

Nozokomiyal *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarında İndüklenebilir Beta-Laktamaz Aktivitesi

Mustafa BERKTAŞ¹, Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU¹, Aytekin ÇIKMAN¹, Mehmet PARLAK^{a1},
Görkem YAMAN²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

²Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çalışmada, indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) varlığında ciddi klinik sorunlara yol açan, birçok beta-laktam antibiyotiğe direnç geliştirerek tedavi yetersizliğine neden olabilen hastane kaynaklı *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında, İBL varlığı ile antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ekim 2008 - Kasım 2009 tarihleri arasında laboratuvarında izole edilen ve CDC kriterlerine göre hastane enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanan 87 *P. aeruginosa* suşunda İBL üretimi araştırıldı; antipsödomonal antibiyotiklere karşı duyarlılık testleri Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson- USA) ile yapıldı.

Bulgular: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 87 *P. aeruginosa* suşunun 64'ü (%74) İBL pozitif olarak belirlendi. *P. aeruginosa* suşlarının antipsödomonal antibiyotiklere direnç oranları; amikasin %11, siprofloksasine %38, seftazidime %47, levofloksasine %51, meropeneme %60, piperasiline-tazobaktama %66, imipenem ve gentamisine %71, aztreonama %72, piperasiline %74, sefepime %76 olarak tespit edildi.

Sonuç: Hastanemizdeki *P. aeruginosa* suşlarında yüksek İBL üretim sıklığı ve antibiyotik direnci nedeniyle ampirik tedavi planlanırken bu bulguların dikkate alınması yarar sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, İndüklenebilir beta-laktamaz, Nozokomiyal

ABSTRACT

Inducible Beta-Lactamase Activity of Nosocomial *Pseudomonas Aeruginosa* Strains

Objective: Inducible beta-lactamase (IBL) presenting *Pseudomonas aeruginosa* strains can lead to inadequate treatment because of resistance to many beta-lactam antibiotics and cause serious clinical problems. In this study, we aimed to determine the presence of IBL and antibiotic resistance rates of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* strains.

Materials and Methods: The IBL production were investigated in 87 *P. aeruginosa* strains which were isolated between October 2008 and November 2009 in our laboratory and defined as nosocomial isolates according to CDC criteria. Susceptibility testing of antipseudomonal antibiotics were performed with Phoenix automated microbiology system (Becton-Dickinson, USA).

Results: Among 87 strains isolated from various clinical specimens 64 (74%) *P. aeruginosa* strains were detected positive for IBL production. Resistance rates for antipseudomonal antibiotics were 11% to amikacin, 38% to ciprofloxacin, 47% to ceftazidime, 51% to levofloxacin, 60% to meropenem, 66% to piperacillin-tazobactam, 71% to imipenem and gentamicin, 72% to aztreonam, 74% to piperacillin, and 76% to cefepime.

Conclusion: Because of high incidence of IBL production and antibiotic resistance of *P. aeruginosa* strains in our hospital, these findings be taken into account can be benefit when planning empirical therapy.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Inducible beta-lactamase, Nosocomial

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan fırsatçı bir patojendir (1,2). *P. aeruginosa* mekanik ventilasyon desteğindeki hastalarda ve kistik fibrozlu hastaların akut alevlenmelerinde görülen pnömoniler başta olmak üzere, nötropenik hastalar ve immün sistemi baskılanmış hastalardaki bakteriyemiler, yanık yarası enfeksiyonları, diyabetik hastalarda ve yüzücülerin kulağında gelişen malign otitis media, primer veya metastatik odaklardan kaynaklanan deri ve yumuşak

doku enfeksiyonlarına yol açmaktadır (3,4). Yoğun bakım, yanık, onkoloji ve cerrahi servislerindeki hastalarda çoklu ilaç direnci nedeniyle yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (2,5,6). *P. aeruginosa*, % 10-25 oranı ile hastane enfeksiyonlarından en sık sorumlu tutulan patojenler arasında yer almaktadır (7,8,9).

P. aeruginosa, bilinen tüm enzimatik ve mutasyonel bakteriyel direnç mekanizmalarını kullanabilme yeteneğine sahip olmasına rağmen en sık beta-

laktamaz aracılı dirence rastlanmaktadır (9, 10). Beta laktamazların sınıflandırılmasında son dönemlerde Bush-Jacoby-Medeiros klasifikasyonu kullanılmaktadır (11). İndüklenebilir beta-laktamaz (İBL) bu sınıflandırmaya göre Grup I'de kromozomal beta-laktamaz grubunda yer almaktadır (10). Bu grup enzimler normalde bir baskılayıcı mekanizma ile dış düzeyde sentezlenirken, ortama bir β -laktam antibiyotik eklendiğinde enzim sentezi yüksek düzeylere ulaşacak şekilde uyarılabilmektedir. Böylece indüklenebilir β -laktamazlara sahip türlerde, sürekli yüksek düzeyde kromozomal enzim üretebilen "stabil dereprese" mutantlar ortaya çıkabilmektedir. Son yıllarda bu bakterilerde gözlenen direnç mekanizmasından daha çok bu dereprese kromozomal enzimlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Dereprese mutantlar karakteristik olarak, karbapenemler dışındaki β -laktamlara dirençlidirler (12). Bu suşlarla gelişen infeksiyonlarda 2. ve 3. kuşak sefalosporinler ve aztreonamın tek başlarına kullanılmasından kaçınılmalıdır. Laboratuvarından İBL sonucunun bildirilmediği durumlarda da, *Pseudomonas* türlerinin bu özellikte olduğu ve duyarlılık testlerinde "yalancı duyarlı" olarak görülebilecekleri unutulmamalıdır (6).

Çalışmamızda nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında İBL üretim sıklığı ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 2008 - Kasım 2009 tarihleri arasında laboratuvarımızda izole edilen ve CDC kriterlerine göre (13) hastane infeksiyonu etkeni olarak tanımlanan 87 *P.aeruginosa* suşunun amikasin, aztreonam, seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, meropenem, levofloksasin, piperasilin ve piperasilin-tazobaktam karşı direnç oranları belirlenerek bu bakterilerde İBL üretim sıklığı araştırılmıştır.

Çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen inceleme örnekleri % 5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue agara ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda üreyen bakterilerden R tipinde ve aromatik kokulu koloni oluşturan, oksidaz testi pozitif olan kolonilerin *P.aeruginosa* olabileceği düşünülerek BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson, USA) ile, bu sisteme ait Gram negatif paneller kullanılarak tür düzeyinde tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. Otomatize sistem klinik örneklerin türüne bağlı olarak bazı suşlarda levofloksasin, meropenem, imipenem ve piperasilin direncini vermediği için oranlar çalışılan suşlar üzerinden hesaplandı.

İzole edilen *P.aeruginosa* suşlarının İBL aktivitesi; güçlü indükleyici olarak imipenem, zayıf indükleyici olarak da aztreonam, seftriakson, seftazidim ve sefotaksim diskleri kullanılarak disk induksiyon testi ile araştırıldı. Bu yöntemde, *P.aeruginosa* kökenlerinin

18-20 saatlik kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı ve Müeller-Hinton agar besiyerine ekimleri yapıldı. Daha sonra plağın ortasına güçlü bir beta-laktamaz indükleyicisi olan imipenem, bunun yanına merkezden merkeze 2 cm uzaklıkta olacak şekilde aztreonam, seftriakson, seftazidim ve sefotaksim diskleri yerleştirildi. Aztreonam, seftriakson, seftazidim ve sefotaksim disklerine ait zon çaplarının imipeneme bakan yüzlerinde belirgin olarak daralma olan izolatların İBL ürettiği kabul edildi (14).

BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 87 *P.aeruginosa* suşunun 64'ü (%74) İBL pozitif olarak belirlendi. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı Tablo 1'de, çeşitli antibiyotiklere direnç durumları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı

Klinik örnek	n	%
Trakeal aspirat	65	75
Yara	7	8
Kan	6	7
İdrar	4	4
Diğer (Parasentez, BOS, Balgam)	5	6
Toplam	87	100

n: Elde edilen suş sayısı

Tablo 2. *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	n	R (%)
Amikasin	87	8 (11)
Siprofloksasin	87	33 (38)
Seftazidim	87	41 (47)
Levofloksasin	81	41 (51)
Meropenem	86	52 (60)
Piperasilin-Tazobaktam	87	57 (66)
İmipenem	82	58 (71)
Gentamisin	87	62 (71)
Aztreonam	87	63 (72)
Piperasilin	81	60 (74)
Sefepim	87	66 (76)

n: Çalışılan suş sayısı, R: Dirençli suş sayısı

TARTIŞMA

Antibakteriyel ajanların uygunsuz kullanımı mikroorganizmalara karşı direnç oluşumunun hızla artmasına neden olmaktadır. Özellikle hastane infeksiyonlarında önemli bir etken olan *P.aeruginosa* ile oluşan infeksiyonların tedavisi her geçen gün daha önemli bir sorun oluşturmaktadır (2,14,15). Nozokomiyal etkenlerde antibiyotiklere direnç oranı hastane dışı infeksiyon etkenlerine göre daha yüksektir. Bu fark,

özellikle antibiyotik kullanımının yaygın olduğu yoğun bakım ünitelerinde belirgin olarak ortaya çıkmaktadır (16).

Pseudomonas aeruginosa, genetik olarak birçok antibiyotiğe karşı doğal dirençli olmasının yanı sıra uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlı olarak çoklu dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir (6). Bu suşlar ampisilin ve 1. kuşak sefalosporinler gibi bazı beta-laktamlarla karşılaştıklarında hızla kromozomal beta-laktamaz sentezlerler. Ortamda düşük düzeyde penisilin veya sefalosporinlerin varlığında enzim sentezinde yüksek düzeyde artış olabilmesi nedeniyle karbapenemler, IV kuşak sefalosporinler ve temosilin dışındaki tüm beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişmektedir (14,17).

Bu beta-laktamazlara bağlı direnç oranları, antibiyotik kullanım özelliklerine bağlı olarak ülkelere, bölgelere, hatta hastanelere göre farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda Çelik ve ark. (7) klinik örneklerden izole ettikleri *P.aeruginosa* suşlarının % 82'sinde, Özgenç ve ark.(12) % 77'sinde, Oldacay ve ark. (18) % 60'ında, Ekşi ve ark. (14) %52.9'unda, Yücesoy Dede B (6) ise % 40'ında İBL varlığını pozitif olarak bulmuşlardır. Yurtdışında yapılan benzer çalışmalarda da *P.aeruginosa* suşlarında İBL varlığı ülkemizde olduğu gibi yüksek olarak bildirilmiştir. Bu çalışmalardan; Dunne ve ark. (19) % 85.8, Wolska ve ark. (20) ise % 98.5 oranında İBL varlığı bildirmişlerdir.

Gayyurhan ve ark. (11) yaptıkları bir çalışmada antibiyotik direnç oranlarını imipeneme % 20, amikasin % 21, siprofloksasine % 42, gentamisine % 51, seftazidime % 52, aztreonama ise % 54 olarak

tespit etmişlerdir. Özdemir ve ark. (16) piperasilin/tazobaktama % 23, amikasin % 24, seftazidime % 36, seftipime % 43, siprofloksasine % 44, aztreonama % 48, levofloksasine % 50, gentamisine % 52 ve imipeneme % 54 oranında direnç bildirmişlerdir. Yücesoy Dede B. (6) ise çalışmasında; seftazidime % 24, seftipime % 46, imipeneme % 37, piperasilin-tazobaktama % 38, amikasin % 29, gentamisine % 58, trimetoprim-sulfametaksazole % 87, aztreonama % 53, siprofloksasine % 52 oranında direnç saptamıştır. Benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında antibiyotiklere direnç oranlarımızın genel olarak uyumlu, ancak imipenem direncinin önemli oranda (% 71) yüksek olduğu görülmüştür. Bunun nedenleri arasında suşların çoğunlukla yoğun bakımdan izole edilen dirençli suşlar olması ve hastanemizde uzun süreden beri imipenemin yoğun olarak kullanılması düşünülmektedir.

Çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarının örneklere göre dağılımı incelendiğinde yoğun olarak trakeal aspirat, daha sonra yara, kan ve idrar örneklerinden izole edildiği görülmüştür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da *P.aeruginosa* sıklıkla trakeal aspirat, idrar ve yara yeri kültüründen izole edilmektedir (16).

Hastane infeksiyonu etkeni *P.aeruginosa* suşlarında İBL varlığının saptanması tedavide kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde önemli bir göstergedir. Bu nedenle her hastanede, İBL salgılayan suşların oranları bilinmelidir. Sonuç olarak, hastanemizde *P.aeruginosa* suşlarında yüksek İBL üretim sıklığı ve antibiyotik direnci nedeniyle ampirik tedavi planlanırken bu bulguların dikkate alınması yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 582-610.
2. Giamarellou H. Prescribing guidelines for severe *Pseudomonas* infections. J Antimicrob Chemother 2002; 49: 229-233.
3. Erdem B. Pseudomonaslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. In: Ustaçelebi Şed. Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; 551-558.
4. Koneman E, Stephan DA, William MJ, Schreckenberger PC, Winn CW. The nonfermentative Gram-negative bacilli. Konoman's Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Ed. Philadelphia, Lippincott, 2006: 303-391.
5. Balasubramanian D, Mathee K. Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. Hum Genomics 2009; 3: 349-361.
6. Yücesoy Dede B. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının beta-laktamaz yapımı ve çeşitli antimikrobiallere duyarlılıkları. İstanbul: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 2006.
7. Çelik İ, Cihangiroğlu M, Akbulut A. Hastane kökenli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında induklenebilir beta-laktamaz sıklığı. Fırat Tıp Derg 2007; 12: 284-286.
8. Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S ve ark. A surveillance study of antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 1999; 43: 373-378.
9. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. J Med Microbiol 2009; 58: 1133-1148
10. Fidan I, Çetin Gürel F, Yüksel S, Sultan N. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı. ANKEM Derg 2005; 19: 68-70.
11. Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta laktamaz oranlarının belirlenmesi. İnfeksiyon Derg 2008; 22: 49-52.
12. Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Arı A. *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. İnfeksiyon Derg 2002; 16: 179-182.

13. Horan TC, Andrus M, Dudek MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008; 36: 309-32.
14. Ekşi F, Bayram A, Balcı İ, Özer G. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenbilir beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotiklere direncin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37: 142-146.
15. Zilberberg MD, Chen J, Mody SH, Ramsey AM, Shorr AF. Imipenem resistance of *Pseudomonas* in pneumonia: a systematic literature review. *BMC Pulm Med* 2010; 10: 45.
16. Özdemir M, Erayman İ, Türk Dağı H, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Ankem Derg* 2009; 23: 122-126.
17. Livermore D M. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-584.
18. Oldacay M, Oldacay S, Erdem G. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında kromozomal beta-laktamaz yapımı. *İnfeksiyon Derg* 2003; 17: 197-199.
19. Dunne WM, Hardin DJ. Use of several inducer and substrate antibiotic combinations in a disk approximation assay format to screen for AmpC induction in patient isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. and *Serratia* spp. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5945-5949.
20. Wolska K, Jakubczak A, Soszyńska A. Antibiotic susceptibility and occurrence of ESBL, IBL and MBL in *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Med Dosw Mikrobiol* 2008; 60: 111-119.

Gönderilme Tarihi: 17.03.2011