

Sıvı Majistral Formların Mikrop Florası - Ekolojik Veriler ve Antibiyotiklere Hassasiyeti

Flore Microbienne de la Forme Magistrale Liquide, Données
Écologique et Sensibilité aux Antibiotique

Jacqueline DONY** Ahmet AKIN* Michel J.DEVLEESCHOUWER**

GİRİŞ

Uluslararası Eczacılık Federasyonu (FIP) (4) ; farmasötik preparatları, zorunlu olmayan ve zorunlu steril ilaçlar olmak üzere iki grup altında toplamıştır. Ayrıca ilk gruptaki preparatlarda bulunmaması gereken mikroorganizmalar (*E.coli*, *Salmonella*'lar, *Ps. ceruginosa*, *Staph. aureus*) ile mevcudiyetine izin verilen aerop bakteriler, maya ve küfün maksimal seviyeleri belirtilmiştir. Buradan hareketle önceki çalışmamızda (1), yukarıda açıklanan ve I. gruba giren muhtelif kuru preparatların mikrobiyolojik kontaminasyonlarının nedenleri üzerinde durulmuştur. Bu çalışmamızda ise likit formlar ve buna ilaveten izole edilen suşların antibakteriyel ajanlara direnci incelenmiştir.

DENEYSEL KISIM

A- Materyal:

Bu çalışmada materyal olarak aşağıda formülü verilmiş olan anti-asit solüsyondan 25 numune alınmıştır. Bu numunelerin 17 si özel, 8 tanesi de hastahane eczanesinden temin edilmiştir.

Redaksiyona verildiği tarih: 11 Nisan 1980

* Mikrobiyoloji ve Besin Analizleri Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Anka_a Üniversitesi.

** Service de Microbiologie et Hygiène, Institut de Pharmacie. Université Libre de Bruxelles.

Hydroxyde d'aluminium colloidal	60 g
Gomme arabique	30 g
Sirop simple	50 g
Vanilline	300 mg
Eau q.s.ad	300 ml

B- Metod:

Metod olarak *Uluslararası Eczacılık Federasyonu (FIP)* (4) tarafından önerilen ve mikrobiyolojik saflığın ayırımında kullanılan yöntemden yararlanılmıştır.

Antibiyotik hassasiyet testleri ise *BAUER* ve *KIRBY* (2,3) tarafından geliştirilen yöntem uyarınca gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla aşağıdaki antibakteriyel ajanlardan yararlanılmıştır.

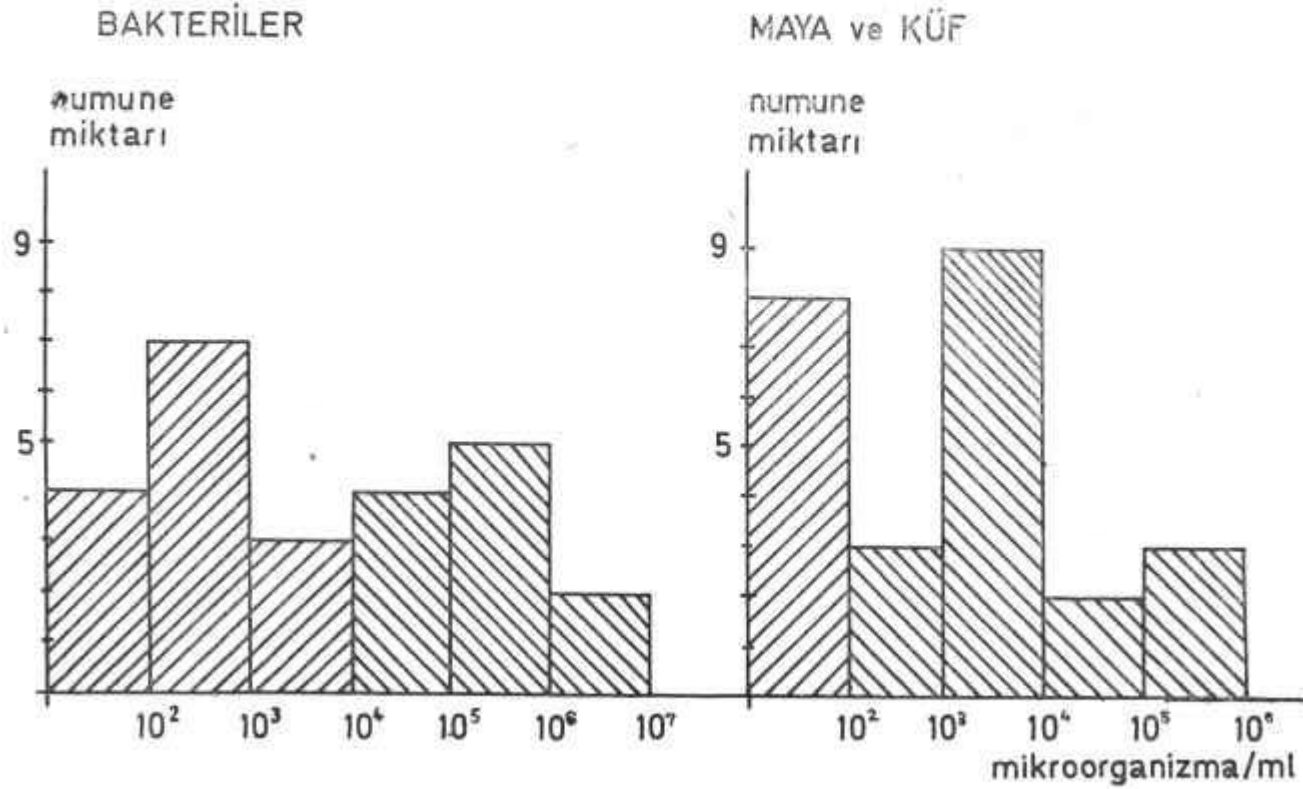
Penicilline	Ampicilline
Oxacilline	Cephalotine
Neomycine	Kanamycine
Streptomycine	Gentamycine
Tobramycine	Tetracycline
Erythromycine	Chloramphenicol
Colimycine	Furadoine
Sulfadiazine	Vancomycine
Trimetoprim	sulfamethoxazole

BULGULAR

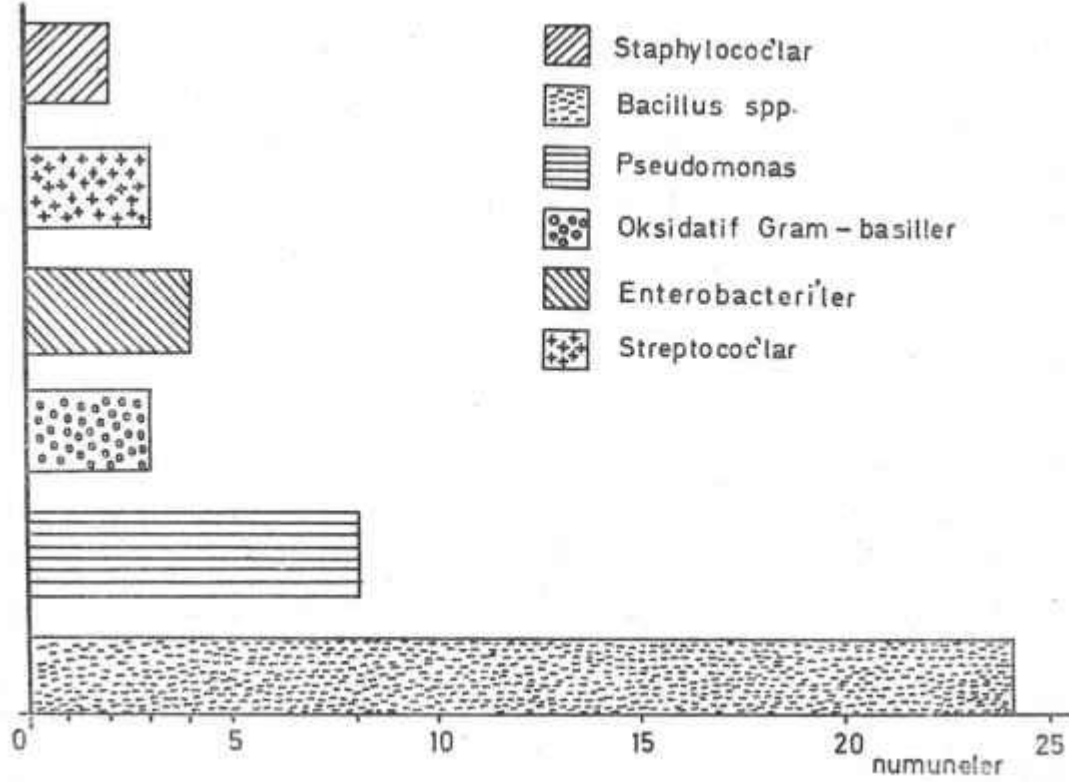
Analize alınan numunelerdeki total aerop bakteri, maya ve küf miktarı Tablo I de verilmiştir. Bu miktarların değerlendirilmesinde: daha önce yayınlanmış olan (1,4) ve Uluslararası Eczacılık Federasyonunun önerileri benimsenmiştir. Buna göre analize alınan numunelerin ancak % 32 sinde total maya ve küf, % 56 sında total aerop bakteri miktarı kabul edilebilir olarak tesbit edilmiştir, izole edilen mikroorganizmaların ayırımı ayrıntılı bir şekilde Tablo II de verilmiştir. Hastahane preparatları ile özel eczanelerden temin edilen preparatlar arasında dikkate değer bir fark belirlenememiştir.

Numunelerin % 96 sında toprak menşeli ve sporlu Gram(+) basillere ve % 8 inde de Gram (+) koklara rastlanmıştır.

Tablo I. Mikroorganizma Miktarı



Tablo II. Mikroorganizma Spesiesleri.



Preparatların % 40 ında tam anlamıyla aydmlatılamamış bir Veya birkaç fermentatif Gram (–) basillere rastlanmıştır. Buna karşılık numunelerin % 16 sında III nolu Tabloda ayrıntılarıyla belirtilmiş olan *Enterobacterie'ler* izole ve idantifiye edilmiştir. Ayrıca numunelerin % 32 sinden *Pseudomonas* türleri izole edilmiş, % 12 sinin de fermentatif olmayan Gram (–) basillerle kontamine olduğu saptanmıştır. Fermentatif olmayan Gram(–) basillerin ayırımı Tablo IV de verilmiştir.

Tablo III. Numunelerdeki Enterobacterie'lerin ayırımı.

TÜR	Numune miktarı
<i>Serratia rubidea</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i> Ind.(–), Sacch. (–)	1
<i>Enterobacter agglomerans</i> Ind.(–), Sacch. (+)	1
<i>Enterobacter agglomerans</i> Ind.(+) Sacch. (+)	1

Tablo IV. Numunelerde saptanan oksidatif Gram (–) basiller.

TÜR	Numune miktarı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	a
<i>Pseudomonas putida</i>	1
<i>Alcaligenes</i> sp.	1
<i>Acinetobacter calcoaeticus</i> var. <i>lwoffii</i>	2

Tablo V ve VI; *Enterobacterie'ler* ile fermentatif olmayan Gram (–) basillerin antibiyogram, bir başka deyişle antibiyotik hassasiyet test sonuçlarını içermektedir.

İzole edilen *Staphylococcus'ların* antibiyogram test sonuçlarına gelince; *Staphylococcus intermediare* G 30 denemeye sokulan tüm antibak-

Tablo V. Enterobacterie'lerin antibiyotik hassasiyet test sonuçları.

Bakteri nev'i	A N T İ B İ Y O T İ K L E R																
	PEN.	AMPi.	OXA.	CEP.	NEO.	KAN, STR.	GEN.	TOB.	TET.	ERY.	CHL.	COL.	FUR.	SUL.	SXT.	VAN,	
Klebsiella G 48	R	R	R	I	H	H	I	H	H	I	R	H	H	R	H	H	R
Klebsiella G 44	R	R	R	H	H	H	H	H	H	H	R	H	H	H	H	H	R
Klebsiella G 45	R	R	R	H	H	H	I	H	H	I	R	H	H	H	H	H	R
Klebsiella G 46	R	R	R	H	H	H	H	H	H	I	R	H	H	I	H	H	R
Klebsiella G 47	R	R	R	H	H	H	I	H	H	I	R	H	H	H	H	H	R
Ent. agglomerans G 36 ind.(+), Sacch (+)	I	I	R	H	H	H	H	H	H	H	I	H	H	H	H	H	R
Ent. cloacae G 31	R	R	R	R	H	H	H	H	H	I	R	H	H	H	H	H	R
Klepsiella G 34	R	R	R	H	H	H	H	H	H	H	R	H	H	H	H	H	R
Ent. agglomerans G 22 Ind.(–), Sacch. (+)	R	R	R	H	H	H	H	H	H	I	R	I	H	H	H	H	R
Klebsiella G 19	R	R	R	H	H	H	H	H	H	I	R	H	H	H	H	H	R
Ent. agglomerans G 28 Ind.(–), Sacch. (–)	R	R	--	H	H	H	H	H	H	H	R	H	H	R	H	H	R

R: Rezistans

I: Intermedier

H: Hassas

Tablo VI. Fermentatif olmayan Gram (—) basillerin antibiyotik hassasiyet test sonuçları.

	ANTİBİYOTİKLER																
	PEN.	AMP.	OXA.	CEP.	NEO.	KAN.	STR.	GEN.	TOB.	TET.	ERY.	CHL.	COL.	FUR.	SUL.	SXT.	VAN.
<i>Ps. fluorescens</i> G 23	R	R	R	R	H	H	R	H	H	R	R	R	H	R	R	R	R
<i>Ps. aeruginosa</i> G 24	R	R	R	R	R	R	R	R	H	R	R	I	H	R	H	R	R
<i>Ps. fluorescens</i> G 41	R	R	R	R	H	H	I	H	H	H	R	R	H	R	H	H	R
<i>Ps. fluorescens</i> G 25	R	R	R	R	H	—	H	H	H	H	R	H	H	R	H	H	R
<i>Alcaligenes</i> sp. G 39	R	R	R	R	H	I	H	H	H	H	R	R	H	R	R	R	R
<i>Ps. maltophilia</i> G 38	R	R	R	R	H	R	R	H	H	I	R	H	H	R	R	R	H
<i>Ps. fluorescens</i> G 37	R	R	R	R	H	H	I	H	H	H	R	I	H	R	H	I	R
<i>Ps. putida</i> G 32	R	R	R	R	H	H	R	H	H	R	R	R	H	R	R	R	R
<i>Ps. fluorescens</i> G 35	R	R	R	R	H	H	R	H	H	R	R	R	H	R	R	R	R
<i>Ps. fluorescens</i> G 20	R	R	—	R	H	H	H	H	H	H	R	R	—	R	H	R	R
<i>Ps. fluorescens</i> G 21	R	R	R	R	H	H	H	H	H	H	R	I	H	R	H	I	R
<i>Ps. maltophilia</i>	R	—	R	H	H	H	R	H	H	H	H	H	H	H	H	H	—
<i>Ps. fluorescens</i> G 18	R	R	—	R	H	H	H	H	H	H	R	I	—	R	H	R	R
<i>Acinetobacter</i> var. <i>lwoffii</i> G 29	R	—	R	R	I	R	R	R	R	H	H	H	H	R	H	H	—
<i>Acinetobacter</i> var. <i>lwoffii</i> G 26	R	R	R	R	R	H	R	R	H	H	R	H	R	H	H	H	R

R: Rezistan

H: Hassas

I: İntermedier

teriyel ajanlara hassas olduğu halde, *Staphylococcus epidermidis* G 27 nin; *Kanamycine*, *Tohramycine*, *Tetracycline* ve *Erythromycine*'e dirençli olduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

Numunelerin hemen tümünde toprak menşeli Gram (+) sporlu basillere rastlanmıştır. Aynı gözleme ilaçların diğer formlarının incelenmesinde de rastlanmaktadır. Bu durum kesif (massif) kontaminasyonlar hariç özel bir anlamı olmayan adi bir kontaminasyonu anımsatmaktadır.

Analize alınan numunelerde *Staphylococcus* mevcudiyetinin düşük bir oranda olduğu gözlenmiştir. Bu da; bu konuda yapılmış diğer araştırmalarda da (5, 6, 7) belirtildiği gibi *Staphylococcus*'ların sıvı ortamlarda pek canlı kalamamasından ileri gelmektedir. Ayrıca ilaçların kuru formlarında olduğu gibi izole edilen *Staphylococcus*'ların *Staph. aureus* ile *Staph. epidermidis* arasında bir biyoşimik karaktere sahip olduğu saptanmıştır.

izole edilen Gram (—) basillerden bir kısmının 44°C de üredikleri ve 10 vakadan 3 ünde *Str.faecalis* ile beraber buldukları gözlenmiştir. Bu da bizi intestinal orijinli kontaminasyonun katkı maddelerinin taşıyıcılığından oluştuğu fikrine götürmektedir.

tdantifiye edilen türler III nolu Tabloda ayrıntılarıyla gösterilmiştir. Bu tablonun incelenmesinden, klasikte rastlanan (8 9, 10) dan daha değişik türlerle karşı karşıya olduğumuz anlaşılır.

Numunelerde Gram (—) basillerin sıklığı çok iyi bilinen ekolojileri (6) ile bağıntılı olarak çok değişik sıvı ortamlarda çoğalmaya ve yaşamlarını devam ettirmeye yatkınlıklarındandır.

Numunelerden izole edilen fermantatif olmayan Gram (—) basiller, saprofit ve genellikle karşılaşılan türlerdir. Yalnız izole edilen *Ps. aeruginosa* (11, 12) bu sınırın dışına çıkmaktadır. Bununla birlikte saprofit veya kommensal mikroorganizmaların bir kısmının zayıf düşmüş hastalarda reenfeksiyonlara veya normalde buldukları ortamın dışında muhtelif enfeksiyonlara yol açtıklarının da unutulmaması gerekir (13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24).

Antibiyogram test sonuçlarına gelince; bulgularımızın bu konuda yapılmış çalışmalarda (1) gözlemlerle uyuşma gösterdiği izlenmiştir.

Staphylococcus G 30 un *Anaerobioz*; *Mannit*; *DN az* ve *Fostataz (+)* gibi *Staph. aureus* ile *Staph. epidermidis* arasında intermedier biyoşimik karakter taşıdığı, denenen tüm antibakteriyellere karşı belirgin bir duyarlık gösterdiği, buna karşın *Staph. epidermidis*'in ayrıcalık gösterdiği saptanmıştır.

Enterobacterie'lerde ise (bunların antibiyogram sonuçları Tablo V de gösterilmiştir); antimikrobiyel ajanlara karşı duyarlılıkları literatürlerde genel olarak rastlanan alışılmış sonuçlara benzemektedir.

Tablo VI da verilmiş olan *Ps. aeruginosa*'nın antibiyotik hassasiyet test sonuçlarını gözden geçirecek olursak, bu mikroorganizmanın adeta multirezistan olduğunu, sadece *Tobramycine*, *Colimycine* ve *Sulfadiazine*'e karşı duyarlı olduğunu görürüz. Bu görünüme hastahane suşlarında sık rastlanmaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmada izole edilen suşun bir ilaçtan izole edildiğini vurgulamak gerekir. Diğer *Pseudomonas*'lardan bir kısmı pekçok antimikrobiyel ajana karşı özellikle *Kanamycine*, *Sulfadiazine*, *Tetracycline* ve *Chloramphenicol*'e karşı belli ölçüde bir direnç göstermektedirler. *Acinetobacter*'lerin farklı antibakteriyel ajanlara karşı bilinen rezistanları (25) ile izole ettiğimiz fermantatif basillerin, özellikle *Kanamycine*, *Streptomycine*, *Gentamycine* ve *Tobramycine* karşı simültane bir direnç gösterdikleri izlenmiştir.

Bu çalışmada bir majistral sıvı ilaç şeklinin mikrobiyolojik kontaminasyonu üzerinde durulmuştur. Analize alınan numunelerin ancak bir kısmının *Pkarmacoppê Européenne* veya *Uluslararası Eczacılık Federasyonu (FIP)* tarafından istenen özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. *Staphylococcus*'ların az sayıda bulunmuş olmalarına karşın, Gram (—) basillere nisbeten daha yüksek bir sıklıkta rastlanmıştır. Antibiyotik duyarlık testleri ise bu ilaç formlarında multirezistan suşların bulunabileceğini göstermektedir.

ÖZET

Bu çalışmada; ilaçların mikrobiyolojik kontaminasyonlarının incelenmesi çerçevesi içinde bir sıvı majistral ilaç şekli denemeye sokulmuştur.

Kalitatif açıdan baskın olan flora Gram (—) basillerdir ve çoğunluğu da *Pseudomonas* familyasına bağlı türlerdir. Bu dağılım bu ilaç formlarının mikrobiyolojik ekolojisine tamamiyle uygunluk göstermek-

tedir. Çünkü nemli ortamlara adapte olmuş Gram (—) basillerin üremeleri ancak bu ilaç formlarında mümkün olabilmektedir. Aksine *Staphylococcus'larda* olduğu gibi Gram (+) koklar, bu ortamlarda kolay üreyememekte, canlılıklarını uzun süre koruyamamaktadırlar.

- Antibiyotik duyarlık testleri antibakteriyellere multirezistan bir *Ps. aeruginosa'nın* mevcudiyetini göstermiştir.

RÉSUMÉ

Dans le cadre d'une étude sur la contamination microbiologique du médicament nous envisageons dans le présent travail une forme magistrale liquide. Au point de vue qualitatif, la flore prédominante est Gram négative avec une majorité d'espèces appartenant à la famille des *Pseudomonas*. Cette répartition correspond parfaitement à l'écologie microbienne de cette forme médicamenteuse favorisant les germes Gram négatifs adaptés au milieu humide, contrairement aux coques à Gram positif comme les *Staphylocoques* survivant mal dans ce milieu. Les antibiogramme montrent la présence d'un *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant aux antibiotiques.

L I T E R A T Ü R

1. Devleeschouwer, M., J. Dony, J., *J. Pharm. Belg.* 34, 4, 189-203, (1979).
2. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M., *Am. J. Clin. Path.*, 45, 493-496, (1966).
3. Anderson, T.G., Ref. Blair, J.E., Linette, E.H. ve Trauaut, J.P., *Am. Soc. for Microbiology, Bethesda*, 299-310, (1970).
4. 2 eme rapport commun du Comité des Laboratoires et Services Officiels de Contrôle des Médicaments et de la Section des Pharmaciens de l'Industrie de la F.I.P. *Pharm. Acta Helv*, 50 285-292, (1975).
5. Dony, J., *Labo Pharma, Problèmes et techniques*, 262, 113-121, (1977)-
6. Dony, J., *Bull. et mémoires de l'académic Royale de Belgique*, 131, 323-335, (1967).
7. Dony, J., *Farm. Tijds Belg.*, 49, 99-106, (1972).
8. Pien, F.D., Martin, W.J., Hermans, P.E., Washington II. J.A., *Mayo Clin.Proc.* 47, 739-745, (1972)-
9. Meyers, B.R., Bottone, E., Hirschman, S.Z., Schneuersson, S.S., *Annals of Intern Med.* 76, 9-14, (1972).
10. Schneiersson, S.S., Bottone, E., *Crit. Rerv. Clin. Lab. Sci* 4, 341-355, (1973).
11. Baird, R., Shooter, R.A., *Br. Med. J.* 2, 349-350, (1976).

12. Falkiner, F.R., Keane, C.T., Dalton, M., Clancy, M.T. Jacoby, G.A., *J.Clin. pathol.* 30, 731-737- (1977)-
13. Close, J.A., Nielsen, P.A., *Appl. Env. Microb.*, 31, 718-722. (1976).
14. Gilardi, G.L., *Ann. Intern. Med.* 77, 211-215, (1972).
15. Loiseau-Marolleau, M.L., Malarre, N., *Pathol. Biol.* 25, 637-645. (1977).
16. Blazevic. D.J., Kopecke, M.H., Matsen, J.M., *Applied Microb.*, 25, 107-110, (1973).
17. Riley, P.S., Tatum, H.W., Weaver, R.E., *Appl. Microb.* 24, 798-800, (1972).
18. Carson, L.A., Favero. M.S., Bond, W.W., Peterson, N.J., *Appl. Microb.*, 25, 476-483, (1973).
19. Kominos, S.D., Copeland, C.E., Grosiak, B., Postic, B., *Appl. Microb.*, 24, 567-570, (1972).
20. Cho, J.J., Kominos, S.D., Green, S.K., *Phyto Pathol.*, 65, 425-431, (1975).
21. Klatstersky, J., *Acta Clin. Belg.*, 29, 233-239, (1974).
22. Rose, H.D., Schreuer, J., *Amer. J. Med. Sci.*, 255, 228, (1968).
23. Shooter, R.A., Faiers, M.C., Cooker E.M., Breaden, A.L., O'Farrell, S., *Lancet*, 2, 390, (1971).
24. Le Cocq, E., Linz R., *Path. Biol.*, 23, 277-282, (1975).
25. Uwaday, M., Taqi Eddin, A.R., *J. Inf. Dis.*, 134, 528-532, (1976).