yılında Dr. Giuseppe Brotzu tarafından Sardunya adasında Cephalosporium acremonium isimli mantardan fermentasyon yoluyla izole edilmiştir. Bu maddenin saflaştırılması ve kimyasal formülünün çözülmesi 1955 yılında Newton ve Abraham tarafın-

(*)İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Çapa, İstanbul

(**)İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul

SUMMARY

Comparison of Activities of Cefodizime and Cefpirome Against Klebsiella pneumoniae Infected Guinea Pigs

The activity of two cephalosporins were tested in Klebsiella pneumoniae infected guinea pigs. Guinea pigs were intratracheally inoculated with 6×10^8 bacteria and treated once a day for cefodizime (30 mg/kg) and cefpirome (30 mg/kg). A positive control group was infected but not received antibiotic. The negative control group was challenged with sterile saline solution. At 0, 12, 24 and 48 h after bacterial challenge, guinea pigs were euthanized and the lungs were excised and weighed. The lungs were homogenized to determine the number of cfu per gram of tissue quantitatively.

In the present experimental animal model both cefodizime and cefpirome reduced the number of cfu per gram comparing with the control group but the difference was not found significant statistically (cefodizime-control $p > 0.05$, cefpirome-control $p > 0.05$).

Key words: Klebsiella pneumoniae, cefodizime, cefpirome, experimental infection

dan gerçekleştirilmiştir (1,2).

Birinci kuşak sefalosporinler primer olarak Gram pozitif koklara etkindir. İkinci kuşak sefalosporinlerin Gram pozitif koklara etkinliği değişken, Gram negatif bakterilere karşı artmış etkileri vardır. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin ise Gram negatif bakterilere karşı etkinlikleri belirgin, Gram pozitif koklara karşı sınırlı etkileri vardır. Günümüzde dördüncü kuşak olarak adlandırılan en yeni grup ise Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere etkinliklerinin yanı sıra Pseudomonas aeruginosa ve indüklenabilir kromozomal beta-laktamaz salgılayan Enterobacteriaceae ailesinin çoğuna etkilidir (2).

Bu çalışmada K.pneumoniae ile oluşturulan kobay pnömoni modelinde bir üçüncü kuşak sefalosporin

olan sefodizimin ve bir dördüncü kuşak sefalosporin olan sefpiromun etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İlaçlar: Sefodizim ve sefpirom toz halinde Hoechst Marion Roussel firmasından temin edilmiştir.

Bakteri: Balgamdan izole edilen, biyokimyasal özellikleri ile tanımlanan ve tanısı API 20 E sistemi (API, Biomerieux, Fransa) ile doğrulanan bir K.pneumoniae suşu kullanılmıştır. Suşun duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile NCCLS standartlarına göre yapılmıştır (3). MİK tayini için standard agar dilüsyon yöntemi uygulanmıştır (4).

Deney hayvanları: 220-250 g arası dişi Dunkin Hartley türü kobaylar kullanılmıştır. Kobaylar İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Kobay pnömoni modeli: Üç grup halinde 20'şer adet kobaya intratrakeal olarak 6×10^8 K.pneumoniae verilmiştir. 5'er kobaydan oluşan negatif kontrol grubuna steril serum fizyolojik verilmiştir. Hayvanlar intraperitoneal thiopental ile uyutulmuştur (55 mg/kg). Trakea ekspozit edildikten sonra, steril bir iğne ile 100 µl bakteri süspansiyonu intratrakeal olarak verilmiştir. Bakterinin direkt olarak akciğerin içine verilmesi için, inokulum kadar eşit miktarda hava da enjekte edilmiştir. Cilt ensizyonu cerrahi ipek ile kapatılmıştır. İnokulumdaki bakteri sayısı seri dilüsyonlarla tekrar kontrol edilmiş ve doğrulanmıştır.

Tablo 1. Her üç grubun 0., 12., 24. ve 48. saatlerdeki ortalama bakteri sayısı (cfu/g)

Saat	0		12		24		48	
	cfu/g	± SE	cfu/g	± SE	cfu/g	± SE	cfu/g	± SE
Sefpirom	2.3×10^6	7.2×10^5	1.1×10^4	3.3×10^3	5.2×10^3	2.4×10^3	3.2×10^3	1.1×10^3
Sefodizim	1.9×10^6	1.1×10^6	2.6×10^4	1.0×10^4	1.2×10^4	5.9×10^3	3.8×10^3	1.5×10^3
Pozitif kontrol	2.3×10^6	7.7×10^5	7.3×10^4	3.6×10^4	1.7×10^4	3.5×10^3	6.9×10^3	2.3×10^3

SE: Standart Hata

Bakteri inokulumundan hemen ve 24 saat sonra grupların birisine sefpirom (30 mg/kg) diğerine sefodizim (30 mg/kg) uygulanmıştır. Pozitif kontrol grubuna antibiyotik verilmemiştir. 0. 12. 24. ve 48. saatlerde kobaylar 5'li gruplar halinde thiopental ile (160 mg/kg) öldürülüp, göğüs kafesleri açılmış ve akciğerler steril şartlarda çıkarılmıştır. Akciğerler tartıl-

dıktan sonra 3 cc tuzlu su içeren cam homojenizatörlerde homojenize edilmiş ve onluk seri dilüsyonlar yapılmıştır. Bu dilüsyonlardan triptik soy agar besiyerine ekim yapılarak üreyen bakteri sayısı cfu/g olarak saptanmıştır.

İstatistik: İstatistiksel incelemede Kruskal-Wallis ANOVA testi kullanılmıştır.

BULGULAR

K.pneumoniae suşu amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam, sefuroksim, sefoksitin, seftriakson, sefoperazon-sulbaktam, sefepim, meropenem, gentamisin, tobramisin, netilmisin, amikasin, siprofloksasin, ofloksasin, trimetoprim-sulfometoksazole duyarlı, ampisiline dirençli bulunmuştur. Bu suşun sefodizim MİK değeri 0.250 µg/ml, sefpirom MİK değeri ise 0.063 µg/ml bulunmuştur.

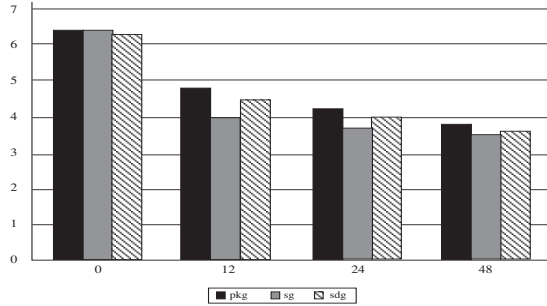
Deney sonunda her iki antibiyotik de kontrol grubuna göre akciğerde mikroorganizma sayısını düşürmekle beraber aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sefodizim-kontrol $p > 0.05$, sefpirom-kontrol $p > 0.05$). Deney sonuçları Tablo 1'de cfu/g olarak, Tablo 2 ve Şekil 1'de ise log cfu/g olarak gösterilmiştir. Sefpirom ve sefodizim gruplarındaki kobayların akciğerlerindeki bakteri sayısı istatistiksel olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

1953'de sefalosporin C olarak bilinen ilk sefalospo-

Tablo 2. Her üç grubun 0., 12., 24. ve 48. saatlerdeki ortalama bakteri sayısı (log cfu/g)

Saat	0 log cfu/g	12 log cfu/g	24 log cfu/g	48 log cfu/g
Sefpirom	6.37	4.06	3.71	3.51
Sefodizim	6.29	4.43	4.07	3.58
Pozitif kontrol	6.36	4.86	4.23	3.83



Şekil 1. Her üç grubun 0, 12, 24 ve 48'nci saatlerdeki ortalama bakteri sayısı (log cfu/g) pkg: pozitif kontrol grubu, sg: sefpirom grubu, sdg: sefodizim grubu

rin molekülü bulunduktan sonra, 100'ün üzerinde semisentetik sefalosporin geliştirilmiştir. Sefalosporinler, günümüzde kullanılan antibiyotikler arasında sayıca en geniş gruptur. 1964 yılında sefalotin ve sefaloridin klinikte ilk kullanılan sefalosporinler olmuştur. Sefotaksim, seftriakson ve seftazidim gibi geniş spektrumlu üçüncü kuşak sefalosporinler tüm dünyada özellikle Gram negatif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yaygın kullanım *Escherichia coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların ortaya çıkması ve *P.aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* gibi türlerde plazmid kaynaklı TEM beta-laktamazları üreten mutantların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Sefpirom, sefepim gibi dördüncü kuşak sefalosporinlerin Gram negatif bakterilerin stabil deprese mutantların üzerinde daha iyi etkileri vardır (5).

Sefotaksim türevi olan sefodizim parenteral yolla uygulanan üçüncü kuşak bir sefalosporindir. Sefotaksimden farklı olarak 3' pozisyonunda bulunan merkaptotiazolil yan zinciri sefodizime yüksek derecede metabolik stabilite ve uzun yarılanma ömrü gibi özellikleri kazandırmaktadır. Sefodizim *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri, stafilokok türleri, streptokok türleri (enterokoklar dışında) ve *Haemophilus influenzae* için bakterisid etkiye sahiptir. Bu sefalosporinin plazmidik beta-laktamazlara (TEM-1, TEM-2 ve SHV-1) ve kromozomal P99 enzimine karşı yüksek derecede stabilitesi vardır. Sefodizimin, nötrofillerin opsonize ve nonopsonize bakterilere karşı (*K.pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*) fagositozu arttırdığı gösterilmiştir (6,7,8,9,10).

Sefpirom parenteral yolla verilen dördüncü kuşak bir

sefalosporindir. Etki spektrumunda *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, stafilokok ve enterokok türleri gibi mikroorganizmalar vardır. Üçüncü kuşak sefalosporinlerden bir üstünlüğü metisiline duyarlı stafilokoklar gibi Gram pozitif bakteriler üzerine daha etkili olmasıdır. *P.aeruginosa* üzerine etkisi seftazidime benzerdir. Sefpirom SHV beta-laktamazları dışında pek çok TEM beta-laktamazlara dirençlidir (11). Wolf ve ark. (12) yaptıkları çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde gelişen pnömonilerde seftazidimin ve sefpiromun etkilerini benzer bulmuştur. *E.cloacae* ve *P.aeruginosa*'nın etken olduğu nozokomial pnömonilerde, sefpiromun tek başına kullanıldığı olgularda antibiyotiğe karşı direnç oluştuğu bildirilmiştir. Bu konuda yapılan hayvan modelleri az olmakla birlikte, ilk çalışma 1986 yılında Klesel ve ark.(13) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada sefpirom, seftazidim, sefotaksim, sefoperazon ve sefodizim aktivitesi farelerde deneysel *K.pneumoniae* pnömoni modelinde araştırılmıştır. Tedavi sonrası 24. ve 48. saatlerde sefpiromun sefotaksim, seftazidim ve sefoperazonlardan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Sefodizim ile aktivitesi eşit olarak saptanmıştır.

Bergeron ve ark. (14) yaptıkları bir çalışmada, farelerde ısıyla öldürülmüş *K.pneumoniae* ile oluşturulan infeksiyonlarda, akciğerin inflamatuvar cevabını araştırmışlardır. Sefodizimin fagositlerin bakterisid aktivitesini arttırdığını, bölünen yeni bakterilerin kapsül kalınlığını azalttığını ve kompleman bağlanmasını kolaylaştırdığını saptamışlardır. Drago ve ark. (15) yaptıkları bir çalışmada, kobaylarda *K.pneumoniae* pnömoni modelinde sefodizim, seftriakson ve sefonisidin etkinliklerini karşılaştırmışlardır. İstatistiksel olarak sefodizim ve seftriaksonun kontrol grubuna göre 3. 6. 24. ve 48. saatte, sefonisid grubuna göre ise 6. 24. ve 48. saatte akciğerde bakteri sayısını anlamlı derecede düşürdüklerini saptamışlardır. Kontrol grubunda ise bakteri sayısında 6. saatte 0.5 log, 24. saatte 1 log ve 48. saatte 2 log değerinde bir düşüş saptanmıştır. Antibiyotik ile tedavi edilen grupların arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Seffonisid grubunda 3. ve 6. saatte bakteri sayısında ki düşüş daha az bulunmuştur.

Bu çalışmada da her iki antibiyotik deneysel akut pnömoni tedavisinde etkin bulunmuştur. 0. saatte gruplar arasında akciğerin gramındaki bakteri sayı-

sında önemli bir fark gözlenmemiştir. Sefpirom 12. ve 24. saatte bakteri sayısını biraz daha fazla düşürürken, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Pozitif kontrol grubunda bakteri sayısında 12. ve 24. saatte 2 log, 48. saatte 3 log değerinde bir azalma saptanmıştır. 48. saatte ise antibiyotik gruplarında pozitif kontrol grubuna göre bakteri sayısında azalma gözlenmiştir.

Sonuç olarak sefpirom ve sefodizimin etkinlikleri deneysel K.pneumoniae pnömonisinin tedavisinde eşit bulunmuştur. Bu bulgular sefpiromun bu tip enfeksiyonların ampirik tedavisinde yeni bir alternatif olabileceği göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. **Bryskier A, Procyk T, Labro MT:** Cefodizime, a new 2-aminothiazolyl cefalosporin: physicochemical properties, toxicology and structure-activity relationships, J Antimicrob Chemother 26, Suppl. C:1 (1990).
2. **Karchmer AW:** Cephalosporins. "GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, p.247, 4th ed." Churchill-Livingstone, New York (1995).
3. **National Committee for Clinical Laboratory Standards:** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard NCCLS document M6-A6. Pennsylvania (1997).
4. **Woods GL, Washington JA:** Antibacterial susceptibility tests. Dilution and disk diffusion methods. "PR Murray, EJ Baron, MA Tenover, RH Tenover (eds). Manual of Clinical Microbiology, p.1327" ASM Press, Washington DC (1995).
5. **Hancock EW, Bellido F:** Factors involved in the enhanced efficacy against Gram-negative bacteria of fourth generation cephalosporins, J Antimicrob Chemother 29, Suppl. A:1 (1992).

6. **Wise R, Andrews JM, Ashby JP:** In-vitro activity of cefodizime against respiratory pathogens, J Antimicrob Chemother 26, Suppl C:9 (1990).
7. **Soussy CJ, Chanal M, Kitzis MD:** The in-vitro activity of cefodizime: a review, J Antimicrob Chemother 26, Suppl. C:13 (1990).
8. **Pechinot A, Neuwirth C, Bryskier A, Duez JM, Kazmierczak A:** Bactericidal activity of cefodizime on Enterobacteriaceae in an in-vitro model simulating plasma pharmacokinetics in humans, J Antimicrob Chemother 39: 157 (1997).
9. **Wenisch C, Parschalk B, Hasenhündl M, Wiesinger E, Graninger W:** Effect of cefodizime and ceftriaxone on phagocytic function in patients with severe infections, Antimicrob Agents Chemother 39: 672 (1995).
10. **Braga PC, Dal Sasso M, Maci S:** Cefodizime: effects of sub-inhibitory concentrations on adhesiveness and bacterial morphology of Staphylococcus aureus and Escherichia coli: comparison with cefotaxime and ceftriaxone, J Antimicrob Chemother 39: 79 (1997).
11. **Wiseman LR, Lamb HM:** Cefpirome: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy in the treatment of severe nosocomial infectious and febrile neutropenia, Drugs 54: 157 (1997).
12. **Wolff M:** Comparison of strategies using cefpirome and ceftazidime for empiric treatment of pneumonia in intensive care patients, Antimicrob Agents Chemother 42: 28 (1998).
13. **Rouse MS, Tallan BM, Henry NK, Steckelberg JM, Wilson WR:** Animal models as predictors of outcome of therapy with broad spectrum cephalosporins, J Antimicrob Chemother 29, Suppl. A:39(1992).
14. **Bergeron Y, Deslanriers AM, Ouellet N, Ganthier MC, Bergeron MG:** Influence of cefodizime on pulmonary inflammatory response to heat-killed Klebsiella pneumoniae in mice, Antimicrob Agents Chemother 43: 2291 (1999).
15. **Drago L, Mombelli B, Fassina MC, De Vecchi E, Gismondo MR:** Evaluation of antibacterial activity of cefodizime, ceftriaxone and cefonicid in Klebsiella pneumoniae-infected guinea pigs, Clin Microb Infect 5:371 (1999).