

SEFTRİAKSONUN AMİKASİN, NETİLMİSİN VE TOBRAMİSİN İLE KOMBİNASYONLARININ PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUŞLARINA KARŞI İN-VİTRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Enver Tali ÇETİN¹, Alev GERÇEKER²

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı seftriakson, amikasin, netilmisin ve tobramisin tek başına in-vitro etkileri mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılıp, MIC değerleri saptanmıştır. Suşlardan hiçbirinin amikasine karşı dirençli bulunmaması, bu antibiyotik diğerlerinden üstün olduğunu göstermiştir. Seftriaksonun amikasin, netilmisin ve tobramisin ile kombinasyonlarının aynı suşlara karşı in-vitro etkileri mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle araştırılmış ve sonuçlar fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FIC) indeksine göre değerlendirilmiştir. Buna göre ≤ 0.5 FIC indeksi esas alındığında, suşların % 86-96'sına karşı sinerjist etkinin saptanması ve antagonist etkinin görülmemesi, bu kombinasyonların *P.aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir yer tutabileceklerini göstermektedir.

SUMMARY

In-vitro activities of ceftriaxone in combination with amikacin, netilmicin and tobramycin against Pseudomonas aeruginosa.

The in-vitro activities of ceftriaxone, amikacin, netilmicin and tobramycin were examined by microbroth dilution technique against 50 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and MIC values were determined. The finding that none of the strains were resistant to amikacin, indicated the superiority of this antibiotic to the other agents. The in-vitro activities of ceftriaxone in combination with amikacin, netilmicin and tobramycin were determined by microbroth checkerboard technique against the same strains, and the results were interpreted by fractional inhibitory concentration (FIC) index. With an interaction index of ≤ 0.5 as borderline, synergism was demonstrated against 86 to 96 % of strains. No antagonism was observed. Consequently, these combinations may have important implications in the treatment of patients with *P.aeruginosa* infections.

GİRİŞ

Son yıllarda hastane infeksiyonu etkeni olarak *P.aeruginosa* suşlarının sıklıkla izole edilmesi ve özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde güçlük yaratması, tedavide antibiyotik kombinasyonlarının önemini arttırmıştır (2). Antibiyotiklerin birlikte kullanılmaları sonucu oluşan sinerjist etkiden yararlanarak direnç gelişimini önlemek ve daha

6. Ulusal Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde (6-10 Mayıs 1991, Antalya) ve 17th International Congress of Chemotherapy (23-28 Haziran 1991, Berlin)'de sunulmuştur.

1- İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

2- İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Beyazıt, İstanbul.

düşük dozda uygulanmaları ile yan etki olasılığını azaltmak amacıyla beta-laktam grubu antibiyotikler ile aminoglikozitler kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Sinerjist etki üzerine bulunan birçok veri in-vitro gözlemlere dayanmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda seftriaksonun amikasin, netilmisin ve tobramisin ile kombinasyonlarının *P.aeruginosa* suşlarına karşı in-vitro etkileri mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında incelenen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 adet *P.aeruginosa* suşu kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerden seftriakson F. Hoffman La Roche & Co, tobramisin Mustafa Nevzat İlaç Sanayi, amikasin ve netilmisin Eczacıbaşı İlaç San. Tic. A.Ş. tarafından temin edilmiştir.

Besiyeri olarak litresinde 25 mg magnezyum iyonu ve 50 mg kalsiyum iyonu içeren Mueller-Hinton Buyyonu (Difco) kullanılmıştır.

Minimal inhibitör konsantrasyonunun (MIC) saptanması: Çalışmada yöntem olarak NCCLS tarafından onaylanmış ASM7-A standardı temel olarak alınarak seftriaksonun 256-0.25 µg/ml, amikasin, netilmisin ve tobramisininin 128-0.125 µg/ml konsantrasyonları arasında hazırlanan besiyerindeki çözeltileri kullanılmıştır (3). İnokulum olarak bakterinin 10⁶ CFU/ml'lik süspansiyonu kullanılmış, 37°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon MIC değeri olarak kabul edilmiştir. Çalışmada standart suş olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmış ve bu suşa ait MIC değerlerinin çalışma boyunca önerilen sınırlar içerisinde kalması kriter olarak alınmıştır.

Antibiyotiklerin kombinasyon halindeki etkilérinin saptanması: Çalışmada yöntem olarak mikrodilüsyon "checkerboard" tekniği kullanılarak, her antibiyotiğin MIC değerinin iki kat fazlasından dört kat daha düşüğüne kadar olan konsantrasyonları denenmiştir (11). Saptanan bulgular fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FIC) indeksine göre değerlendirilmiştir (7).

$$\frac{A}{MIC_A} + \frac{B}{MIC_B} \quad FIC_A + FIC_B = \text{FIC indeksi}$$

A : A antibiyotiğinin B antibiyotiğiyle birlikte üremeyi inhibe ettiği kuyudaki en düşük konsantrasyon

MIC_A : A antibiyotiğinin tek başına suşa karşı elde edilen MIC değeri

FIC_A : A antibiyotiğinin fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu. Aynı terimler B, MIC_B ve FIC_B için geçerlidir.

Buna göre FIC indeksi ≤ 0.5 olan değerler sinerjist, 1.0 olan değerler additif ve ≥ 2.0 olan değerler antagonist olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 50 adet *P.aeruginosa* suşuna karşı deneyde kullanılan antibiyotiklerin mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan MIC değerleri tablo 1'de gösterilmiştir. NCCLS'in belirlediği verilere göre seftriakson,

amikasin, netilmisin ve tobramisin için duyarlı sınırları sırasıyla $\leq 8 \mu\text{g/ml}$, $\leq 16 \mu\text{g/ml}$, $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ ve $\leq 4 \mu\text{g/ml}$; orta duyarlı sınırları sırasıyla $16-32 \mu\text{g/ml}$, $32 \mu\text{g/ml}$, $16 \mu\text{g/ml}$ ve $8 \mu\text{g/ml}$; dirençli sınırları sırasıyla $\geq 64 \mu\text{g/ml}$, $\geq 64 \mu\text{g/ml}$, $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ ve $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ olarak kabul edildiğinde tablo 2'de gösterilen sonuçlar elde edilmiştir (3).

Seftriaksonun amikasin, netilmisin ve tobramisin ile kombinasyonlarının aynı suşlara karşı in-vitro etkileri araştırılıp, bulgular FIC indeksine göre değerlendirildiğinde tablo 3'de gösterilen sonuçlar saptanmıştır.

Tablo 1. Antibiyotiklerin 50 *P.aeruginosa* suşuna karşı saptanan MIC değerleri.

Antibiyotik	MIC (mg/ml)		
	Sınırları	%50	%90
Seftriakson	8 - >256	16	64
Amikasin	2-32	4	16
Netilmisin	4-64	8	32
Tobramisin	0.5-64	1	4

Tablo 2. Antibiyotiklerin 50 *P.aeruginosa* suşuna karşı saptanan duyarlılık yüzdeleri.

Antibiyotik	Duyarlılık (%)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Seftriakson	12	56	32
Amikasin	98	2	0
Netilmisin	54	26	20
Tobramisin	86	0	14

Tablo 3. Seftriakson-aminoglikozit kombinasyonlarının 50 *P.aeruginosa* suşuna karşı saptanan etkileri.

Aminoglikozit	Sinerjist			Additif		Antagonist	
	FIC<0.5	FIC 0.5	%	FIC 1	%	FIC>2	%
Amikasin	15	28	86	7	14	0	0
Netilmisin	21	24	90	5	10	0	0
Tobramisin	14	34	96	2	4	0	0

TARTIŞMA

Aminoglikozit grubu antibiyotikler kimyasal yapılarında farklı yan dallar taşımalarına bağlı olarak çeşitli enzimlerle inaktive olmaları, mikroorganizmalarda bu antibiyotiklere karşı değişik duyarlılık oranlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (5, 13). Çalışmamızda amikasin tartım bazında tobramisin kadar etkili olmamasına rağmen incelenen suşlardan hiçbirisiyle dirençli saptanmaması, bu antibiyotiğin diğerlerinden üstün olduğunu göstermektedir. Amikasinin, farklı araştırmalarda da bildirilen, *P.aeruginosa* suşlarına karşı diğer aminoglikozit grubu

antibiyotiklere göre olan bu üstünlüğü, sadece plazmit tarafından kodlanan AAC (6') enzimiyle inaktive olmasından kaynaklanmaktadır (1, 4, 5, 6).

Beta-laktam grubu antibiyotiklerin aminoglikozit grubu antibiyotikler ile oluşturulan kombinasyonlarının *P.aeruginosa* suşlarına karşı tek başına kullanımlarından daha etkili oldukları birçok araştırmacılarca gösterilmiştir (8, 9, 10, 12). Oluşan bu sinerjist etkinin mekanizması, hücre duvarına etkili beta-laktam grubu antibiyotiklerin aminoglikozitlerin intraselüler konsantrasyonunu arttırmasına bağlı olmaktadır (2). Çalışmamızda seftriaksonun tek başına *P.aeruginosa* suşlarına fazla bir etkinliği olmamasına rağmen, çalışmada kullanılan aminoglikozit grubu antibiyotikler ile oluşturulan kombinasyonları suşlara karşı % 86-96 arasında sinerjist etki göstermiş ve antagonist etki görülmemiştir. Denenen antibiyotik kombinasyonlarının suşlara etkinliği karşılaştırıldığında, en sık sinerjist etki gösteren kombinasyonun seftriakson-tobramisin (% 96) olduğu gözlenmiştir. Seftriakson-netilmisin kombinasyonu ile daha fazla < 0.5 FIC indeksinin saptanması (50 suştan 21'i), bu kombinasyonun diğerlerinden kısmen daha fazla inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Seftriakson-amikasin kombinasyonu ile diğerlerine göre biraz daha az oranda sinerjist etki elde edilmesine rağmen (% 86), suşlardan hiçbirinin amikasine direnç göstermemesi göz önüne alındığında, bu kombinasyonun dirençli suşlara karşı seçilmesi gereken bir ikili olduğu düşüncesine varılmıştır.

Sonuç olarak bulgularımız ciddi *P.aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde seftriaksonun tobramisin, netilmisin ve özellikle amikasin ile olan kombinasyonlarının önemli bir yer tutabileceklerini gösterdiği gibi; penisiline karşı allerjisi bulunan kişilerde penisilin-aminoglikozit kombinasyonları yerine seçilebilir, etkili kombinasyonlar olduklarını; elde edilen sinerjist etkiden yararlanarak aminoglikozit dozunun düşürülmesiyle bu antibiyotiklerin neden olduğu yan etkilerin azaltılmasında avantaj sağlayacaklarını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Akalın H E, Köksal İ, Kardeş T, Baykal M: Çeşitli antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere in-vitro aktiviteleri, *ANKEM Derg 1*: 79 (1987).
- 2- Allan J D, Moellering R C Jr: Management of infections caused by Gram-negative bacilli: The role of antimicrobial combinations, *Rev Infect Dis 7 (Suppl 4)*: 559 (1985).
- 3- ASM7-A: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, Vol 5, Nr 22, NCCLS, Villanova (1985).
- 4- Baykal M, Akalın H E: Pseudomonas aeruginosa'nın çeşitli antibiyotiklere dirençliği, *ANKEM Derg 2*: 308 (1988).
- 5- Davies J E: Resistance to aminoglycosides: Mechanisms and frequency, *Rev Infect Dis 5 (Suppl 2)*: 261 (1983).
- 6- Dhawan V, Marso E, Martin W J, Young L S: In vitro studies with netilmicin compared with amikacin, gentamicin, and tobramycin, *Antimicrob Agents Chemother 11*: 64 (1977).
- 7- Elion G B, Singer S, Hitchings G H: Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites, *J Biol Chem 208*: 477 (1953).
- 8- Fass R J: Comparative in vitro activities of β -lactam-tobramycin combinations against Pseudomonas aeruginosa and multidrug-resistant Gram-negative enteric bacilli, *Antimicrob Agents Chemother 21*: 1003 (1982).

- 9- Giamarellou H, Zissis N P, Tagari G, Bouzos J: In vitro synergistic activities of aminoglycosides and new β -lactams against multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 25: 534 (1984).
- 10- Klastersky J, Hengsgens C, Debusscher L: Empiric therapy for cancer patients: Comparative study of ticarcillin-cephalothin and cephalothin-tobramycin, *Antimicrob Agents Chemother* 7: 640 (1975).
- 11- Krogstad D J, Moellering R C Jr: Antimicrobial combinations "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2. baskı" kitabında s 537, Williams & Wilkins, Baltimore (1986).
- 12- Kurtz T O, Winston D J, Bruckner D A, Martin W J: Comparative in vitro synergistic activity of new beta-lactam antimicrobial agents and amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*, *Antimicrob Agents Chemother* 20: 239 (1981).
- 13- Moellering R C Jr: In vitro antibacterial activity of the aminoglycoside antibiotics, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 2): 212 (1983).