

NOZOKOMİYAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* VE *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINA KARŞI ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ İN-VİTRO ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI*

Ülkü ALTOPARLAK¹, Zülal ÖZKURT², Serpil EROL²

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa ve *Acinetobacter baumannii* çoğul dirençli nozokomiyal patojenler olarak sıklıkla karşılaştığımız nonfermentatif bakterilerdir. Direnç gelişimini önlemek ve sinerjik etki sağlamak amacı ile bu etkenlerle oluşan infeksiyonların sağaltımında antibiyotiklerin kombine kullanımları tercih edilir. Bu çalışmada, tedavi seçeneği olan beta-laktam + aminoglikozid ve beta-laktam + kinolonlardan oluşan kombinasyonların in-vitro etkileşimlerinin araştırılması amacıyla *P.aeruginosa* için 16, *A.baumannii* için 13 antimikrobiyal kombinasyon kullanılmıştır. Sinerjik ya da antagonistik etkilerin saptanmasında disk diffüzyon yöntemi uygulanmıştır.

Toplam 70 nozokomiyal *P.aeruginosa* suşu için sinerjinin en sık gözleendiği kombinasyonlar: imipenem-amikasin (% 21.4), imipenem-izepamisin (% 21.4), piperasilin/tazobaktam-izepamisin (% 21.4), aztreonam-izepamisin (% 20.0), seftazidim-amikasin (% 18.5) ve piperasilin/tazobaktam-amikasin (% 18.5) olmuştur. Toplam 15 *A.baumannii* suşu için ise sinerjik etki en sık imipenem-amikasin (% 33.3), imipenem-siprofloksasin (% 33.3), piperasilin/tazobaktam-amikasin (% 20.0) ve imipenem-izepamisin (% 20.0) kombinasyonlarında gözlenmiştir.

Araştırılan kombinasyonlardan hiçbirinde antagonizm saptanmamıştır.

Sonuçta *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* ile oluşan infeksiyonların tedavisinde beta-laktam + aminoglikozid kombinasyonlarının sinerjik etki açısından beta-laktam + kinolon kombinasyonlarına göre daha üstün olduğu gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik kombinasyonu, nozokomiyal infeksiyon

SUMMARY

Investigation of the in-vitro interactions of various antibiotic combinations against Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii strains.

Pseudomonas aeruginosa and *Acinetobacter baumannii* are non-fermentative bacteria and multidrug resistant nosocomial pathogens. In the infections caused by *P.aeruginosa* and *A.baumannii*, combination therapy is used with the aim of preventing the emergence of resistant mutants during therapy and obtaining synergistic antimicrobial activity. In this study, we aimed to assess the activities of antimicrobial combinations of beta-lactam plus aminoglycoside and beta-lactam plus quinolone compounds against *P.aeruginosa* and *A.baumannii*. A total of 16 combinations were tested against *P.aeruginosa*, 13 combinations against *A.baumannii*. Synergism and antagonism were investigated by disk diffusion method.

For a total of 70 nosocomial *P.aeruginosa* strains, synergy of antimicrobial agent combinations was detected predominantly as follows: imipenem-amikacin (21.4 %), imipenem-isepamicin (21.4 %), piperacillin/tazobactam-isepamicin (21.4 %); aztreonam-isepamicin (20.0 %), ceftazidime-amikacin (18.5 %) and piperacillin/tazobactam-amikacin (18.5 %). The most effective combinations for a total of 15 nosocomial *A.baumannii* strains were as follows: imipenem-amikacin (33.3 %), imipenem-ciprofloxacin (33.3 %), piperacillin/tazobactam-amikacin (20.0 %) and imipenem-isepamicin (20.0 %).

No antagonism was observed for any of the combinations.

These results suggested that beta-lactam plus aminoglycoside combinations are superior to beta-lactam plus quinolon combinations in combined effect against *P.aeruginosa* and *A.baumannii* infections.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, antibiotic combination, nosocomial infection

*XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur (30 Eylül - 5 Ekim 2002, Antalya).

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1- Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2- Klinik Bakterioloji ve Infeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum.

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa ve *Acinetobacter baumannii* çoğul dirençli nozokomiyal patojenler olarak sıklıkla karşılaştığımız nonfermentatif bakterilerdir. Bu tip çoğul dirençli bakterilerle oluşan infeksiyonlarda tedavi maliyeti ve hastanede kalış süresi uzamakta, daha da önemlisi mortalite artmaktadır. Direnç gelişimini önlemek ve sinerjik etki sağlamak amacı ile bu etkenlerle oluşan infeksiyonların tedavisinde antibiyotik kombinasyonları tercih edilir. Bu amaçla en sık kullanılanlar beta-laktam ve aminoglikozid kombinasyonlarıdır. İn-vitro çalışmalarda sinerjik etkinin açık bir şekilde gözlenmesi ve klinik olarak iyi sonuçların alınmasına

rağmen, bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere geliştirdiği direncin artması ve aminoglikozidlerin toksik etkileri, bu kombinasyonların kullanımını kısıtlamakta ve alternatif kombinasyonların araştırılmasına devam edilmektedir. Beta-laktam + kinolon kombinasyonu alternatif tedavi seçeneklerinden bir diğeridir (1,4,15,24,27,28).

Bu çalışmada, dirençli *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının neden olduğu infeksiyonlarda sıklıkla kullanılan beta-laktam + aminoglikozid ve beta-laktam + kinolonlardan oluşan kombinasyonların in-vitro etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Aziziye Hastanesi'nde hastalara ve laboratuvara dayalı aktif sürveyans yöntemiyle saptadığımız nozokomiyal infeksiyonlu hastalardan izole edilen çoğul dirençli (seftazidim, aminoglikozid, kinolon, imipenem ve beta-laktam+beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu antibiyotiklerden en az üçü veya daha fazlasına dirençli) 70 *P.aeruginosa* suşu ve 15 *A.baumannii* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Bu izolatlar konvansiyonel yöntemler ve API (API-20 NE gallery, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) ile tiplendirilmiştir (16,21). Antibiyotik duyarlılıkları NCCLS kriterlerine göre disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir (26). İzepamisin antibakteriyel zon çapları 14 mm'ye eşit veya daha az olduğunda dirençli, 15-16 mm olduğunda orta duyarlı ve 17 mm'ye eşit veya daha fazla olduğunda ise duyarlı olarak değerlendirilmiştir (3).

Antibiyotik kombinasyonlarının sinerjik etkileri de disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Bu amaçla *P.aeruginosa*

için: imipenem, seftazidim, sefepim, piperasilin/tazobaktam ve aztreonamın her birinin siprofloksasin, ofloksasin, amikasin, izepamisin ile olan 16 kombinasyonu; *A.baumannii* için ise: imipenemin siprofloksasin, ofloksasin, amikasin, izepamisin ile; piperasilin/tazobaktamın siprofloksasin, amikasin ile; sefoperazon/sulbaktamın siprofloksasin, ofloksasin, amikasin, izepamisin ile; ampisilin/sulbaktamın siprofloksasin, ofloksasin, amikasin ile olan 13 kombinasyonu test edilmiştir.

Bütün suşlara test edilen antibiyotiklerin zon çapları belirlenmiştir. Antibiyotikler arasındaki etkileşimi saptamak amacıyla disk yaklaşım yöntemi kullanılmıştır. Diskler, aralarındaki mesafe inhibisyon zon yarıçaplarının toplamından 2 mm fazla olacak şekilde yerleştirilmiştir. Disklerin birbirlerine bakan yüzlerinde inhibisyon zonlarının genişlemesi veya köprüleşmesi sinerji olarak, düzleşme ya da daralmaları ise antagonizm olarak değerlendirilmiştir (13,22,24).

BULGULAR

P.aeruginosa ve *A.baumannii* suşlarına en etkili antimikrobiyal ajan olarak imipenem bulunmuştur. Bunun yanı sıra aminoglikozitler ve piperasilin/tazobaktam her iki suşa karşı in-vitro olarak oldukça etkiliydiler. Çalışılan suşların antibiyotiklere duyarlılık oranları tablo 1'de gösterilmiştir. Sinerjik etkilerinin araştırılmasında kullanılan *P.aeruginosa* için 16, *A.baumannii* için 13 kombinasyon ve aralarındaki si-

nerjik etkileşimlerin sayısı ve yüzdeleri tablo 2'de özetlenmiştir. *P.aeruginosa* suşlarına en etkili antimikrobiyal kombinasyonlar imipenem-amikasin (% 21.4), imipenem-izepamisin (% 21.4), piperasilin/tazobaktam-izepamisin (% 21.4) iken; *A.baumannii* suşları için imipenem-siprofloksasin (% 33.3), imipenem-amikasin (% 33.3) olmuştur. Araştırılan kombinasyonlardan hiçbirinde antagonizm saptanmamıştır.

TARTIŞMA

P.aeruginosa ve *A.baumannii* nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak sıklıkla karşımıza çıkan, çoğu zaman da çoğul dirençli bakterilerdir. İmipenem, yeni aminoglikozidler, florokinolonlar ve üçüncü kuşak sefalosporinler gibi oldukça etkili antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesine rağmen bu

bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisi oldukça güç ve mortalitesi yüksektir. Tedavinin başarısının artırılması ve direnç gelişimini önlemek amacıyla kombine antibiyotik tedavileri kullanılmaktadır (14,18,24). İn-vitro olarak kombinasyonların *P.aeruginosa* ve *A.baumannii*'ye karşı genellikle

Tablo 1. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	<i>P.aeruginosa</i> (n: 70) Duyarlı (%)	<i>A.baumannii</i> (n: 15) Duyarlı(%)
İmipenem	55 (78.6)	14 (93.3)
Amikasin	50 (71.4)	6 (40.0)
İzepamisin	48 (68.6)	6 (40.0)
Siprofloksasin	44 (62.9)	3 (20.0)
Ofloksasin	37 (52.9)	4 (26.6)
Piperasilin/tazobaktam	52 (74.3)	6 (40.0)
Seftazidim	40 (57.1)	-
Sefepim	42 (60.0)	-
Aztreonam	39 (55.7)	-
Sefoperazon/sulbaktam	-	4 (26.6)
Ampisilin/sulbaktam	-	1 (6.6)

Tablo 2. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşları için kullanılan kombinasyonlar ve sinerjik etkileşimleri.

Kombinasyonlar	<i>P. aeruginosa</i> Sinerji (%)	Kombinasyonlar	<i>A. baumannii</i> Sinerji (%)
İmipenem-siprofloksasin	11 (15.7)	İmipenem-siprofloksasin	5 (33.3)
İmipenem-ofloksasin	10 (14.3)	İmipenem-ofloksasin	0
İmipenem-amikasin	15 (21.4)	İmipenem-amikasin	5 (33.3)
İmipenem-izepamisin	15 (21.4)	İmipenem-izepamisin	3 (20.0)
Seftazidim-siprofloksasin	4 (5.7)	Piperasilin/tazobaktam-siprofloksasin	1 (6.6)
Seftazidim-ofloksasin	3 (4.2)	Piperasilin/tazobaktam-amikasin	3 (20.0)
Seftazidim-amikasin	14 (20.0)	Sefoperazon/sulbaktam-siprofloksasin	0
Seftazidim-izepamisin	11 (15.7)	Sefoperazon/sulbaktam-ofloksasin	0
Sefepim- siprofloksasin	4 (5.7)	Sefoperazon/sulbaktam-amikasin	1 (6.6)
Sefepim- amikasin	9 (12.8)	Sefoperazon/sulbaktam-izepamisin	2 (13.3)
Piperasilin/tazobaktam-siprofloksasin	8 (11.4)	Ampisilin/sulbaktam-siprofloksasin	0
Piperasilin/tazobaktam-ofloksasin	5 (7.1)	Ampisilin/sulbaktam-ofloksasin	0
Piperasilin/tazobaktam-amikasin	13 (18.6)	Ampisilin/sulbaktam-amikasin	0
Piperasilin/tazobaktam-izepamisin	15 (21.4)		
Aztreonam-ofloksasin	4 (5.7)		
Aztreonam-izepamisin	14 (20.0)		

sinerjik etki gösterdiği, nadiren additif etkili olduğu, antagonist olmadığı gösterilmiştir (2). Yapılan birçok çalışmada *P.aeruginosa*'nın neden olduğu infeksiyonların tedavisinde beta-laktam + aminoglikozid ve beta-laktam + kinolon kombinasyonlarının sinerjik etkili olduğu gösterilmiştir (5-12,17,19,20,23-25,29). Çalışmamızda *P.aeruginosa* için beta-laktam + aminoglikozid kombinasyonları arasında sinerjik etkileşim şu oranlarda saptanmıştır: İmipenem-amikasin % 15, imipenem-izepamisin % 15, piperasilin/tazobaktam-izepamisin % 15, aztreonam-izepamisin % 14, seftazidim-amikasin % 14, piperasilin/tazobaktam-amikasin % 13, seftazidim-izepamisin % 11 ve sefepim-amikasin % 9.

Son yıllarda beta-laktam ve kinolon kombinasyonu kullanımını da dikkate değer bir şekilde artmaktadır. Kemmerich ve ark. (20)'nin çalışmasında beta-laktam + kinolon kombinasyonlarının additif etkili olduğu ileri sürülmüş, Neu (27) aynı kombinasyonların sinerjik etkili olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda beta-laktam + kinolon kombinasyonlarında sinerjik etkileşim şu oranlarda saptanmıştır: İmipenem-siprofloksasin % 11, imipenem-ofloksasin % 10, piperasilin/tazobaktam-siprofloksasin % 8, piperasilin/tazobaktam-ofloksasin % 5, sefepim-siprofloksasin % 4, seftazidim-siprofloksasin % 4, aztreonam-ofloksasin % 4 ve seftazidim-ofloksasin % 3.

P.aeruginosa suşlarına karşı seçilen antibiyotik kombinasyonlarının hiçbirinde in-vitro antagonizm görülmemiştir.

Acinetobacter spp. için yapılan in-vitro çalışmalarda beta-laktam + aminoglikozid ve beta-laktam + kinolon kombinasyonlarının sinerjik etkili olduğu gözlenmiştir (5,12,15,19,23). Çalışmamızda *A.baumannii* için kullandığımız kombinasyonlarda sinerjik etkileşim şu oranlarda saptanmıştır: İmipenem-amikasin % 33.3, imipenem-siprofloksasin % 33.3, imipenem-izepamisin % 20.0, piperasilin/tazobaktam-amikasin % 20.0, sefoperazon/sulbaktam-izepamisin % 13.3, sefopera-

zon/sulbaktam-amikasin % 6.6, piperasilin/tazobaktam-siprofloksasin % 6.6. Ampisilin/sulbaktamın amikasin, ofloksasin ve siprofloksasinli kombinasyonları ile sefoperazon/sulbaktamın siprofloksasin ve ofloksasinli kombinasyonlarında sinerjik etkileşim görülmemiştir. *A.baumannii* suşları için araştırılan kombinasyonların hiçbirinde antago-nist etkiye rastlanmamıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* ile oluşan infeksiyonların tedavisinde beta-laktam + aminoglikozid kombinasyonlarının sinerjistik etki açısından beta-laktam + kinolon kombinasyonlarına göre daha üstün olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Akalın H: Yoğun bakım ünitelerinde *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* ve diğer tedavisi zor Gram-negatif bakteriler, *Hastane Enfeksiyonları Derg* 3:202 (1999).
- 2- Akalın H: Nozokomiyal pnömoni: Nozokomiyal pnömoni nasıl tedavi edilir? Prognozu belirleyen faktörler nelerdir? *Hastane Enfeksiyonları Derg* 5:241 (2001).
- 3- Barry AL, Thornsberry C, Jones RN, Gerlach EH: Interpretive standards for disk susceptibility tests with Sch 21420 and amikacin, *Antimicrob Agents Chemother* 18:616 (1980).
- 4- Bergogne-Berezin E, Towner KJ: *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical and epidemiological features, *Clin Microbiol Rev* 9:148 (1996).
- 5- Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA: Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*. A comparison with Etest, time-kill, and checkerboard methods, *Diagn Microbiol Infect Dis* 38:43 (2000).
- 6- Bouza E, Munoz P: Monotherapy versus combination therapy for bacterial infections, *Med Clin North Am* 84:1357 (2000).
- 7- Burgess DS, Rhonda WH: Activity of piperacillin/tazobactam in combination with amikacin, ciprofloxacin, and trovafloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* by time-kill, *Diagn Microbiol Infect Dis* 38:37 (2000).
- 8- Canis F, Cavallo JD, Husson MO: Evaluation of bactericidal activity of ceftiofime-aminoglycoside combination against *Pseudomonas aeruginosa* strains with intermediate sensitivity to ceftiofime and in various phenotypes of beta-lactam resistance, *Pathol Biol* 45:420 (1997).
- 9- Cappelletty DM, Rybak MJ: Comparison of methodologies for synergism testing of drug combinations against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 40:677 (1996).
- 10- Chandrasekar PH, Crane LR, Bailey EJ: Comparison of the activity of antibiotic combinations in vitro with clinical outcome and resistance emergence in serious infection by *Pseudomonas aeruginosa* in non-neutropenic patients, *J Antimicrob Chemother* 19:321 (1987).
- 11- Dubrous P, Cavallo JD, Hernandez E, Nordmann P, Fabre R: *Pseudomonas aeruginosa*: bactericidal activity on various beta-lactam resistance phenotypes of 8 antibiotics and 7 combinations, *Pathol Biol* 45:433 (1997).
- 12- Elkhaili H, Pompei D, Linger L, Kamili N, Monteil H, Jehl F: Kinetics of bactericidal activity of cefepime and ceftiofime alone or combined with gentamicin, amikacin or ciprofloxacin against *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Enterobacter cloacae* hyperproductive in cephalosporinase, *Pathol Biol* 44:367 (1996).
- 13- EUCAST: *Methods for the Determination of Susceptibility of Bacteria to Antimicrobial Agents. Terminology*, EUCAST Document, January (1998).
- 14- Fink MP, Snyderman DR, Niederman MS et al: Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin, The Severe Pneumonia Study Group, *Antimicrob Agents Chemother* 38:547 (1994).
- 15- Gould I M, Milne K: In-vitro pharmacodynamic studies of piperacillin/tazobactam with gentamicin and ciprofloxacin, *J Antimicrob Chemother* 39:53 (1997).
- 16- Graevenitz AV: *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative bacteria, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 3. baskı" kitabında s. 520, ASM Press, Washington (1995).
- 17- Hallander HO, Dornbusch K, Gezelius L, Jacobson K, Karlsson I: Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with antipseudomonal activity: interaction index and killing curve method, *Antimicrob Agents Chemother* 22:743 (1982).
- 18- Jaccard C, Troillet N, Harbarth S et al: Prospective randomized comparison of imipenem-cilastatin and piperacillin-tazobactam in nosocomial pneumonia or peritonitis, *Antimicrob Agents Chemother* 42:2966 (1998).
- 19- Joly-Guillou ML, Decre D, Herrman JL, Bourdelier E, Bergogne-Berezin E: Bactericidal in-vitro activity of beta-lactams and beta-lactamase inhibitors, alone or associated, against clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides, *J Antimicrob Chemother* 36:619 (1995).
- 20- Kemmerich B, Small GJ, Pennington JE: Comparative evaluation of ciprofloxacin, enoxacin, ofloxacin in experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia, *Antimicrob Agents Chemother* 29:395 (1986).
- 21- Kiska DL, Gilligan PH: *Pseudomonas*, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 7. baskı" kitabında s. 517, ASM Press, Washington (1999).
- 22- Lorian V: *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed., Williams and Wilkins, Baltimore (1996).

- 23- Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB: Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations, *Antimicrob Agents Chemother* 41:881 (1997).
- 24- Mayer I, Nagy E: Investigation of the synergic effects of aminoglycoside-fluoroquinolone and third-generation cephalosporin combinations against clinical isolates of *Pseudomonas* spp, *J Antimicrob Chemother* 43:651 (1999).
- 25- Nakamura A, Hosoda M, Kato T et al: Combined effects of meropenem and aminoglycosides on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro, *J Antimicrob Chemother* 46:901 (2000).
- 26- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing*, Ninth edition: Approved standard M2-A6. NCCLS, Villanova, PA (1999).
- 27- Neu HC: Synergy and antagonism of combinations with quinolones, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10:251 (1991).
- 28- Neu HC: Synergy and antagonism of fluoroquinolones with other classes of antimicrobial agents, *Drugs* 45 (Suppl 3):105 (1993).
- 29- Weiss K, Lapointe JR: Routine susceptibility testing of four antibiotic combinations for improvement of laboratory guide to therapy of cystic fibrosis infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 39:2411 (1995).