

## Hastane Kökenli *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarında İndüklenebilir Beta-Laktamaz Sıklığı

İlhami ÇELİK<sup>a1</sup>, Mustafa CİHANGİROĞLU<sup>2</sup>, Ayhan AKBULUT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

<sup>2</sup>Ergani Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, DİYARBAKIR

### ÖZET

**Giriş:** Hastane kaynaklı Gram-negatif bakterilerdeki indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) varlığı, klinik açıdan ciddi problemlere neden olmaktadır. Yeni beta-laktamlar başta olmak üzere tedavi sırasında bir çok beta-laktam antibiyotiğe direnç geliştirebilmekte ve tedavi yetersiz kalmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda hastane infeksiyonu tanısı almış hastalardan alınan çeşitli örneklerden izole edilen 50 *Pseudomonas aeruginosa* suşunda direkt indüksiyon yöntemiyle İBL varlığı araştırıldı.

**Bulgular:** En sık yaradan izole *P.aeruginosa* suşlarının İBL salgıladığı belirlendi. İBL saptadığımız 41 suşa yapılan rutin antibiyogramda üçü seftazidime, 16'sı seftriaksona ve 24'ü seftoksime duyarlı görünmekteydi.

**Sonuç:** Bu yalancı duyarlılık sorununun giderilmesi için antibiyogramda disk diziliminin İBL üretimini saptayacak şekilde yapılması gerekmektedir. ©2007, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Anahtar kelimeler:** *P. aeruginosa*, indüklenebilir beta-laktamaz

### ABSTRACT

#### Prevalance of Inducible Beta-Lactamases in Hospital Acquired *Pseudomonas Aeruginosa*

**Objectives:** Existence of inducible beta-lactamases (IBL) at hospital acquired Gram negative bacteria causes to problem to treat infections on clinical basis. Resistance may occur to many beta-lactam antibiotics including new ones during treatment and thus, treatment can remain insufficient.

**Materials and Methods:** In this study, existence of IBL studied with the direct induction method at 50 *Pseudomonas aeruginosa* strains that isolated different clinical specimens of the patients who diagnosed as hospital acquired infections.

**Results:** IBL existence was detected the most at *P. aeruginosa* strains isolated from wound specimens. Three strain to ceftazidim, 16 to ceftriaxone and 24 to cefotaxime were seen as susceptible on routine antibiotic disk susceptibility test among the 41 strains detected produce IBL.

**Conclusion:** To eliminate this artificial sensitivity, disks must be arranged to detect the IBL on antibiotic susceptibility test. ©2007, Fırat University, Medical Faculty

**Key words:** *P. aeruginosa*, inducible beta-lactamase

İndüklenebilir β-laktamazlar, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, Proteus, Providencia ve Morganella türleri ile *Pseudomonas Aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve diğer non-fermentatif Gram negatif bakteriler tarafından yalnızca verilen antibiyotiğe maruziyet sırasında eksprese edilen enzimlerdir. Normalde bakteri tarafından az miktarda sentezlenen enzim, ortamda bulunan bir indükleyicinin etkisi ile sentezlenmeye başlar. Farklı β-laktam antibiyotiklerin β-laktamazları indüklemeye yetenekleri de farklıdır. Normalde indüksiyon etkisi geçici olup, indükleyicinin etkisi ortadan kalkınca tekrar bazal düzeye döner. Ancak, bu tür β-laktamazları üreten bakterilerde esas sorun, β-laktamaz üreten (dereprese) mutantların bulunmasıdır (1-3). Üçüncü kuşak sefalosporinlerle bakteriyemi tedavisi sırasında dereprese mutantların seçilme olasılığı %20-40 civarındadır. Laboratuvarında indüklenebilir β-laktamaz (İBL) varlığı, disk indüksiyon testi ile gösterilebilir (2,3).

*P. aeruginosa* hastane infeksiyonlardan sorumlu en sık üçüncü patojen olup, çoklu dirençli suşların oranı giderek artmaktadır. Özellikle beta-laktamlara karşı direnç artan bir sorun oluşturmaktadır. Dünyanın her yerinde *P. aeruginosa*'da

İBL'lar söz konusudur ve sefalosporinler dahil tüm beta laktamlara karşı direnç gelişmektedir (3).

Plazmid kontrolünde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz veya kromozomal İBL sentezleyebilen suşlar, hastanelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Hastane kökenli suşlarda İBL yapımının saptanması, tedavide kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde yol gösterici olması bakımından önemlidir (4).

Bu çalışmada hastane kökenli 50 *P. aeruginosa* suşunda direkt indüksiyon yöntemiyle İBL varlığının saptanması amaçlanmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Yara yeri (19), kan (11), bronkoalveoler lavaj sıvısı (11), idrar (6), parasentez sıvısı (2), beyin omurilik sıvısı (1) örneklerinden izole edilen 50 *Pseudomonas aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edildi. Kan örnekleri BACTEC 9050 sisteminde değerlendirildi. Diğer örnekler ise, direkt olarak % 5 koyun kanlı agar, EMB ve çukulata agara ekildi.

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. İlhami Çelik, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ  
Tel: +90 424 2333555 e-mail: ilhamicelik@hotmail.com

Bakterilerin tanımlanması API 20E (bio Mérieux, S.A., Etoile, Fransa) ile yapıldı. CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ) ve sefotaksime (CTX) duyarlılığı belirlenen *P. aeruginosa* suşlarında İBL varlığı direkt indüksiyon yöntemi ile araştırıldı. Daha önceden saklama besi yerine alınan bakteriler, pasaj yapıldıktan sonra bir gece EMB agarda (Oxoid) inkübe edildi. Bakterilerin Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon'da (Oxoid) 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları, hazırlandıktan sonra petri kutuları içine 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agar yüzeyine inoküle edildi. Petri plaklarının ortasına güçlü bir beta-laktamaz indükleyicisi olan sefoksitin (FOX: 30 µg), bundan 25 mm uzaklığa ise seftazidim (CAZ: 30 µg), sefotaksim (CTX: 30 µg), seftriakson (CRO: 30 µg), aztreonam

(AZT: 30 µg) ve imipenem (IMP: 10 µg) diskleri yerleştirildi. Etüvde 37°C'de 24 saat bekletildi. Aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinlerin, sefoksitin veya imipenem gibi güçlü indükleyicilere bakan yüzlerinde inhibisyon alanları gözlemlendiğinde, İBL pozitif olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Elli *P. aeruginosa* suşunun 41'inde (%82) İBL varlığı saptandı. İzolasyon yerlerine göre, İBL pozitif ve negatif olan suşların dağılımı Tablo 1'de gösterilmektedir.

*P. aeruginosa* suşlarındaki İBL varlığı ile rutin antibiyogramdaki üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlılıkları tablo 2'de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** İzolasyon yerlerine göre İBL pozitif ve negatif olan suşların dağılımı.

İzole edilen yer	İBL pozitif	İBL negatif	Toplam
	n (%)	n (%)	
Yara yeri	15 (30)	4 (8)	19 (38)
Kan	11 (22)	0 (0)	11 (22)
Bronkoalveoler lavaj	10 (20)	1 (2)	11 (22)
İdrar	2 (4)	4 (8)	6 (12)
Parasentez sıvısı	2 (4)	0 (0)	2 (4)
Beyin omurilik sıvısı	1 (2)	0 (0)	1 (2)
<b>Toplam</b>	<b>41 (82)</b>	<b>9 (18)</b>	<b>50 (100)</b>

**Tablo 2.** İBL pozitif ve negatif olan suşların *in vitro* sefalosporin duyarlılıkları.

	İBL Pozitif (n=41)		İBL negatif (n=9)	
	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
Seftazidim (CAZ)	3	38	1	8
Seftriakson (CRO)	16	25	3	6
Sefotaksim (CTX)	24	17	1	8

## TARTIŞMA

Beta-laktamazlar, bakteriler tarafından kromozomlar, plazmidler ya da transpozonlar aracılığı ile sentez edilen ve beta-laktam antibiyotiklerdeki amid bağlarını parçalayan enzimlerdir. Pratikte ciddi sorun oluşturan Enterobacter, Pseudomonas, Serratia ve Citrobacter gibi Gram-negatif bakterilerin kromozomal beta-laktamazları indüklenebilir niteliktedir (5,6). Bu bakteriler, bazı beta-laktamlarla (ampisilin, 1. kuşak sefalosporinlerle) karşılaştıklarında hızla kromozomal beta-laktamaz sentezlerler (indüksiyon). Üçüncü kuşak sefalosporinler (sefoperazon, sefotaksim, seftriakson, seftazidim vs) kromozomal beta-laktamazları zayıf biçimde indüklerler. Bu antibiyotikler, başlangıçta bakterileri kolaylıkla öldürebilmesine rağmen bu bakteri topluluğu içinde fazla miktarda beta-laktamaz sentezleyen yapısal mutantlar öldürülemez ve infeksiyon bölgesinde kalırlar (seleksiyon). Zamanla karbapenemler hariç tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençli hale gelirler (5-7).

*P. aeruginosa* hastane infeksiyonlarının üçte birinden sorumludur. *P. aeruginosa*'ya bağlı infeksiyonların tedavisinde, beta-laktamlara karşı direnç artan bir sorun olarak devam etmektedir. Dünya genelinde, *P. aeruginosa*'da indüklenebilir kromozomal beta-laktamazlar bulunmaktadır ve kullanılmakta olan tüm sefalosporinlere karşı direnç gelişebilmektedir (1,8).

Öztürkeri ve arkadaşları (9) tarafından yapılan bir çalışmada, 43 *P. aeruginosa* suşunun %26'sında İBL varlığı saptanırken, Gülay ve arkadaşları (10) 150 *P. aeruginosa* suşu-

nun %61.3'ünde İBL saptamışlardır. Şanlıdağ ve arkadaşları (11) standart disk yakınlaştırma metodu (SDYY) ve modifiye disk yakınlaştırma yöntemleri (MDYY) ile yaptıkları bir çalışmada ise, 71 *P. aeruginosa* suşunun sırasıyla %20 ve %31'inde İBL saptamışlar, suşların %13 ve %3'ünde İBL oranını şüpheli bulmuşlardır. Kandemir ve arkadaşları (12) ise çalıştıkları 13 *P. aeruginosa* suşunun 4'ünde (%30.7) kromozomal beta-laktamaz olduğunu göztermişlerdir. Gençer ve arkadaşları (13) ise 65 *P. aeruginosa*'nın %53'ünde İBL saptamışlar, ayrıca seftazidime dirençli olmayan 48 izolatanın (%80) İBL açısından pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada saptadığımız %82'lik İBL oranı diğer çalışmalarda belirtilen tüm oranlardan yüksektir. Bunun nedeni, çalışma metodu farklılığının yanında daha geç bir dönemde yapılmış olması, hastanemizin antibiyotik kullanım politikası ve bölgesel farklılıklar olarak yorumlanabilir. Saptanan İBL oranlarına en yakın oranlar Gençer ve arkadaşları (13) tarafından yapılan çalışmadaki oranlardır.

Sonuç olarak, hastane infeksiyonu etkeni olan Gram negatif bakterilerde İBL varlığının saptanması, tedavide kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde önemli bir göstergedir. Her hastanede İBL salgılayan bakterilerin görülme sıklığı ve oranı bilinmelidir. Bu veriler ışığında, giderek büyük bir sorun oluşturan İBL pozitif beta laktamlara dirençli bakteri infeksiyonlarını önlemek için, standart infeksiyon kontrol önlemleri yanında, akılcı bir antibiyotik kullanım politikası belirlenmelidir kanısındayız.

**KAYNAKLAR**

1. Cullman W, Buscher KH, Dick W. Selection and properties of *Pseudomonas aeruginosa* variants resistant to beta-lactam antibiotics. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6: 467-473.
2. Craig WA, Ebert SC: Antimicrobial therapy in *Pseudomonas aeruginosa* infections, in Baltch AL, Smith RP (eds): *Pseudomonas aeruginosa Infections and Treatment*. New York, Marcel Dekker, 1994: 441-518.
3. Kovacs K, Yu VL, Antipseudomonal antimicrobial agent therapy. *Drugs Today* 1994; 30: 155-170.
4. Sanders CC, Sanders WE. Emergence resistance during therapy with newer  $\beta$ -lactam antibiotics: role of inducible  $\beta$ -lactamases and implication for the future. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 639.
5. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of beta-lactam resistance among non-fastidious gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin N America* 1993; 7: 411-423.
6. Livermore DM. Clinical significance of  $\beta$ -lactamase induction and stable derepression in gram-negative rods. *Eur J Clin Microbiol and Infect Dis* 1987; 6: 439.
7. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of bacterial antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed., Pennsylvania: Churchill Livingstone Inc, 2000; 243.
8. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 93-98.
9. Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Diler M, Özcan Ş. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında sefoksitin ile  $\beta$ -laktamaz induksiyonu. 27. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 1996, Antalya, Kongre Kitabı, s. 230.
10. Gülay Z, Biçmen C, Yuluğ N. *Pseudomonas* suşlarında indüklenebilir seftazidimazların araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1996;10: 329.
11. Şanlıdağ T, Öztöz Y, Saygı G. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenebilir  $\beta$ -laktamaz belirlenmesinde iki farklı yöntemin etkinliğinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1998; 28: 34-36.
12. Kandemir O, Ersöz G, Şahin E, Kaya A. Hastanede yatarak tedavi gören hastalardan soyutlanan Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002; 32: 207-211.
13. Gençer S, Ak Ö, Benzonana N, Baturel A, Özer S. Susceptibility patterns and cross resistances of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* in a teaching hospital of Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2002, 1:2.

*Kabul Tarihi: 30.05.2007*