

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerde E test Metodu ile Gentamisin MİK Değerinin Araştırılması

Investigation of Gentamicin MIC Values by E test Method in Gram Negative Bacteria Isolated from Various Clinical Samples

Filiz Pehlivanoglu, Kadriye Kart Yaşar, Gönül Şengöz

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ) ve kliniklerden gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen pseudomonas, acinetobacter ve enterik gram negatif bakterilerde gentamisin direnci araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Konvansiyonel metotlar ve API ID 32E (BioMerieux, Fransa) ile tanımlanan 121 bakteri ile çalışılmıştır. Gentamisin direncine Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda E test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile bakılmıştır.

Bulgular: Enterobacteriaceae ailesine ait 59 gram negatif bakteri (7 Klebsiella türü, 7 Enterobacter türü ve 45 E. coli), 43 Acinetobacter türü ve 19 Pseudomonas türü izole edilmiştir. Örneklerin 63'ü YBÜ'den, 58'i ise kliniklerden gönderilmiştir. Enterobacteriaceae ailesinde duyarlılık %75 olarak bulunmuştur. Kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen Pseudomonas suşlarında duyarlılık (%88), YBÜ'den gönderilen örneklerden izole edilen suşlardan daha yüksektir (%27). YBÜ ve klinik örneklerden izole edilen Acinetobacter suşlarında duyarlılık benzer olarak düşüktür (sırasıyla %16 ve %17).

Sonuç: Hastanemizde 1994'den bu yana aminoglikozid grubu ilaçların çoğu Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlarının kontrolünde iken gentamisin serbest olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte aminoglikozid direnci son on yıldır kinolonların geniş kullanımıyla birlikte düşmüştür.

Anahtar Kelimeler: Direnç, gentamisin

SUMMARY

Objective: To determine gentamicin resistance among Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. and enteric gram negative bacilli isolated from various clinical materials of patients from intensive care unit (ICU) and other clinics.

Materials and Methods: A total of 121 bacteria included in this study were identified by conventional methods and API ID 32E (BioMerieux, France). Gentamicin resistance was tested by E test (AB Biodisk, Sweden) method according to the recommendations of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Results: The distribution of the bacteria were as follows: 59 enteric gram-negative bacilli (7 Klebsiella spp., 7 Enterobacter spp. and 45 E. coli); 43 Acinetobacter spp. and 19 Pseudomonas spp. Sixty-three of the isolates were from ICU and 58 from other clinics. Gentamicin susceptibility rate was 75% among the Enterobacteriaceae family. Among Pseudomonas strains, susceptibility rate was higher in isolates from clinics (88%) than from ICU (27%). The susceptibility rates were similarly low among the Acinetobacter strains isolated from ICU and clinics (16% and 17%, respectively).

Conclusion: Since 1994 the use of antimicrobial agents is under the control of Clinical Microbiology and Infectious Diseases specialists in our hospital, however, gentamicin has been administered freely. Nevertheless, aminoglycoside resistance declined considerably since the last 10 years due to the widespread use of quinolones.

Key Words: Gentamicin, resistance.

GİRİŞ

Aminoglikozidler 1940'lı yıllardan beri kliniklerde yoğun kullanım alanı bulan, geniş anti-bakteriyel spektrumu olan, hızlı bakterisid etkili, beta-laktam antibiyotiklerle birlikte sinerjistik aktiviteye sahip antibiyotiklerdir. Yan etkilerine rağmen dirençli hastane enfeksiyonlarında önemli bir seçenektirler. mRNA'daki genetik bilginin yanlış okunmasına yol açarak bakteri ribozomundaki protein sentezini inhibe ederek bakterisid etki gösterirler. Tedavi sırasında diğer antibiyotiklere göre daha yavaş direnç gelişir. Direnç ribozomal, enzimatik yol ve membran geçirgenliğinde azalma ile oluşabilir (1). Bu çalışmanın amacı enfeksiyon etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilere karşı gentamisin etkinliğini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ) ve çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 121 bakterinin (63'ü YBÜ'den, 58'i kliniklerden) gentamisin için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri araştırılmıştır. İzole edilen bakteriler, konvansiyonel yöntemler ve API ID 32E (BioMerieux, France) ile tanımlanmış ve gentamisin duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda E test (AB Biodisk, Solna, Sweden) yöntemiyle saptanmıştır. Bir gecelik

taze kültürdeki kolonilerden McFarland 0.5 standardına göre tuzlu suda süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine eküvyonla ekim yapılmış ve bir süre kuruması beklendikten sonra E test stripleri besiyerine yerleştirilmiştir. Bir gece 35°C'de inkübe edildikten sonra MİK değerleri saptanmıştır. CLSI kriterlerine göre gentamisin için MİK değerleri $\leq 4\mu\text{g/ml}$ duyarlı, $8\mu\text{g/ml}$ orta duyarlı, $\geq 16\mu\text{g/ml}$ dirençli olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda YBÜ ve çeşitli kliniklerden gönderilen kan, idrar, balgam, apse, yara ve beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi materyallerden izole edilen 121 bakterinin (45 *E. coli*, 43 *Acinetobacter* türü, 19 *Pseudomonas* türü, 7 *Enterobacter* türü ve 7 *Klebsiella* türü) gentamisin MİK değerleri araştırılmıştır.

Acinetobacter suşlarının %86'sı YBÜ'den gönderilen örneklerden izole edilmişken enterik gram negatif bakterilerin, sadece %25 YBÜ gelen örneklerde saptanmıştır. *Pseudomonas* suşları YBÜ ve kliniklerden gönderilen örneklerden yaklaşık aynı oranda izole edilmiştir. *E. coli* suşlarının %80'i idrardan ve *Acinetobacter* suşlarının yarısı kan örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen bakteriler ve kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

Pseudomonas suşlarında duyarlılık oranı YBÜ'den gönderilen materyallerde (%27), diğer kli-

Tablo 1. İzole edilen bakterilerin dağılımı ve gentamisin duyarlılığı

	Klinik dağılım		Duyarlılık (%)	
	YBÜ	Diğer Klinikler	YBÜ	Diğer Klinikler
<i>Acinetobacter</i> türleri	37	6	16	17
<i>Pseudomonas</i> türleri	11	8	27	88
<i>E. coli</i>	8	37	75	76
<i>Enterobacter</i> türleri	3	4	33	75
<i>Klebsiella</i> türleri	4	3	100	67
Toplam	63	58	33	69

niklerden gönderilen materyallerden (%88) çok daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte *Acinetobacter* suşlarında duyarlılık YBÜ örneklerinde ve kliniklerden gönderilen örneklerde birbirine yakın ve düşük bulunmuştur (Tablo 1). Belirli bir dönemde izole edilen suşlar incelendiğinde YBÜ'de baskın suşların non-fermentatif bakteriler ve özellikle de *Acinetobacter* suşları olduğu ve bu suşlardaki gentamisin direncinin çok yüksek olduğu görülmektedir. YBÜ dışında *Acinetobacter* suşlarının izole edildiği materyaller diyabetik ayak yara kültürleridir. Bu hastalar; sık cihaz uygulanan, cerrahi girişimlere maruz kalan, sık hastaneye yatan ve uzun süre antibiyotik kullanan hastalardır ve bu hastalardan izole edilen suşların hastaneden edinilmiş suşlar olarak değerlendirilmesi daha doğru olacaktır. Enterik gram negatif bakterilerde duyarlılık YBÜ ve diğer klinik örneklerinde benzer olarak yüksek bulunmuştur. İzole edilen tüm suşların gentamisin duyarlılığı ve MİK değerleri Tablo 2'de sunulmuştur.

TARTIŞMA

Enfeksiyonların tedavisindeki en önemli sorun antibiyotiklere karşı gelişen direnç durumudur. Ampirik tedaviyi planlarken direnç paterninin bilinmesi büyük önem taşır. Antimikrobik ajanlara direnç, bölgeden bölgeye, hastaneden hastaneye değişebilir. Aminoglikozid direnci kullanılan aminoglikozid türüne ve şekline göre hastaneler ve klinikler arasında değişiklik gösterebilir. Bu nedenle her hastanenin kendi direnç paternini ortaya koyması önemlidir. Ayrıca bakteriyel direncin yaşayan bir süreç olduğu unutulmamalı ve bu takipler belli aralıklarla tekrar-

lanmalı ve eski verilerle karşılaştırılarak kullanıma yön verilmelidir.

Aminoglikozidlere dirençte birçok mekanizma vardır. Direncin en önemli kaynağı hücre içi aminoglikozidleri modifiye (inaktive) eden enzimlerin varlığıdır. Bu enzimler aminoglikozidleri, amino gruplarını adenilleyerek, asetilleyerek ve hidroksi gruplarını fosforilleyerek inaktive ederler. Aminoglikozidleri inaktive eden 50'den fazla enzim dirençli bakterilerde bulunmuştur (2). Bu enzim genleri özellikle gram negatif bakteriler arasında plazmid ve/veya transpozonla taşınarak dirençli fenotiplerin hızla yayılmasına neden olurlar (3).

Hastanemizde 2002 yılında 163 *Pseudomonas* suşu ile yapılan bir çalışmada yeni bir aminoglikozid olan isepamisine yarı yarıya direnç tespit edilmiş, YBÜ'den izole edilen isepamisine dirençli suşların tamamı gentamisine de dirençli ve isepamisine duyarlı suşların ise sadece yarısı gentamisine duyarlı bulunmuştur (4).

Singapur'da 1974'de ilk yayınlanan antibiyogram sonuçlarında gentamisin duyarlılığı gram negatif bakteriler arasında % 97-100 arasında bulunmuştur (5).

Kanada'da 2005-2006 yıllarında yapılan ulusal YBÜ çalışmasında %45 oranında gram negatif bakteriler ve ilk iki sırada da *E. coli* ve *Pseudomonas* suşları izole edilmiştir. Gentamisin direnci *Pseudomonas* suşlarında %15, *E. coli* suşlarında %3 olarak bulunmuştur (6).

Kayseri'de yapılan ve %96'sı toplumdan gelen hastaların idrar örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesinde gentamisin direnci %18-26 arasında bulunmuştur (7). Antakya'dan

Tablo 2. İzole edilen suşların gentamisin duyarlılığı ve MİK değerleri (µg/ml)

Tür (suş sayısı)	Duyarlılık (%)	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀
<i>Acinetobacter</i> türleri (43)	16	0,25-256	12	256
<i>Pseudomonas</i> türleri (19)	53	0,5-256	2	256
<i>Enterobacteriaceae</i> (59)	75	0,064-128	0,75	24

yapılan bir çalışmada ise üroloji polikliniğine başvuran ve üriner yakınması olan sondasız hastalardan alınan idrardan izole edilen *E. coli* suşlarında gentamisine direnç oldukça yüksek (%47) bulunmuştur (8).

Altı yüz altmış beş *Pseudomonas* suşu ile yapılan 2005, 2006 ve 2007 yıllarını karşılaştıran bir çalışmada, gentamisine karşı yıllar içinde azalan bir direnç (sırasıyla %35, %27, %23) bulunmuştur. Bu durum kombinasyon tedavilerinde amikasinin daha çok kullanımına bağlanmıştır (9). Hastanemizde aminoglikozid kullanımı, özellikle YBÜ hastaları için Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlarının kontrolü altındadır. Genellikle hastanemizde YBÜ'de gelişen ve sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar söz konusu olduğunda amikasin, pediatri kliniğinde herhangi bir kombinasyon içinde aminoglikozid bulunması istendiğinde ise netilmisin tercih edilmektedir.

Türkiye'de sekiz hastanede YBÜ'den izole edilen gram negatif bakterilerle yapılan antimikrobakteriyel direnç sörveyansında birçok antibiyotiğe karşı artmış direnç tespit edilmiştir. Gentamisinde fermentatif bakterilerde daha yüksek olmak koşulu ile nonfermentatiflerde de artmış MİK değerleri bulunmuş ve dirençli olarak bildirilmiştir (10).

Gündüz ve arkadaşlarının (11) yaptığı çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında gentamisine direnç, yatan hastalarda %46, poliklinik hastalarında %33 bulunmuştur.

Bütün bu çalışmalar çok farklı oranlarda aminoglikozidlere direnç olduğunu, bu antibiyotiklerin yoğun kullanıldığı durumlar ve dönemlerde direnç oranlarının artış eğiliminde olduğunu ve ilaç daha az kullanılmaya başlanınca direnç oranlarının dışme eğilimi gösterdiğini ortaya koymaktadır. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)

standartlarına göre yapılan değerlendirmede ise *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'de duyarlılık sınırı CLSI ile aynı olup, *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerinde duyarlılık sınırı (≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ duyarlı) daha aşağıdadır. MİK değeri >4 $\mu\text{g/ml}$ olan tüm suşlar ise dirençli kabul edilmiştir. Çalışılan bakterilerde EUCAST'a göre değerlendirme yaparsak duyarlı suş sayısı değişmemekle birlikte, dirençli suş sayısı artar (12). Bu nedenle antibiyotik direnci, kullanılan kriterlere, hastaneden hastaneye, hatta klinikler arasında değişiklikler göstermekle birlikte, tüm dünyada artmaktadır. Direnç artışının önüne geçmek ve özellikle ampirik tedavi gereken durumlarda klinisyene yol gösterebilmek amacıyla da her hastanede bakterilerin duyarlılık paternlerinin sörveyansı gereklidir.

Aminoglikozid antibiyotiklerin hastalıkların tedavisinde birinci seçenek olarak yer aldığı günlerin geride kaldığı düşünülse de, (yan etkileri, kullanımdaki dezavantajları, parenteral olmaları, direnç oranları nedeniyle) onların yerini aldığı düşünölen kinolonlara karşı gelişen direnç, klinisyeni zor durumda bırakmaktadır. Özellikle siprofloksasin direnci ile birlikte bulunan ESBL varlığı nedeniyle yoğun karbapenem kullanımı KPC ve metallo-beta laktamaz taşıyan bakteri kümelenmelerine neden olmuştur. Ana antibiyotik sınıflarından ikisinin (kinolon ve beta-laktam antibiyotiklerin) direnç nedeniyle kullanılmadığında bakterisit özellik taşıyan bir antibiyotik olarak özellikle nötropenik hastalar için aminoglikozidler vazgeçilmez bir seçenek olarak görölmektedir.

İletişim / Correspondence

Filiz Pehlivanoğlu

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

Fatih/İstanbul

Tel: 0212 529 4400 / 2115 - 0532 564 6380

e-mail: drfiliz@gmail.com

Kaynaklar

1. Yamazhan T. Sulfonamidler ve aminoglikozidler. ANKEM Derg 2007; 21 (suppl 2): S52-6.
2. Chittapragada M, Roberts S, Ham YW. Aminoglycosides: molecular insights on the recognition of RNA and aminoglycoside mimics. Perspectives in Medicinal Chemistry 2009; 3:21-37.
3. Gilbert DN, Leggett JE. Aminoglycosides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2010:359-84.
4. Şengöz G, Karabela Ş, Durdu Y ve ark. *Pseudomonas* cinsi bakterilerde isepamisin direncinin araştırılması ve diğer aminoglikozid dirençleriyle karşılaştırılması. Klimik Derg 2005; 18; 41-4.
5. Koh TH. Gram-negative resistance in Singapore: a historical perspective. Ann Acad Med Singapore 2008; 37:847-54.
6. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, et al. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the canadian national intensive care unit (CAN-ICU) study, 2005-2006. AAC 2008; 52:1430-7.
7. Kayman T, Ayangil D. Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2007; 21:203-7.
8. Çetin M, Ocak S, Görür S, Avunduk G. Semptomatik üriner sistem enfeksiyonlarında üropatojenler ve izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. ANKEM Derg 2006; 20:169-72.
9. Dündar D, Sönmez Tamer G. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. ANKEM Derg 2009; 23:17-21.
10. Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. JAC 1999; 43: 373-8.
11. Gündüz T, Arısoy A, Algün Ü, Özbakkaloğlu B. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının aminoglikozidlere in-vitro duyarlılıkları. ANKEM Derg 2004;18:224-7.
12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints. 2010 (<http://www.eucast.org>).

