

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları ve beta-laktam direnç fenotipleri (*)

Antibiotic susceptibilities and beta-lactam resistance phenotypes of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from various clinical samples

Özlem Güven, Derya Ünver, Sinem Özdemir, Nevriye Gönüllü, Ömer Küçükbasmacı, Kemal Altaş

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

İletişim/ Correspondence: Nevriye Gönüllü Adres / İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL Tel: 0212 4143000/22462 E-posta: nevriyegonullu@yahoo.com

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa, birçok sistemik infeksiyona neden olan fırsatçı bir patojendir ve *P.aeruginosa*'da antibiyotiklere direnç ciddi sorun oluşturmaktadır. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, bir yıl boyunca, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 161 *P.aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılıkları ve beta-laktam direnç fenotipleri araştırılmıştır. Ayrıca suşların fosfomisin duyarlılıkları da belirlenmiştir. *P.aeruginosa*'da yaygın beta-laktam direnç fenotiplerinin saptanmasında basit bir yöntem olarak disk difüzyon testi kullanılmıştır. En düşük direnç oranları, imipenem ve amikasin (%34) karşı bulunmuştur. Fosfomisin duyarlılık oranı %60 olarak belirlenmiştir. Suşların beta-laktam direnç fenotipleri, düşük düzey penisilinaz (%1,9), yüksek düzey penisilinaz (%3,7), nonenzimatik (%8,7), sefalosporinaz (%14,3), imipeneme seçici geçirmezlik (%2,5), genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (%1,2) ve kompleks fenotip (%29,2) olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik duyarlılığı, fosfomisin, beta-laktam direnç fenotipi.

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen that causes severe systemic infections and antibiotic resistance in *P.aeruginosa* is a serious problem. The antibiotic susceptibilities and the various phenotypes of beta-lactam resistance in 161 *P.aeruginosa* strains isolated from various clinical specimens over a period of a year in the Department of Microbiology and Clinical Microbiology of Cerrahpaşa Faculty of Medicine Hospital were investigated. The fosfomycin susceptibilities of the isolates were also detected. The disc diffusion test was used as a simple method to determine the beta-lactam resistance phenotypes of *P.aeruginosa*. The lowest resistance rates were found to imipenem and amikacin (34%).

The fosfomycin susceptibility rate was 60%. Beta-lactam resistance phenotypes of the isolates are low-level penicillinase (1,9%), high-level penicillinase (3,7%), nonenzymatic (8,7%), cephalosporinase (14,3%), selective impermeability to imipenem (2,5%), extended spectrum beta-lactamase (1,2%) and complex phenotype (29,2%).

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic susceptibility, fosfomycin, beta-lactam resistance phenotype.

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa, farklı fiziksel koşullara uyum yeteneği yüksek olan bir mikroorganizmadır ve bu özellikleri ile hastane ortamında önemli bir fırsatçı patojen rolüne sahiptir. İnsanda, perine, aksilla, kulak gibi bölgelere kolonize olabilmektedir. Nemli ortamları tercih etmesi nedeniyle

le hastanelerde solunum destek sistemlerinde, temizleme solüsyonlarında, ilaçlarda ve dezenfektanlarda üreyebilmektedir (1).

P.aeruginosa'da enzimatik (penisilinaz, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, sefalosporinaz, imipenemaz) ve nonenzimatik (pompa sistemleri, porin kaybı) mekanizmalar beta-laktam antibiyotiklere

*2006 yılında yapılan 21. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur (4-8 Haziran 2006, Antalya).

dirençte rol oynar. Beta-laktam direncinde bakterinin sahip olduğu mekanizmalara bağlı olarak fenotipler görülmektedir (2).

Doğal fenotip: Tikarsilin, seftazidim, aztreonam, tikarsilin+klavulanik asit, imipenem, sefsulodin ve sefepime karşı duyarlılık görülür. İmipenemin, sefepim ve sefsulodin üzerine antagonist etkisi gözlenir (2).

Plazmid kontrolünde penisilinaz fenotipi: Bu fenotipte iki durum söz konusudur.

OXA-1 ve 4 veya TEM-1 ve 2 beta-laktamazlarına bağlı **düşük düzey penisilinaz** fenotipinde, kökenler tikarsiline dirençli ya da orta duyarlı, sefepimin ve sefsulodinin aktivitesi azalmıştır. Tikarsilin-klavulanik asitin zon çapı doğal tipte görüldüğünden genellikle daha küçüktür. PSE/CARB enzimlerine bağlı **yüksek düzey penisilinaz** fenotipinde ise, kökenlerin tikarsilin ve sefsulodine yüksek düzeyde direnci vardır (2).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz fenotipi: Kökenler, beta-laktam antibiyotiklere dirençli ancak imipeneme duyarlıdır. Bu beta-laktamazlar, klavulanik asit ile inhibe olurlar ve tikarsilin-klavulanik asit ile sefotaksim, seftazidim ya da aztreonam arasında sinerjik etki görülür (2).

Sefalosporinaz fenotipi: AmpC sefalosporinazın aşırı üretimine bağlı olan bu fenotipte, sefotaksime karşı direnç, ancak tikarsilinin etrafında zon vardır. Seftazidimin zon çapı, aztreonamın zon çapından küçüktür. Bu kökenlerde sadece imipenem etkilidir (2).

Metallo beta-laktamaz fenotipi: Seftazidime direnç görülür. Aztreonam, piperasilin ve karbapenemlere duyarlılık değişkendir, bazı kökenler ise aztreonama duyarlı olabilmektedir (2).

Nonenzimatik direnç fenotipi: Pompa sistemlerine bağlı olarak ortaya çıkan bu fenotipte çeşitli durumlar söz konusudur:

MexA-MexB-OprM pompa sisteminde tikarsilin ve sefotaksime duyarlılıkta azalma vardır. Seftazidimin zon çapı aztreonamın zon çapından büyüktür.

MexC-MexD-OprJ pompa sisteminde sefepime duyarlılık azalmıştır. Bunun dışında, doğal fenotiple aynı duyarlılık durumu sergilenir.

MexE-MexF-OprN pompa sistemi veya imipeneme seçici geçirmezlik fenotipinde imipeneme duyarlılık çok azdır ya da direnç görülür. Bu fenotipte diğer antibiyotiklere duyarlılık doğal fenotipte görüldüğü şekildedir (2).

Kompleks direnç fenotipi: İki ya da daha fazla direnç mekanizmasının birlikte bulunması durumudur (2).

Bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkisini gösteren fosfomisin, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Karboksipenisilinler, üreidopenisilinler, 2-amino-5-tiazolil sefalosporinler ve aminoglikozidler ile fosfomisin arasında da sinerji varlığı gösterilmiştir. Fosfomisin *P.aeruginosa*'da, pompa sistemlerinin bir substratı değildir (3,4).

Bu çalışmada amaç, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında antibiyotiklere direnç oranlarını belirlemek ve bu suşların beta-laktam direnç fenotiplerini saptamaktır. Ayrıca fosfomisine karşı *P.aeruginosa* suşlarının duyarlılık oranını belirleyerek bu antibiyotiğin *P.aeruginosa*'nın etken olduğu infeksiyonlarda kullanılabilirliği hakkında bilgi edinmek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji laboratuvarlarına Ocak - Aralık 2005 tarihleri arasında gönderilen 161 klinik örnek (cerrahi servislerden 34, diğer servislerden 78, polikliniklerden 37, yoğun bakım ünitelerinden 12 örnek) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, 56 idrar, 32 solunum örneği, 20 abse, 10 doku örneği, 10 kan ve 33 yara yeri, kulak ve burun sürüntüsü örneğinden izole edilen *P.aeruginosa* suşları incelenmiştir. Örnekler 124 yatan ve 37 poliklinik hastasından izole edilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde, tikarsilin (75 µg), pi-

perasilin (75 µg), sefsulodin (30 µg), seftazidim (30 µg), sefepim (30 µg), aztreonam (30 µg), sefotaksim (30 µg), sefoperazon (30 µg), latamoksef (30 µg), imipenem (10 µg), tikarsilin-klavulanik asit (75+10 µg), piperasilin-tazobaktam (75+10 µg), siprofloksasin (5 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg) ve fosfomisin (200 µg) diskleri kullanılmıştır. Suşların, antibiyotik duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) disk difüzyon kriterlerine göre saptanmıştır. Suşların, fosfomisine karşı duyarlılıkları ise Fransız Antibiyogram Komitesinin Standartlarına göre değerlendirilmiştir (5,6).

P.aeruginosa suşlarının, beta-laktam direnç fenotiplerinin saptanmasında, beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık sonuçlarından yararlanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile beta-laktam direnç fenotipinin saptanmasında öncelikle, tikarsilin, sefotaksim, seftazidim ve imipenem duyarlılık sonuçları değerlendirilmiştir. Sefsulodin, sefepim ve aztreonam belirli fenotiplerin, tikarsilin-klavulanik asit sinerjinin, imipenem ise indüklenebilir kromozomal gen kaynaklı sefalosporinaz varlığının saptanmasında kullanılmıştır (2).

Çalışmamızda, *P.aeruginosa* suşlarında, en düşük oranda direncin %34 oranı ile imipenem ve amikasinine karşı olduğu görülmüştür. Siprofloksasine karşı suşların %39'u dirençli, %14'ü orta duyarlı olarak saptanmıştır. Fosfomisine karşı direnç oranı %40 olarak bulunmuştur.

Suşların, beta-laktam direnç fenotipleri Tablo 2'de görülmektedir.

BULGULAR

Toplam 161 *P.aeruginosa* suşunun, antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *P.aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık oranları

Antibiyotik	Duyarlı (%)	Orta Duyarlı (%)	Dirençli (%)
Tikarsilin	47	-	53
Piperasilin	56	-	44
Sefsulodin	40	20	40
Seftazidim	62	3	35
Sefepim	57	8	35
Aztreonam	40	22	38
Sefotaksim	5	29	66
Sefoperazon	49	7	44
Latamoksef	23	29	48
İmipenem	63	3	34
Tikarsilin-klavulanik asit	52	-	48
Piperasilin-tazobaktam	62	-	38
Siprofloksasin	47	14	39
Amikasin	59	7	34
Gentamisin	44	2	54

Tablo 2. *P.aeruginosa* suşlarının beta-laktam direnç fenotipleri

Beta-laktam Direnç Fenotipi	Suş Sayısı	%
Doğal	62	38,5
Düşük Düzey Penisilinaz	3	1,9
Yüksek Düzey Penisilinaz	6	3,7
Nonenzimatik	14	8,7
Sefalosporinaz	23	14,3
İmipeneme Seçici Geçirmezlik	4	2,5
GSBL	2	1,2
Kompleks	47	29,2

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz.

TARTIŞMA

P.aeruginosa suşlarında direnç mekanizmalarının çeşitliliği ve artan direnç oranları tedavide ciddi sorunlara yol açmaktadır.

Özgenç ve ark. (7) klinik örneklerden izole ettikleri 199 *P.aeruginosa* suşunda, amoksisilin-klavulanata %100, seftazidime %23, seftoksime %81, aztreonama %44, imipeneme %18, gentamisine %64, amikasin %27 ve siprofloksasine %40 oranında direnç saptamışlardır. Ardıç ve ark. (8) yatan hastalardan izole ettikleri 150 *P.aeruginosa* suşunda, duyarlılık oranlarını imipenem için % 71, aztreonam için %53, seftazidim için %60, gentamisin için %35, amikasin için %66 ve piperasilin-tazobaktam için % 57 olarak belirlemişlerdir.

Ulutaş ve ark. (9) yaptıkları çalışmada 76 *Pseudomonas* cinsi suşunda, seftazidim ve amikasin %23,7, imipeneme direnç oranını ise % 32,9 olarak bulmuşlardır. Suşların %59,2'sini siprofloksasine dirençli, %2,6'sını orta duyarlı olarak saptamışlardır.

Gökalp ve ark. (10) yaptıkları çalışmada *Pseudomonas* cinsi suşlarında, direnç oranını piperasilin-tazobaktam için %18, amikasin için %20 ve imipenem için %23 olarak saptamışlardır. Siprofloksasine direnç oranı %39 olarak bildirilmiştir.

Gönüllü ve ark. (11) klinik örneklerden izole ettikleri 50 *P.aeruginosa* suşunda, agar dilüsyon yöntemiyle duyarlılık oranlarını tikarsiline %46, tikarsilin-klavulanik aside %56, seftazidime %62,

aztreonama %60, sefepime %46, imipeneme %72, amikasin %78 ve siprofloksasine %52 olarak belirlemişlerdir.

Andrade ve ark. (12) Latin Amerika'da SENTRY programına bağlı olarak *P.aeruginosa* için direnç oranlarını 1997 ile 2001 yılları arasında izlemişlerdir. Süreç ilerledikçe duyarlılık oranlarının giderek azaldığını gözlemlemişlerdir. *P.aeruginosa* için 2001 yılı verilerinde duyarlılık oranları seftazidime %56,3, sefepime %54,8, aztreonama %41,3, piperasiline %60,9, piperasilin-tazobaktam %64,9, imipeneme %62,2, amikasin %65,4 ve siprofloksasine %49,9 olarak bildirilmiştir.

Karlowsky ve ark. (13) Amerika Birleşik Devletleri'nde 1998 ve 2001 yılları arasında *P.aeruginosa*'da direnç oranlarını saptamışlardır. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen suşlarda, imipeneme %16,7, amikasin %3,7, seftazidime %9,9, sefepime %7,8, piperasilin-tazobaktam %8,8 ve tikarsilin-klavulanik aside % 26,2, siprofloksasine %21,5 oranlarında direnç saptamışlardır. Çalışmamızda, ülkemizde veya yurtdışında yapılmış bazı çalışmaların direnç oranlarına göre daha yüksek direnç oranlarının bulunması, hastalarımızın çoğunlukla yatan hasta olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Cavallo ve ark. (14) Fransa'da 11 hastaneden edinilen *P.aeruginosa* suşlarında en fazla gözlenen fenotipin non enzimatik fenotip (%38) olduğunu ve bu fenotipi beta-laktamaz (%30) ile sefalosporinaz (%29) fenotiplerinin izlediğini bulmuşlardır.

Vedel tarafından (2) Fransa'da 5 yıllık süreçte 6300 *P.aeruginosa* suşu ile gerçekleştirilen çalışmada, suşların, %14,5'i nonenzimatik, %12,5'i sefalosporinaz, %7,1'i aktarılabılır beta-laktamaz ve %6,9'u kompleks direnç fenotipi göstermişlerdir.

Gönüllü ve ark. (11) *P.aeruginosa* suşlarında duyarlı fenotipi %36, penisilinaz fenotipini %24, GSBL'yi %16, imipeneme seçici geçirmezliği %2, nonenzimatik fenotipi %10 ve sefalosporinazı %12 oranlarında bulmuşlardır. Çalışmamızda da

farklı olarak, kompleks fenotipin daha yüksek oranda bulunması, hastalarımızın çoğunlukla yatan hasta olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Japonya'da yapılmış bir çalışmada, fosfomisin dirençli *P. aeruginosa* kökenlerine karşı etkili bir antibiyotik olduğu sonucuna varılmıştır (15). Falagas ve ark. (16) çoklu dirençli *P. aeruginosa* kökenlerinde, fosfomisine karşı MİK50 32 µg/ml, MİK90 ise 128 µg/ml olarak saptamıştır ve bu antibiyotiğin idrar yolu infeksiyonlarında kullanılabilirliğine dikkati çekmiştir. Çalışmamızda da, çoğunlukla yatan hasta örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* kökenlerinin fosfomisine karşı direnç oranı %40 oranında saptanmıştır ve bu oran, fosfomisin, idrar yolu infeksiyonları gibi bazı *P. aeruginosa* infeksiyonlarında kullanılabilirliğini göstermektedir.

Beta-laktam grubu antibiyotiklerin yaygın şekilde kullanımına bağlı olarak *P. aeruginosa*'da bu gruba karşı direnç oranları artış göstermektedir. Antibiyotik kısıtlama programlarının, *P. aeruginosa*'da beta-laktam antibiyotiklere direnci azaltmada yarar sağladığı gösterilmiştir (17). Antibiyotik kullanımında son derece dikkatli olunmalı ve bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere duyarlılıkları ve yaygın direnç fenotipleri yakından takip edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Vahaboğlu H, Akhan SÇ. *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. "Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M (eds): İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2" kitabında s.1608-1618, Nobel matbaacılık. İstanbul 2002.
2. Vedel G. Simple method to determine β -lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa* using the disc agar diffusion test. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:657-64.
3. Bergogne-Bérézin E. Fosfomycin and derivatives. "A Bryskier (ed):Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals, 1. baskı" kitabında s.972-982, ASM Pres, Washington (2005).
4. Mikuniya T, Hiraishi T, Maebashi K, Ida T, Takata T, Hikida M, Yamada S, Gotoh N, Nishino T. Antimicrobial activity of fosfomycin under various conditions against standard strains, beta-lactam resistant strains, and multidrug efflux system mutants. *Jpn J Antibiot* 2005;58(2):105-22.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth In-

formational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

6. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie; communiqué 2005, édition de Janvier 2005.
7. Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Arı A. *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çeşitli antimikrobiklere direnç oranlarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2002;16:179-182.
8. Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2004;3:145-8.
9. Ulutaş AE, Onurdağ FK, Abbasoğlu U, Sultan N, Gürçan İS. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006;36:140-9.
10. Gökalp AA, Beşkoç M, Aydın MD, Gürlü N. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinslerinde direnç: 2002-2006. *ANKEM Derg* 2007;21(Ek 1):49.
11. Gönüllü N, Gürol Y, Büllüç M, Bal Ç. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında görülen beta-laktam direnç fenotipleri ve antibiyotik duyarlılıkları. *Hastane İnfeksiyon Derg* 2003;7:141-7.
12. Andrade SS, Jones RN, Gales AC, Sader HS. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Latin American medical centres: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *J Antimicrob Chemother* 2003;52:140-1.
13. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003;5:1681-8.
14. Cavallo JD, Farba R, Leblanc F, Nicolas-Chanoine, Thabaut A; Groupe d'Etude de la Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux Betalactamines. Antibiotic susceptibility and mechanisms of beta-lactam resistance in 1310 strains of *Pseudomonas aeruginosa*: a French multicentre study (1996). *J Antimicrob Chemother* 2000;46:133-6.
15. Kobayashi Y, Sumitani Y, Sugita K. Antimicrobial activity of fosfomycin against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Intern J Antimicrob Agents* 2007;30:562-5.
16. Falagas ME, Kanellou MD, Karageorgopoulos DE, Dimopoulos G, Rafailidis PI, Skarmoutsou ND, Papafrangas EA. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant Gram negative bacteria to fosfomycin. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2008 (www.ncbi.nlm.nih.gov).
17. Regal RE, DePestel DD, VandenBussche HL. The effect of an antimicrobial restriction program on *Pseudomonas aeruginosa* resistance to β -lactams in a large teaching hospital. *Pharmacotherapy* 2003;5:618-24.