

# Dirençli *Pseudomonas* Suşlarında Amikasin ve Meropenem Kombinasyonunun E-Test® Yöntemi ile FIC İndeksi Kriterlerine Göre Değerlendirilmesi

Kadriye Ürkmez, Gönül Şengöz

**Özet:** *Pseudomonas* cinsi bakterilerde görülen yüksek antibiyotik direnci, bu bakterilerle oluşan ciddi infeksiyonlarda antibiyotiklerin kombine kullanılmasını gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada, çeşitli materyallerden elde edilen ve E-test® yöntemi ile meropenem ve amikasin en az birine karşı dirençli bulunan, 15 *Pseudomonas* suşu için, bu iki antibiyotik kombinasyonunun etkileri, yine E-test® yöntemi kullanılarak, fraksiyone inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi kriterlerine göre değerlendirilmiştir. 15 *Pseudomonas* suşunda amikasin direnci %60, meropenem direnci ise % 86 olarak saptanmıştır. Bu iki antibiyotik kombinasyonundaki sinerji oranı ise %40 olarak tespit edilmiştir. Sinerji saptanan kombinasyonların %66'sında kombinasyonun minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) her iki antibiyotik için de duyarlı sınırlara inmiştir. Çoğul dirençli *Pseudomonas* suşlarıyla oluşan hastane infeksiyonlarının tedavisi için antibiyotik seçenekleri daraldığında, kombinasyon testleri yeni tedavi seçenekleri yaratabilir.

**Anahtar Sözcükler:** FİK indeksi, *Pseudomonas* spp., kombinasyon tedavisi.

**Summary:** The evaluation of amikacin and meropenem combination according to FIC index criteria with E-test® method in resistant *Pseudomonas* strains. The high antimicrobial resistance of *Pseudomonas* strains, causes us to use combination of antibiotics in serious infections caused by these bacteria. In this study, 15 *Pseudomonas* strains which were found resistant at least to one of meropenem or amikacin antibiotics with E-test® method isolated from various materials, were studied again with E-test® method for their fractional inhibitory concentration (FIC) index for the combination effect of meropenem and amikacin. The resistance rates of these 15 *Pseudomonas* strains were 60% and 86% for amikacin and meropenem, respectively. The synergy rates for these two antibiotics were found 40%. The minimal inhibitory concentrations (MIC) of 66% of synergistic combinations fell in sensitive ranges. When the treatment alternatives for nosocomial infections caused by multi-resistant *Pseudomonas* strains is less, combination tests may present new treatment alternatives.

**Key Words:** FIC index, *Pseudomonas* spp., combination treatment

## Giriş

Önemli bir hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas* cinsi bakterilerdeki yüksek antibiyotik direnci, bu infeksiyonların tedavisinde antibiyotiklerin kombine kullanılmasını gerekli kılmıştır. Antibiyotiklerin birlikte kullanılmasını sonucu oluşan sinerjistik etkiden yararlanarak, direnç gelişimini önlemek ve daha düşük dozda uygulanmaları ile de yan etki olasılığını azaltmak amacıyla, β-laktam antibiyotikler, kinolonlar ve aminoglikozidler kombinasyon halinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, çoğunlukla yoğun bakım ünitesi (YBÜ) kaynaklı olmak üzere çeşitli materyallerden izole edilen *Pseudomonas* suşlarının, meropenem ve amikasinine karşı MİK değerleri E-test® yöntemi ile belirlenmiştir. Bu iki antibiyotikten en az birine dirençli bulunan 15 *Pseudomonas* suşuna, bu iki antibiyotik kombinasyonunun in vitro etkileri yine E-test® yöntemi ile araştırılmıştır. Kombinasyonun etkililiğini ortaya koymak için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi kullanılmıştır.

## Yöntemler

Çalışmamızda, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gönderilen materyallerden izole edilen *Pseudomonas* cinsi bakterilerin tür düzeyinde isimlendirmesi, Mini API (bioMerieux, Fransa) sistemi ile yapılmıştır.

E-test® ile FİK indeksi araştırması yaparken önce meropenem ve amikasinin tek başlarına minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir. Kombinasyonun MİK değerini bulmak için önce amikasin E-test® (AB Biodisk, Solna, İsveç) sribi yerleştirilmiş ve bir saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra bu strip kaldırılmış ve aynı yere, ama konsantrasyon çizgileri tam çakışacak şekilde önceden işaretlenen hizada, meropenem sribi yerleştirilerek 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra E-test® sribi etrafında oluşan duyarlılık zonunun kestiği konsantrasyon kaydedilmiştir. Aynı işlem önce meropenem ve sonra amikasin olacak şekilde tekrarlanmıştır (1-4) (Şekil 1).

Kombinasyon etkililiğinin belirlenmesi için kullanılan FİK indeksi şöyle hesaplanmıştır:

$$FİK_A = \frac{MİK_A [B \text{ 'nin varlığında A (A+B)]}}{MİK_A \text{ (A tek başına)}}$$

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Aksaray-İstanbul

3rd Balkan Conference of Microbiology (4-6 Eylül 2003, İstanbul)'de bildirilmiştir.

$$FİK_B = MİK_B [A'nın varlığında B (B+A)]$$

$$MİK_B (B tek başına)$$

$$FİK \text{ İndeksi} = FİK_A + FİK_B$$

Elde edilen FİK indeksleri şu kriterlere göre değerlendirilmiştir: FİK indeksi  $\leq 0.5$  sinerjik;  $>0.5-1$  aditif;  $>1 - <2$  indiferan;  $\geq 2$  antagonist (1,2).

### Sonuçlar

Çalışma kapsamında incelenen 15 suşun, %46 trakeal aspirat, %20 hemokültür, %20 idrar, %7 yara ve %7 çoklu uçlu kate-terlerden gönderilen materyallerden elde edildiği görülmüştür. Bu suşlar, %73 yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nden, %13 nöroloji servisinde, %7 dahiliye ve %7 polikliniklerden gönderilen materyallerden elde edilmiştir.

Suşların izole edildiği hastaların 9'unun erkek olduğu, YBÜ'de yatmakta olan hastaların, çoklu organ yetmezliği gibi ağır klinik tablolara sahip oldukları görülmüştür. Bu hastaların sahip oldukları altta yatan hastalıklar incelendiğinde iki hastada diyabet, iki hastada kronik akciğer hastalığı, iki hastada da kronik kalp yetmezliği olduğu görülmüştür. Hastaların içinde buldukları yaş grupları da dikkat çekicidir. Hastaların hepsi 40 yaş üstü ve bunların da %35'i 60 yaş üstü grupta yer almaktadır. Ağır hastalık tabloları ile birlikte altta yatan hastalıkları olan ve çoğu uç yaşlarda yer alan ve YBÜ şartlarına gereksinimi olan bu hastaların aldıkları antibiyotik tedavileri Tablo 1'de izlenmektedir.

15 *Pseudomonas* suşununun 14'ü *P. aeruginosa* bir tanesi *P. cepacia* (*Burkholderia cepacia*) olarak adlandırılmıştır. E-test® yöntemi ile yapılan duyarlılık testi sonuçları Tablo 2'de görülmektedir.

E-test® ile bulunan MİK değerlerine göre 15 *Pseudomonas* suşundan 13'ünün meropeneme dirençli, 11'inin amikasin dirençli, 2'sinin orta duyarlıdır. Bu sonuçlara göre amikasin %60, meropenem de %86 oranında dirençli bulunmuştur.

**Tablo 1. Suşların İzole Edildikleri Hastaların Kullandıkları Antibiyotikler**

Antibiyotikler	Sayı
-laktam / -laktamaz inhibitörü + Aminoglikozid	6
-laktam + Aminoglikozid	3
Karbapenem + Aminoglikozid	4
Antibiyotik almayan	2

**Tablo 2. E-test® ile MİK Aralıkları (µg/ml)**

İlaç	Aralık (µg/ml)	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	Duyarlılık Sınırı
Amikasin	3 - >256	32	192	>32 - <16
Meropenem	0.064 - >32	> 32	>32	>16 - <4

Bu çalışmada altı sinerjik, altı aditif, iki indiferan, bir de antagonist sonuç alınmıştır. Bu sonuçlara göre meropenem ve amikasin kombinasyonunda %40 oranında sinerji saptanmıştır. Sinerji saptanan kombinasyonların %66'sında kombinasyon MİK değeri, her iki antibiyotik için de duyarlı sınırlara inmiştir.

### İrdeleme

*Pseudomonas* cinsi bakteriler, değişik sıcaklık derecelerine toleransları, güçlü metabolizmaları ve birçok antibiyotik ve antiseptiklere dirençleri nedeniyle hastane ortamında kolaylıkla barınıp çoğalabilmekte, bu özellikleri nedeniyle, *P. aeruginosa*, hastane kaynaklı infeksiyonlarda en önemli etkenlerden biri olmaktadır. *P. aeruginosa*, yoğun bakım hastaları, yanık hastaları, kistik fibroz hastaları, nötrojenik ve immün yetmezlikli bireyler, prematürel ve konjenital kalp hastalığı olan çocuklarda infeksiyon etkeni olarak sıklıkla izole edilmektedir. Belirli predispozan faktörlerin varlığında, farklı klinik bulgularla seyreden infeksiyonlar oluşturmakta ve hem kullanılmakta olan birçok antibiyotiğe karşı kısa sürede direnç geliştirebilmesi, hem de pek çok antibiyotiğe intrinsek dirençli olması sebebiyle tedavide ciddi problemlere yol açmaktadır.

*Pseudomonas* infeksiyonlarında bazı üçüncü kuşak sefalosporinler, kinolonlar, karbapenemler, aminoglikozidler ve anti-*Pseudomonas* penisiliniler kullanılmaktadır. Ancak yoğun bakım ünitelerindeki suşlarda bu antibiyotiklere yüksek oranda direnç tespit edilmeye başlanmıştır. Yüksek antibiyotik direnci bu infeksiyonların tedavisinde antibiyotiklerin kombine kullanılmasını gerekli kılmıştır. Antibiyotiklerin birbirlerinin etkililiğini artırması sonucunda oluşan sinerjistik etkiden yararlanarak bakterinin inhibisyonunu sağlamak, direnç gelişimini yavaşlatmak ve daha düşük dozlarda uygulanarak yan etki olasılığını azaltmak amacıyla, -laktam antibiyotiklerle kinolonlar ve aminoglikozidler kombinasyon halinde kullanılmaktadır.

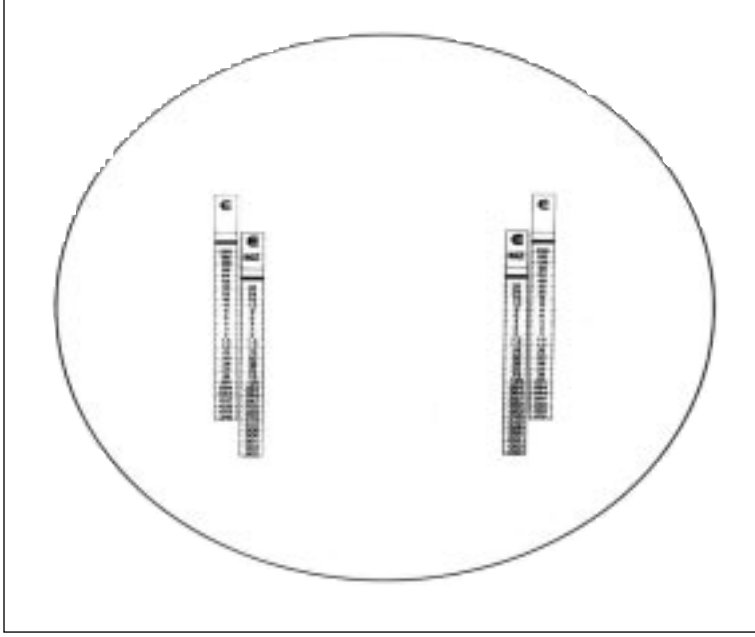
Bu çalışmada çoğunluğu YBÜ'den gönderilen çeşitli materyallerden elde edilen 15 *Pseudomonas* suşuna mini API yöntemi ile tür düzeyinde tanımlama yapıldı ve bu suşların 14'ünün *P. aeruginosa*, 1 tanesinin *B. cepacia* olduğu tespit edildi. Bu suşların E-test® yöntemi ile amikasin ve meropeneme karşı duyarlılıkları araştırılarak MİK değerleri belirlendi. E-test® ile bu suşlar amikasin %60, meropeneme de %86 dirençli bulunmuştur.

Ağuş ve arkadaşları (5)'nin 2000 yılında SSK Tepecik Eğitim Hastanesinde YBÜ'den izole ettikleri 77 *Pseudomonas* suşu üzerinde yapılan çalışmada; amikasin %22, imipenem %26 direnç saptanmıştır.

Güngör ve arkadaşları (6)'nin yine 2000 yılında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi YBÜ'den izole ettikleri 44 *Pseudomonas* suşunda, disk difüzyon ile yaptıkları direnç çalışmasında, amikasin %36.5, imipenem %48 oranında direnç saptanmıştır.

Erdemoğlu ve arkadaşları (7)'nin 1999 yılında 276 *P. aeruginosa* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada amikasin %33.3, imipenem %11.6 direnç tesbit edilmiştir.

Bizim çalışmamız, *Pseudomonas*'lardaki direnç durumundan çok, kombinasyon testlerinin etkililiğini araştırmaya yönelik olduğu için, suşlar rastgele seçilmeyip çoklu antibiyotik direnci gösteren kökenlerin çalışmada yer almasına dikkat edilmiştir. Bu yüzden



**Şekil 1.** Stripler yerleştirilirken aynı konsantrasyon hizaları tam sağlanmalıdır.

bizim çalışmamızdaki direnç oranları, diğer pek çok çalışmaktan daha yüksek çıkmıştır.

Çalışmamızda 15 *Pseudomonas* suşuna E-test® yöntemi ile meropenem ve amikasin kombinasyon testi yapıldı ve sonuçlar FIC indeksi kriterlerine göre değerlendirildi. Buna göre %40 sinerjik, %40 aditif, %13 indifferan ve %7 antagonist sonuç elde edilmiştir.

Kocazeybek ve arkadaşları (8)'nin İstanbul'daki dört farklı hastanenin YBÜ'lerinden izole ettikleri çoğul dirençli 50 *P. aeruginosa* suşunda, yine E-test® yöntemi ile yaptıkları kombinasyon testlerinde, gentamisin ile seftazidime %19, tobramisin ile seftazidime %14, gentamisin ile siprofloksasine %10 oranında sinerji saptanmıştır.

Karakoç ve Gerçeker (9)'in 50 *P. aeruginosa* suşunda mikrodilüsyon dama tahtası yöntemiyle yaptıkları çalışmada, meropenem ve amikasin ile %40 oranında sinerji saptanmıştır. Bu oran bizim çalışmamızla aynıdır.

*Pseudomonas* infeksiyonları bugün özellikle YBÜ hastaları için hayatı tehdit edici en önemli sorunlardan biridir. Bu bakterilerde zaten kısıtlı olan antibiyotik seçenekleri, özellikle tedavi sırasında gelişen direnç nedeniyle daha fazla zorluk yaratılmaktadır. Yapılan kombinasyonların etkililiğinin denetlenebilmesi için bugün kullanılabilir bir yöntem olan E-test® yön-

teminin varlığı yeni ufuklar açmaktadır. Testin maliyet giderleri dirençli bir *Pseudomonas* suşu ile oluşabilecek bir hastane epidemisinin giderleri yanında çok önemsiz kalmaktadır.

Bu ve diğer pek çok çalışma göstermektedir ki, *Pseudomonas*'larda multipl antibiyotik direnci giderek artmakta ve bu infeksiyonların tedavisinde klinisyenleri çaresiz duruma düşürmektedir. Kombinasyon tedavisinin *Pseudomonas*'lardaki yeri sadece direnç gelişimini yavaşlatmak değil, uygun kombinasyonlarda dirençli antibiyotikleri duyarlı MİK değerlerine indirme seçeneği de sunmasıdır. Bunun için dirençli *Pseudomonas* cinsi bakterilerle oluşan ciddi infeksiyonlarda, kombinasyon testleri yapılarak hastaya antibiyoterapi şansı tanınmalıdır.

### Kaynaklar

1. Bal Ç. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin saptanması. *Flora* 1999; 4(4): 219-29
2. Korenian M. E-test Practical Guide: *Synergy Testing & Antibiotic Combinations*. Solna, Sweden: AB Biodisk, 1999
3. Gülay Z. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler. In: ADTS Çalışma Grubu. *Antibiyotik Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1998: 85-100
4. Bolmström A, Arvidson S, Ericsson M, Karlsson A. New in vitro models for studying antibiotic combinations using predefined antibiotic gradients [Abstract]. In: *16th International Congress of Chemotherapy* (Jerusalem, Israel, June 11-16, 1989) Abstracts. Boston, MA: International Society for Infectious Diseases, 1989: 261
5. Ağuş N, Sarıca A, Şahinoğlu L, Büyükkiz MA, Akkoçlu G, Dağdeviren Uç H. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas* ve benzeri suşların tiplendirilmesi ve çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının E test yöntemi ile belirlenmesi [Özet]. *Ankem Derg* 2000; 14(2): 151
6. Güngör Ş, Çolpan A, Baykam N, Erbay A, Dokuzoğuz B. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas* suşlarında direnç [Özet]. *Ankem Derg* 2000; 14(2): 151
7. Erdemoğlu A, Özcan Ş, Diler M, Sezer O, Kurukuyu T. Hemokültürlerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının değişik antibiyotiklere duyarlılıkları [Özet]. *Ankem Derg* 2000; 14(2): 154
8. Kocazeybek B, Ayyıldız A, Ordu A, Küçükateş E, Çakan H, Gülsoy Ö. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen çoğul dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkisinin E test yöntemiyle araştırılması [Özet]. *Ankem Derg* 2000; 14(2): 157
9. Karakoç B, Gerçeker AA. Seftazidim ve meropenemin tek başına ve amikasin ile kombinasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına in vitro etkilerinin araştırılması [Özet]. *Ankem Derg* 2000; 14(2): 157