

GRAM-NEGATİF BAKTERİLERDE İSEPAMİSİN, AMİKASİN VE GENTAMİSİNE KARŞI DİRENÇ

RESISTANCE TO ISEPAMICIN, AMIKACIN AND GENTAMICIN IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Emine KÜÇÜKATEŞ¹

Erhan KANSIZ²

Nazmi GÜLTEKİN³

İstanbul Üniversitesi, Kardiyoloji Enstitüsü, İstanbul

¹ Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı

² Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

³ Kardiyoloji Anabilim Dalı

Anahtar Sözcükler: İsepamisin, Gram-negatif çomak, yoğun bakım ünitesi, aminoglikozit antibiyotikler, *in vitro* antibiyotik duyarlılığı, E-test

Keywords: Isepamicin, Gram-negative rod, intensive care unit, aminoglycoside antibiotics, *in vitro* antibiotic susceptibility, E-test

Geliş: 05 Şubat 2007

Kabul: 26 Şubat 2007

ÖZET

Aminoglikozit grubu antibiyotikler özellikle hastane infeksiyonlarında yaygın olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, bu antibiyotiklere karşı gelişen direnç önemli bir sorundur. Bu çalışmada, cerrahi ve koroner yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 260 Gram-negatif çomak değerlendirilmeye alınmıştır. En sık izole edilen Gram-negatif çomaklar *Pseudomonas aeruginosa* (%25.8) ve *Klebsiella pneumoniae* (%25.8) idi. Bunları, *Acinetobacter baumannii* (%19.2) izledi. İzole edilen Gram-negatif çomakların aminoglikozitlere karşı E-testi ile duyarlılık oranları isepamisinde %73.4, amikasinde %65.3 ve gentamisinde %56.5 olarak belirlendi. Bu sonuçlara göre, isepamisin Gram-negatif çomaklara karşı aminoglikozitler içinde *in vitro* etkisi en yüksek olan antibiyotik olarak bulunmuş, ancak isepamisine önemli oranda direnç saptanmıştır.

SUMMARY

Aminoglycoside group antibiotics are commonly used especially in hospital-acquired infections. However, the resistance to these antibiotics is an important problem. In this study, 260 Gram-negative rods isolated in various clinical samples of hospitalized patients in the surgical and coronary intensive care units were evaluated. The most frequently isolated species were *Pseudomonas aeruginosa* (25.8%) and *Klebsiella pneumoniae* (25.8), followed by *Acinetobacter baumannii* (19.2%). The susceptibility rates to aminoglycosides of the rods, determined using E-test, were 73.4% for isepamicin, 65.3% for amikacin and 56.5% for gentamicin. In conclusion, isepamicin was the most effective aminoglycoside against Gram-negative rods whereas the resistance to isepamicin was significant.

GİRİŞ

Aminoglikozitler *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi toprak bakterilerinden (Actinomycetes) elde edilen doğal ya da semisentetik antibiyotiklerdir (1). İlk aminoglikozit antibiyotik olan streptomisin 1944 yılında Walksman tarafından elde edilmiştir ve bakteri infeksiyonlarının

tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (2). Daha sonraları, sırasıyla, neomisin, kanamisin, paromomisin, spektinomisin, gentamisin, tobramisin, sisomisin, dibekasin, amikasin, netilmisin, isepamisin ve arbekasin kullanıma giren diğer aminoglikozitlerdir. En önemli etkinlikleri Gram-negatif çomaklar üzerinedir ve Gram-pozitif etkin-

likleri ise oldukça kısıtlıdır. Tedavide genellikle sinerjistik etkilerinden dolayı diğer antibiyotiklerle kombine olarak kullanılırlar (1, 3). Aminoglikozitlere direnç gelişimi başlıca üç mekanizma ile olmaktadır: Ribozomal direnç, hücre içine girişte azalmaya bağlı direnç ve aminoglikozitleri modifiye edici enzimlere bağlı olarak gelişen direnç. Bunlardan ilk ikisi kromozomaldır. Bu direnç mekanizmaları içinde en sık karşılaşılanları fosfotransferazlar (APH), nukleotidil veya adenil transferazlar (ANT veya AAD) ve asetil transferazlar (AAC) aracılığı ile aminoglikozitlerin modifiye edilerek etkisizleştirilmesi şeklinde oluşmaktadır. Bu grup enzimlerin modifiye ettiği aminoglikozitler, hedef ribozoma bağlanamamakta ve direnç gelişmektedir (1, 2, 4, 5). Aminoglikozitlere direnci sağlayan bu enzimler, bakterideki ekstra kromozomal plazmit ve transpozonlar aracılığıyla diğer bakterilere taşınır ve bakteriler arasında bulaşıcı tipte direnç oluştururlar (1, 2, 4, 5).

Bu çalışmada; İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü'nün yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilen Gram negatif çomaklarda rutinde kullanılan gentamisin ve amikasin direncin araştırılması, ayrıca Enstitü'de çok kısıtlı kullanımı olan isepamisinine karşı da direnç durumunun belirlenerek tedavideki yerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü'nün cerrahi ve koroner yoğun bakım ünitelerindeki hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 67 *Pseudomonas aeruginosa*, 67 *Klebsiella pneumoniae*, 50 *Acinetobacter baumannii*, 30 *Escherichia coli*, 27 *Enterobacter aerogenes* ve 19 *Serratia marcescens* olmak üzere toplam 260 suş çalışmaya alındı. İzole edilen Gram-negatif çomaklar API ID 32E ve 32GN sistem (bio Mérieux, Fransa) veya konvansiyonel yöntemlerle

identifiye edildi. İdentifikasyondan sonra bütün izolatlar %10'luk gliserollü triptik soya buyonunda -70° C'de ileri testler için saklandı. Testlerden önce Gram-negatif çomakların Mueller-Hinton agar (MHA) besiyerinde ikinci defa kültürü yapıldı.

Gram-negatif çomakların isepamisin, amikasin ve gentamisin duyarlılığı E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. İsepamisin için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) yorum kriterleri duyarlı, ≤ 16 mg/L; az duyarlı, 32 mg/L ve dirençli ≥ 64 mg/L olarak uygulandı (6).

Kontrol suşları olarak, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı.

BULGULAR

Çalışma kapsamına toplam 260 aerop Gram-negatif çomak alındı. En sık izole edilen bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* (%25.8) ve *Klebsiella pneumoniae* (%25.8) idi. Bunu, sırası ile, *Acinetobacter baumannii* (%19.2), *Escherichia coli* (%11.5), *Enterobacter aerogenes* (%10.4) ve *Serratia marcescens* (%7.3) izledi (Tablo 1). Gram-negatif çomaklara en duyarlı aminoglikozit isepamisin (%73.4) idi. Bunu amikasin (%65.3) ve gentamisin (%56.5) izledi. Gram-negatif çomaklarda en yüksek direnç gentamisinde görüldü. *Acinetobacter baumannii* aminoglikozitlere en dirençli Gram negatif çomak idi; bunu *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izledi. Gram-negatif çomakların aminoglikozitlere duyarlılığı Tablo 1'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Aminoglikozitler geniş antibakteriyal spektruma sahip, yıllardır yaygın olarak kullanılan, hızlı bakterisit etkili ve günde tek doz uygulama kolaylığı olan antibiyotiklerdir (3). Gram-negatif bakterilerin etken olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde sıklıkla tercih edilirler. Aminoglikozit antibiyo-

Tablo 1. Gram-negatif çomaklarda aminoglikozit antibiyotiklere duyarlılığının dağılımı

Mikro-organizma	Sayı	%	IS (16)	AMK (16)	GN (4)
<i>P. aeruginosa</i>	67	25.8	67.1	62.6	67.1
<i>K. pneumoniae</i>	67	25.8	74.6	53.7	55.2
<i>A. baumannii</i>	50	19.2	58	58	21.9
<i>E. coli</i>	30	11.5	90	83.3	63.3
<i>E. aerogenes</i>	27	10.4	81.4	81.4	74
<i>S. marcescens</i>	19	7.3	94.7	84.2	78.9
Toplam	260	100	73.4	65.3	56.5

IS: İsepamisin, AMK: Amikasin, GN: Gentamisin

tiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak, mikro-organizmaların modifiye edici enzimleri yoluyla direnç gelişmekte ve tedavide başarısızlıklara neden olmaktadır (2, 5, 7-13). Gram-negatif bakterilerde aminoglikozitlere karşı gelişen direnç coğrafik bölgeye göre, hastaneden hastaneye, hatta ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir (5, 7-9). Gram negatif bakterilerde aminoglikozit antibiyotiklere direnç sıklıkla asetiltransferaz (AAC), adeniltransferaz (ANT) ve fosfotransferaz (APH)'lar ile enzimatik modifikasyona bağlıdır. Permeabilite kaybı, ribozomal değişiklik gibi direnç mekanizmaları daha az sıklıkla görülmektedir (2, 5, 7-9, 13).

Çalışmada Gram-negatif çomaklara en etkili aminoglikozitin isepamisin (%73.4) olduğu görülmektedir. Bakteriler ayrı ayrı ele alındığında ise; isepamisin *E. aerogenes*'de %81.4 ve *A. baumannii*'de %58 olup, amikasin ile aynı etkinlikte idi. *Pseudomonas aeruginosa*'da %67.1 olup, isepamisin ile gentamisin aynı etkinlikte idi. İsepamisin; *K. pneumoniae* (%74.6), *E.coli* (%90) ve *S. marcescens* (%94.7)'e karşı en etkili aminoglikozit idi. *Klebsiella pneumoniae*'de ise amikasin (%53.7) ve gentamisin (%55.2)'e düşük duyarlılık gözlenmiştir. *Acinetobacter baumannii* ise gentamisine %21.9 oranı ile en düşük duyarlı bakteri idi. *Pseudomonas aeruginosa* ve *A. baumannii*'de görülen yüksek direnç oranları bu bakterilerdeki seçici olmayan aktif pompa sistemleri aracılığı ile gelişmiş dirence bağlı olabilir. Ayrıca, bu bakterilerin amikasin ve gentamisin direnci de yüksek orandadır.

Över ve ark. (8) Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerindeki 15 merkezde, klinik kullanımdaki aminoglikozitlerden en az birine dirençli toplam 585 Gram-negatif çomakta isepamisine %29.2, amikasına %48.1, gentamisine ise %91.5 oranında direnç bildirilmişler, isepamisini en etkili aminoglikozit olarak bulmuşlar, ancak *Pseudomonas* türlerinde %62 oranında isepamisine direnç saptamışlardır. Söz konusu çalışma sonuçları (8) bu çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında, isepamisine karşı genel direnç durumu benzerlik göstermektedir. Ancak sunulan bu çalışmanın bulguları, adı geçen bakterilerin amikasin ve gentamisine daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Yine Över ve ark. (9), Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerindeki merkezlerden izole edilen toplam 696 Gram-negatif çomakta isepamisine %29.7, amikasına %49.7 ve gentamisine %94.5 oranında direnç saptamışlardır. İsepamisin yine en etkili aminoglikozit olarak saptanmıştır. İsepamisine en yüksek direnç *Acinetobacter* türlerinde (%65) saptanmış ve bunu *Pseudomonas* türleri (%62) izlemiştir.

Aydın ve ark. (14) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen Gram-negatif çomaklarda isepamisine %39.4, amikasına %49.8 ve gentamisine %61.4 oranında direnç bulmuşlardır. En yüksek isepamisin direncini %64.1 oranında *Acinetobacter* cinsinde saptamışlar, bunu %57.2 oranı ile *Pseudomonas* cinsi izlemiştir. Bu çalışmada da isepamisine yüksek oranda direnç, *A. baumannii* (%42) ve *P. aeruginosa*'da (%32.9) bulunmuştur.

Belçika İsepamisin Çokmerkezli Çalışma Grubu (15) 11 merkezin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan elde edilen 798 Enterobacteriaceae ve 289 non-fermantatif Gram-negatif çomakta isepamisine %91, amikasına %89 ve gentamisine ise %88 oranında duyarlılık saptamışlardır. Bu oranlar, bu çalışmanın sonuçları ile kıyaslandığında daha yüksektir.

Kollavá ve ark. (12) hastanede yatan hastalardan izole edilen 239 gentamisine dirençli Gram-negatif çomakta amikasına %78.3 ve isepamisine %81.9 oranında direnç saptamışlardır.

Şengöz ve ark. (16) yoğun bakım ünitesinden izole edilen *Pseudomonas* cinsi bakterilerde %60.6, diğer klinik kökenlerde %34.3 ve genelde %50.3 oranında isepamisine direnç saptamışlar, yoğun bakım ünitesinden elde edilenlerle diğer klinik örnekler arasında isepamsine direnç karşılaştırmalarında anlamlı fark bulmuşlardır.

Tünger ve ark. (17) yoğun bakım ünitesinden elde edilen *P. aeruginosa* suşlarında amikasin duyarlılığını %29, diğer kliniklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında ise amikasin duyarlılığını %77 olarak saptamışlardır.

Aygün ve ark. (18) ise *P. aeruginosa*'da %59.3 oranında isepamisin direnci saptamışlardır.

Eldere (19), Belçika ve Lüksemburg'daki 40 farklı hastaneden nozokomiyal infeksiyon etkeni 716 *P. aeruginosa* kökeninde amikasına %10, isepamisine %12 ve gentamisine %23.5 oranında direnç saptamıştır.

Aminoglikozide direnç mekanizmaları ile ilgili Türkiye'de yapılan ilk çalışmalarda aminoglikozitlere direncin düşük olduğu ve dirençten tek mekanizmanın sorumlu olduğu bulunmuştur (20, 21). Akalın ve ark. (20) 1985'deki çalışmalarında; ANT (2'')-I AAC (3)-I, AAC (3)-II ve AAC (6')-I dirence yol açan mekanizmalar olarak saptanmıştır. Aynı yıllarda Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ANT (2'')-I, Japonya'da AAC (6')-I ve Avrupa'da AAC (3)-II en sık rastlanan direnç mekanizmaları çoğunlukla tek olarak bulunmuştur (22, 23) Kombine direnç mekanizmalarının yaygınlaştığı, 1980'li yıllarda ABD ve Avrupa'da en çok

AAC(3)-II+AAC(6')-I kombinasyonuna yenilerinin eklen-diği gözlenmiştir. Daha sonraki çalışmalarda, özellikle Güney Amerika, Yunanistan ve Türkiye'de kombine direnci mekanizmalarında önemli artışlarla olmuş, ancak bu kombine direnç mekanizmaları Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde sınırlı kalmıştır. *Pseudomonas* cinsi bakterilerde permeabilite direncine ilaveten, özgül direnç mekanizmalarının da kombinasyonlardaki artışı dikkat çekicidir (24, 25). Över ve ark. (8)'nin 2000 yılında direnç mekanizmaları ile ilgili çalışmalarında en sık görülen di-renç mekanizmaları AAC (3)-I (G), AAC(3)-II (GTN), AAC(6')-I (TNA), AAC(6')-IV (GTNA), ANT(2'')-I (GT) ve permeabilite direncidir.

Över ve ark. (9) 2001'de yayınlanan çalışmalarında daha önce buldukları direnç mekanizmalarına ilaveten iki yeni

direnç mekanizmasını AAC(6')-III (TNAI) ve AAC(6')-IV (GTNA) daha bulmuşlardır.

Günümüzde dirençli mikro-organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar gün geçtikçe önemi artan bir sorun haline gelmektedir. Yeni kullanıma giren geniş spektrumlu antibiyotiklerde hızlı bir şekilde direnç gelişmektedir. Bu çalışmada saptanan direnç oranları azımsanmayacak ölçülerdedir. Henüz ünitemizde çok kısıtlı kullanımı olan isepamisinde %26.6 oranında direnç saptanması, dikkat-li bir antibiyotik kullanım politikası izlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak; araştırmaların bun-dan sonraki aşamalarında, aminoglikozitlere karşı direnç belirleme incelemeleri yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Topçu-Willke A. Aminoglikozitler. Topçu-Willke A, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*'nde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 214-23.
2. Kondo S, Hotta K. Semisynthetic aminoglycoside antibiotics: Development and enzymatic modifications. *J Infect Chemother* 1999; 5: 1-9.
3. Mısıktık R. Aminoglikozit antibiyotikler ve günde tek doz kullanımları. *KLİMİK Derg* 2000; 13:43-5.
4. Öncü S, Ertuğrul MB, Çağatay AA, Özşüt H, Eraksoy H, Çalangu S. İseparisin aminoglikozitlere dirençte çözüm mü? *KLİMİK Derg* 2005; 18: 34-7.
5. Gür D. Hastane enfeksiyonlarında önem kazanan Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *Hastane İnfek Derg* 1997; 1: 38-45.
6. Vanhoof R, Nyssen HJ, Van Bossuyt E, Hannecart-Pokorni E. Aminoglycoside resistance in Gram-negative blood isolates from various hospitals in Belgium and the Grand Duchy of Luxembourg. Aminoglycoside Resistance Study Group. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 483-8.
7. Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS, et al. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): S46-62.
8. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH. Gram negatif bakterilerde aminoglikozit antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları: Son gelişmeler ve Türkiye sonuçları. *Flora* 2000; 5: 168-78.
9. Over U, Gur D, Unal S, Miller GH, and the 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: 470-8.
10. Leblebicioğlu H, Şencan İ, Eroğlu C, Sünbül M, Esen Ş, Günaydın M. Gram-negatif bakterilerde aminoglikozit direnç mekanizmaları. *KLİMİK Derg* 1998; 11: 50-2.
11. Gür D, Tutar İ, Vardar ÜG ve ark. İseparisin hastane izolatu Gram negatif bakterilere karşı in vitro etkisi. *Hastane İnfek Derg* 2001; 5 (Suppl 1): 19-24.
12. Kallová J, Kettner M, Macickova T, Milosovic P, Langsadl L. Aminoglycoside resistance. Enzymatic mechanisms in clinical bacterial strains in Slovakia during the last decade. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997; 19: 89-94.
13. Öngen B, Kaygusuz A, Gürlü N, Töreci K. Aminoglikozit dirençli Gram negatif çomak suşlarında saptanan direnç mekanizmaları. *ANKEM Derg* 1997; 11: 507-12.
14. Aydın K, Çaylan R, Köksal İ, Kostakoğlu U, Bayraktar Ö, Üstünakın M. Yoğun bakım hastalarından izole edilen gram negatif bakterilerde isepamisine ve diğer aminoglikozitlere direnç. *ANKEM Derg* 2001; 15: 74-8.
15. Belgian Isepamicin 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: 307-15.
16. Şengöz G, Karabela Ş, Durdu Y ve ark. *Pseudomonas* cinsi bakterilerde isepamisine direncinin araştırılması ve diğer aminoglikozit dirençleriyle karşılaştırılması. *KLİMİK Derg* 2005; 18: 41-4.
17. Tünger A, Yamazhan T, Yüksel E, Özlem F. Yoğun bakım üniteleri ve diğer kliniklerde yatan hastalarda soyutlanan *P. aeruginosa* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 1997; 11: 26-9.

18. **Aygün G, Yanık S, Bilgiç V ve ark.** Hastane infeksiyonu etkeni Gram-negatif çomaklarda aminoglikozitlere direnç oranları [Özet]. *KLİMİK Derg* **2003**; 16 (Suppl): 354.
19. **Eldere JV.** Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J Antimicrob Chemother* **2003**; 51: 347-52.
20. **Akalın HE, Torun M, Alacam R.** Aminoglycoside resistance patterns in Turkey. *Scand J Infect Dis* **1988**; 20: 199-203.
21. **Akalın HE, Lolans V.** Comparison of enzyme-mediated aminoglycoside resistance in gram-negative bacilli isolated in Turkey and the United States. *J Infect Dis*. **1983**; 148: 1128.
22. **Shimizu K, Kumada T, Hsieh WC, et al.** Comparison of aminoglycoside resistance patterns in Japan, Formosa, and Korea, Chile, and the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. **1985**; 28: 282-8.
23. **Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS, et al.** The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms--changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clin Infect Dis* **1997**; 24 (Suppl 1): S46-62.
24. **The Aminoglycoside Resistance Study Groups: Miller GH, Sabatelli FJ, Naples L, Hare RS, Shaw KJ.** The most frequently occurring aminoglycoside resistance mechanisms-combined results of surveys in eight regions of the world. *J Chemother*. **1995**; 7 (Suppl 2): 17-30.
25. **Miller GH, and the Aminoglycoside Resistance Study Groups.** Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in gram-negative bacteria. *APUA* **1994**; 12: 4-9.

İLETİŞİM

Dr. Emine KÜÇÜKATEŞ
Nevbahar Mahallesi
Tevfik Fikret Sokak
Yılmaz Apt. 62/7
34096 Fındıkzade, İSTANBUL
e-posta: eates2002@yahoo.com