

Gram-Negatif Bakterilerde İseпамisin ve Diğer Aminoglikozid Antibiyotiklere Karşı Direnç

Sedat Kaygusuz, Ergin Ayaşlıoğlu, Özlem Özlük, Dilek Kılıç

Özet: Bu çalışmada, hastane infeksiyonu etkeni olarak çeşitli klinik örneklerden izole edilen 546 *Escherichia coli*, 116 *Proteus spp.*, 87 *Klebsiella spp.*, 56 *Enterobacter spp.* ve 56 nonfermentatif bakteride beş farklı aminoglikozide karşı direnç durumu Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak NCCLS kriterlerine göre araştırılmıştır. İzole edilen Gram-negatif bakterilerin aminoglikozidlere karşı direnç oranları isepamisinde %0.8, amikasinde %2, netilmisinde %2.1, gentamisinde %5.9 ve tobramisinde %7.9 olarak elde edilmiştir. İseпамisin en yüksek, tobramisin ise en düşük duyarlılık oranının görüldüğü aminoglikozid olarak belirlenmiştir. Düşük bulunan aminoglikozid direncinin iyi kontrol edilmesi ve rasyonel antibiyotik kullanımına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Aminoglikozid, isepamisin, Gram-negatif bakteriler.

Summary: The resistance of Gram-negative rods against isepamicin and other aminoglycosides. This study was conducted to investigate the resistance of Gram-negative rods against isepamicin and other aminoglycosides. Resistance against five different aminoglycosides were tested in 861 Gram-negative microorganisms which were isolated in nosocomial infections, including 546 *Escherichia coli*, 116 *Proteus spp.*, 87 *Klebsiella spp.*, 56 *Enterobacter spp.* and 56 nonfermentative bacteria. The microorganisms from various infection sites tested by using the disk diffusion method according to NCCLS recommendations. The resistance rates of all Gram-negative bacteria included in the study were 0.8% for isepamicin, 2.0% for amikacin, 2.1% for netilmicin, 5.9% for gentamicin and 7.9% for tobramycin. We conclude that isepamicin is the aminoglycoside with highest activity, and tobramycin with highest resistance rate. The resistance of aminoglycoside should be controlled and the use of rational antibiotic should be taken into consideration in nosocomial infections.

Key Words: Aminoglycoside, isepamicin, Gram-negative bacteria.

Giriş

Aminoglikozidler, gerek hastane kökenli gerekse toplum kökenli infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Kullanıma giren diğer birçok antibiyotik nedeniyle, aminoglikozidler daha çok kombine antibiyoterapide kullanılmaktadırlar. Tüm antibiyotiklerde olduğu gibi bu grup antibiyotiklere de gelişen direnç tedavi sonuçlarını etkilemektedir (1,2). Aminoglikozidlere direnç oranları coğrafı farklılıklar göstermekte, kullanılan rejimlere bağlı olarak hastaneler veya klinikler arasında değişen direnç oranları görülebilmektedir (2-4).

İseпамisin (ISP), yeni semisentetik bir aminoglikozid türevi olup, gentamisinden (GN) türetilmiştir. Aminoglikozidleri inaktive eden enzimlere karşı aktivite gösterir ve stabilitesi daha yüksektir. Aminoglikozid modifiye eden enzim içermeyen *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* ve *Serratia spp.* klinik izolatlarına karşı aktivitesi daha yüksektir (5). Amikasin (AK) inaktive eden 6'-aminoasetiltransferaz-I enzimi (AAC-6'-I) için zayıf bir substrat olup, bu enzimi sentezleyen ve böylece AK'ye direnç gösteren bak-

terilere karşı etkilidir (2). Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus spp.* gibi inaktive edici enzimi olmayan türlere karşı aktivite spektrumu AK ile karşılaştırılabilir (6).

Gram-negatif bakteriler (GNB)'de aminoglikozid grubu ilaçlara karşı direnç gelişmesinde en önemli mekanizma, ilacı inaktive eden modifiye edici enzimlerdir. ISP, GN'yi inaktive eden 2'-AAC veya aminoglikozid AAC tarafından modifiye edilmez ve AK'yı inaktive eden 6'-AAC enzimi tarafından daha az etkilenir. Bunun sonucu olarak, ISP'ye dirençli suşların sıklığı AK ve diğer aminoglikozidlere karşı olan direnç sıklığından daha azdır (2-4,7,8).

Bu çalışmada ISP'nin hastane kaynaklı Gram-negatif bakterilerde diğer aminoglikozidlerle (AK, NET, GN, TOB) birlikte direnç oranları araştırılmış ve karşılaştırılmıştır.

Yöntemler

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına Ocak 2001-Ocak 2003 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden hastane infeksiyonu düşünülen hastalardan gönderilen çeşitli klinik örnekler standard yöntemlerle ekilmiş ve 35°C' de 18-24 saat süreyle aerop şartlarda inkübe edilmiştir. Her hastadan yalnız bir örnek çalışmaya alınmıştır. Üreme saptanan kültürlerden izole edilen bakteriler koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özellikleri, IMViC testi, oksidaz ve API 20E (bioMerieux) sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. *P. aeruginosa* dışındaki

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale

XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (30 Mart-3 Nisan 2003, İstanbul)'nde bildirilmiştir.

Tablo 1. Çalışmaya Alınan Gram-Negatif Bakterilerin Dağılımı

Mikroorganizma	Sayı	(%)
<i>E. coli</i>	546	(63.4)
<i>Enterobacter</i> spp.	56	(6.5)
<i>Klebsiella</i> spp.	87	(10.1)
<i>Proteus</i> spp.	116	(13.5)
Nonfermentatif bakteriler*	56	(6.5)
Toplam	861	(100.0)

*40'ı *P. aeruginosa*; 16'sı diğer nonfermentatif bakteriler.

nonfermentatif bakteriler ise tiplendirilmemiştir. İzole edilen *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *P. aeruginosa* ve diğer nonfermentatif bakteri suşlarının AK (30 g), GN (15 g), TOB (10 g), ve NET (30 g) diskleri kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile NCCLS kriterlerine uygun olarak çalışılmıştır (9). ISP (30 g) duyarlılığı ise Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie kriterlerine göre değerlendirilmiştir (10). Kalite kontrol suşları olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

İstatistiksel değerlendirme SPSS (8.0 versiyon) programında Pearson ² yöntemiyle yapılmıştır. Aminoglikozidlere karşı elde edilen direnç oranlarının Gram-negatif bakteriler arasındaki istatistiksel farklılığı değerlendirildi.

Sonuçlar

Çalışmamızda, *E. coli* en fazla çalışılan Gram-negatif bakteri olmuştur (Tablo 1). Duyarlılık oranı en yüksek aminoglikozid, ISP olarak belirlenirken, tüm antibiyotiklere karşı en dirençli mikroorganizma grubu nonfermentatif bakteriler olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

İrdeleme

Aminoglikozidler kimyasal olarak oldukça stabil, geniş antibakteriyel spektruma sahip, yıllardır kullanılmakta olan, hızlı bakterisid ve beta-laktam antibiyotiklerle sinerjistik etkili antibiyotiklerdir. Günde tek doz kullanılabilirliği, uygulama kolaylığının yanında yan etki insidansını da azaltmaktadır (11).

Aminoglikozid antibiyotikler Gram-negatif bakterilerin etken olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde sıklıkla tercih edilmektedirler. Ancak, aminoglikozid antibiyotiklerin Gram-negatif bakteri infeksiyonlarına karşı yaygın kullanımının olduğu yerlerde, mikroorganizmaların modifiye edici enzimleri yoluyla meydana getirilen direnç nedeniyle tedavide klinik başarısızlıklar yaşanmaktadır (2,4).

Yatan hastalardan izole edilen Gram-negatif bakterilerde değişen oranlarda aminoglikozid direnci bildirilmiştir. Vanhoof ve arkadaşları (12)'nin çalışmasında, Gram-negatif bakterilerde ISP direnci %1.2; AK direnci %2.8; NET direnci %7.5; GN direnci %5.9 ve TOB direnci %7.7 oranlarında bildirilmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde yapılan çalışmalarda ise ISP, AK ve GN direnci sırasıyla %9-28.4, %11-22.3, %12 olarak daha yüksek bulunmaktadır (13,14).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Gram-negatif çomaklarda aminoglikozid direnç oranları ISP'de %0-36; AK'de %1-46; NET'de %6.1-26; GN'de %12.5-45 ve TOB'de %12.5-53 arasında bildirilmiştir (15-18). Yoğun bakım ünitelerinde ise aynı oranlar sırasıyla %39.4; %49.8; %50; %61.7 ve %52.4 olarak rapor edilmiştir (19). Toplum kökenli suşlarda ise direnç oranları daha düşük olarak elde edilmektedir (15).

Çalışmamızda Gram-negatif bakterilerde ISP direncini %0.8; AK direncini %2.0; NET direncini %2.1; GN direncini %5.9 ve TOB direncini %7.9 olarak tespit edilmiştir. Direnç oranlarımız yapılan diğer çalışmalara göre oldukça düşük bulunmuştur. Hastanemizin yeni kurulmuş olması, hasta yatak sayısının 150 civarında olmasına karşılık hızlı bir sirkülasyon olması, buna karşılık deneyimli yardımcı personel sayısının yetersiz oluşu vaka sayısının artışı doğururken, yoğun bakım ünitesinin bulunmaması ve yaygın antibiyotik kullanımının olmaması, düşük direnç durumu için sayılabilecek nedenlerden bazılarıdır. Ayrıca hastanemizde kurulu olan antibiyotik kontrol komitesi ile eczanenin yakın ilişkisi sonucu düzenli bir antibiyotik uygulaması mevcuttur. Bu da dirençli suşlarla infeksiyonun gelişmesini önleyici bir sonucu doğurmaktadır. Bölgemizde antimikrobiyal tedavide ISP yaygın kullanımda değildir. Buna karşın gerek cerrahi profilakside ve gerekse diğer uygulamalarda gentamisin ve tobramisin daha yaygın kullanılmaktadır. Nitekim, çalışmamızda en yüksek direnç oranı bu antibiyotiklerde alınmıştır.

Hastane kaynaklı *E. coli* suşlarında direnç oranları ISP'de %0-26; AK'de %6-39; NET'de %2-34.2; GN'de %13-62.8 ve

Tablo 2. Beş Farklı Aminoglikozid Antibiyotikğin Beş Farklı Gram-Negatif Bakteriye Karşı Direnç Durumları

Mikroorganizma	ISP		AK		NET		GN		TOB	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>E. coli</i>	525	(0.4)	526	(1.3)	499	(0.4)	500	(6.6)	498	(8.8)
<i>Enterobacter</i> spp.	54	(0)	54	(3.7)	54	(0)	54	(0)	50	(6)
<i>Klebsiella</i> spp.	86	(2.3)	86	(2.3)	86	(8.1)	69	(5.8)	69	(13)
<i>Proteus</i> spp.	115	(0)	114	(2.6)	116	(0)	101	(4)	87	(0)
Nonfermentatif bakteriler	52	(5.7)	52	(5.8)	49	(4.1)	40	(10)	40	(7.5)
<i>p</i>	0.003		0.357		0.003		0.073		0.015	
Toplam	832	(0.8)	832	(2.0)	804	(2.1)	764	(5.9)	744	(7.9)

TOB'de %13-57.1 olarak bildirilmiştir (15,16,20-22). Yatan hasta kaynaklı *Klebsiella* spp. izolatlarında ISP'de %0-45; AK'de %13.1-64; NET'de %20-64; GN'de %60.6-73 ve TOB'de %57.3-82 olarak bildirilirken, *Enterobacter* türlerinde ise sırasıyla %2-80; %12-70; %2-10; %35-73 ve %90 olarak saptanmıştır (15,16,18,22). *P. aeruginosa* suşlarında ISP'ye %15-59.3; AK'ye % 19-53, NET'e %22-53.9, GN'ye %45-63.7 ve TOB'ye %44.2-60 oranlarında direnç bulunmuştur (2,15,18,21-23). Bu sonuçlar ülkemizdeki direnç aralığının bölgeden bölgeye ve ünitelere kadar ne kadar geniş bir aralıkta değiştiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, *E. coli* suşlarına karşı AK direnç oranı, nonfermentatif bakterilerden anlamlı olarak daha düşük bulunurken ($p=0.032$), diğer suşlar arasında direnç oranları benzer bulunmuştur ($p=0.357$). Nonfermentatif bakterilere (çoğunluğu *P. aeruginosa*) karşı elde edilen aminoglikozid direnci genel olarak en yüksek bulunmuştur (Tablo 2). NET'e karşı, *Enterobacter* ve *Proteus* türlerinde direnç tespit edilmezken, *Klebsiella* türlerinde istatistiksel olarak anlamlı yüksek direnç (%8.1) tespit edilmiştir ($p=0.0003$). Hastanemizdeki yaygın kullanılan aminoglikozid olan GN'ye karşı tüm GNB türlerinde benzer direnç oranları tespit edilmiştir ($p=0.073$). TOB, en yüksek direnç oranının elde edildiği aminoglikozid iken, bu antibiyotiğe karşı en yüksek direnç (%13) *Klebsiella* suşlarında elde edilmiştir. Buna karşın *Proteus* suşlarında TOB'ye direnç tespit edilmemiştir. Hastanemizden izole edilen Gram-negatif bakterilerde direnç oranı en düşük aminoglikozidin ise Türkiye'de kullanıma en son girmiş olan ISP (%0.8) olduğu belirlendi.

Aminoglikozidler hastane infeksiyonu etkeni olan GNB'de sistemik olarak sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Her ne kadar direnç oranlarımız düşük olsa da aminoglikozid kullanım politikaları sıklıkla gözden geçirilmeli, direnç oranları yüksek olan antibiyotiğin kullanımı belli bir süre için azaltılmalı, direnç mekanizmaları araştırılmalıdır. Elde edilen veriler doğrultusunda antibiyotik kullanımı yönlendirilmelidir.

Kaynaklar

1. Erdem B. Enterobacteriaceae. In: Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 472
2. Gür D, Tutar İ, Vardar ÜG, et al. İseпамisinin hastane izolatı Gram negatif bakterilere karşı in vitro etkisi. *Hastane İnfeksiyon Dergisi* 2001; 5(Suppl 1): 19-24
3. Miller GH, Sabatelli FŞ, Hare RS, et al. The most frequent aminoglycosides resistance mechanism changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycosides usage patterns. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S46-62
4. Leblebicioğlu H, Şencan İ, Eroğlu C, Sünbül M, Esen Ş, Günaydın M. Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid direnç mekanizmaları. *Klimik Dergisi* 1998; 11(2): 50-2
5. Caulin E, Coutrot A, Carbon C, Collatz E. Resistance to amikacin and isepamicin in rabbits with experimental endocarditis of an aac(69)-Ib-bearing strain of *Klebsiella pneumoniae* susceptible in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(12): 2848-53
6. Jacoby GA, Blaser MJ, Santanam P, et al. Appearance of amikacin and tobramycin resistance due to 4'-aminoglycoside nucleotidyltransferase [ANT(49)-II] in gram-negative pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2381-6
7. Radwanski E, Batra V, Cayen M, et al. Pharmacokinetics of isepamicin following a single administration by intravenous infusion or intramuscular injections. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(8): 1794-6
8. Barr WH, Colucci R, Radwanski E, et al. Pharmacokinetics of isepamicin. *J Chemother* 1995; 7 (Suppl 2): 53-61
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. Approved standard M2-A7. Villanova, Pa: NCCLS, 2002
10. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Comminique 2000-2001*. Paris: Société Française de Microbiologie, 2000
11. Mistık R. Aminoglikozid antibiyotikler ve günde tek doz kullanımları. *Klimik Dergisi* 2000; 13(2): 43-5
12. Vanhoof R, Nyssen HJ, Van Bossuyt E, Hannecart-Pokarni E, Aminoglycosides Study Group. Aminoglycoside resistance in Gram negative isolates from various hospitals in Belgium and the Grand Duchy of Luxembourg. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(4): 483-8
13. Belgian Iseпамisin Multicenter Study Group. Comparative in vitro activity of isepamicin and other antibiotics against gram-negative bacilli from intensive care units (ICU) in Belgium. *Acta Clin Belg* 2001; 56 (5): 307-15.
14. Vincent P, Vachee A, Izard D. Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to amikacin and to isepamicin in surgery and in intensive care. *Pathol Biol* 1997; 45(9): 771-5
15. Şahin İ, Şencan İ, Kaya D, Öksüz Ş, Yıldırım M. Yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından izole edilen Gram negatif bakterilerde isepamicin ve diğer aminoglikozidlere direnç. *Ankem Dergisi* 2002; 16(4): 445-9
16. Ayyıldız A, Kocazeybek B, Arıtürk S. Değişik klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* 2002; 16: 1-3
17. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH, Aminoglycoside Resistance Study Group. The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms and prevalence of newly recognized resistance mechanisms in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(9): 470-8
18. Baysallar M, Küçükaraaslan A, Aydoğan H, Başustaoğlu A. Çeşitli örneklerden izole edilen Gram negatif bakterilerde izepamicin ve diğer aminoglikozidlere direnç. *İnfeksiyon Dergisi* 2003; 17(1): 49-53
19. Aydın K, Çaylan R, Köksal İ, Kostakoğlu U, Bayraktar Ö, Üstünakın M. Yoğun bakım hastalarından izole edilen Gram negatif bakterilerde izepamicin ve diğer aminoglikozidlere direnç. *Ankem Dergisi* 2001; 15: 74-8
20. Willke A, Akalın H, Erdoğan S, Urbarlı A, Saltoğlu N, Arman D. Gram negatif çomaklarda aminoglikozid direnci [Özet]. In: *X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (15-19 Ekim 2001, Adana) *Program Kitabı*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği & Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2001: 287
21. Mendeş H, Geyik MF, Kökoğlu OF, Hoşoğlu S, Ayaz C. Hastane ve toplum kaynaklı Gram negatif bakterilerde aminoglikozid direnci [Özet]. In: *X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (15-19 Ekim 2001, Adana) *Program Kitabı*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği & Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2001: 269
22. Ertek M, Yazgı H, Özkurt Z, Uyanık MH, Aktaş O. Hastane izolatlarında aminoglikozid direnci [Özet]. *Klimik Dergisi* 2003; 16(Suppl): 354
23. Aygün G, Yanık S, Bilgiç V, Yaşar H, Uçkan EN, Polat E, Altaş K. Hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda aminoglikozidlere direnç oranları [Özet]. *Klimik Dergisi* 2003; 16(Suppl): 354