

KLİNİK *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARININ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARININ VİTEK 2 OTOMATİZE SİSTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Sibel Ak^{1,2}, Fatma Yıldız², Ayten Gündüz², Mehmet Köroğlu³

¹ Zirve Üniversitesi, EBN Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Gaziantep

² Malatya Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Malatya

³ Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Sakarya

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa hastane enfeksiyonlarına yola açan gram negatif bakterilerden biridir. Sahip olduğu doğal direnç mekanizmaları ve tedavi sırasında geliştirdikleri direnç nedeniyle tedavide güçlüklerle karşılaşabilmektedir. Bu çalışmada amacımız; Ağustos 2008-Şubat 2012 yılları arasında hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen 151 *P. aeruginosa* suşuna ait antibiyotik duyarlılık profillerini belirlemektir. Klinik örnekler solunum yolu (% 55), idrar (% 23) ve yara yeri (% 22) olarak sınıflandırılmıştır. Suşların antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada amikasin, gentamisin, seftazidim, piperasilin-tazobaktam, levofloksasin, imipenem ve meropenem için duyarlılık profilleri araştırılmıştır. En yüksek direnç % 13 ile levofloksasine için tespit edilirken, en düşük direnç % 3 ile amikasin için tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, ampirik tedavi protokolleri belirlenirken güncel antibiyotik duyarlılık profillerinin göz önünde bulundurulması direncin önlenmesine olanak sağlaması açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik duyarlılık, Vitek 2

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa is one of the leading gram negative bacterial cause of nosocomial infections. Resistance mechanisms both intrinsic and occurring during the treatment give rise to challenging in the treatment of infection. The aim of this study is to determine the antibiotic susceptibility profile of 151 *P. aeruginosa* isolated from various clinical samples in our hospital. Clinical samples were classified as

respiratory (55 %), urine (23 %) and wound samples (22 %). Antibiotic susceptibility of the isolates was evaluated via Vitek 2 automated system. The susceptibility profiles of amikacin, gentamicin, ceftazidime, piperacillin-tazobactam, levofloxacin, imipenem and meropenem were studied. The highest resistance rate was for levofloxacin (13 %) whereas the lowest resistance rate was for amikacin and piperacillin-tazobactam (3 %).

In conclusion, taking in account the current antibiotic susceptibility profiles during the determination of empiric treatment protocols should help preventing the resistance.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic susceptibility, Vitek 2

Çalışmamız 25-29 Nisan 2012 tarihinde 27.ANKEM Kongresi, Dalaman'da poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Yazışmacı Yazar:

Yrd. Doç Dr. Sibel AK

Zirve Üniversitesi,

EBN Tıp Fakültesi,

Tıbbi Mikrobiyoloji AD,

27260, Gaziantep

Tel: 0 (342) 211 66 66 (7527)

0 (533) 583 7014

E-posta: mdsibelak@gmail.com

GİRİŞ

Gram negatif, nonfermenter çomak şeklinde bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa*, yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları ve bakteriyemi gibi geniş yelpazede hastalıklara yol açmaktadır (8). Özellikle immün sistemi zayıf hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. Yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında olan *P. aeruginosa* 'ya bağlı enfeksiyonlarda etkin olmayan ampirik tedaviye bağlı olarak morbidite ve mortalite oranları artmaktadır (3,23).

P. aeruginosa'nın çeşme suyu gibi az besleyici ortamlarda üreyebilmesi, birçok deterjan ve antiseptik kimyasal maddelere doğal dirençli olması, **bu bakterinin** hastane ortamında varlığını sürdürebilmesine neden olmaktadır. **Bakterinin; gerek sahip olduğu doğal direnç mekanizmaları, enzimleri, dışa atım pompaları, porin kaybı gerekse tedavi sırasında geliştirdikleri direnç mekanizmaları nedeniyle tedavisinde güçlüklerle karşılaşlabilmektedir** (2). Bakteriye ait antibiyotik direnç profilleri hastaneler arası farklılıklar gösterebildiği gibi yıllar içerisinde de değişebileceğinden düzenli olarak belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada amacımız, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına ait antibiyotik duyarlılıklarını belirleyerek hastanemiz için uygun ampirik tedavi protokollerini oluşumuna katkıda bulunmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda Ağustos 2008-Şubat 2012 tarihleri arasında hastanemiz (**Hangi hastaneden? kaç suş? Yazarlar 3 farklı hastaneden**) mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 107 hastaya ait çeşitli klinik örnekten izole edilen 151 *P. aeruginosa* suşu incelenmiştir. Bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlere ilave olarak Vitek 2 otomatize sistemi (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) kullanılmıştır. **Duyarlılık çalışılacak antibiyotikler amikasin, gentamisin, seftazidim, piperasilin-tazobaktam, levofloksasin imipenem, ve meropenem olarak belirlenmiştir.** Suşların antibiyotik duyarlılıkları Clinical Standards Laboratory Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda seçilerek Vitek 2 AST (Antibiotic Susceptibility Test) gram negatif bakteri kartları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanımlama ve antibiyotik duyarlılık kalite kontrolü için *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır. **Sonuçlar;**

CLSI önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir ⁽⁶⁾.

BULGULAR

Çalışmada izole edilen 151 *P. aeruginosa* suşlarının örnek türlerine göre dağılımları **Tablo 1**'de verilmiştir.

İzolatların antibiyotik duyarlılıkları incelendiğinde piperasilin-tazobaktam, ve amikasinin en etkili, levofloksasinin ise en düşük duyarlılığa sahip antibiyotikler olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. *P. aeruginosa* suşlarının örnek türlerine göre dağılımları [n (%)]

Örnek türü	n (%)
Solunum yolu örnekleri	83 (55)
İdrar	35 (23)
Yara yeri örnekleri	33 (22)
TOPLAM	151

Tablo 2. *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılık oranları [n (%)]

Antibiyotik	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Amikasin	141 (93)	5 (3)	5 (3)
Gentamisin	123 (81)	14 (9)	14 (9)
Seftazidim	127 (84)	10 (7)	14 (9)
Piperasilin-tazobaktam	141 (93)	-	10 (7)
Levofloksasin	114 (75)	17 (11)	20 (13)
İmipenem	132 (87)	7 (5)	12 (8)
Meropenem	139 (92)	4 (3)	8 (5)

TARTIŞMA

Önemli hastane enfeksiyon etkenlerinden olan *P. aeruginosa* en sık solunum yolu örneklerinden (trakeal aspirat, bal ve balgam) ve kandan izole edilirken bunu

yara ve idrar örneklerinin takip ettiği görülmektedir ⁽¹⁹⁾. Belçika'da yapılan çok merkezli bir çalışmada *P. aeruginosa* suşlarının kaynakları incelendiğinde % 41'inin solunum yolu, % 21'inin idrar, % 5'inin kan ve % 22.5'inin ise diğer örneklerden izole edildiği belirlenmiştir ⁽²³⁾. Bizim çalışmamızda da solunum yolu örnekleri %55 oranı ile en sık kaynak olarak görülmüştür. Bu oranı sırasıyla % 23 ve % 22 oranlarıyla, idrar ve yara yeri örnekleri takip etmiştir.

P. aeruginosa suşlarında en sık karşılaşılan direnç mekanizması porin proteinlerini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlara bağlıdır. Bunun sonucunda dış membranda bulunan por duvarlarını oluşturan proteinler hücre içine girişi engelleyerek pek çok antibiyotiğe karşı aynı anda direnç gelişimine yol açabilmektedir. Bununla birlikte, *P. aeruginosa* farklı beta-laktamaz enzimleri üreterek beta laktam grubu antibiyotikleri etkisiz hale getirebilmektedir ⁽¹⁴⁾. Bir diğer direnç mekanizması ise direnç genlerinin plazmid aracılığı ile dirençli izolatlardan duyarlı izolatlara aktarımı ile gerçekleşmektedir.

P. aeruginosa enfeksiyonlarında tedavi sırasında dirençli mutasyonların seçilmesine bağlı olarak direnç gelişebileceği literatürde belirtilmektedir ⁽¹⁶⁾. Bunun önüne geçilmesi için kombine terapiler önerilmektedir. Bu kombinasyonların başında beta-laktam ve aminoglikozidler gelmektedir. Bakteri hücre duvarında peptidoglikan yapının beta-laktam grubu antibiyotikler tarafından bozulması sonucu aminoglikozidlerin beta-laktam grubu antibiyotiklerin hücre içine girişi kolaylaştırarak, sinerjistik etkiye yol açmaktadırlar ⁽²⁰⁾. Aminoglikozidlerden amikasin, enzimatik modifikasyondan daha az etkilenmesi nedeni ile bu gruptaki antibiyotiklerin direnç gelişimi en az rastlanan olan üyesidir ⁽¹¹⁾. Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan *P. aeruginosa* suşlarının % 93'ü amikesine duyarlı olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde Paköz ve ark.⁽⁵⁾ ve Berktaş ve ark.⁽²¹⁾ nazokomiyal izolatlar ile yaptıkları çalışmalarda amikasin, iki çalışmada sırasıyla % 87 ve % 89 duyarlılık oranlarıyla en etkin antibiyotik olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde Belçika'da 716 *P. aeruginosa* izolatı ile yapılan çok merkezli bir çalışmada amikasin, % 85 oranı ile *in vitro* en duyarlı antibiyotik olarak tespit edilmiştir. Gentamisin, antipsödomonal etkinliği olan bir başka aminoglikozid olmakla birlikte ülkemizde *P. aeruginosa* ile yapılan çeşitli çalışmalarda gentamisin duyarlılığı % 25 ve % 88 aralığında tespit edilmiştir ^(4, 15, 17). Bizim çalışmamızda da gentamisin duyarlılığı literatür ile uyumlu olarak % 81 olarak belirlenmiştir.

Piperasilin, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında kullanılan antipsödomonal etkili

beta-laktam grubu antibiyotiklerdendir. *P. aeruginosa* suşlarında beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı en sık rastlanan direnç mekanizması beta-laktamazlara bağlı olarak gelişmektedir (22). Piperasiline karşı gelişen direnç nedeniyle bir beta-laktamaz olan tazobaktam tedaviye ilave edilmiştir. Piperasilin-tazobaktam duyarlılığı, İngiltere’de çok merkezli bir çalışmada % 97.2 olarak bulunmuştur (12). Ülkemizde ise farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda piperasilin-tazobaktam duyarlılıkları % 3 ile % 94 arasında değişmektedir (1, 21). Çalışmamızda **piperasilin-tazobaktam**; % 93 oranı ile en etkin iki antibiyotikten biri olarak tespit edilmiştir. Duyarlılığın düşük olduğu merkezlerde, bu antibiyotiğin ampirik kullanımı, klinik suşların yoğun bakım hastalarından izole edilmiş olması gibi nedenlere bağlı **olabileceği düşünülmüştür**.

Psödomonaslara bağlı enfeksiyonların tedavisinde etkili antibiyotiklerden diğer bir grup florokinolonlardır. Özellikle siprofloksasin ve levofloksasinin kullanıldığı florokinolonlara karşı direnç topoizomeraz II ve IV enzimlerinde mutasyon ve dışa atım pompaları ile gerçekleşmektedir (16). Master ve ark.(18) 1997 ve 2009 yılları arasında izole edilen suşlara ait sürveyans çalışmasında **924.740** *P. aeruginosa* ’ya ait antibiyotik duyarlılığı çalışılmıştır. Yapılan çalışmada siprofloksasin duyarlılığı % 71.6 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada duyarlılık durumu araştırılan **11** antibiyotik için yıllara göre direnç artışları araştırılmıştır. Buna göre, siprofloksasin en fazla direnç artışı gösteren antibiyotik olarak belirlenmiştir. Özellikle, kan izolatlarında solunum yolu örneklerine oranla daha fazla direnç artışı dikkati çekmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda kinolonlar için farklı direnç oranları tespit edilmiştir. Siprofloksasin duyarlılığının araştırıldığı Ekinçi ve ark.(7) ve Mansur ve ark.(17) yaptıkları çalışmalarda duyarlılık oranı sırasıyla % 78 ve % 92 olarak tespit edilmiştir. Köse ve ark.(5) ile Berktaş ve ark.(15) yaptıkları çalışmalarda levofloksasin duyarlılık oranları sırasıyla % 48 ve % 62 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda **araştırılan antibiyotikler arasında** levofloksasin; % 75 oranı ile en düşük duyarlılığa sahip antibiyotik olarak tespit edilmiştir.

Seftazidim en etkin antipsödomonal sefalosporinlerden biridir. Friedland ve ark.nın(9) yoğun bakımlardan izole edilmiş olan 3424 *P. aeruginosa* ile yaptıkları çalışmada seftazidim direnci % 12.4 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çapraz direnç durumlarının değerlendirildiği bu çalışmada seftazidim dirençli suşların % 82.6’sının aynı zamanda piperasilin-tazobaktama dirençli olduğu gözlenmiştir. Seftazidim ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerinin her ikisine birden dirençli olan suşların en duyarlı olduğu antibiyotik, % 76.8 duyarlılık oranı ile amikasin olarak tespit edilmiştir

(9). Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda seftazidim duyarlılık oranları % 42.3 ile % 97 arasında olduğu belirlenmiştir (10, 13, 17). **Güney ve ark.(11) kan kültürü izolatlarında seftazidime direnç oranını % 82.6 olarak tespit etmişlerdir. Gül ve ark.(10) hastane enfeksiyonu etkeni izolatlarında disk difüzyon yöntemine göre duyarlılık oranını % 42.3, E-test yöntemiyle ise bu oranı %50.7 olarak saptamışlardır.** Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (11). Çalışmamızda ise seftazidim duyarlılığı % 84 oranı ile literatür ile uyumlu olarak tespit edilmiştir.

Meropenem beta-laktam antibiyotik grubu üyesi olup diğer beta-laktamların aksine direnç gelişim için en az iki mutasyona gerek vardır (16). Eldere ve ark. (23) çalışmasında meropenem % 81.5 ile beta-laktam antibiyotikler arasında en etkin antibiyotik olarak belirlenmiştir. Henwood ve ark. (12) 2194 izolattan % 8.1'ini imipeneme dirençli, % 4.2'sini ise meropenem dirençli **bulmuşlardır.** Dirençli suşların özellikle yoğun bakımdan izole edilenler arasında olduğu dikkati çekmektedir. Karbapenemler için ülkemizde bildirilen en yüksek direnç farklı çalışmalarda % 38.8 imipenem ve % 47 ile meropenem için bildirilmiştir (7, 15). Ayrıca Gül ve ark.(10) çalışmalarında kan izolatlarındaki duyarlılık oranlarını imipenem ve meropenem için sırasıyla % 74 ve % 76.1 olarak **bildirmişlerdir.** Çalışmamızda imipenem ve meropenem için duyarlılık oranları sırasıyla % 87 ve % 92 olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, hastanemizde izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının çalışmamızda duyarlılıkları araştırılan amikasin ve piperasilin-tazobaktam en etkin antibiyotikler olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda belirlenen duyarlılık oranlarının genel itibariyle yüksek olmasının araştırılan suşlar arasında yoğun bakım izolatlarının olmamasına ~~bağlı olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.~~ Ayrıca ve hastanemizde uygulanan ampirik **tedavi seçeneklerinde geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımında seçici olunmasına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.** Bununla birlikte duyarlılığı en düşük olan levofloksasin için **de aynı uygulamanın gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.**

Referanslar derginin yazım kurallarına uygun olarak, noktalama işaretlerine dikkat edilerek yeniden düzenlenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Arda B, Yamazhan T, Ulusoy S, Özinel M (2001) Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik

- duyarlılığındaki dört yıllık değişim (1995 ve 1999). Hastane İnfeksiyon Derg 5:49-53
2. Arman D (2001) Gram Negatif Çomak İnfeksiyonlarında Güncel Tedavi Yaklaşımları. ANKEM Derg 15:421-424
 3. Arman D (2006) Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları: Etiyoloji, Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2:1-5
 4. Berktaş M, Çıkman A, Parlak M, Yaman G, Güdücüoğlu H (2011) Nozokomiyal Kökenli Pseudomonas Aeruginosa İzolatlarında Antibiyotiklere Direnç. Van Tıp Dergisi 18:192-196
 5. Berktaş M, Güdücüoğlu H, Çıkman A, Parlak M, Yaman G (2011) Nozokomiyal Pseudomonas aeruginosa Suşlarında İndüklenebilir Beta-Laktamaz Aktivitesi. Fırat Tıp Dergisi 16:125-128.
 6. Clinical and Laboratory Standards Institute C (2011) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI, Wayne, PA
 7. Ekincioglu P, Perçin D (2013) Klinik Pseudomonas aeruginosa İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 22:141-149
 8. Erdem B (1999) Pseudomonaslar. In: Ustaçelebi Ş (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, pp 551-558
 9. Friedland I, Stinson L, Ikaidi M, Harm S, Woods GL (2003) Phenotypic antimicrobial resistance patterns in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter: results of a Multicenter Intensive Care Unit Surveillance Study, 1995-2000. Diagnostic microbiology and infectious disease 45:245-250
 10. Gül M, Şensoy A, Çetin B, Korkmaz F, Seber E (2004) Hastane İnfeksiyonu Etkeni Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Seftazidime Duyarlılığın E-Test ve Disk Diffüzyon Yöntemleri İle Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg (2004) 34:33-36 34:33-36
 11. Güney M, Bedir O, Kılıç A, Başustaoğlu A (2011) GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Hemokültür Örneklerinden İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Antibiyotik Direnç Durumları. Gülhane Tıp Derg 53:119-122
 12. Henwood CJ, Livermore DM, James D, Warner M, Pseudomonas Study G (2001) Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa: results of a

UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy disc susceptibility test. The Journal of antimicrobial chemotherapy 47:789-799

13. İnce N, Geyik M, Özdemir D, Öksüz Ş, Danış A (2014) Hastane İnfeksiyonu Etkeni Olan *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Yıllara Göre Antibiyotik Duyarlılıklarının Karşılaştırılması. ANKEM Derg 28:94-99
14. Kiska D, Gilligan P (2003) *Pseudomonas*. In: Murray PJ (ed) Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington, DC, pp 719-728
15. Köse Ş, Atalay S, Ödemiş İ, Adar P (2014) Çeşitli Klinik Örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. ANKEM Derg 28:100-104
16. Livermore DM (2002) Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 34:634-640
17. Mansur A, Ay S, Ersoy Y (2013) Nozokomiyal *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılık Oranları. Turgut Ozal Med Cent 20:138-142
18. Master RN, Clark RB, Karlowsky JA, Ramirez J, Bordon JM (2011) Analysis of resistance, cross-resistance and antimicrobial combinations for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 1997 to 2009. International journal of antimicrobial agents 38:291-295
19. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A, Tulkens PM, Van Bambeke F (2007) *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 13:560-578
20. Nakamura A, Hosoda M, Kato T, Yamada Y, Itoh M, Kanazawa K, Nouda H (2000) Combined effects of meropenem and aminoglycosides on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. The Journal of antimicrobial chemotherapy 46:901-904
21. Paköz N, Şeriban Doğan Ş, Aral M (2011) Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları.

ANKEM Derg 25:73-78

22. Strateva T, Yordanov D (2009) *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of medical microbiology* 58:1133-1148
23. Van Eldere J (2003) Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 51:347-352