

# GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında hemokültür örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları

Mustafa Güney (\*), Orhan Bedir (\*\*), Abdullah Kılıç (\*\*), Ahmet Celal Başustaoglu (\*\*)

## ÖZET

Kan dolaşımı enfeksiyonlarında güncel ampirik bir tedavi açısından izole edilen *P. aeruginosa* suşları için antimikrobiyal dirençlerin belirlenerek duyarlılık profillerinin saptanması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı GATF Eğitim Hastanesinde Ocak 2008 ile Aralık 2009 tarihleri arasında kan kültüründen izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal duyarlılığını saptamaktır. Kan kültürleri otomatize BACTEC 9240 System (Beckton Dickinson, USA) ile çalışılmıştır. *P. aeruginosa* suşları konvansiyonel metodlar ve otomatize sistemler (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA) ile tanımlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri "Clinical and Laboratory Standarts Institute" (CLSI)'in önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ve otomatize sistemler (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA) ile yapılmıştır. Bu süre içerisinde 46 *P. aeruginosa* suşu saptandı. Suşların %65'i yoğun bakım üniteleri bulunan cerrahi kliniklerden izole edilmiştir. Mikroorganizmaların antimikrobiyal direnç oranları; imipenem için %26, meropenem için %23.9, amikasin için %10.8, gentamisin için %17.3, siproflaksosin için %39.1, seftazidim için %17.4, aztreonam için %41.3, piperasilin/tazobaktam için %15.2 ve sefotaksim için de %97.8 olarak bulunmuştur. İzole edilen *P. aeruginosa* suşları için en yüksek duyarlılık oranı amikasin için tespit edilirken, en yüksek direnç ise sefotaksim için bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal direnç, kan kültürü, *Pseudomonas aeruginosa*

## SUMMARY

**The antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from blood cultures specimens in the Medical Microbiology Laboratory of Gulhane Military Medical Academy**

Determination of the susceptibility profiles of *Pseudomonas aeruginosa* strains by detecting their antimicrobial resistance patterns is necessary with regard to a current empirical antibiotic treatment in bloodstream infections. The aim of this study was to detect the antimicrobial susceptibility pattern of *P. aeruginosa* strains isolated from blood cultures between January 2008 and December 2009 at the Training Hospital of Gulhane Military Medical Faculty. Blood cultures were processed by automatized BACTEC 9240 System (Beckton Dickinson, USA). *P. aeruginosa* strains were identified by conventional methods and automatized systems (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA). Antimicrobial susceptibility tests were performed by Kirby-Bauer disc diffusion method and automatized systems (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA) in accordance with the recommendations of Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). Forty six *P. aeruginosa* strains were isolated during the study period. Sixty five per cent of the strains were isolated from the surgical clinics comprising intensive care units. The antimicrobial resistance rates of the microorganisms were found to be 26% for imipenem, 23.9% for meropenem, 10.8% for amikacin, 17.3% for gentamicin, 39.1% for ciprofloxacin, 17.4% for ceftazidime, 41.3% for aztreonam, 15.2% for piperacillin/tazobactam and 97.8% for ceftaxime. For *P. aeruginosa* strains isolated the highest antimicrobial susceptibility rate was for amikacin, whereas the highest antimicrobial resistance rate was for ceftaxime.

**Key words:** Antimicrobial resistance, hemoculture, *Pseudomonas aeruginosa*

\* GATA Kan Eğitim Merkezi ve Kan Bankası Müdürlüğü

\*\*GATF Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bu makalenin verileri Gülhane Mikrobiyoloji Günleri Kongresinde (Ankara, 20-22 Nisan 2010) poster bildirisi olarak sunulmuştur

**Aynı basım isteği:** Dr. Mustafa Güney, GATA Kan Eğitim Merkezi ve Kan Bankası Müdürlüğü, Etlik-06018, Ankara

**E-mail:** drmguney@yahoo.com

**Makalenin geliş tarihi:** 07.01.2011 • **Kabul tarihi:** 22.04.2011

## Giriş

Doğada yaygın olarak bulunan *Pseudomonas aeruginosa* son zamanlarda sıkça izole edilen ve çeşitli ilaçlara karşı geliştirdiği direnç nedeniyle önemli olan bir bakteridir (1). *P. aeruginosa*'nın neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonu kliniği diğer gram negatif bakterilerden farksız olmakla beraber, bu tür olgularda mortalite ve morbidite oranları daha yüksektir. Özellikle son yıllarda artan antimikrobiyal direnç oranları nedeniyle mortalitesi %31'den %61'e çıkmıştır (2). Aynı zamanda *P. aeruginosa*'nın kan kültüründe görülme sıklığı giderek artmaktadır. Hatta Gram negatif bakteriler içinde en sık üçüncü sırada izole edilen bir bakteri haline gelmiştir (3). Ayrıca hastane kökenli pnömoni ve yoğun bakım sepsislerinde ikinci, üriner sistem enfeksiyonlarında üçüncü, cerrahi yara enfeksiyonlarında dördüncü ve konumuz olan kan dolaşımı enfeksiyonlarında en sık izole edilen yedinci mikroorganizmadır (4,5).

Günümüzde *P. aeruginosa* suşları bir çok antibiyotiğe direnç göstermekte, hatta bazı durumlarda tedavi sırasında bile duyarlılık durumu değişebilmektedir (6,7). Bu yüzden pek çok hastanenin en önemli sorunlarından birisi de *P. aeruginosa* suşlarının giderek artan direnç oranlarından dolayı tedavisinin zorluğudur (2). Yapılan çalışmalarda antimikrobiyal direnç profilleri hastaneden hastaneye, hatta aynı hastanede klinikler arasında değişiklikler göstermektedir. Antimikrobiyallere direnç gelişim sıklığı o hastanenin yapısı, hastaların özellikleri, hastanedeki invaziv girişim sıklığı ve en önemlisi antibiyotik kullanım politikasına göre değişmektedir. Bir çalışmada *P. aeruginosa*'ya bağlı gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarında uygun antimikrobiyal ilaçlarla başlanan tedavi rejimlerine göre, uygun olmayan antimikrobiyal ilaçlarla başlanan tedavi rejimlerinde mortalite ciddi oranlarda artmaktadır. Bu sebeple her bölgenin direnç profilinin periyodik olarak belirlenmesi kültür ve antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının beklenemeyeceği

durumlarda doğru ampirik tedavinin planlanabilmesi için önemlidir (1,8).

Bu çalışmanın amacı Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesinde kan kültüründe üreyen *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profilini belirlemek ve ampirik tedavi gereken durumlarda klinisyenlere yol göstermektir.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Ocak 2008 ile Aralık 2009 tarihleri arasında GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen hemokültür örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşları incelenmiştir. Kan kültürleri otomatize sistem ile (BACTEC 9240, BD Diagnostic Instrument Systems, USA) çalışılmıştır. Aerobik kan kültürü şişeleri aksi belirtilmedikçe yedi gün süre ile cihazda takip edilmiştir. Aynı hastaya ait birden fazla kan kültüründe aynı etken ürediğinde sadece biri değerlendirilmeye alınmıştır. Üreme sinyali vermiş kültür örnekleri %5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue (EMB) agara ekilmiş ve 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Kültürde üreme olan örneklerin gram boyaması, koloni morfolojisi, aromatik koku varlığı, kanlı agarda β hemolizi varlığı, oksidaz pozitifliği ile *P. aeruginosa* düşünülen mikroorganizmaların identifikasyonu otomatize sistem (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA) ile tür düzeyinde tanımlanarak doğrulanmıştır (9). Antimikrobiyal duyarlılıkları CLSI kriterleri (10) doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistem (BD Phoenix System, Beckton Dickinson, USA) ile belirlenmiştir. Kirby-Bauer disk difüzyon yönteminde buyyon içerisine McFarland 0,5 bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Mueller-Hinton Agar plaklarına sürüntü ekimi yapılarak, seftazidim, gentamisin, seftoksım, aztreonam, imipenem, meropenem, siprofloksasin, amikasin, piperasilin-tazobaktama duyarlılıkları test edilmiştir. Orta derecede duyarlılık gösteren suşlar dirençli kabul edilmiştir. Çalışmada *P. aeruginosa* ATCC 27853 kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

## Bulgular

Bu çalışmada yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen 46 *P. aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. Bu 46 hastanın 7'si Beyin ve Sinir Cerrahisi, 7'si Plastik Cerrahi, 6'si Anestezi ve Reanimasyon, 5'i Acil Dahiliye Yoğun Bakım, 5'i Genel Cerrahi, 3'ü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, 3'ü Tıbbi Onkoloji, 3'ü Kalp Damar Cerrahisi, 1'i Dahiliye, 2'si Gastroenteroloji, 1'i Göğüs Hastalıkları, 1'i Hematoloji, 1'i Nefroloji ve son hasta da Radyasyon Onkolojisi kliniğinden tespit edilmiştir. Bu suşların direnç oranlarına bakıldığında amikasine %10,8,

aztreonama %41,3, seftoksime %97,8, seftazidime %17,4, siprofloksasin %39,1, gentamisine %17,3, imipeneme %26, meropeneme %23,9, piperasilin/tazobaktama %15,2 olarak belirlenmiştir (Tablo I). Bu verilere göre en düşük direnç oranına sahip antimikrobiyal grubu aminoglikozidler olarak saptanırken, en yüksek direnç oranı ise β-laktam grubu antimikrobiklerde tespit edilmiştir.

**Tablo I. İzole edilen 46 *P. aeruginosa* suşunun direnç durumları**

Antimikrobiyaller	Dirençli izolat sayısı (n)	Direnç (%)
Amikasin	5	10,8
Aztreonam	19	41,3
Seftoksım	45	97,8
Seftazidim	8	17,4
Siprofloksasin	18	39,1
Gentamisin	8	17,3
İmipenem	12	26
Meropenem	11	23,9
Piperasilin/tazobaktam	7	15,2

## Tartışma

*P. aeruginosa* birçok antimikrobiyal ilaca karşı dirençlidir. Duyarlı olanlara bile tedavi sırasında antibiyotiği inaktive eden enzimler ile (beta laktamaz) direnç geliştirebileceği gibi, dış membrandaki por proteinlerini kodlayan genlerde mutasyon ile veya dirençli mikroorganizmalardan plazmid aracılı direnç aktarımı yolu ile direnç geliştirebilir (3). Dirençli suşların artması, birden fazla direnç paternlerinin olması ve hastanelerdeki yoğun antibiyotik baskısı son yıllarda çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* suşlarının artmasını sağlamakta ve bu bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavilerinde sorun yaşanmasına neden olmaktadır (11).

*P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde tek ilaçla tedavi yapılabilmesine karşın, günümüzde kombine antimikrobik tedavi tavsiye edilmektedir. Zira bu tür tedavi hem direnç gelişme riskini azaltır, hem de elde edilen sinerji nedeniyle tedavinin başarı şansını artırmaktadır (12). Dolayısıyla uygun antimikrobik tedavinin erken başlaması mortalite ve morbiditeyi belirgin ölçüde azaltacaktır (13). Bu amaçla antipsödomonal penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, kinolonlar ve aminoglikozidler kullanılmaktadır (14).

*P. aeruginosa* enfeksiyonlarında ilk tercih edilen ilaçlar beta laktam türü antimikrobiyal ilaçlardır. Ancak 1980'li yıllardan bu yana *P. aeruginosa*'nın beta laktamaz üretimine bağlı gelişen direnç nedeniyle bu antimikrobiyaller ile günümüzde yapılan tedavilerde ciddi sorunlar yaşanmaktadır (15). Bu çalışmamızda aztreonam için %41,3, seftoksım için %97,8 oranında dirençli bulunmuştur. Bulduğumuz bu yüksek direnç

oranları beta laktam antimikrobisyonların çok fazla ve yaygın kullanımına bağlanmıştır. Bir çalışmada ampirik tedavide piperasilin/tazobaktam yerine imipenem kullanılmaya başlanması ile piperasilin/tazobaktam direncinin anlamlı derecede azaldığı, imipenem direncinin ise arttığı bildirilmiştir (11). Yaptığımız çalışmada beta laktam+beta laktamaz inhibitörlerine karşı direnç durumu da araştırılmış ve piperasilin/tazobaktam için %15.2 oranında bir direnç oranı tespit edilmiştir. Bu verilerin laboratuvarımızda iki yıl önce Gümral ve ark.larının bulduğu direnç verileri (16) ile uyumlu olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca farklı makalelerden derlenen ülkemizde yapılan direnç veri çalışmaları Tablo II'de yurt dışında yapılan çalışmaların verileri ise Tablo III'de sunulmuştur.

Tüm dünyada olduğu gibi, Türkiye'de de *P. aeruginosa*'nın beta-laktamlara artan direnci nedeniyle tedavide karbapenemler ilk seçenek olarak düşünölmeye başlanmıştır. Ancak son zamanlarda *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenemaz üretimindeki artış, bu antibiyotiklere karşı direnci de beraberinde getirmiştir. Yapılan bu çalışmada imipenem için %26 ve meropenem için de %23.9 olarak bulunmuştur. Bulunan bu oranlar iki yıl önceki aynı laboratuvarın yaptığı çalışmadaki imipenem %32, meropenem %34'lük direnç oranları ile kıyaslandığında hafif bir düşme bulunmasına rağmen, direnç verilerindeki bu yüksek oran ampirik tedavi rejimlerinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Aminoglikozidler özellikle son yıllarda imipenem gibi bir antimikrobiyal ile kombine olarak kullanılmaktadır (22). Aminoglikozitler arasında da en çok amikasin kullanılmaktadır. Zira aminoglikozit modifiye edici enzimlerden daha az etkilendiği için grubun diğer üyelerine kıyasla daha nadir direnç gelişmektedir (14). Bu çalışmada izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında gentamisin için %17.3 ve amikasin için %10.8'lik bir direnç oranı tespit edilmiştir. Bu açıdan

bakıldığında hastanemizin verileri Tablo II'deki ülkemiz ve Tablo III'deki dünyadan alınan direnç verileri ile uyumludur.

*P. aeruginosa* dahil olmak üzere Gram negatif bakterilere 1980'li yılların başlarından itibaren en etkili antimikrobisyonlardan biri de kinolonlardır. En çok kullanılan kinolonlardan biri siprofloksasindir ve tek başlarına veya diğer ilaçlarla kombine olarak kullanılabilir (23). Kullanımının kolay olması ve toksisitesinin düşük olması nedeniyle oldukça sık tercih edilen florokinolonlara karşı yaptığımız çalışmada %39.1'lik direnç oranı bulunmuştur. Direnç verilerimizin hem Türkiye'de (Tablo II), hem de dünyada (Tablo III) yapılan bu direnç oranı çalışmaları ile benzer olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak *P. aeruginosa* izolatlarına karşı kullanılabilir antimikrobisyonlara karşı günümüzde artan direnç oranları, tedavide ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle her hastane direnç verilerini düzenli aralıklarla izlemeli ve ampirik tedavi protokollerini güncellemelidir. Ampirik tedavi protokolleri kültür antibiyogram sonucuna göre yönlendirilmeli ve tedavi sırasında bile direnç gelişebileceği göz önünde bulundurularak kültür antibiyogram isteği yenilenmelidir.

## Kaynaklar

1. Kalem F, Gündem NS, Feyzioğlu B, Arslan U, Tuncer İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM Dergisi 2008; 22: 123-126.
2. Vitkauskien A, Skrodenien E, Dambrauskien A, Macas A, Sakalauskas R. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: Resistance to antibiotics, risk factors, and patient mortality. Medicina 2010; 46: 490-495.
3. Coşar M, Tuncer İ, Arslan U. Kan kültürlerinde üreyen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profili. İnfeksiyon Dergisi 2009; 23: 47-50.

**Tablo II. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç durumları\***

Antimikrobiyaller	Bu çalışmada bulunan direnç oranları (%)	Direnç oranları (%)
Amikasin	10.8	2-34
Aztreonam	41.3	13-59
Seftazidim	17.4	15-62
Siprofloksasin	39.1	7-57
Gentamisin	17.3	14-65
İmipenem	26	3-65
Meropenem	23.9	3-69
Piperasilin/tazobaktam	15.2	11-74

\*: 1, 3, 7, 11, 14, 17, 18 no.lu kaynaklardan derlenerek hazırlanmıştır

**Tablo III. Yurt dışında yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç durumları\***

Antimikrobiyaller	Bu çalışmada bulunan direnç oranları (%)	Direnç oranları (%)
Amikasin	10.8	5-93
Aztreonam	41.3	26-82
Sefotaksim	97.8	50
Seftazidim	17.4	9-84
Siprofloksasin	39.1	11-73
Gentamisin	17.3	12-70
İmipenem	26	5-44
Meropenem	23.9	10-37
Piperasilin/tazobaktam	15.2	5-86

\*: 17, 19, 20, 21 no.lu kaynaklardan derlenerek hazırlanmıştır

4. 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.
5. Gad GF, El-Domany RA, Sahar Z, Ashour HM. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental samples in Minia, Egypt: Prevalence, antibiogram and resistance mechanisms. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 1010-1017.
6. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect 2005; 11 (Suppl 4): 17-32.
7. Azık TE, Doğru Ü, Güriz H, Aysev AD, İnce E, Çiftçi E. Çocuklarda *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları. Çocuk Enfeksiyon Dergisi 2007; 1: 1-5.
8. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1306-1311.
9. Blondel E, Henry DA, Speert DP. *Pseudomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen HJ, et al. (eds). Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Vol.1. Washington DC: ASM Press, 2007: 734-749.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Informational Supplement, M100-S20, CLSI, Wayne, PA 2010.
11. Dünder D, Sönmez Tamer G. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. ANKEM Dergisi 2009; 23: 17-21.
12. El Solh AA, Alhajhusain A. Update on the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J Antimicrob Chemother 2009; 64: 229-238.
13. Mehta M, Punia JN, Joshi RM. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various clinical specimens - A retrospective study. Indian J Med Microbiol 2001; 19: 232.
14. Yücel M, Yavuz T, Kaya D, et al. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişimlerinin izlenmesi. ANKEM Dergisi 2006; 20: 152-155.
15. Godfrey AJ, Bryan LE. Resistance of *P. aeruginosa* to new  $\beta$ -Lactamase-resistant  $\beta$ -lactams. Antimicrob Agents Chemother 1984; 26: 485-488.
16. Gümral R, Şenses Z, Doğanay ÜD, Aydoğan H, Başustaoğlu AC. GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnç durumları. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 8-10 Nisan 2004, İstanbul. Kongre Özet Kitabı, 214.
17. Üstün C. Hastane kökenli karbapenem dirençli ve duyarlı *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. ANKEM Dergisi 2010; 24: 1-6.
18. Tunçoğlu E, Yenişehirli G, Bulut Y. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM Dergisi 2009; 23: 54-58.
19. Saghir S, Faiz M, Saleem M, Younus A, Aziz H. Characterization and anti-microbial susceptibility of Gram-negative bacteria isolated from bloodstream infections of cancer patients on chemotherapy in Pakistan. Indian J Med Microbiol 2009; 27: 341-347.
20. Prabhash K, Medhekar A, Ghadyalpatil N, et al. Bloodstream infections in cancer patients: A single center experience of isolates and sensitivity pattern. Indian J Cancer 2010; 47: 184-188.
21. Mitt P, Adamson V, Lõivukene K. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia. J Hosp Infect 2009; 71: 365-370.
22. Wise R, Ashby JP, Andrews JM. Combined effects of meropenem and aminoglycosides on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 901-904.
23. Strunk RW, Gratz JC, Maserati R, et al. Comparison of ciprofloxacin with azlocillin plus tobramycin in the therapy of experimental *Pseudomonas aeruginosa* endocarditis. Antimicrob Agents Chemother 1985; 28: 428-432.