

NOZOKOMİYAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇİ VE KARBAPENEMLERE DİRENÇLİ SUŞLAR İÇİN MEROPENEMİN MİK DEĞERLERİ

Güliden ERSÖZ*, Feza OTAĞ**, İsmet BAYINDIR*, Özlem KANDEMİR*, Gönül ASLAN**, Ali KAYA*

- * Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN
** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MERSİN

ÖZET

Hastane infeksiyonlarında doğru empirik tedavi yaklaşımı için o hastanede infeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar ve direnç paternleri bilinmeli ve izlenmelidir.

Çalışmada Ocak-Mayıs 2002 arasında hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen 34 Pseudomonas aeruginosa suşunun anti-psödomonal antibiyotiklere duyarlılığı NCCLS önerilerine uygun olarak standart disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve bu yöntemle karbapenemlere dirençli bulunan suşlar için meropenemin MİK'ları E-test ile belirlenmiştir.

Disk difüzyon yöntemi ile 10 suş (% 29) beta-laktamlar ve aminoglikozidlere, bu suşların ikisi ayrıca kinolonlara dirençli bulunmuştur. Çok ilaca dirençli bu 10 suşun sekizi için meropenemin MİK değeri > 16 µg/ml, ikisi için 4 µg/ml olarak saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, hastane infeksiyonu, meropenem E-test, Pseudomonas aeruginosa

SUMMARY

Antibiotic Resistance in Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* Strains and Meropenem MIC Values for Carbapenem Resistant Isolates

In nosocomial infections, surveillance studies are needed to determine the resistance of nosocomial infection agents and their in vitro resistance rates for a rational empirical treatment.

Between January – May 2002, the resistance of nosocomial 34 Pseudomonas aeruginosa strains to anti-pseudomonal antibiotics were determined by disk diffusion test according to NCCLS recommendations and minimum inhibitory concentrations of meropenem for those strains found resistant to carbapenems were determined by E-test.

By disk diffusion test, 10 strains (29 %) were found to be resistant to beta-lactams and aminoglycosides, 2 of which were also resistant to quinolones. Minimum inhibitory concentration (MIC) of meropenem for eight multiple resistant strains were found to be > 16 µg/ml, and for two 4 µg/ml.

Key words: antibiotic resistance, meropenem E-test, nosocomial infection, Pseudomonas aeruginosa

GİRİŞ

Nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında *Pseudomonas aeruginosa* pek çok antibiyotiğe doğal dirençli olması nedeniyle

özel bir yer tutar. Antibiyotiklere direnç gelişim oranı o hastanenin yapısı, hastaların özellikleri, hastanedeki invaziv girişim spektrum ve sıklığı ve en önemlisi antibiyotik kullanım politikasına göre değişmektedir.

Yazışma adresi: Güliden Ersöz, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN

Tel.:(0324) 337 43 28

e-posta: gersoz@mersin.edu.tr

Alındığı tarih: 31.08.2003, revizyon kabulü: 24.12.2003

Gram negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişiminin en sık mekanizması plazmid ve kromozom kontrolündeki beta-laktamaz üretimidir. Özellikle *Pseudomonas* spp. kromozomal kontrollü indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) sentezler. Sefpirom, sefepim ve karbapenem dışında çoğu beta-laktam antibiyotikler bu enzime dayanıksızdır⁽²⁾. Daha düşük oranda olmak üzere genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, kistik fibrozisli hastalarda sıklıkla gözlemlendiği üzere penisilin bağlayan proteinin yapısında değişiklik ve bakteri dış duvar geçirgenliğinde azalma gibi mekanizmalarla da direnç gelişebilir⁽⁹⁾. Ayrıca karbapenem direncine neden olan, genellikle plazmid geçişli ve nadir görülen “metallo beta-laktamaz” sentezlenmesi söz konusu olabilir⁽²⁾.

Çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni olan *P.aeruginosa* suşlarının antipsödomonal antibiyotiklere duyarlılığı araştırılmış, karbapenemlere disk difüzyon ile dirençli suşlar için meropenemin MİK’leri E-test ile değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak-Mayıs 2002 arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nde CDC önerilerine göre⁽⁵⁾ hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 34 *P.aeruginosa* suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların isimlendirilmesinde oksidaz pozitifliği, pigment üretimi ve API 32 GN identifikasyon sistemi kullanılmıştır. NCCLS önerilerine uygun olarak Mueller-Hinton agar besiyerinde standart disk difüzyon yöntemiyle anti-psödomonal antibiyotiklere (piperasilin-100µg, seftazidim-30µg, sefepim-30µg, aztreonam-30µg, imipenem-10µg, meropenem-10µg, siprofloksasin-5µg, amikasin-30µg, tobramisin-10µg, netilmisin-30µg) duyarlılığı araştırılmıştır. Karbapenemlere dirençli suşlar için E-test (AB Biodisk) ile meropenemin MİK değerleri saptanmıştır. Sonuçlar NCCLS önerileri doğrultusunda M100-S10 (M2) kaynağındaki tablo 2B’ye göre değerlendirilmiştir⁽¹¹⁾. Meropenemin MİK değeri 4µg olan suşlar duyarlı, 16µg olanlar dirençli kabul edilmiştir. Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 22853 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Sonuçların istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde Window’s XP ortamında SPSS 9.0 programı kullanılmıştır. Değerler arasındaki uyumluluk Spearman korelasyon testi ile araştırılmıştır.

BULGULAR

İzole edilen 34 *P.aeruginosa* suşunun 10’u Yoğun Bakım, beşer tanesi Plastik Cerrahi ve Göğüs Hastalıkları, dörder tanesi İç Hastalıkları ve Ortopedi, üçer tanesi Kadın Doğum ve Dermatoloji birimlerinden izole edilmiştir. Dokuz suş yara

materyalinden, altışar suş kateterden ve trakeal aspirattan, beş suş idrardan, dört suş BAL materyalinden, ikişer suş kan ve kemikten izole edilmiştir.

İzolatların standart disk difüzyon yöntemiyle antibiyotiklere duyarlılıkları tabloda verilmiştir. 10(% 29) suş beta-laktam antibiyotikler ve aminoglikozidlere, bunların ikisi ayrıca kinolonlara dirençli bulunmuştur. Standart disk difüzyon yöntemiyle suşların % 29 (n=10)’u imipenem ve meropeneme dirençli veya az duyarlı bulunmuş, E test ile ise direnç oranı % 20 (n=8) olarak saptanmıştır. Disk difüzyon ile dirençli bulunan iki (% 25) suş için meropenem MİK’i 4 µg olarak belirlenmiştir. İki test sonucu korelasyon göstermiştir (p=0.00).

Tablo: 34 *P.aeruginosa* suşunun disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık oranları.

| Antibiyotik | Duyarlı (%) | Az duyarlı (%) | Dirençli (%) |
|----------------|-------------|----------------|--------------|
| Piperasilin | 23 (68) | 4 (12) | 7 (21) |
| Seftazidim | 21 (62) | - | 13 (38) |
| Aztreonam | 14 (41) | 7 (21) | 13 (38) |
| Sefepim | 23 (68) | 4 (12) | 7 (21) |
| Meropenem | 24 (71) | 1 (3) | 9 (26) |
| İmipenem | 24 (71) | 2 (6) | 8 (24) |
| Amikasin | 21 (62) | 2 (6) | 11 (32) |
| Gentamisin | 15 (44) | 4 (12) | 15 (44) |
| Tobramisin | 19 (56) | 2 (6) | 13 (38) |
| Netilmisin | 20 (59) | - | 14 (41) |
| Siprofloksasin | 29 (85) | 2 (6) | 3 (9) |

TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonu etkeni olarak sıklıkla karşımıza çıkan *Pseudomonas* cinsi bakterilerden en sık izole edileni virülansının yüksek olması nedeniyle *P. aeruginosa*’dır. Çok antibiyotiğe dirençli olan bu bakterinin enfeksiyonlarında başlangıç tedavisinde ancak daha önceden antipsödomonal etkinliği bilinen antibiyotikler kullanılabilir. Genellikle beta-laktam sınıfı olan bu antibiyotiklerin etkinliği de direnç gelişim oranlarına göre değişiklik gösterir. *P.aeruginosa* izolatlarında beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişiminde en önemli mekanizma mikroorganizmanın kromozomal olarak kontrol edilen İBL sentezlemesidir⁽²⁾. AmpC ile kromozomal olarak kontrol edilen ve indüklenebilen bu enzimlerin pozitiflik oranları ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda % 8.7-95 arasında bulunmuştur⁽¹²⁾. Plazmid kontrolünde GSBL de sentezlenebilir; bu enzimler *Enterobacteriaceae*’den farklı olarak *Pseudomonas* suşlarında TEM-42, PER-1 ve OXA-10’dur⁽¹⁶⁾. GSBL üreten suşlar tazobaktam ve klavulanata duyarlıdır. Ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda GSBL

pozitiflik oranlarının % 0-18 arasında değiştiği bildirilmektedir (6). Her iki beta-laktamaz varlığında da tedavide seçilebilecek en önemli antibiyotik grubu karbapenemlerdir.

Karbapenem direncine neden olan enzimlerden metallo beta-laktamazlar klinik açıdan en önemli karbapenemazlardır(2). Üç sınıf altında toplanan karbapenemazlar içinde gerçek metallo beta-laktamazlar B sınıfıdır. Aztreonam dışındaki tüm beta-laktam yapıları hidrolize eder. Plazmid geçişli olan bu enzimlerden *Pseudomonas*'larda en sık görülen IMP ve VIM serisidir. Bunların da spesifik olarak karbapenemleri hidrolize edenleri 3b alt grubudur. Yoğun bakım ünitelerinde infeksiyon etkeni olan *P.aeruginosa* suşları için karbapenem direnç oranları % 6-24 arasında değişmektedir(4,10,15). Ülkemizden bildirilen çok merkezli bir çalışmada yoğun bakım ünitesinden izole edilen suşlarda bu oran % 80'e kadar çıkmaktadır(8). Akkurt ve ark.(1)'nin çalışmasında meropenem direncinin yıllar içinde % 21'den % 69'a yükseldiği gözlenmiştir. Çalışmamızda ise meropenem MİK değerine göre değerlendirildiğinde bu oran % 20'dir. İki suş E-test sonuçlarından farklı olarak disk difüzyon testi ile dirençli olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel açıdan bu değerler arasında fark olmamakla birlikte, hasta bireysel olarak değerlendirildiğinde önem kazanabilir.

Karbapenemlere direnç gelişiminde eflusun artması veya porin kaybı nedeniyle geçirgenliğin azalması da diğer etkili mekanizmalardır. Böyle bir direnç geliştiğinde pek çok antibiyotik grubu da etkilenir ve birden çok ilaca dirençli suşlar ortaya çıkar. Kinolonlara direnç gelişiminde iki önemli mekanizmadan biri olan membran proteinlerinin (OmpF) ekspresyonunda değişiklik sonucu gelişen azalmış membran geçirgenliğinden hangi grup olursa olsun bütün antibiyotikler etkilenir(17). Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada(17) 100 *P.aeruginosa* suşunun siprofloksasin direnci % 17 iken, Bengisun ve ark.(3)'nin çalışmasında %19.7 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda siprofloksasin direnci % 8.8 bulunmuştur. Ülkemizde *Pseudomonas* suşlarında aminoglikozid direncinin en sık nedeninin permeabilite değişikliği olduğu bildirilmektedir(14). Över ve ark.(14)'nin yaptığı çalışmada aminoglikozid dirençli suşlarda permeabilite değişikliğine bağlı direnç oranı % 66.6'dır. Bu çalışmada 48 *Pseudomonas* suşunun amikasin direnci % 33 olarak bulunmuştur. Öktem ve ark.(13) yoğun bakım ünitesinden farklı örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında amikasin direncini 1997 yılında % 20-37, 1999'da % 30-100 olarak bildirmişler ve direncin anlamlı oranda arttığını saptamışlardır. Çalışmamızda bu oran % 32.4'dür. İki ve daha fazla ilaç grubuna dirençli olan suşlar çok ilaca dirençli olarak tanımlanır ve özellikle kistik fibrozisli hastalardan izole edilen *Pseudomonas* suşlarında bu oran %90'a kadar çıkmaktadır(18). MYSTIC çalışma grubunun 2000 raporunda *P. aeruginosa* suşlarında en yüksek çok ilaca direnç oranı (% 42) ülkemizden bildirilmiştir(7).

Çalışmamızda da çok ilaca direnç oranı yoğun bakım suşlarında % 40'a ulaşmıştır.

Bir yandan direnç oranlarını düşürmeye yönelik çabalar sürdürülürken, diğer yandan dirençli olgular seçilerek pratikte kullanılan yöntemlerin yanında standardize edilmiş yöntemlerle antibiyotik MİK değerinin belirlenmesi en azından bazı hastalarda doğru antibiyotik seçimini sağlayıp antibiyoterapinin etkinliğini artırabilir.

KAYNAKLAR

1. Akkurt L, Gündül Havuz S, Uyar Y, Karadağ A, Esen Ş, Günaydın M: 1999-2000 yıllarında yoğun bakım ünitesinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2002;16:14.
2. Bal Ç: Beta-laktamazlar: Güncel durum, Flora 2003;8:111.
3. Bengisun JS, Palabıyıkoglu İ, İlhan F, Kutlutürk M: Gram negatif bakterilerde siprofloksasin ve levofloksasin direnci, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001;31:212.
4. Ergin F, Arslan H, Akgün S: Nozokomiyal infeksiyon etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde E-test ve disk difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması, İnfeksiyon Derg 2001;15:473.
5. Gamer JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM: CDC definitions for nosocomial infections, Am J Infect Control 1988;16:128.
6. Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Uçmak H, Çelen MK, Hoşoğlu S, Ayaz C: Hastane kaynaklı gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, İnfeksiyon Derg 2002;16:175.
7. Goossens H, MYSTIC Study Group (Europe): MYSTIC program: summary of European data from 1997 to 2000, Diagn Microbiol Infect Dis 2001;14:183.
8. Günsere F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N, Doğanay M, Sümerkan B, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S, Köksal İ, Leblebicioğlu H, Günaydın M: 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.
9. Kısa Ö, Özyurt M, Yapar M, Gün H: *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında meropenem direnç mekanizmasının değerlendirilmesi, Flora 1998;3:253.
10. Koç AN, Evrensel N, Koç RK: Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen gram-negatif basillere karşı meropenem ve imipenem etkinliği, İnfeksiyon Derg 1997;11:119.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth informational supplement: M100-S12, NCCLS, Wayne (2002).
12. Oldacay M, Oldacay S, Erdem G: Hastane infeksiyon etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında kromozomal beta-laktamaz yapımı, İnfeksiyon Derg 2003;17:197.
13. Öktem MA, Gülay Z, Hale E, Biçmen M, Yuluğ N: Yoğun bakım ünitelerinden soyutlanan mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, İnfeksiyon Derg 2001;15:61.

14. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH and Aminoglycoside Resistance Study Group: The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms and prevalence of newly recognized resistance mechanisms in Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2001;7:470.
15. Tunçbilek S, Tezeren D, Balaban N, Öztürk S, Işlak İ: Hastane infeksiyon etkeni *Pseudomonas aeruginosa*'ların in vitro antibiyotik duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* 1998;12:361.
16. Vahaboğlu H, Öztürk R, Aygün G, Coşkun F, Yaman A, Kaygusuz A, Leblebicioğlu H, Balık İ, Aydın K, Otkun M: Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study, *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:2265.
17. Vardar-Ünlü G, Ünlü M: Çeşitli ömeklerden soyutlanan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin levofloksasin, siprofloksasin ve ofloksasine karşı in vitro duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg* 2001;15:311.
18. Wang Y, Ha U, Zeng L, Jin S: Regulation of membrane permeability by a two-component regulatory system in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:95.