

## **PSEUDOMONAS AERUGINOSA ŞUŞLARININ AMİNOGLİKOZİDLERE İN-VİTRO DUYARLILIKLARI\***

**Turan GÜNDÜZ\*, Ayşe ARISOY\*\*, Ümit ALGÜN\*\*, Beril ÖZBAKKALOĞLU\***

\* Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

\*\* Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

### **ÖZET**

*Aminoglikozid grubu antibiyotikler Gram negatif bakterilerin etken olduğu ağır ve yaşamı tehdit eden infeksiyonlarda tercih edilen antibiyotiklerdir. Buna karşın aminoglikozidleri modifiye eden enzimler yolu ile bunlara karşı gelişen direnç önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu çalışmada Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, yatırılarak veya ayakta tedavi gören hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 136 P.aeruginosa suşu değerlendirilmeye alınmıştır. Araştırılan suşların aminoglikozidlere olan duyarlılık oranları NCCLS standartlarına uygun olarak Mueller-Hinton agar, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Her antibiyotik için duyarlılık zon çapının ölçülmesinde ve değerlendirilmesinde NCCLS standart sınır değerleri esas olarak alınmıştır. İsepamisin için 17 mm zon çapı sınır değer alınarak değerlendirilmiştir. İncelenen 136 suşun 130'u (% 96) isepamisin ve amikasine, 128'i (% 94) netilmisine, 124'ü (% 91) tobramisine ve 80'i (% 59) gentamisine duyarlı bulunmuştur. Altı suş (% 4) beş antibiyotiğe de dirençli bulunmuştur.*

**Anahtar sözcükler:** aminoglikozidler, direnç, *Pseudomonas aeruginosa*

### **SUMMARY**

#### **In-vitro Efficacy of Aminoglycosides against Pseudomonas aeruginosa Strains**

*In serious and life-threatening infections, in which Gram-negative bacteria are responsible, aminoglycoside group antibiotics are preferred. However, resistance to these antibiotics, caused by enzymes which modify the aminoglycosides, is an important problem. In this study, 136 P.aeruginosa strains isolated from various clinical samples of patients treated at Celal Bayar University have been evaluated. The sensitivity of the strains to aminoglycosides have been examined by Kirby-Bauer disk diffusion method in Mueller-Hinton agar according to the standards of NCCLS. The breakpoint for isepamicin was accepted as 17 mm. It was found that 130 (96 %) strains were sensitive to isepamicin and amikacin, 128 (94 %) to netilmicin, 124 (91 %) to tobramycin and 80 (59 %) to gentamicin. Six (4 %) strains were found to be resistant to all of five antibiotics.*

**Key words:** aminoglycosides, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance

### **GİRİŞ**

İsepamisini de inaktive edebilen enzimleri olan *Pseudomonas aeruginosa*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde üriner sistem, solunum sistemi ve yara infeksiyonlarına neden olan bir

patojendir. Birçok antibiyotiğe direnç göstermesi ve yeni antibiyotiklere de hızla direnç geliştirebilmesi nedeniyle yol açtığı infeksiyonların tedavisinde güçlüklerle karşılaşmaktadır. Değişik çalışmalarda hastane infeksiyonlarının % 8-25'inden bu bakterilerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu

**Yazışma adresi:** Turan GÜNDÜZ, Merkez Efendi Mah., 8 Eylül Cad. 197/3, MANİSA

Tel.:(0536) 339 86 88

e-posta:turankamer@yahoo.com

Alındığı tarih:23.10.2003, revizyon kabulü:05.08.2004

\*5. Antimikrobik Kemoterapi Günleri'nde sunulmuştur (1-3 Nisan 2002, İstanbul)

durum özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve nötropenik hastaların izlendiği birimlerde daha ön plana çıkmaktadır<sup>(8)</sup>. Antibiyotik direnç paterninin hastaneden hastaneye, hatta klinikler arasında değişiklikler gösterebilmesi nedeni ile, özellikle ampirik tedavi gereken durumlarda klinisyenlere yol gösterebilmesi amacıyla, her hastanede bu tür dirençli bakterilerin duyarlılık paternlerinin sürveyansı gereklidir. Gram negatif bakteriler (GNB)'de aminoglikozid grubu ilaçlara direnç gelişmesinde en önemli mekanizma, ilacı inaktive eden modifiye edici enzimlerdir. GNB'de isepamisinini modifiye edebilen enzimlerin amikasin, netilmisin, tobramisin ve gentamisinini modifiye edebilen enzimlere oranla daha az oluşu isepamisin yönünden üstünlük sağlamaktadır. Ancak isepamisinini de inaktive eden enzimler bu yeni antibiyotığın kullanıldığı ülkelerde direncin görülmesine yol açmaktadır (2,9,14).

*Pseudomonas* infeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozidlerin yeri büyüktür. Bu çalışmanın amacı infeksiyon etkeni olarak izole edilen *P.aeruginosa* suşlarına karşı aminoglikozidlerin etkinliğini karşılaştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, Ocak 1999-Aralık 2001 arasında yatırılarak veya ayakta tedavi gören hastalara ait çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 136 *P.aeruginosa* suşu API 20E (BioMerieux) kullanılarak idantifiye edilmiştir. İncelenen suşların aminoglikozidlere duyarlılıkları NCCLS standartlarına uygun olarak Mueller-Hinton agar'da [gentamisin (GN, 10mg), amikasin (AK, 30mg), netilmisin (NET, 30mg), tobramisin (TOB, 10mg), Oxoid] ve isepamisin (ISP, 30 mg, MAST Diagnostic) diskleri kullanılarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir<sup>(15)</sup>. İsepamisin için 17 mm zon çapı sınır değer olarak alınmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 paket programı kullanılarak ki-kare testiyle yapılmıştır.

## BULGULAR

Değerlendirmeye alınan 136 *P.aeruginosa* suşunun izole edildiği kliniklere ve materyallere göre dağılımı Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir. Materyalin 84'ü (% 62) yatan hastalardan, 52'si (% 38) poliklinik hastalarından, yatan hastalara ait olanların da 64'ü (% 47) anestezi yoğun bakım ünitesinde, 20'si diğer birimlerde yatan hastalardan gönderilmiştir. İncelenen 136 suşun 130'u (% 96) isepamisin ve amikasine, 128'i (% 94) netilmisine, 124'ü (% 91) tobramisine ve 80'i (% 59) gentamisine duyarlı bulunmuştur (Tablo 3). Test edilen suşlardan 6'sı (% 4)

tüm aminoglikozidlere dirençli olarak saptanmıştır.

**Tablo 1:** 136 *P.aeruginosa* suşunun kliniklere dağılımı.

Klinikler	Sayı	(%)
Yoğun Bakım Ünitesi	64	47
KBB	41	30
Dermatoloji	7	5
Genel Cerrahi	6	4
Çocuk Hastalıkları	5	4
Dahiliye	3	2
Göğüs Hastalıkları	3	2
Ortopedi	3	2
Üroloji	2	1
Nöroloji	1	1
Kadın Hast. Doğum	1	1

**Tablo 2:** 136 *P.aeruginosa* suşunun materyallere dağılımı.

Materyal	Sayı	(%)
Kulak sürüntüsü	40	29
ETA*	32	24
Kan	22	16
Abse	14	10
İdrar	10	7
Kateter	8	6
Balgam	6	4
Yara	4	3

\* ETA: Endotrakeal aspirasyon sıvısı

**Tablo 3:** 136 *P.aeruginosa* suşunda aminoglikozidlere direnç [n (%)].

Antibiyotik	Yataklı servislerden n:84	Poliklinik n:52	Toplam n:136
Gentamisin	39 (46)	17 (33)	56 (41)
Amikasin	6 (7)	0	6 (4)
Netilmisin	7 (8)	1 (2)	8 (6)
İsepamisin	6 (7)	0	6 (4)
Tobramisin	10 (12)	2 (4)	12 (9)

## TARTIŞMA

Aminoglikozidler kimyasal olarak oldukça stabil, geniş antibakteriyel aktiviteye sahip, hızlı bakterisidal ve beta-laktam antibiyotiklerle sinerjik etkili antibiyotikler oldukları için, klinikte geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Aminoglikozid antibiyotikler Gram negatif bakterilerin etken olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde sıklıkla tercih edilmelerine rağmen, modifiye edici enzimler yoluyla mikroorganizmalar tarafından oluşturulan direnç, yaygın kullanımının olduğu yerlerde önemli sorun oluşturmaktadır<sup>(1,9)</sup>. *P.aeruginosa*'da aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı gözlenen direnç fenotipleri tamamen bu antibiyotiklere dirençte rol oynayan mekanizmaların bir yansımasıdır. Aminoglikozidlere dirençte permeabilite değişikliği önemli rol oynamakta ve bu mekanizma ile tüm aminoglikozidlere karşı direnç gelişebilmektedir<sup>(14)</sup>. Aminoglikozidlere direnç mekanizmalarının incelendiği

araştırmalarda en sık bulunan 5 enzim: ANT(2'')-I(GT), AAC(3)-II (GTN), AAC(6')-I (TNA), AAC(6')-IV (GTNA), AAC(6')-III (TNAI)'dir. Birkaç enzimin birarada bulunması ile tüm aminoglikozidlere dirençli izolatlar görülebilmektedir. Türkiye'de aminoglikozidlere direnç mekanizmalarının araştırıldığı 15 merkezli bir çalışmada *P.aeruginosa*'da en yaygın olan direnç mekanizmasının permeabilite değişikliği olduğu saptanmıştır. Bunun dışında GN ve TOB'ne direnç oluşturan ANT(2')-I (% 40); NET, GN ve TOB'e direnç oluşturan AAC(6')-II (% 29.3); NET, TOB, AK ve İSP'e direnç oluşturan AAC(6')-III (% 19.3) ve GN'e direnç oluşturan AAC(3)-I (% 16.6) enzimlerinin rol oynadığı gözlenmiştir. Ayrıca izolatların birçoğunda permeabilite değişikliği ile birlikte bu enzimlerden birinin birlikte bulunma oranının yüksek olduğu bulunmuştur. Amikasin ve isepamisin için bulunan benzer direnç oranlarının *P.aeruginosa*'da Türkiye'de saptanmış olan permeabilite ve AAC(6')-III enzimleri ile açıklanabileceği bildirilmektedir<sup>(17)</sup>. Hastane kaynaklı örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının aminoglikozidlere direnç geliştirmelerinde hangi enzimlerin etkili oldukları araştırılmadığından, bölgemizde aminoglikozidlere karşı dirençte rol oynayan enzimler bilinmemektedir.

Hastane kaynaklı *P.aeruginosa* suşlarının aminoglikozidlere olan dirençlerinin araştırıldığı çalışmalarda; Gür ve ark.<sup>(9)</sup> GN'e % 63.7, AK'e % 37.3, NET'e % 53.9, TOB'e % 55.9 ve İSP'e % 47; Mendeş ve ark.<sup>(13)</sup> GN'e % 45, AK'e % 35, NET'e % 30, TOB'e % 50 ve İSP'e % 15; Över ve ark.<sup>(17)</sup> GN'e % 63.7, AK'e % 37.3, NET'e % 53.9, TOB'e % 55.9, İSP'e % 35.2; Şahin ve ark.<sup>(19)</sup> ise GN'e % 47, AK'e % 53, NET'e % 47, TOB'e % 60 ve İSP'e % 47 oranında direnç bildirmişlerdir.

Yurt dışında yapılmış olan çalışmalarda *P.aeruginosa* suşlarının aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnç durumuna bakıldığında; Chan-Tack<sup>(3)</sup> 8 yıllık direnç oranlarını araştırdığı çalışmada, bu süre içinde duyarlılıkların gentamisine % 85'den 64'e, tobramisine % 96'dan % 83'e, amikasinde % 92'den % 74'e düştüğünü saptamıştır. Değişik çalışmalarda gentamisine % 65.5<sup>(10)</sup>, amikasin % 17, tobramisine, netilmisine ve isepamisine % 4<sup>(16)</sup>, netilmisine % 9<sup>(8)</sup>, amikasin % 5<sup>(11)</sup> gibi farklı direnç oranları bildirilmiştir. Başka bir çalışmada gentamisin ve tobramisine yüksek, amikasin ise daha düşük oranda direnç olduğu bildirilmiştir<sup>(5)</sup>.

Çalışmamızda gentamisine % 41, amikasin % 4, netilmisine % 6, isepamisine % 4, tobramisine % 9 oranında direnç bulunmuştur. Çalışmamızda en düşük direnç isepamisin ve amikasin, en yüksek direnç ise gentamisine karşı saptanmıştır. İsepamisin, amikasin ve netilmisinin daha az kullanılıyor olması, gentamisin ve tobramisine göre daha az direnç gelişmesiyle uyumluluk göstermektedir. Çalışmamızda beş antibiyotiğe birden direnç oranı % 4 olarak bulunurken, yapılmış olan diğer çalışmalarda bu beş antibiyotiğe birden

direnç oranının % 9-33 arasında değiştiği bildirilmektedir (17,19).

Çoğul antibiyotik direnci gösterebilen *P. aeruginosa* ile gelişen infeksiyonlarda gelişigüzel antibiyotik kullanımı dirençli suşların oluşumuna neden olmakta ve tedaviyi güçleştirmektedir<sup>(9)</sup>. Çoğu suşlar ilk izolasyonlarında aminoglikozidler (amikasin, gentamisin ve tobramisin), geniş spektrumlu penisilinler (azlosilin, karbenisilin, mezlosilin, piperasilin ve tikarsilin), üçüncü kuşak sefalosporinler, kinolonlar ve karbapenemlere oldukça duyarlıdır; fakat bu antibiyotiklerin uzun süre tek başına kullanılması ile direnç gelişebilmektedir<sup>(6)</sup>. O'hara ve ark.<sup>(16)</sup> klinik örneklerden soyutlanan 50 *P.aeruginosa* suşunun tamamının isepamisin ve amikasin duyarlı olduklarını bulmuştur.

Yoğun bakım izolatlarıyla yapılan bir çalışmada, *P.aeruginosa* suşlarının amikasin direnç oranı % 22.3, isepamisine ise % 28.4 olarak bildirilmiştir<sup>(23)</sup>. Batın içi infeksiyonların ve alt solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde amikasin ile isepamisinin etkinliği ve güvenilirliğinin değerlendirildiği iki ayrı çalışmada bu iki antibiyotik arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır<sup>(4,12)</sup>. Ayrıca Vigano ve Principi<sup>(22)</sup>'nin çalışmasında amikasinin etkinliği % 95, isepamisinin etkinliği ise % 98 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yoğun bakım izolatlarıyla yapılan bir çalışmada; amikasin ve gentamisine direnç % 74.1 ve % 94.5 olarak bildirilmiştir<sup>(8)</sup>.

Belçika isepamisin çalışma grubu<sup>(21)</sup> yoğun bakım ünitelerinde isepamisini diğer antibiyotiklerle karşılaştırdıkları çalışmalarında isepamisin, amikasin ve gentamisine duyarlılıkları sırasıyla % 91, % 89, % 88 olarak; Vincent ve ark.<sup>(23)</sup> isepamisin ve amikasin direnci sırasıyla % 22.3 ve % 28.4 olarak saptamışlardır.

Yanık ünitesinde yatan hastalardan izole edilen suşlarda gentamisin direncinin % 90'ın üzerinde olduğu, amikasin duyarlılığının ise çok yüksek olduğu bildirilmiştir<sup>(7)</sup>. Fransa'da yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarına direncin araştırıldığı çalışmada gentamisine % 50, tobramisine % 25, amikasin % 9 direnç bildirilmiştir<sup>(18)</sup>.

Sonuç olarak aminoglikozid grubu antibiyotikler ile *P.aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde daha seçici davranılması gerektiği görülmektedir. Ancak direnç paternlerinin merkezler arasında değişiklik gösterebilmesi nedeni ile özellikle hastane infeksiyonu etkenleri için antimikrobiyal direnç surveyansının önemi gözardı edilmemelidir.

## KAYNAKLAR

1. Ayyıldız A, Kocazeybek B, Arıtürk S: Cerrahi yoğun bakım hastalarından infeksiyon etkeni olarak izole edilen Gram negatif çomaklarda aminoglikozid

- direnci, ANKEM Derg 2002;16:78.
2. Barr WH, Colucci R, Radwanski E et al: Pharmacokinetics of isepamicin, J Chemother 1995;7(Suppl 2):53.
  3. Chan-Tack KM: Changing antibiotic sensitivity patterns at a university hospital, 1992 through 1999, South Med J 2001;94(6):619-20.
  4. Covi M, Velluti G: Comparison of the efficacy and safety of isepamicin and amikacin in the treatment of acute lower respiratory tract infections caused by gram negative organisms, J Chemother 1995;7(Suppl 2):137-42.
  5. Cunha BA: *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance and therapy, Semin Respir Infect 2002;17(3):231-9.
  6. Erdem B: *Pseudomonaslar*, "Ustaçelebi Ş (ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji" kitabında s.551-8, Güneş Kitapevi, Ankara (1995).
  7. Estahbanati HK, Kashani PP, Ghanaatpishah F: Frequency of *Pseudomonas aeruginosa* serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics, Burns 2002;28(4):340-8.
  8. Günsere F, Mamikoğlu L, Öztürk S et al: Surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey, J Antimicrobial Chemother 1999;43(3): 373-8.
  9. Gür D, Tutar İ, Vardar Ünlü G ve ark: İsepamisin hastane izolatu Gram-negatif bakterilere karşı in vitro etkisi, Hastane İnfeksiyon Derg 2001;5(Ek 1):19-24.
  10. Igumbor E, Gwanzura L, Chirara M, Obi C, Muza D: Antibiotic sensitivity and plasmid profiles of *Pseudomonas aeruginosa*, Afr J Med 2000;46 (11):296-300.
  11. Landman D, Quale JM, Mayorga D et al: Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned, Arch Intern Med 2002;162(13):1515-20.
  12. Leal Del Rosal P: The efficacy and safety of isepamicin compared with amikacin in the treatment of intra-abdominal infections, J Chemother 1995;7(Suppl 2):143-8.
  13. Mendeş H, Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Haşoğlu S, Ayaz C: Hastane ve toplum kaynaklı gram negatif çomaklarda aminoglikozid direnci, X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Program kitabı s.268, Adana (2001).
  14. Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS and The Aminoglycoside Resistance Study Group: The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-Changes with time and geographic area. A reflection of aminoglycoside usage patterns? Clin Infect Dis 1997;24(Suppl 1):46-62.
  15. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, NCCLS Document, sixth ed., Approved Standard M2-A5 (M100-S7), Wayne, Pa (2002).
  16. O'hara K, Nakamura A, Sawai T et al: The resistance of recent clinical isolates against isepamicin, other aminoglycosides and injectable beta-lactams, Jpn J Antibiot 2000;53(1):46-59.
  17. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH: Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları, Son gelişmeler ve Türkiye sonuçları, Flora 2000;5:168-78.
  18. Rio Y, Pina P, Jurin F, Allouch P, Didion J, Chardon H, Chiche D: [Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics isolated from patients of intensive care units in France in 1998. Resistant phenotypes to beta-lactams], ESCRIME Study, Pathol Biol (Paris) 2002;50(1):12-7.
  19. Şahin İ, Şencan İ, Kaya D, Öksüz Ş, Yıldırım M: Yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından izole edilen gram negatif bakterilerde isepamisin ve diğer aminoglikozidlere direnç, ANKEM Derg 2002;16(4):445-9.
  20. Tasaka K, Ishida A, Chinzei T: Antimicrobial activity of carbapenems and the combined effect with aminoglycoside against recent clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, Jpn J Antibiot 2002;55(2):181-6.
  21. Vanhoof R, Nyssen HJ, Van Bossuyt E, Hannecart-Pokarni E and Aminoglycosides Study Group: Aminoglycoside resistance in Gram negative blood isolates from various hospitals in Belgium and the Grand Duchy of Luxemburg, J Antimicrob Chemother 1999;44: 483.
  22. Vigano A, Principi N: A randomized comparison of isepamicin and amikacin in the treatment of bacterial infections in pediatric patients, J Chemother 1995;7(Suppl 2):95-101.
  23. Vincent P, Vachee A, Izard D: Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to amikacin and to isepamicin in surgery and in intensive care, Pathol Biol (Paris) 1997;45(9):771-5.