

CERRAHİ YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İNFEKSİYON ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF ÇOMAKLARDA AMİNOGLİKOZİD DİRENCİ

Abdullah AYYILDIZ¹, Bekir KOCAZEYBEK², Sedat ARITÜRK¹

ÖZET

Florence Nightingale Hastanesinde cerrahi yoğun bakım ünitesinden izole edilen 192 *Escherichia coli*, 128 *Klebsiella* spp., 118 *Pseudomonas aeruginosa*, 102 *Acinetobacter* spp. ve 57 *Enterobacter* spp. olmak üzere toplam 597 suşun tanımlamaları ve antibiyotiklere duyarlılık deneyleri Sceptor cihazında yapılmıştır. Araştırma amaçlı antibiyotik duyarlılık testleri ise NCCLS kriterleri doğrultusunda, standart disk difüzyon yöntemiyle çalışılmış ve zon çapları yine NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

Tüm bakterilerde aminoglikozid direnci incelendiğinde en fazla direnç % 33 ile gentamisine karşı saptanmış, bunu % 32 ile tobramisin, % 19 ile amikasin, % 18 ile isepamisin ve % 12 ile netilmisin izlemiştir. Türler göre direnç incelendiğinde en fazla direnç *Acinetobacter* spp. suşlarında % 72 ile gentamisine saptanırken, en az direnç % 2 ile *Enterobacter* spp.'de netilmisin ve isepamisine karşı saptanmıştır. Yeni kullanıma giren isepamisine karşı en fazla direnç % 56 ile *Acinetobacter* spp.'de saptanmıştır.

Sonuç olarak yeni kullanıma giren isepamisine, daha önce kullanımda olan netilmisinden daha yüksek oranda direnç bulunması dikkat çekicidir. Bu sonuç klinik kullanıma bir umut olarak giren her yeni antibiyotikte baştan veya bir süre sonra görülen yüksek direncin, antimikrobiyal tedavide özellikle de ampirik kullanımda yarattığı sorunun büyüklüğünü göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Gram negatif bakteriler, aminoglikozid direnci

SUMMARY

Aminoglycoside resistance of Gram negative rods causing infection in surgery intensive care unit patients.

Total of 597 strains including 192 *Escherichia coli*, 128 *Klebsiella* spp., 118 *Pseudomonas aeruginosa*, 102 *Acinetobacter* spp. and 57 *Enterobacter* spp. isolated from the surgical intensive care unit of Florence Nightingale Hospital were included in the study. The identification of the bacteria and detecting their susceptibility to antibiotics were performed by the Sceptor device. The antibiotic susceptibility tests which were performed for only experimental purposes were done by standard disk diffusion method according to NCCLS criteria. The evaluation of the diameter of the zones was also performed according to NCCLS criteria and the results with intermediate susceptibility were accepted as resistant.

When aminoglycoside resistance in all bacteria were evaluated; the highest resistance was to gentamicin with 33%, then tobramycin with 32%, amikacin with 19%, isepamicin with 18% and netilmicin with 12%. If we evaluate the resistance according to species, the highest resistance was in *Acinetobacter* strains to gentamicin as 72%, and the lowest resistance was in *Enterobacter* strains to netilmicin and isepamicin as 2%. The highest resistance to isepamicin was detected as 56% in *Acinetobacter* strains.

As a result, it is interesting that isepamicin which is recently started to be in use has a higher resistance than netilmicin which was used for a longer time. Although every new antibiotic application is a hope in therapy, high resistance occurs from the beginning or later so the result of this study indicates the importance of high resistance problem in antimicrobial therapy especially in empirical treatment.

Key words: Gram negative rods, aminoglycoside resistance

16. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (4-9 Haziran 2001, Antalya).

1- Kadir Has Üniversitesi Florence Nightingale Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Kan Ünitesi, Şişli, İstanbul. 2- Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa, İstanbul.

GİRİŞ

Aminoglikozidler funguslardan elde edilen, doğal ya da semisentetik yapıda, ciddi ve kalıcı yan etkilere sahip olmalarına karşın, özellikle hastane kaynaklı infeksiyonların tedavisinde vazgeçilemeyen antimikrobiyallerdir (6,12). Protein sentezini bozarak bakterisidal etki gösteren bu antibiyotiklerin, Gram pozitif bakterilere olan etkinlikleri oldukça kısıtlı olup, *Pseudomonas*'lar başta olmak üzere Gram negatif aerob çomaklara etkilidirler (3). Tüm antibiyotikler için geçerli olan direnç gelişimine, özellikle ciddi hastane infeksiyonlarında seçilen aminoglikozidlerin kullanıldığı hastane ortamlarında çok sık karşılaşılmakta ve coğrafi bölgelerde, hatta aynı hastanenin farklı birimleri arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Yavaş yavaş meydana gelen aminoglikozid di-

rencinde olası üç mekanizma bulunmaktadır. Bunlar ribozomlara karşı afinitedeki değişiklikler, bakteri membranının permeabilite direnci ve inaktivasyona yol açan enzimlerdir. Enzimler aminoglikozidleri asetilleyerek (AAC), adenilleyerek (ANT) veya fosforilleyerek (APH) inaktive ederler (9). İsepamisin gentamisin türevidir, daha az enzim tarafından inaktive edilen, *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. suşlarına yüksek etkisi olan ve ülkemizde yeni kullanıma giren aminoglikozid grubu bir antibiyotiktir (9).

Bu çalışmada aminoglikozid grubu antibiyotiklerden netilmisin, gentamisin, amikasin, tobramisin ve ülkemizde yeni kullanıma giren isepamisine karşı çeşitli Gram negatif çomaklardaki direnç in-vitro olarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

01.11.1999-01.11.2000 arasında Florence Nightingale Hastanesinde cerrahi yoğun bakım ünitesinden Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen değişik klinik örneklerden izole edilen 192 *Escherichia coli*, 128 *Klebsiella* spp., 118 *P.aeruginosa*, 102 *Acinetobacter* spp. ve 57 *Enterobacter* spp. olmak üzere toplam 597 suş çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılık testleri Sceptor cihazında (Becton Dickinson, ABD) yapılmış ve suşlar

-35°C'de saklanmıştır. Araştırma amaçlı antibiyotik duyarlılık testleri ise NCCLS kriterleri doğrultusunda standart disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır (8). Netilmisin, tobramisin ve gentamisin için zon çapları ≤ 12 mm dirençli, ≥ 15 mm duyarlı; amikasin ve isepamisin için ise ≤ 14 mm dirençli, ≥ 17 mm duyarlı kabul edilmiştir (8,9). Kontrol suşları olarak *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 597 suştan 31'i (% 5.2) tüm aminoglikozidlere dirençli bulunmuştur. Gentamisine dirençli 199 suşun 171'inde tobramisin, 108'inde amikasin, 99'unda isepamisin, 68'inde netilmisin direnci saptanmıştır. Amikasine dirençli 114 suşun 86'sı isepamisine dirençli bulunmuştur. Türler gere göre direnç incelendiğinde en fazla direnç *Acineto-*

bacter spp. suşlarında % 72 ile gentamisine, en az direnç ise *Enterobacter* spp. suşlarında % 2 ile netilmisin ve isepamisine karşı saptanmıştır. Yeni kullanıma giren isepamisine karşı en fazla direnç % 56 ile *Acinetobacter* spp.'de, en az direnç ise % 2 ile *Enterobacter* spp.'de saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Aminoglikozid direncinin türlere göre dağılımı.

| Bakteri | n | Netilmisin | | Gentamisin | | Amikasin | | Tobramisin | | İsepamisin | |
|---------------------------|-----|------------|----|------------|----|----------|----|------------|----|------------|----|
| | | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| <i>E. coli</i> | 192 | 26 | 14 | 56 | 29 | 36 | 19 | 58 | 30 | 29 | 15 |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 128 | 21 | 16 | 34 | 27 | 16 | 13 | 39 | 30 | 5 | 4 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 118 | 10 | 8 | 25 | 21 | 8 | 7 | 15 | 13 | 13 | 11 |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | 102 | 16 | 16 | 73 | 72 | 52 | 51 | 68 | 67 | 57 | 56 |
| <i>Enterobacter</i> spp. | 57 | 1 | 2 | 11 | 19 | 2 | 4 | 9 | 16 | 1 | 2 |
| Toplam | 597 | 74 | 12 | 199 | 33 | 114 | 19 | 189 | 32 | 105 | 18 |

TARTIŞMA

Aminoglikozidler kimyasal olarak oldukça stabil, geniş antibakteriyel spektruma sahip, yıllardır denenmiş olan, alerjik yan etkileri az görülen, hızlı bakterisidal etkili ve betalaktam antibiyotiklerle sinerjik etkili antibiyotikler oldukları için klinikte geniş uygulama alanı bulmuşlardır. Ancak anaeroplara etkisiz olmaları, farmakokinetiklerinin yaş, renal fonksiyon, ateş, asit ve şişmanlık gibi etkenlerle oldukça değişken olması, nefrotoksik ve ototoksik olmaları, uygulanan doz ile serum düzeyleri arasında iyi bir korelasyon olmayışı, terapötik doz aralığının dar olması gibi nedenlerle de dikkatli kullanılması gereken antibiyotiklerdir. Bu grup antibiyotiklerin kullanım indikasyonları genel olarak; diğer daha az toksik antibiyotiklere dirençli bakterilerle oluşan infeksiyonlar ve ağır, Gram negatif bakterilere bağlı, özellikle nötropenik hastalardaki hastane infeksiyonlarıdır (10). İseпамisinin, gentamisinden türetilmiş, aminoglikozidlere dirençli enzimlerin birçoğuna karşı, diğer ajanlara kıyasla daha yüksek düzeyde stabilite gösteren, amikasin ve gentamisine göre daha az nefrotoksik, amikasinine göre ise daha az ototoksik olabileceği düşünülen ve ülkemizde yeni kullanıma sunulan aminoglikozid grubu bir antibiyotiktir. Kullanımından vazgeçilemeyen bu grup antibiyotiklere karşı direncin yıllar geçtikçe arttığı görülmektedir. Över ve ark. (9)'nın yaptıkları çok merkezli bir çalışmada, Gram negatif bakterilerde 15 farklı aminoglikozid direnç mekanizması saptanmış olup, bunlardan en yaygın olarak AAC(3)-I, AAC(3)-II, AAC(6')-I, AAC(6')-II, AAC(6')-III, AAC(6')-IV, ANT(2'')-I ve permeabilite direnci bulunmuştur. Aynı çalışmada en sık rastlanan aminoglikozid direnç mekanizmalarının prevalansının bakteri cinslerine göre farklılık gösterdiği, AAC(3)-I, AAC(6')-II ve permeabilite direncine *Pseudomonas* spp.'de sık rastlanırken diğer bakterilerde çok düşük ya da hiç saptanmadığı, diğer yandan *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. ve *E.coli*'de yaygın olarak görülen AAC(3)-II, AAC(6')-I, AAC(6')-IV direnç mekanizmalarının *Pseudomonas* spp.'de saptanmadığı ya da çok düşük oranlarda saptandığı bildirilmiştir. Yaygın olarak bulunan diğer iki direnç mekanizmasının [AAC(6')-III, ANT(2'')-I] insidansı tüm bakteri gruplarında benzer olarak yüksek saptanmıştır.

Araştırmamızda gentamisine % 33, tobramisine % 32, amikasinine % 19, isepamisine % 18 ve netilmisine % 12 direnç saptanmıştır. Ülkemizde Akalın ve ark. (1) ile Aydın ve ark. (2) değişik tarihlerde yaptıkları çalışmalarda gentamisine % 54 ve 61.7, tobramisine % 35 ve 52.4, amikasinine % 0.9 ve 49.8, isepamisine ise Aydın ve ark. (2) % 39.4 direnç bulmuşlardır. Gür ve ark. (4) ile Över ve ark. (9) (en az bir aminoglikozide dirençli olan suşlarda), gentamisine % 88.5 ve 91.5, tobramisine % 88.9 ve 93.2, amikasinine % 44.5 ve 48.2, isepamisine ise % 28.6 ve 29.2 direnç saptamışlardır. Türkiye'de yeni kullanıma girmesine rağmen, çalışmamızda merkezimizde hiç kullanılmayan isepamisine karşı % 18'lik di-

renç saptanması ilginçtir. Bu sonuç, yaygın antibiyotik kullanımının direnci arttırdığı iddiasıyla çelişir gözükmesine karşın, ülkemizde antibiyotik modifiye edici enzimlerin yaygın bulunmasının sonucu olarak, bu enzimleri taşıyan suşların diğer aminoglikozidlerin yaygın kullanımına bağlı olarak seçilerek yayılabileceği görüşü ile uyumluluk göstermektedir. Över ve ark. (9) isepamisini modifiye eden enzim olan AAC(6')-III (TNAI)'nın yeni bir mekanizma olarak Türkiye'deki izolatlarda % 13.8 olan sıklıkta görüldüğünü bildirmişlerdir. Benzer olarak çalışmamızda yüksek isepamisin direncinin TNAI fenotipik direnç profili ile ilişkili olduğunu ve bunun da çalışma merkezimizde kalp cerrahisinde amikasinin uzun bir süre profilaktik olarak sıkça kullanılmasıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda dikkati çeken bir başka sonuç, suşlardaki netilmisine direnç oranının ülkemizde yapılan diğer çalışma sonuçlarına göre düşük olmasıdır; bu hastanemizde özellikle CYBÜ'de diğer aminoglikozidlere göre (CYBÜ'de en sık kullanılan amikasin) netilmisin kullanımının çok az olmasıyla ilişkili olabileceğini akla getirmektedir.

E.coli ve *Klebsiella* spp. suşlarında aminoglikozid direnci % 13-30 arasında saptanmış, sadece *Klebsiella* spp. suşlarında % 4 ile isepamisine düşük oranda direnç belirlenmiştir. *Enterobacter* spp. suşlarında ise gentamisin ve tobramisin direnci birbirlerine yakın oranlarda (% 16-19) saptanırken, *Klebsiella* spp. suşlarında sadece isepamisine, *Enterobacter* spp. suşlarında ise isepamisin, netilmisin ve amikasinine karşı belirgin bir şekilde düşük oranda (% 2-4) direnç tespit edilmiştir. Aydın ve ark. (2) *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında amikasin, tobramisin ve gentamisin direncini % 10.3-43.3 arasında bulurken, isepamisine ise çok düşük oranda (% 3.3-3.4) direnç saptamışlar, *Enterobacter* spp. suşlarında amikasinine % 14.8, tobramisin ve gentamisine % 33.3 direnç bildirirken, isepamisine % 3.7 direnç belirlemişlerdir. Gür ve ark. (5) ise *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında amikasin ve gentamisine karşı % 7-67 arasında, *Enterobacter* suşlarında da amikasinine % 19, gentamisine % 52 oranında direnç belirlemişlerdir.

P.aeruginosa suşlarında en fazla direnç % 21 ile gentamisine, diğer aminoglikozidlere ise % 7-13 arasında değişen oranlarda bulunmuş, *Acinetobacter* spp. suşlarında en fazla direnç % 72 ile gentamisine karşı saptanırken, diğer aminoglikozidlere % 16-67 arasında direnç tespit edilmiştir. Aydın ve ark. (2) *P.aeruginosa* suşlarında en fazla % 82 ile tobramisine direnç bildirirken, isepamisin, gentamisin ve amikasinine % 57.2-79.4 arasında, *Acinetobacter* spp. suşlarında ise en fazla direnci % 73.5 ile amikasinine karşı bildirmişlerdir. Gür ve ark. (5) tarafından *Pseudomonas* suşlarında amikasinine % 26, gentamisine % 73, *Acinetobacter* ve nonfermentatif bakterilerde amikasinine % 44, gentamisine % 61 direnç tespit edilmiştir. Van Landuyt ve ark. (13) da Avrupa'da bir sürve-

yans çalışmasında *P.aeruginosa* suşlarında aminoglikozidlere karşı % 49.8-99.2 arasında değişen oranlarda direnç olduğunu bildirmişlerdir. Değişik yerlerde ve değişik yıllarda yapılan çalışmaların birbirlerinden farklı aminoglikozid direnci sonuçları, literatürde de belirtildiği gibi aminoglikozid direncinin kullanıma paralel olarak arttığını, hastaneler ve ülkeler arasında farklılıklar olabildiğini göstermiştir (7,11,13).

Sonuç olarak araştırmamızda yeni kullanıma girmiş olmasına rağmen isepamisine karşı % 18 direnç saptanması, klinik kullanıma bir umut olarak giren her yeni antibiyotikte

baştan veya bir süre sonra görülen yüksek direncin antimikrobiyal tedavide özellikle de ampirik kullanımda büyük bir sorun olduğunu göstermektedir. Bunun için hayati önemi olan, pahalı ve uzun araştırmalar sonucu kullanıma sunulabilen antibiyotiklerin etkinliklerini korumak amacıyla; antibiyotik kullanımında endikasyonun iyi belirlenmesi, gereksiz kullanımdan kaçınılması ve ulusal antibiyotik kullanım politikasının bir an önce belirlenmesinin gerekliliği tekrar vurgulanmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Akalın HE, Torun M, Alaçam R: Aminoglycoside resistance patterns in Turkey, *Scand J Infect Dis* 20:199 (1988).
- 2- Aydın K, Çaylan R, Köksal I, Kostakoğlu U, Bayraktar Ö, Üstünakın M: Yoğun bakım hastalarından izole edilen Gram negatif bakterilerde izepamisin ve diğer aminoglikozidlere direnç. *ANKEM Derg* 15:74 (2001).
- 3- Edson RS, Terrol CI: The aminoglycosides, *Mayo Clin Proc* 66:1158 (1991).
- 4- Gür D, Ünal S, Miller GH, Hare RS, Naples L, Sabatelli FJ, Shaw KJ: Prevalence of aminoglycoside resistance mechanisms in Turkish Hospitals in 1996, *37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Abstract C-32, Toronto (1997).
- 5- Gür D, Ünal S ve Çalışma Grubu (Mamıkoğlu L, Günseren F, Çolak D, Biberoglu K, Yuluğ N, Yüce K, Ulusoy S, Özinel MA, Doğanay M, Sümerkan B, Gün H, Albay A, Özyurt M, Kocagöz S, Akova M, Çalangu S, Özüt H, Çetin S, Korten V, Eskitürk A, Leblebicioğlu H, Günaydın M, Şaniç A): Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları, *Flora* 1:153 (1996).
- 6- Lietman PS: Aminoglycosides and spectinomycin: aminocyclitols, "Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Third ed." kitabında s. 269, Churchill Livingstone, New York (1990).
- 7- Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A, Slama MA, Pierre J, Giral P, Rosenzweig R, Gutmann L, Safar M, Acar J: Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis, *Clin Infect Dis* 20:790 (1995).
- 8- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 7th ed. Approved Standard, M2-A7, NCCLS, Villanova, Pa (2000).
- 9- Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH: Gram negatif bakterilerde aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları: Son gelişmeler ve Türkiye sonuçları, *Flora* 5:168 (2000).
- 10- Pancoast SJ: Aminoglycoside antibiotics in clinical use, *Med Clin North Am* 72:581 (1988).
- 11- Saavedra S, Vera D, Ramirez-Ronda CH: Susceptibility of aerobic Gram-negative bacilli to aminoglycosides. Effects of 45 months of amikacin as first line aminoglycoside therapy, *Am J Med* 80 (Suppl 6B):65 (1986).
- 12- Siegenthaler WE, Bonetti A, Luthy R: Aminoglycoside antibiotics in infectious diseases (an overview), *Am J Med* 80 (Suppl 6B):2 (1986).
- 13- Van Landuyt HW, Boelaert J, Glibert B, Gordts B, Verbruggen AM: Surveillance of aminoglycoside resistance. European data, *Am J Med* 80 (Suppl 6B):76 (1986).