

Seftazidim Dirençli Pseudomonas Aeruginosa Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Sıklığı

Extended Spectrum Beta Lactamase Frequency In Cefhtazidime Resistant Pseudomonas Aeruginosa Strains

Arş.Gör.Dr. Canan ÇELİKSÖZ
Doç.Dr. Tekin KARSLIGİL
Prof.Dr.İclal BALCI

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD

Gaziantep Tıp Dergisi 2009;15(1):20-23.

Özet

Antibiyotiklere direnç problemi giderek artan Pseudomonas aeruginosa'nın, direnç mekanizmalarından biri de beta-laktamaz üretimidir. Özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşlarla gelişen enfeksiyonlarda tedavi güçlüğü yaşanmaktadır. P. aeruginosa'da GSBL'nin saptanması ve klinisyene bildirilmesi tedavi başarısında önemlidir. P. aeruginosa'da son yıllarda, PER-1 gibi sınıf A ve OXA grubunu içeren sınıf D olmak üzere çeşitli GSBL'ler saptanmıştır. Bu enzimler üçüncü kuşak sefalosporinleri, bazıları da özellikle seftazidimi hidrolize ederler. Çalışmada seftazidime dirençli (n:50) ve seftazidime duyarlı (n:20) 70 adet P. aeruginosa suşunda çift disk sinerji testi ile GSBL varlığı araştırılmıştır. Suşların 35'inde (%50) GSBL varlığı tesbit edilmiştir. GSBL pozitifliği seftazidime dirençli suşlarda saptanmış olup, seftazidime duyarlı suşlarda saptanamamıştır. Karbapenem dışındaki diğer beta-laktam antibiyotiklerle sonuç alınamayan P. aeruginosa enfeksiyonlarında GSBL hatırlanmalı ve rutin antibiyogram testleri yanında çift disk sinerji yöntemi ile GSBL varlığı araştırılarak gereksiz harcamaların ve tedavideki başarısızlıkların önüne geçilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Pseudomonas aeruginosa, GSBL.

Abstract

One of the resistance mechanisms of Pseudomonas aeruginosa, which is an increasing resistance problem to antibiotics, is beta lactamase production. Especially it becomes more and more difficult to apply a treatment to the infections developed by extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing strains. It is of importance for the success of the treatment that ESBL is determined in P. aeruginosa and reported to the clinician. In recent years, some ESBL types such as PER-1 in class A and OXA group in class have been determined in P. aeruginosa. These enzymes hydrolyze third generation cefhalosporins and some of them hydrolyze especially cefhtazidimes. In the study, ESBL existence was researched in ceftazidime-resistant (n:50) and ceftazidim-sensitive (n:20) 70 P. aeruginosa strains with double disc synergy test. ESBL existence was determined in 35 (50%) of the strains. ESBL positivity was reported in ceftazidime-resistant strains, but not in cephtazidime-sensitive ones. ESBL should be remembered in P. aeruginosa infections not treated with other beta lactam antibiotics except for carbapenem and waste of costs and treatments should be avoided by researching ESBL existence with the help of routine antibiogram tests and double disc synergy method.

Keys words: Pseudomonas aeruginosa, ESBL.

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa hastanelerde direnç sorunu yaşayan mikroorganizmalardan birisidir. Bakteri, antibiyotiklere çeşitli mekanizmalarla direnç kazanabilir (1,2). Bu mekanizmalardan biri de beta-laktamaz üretimidir. P. aeruginosa suşlarında birçok beta-laktamaz enzimlerinin kazanılmış olduğu bilinmektedir. Bunlar; indüklenebilir özellikte AmpC tipi kromozomal beta-laktamazlar, TEM ve SHV grubu plazmid aracılı beta-laktamazlar, GSBL özelliğinde TEM, SHV, OXA türevleri ve PER grubu, VEB-1, GES-2 beta-laktamazlar ve IMP, VIM grubu metallobeta-laktamazlardır (2). PER-1 enzimi ve OXA grubu genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çoğu seftazidim direncine sebep olmaktadır.

GSBL prevalansı özellikle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin klinik tedaviye girme zamanı ve yaygın kullanımı ile ilişkili olduğu için GSBL üreten suş sayısı ülkeden ülkeye, şehirden şehire, hastaneden hastaneye hatta aynı hastanedeki servisler arasında bile değişmektedir (3,4). GSBL'si bulunan ve bulunmayan bakterilerle gelişen enfeksiyonlar, mortalite, morbitide ve sağlık giderleri açısından karşılaştırıldığında, ilk tedavi olarak karbapenemlerin kullanıldığı hastalar hariç, GSBL üreten suşlarla gelişen enfeksiyonlarda mortalitenin daha yüksek, yatış süresinin daha uzun ve sağlık giderlerinin daha fazla olduğu belirlenmiştir(3). Bazı GSBL tipleri bakterilerin biyolojik olarak dirençli olmalarına rağmen rutin antibiyogramlarda sefotaksim, seftriakson, seftizoksim gibi üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı bulunmasına neden olabilirler (5). Dolayısıyla direnç genleri taşıyan hastane suşlarında rutin antibiyogram testleri ile bu direncin anlaşılması tedavide başarısızlığa yol açabilir. GSBL üreten mikroorganizmaların rutin laboratuvarlarda araştırılması ve klinisyenlere bildirilmesi bu mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlarda tedavi başarısı için gereklidir.

Doç.Dr. Tekin KARSLIGİL, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Adres: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi 27310 Gaziantep
Tel: 0342 360 60 60 / 77766 Fax: 0342 360 16 17 E-mail: karsligil@gantep.edu.tr



GSBL varlığını belirlemede çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlardan başlıcaları; çift disk sinerji testi, üç boyutlu test, E test ve bazı otomatize sistemlerdir. Bunlar arasında çift disk sinerji testi, tüm laboratuvarlarda uygulanabilen kolay bir test olarak öne çıkmaktadır (4).

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerde izole edilen, seftazidime dirençli *P. aeruginosa* suşlarında çift disk sinerji testi ile GSBL varlığı araştırılmıştır.

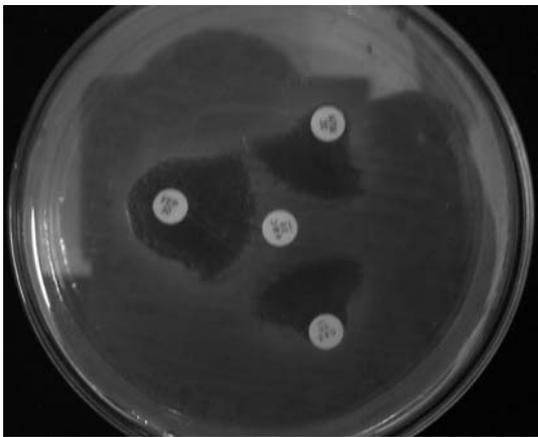
GEREÇ VE YÖNTEM

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji laboratuvarına 2005-2006 yılları arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen ve otomatize sistemle (Vitek 32, Biomérieux, Fransa) identifiye edilen *P. aeruginosa* suşlarına CLSI kriterlerine göre, disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır.

Duyarlılık testi sonuçlarına göre seftazidime dirençli olan 50 suş, GSBL enzimi varlığını araştırmak üzere, seftazidime duyarlı 20 suş da kontrol suşu olarak ayrılmıştır. Bu suşlarda çift disk sinerji yöntemi ile GSBL varlığı araştırılmıştır.

İzolattan McFarland 0.5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde Müller-Hinton buyyonu içerisinde bakteri süspansiyonu hazırlanmış, steril bir eküvyonla Müller-Hinton agar plağına yayılmıştır. Plağın ortasına amoksisilin/klavulonik asit (20/10 g) diski yerleştirilmiş, etrafına disk merkezleri arasında 20 mm uzaklık olacak şekilde seftazidim (30g), aztreonam (30g), sefepim (30g) diskleri yerleştirilmiştir (4,6).

Bir gece 35°C inkübasyondan sonra sefalosporin veya aztreonam arasındaki inhibisyon zonunun amoksisilin/klavulonik asit diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL enzimi varlığını göstermiştir (Resim 1).



Resim 1. *Pseudomonas aeruginosa*'da GSBL varlığı.

BULGULAR

Çift disk sinerji testi ile GSBL varlığı araştırılan 70 suşun 35'inde (%50) GSBL pozitifliği saptanmıştır. Pozitif saptanan tüm suşlar seftazidime dirençli bulunmuştur. Çalışmada GSBL üreten suşlar en fazla yoğun bakım ünitelerinde ve trakeal aspirat örneklerinde görülmektedir (Tablo 1). Seftazidime duyarlı suşların çift disk sinerji testiyle yapılan GSBL araştırmasında tüm suşlarda negatif sonuç alınmıştır.

TARTIŞMA

Genişlemiş spektrumlu **b**-laktamazlar 1980'li yıllardan beri antibiyotik kullanımının yarattığı seleksiyon baskısı sonucu ortaya çıkmış, sayı ve çeşit yönünden artarak tüm dünyada ve ülkemizde özellikle hastanelerde önemli bir sorun haline gelmiştir (3). GSBL üreten mikroorganizmalar ile enfeksiyonda en önemli risk faktörleri; hastanede kalınan süre, hastalığın ağırlık derecesi, yoğun bakım ünitelerinde geçirilen süre, entübasyon ve mekanik ventilasyon, üriner veya arteriyel kateter, acil intraabdominal cerrahi ve önceden antibiyotik tedavisi almış olmaktır. Yüksek oranda üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı GSBL için saptanmış en önemli risk faktörüdür. Bu enzimi salgılayan genetik materyalin ve türlerin yayılım şeklinin ve risk faktörlerinin bilinmesi, kontrol önlemlerinin alınması açısından önemlidir (5).

Ülkemizde GSBL'ler ilk kez 1992 yılında bildirilmiştir ve en sık rastlanan GSBL ler arasında OXA grubu ve PER-1 gelmektedir (7). PER-1 Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada 14 *P. aeruginosa* suşunda saptanmıştır (8). Vahaboğlu ve ark. (9) çok merkezli olarak yaptıkları çalışmalarında *P. aeruginosa* suşlarının %11'inde PER-1 beta-laktamaz saptamışlardır. GSBL aktivitesi olan OXA-11 de Hacettepe Üniversitesi'nde *P. aeruginosa* suşlarında bildirilmiştir (10). *Pseudomonas aeruginosa*'da çift disk sinerji testi ile yapılan çalışmalarda Şahin ve ark.(11) tüm *P. aeruginosa* suşlarında %16.7, poliklinik hastası ve yatan hasta olarak ayrıldığında ise sırasıyla %9.1 ve %28.5, Görgün ve ark. (12)%6.2, İnan ve ark. (13)%12, Dizbay ve ark. (14)%1, Ağuş ve ark. (15)%8, Yetkin ve ark. (16) febril nötropeni atakları sırasında izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında %3.2 oranında GSBL pozitifliği bulmuşlardır. Yapılan çalışmalar, özellikle PER-1 enzimi ve OXA grubu enzimleri üreten *P. aeruginosa* suşlarının çoğunda seftazidim direncinin bulunduğunu göstermektedir. Çalışmamızda seftazidim direnci olmayan suşların hiçbirinde GSBL saptanmazken seftazidime dirençli suşlarda GSBL oranı yüksek bulunmuştur. Gencer ve ark.(17), yaptıkları çalışmada suşların %53'ünde beta laktamaz üretimi saptamışlar, seftazidime dirençli olmayan suşlarda da beta laktamaz üretimi olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalar arasındaki farklı sonuçlar, çalışılan hasta popülasyonunun hastane veya toplum kökenli olmasına ve antibiyotik kullanımındaki bölgesel farklılığa bağlanabilir. Hastanelerde, dirençli suşların yayılmaması için gerekli önlemler alınmalıdır. Özellikle kültür ve antibiyogram sonucu gelmeden tedavi başlanması gerektiğinde antibiyotik seçerken GSBL'lerin varlığı dikkate alınmalıdır.

Tablo 1. GSBL üreten suşların kliniklere ve örneklerle göre dağılımı.

Klinikler	Örnekler									
	Trakeal aspirat	BAL	Balgam	Boğaz sür.	Plevra sıvısı	Yara	Kan	İdrar	Dışkı	TOPLAM
Dahiliye YB.	-	1 (2)	-	-	-	-	1(2)	-	-	2 (4)
Cerrahi YB.	3 (6)	-	-	-	2 (4)	-	1(2)	-	1 (2)	7 (14)
Göğüs hast.	3 (6)	-	2 (4)	-	-	-	-	-	-	5 (10)
Pediyatri	-	-	-	2 (4)	-	-	-	2 (4)	-	4 (8)
Ortopedi	-	-	-	-	-	5 (10)	-	-	-	5 (10)
Plastik cerrahi	-	-	-	-	-	3 (6)	-	-	-	3 (6)
Beyin cerrahi	3 (6)	-	-	1 (2)	-	-	-	-	-	4 (8)
Acil	-	-	-	-	-	-	-	2 (4)	-	2 (4)
Nöroloji	1 (2)	-	-	-	-	-	-	1 (2)	-	2 (4)
Enfeksiyon	-	-	-	-	-	1 (2)	-	-	-	1 (2)
TOPLAM	10 (20)	1 (2)	2 (4)	3 (6)	2 (4)	9 (18)	2(4)	5 (10)	1 (2)	35(70)

Parantez içerisinde toplam suş sayıları verilmektedir.

Bir izolatin GSBL ürettiği saptandığında in vitro duyarlılık sonucu ne olursa olsun, tüm sefalosporinler, penisilin türevleri ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmelidir. Ancak **b**-laktamaz inhibitör kombinasyonları ve sefamisinler bu enzimlerden etkilenmedikleri için duyarlılıklarına göre değerlendirilir.

Ampirik tedavide üçüncü kuşak sefalosporin seçimi duyarlı suşları baskılayıp dirençli suşların yayılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle özellikle hastane ortamındaki ampirik tedavide karbapenem seçimi daha uygundur. Karbapenem (özellikle meropenem) ve beta-laktam olmayan antibiyotik (özellikle aminoglikozit) kombinasyonu uygulanabilir. GSBL üreten mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarının, aminoglikozitlerle birlikte kullanımı da tedavi başarısını artırabilir.

Sonuç olarak karbapenem dışındaki diğer beta-laktam antibiyotiklerle sonuç alınamayan *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında GSBL hatırlanmalı ve rutin antibiyogram testleri yanında çift disk sinerji yöntemi ile GSBL araştırılarak gereksiz harcamaların ve tedavideki başarısızlıkların önüne geçilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1-Erdem B. Pseudomonaslar. Ustaçelebi Ş. (Ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara, Güneş Kitabevi. 1999:551-558.
- 2-Yüce A. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi, 2001;14(21):41-46.
- 3-Gür D. ESBL'lerin genel özellikleri ve ESBL tipleri. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar, Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (ESBL). Konuk Editör. Köksal İ, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi. 2004:5-12.

4-Gülay Z. ESBL'lerin tanı yöntemleri. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar, Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (ESBL). Konuk Edt. Köksal İ, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004:13-25.

5-Courvalin P. Genotypic approach to the study of bacterial resistance to antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35(6):1019-23.

6-Bradford PA. Extended-spectrum **b**-lactamases in the 21st century: Characterization, Epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14(4):933-951.

7-Vahaboğlu H, Öztürk R, Aygün G, Coşkun F, Yaman A, Kaygusuz A. Widespread detection of PER-1 extended-spectrum **b**-lactamases among nosocomial Acinetobacter and Pseudomonas aeruginosa isolates in Turkey: a nationwide Multicenter Study. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(10):2265-69.

8-Danel F, Hall LM, Gur D, Akalin E, Livermore DM. Transferable production of PER-1 **b**-lactamase in Pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Chemother. 1995;35:281-294.

9- Vahaboğlu H, Coşkun F, Tansel Ö, Öztürk R, Şahin N, Köksal İ. Clinical importance of extended- spectrum **b**-lactamase (PER-1-type)-producing Acinetobacter spp. and Pseudomonas aeruginosa. J Med Microbiol. 2001;50:642-645.

10- Hall LM, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37(8):1637-44.

11- Şahin İ, Kaya D, Öksüz Ş, Okay A, Şencan İ, Öztürk E. Klinik örneklerden izole edilen Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi*. 2003;17(1):45-48.

12-Görgün S, Ertek M, Yazgı H, Çelebi S, Kayhan CB. Nozokomiyal infeksiyonlu olgulardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı. *İnfeksiyon Dergisi* 2000;14(3):379-382.

13-İnan D, Saba R, Seyman D, Mamıkoğlu L. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 2004;18(3):293-296.

14-Dizbay M, Karakuş R, Arman D. Detection of extended-spectrum β -lactamase (GSBL) by cefepime and amoxicillin-clavulanate. *Clinic Micro A Inf*. 2000;6(1):73.

15-Ağuş N, Kula A, Köse Ş, Tümer D, Özünlü H, Karacan S. Çeşitli örneklerden izole edilen *Pseudomonas spp*'lerin antibiyotiklere duyarlılıkları ile GSBL ve İBL durumlarının araştırılması. XI. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları kongre kitabı. 2003;355:13-46.

16-Yetkin F, Güzel Ö, Çağlar K, Şenol E, Yağcı M, Acar K. Febril nötropeni (FEN) atakları sırasında izole edilen Gram negatif bakterilerde Extended spectrum beta-laktamaz varlığının araştırılması. XI. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları kongre kitabı. 2003;353:13-40.

17-Gençer S, Ak Ö, Benzonona N, Batırel 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(1):1-4.