

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL AJANLARA DİRENCİ**

Bio. Davut ÇUFALI

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ

Tez No: 2011-021

2011 - Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL AJANLARA DİRENCİ**

Bio. Davut ÇUFALI

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ

Tez No: 2011-021

2011 - Afyonkarahisar

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** Olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/10/2011



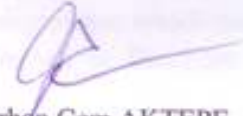
Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Jüri Başkanı



Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ

Üye



Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE

Üye

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Davut Çufalı' nın 'AKÜ Ahmet Nejdet Sezer Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 'Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Direnci' nin başlıklı tezi .25.10.2011 günü saat 11.00'da Lisansüstü Eğitim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. İsmail BAYRAM

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecim içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteklerini gördüğüm, hoşgörü ortamı içerisinde geniş tecrübeleriyle bizlere yön veren, kendine güvenen bireyler olarak yetişmemizde büyük rol oynayan başta danışman hocam Doç. Dr. İhsan Hakkı Çiftci, ve anabilim dalı hocalarım Prof. Dr. Mustafa Altındış, Doç. Dr. Orhan Cem Aktepe, Doç. Dr. Zafer Çetinkaya, Yrd. Doç. Dr. Özlem Miman ve Öğr. Grv. Dr. Gülşah Aşık'a içten teşekkür ederim.

Yoğun çalışma temposuna rağmen desteklerini esirgemeyen Araş. Grv. Dr. Halil Er ve Araş. Grv. Dr. Özlem Yoldaş'a sabır, hoşgörü ve iyi niyetleri için tüm kalbimle teşekkür ederim.

Eğitimimin her aşamasında birlikte olduğum, öğrenciliğim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hiçbir konuda yardımlarını ve sevgilerini esirgemeyen arkadaşlarım Bio. Teyde Çalışkan, Bio. Kübra Çalışkan Eryeğen, Bio. Emine Durhan ve Bio Ebru Kırac'a sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anneme, babama, kardeşime ve dedem Osman Çufalı ve Gülşah Öncü'ye çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vi
GRAFİK DİZİNİ	vii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
1.1.1. Morfoloji Özellikleri.....	2
1.1.2. Kültür Özellikleri	2
1.1.3. Biyokimyasal Özellikleri	3
1.1.4. Virülans ve Patogenez Özellikleri	4
1.1.5. Dirençlilik	6
1.1.5.1. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	6
1.1.5.2. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları.....	7
1.1.5.3. Beta Laktamazlar.....	8
1.1.5.4. Karbapenemler.....	10
1.1.5.5. Karbapenamazlar	14
1.1.5.6. Antibiyotik Toleransı.....	17
1.1.5.7. Çoklu İlaç Direnci	17
1.1.6. Oluşturduğu Hastalıklar	18
1.1.7. Patogenez.....	18
1.1.8. Tedavi Yöntemleri	19
1.1.9. Epidemiyolojik Özellikleri ve Korunma	20

2. GEREÇ VE YÖNTEM	21
2.1. Örnek Toplama.....	21
2.2. Örneklerin Seçilmesi.....	21
2.3. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	23
2.4. İdentifikasyon.....	23
2.5. Suşların Besiyerine Transferi ve Disklerin Yerleştirilmesi.....	26
2.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	27
2.7. Petri Kutularının İnkube Edilmesi, İnhibisyon Zonlarının Ölçülmesi ve Değerlendirilmesi.....	28
2.8. IBL Deneyi.....	31
3. BULGULAR.....	32
4. TARTIŞMA.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
ÖZET	45
SUMMARY	46
KAYNAKÇA.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

NFGN	Non Fermenter Gram Negatif bakteriler
TSI	Triple Sugar Iron
GM-1	Gangliosid Reseptörleri
EF2	Elongasyon Faktör 2
DNA	Deokrisibonükleik Asit
PBP	Penisilin Bağlayan Proteinlere
FDA	Food and Drug Administration
GSBL	Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetik-asit
AK	Amikasin
FEP	Sefepim
SCF	Sefeperazon/Sulbaktam
CRO	Seftriakson
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
CN	Gentamisin
IMP	İmipenem
MEM	Meropenem
TZP	Piperasilin/Tazobaktam
TE	Tetrasiklin
CTX	Sefotaksim
MBL	Metallo Beta Laktamaz
MIK	Minimum İnhibitor Konsantrasyonu
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute

RESİMLER DİZİNİ

Resim.2.1. Kanlı Agarda <i>P. aeruginosa</i>	21
Resim.2.2. EMB Agarda <i>P. aeruginosa</i>	21
Resim.2.3. Gram Negatif Basiller.....	22
Resim.2.4. TSI <i>P. aeruginosa</i> İçin Negatif.....	24
Resim.2.5. Üre <i>P. aeruginosa</i> İçin Pozitif.....	25
Resim.2.6. Sitrat <i>P. aeruginosa</i> İçin Pozitif.....	25
Resim.2.7. Müller Hilton Agarda <i>P. aeruginosa</i> İçin Antibiyotik Disklerinin Yerleşimi.....	27
Resim.2.8. Müller Hilton Agarda <i>P. aeruginosa</i> için IBL Pozitif.....	30

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Laboratuvar İdentifikasyonu İçin Kullanılan Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikler.....	3
Tablo 1.2. Beta Laktamaz Grupları ve Genel Özellikleri.....	9
Tablo 3.2. <i>P. aeruginosa</i> İçin Zon Çapı Yorumlama Değerleri.....	29
Tablo 3.3. Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>P. aeruginosa</i> Bildirimlerinde Önerilen ABD ve FDA Onaylı Antimikrobik İlaç Grupları.....	31
Tablo 3.4. Değerlendirilen Tüm Antibiyotiklere Ait Duyarlı, Dirençli ve Orta Duyarlılık Sonuçları.....	35
Tablo 4.1. Örnek Tipi Dağılımı Açısından Yurt İçi ve Yurt Dışı Veriler.....	37
Tablo 4.2. Aminoglikozidlere, Kinolonlara ve Karbapenemlere Karşı Yurt İçi ve Yurt Dışı Çalışmalarda Bildirilen Direnç Oranları.....	39
Tablo 4.3. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarına Karşı Yurt İçi ve Yurt Dışı Çalışmalarda Bildirilen Dirençlilik Oranları.....	40
Tablo 4.4. Türkiye'de ve Diğer Ülkelerde <i>P. aeruginosa</i> İçin Bildirilen Direnç Oranları	41
Tablo 4.5. Hastanemizde 2005 ve 2011 Yılında <i>P. aeruginosa</i> İçin Yapılan Araştırmalarda ki Antibiyotik Direnç Sonuçları.....	42

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 3.1. Suşların İzole Edildiği Örnek Tiplerinin Servislere Göre Dağılımı.....	32
Grafik 3.2. Örnek Tiplerine Göre Dağılım.....	33
Grafik 3.3. Suşların IBL Pozitif ve Negatif Oranları.....	33
Grafik 3.4. Aminoglikozidlere Kinolonlara ve Karbapenemlere Olan Direnç.....	34
Grafik 3.5. 3. ve 4. kuşak Sefalosporinlere ve Tetrasikline Olan Direnç.....	34
Grafik 3.6. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarına Olan Direnç.....	35

1.GİRİŞ

Non Fermenter Gram negatif (NFGN) bakterilerin son yıllarda immün sistemi baskılanmış ve özellikle ilaç tedavisi alan hastalarda yükselen oranlarda görülen fırsatçı enfeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Bu bakteriler çevresel ortamda yaygın (toprakta, bitkilerde, suda, hastane ortamında), insanlarda da başta derinin bakteriyel florası olmak üzere florali bölgelerde flora elemanı ya da kolonize halde bulunabilmektedir (Winn ve ark., 2006).

NFGN bakteriler birçok doğal veya kazanılmış ilaç direncine sahip olmalarının yanı sıra dirençli suşlarla meydana gelen enfeksiyonlar için tedavi seçeneği olarak kabul edilen sınırlı sayıda antibiyotiğe karşı da direncin artış eğiliminde olması kaygıyla izlenmektedir (Enoch ve ark., 2007).

NFGN bakterilerden başta, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*, hastanede yatan hastalarda önemli hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Enoch ve ark., 2007). Bu enfeksiyonlar arasında septisemi, solunum ve genitoüriner sistem enfeksiyonları, intrakraniyel enfeksiyonlar, endokardit, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları gibi birçok nozokomiyal enfeksiyon tabloları yer almaktadır. Bu enfeksiyonlara ek olarak NFGN bakterilerin toplum kaynaklı enfeksiyonlara da neden oldukları bildirilmektedir (Bahar ve Esen., 2009).

Bu çalışmada; Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal ajanlara direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

1.1.1. Morfoloji Özellikleri

Gram negatif, basil veya kokabasil görünümünde, sporsuz, düz veya hafif kıvrık, 1,5-3 µm boyunda, 0,5-0,8 µm genişliğindedir. *P. aeruginosa*'nın bir ucunda tek kirpik bulunur (Ustaçelebi 1999).

1.1.2. Kültür Özellikleri

Organik üreme faktörlerine ihtiyaçları yoktur, birçok organik maddeyi üremek için kullanabilir. Zorunlu aerobtur. En iyi 37°C'de ürerler. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında çok kullanılan besiyerlerinde kolayca ürediklerinden izolasyonları oldukça basittir. Çoğu izolatlar kanlı agarda beta hemoliz yaparlar. McConkey agarda mavi-yeşil koloniler oluştururlar. İzolasyonlarının tamamlanması için 24-48 saat inkübasyonları gereklidir. Piyosiyenin varlığı *P. aeruginosa* için özgün, ayırıcı bir özelliktir. Ayrıca kültürdeki tatlı üzüm benzeri koku özelliği de *P. aeruginosa*'yı tanımlama etmede ayırıcı bir özelliktir. Bu özellik 2-aminoasetofenona aittir (Ustaçelebi 1999).

İdentifikasyon amaçlı enzim aktivitelerini araştırmak için kullanılan besiyerleri, 30°C'de inkübe edilmelidir. Ayrıca kirpik proteinleri en iyi düşük ısılarda sentez edildiğinden, hareket besiyerleri, oda ısısında inkübe edilmelidir (Ustaçelebi 1999).

1.1.3. Biyokimyasal Özellikleri

P. aeruginosa karbonhidratları fermente etmez. Glikoz, ksiloz gibi şekerlere oksidatif etki gösterirken, maltozu etkilemez. Triple Sugar Iron (TSİ) besiyerinde H₂S yapmaz. Piyoverdin (yeşil-sarı) ve piyosiyanin (mavi) olarak adlandırılan floresan pigmentler üretir. Klinik suşların yarısından fazlası piyosiyanin yapar. Bu pigmentten ötürü bakteriye *aeruginosa* denir. *P. aeruginosa* otomatize tanımlama sistemlerinde Gram negatif identifikasyon panelleri aracılığı ile tanımlanabilir. Ancak zaman zaman bu sistemlerle tanımlamada başarısızlıklar olmaktadır (Ustaçelebi 1999).

Tablo 1.1.'de *P. aeruginosa*'nın laboratuvar identifikasyonu için kullanılan fiziksel ve biyokimyasal özellikler görülmektedir.

Tablo 1.1.'de *P. aeruginosa*'nın Laboratuvar İdentifikasyonu İçin Kullanılan Fiziksel ve Biyokimyasal Özellikler (Başustaoğlu 2010).

TEST		TEST	
Oksidaz	99	HİDROLİZ	
ÜREME		Üre	48(9)
Macconkey	100	Jelatin *	82
Cetrimide	94	Asetamid	100
%6 NaCl	65	Eskülin	0
42°C	100	Nişasta	0
Nitrat Redüksiyonu	98	ASİT OLUŞUMU**	
Nitrattan Gaz Oluşumu	93	Glukoz	97
Pyoverdin	65	Fruktoz	Veri yok
Arjinin dihidrolaz	100	Ksiloz	90
Lizin dekarboksilaz	0	Laktoz	<1
		Sukroz	0
Simmons Sitrat	95	Maltoz	<1
Flajel Sayısı	1	Mannitol	70

*Sonuçlar pozitif yüzdeler şeklinde verilmiştir, parantez içindeki yüzde geç reaksiyon veren suşları temsil eder.

**; Sonuçlar 7 günlük inkubasyon süresi içindir.

***; %1'lik karbonhidrat içeren oksidatif-fermantatif bazal ortam

1.1.4. Virülans ve Patogenez Özellikleri

Pili ve Fimbrialar: Konak epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan gangliosid reseptörlerine (GM-1) tutunmayı sağlar. Pililer en önemli adherans faktörüdür (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Polisakkarid kapsül: Glikokaliks, eksopolisakkarid ya da aljinat olarak da adlandırılan bu kapsül yapı, mannuronik ve glukronik asitten oluşur. Özellikle mukoid suşlarda bulunur. Musin salgılanması, bakterinin fagositozdan korunması, aminoglikozidler başta olmak üzere antibiyotiklerin bakterisidal aktivitesinin azalması ve biyofilm tabakanın oluşması gibi görevleri vardır (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Ulaşabildiğimiz kaynaklarda bulunan alginat tipleri; AlgB, AlgD, AlgE, AlgF, AlgG, AlgH, AlgI, AlgJ, AlgK, AlgL, AlgN, AlgP, AlgR, AlgT, AlgU, AlgZ, AlgX, AlgQ ve AlgW'dir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>).

Kapsül üretimindeki artışı tetikleyen mekanizma henüz tam olarak ortaya konamamış olması açıklanması gereken önemli bir eksiklik olarak durmaktadır.

Nöraminidaz: Pseudomonas cinsi bakteriler sialik asidin olmadığı GM-1'e öncelikli bağlanırlar sialik asit varlığında; nöraminidaz sialik asidi uzaklaştırarak pilinin GM-1 reseptörlerine bağlanmasını kolaylaştırır (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Endotoksin: Lipopolisakkarit yapıda olup, araşidonik asid metabolitlerinin üretimini uyararak ateş, şok, dissemine intravasküler koagülasyon ve metabolik değişikliklerle karakterize septik şok sendromuna neden olur (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Ekzotoksin A: Ekzotoksin A, hücre dışı bir enzim olup *P. aeruginosa* suşlarının çoğu tarafından üretilir. Difteri toksini için tanımlanan mekanizmaya benzer şekilde memeli protein sentezini önler. Her iki toksin de adenozin difosfatın transferini katalize eder. Bu reaksiyon elongasyon faktörü 2'yi (EF2) inaktive ederek protein sentezini inhibe eder. Ekzotoksin A, 613 aminoasitten oluşan tek bir polipeptit zinciridir. Ekzotoksin A'nın lokal doku hasarında ve bakteriyel invazyonda rolü vardır. Safılaştırılmış ekzotoksin A, hayvanlar için oldukça

letaldir. Köpek ve Rhesus maymunlarında şok yapar. Toksin yapan suşlar, bakteriyemik insan hastalığında, daha virulandır (Bilgehan 2004; Şimsek ve ark., 1993; David ve Gerald 1992; Ustaçelebi 1999)

Enterotoksin: Normal gastrointestinal aktivitenin kesintiye uğramasına neden olarak diyareye yol açar (Pier ve Ramphal 2005; Bergagne 2004).

Pyocyanin: Solunum yolları siliyer aktivitesinin kesintiye uğramasından ve akciğerde oksidatif ve nötrofil bağlantılı doku hasarından sorumludur (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Ekzoenzim S-T (ExoS): Ekstrasellüler toksinler olup, bakterilerin yayılmasını ve invazyonunu kolaylaştırıcı etkisi vardır. Virulansı yüksek suşlarda güçlü nekrotik etkisi deneysel olarak gösterilmiştir (Ustaçelebi 1999; Bergagne 2004).

Ekstrasellüler proteazlar (Elastaz-alkalin proteaz): Elastaz enzimi elastin içeren doku hasarından sorumludur. Akciğer parankim hasarına ve hemorajik deri lezyonları olan ektima gangrenozuma sebep olur. Nötrofil kemotaksisini engeller, bakterilerin yayılımını artırır. Kronik enfeksiyonların çoğunda elastaza karşı antikor gösterilmiştir (Pier ve Ramphal 2005; Bergagne 2004).

Hemolizinler: Hemolizinlerden fosfolipaz C değişken ısı, ramnolipid değişken olmayan ısı hemolizin özelliğinde olup siliyer aktivitenin azalması ve alt solunum yolu enfeksiyonlarının oluşmasından sorumludur (Pier ve Ramphal 2005; Bergagne 2004).

Sitotoksin (lokosidin): Lökosit fonksiyonlarını bozar, deney hayvanlarında pulmoner mikrovasküler hasar yaptığı bildirilmiştir (Pier ve Ramphal 2005; Bergagne 2004).

1.1.5. Dirençlilik

1.1.5.1. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Günümüzde antibiyotiklerin düzensiz kullanımının artması, yoğun bakım ünitelerinde yatan immun sistemi bozulmuş hasta sayısının artması ve gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci giderek artmaktadır. Bu yüzden gerek toplum kökenli gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde önemli sorunlar yaşanmaktadır. Direnç sorununun daha yoğun olarak yaşandığı yerler farklı gruptan pek çok antibiyotiğin aynı anda kullanımda olması nedeniyle hastanelerdir. Ülkemizde hastanelerde en sık direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, Koagülaz negatif *Stafilokoklar* (KNS), *Enterobacter spp*, *Enterokoklar*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*' dir (Usluer 2002; Yucesoy ve ark., 2000).

Antibiyotik direnci; bir bakterinin antimikrobiyal ajanın üremeyi engelleyici veya öldürücü etkisinden korunabilme kapasitesidir. Bakterilerin antibiyotiklere direnci çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir.

Doğal Direnç: Bir bakterinin genetik özelliği nedeniyle bazı antibiyotiklere olan doğal direncini tanımlar. Bazı bakteri türleri genetik özellikleri olarak bir antibiyotiğin hedefi olan yapıyı hiç içermedikleri ya da antibiyotiğin hedefe ulaşmasını engelleyecek bir yapıyı veya antibiyotiği inaktive edecek enzimleri taşıdıkları için o antibiyotiğe dirençlidirler.

Kazanılmış Direnç: Bakterinin genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak; kromozom, transpozon veya plazmid DNA'sındaki mutasyonlarla ya da direnç geni taşıyan deoksiribonükleik asit (DNA) dizilerinin başka bakterilerden transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla alınması sonucu ortaya çıkan dirençtir.

Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç: Antibiyotiklerin in vitro ve in vivo etkinliklerinin farklılık göstermesine neden olan dirençtir. Dokudaki pH değişiklikleri, antibiyotiğin enfeksiyon bölgesine ulaşamaması ve oksijen basıncı değişiklikleri gibi nedenlerle in vitro

testlerde etkili olarak değerlendirilen antibiyotiğin in vivo koşullarda etki göstermemesidir (Cunha 2000; Mayer ve ark., 1994).

1.1.5.2. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Bakteri hücre duvarındaki temel yapı peptidoglikan (murein) adı verilen, kovalent bağlarla bağlı, bakteriyi aę şeklinde kavrayan, sağlam, bakterinin yapısını ve bütünlüğünü koruyan büyük bir polimerdir. Beta laktam antibiyotikler ise transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Hücre duvar yapısı bozulan bakteride ozmotik basına direnç kaybı ve devamında ölüm meydana gelmektedir (Gr 1997; Opal ve Medeiros, 2005).

Beta laktam antibiyotiklerin etki gösterebilmeleri için penisilin bağlayan proteinlere (PBP) etkin konsantrasyonda bağlanması gereklidir. Bakteriler, bu basamakların her birinde engel oluşturarak direnç geliştirebilirler. Bakterilerde beta laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 3 yolla gelişebilmektedir:

İlacın hedef bölgesindeki değişiklikler: Beta laktam antibiyotiklerin hedef bölgesi olan PBP'lerdeki değişiklikler; kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'nin beta laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması veya beta laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir (Malouin ve Bryan., 1986; Spratt 1989; Livermore 1991).

Dış membran geçirgenliğinin bozulması: Gram negatif bakterilerde beta laktam antibiyotikler, dış membran proteini (DMP) adı verilen porlar yolu ile hücre içine girmektedir. Beta laktam antibiyotikler dış membrandan porin F ve porin C adı verilen başlıca 2 kanal aracılığı ile geçerler. İmipenem dış membrandan ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak da geçer. Dolayısıyla bir Gram negatif bakteri porin F ve porin C proteinlerini mutasyona uğratarak tüm beta laktamlara direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalır. Öte yandan, özellikle *P. aeruginosa* ve *Enterobacter spp.* suşlarında dış membrandan D2 proteinin kaybolması bakteriyi imipeneme dirençli hale getirilebilir (Livermore 1991; Bradford 2001).

Beta laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi: Beta laktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta laktam antibiyotikleri hidrolize ederek bu antibiyotikleri etkisiz hale getirip direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. Bu enzimler beta laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağı parçalayarak bir açıl enzim türevi oluştururlar. Daha sonra enzim açıl molekülünden ayrılarak rejenere olur. Bakteride beta laktamaz enzimi indüklenebilir veya yapısal olabilir. Gram pozitif bakterilerde enzim genellikle indüklenebilir iken, Gram negatif bakterilerde beta laktamazların bir kısmı indüklenebilir, bir kısmı da yapısal özelliindedir. Beta laktamaz genleri bakteri plazmidi, kromozomu, transpozon veya integron gibi taşınabilir genetik elemanlar üzerinde de bulunabilir (Bradford 2001).

1.1.5.3. Beta Laktamazlar

Penisilinazın 1940'lı yıllarda Abraham ve Chain tarafından bulunmasından sonra günümüze kadar yaklaşık 400 civarında beta laktamaz enzimi tanımlanmış ve beta laktamazların sayı ve çeşitlerindeki artış bu enzimlerin gruplandırılmasını zorunlu kılmıştır. 1973 yılında Richmand ve Sykes tarafından beta laktamazlar sınıflandırılmış, bu sınıflandırma 1976 yılında ise Sykes ve Matthew tarafından genişletilmiştir (Patricia ve Bradford 2001; Bush 1989; Gür 1996).

Günümüzde beta laktamazların sınıflandırılmasında en çok Bush Jacoby Medeiros ve Ambler sınıflandırmaları kullanılmaktadır. 1980 yılında beta laktamazlar Ambler tarafından moleküler yapılarına göre 4 sınıfa ayrılmışlardır.

Sınıf A: Aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, penisilinleri hidroliz eden beta laktamazlardır.

Sınıf B: Aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metallo beta laktamazlardır.

Sınıf C: Kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan öncelikle sefalosporinazlardan oluşan enzimlerdir.

Sınıf D: Oksasilini hidroliz eden serin beta laktamazlardır.

1995 yılında Bush ve arkadaşları substrat özgüllüğü ve beta laktamaz inhibitörlerine duyarlılığının temel alındığı biyokimyasal özelliklerine göre fenotipik sınıflandırma ile tüm enzimleri 4 gruba ayırmışlardır. Bu en yeni sınıflandırma şeması ve bu grupların genel özellikleri Tablo 1.2.'de verilmiştir (Bush ve ark., 1995).

Bu sınıflandırma klinik mikrobiyoloji laboratuvarında antibiyogram değerlendirmede üstünlük sağlarken, tek bir nokta mutasyonu ile substrat özgüllüğünün değişebilmesi ise dezavantajdır. Beta laktamazların nükleotid dizilenmesini esas alan Ambler sınıflaması ise mutasyonlardan etkilenmemektedir (Bush 1989; Gür 1996; Yüce 2001).

Tablo 1.2. Beta Laktamaz Grupları ve Genel Özellikleri (Winn ve ark., 2006)

Beta laktamaz Grubu	Alt grup	Moleküler sınıf (Ambler)	Substrat	Özellik
1		C	Sefalosporinler	Çoğunlukla Gram negatif bakterilerdeki kromozomal enzimler (ancak plazmidde de kodlanabilir) Klavulanik asitle inhibe olmaz.
2		A, D		Birçoğu klavulanik asitle inhibe olur.
	2a	A	Penisilinler	Stafilokok ve enterokoklardaki penisilinazlar.
	2b	A	Penisilinler Sefalosporinler	Çoğunlukla Gram negatif bakterilerdeki geniş spektrumlu beta laktamazlar (TEM-1,SHV-1).
	2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu Sefalosporinler	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (GSBL).
	2br	A	Penisilinler	İnhibitörlere dirençli TEM (IRT) Beta laktamazlar.
	2c	A	Penisilinler	Karbenisilini hidroliz eden enzimler.
	2d	D	Penisilin, Oksasilin	Oksasilini hidroliz eden Klavulanik asit ile az inhibe olurlar.
	2e	A	Sefalosporinler	Klavulanik asit ile inhibe olan Sefalosporinazlar.
	2f	A	Penisilin, Sefalosporin, karbapenemler	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler.
3	3a, 3b, 3c	B	Karbapenemler dahil bir çok beta laktam	Metallo beta laktamazlar.
4		?	Penisilinler	Diğer gruplara girmeyen dizileri belirlenmemiş.

1.1.5.4. Karbapenemler

Karbapenemler ilk olarak 1976 yılında *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen ve 'thienamycin' adı verilen bileşiğin üzerinde amino ve hidroksil gruplarında değişiklikler uygulanarak elde edilmiştir. İlk elde edilen ajan imipenemdir. 1996 yılından sonra ise karbapenem grubunun ikinci üyesi olan meropenem kullanıma girmiştir. 2001 yılında ise "Food and Drug Administration" (FDA) tarafından ertapenem isimli karbapenem grubu üçüncü antibiyotiğe onay verilmiştir. *P. aeruginosa* ertapeneme doğal dirençlidir. Geniş etki spektrumları ve dirençli bakterilerle oluşan ciddi enfeksiyonlarda tercih edilmeleri nedeniyle karbapenem grubu antibiyotikler önemli antibakteriyel ajanlar içerisinde yer almaktadır (Bonfiglio ve ark., 2002).

Karbapenemler; antibakteriyel spektrumlarının genişliği, bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, AmpC ve ESBL enzimlerine dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle özellikle çoklu dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında ilk sırada kullanılan antibiyotik grubudur. Ancak, karbapenemlerin özellikle ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması, bunlara karşı direnç oranlarının artmasıyla sonuçlanmıştır (Sarı 2005).

Karbapenemlere karşı 3 mekanizma ile direnç geliştirebilmektedir:

- İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması:

a) Porin değişimleri: Bu, özellikle *P. aeruginosa* suşlarındaki temel direnç mekanizmasıdır. *P. aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan *oprD*'nin kaybı bu grup antibiyotiklere direnç gelişmesine yol açar. *oprD* kaybı özellikle imipenem tedavisi sırasında görülmektedir. Bir haftalık imipenem tedavisi sonunda *P. aeruginosa* suşlarının %50'sinde *oprD* geninde mutasyonlar olduğu saptanmıştır (Hancock 1989). *oprD*'nin kaybı tipik olarak imipenem direncine ve azalmış meropenem duyarlılığına neden olur. Ancak *oprD* kanallarını kullanamayan diğer beta laktamlar üzerine etkisi bulunmamaktadır. *P. aeruginosa*'daki duyarsızlık, ayrıca çoklu eflüks pompası'nın (*mexA-mexB-oprM*) mutasyonel sayı artışına bağlı olarak meydana gelebilir. Bu mekanizma

meropenem, penisilin, sefalosporin, kinolon, tetrasiklin ve kloramfenikol için geçerli fakat imipenem için geçersizdir (Kohler 1999).

P. aeruginosa'da *oprD* kaybı ile oluşan imipenem direnci sadece kromozomal AmpC beta laktamazı korunduğunda ve tanımlandığında fonksiyon görür. Porin kaybıyla ve kromozomal AmpC beta laktamazlarının aşırı üretimi ile oluşan imipenem direnci *Enterobacter spp.*'de tanımlanmıştır (Lee 1991). *K. pneumonia*'da ise porin kaybına bağlı ve plazmid aracılıklı AmpC beta laktamazın (ACT-1) varlığıyla direnç oluşur (Bradford 1997).

b) Efluks pompa sistemlerinin indüklenmesi:

Antibiyotiklerin hücre dışına atılımını sağlayan efluks pompa sistemi ilk kez tetrasiklinler için belirlenmiştir. Efluks pompa sistemleri yapısal olup normalde düzenleyici genler ile kontrol altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar efluks pompa sistemlerinin aşırı çalışmasını ve antimikrobiyallerin de dışarı atılmasına neden olur. *P. aeruginosa* beta laktamazlardan sonra en önemli direnç mekanizmaları efluks pompa sistemleridir. Günümüzde efluks pompa sistemleri en iyi *P. aeruginosa*'da araştırılmıştır. *P. aeruginosa*'da *mexAB-oprM*, *mexCD-oprJ*, *mexEF-oprN*, *mexXYOprM* efluks pompa sistemleri tanımlanmıştır. *mexAB-oprM* efluks pompa sistemi en iyi tanımlanmış olanıdır. Efluks pompa sistemi ile kazanılan direnç çoğul direnç genine sahip fenotipler oluşturur. *mexAB-oprM* efluks pompa sistemi imipenem hariç tüm beta laktamlara ve kinolonlara direnç oluşturması ile önemlidir. *mexCD-oprJ* aktif pompa sistemi 4. kuşak sefalosporinlere direnç oluşturur. *mexEF-oprN* efluks pompa sistemi karbapenemlerde de dirence neden olabilir (Vahapoğlu 2001; Nikaido1998).

- Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin varlığı (karbapenemazlar):

a) İntrinsik Direnç (kromozomal)

Kromozomal genler tarafından eksprese edilir. Bir bakteri türünün tüm üyelerinde görülür. Örnek olarak *P. aeruginosa*'nın penisilin direnci, Gram negatiflerin vankomisin ve rifampin direnci ve elektron transport sistemi bulunmayan anaeroplara aminoglikozid direnci verilebilir.

Kromozomal direnç grubunda, *Bacillus cereus* II, *Bacteroides fragilis*'in *ccrA*, *Burkholderia cepacia*'nın *pcm-1*, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L1, *Chryseobacterium indologenes*'in *ind-1-4*, *Chryseobacterium meningosepticum*'un *blaB* enzimleri sayılabilir. Bunların tümü Bush sınıflandırmasında grup 3'te yer alan metallo beta laktamaz (MBL)'lardır. Karbapenem hidrolize eden beta laktamaz genlerinin çoğu kromozomal olarak kodlanır. Bu durum bu enzimlerin yavaş yayılımını ve böylece karbapenemlere karşı beta laktamaz aracılıklı direncin artmasının yavaş olmasını sağlamıştır. Yine de direnç paternleri değişebilir. Nadir olarak bilinen enzimler beta laktam kemoterapinin kullanımına gerçek ve artan oranda tehdit oluşturabilir. Düşük düzey direncin ne kadarının beta laktamaz aracılıklı olduğu bilinmemektedir. Fakat yüksek düzey direnç beta laktamaz ile ilgilidir.

b) Kazanılmış Direnç

Akılda tutulması gereken tüm antipseudomonal antibiyotiklere karşı mutasyonel direnç oluşabileceğidir (Başustaoğlu 2010).

AmpD lokusundaki bir mutasyonun antipseudomonal penisilinler veya seftazidim tedavisi sonucunda seçilmesi (Livennore 1987) AmpC enziminin kısmi veya total derepresyonuna yol açarak *P. aeruginosa*'da saptanan beta laktamaz direncinin %30'una neden olabilir (Covallo ve ark., 2000).

Topoizomeraz 2 (*gyrA* ve *gyrB* alt üniteleri) ve 4 (*parC* ve *parE* alt üniteleri)' de gelişen hedef mutasyonlar *P. aeruginosa*'da *Enterobacteriaceae*'dan daha kolay kinolon direnci gelişmesine neden olur. Mutant seçimi kinolonlara karşı karşıya kalınmasını takiben gerçekleşir ve mutasyonları indüklemeye levofloksasinin siprofloksasine göre daha fazla potansiyeli bulunmaktadır (Gilbert ve ark., 2001).

Çoklu eflüks pompaları her ne kadar *P. aeruginosa* intrinsek direncinde önemli rol oynasa da bu sistemler aynı zamanda çoklu ilaç direnci gelişmesinde de kritik öneme sahiptirler (Nikaido 1996). *mex-AB-oprM* tüm *P. aeruginosa* suşlarında yapısal olarak eksprese edilmektedir. *mexR* represör gen ekspresyonunun artması veya mutasyonu (*nallB* mutanı) eflüks pompalarının aşırı üretimine ve pek çok antibiyotiğin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK) değerlerinin belirgin ölçüde yükselmesine yol açar (Ogle ve ark., 1987).

Efluks pompalarının aşırı ekspresyonu antisepetik ve biyosit kullanımına bağlı olarak da Őeçilebilir (Li ve Nikaido 2004).

Efluks pompa sistemleri dahil olmak üzere direnç belirleyici elemanların çevresel bakterilerden plazmidler aracılığıyla *P. aeruginosa* 'ya aktarıldığına dair bir kanıt elde edilmesi halinde bu durum çok dikkatle ele alınmalıdır (Szczepanowski ve ark., 2004).

Geçirgenlikte bozulmaya sebep olan mutasyonlar karbapenemler, aminoglikozidler, kolistin ve kinolonlara karşı direnç gelişmesine sebep olabilir. Bu mutantlar karbapenem direncinde önem taŐımakta olup düşük düzey imipenem direnci (MIK 8-32 µg/ml) ve meropeneme azalmış duyarlılıkla karakterize *oprD* kaybına bağlıdır (Kohler ve ark., 1999). İmipenem kullanımını takiben imipenem direncinin Őeçilmesi diğer beta laktamaz ajanlara karşı direncin Őeçilmesine göre daha sık gürölür (Troillet 1997).

P. aeruginosa'nın zar yapısındaki deęiŐikler daha çok kolistin direncine sebep olmaktadır. Bu durum nadir olmakla beraber özellikle inhale kolistin tedavisi alan kistik fibrozis hastalarında giderek artmaktadır (Li ve ark., 2001).

OXA enzim ailesi (Ambler Moleküler Sınıf D) (Ambler 1980) *P. aeruginosa*'da sık bulunur (Naas ve Nordmann 1999; Sturenburg ve Mack 2003). Bu enzimlere ait genler plazmidler, transpozonlar veya integronlarda bulunmakta olup, bu durum yayılımlarını kolaylaŐtırmaktadır. Belirgin olarak antipseudomonal penisilinlere, seftazidime sefepime ve aztreonama direnç sağlarken, karbapenem direncine yol aŐmazlar. Aktiviteleri klavulonik asit veya tazobaktamla zayıf olarak inhibe olur (Poirel ve ark., 2001).

P. aeruginosa 'da bulunan GES-2 (karbapenemleri hidrolize eden bir GSBL) dışındaki tüm karbapenamazlar Ambler Sınıf B'de olup, metallo enzimler olarak bilinirler. Metallo enzimler klavulonik asitle inhibe olmazlar ancak Etilen-diamin-tetra-asetik-asit (EDTA) gibi çift karakterli iyon Őelatörlerle inhibe olurlar. Aztreonam dışındaki tüm beta laktam antibiyotikleri hidrolize ederler ve yüksek düzey (MIK>32 µg/ml) karbapenem direncine yol aŐarlar. Karbapenamaz ekspresyonu değişkenlik gösterebildiğinden ortaya çıkan MIK aralığı çok geniş (2-128 µg/ml) olabilir. Çoğu zaman karbapenem, özellikle de meropenem direnci, direnç mekanizmalarının sinerjik etkisi sonucu ortaya çıkıp, daha yüksek bir direnç gelişimi

ile sonuçlanabilir (Pai ve ark. 2001). Örneğin; *oprD* porin ekspresyonunun yokluğu veya efluks pompa sisteminin aktivasyonu, antibiyotiğin hücre dışı birikimini sağlayarak beta laktamazın aktivitesini artırır (Başustaoğlu 2010).

Aminoglikozid modifiye eden enzimler *P. aeruginosa*' da 30 yıldan uzun süredir bilinmektedir ve gentamisin, tobramisin ve/veya amikasinine karşı çeşitli direnç kombinasyonlarına yol açmaktadır. Bu enzimler sıklıkla sülfonamidler beta laktamlar ve kloromfenikol gibi diğer ilaçlara karşı da direnç genleri taşıyan transpozon ve/veya integronlar tarafından kodlanır (Poole 2005).

Gram negatif organizmalarda plazmid kaynaklı kinolon direncinin gösterilmesi çeşitli nedenlerle önem taşımaktadır: *gmr* geni *P. aeruginosa* dahil çeşitli bakterilerin konjugasyon yoluyla taşınabilmektedir; yüksek düzey kinolon direncine (MIK değerinde 256 kata kadar artış) neden olmakta; beta laktam ve aminoglikozid direnç determinantları da taşıyan integronlarla ilişkilidirler (Wang ve ark., 2003).

- Hedef PBP değişimleri:

Tek başına nadir görülür ancak diğer mekanizmalar ile birlikte.

1.1.5.5. Karbapenamazlar

Karbapenamazlar, en geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe sahip beta laktam sınıfı olan karbapenemlerden birini, en azından imipenem veya meropenemden birini, belirgin olarak hidrolize eden beta laktamazlar olarak tanımlanabilir. Bu enzimlerin çoğu yalnız karbapenemlere değil diğer beta laktam ajanlara da etkilidirler. Bu nedenle sadece karbapenem grubu beta laktam ajanlara afinitesi diğer beta laktamlara kıyasla daha fazla olan metalloenzimler “karbapenamaz” olarak isimlendirilmektedir (Rasmussen ve Bush 1997).

1990 öncesinde tanımlanan karbapenem hidroliz eden enzimlerin tümü kromozomal olarak bilinmesine rağmen yakın geçmişte Japonya'dan plazmid aracılıklı MBL'lar bildirilmiştir (Nordmann ve Poirel 2002; Amyes 1997). Bu enzimler *B. fragilis*, *P. aeruginosa*

ve en az bir kromozomal enzim üreten *Serratia marcescens* ve *K.pneumoniae* gibi *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde gözlenmektedir (Rasmussen ve Bush 1997). Bugüne kadar karbapenem dirençli organizmalar ve ilişkili plazmidlerin yayılımı nedeni bilinmeyen bir şekilde sınırlı kalmıştır. Yüksek düzey direnç, dış membran proteini D2'nin eş zamanlı kaybıyla alakalıdır (Minami ve ark., 1996).

Kromozomal Karbapenemazlar:

Nadir birçok NFGN basil ve *Aeromonas spp.*, kromozomal kodlanan ve moleküler sınıf B'ye ait olan karbapenemazlara sahiptir. Söz konusu bu enzimler aktif bölgelerinde çinko iyonları bulundurduklarından beta laktamazlar içinde kendine ait özelliğe sahiptir. Katalitik aktivite çinko iyonuna bağlıdır ve EDTA ile birleştiğinde kaybolur. Diğer moleküler sınıflara (A, C ve D) ait beta laktamazlar çinko içermezler, serin bazlı mekanizmaları vardır ve birkaç istisna dışında önemli kromozomal karbapenemaz etkinlikleri yoktur (Bush ve ark., 1995).

Kazanılmış Karbapenemazlar:

Kazanılmış direnç kapsamına giren karbapenemazlar, Ambler moleküler sınıflamasına göre A, B veya D moleküler sınıflarına ait olabilir (Nordmann ve Poirel 2002). Kazanılmış karbapenemaz taşıyan suşlar oldukça nadirdir. Fakat son 2-3 yılda daha sık bildirilmeye başlanmıştır ve enzim tiplerinin listesi hızla artmaktadır. Kazanılmış karbapenemazlar, *Acinetobacter spp.*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae*'da bulunur. Sınıf D tipleri sadece *Acinetobacter spp.*'de, sınıf A tipleri ise birkaç *Enterobacteriaceae* izolatında bulunur.

Sınıf B kazanılmış karbapenemazlar: Ambler sınıf B veya Bush grup 3'de yer alan karbapenemazlar MBL olarak bilinirler, klinik açıdan önemli karbapenemazlardır. Aztreonam dışındaki tüm beta laktamları hidrolize eden IMP ve VIM serisi metalloenzimleri içerirler. Dünya çapında yaygın olarak bildirilmiş olsalar da en sık Güneydoğu Asya ve Avrupa'da bulunurlar (Nordmann ve Poirel 2002). Metalloenzimlerin genleri plazmid ve integronda yerleşiktir. Rasmussen ve Bush, grup 3 MBL'ları 3 alt grupta toplamıştır: 3a, 3b, 3c. Bu alt gruplardan 3a'da imipenem ve penisilinleri büyük bir hızla ve yüksek oranda hidrolizleyen, sefalosporin hidrolizi pozitif fakat daha düşük oranlarda olan; meropenem hidrolizi de pozitif

fakat tamamen değişik oranlarda olan enzimler yer alır. Grup 3b enzimleri “gerçek karbapenemazlar” olarak tanımlanır.

IMP tipi beta laktamazlar: 1991’de Watanabe ve arkadaşları, Japonya’da 1988’de arşivlenen bir *P. aeruginosa* suşunda transfer edilebilir sınıf B enzimi bildirmişlerdir (Watanabe 1991). Bu, büyük olasılıkla Japonya’da 1991’de bir *S. marcescens* izolatında sekanslanan ve isimlendirilen IMP-1’dir (Osano 1994). Daha sonra farklı coğrafik bölgelerden IMP-18’lere kadar varan yeni IMP tipi enzimler tanımlanmıştır. Bu IMP tipi enzimlerin tümü monobaktamlar dışındaki beta laktamlara karşı geniş etkinliğe sahiptir. IMP-1, ampisiline göre karbenisiline daha etkilidir. IMP-2 ve IMP-3 ise her iki ilaca da benzer etkinliğe sahiptir (Rasmussen ve Bush 1997; Riccio ve ark., 2000). Bu enzimler meropenem ve imipeneme eşit düzeyde yüksek direnç oluşturmaktadırlar. Monobaktamları hidroliz edememektedirler (Özsoy ve ark., 2001; Nordmann ve ark., 2002).

VIM tipi beta laktamazlar: Kazanılmış sınıf B beta laktamazların ikinci ailesi olan VIM tipleri ilk kez 1997’de İtalya’dan bir *P. aeruginosa* izolatında VIM-1 olarak tanımlanmış ve 1999’da bildirilmiştir (Lauretti 1998). Bugün bildirilen VIM enzimlerin sayısı 13’e kadar gelmiştir.

Sınıf D kazanılmış karbapenemazlar: Moleküler sınıf D beta laktamazlar, oksasilinaz aktiviteleri dikkate alındığından OXA tipleri olarak sınıflandırılır. En sık karşılaşılan temsilcileri OXA-1,-2,-10 (PSE-2)’dur. Tümünün karbapenemaz etkinliği yoktur. OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27 enzimleri karbapenemaz etkinliğine sahiptir. Bunlar karbapenemleri çok güçlü olmayan bir şekilde hidrolize ederler, 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama etkileri yoktur. (Nordmann ve Poirel 2002).

Sınıf A kazanılmış karbapenemazlar: Farklı bakteriler için bildirilen enzimler söz konusudur. *P. aeruginosa*’daki GES-2 olarak ifade edilen sınıf A kazanılmış karbapenemazlar bulunur. Bunlar plazmidlerin ve GES-1’in nokta mutantıda 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama direnç oluşturup, klavulanik asit ve tazobaktam ile inhibe olur (Nordmann ve Poirel 2002).

Karbapenemlere karşı karbapenemaz aracılıklı direnç oldukça nadirdir. Özellikle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'de görülmeye başlanmıştır. Beş farklı Avrasya ülkesinde, *P. aeruginosa* izolatlarında VIM enzimlerinin bulunması bu enzimin yayılma potansiyeli açısından endişe vericidir. Ek olarak IMP üreten suşlar artık Japonya ile sınırlı değildir. Karbapenemazların gelecekte artması olası bir riskdir. Özellikle diğer beta laktamlara artan direnç, karbapenemlerin artan oranda kullanımına neden olmaktadır. Oral analoglarının piyasaya çıkması ve yarı ömrü uzun olan karbapenemler bu seleksiyonu hızlandırabilir. (Nordmann ve Poirel 2002).

1.1.5.6. Antibiyotik Toleransı

Biyofilm üreten *P. aeruginosa* izolatları antibiyotiklerin öldürücü etkilerinden korunmaktadırlar (Stewart ve Costerton 2001). Bu durum genellikle antibiyotik direnci olarak kabul edilmekteyse de daha uygun olan tanımlama antibiyotik toleransıdır.

Her ne kadar yavaş veya durağan fazda üreme antibiyotik toleransının klasik nedeni olarak düşünülmekteyse de çok çeşitli mekanizmalar da ileri sürülmektedir. Bunlar arasında 'Quorum Sensing' (Shih ve Huang 2002), antibiyotiklerin polisakkarit kapsülün matriksden azalmış difüzyonu (Hentzer ve ark., 2001), antibiyotiklere özgül olarak bağlanan glikonların sentezi (Mah ve ark., 2003), fenotipik değişkenlik (Drenkard ve Ausubel 2002; Fowerakel ve ark., 2005), kalıcı hücrelerin varlığı (Spoering ve Lewis 2001), biyofilm ortamında bakterilerin anaerop ortamda üremesi sonucu pek çok antibiyotiğin aktivitesinin etkilenmesi sayılabilir (Borriello ve ark., 2004; Hassett ve ark., 2002).

1.1.5.7. Çoklu İlaç Direnci

P. aeruginosa izolatları arasında çoklu direnç (3 veya daha fazla antibiyotik sınıfına karşı direnç) dahil olmak üzere antibiyotik direnci giderek yaygınlaşmaktadır. Avrupa MYSTIC çalışma grubunun 2003 yılı raporuna göre Avrupa'daki çoklu dirençli *P. aeruginosa* izolatların oranı ülkeden ülkeye belirgin farklılıklar göstermekte olup oranlar %50 ile %3 şeklinde değişiklik göstermektedir (Goossens 2003). SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı Latin Amerika'da görülen coğrafi farklılıkları doğrularken, çoklu dirençli suşlardaki

%35'e varan hızlı artışa dikkat çekmektedir (Sader ve ark., 2005). ABD'de 1993-2002 yılları arasında çoklu direnç oranı %4'den %14'e yükselirken, en yüksek direnç artışı siprofloksasin, imipenem, tobramisin ve aztreonam için bildirilmiştir (Obritsch ve ark., 2004). Global olarak çoklu direnç *P. aeruginosa* suşlarının %10 kadarında saptanmaktadır (Gales ve ark., 2001).

1.1.6. Oluşturduğu Hastalıklar

Fırsatçı bir patojen olarak kabul edilen *P. aeruginosa* insanlarda birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların son yıllarda hastane ortamında giderek arttığı, bakterinin bu ortamda çok kolay barındığı ve dirençli suşların bir hayli arttığı gözlenmektedir. *P. aeruginosa* insanda endokardit, solunum sistemi enfeksiyonları, bakteriyemi, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kulak enfeksiyonu, göz enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, üriner enfeksiyonlar, gastrointestinal enfeksiyonlara yol açar (Ustaçelebi 1999).

1.1.7. Patogenez

P. aeruginosa sağlıklı kişilerde nadiren hastalığa neden olan, sık rastlanan bir insan saprofitidir. Birçok olguda hastalık normal konak savunmasının değişmesiyle başlar. Deri ve mukozalarının bütünlüğünün bozulmasında damar içi veya üriner kateter varlığında, endotrakeal tüp kullanıldığında hastalık gelişebilir. Ayrıca bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlar *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına zemin hazırlar. *P. aeruginosa*'nın farklı fiziki koşullara uyum sağlayabilmesi, beslenme gereksinimlerinin azlığı ve antibiyotiklere kolay direnç kazanabilmesi patojenitesine katkıda bulunur. *P. aeruginosa*'nın enfeksiyonların patogenezini çok faktörlü ve komplekstir. *P. aeruginosa* hem invaziv hem de toksinojeniktir. Enfeksiyonlar 3 aşamada gerçekleşir; ilk olarak bakteriyel tutunma ve kolonizasyon, ikinci aşama da lokal yerleşme ve son olarak sistemik yayılım ve sistemik hastalık şeklinde gerçekleşir.

Her bir basamak için, bir önceki gereklidir. Fakat hastalık gelişimi herhangi bir basamakta durabilir. Organizmanın virulans faktörleri patogenezin her bir basamağını düzenler ve karakteristik sendromlardan sorumludur (Ustaçelebi 1999).

1.1.8. Tedavi Yöntemleri

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere çoklu direnç göstermeleri nedeniyle zordur. Çoğu *P. aeruginosa* suşları ilk izolasyonda aminoglikozitlere (amikasin, gentamisin ve tobramisin) ve geniş spektrumlu penisilinlere (azlosilin, karbenisilin, mezlosilin, piperasilin ve tikarsilin) duyarlıdır. Fakat uzun süre tek başına penisilin verildiğinde, direnç gelişir. Bu yüzden yüksek doz aminoglikozit ve penisilinlerin birlikte verilmesi daha etkilidir. Ayrıca üçüncü kuşak sefalosporinler (saftazidim ve sefoperazon), yeni antibiyotiklerden kinolonlar ve karbapenemler (imipenem) de oldukça etkilidir. Antibiyotik tedavisi dışında başka bir özel tedavi gerekmemektedir (Ustaçelebi 1999).

Steroid tedavisinin septik şoktaki yeri tartışmalıdır. *P. aeruginosa* 'ya özgü monoklonal antikörlerin kullanılması, hiperimmün gamaglobulin uygulanması ve kanserlilerde granülosit transfüzyonları üzerinde çalışmalar vardır. Antibiyotik tedavisi yanında enfeksiyonun yerine, tipine göre enfekte kalp kapaklarının ve vejetasyonlarının çıkartılması, plevranın boşaltılması, apsenin drenajı, yaranın debridmanı gibi cerrahi girişimler gereklidir (Ustaçelebi 1999).

1.1.9. Epidemiyolojik Özellikleri ve Korunma

P. aeruginosa tüm dünyada görülür. Havadan, sudan, bitkilerden ve hayvanlardan izole edilir. Üremesi için çok az besleyici maddeye gereksinim duyar, distile su içinde bile üreyebilir. Farklı fiziksel koşullara çok kolay uyum sağlar. Bu özellikler *P. aeruginosa*'nın etkili bir fırsatçı patojen olmasını sağlar. *P. aeruginosa* nemli ortamı sever. Bu nedenle toprak ve su ile yakından ilişkilidir. İnsanlarda da perine, koltuk altı, kulak gibi nemli bölgelere yerleşir. Solunum cihazları, temizlik solüsyonları, ilaçlar, dezenfektanlar, küvetler, paspaslar *P. aeruginosa* için rezervuar olarak görev yapabilir. *P. aeruginosa* yüzme havuzu, jakuzi, sauna ve kontak lens solüsyonları gibi hastane dışında su ile ilgili rezervuarlarda hastalığa neden olabilir (Ustaçelebi 1999).

P. aeruginosa insanların normal florasında da bulunabilir. Deride %0-2, burun mukozasında %0-3,3, boğazda %0-6,6, dışkıda %2,6-24 arasındadır. Oysa hastaneye yatan özellikle yanıklı hastaların derilerinde, solunum cihazına bağlı olan hastaların alt solunum yollarında, kemoterapi alan hastaların gastrointestinal sistemlerinde ve antibiyotik alan hastalarda taşıyıcılık oranı oldukça yüksektir(%50) (Ustaçelebi 1999).

Hastanede hastaların *P. aeruginosa* kolonizasyonunu önlemek için hastane ortamının temiz ve kuru olmasını sağlamak, dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerini eksiksiz yerine getirmek gereklidir. Ayrıca *P. aeruginosa*'nın hücre duvarından hazırlanmış en az iki ticari aşı vardır. Bu aşuların kistik fibrozisli hastalarda, ağır yanıklı hastalarda ve çocuklarda *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının ölüm oranı azalttığı görüşü vardır. Çok ağır hastalarda da denenebilir (Ustaçelebi 1999).

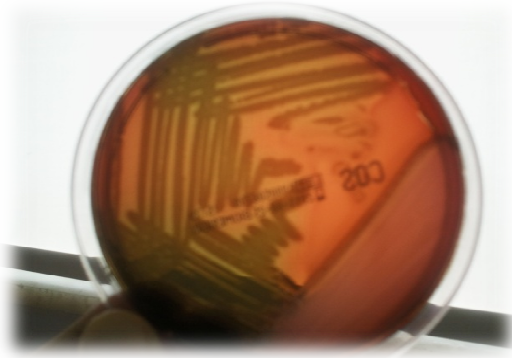
2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Örnek Toplama

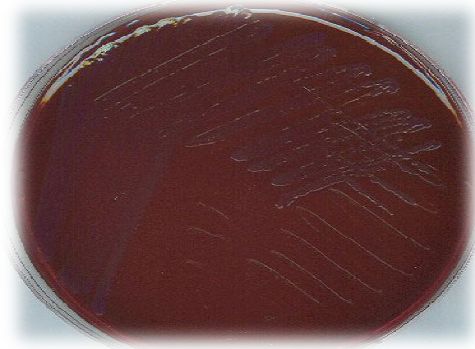
Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2010-Eylül 2011 tarihleri arasında gelen kan, idrar, balgam, trakeal aspirat, kateter ve yara yeri gibi klinik örneklerden izole edilen 218 *P. aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edilmiştir.

2.2.Örneklerin Seçilmesi

Kan, balgam, bronko alveolar lavaj, trakeal aspirat, beyin omurilik sıvısı (BOS), asit mayi, plevral mayi, yara, apse, idrar ve diğer klinik örneklerin ekimleri uygun besiyerlerine yapılmıştır. Eosin Metilen Blue agar (EMB) (Oxoid CM0069), kanlı agar (Oxoid CM 0055) ve çikolata agara ekildikten sonra, ekim plakları 37°C'lık etüvde 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Üreme sonrası plaklar makroskobik olarak koloni morfolojisi ve miktar bakımından incelenmiştir.

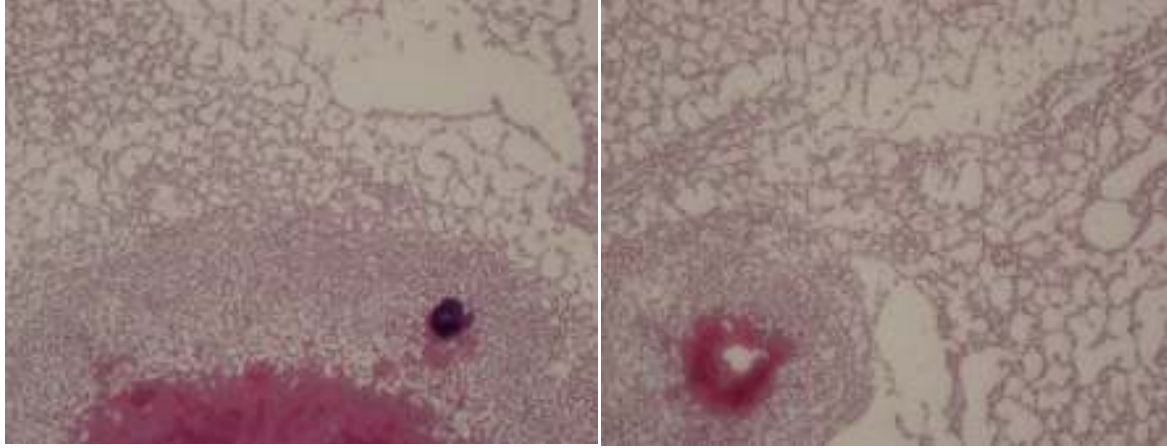


Resim. 2. 1 . Kanlı Agarda *P. aeruginosa*



Resim. 2. 2. EMB Agarda *P. aeruginosa*

Gram boyama aracılığı ile mikroskopik inceleme yapılmış ve Gram negatif basiller gözlenmesi beklenmiştir.



*; 40x büyütme

*; 40x büyütme

Resim. 2. 3. Gram Negatif Basiller

Kliniklerden gelen kan kültürü şişeleri, rutin olarak Bactec 9240 ve Bact/Alert® 3D: Healthcare otomatize kan kültürü cihazlarına yerleştirilmiş ve cihaz pozitif uyarı verene kadar en fazla yedi gün inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kan kültürleri Gram boyama ile değerlendirildikten sonra ekimleri yapılmıştır.

İzole edilen suşların saf kültürlerindeki koloniler daha sonra çalışılmak üzere %10 gliserol içeren beyin kalp infüzyon besiyerinde -70 °C'de dondurularak saklanmıştır. Çalışma yapılacağı zaman kanlı agara pasaj yapılmıştır ve çalışmada suşların kanlı agarda 24 saat inkübe edilmiş pasajları kullanılmıştır.

2.3. Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada, 9 cm çapındaki steril petri kutuları kullanılmıştır. Mueller Hinton Agar (MH Oxoid) besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Petri kutularına ortalama 18-22 ml civarında ve besiyeri kalınlığı 4 mm'yi geçmeyecek şekilde dökülmüştür. Kanlı agar (Oxoid) üretici firma önerileri doğrultusunda otoklavda sterilizasyon yapılmış ve sonrasında 70°C'a kadar soğutulduktan sonra üzerine %5 oranında koyun kanı ilave edilip petri kutularına ortalama 18-22 ml civarında ve besiyeri kalınlığı 4 mm'yi geçmeyecek şekilde dökülmüştür. Eozin metilen blue agar (EMB Oxoid) besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur ve petri kutularına ortalama 18-22 ml civarında ve besiyeri kalınlığı 4 mm'yi geçmeyecek şekilde dökülmüştür. Çikolata agar, kanlı agar gibi hazırlanıp besiyeri soğutulmadan kan ilave edilerek petri kutularına dökülmüştür. Katılaşp 1 gece oda ısısında bekletilen plaklar, %5 örneklem yöntemi ile sterilizasyon kontrolü yapılarak üreme olmayan besiyeri serileri kullanılıncaya kadar +4°C' da buzdolabında bekletilmiştir. Hazırlanan plaklar 2 haftalık süre içinde kullanılmıştır. TSI (Oxoid CM0277) agar besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanıp deney tüplerine dağıtılmıştır. Sonra otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Sterilizasyon sonrasında deney tüpleri eğik bir düzleme yerleştirilip soğumaya bırakılmıştır. Simmons Citrate agar (SC) (Oxoid CM155) besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanıp deney tüplerine dağıtılmıştır. Sonra otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Sterilizasyon sonrasında deney tüpleri eğik bir düzleme yerleştirilip soğumaya bırakılmıştır. Christensen agar base (CAB) üre, (Oxoid CM0053) besiyeri üretici firma önerileri doğrultusunda otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Sonrasında steril deney tüplerine dağıtılarak soğumaya bırakılmıştır. Kontamine olmayan besiyerleri +4 de muhafaza edilip 2 hafta içinde kullanılmıştır.

2.4. İdentifikasyon

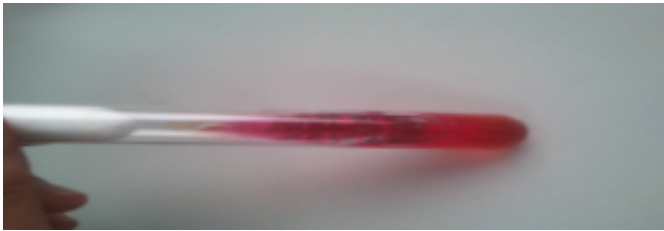
Suşlar klasik yöntemlerle *P. aeruginosa* tanımlanması bakımından hareket, oksidaz aktivitesi, glikoz ve laktoza oksidatif ve fermentatif etki, karakteristik koku, mavi yeşil pigment oluşturma, gaz oluşturma ve hemoliz yapma gibi değerlendirme kriterlerine göre

irdelenmiştir. Elde edilen tüm veriler kayıt altına alınmıştır. Ek olarak identifikasyon ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesinde non fermenterlere uygun VITEK® 2 Compact (BioMerioux France, N-90, N-91, N-174) otomatize identifikasyon ve antibiyogram panelleri kullanılmıştır. Testlerde kalite kontrol amacıyla standart suş olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

Hareket testi; bakterilerin hareketliliklerinin araştırıldığı bir testtir. Çeşitli şekillerde (asılı damla, yarı katı besiyeri) yapılmaktadır. Hareket testi için SIM Medium (Merck 1.05470) sıklıkla kullanılan ve hidrojen sülfür, hareket, indol oluşumu testlerinin beraberce yapıldığı bir besiyeridir. *P. aeruginosa* için pozitifdir.

Besiyerinden oksidaz çubuğuyla tek koloni alınıp 10 saniye içerisinde oksidaz çubuğunda mavi-siyah renk oluşması gözlenmiştir. Oksidaz testi, sitokrom oksidaz enzimine sahip olan bakterilerin ayırd edilmesinde kullanılan bir testtir. *P. aeruginosa* için pozitifdir.

Şüpheli koloniler TSI besiyerine, CAB ve SC ekilerek değerlendirme yapılmıştır. TSI agara iğne öze yardımıyla alınan saf koloni, besiyerinin dik kısmına batırılarak, yatık kısmının yüzeyine de zikzaklar çizilerek ekim yapılmıştır. Sonuçlar 37°C’ da bir gün inkübasyonda bekletildikten sonra değerlendirilmiştir. TSI besiyeri bakterilerin glikoz, laktoz ve sükroz üzerindeki etkilerini ve H₂S oluşturup oluşturmadıklarını kayıt altına alınmıştır. (Koneman 2006; Günalp ve ark., 2003).



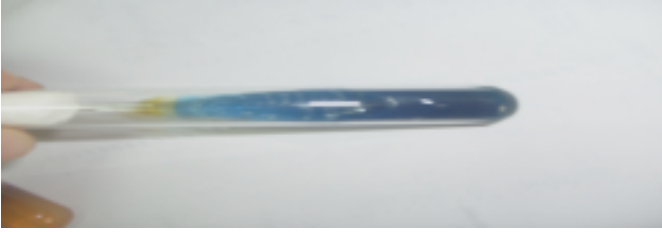
Resim. 2. 4. TSI *P.aeruginosa* İçin Negatif

Daha sonra konvansiyonel identifikasyon amacı ile izole edilen koloniler CAB ekilmişlerdir. İğne öze yardımıyla yapılan ekimler için iğne öze besiyerinin dikine 2-3 kez daldırıp çekilmiş 37°C’de 24-48 saatlik inkübasyon sonucunda sonuçlar değerlendirilmiştir. Besiyeri rengi sarıdan sıklamden pembeye dönerse pozitif, bir değişiklik olmazsa negatif olarak değerlendirilmiştir.



Resim. 2. 5. Üre *P.aeruginosa* İçin Pozitif

İzole edilen koloniler daha sonra SC agara iğne öze yardımıyla besiyerinin dik kısmına batırılarak, yatık kısmının yüzeyine de zikzaklar çizilerek ekim yapılmıştır. Bu deneyde bakterinin sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığını öğrenmek amacıyla yapılmıştır. Sonuçlar 37°C’ da bir gün inkübasyonda bekletildikten sonra değerlendirilmiş ve kayıt altına alınmıştır.



Resim. 2. 6. Sitrat *P.aeruginosa* İçin Pozitif

P. aeruginosa besiyerinde tatlı üzüm benzeri bir karakteristik koku meydana getirir. Bu özellik 2-aminoasetofenona aittir.

Yine piyosyanin varlığı da *P. aeruginosa* için özgün, ayırıcı bir özellik olup besiyerinde pigment oluşur. (Resim.2.7)

Bazı bakteriler içerisinde kükürt bulunan aminoasit yada başka sülfatlı bileşikleri kullanarak hidrojen sülfid (H_2S) oluşturabilirler. İncelenecek bakteri, karbonhidrattan fakir, kükürtlü aminoasitten zengin bir besiyerinde üretilerek, aminoasitleri kullanmaya zorlanır. H_2S oluşuyorsa demirli veya kurşunlu indikatörler ile tespit edilir. Koloni etrafında siyah bir renkleşme pozitif sonuç anlamına gelir. *P. aeruginosa* için negatiftir.

Bakterinin hemolitik aktivitesinin varlığının tespiti için kanlı agarda üreyen bakteri kolonilerinin çevresinde oluşan hemoliz zonu gözlenir. Eritrositlerin parçalanması hemolizin enzimi ile olur. Bu test esas itibarı ile bakterinin hemolizin yapıp yapmadığının tespitidir. *P. aeruginosa* kanlı agarda beta hemoliz oluşturur. (Resim.2.1)

Kan kültürleri otomatize sistem ile aksi belirtilmedikçe yedi gün süre ile takip edilmiştir. Aynı hastaya ait birden fazla kan kültüründe aynı etken ürediğinde sadece biri değerlendirmeye alınmıştır. Üreme sinyali vermiş kültür örnekleri %5 koyun kanlı agar ve EMB agara ekilmiş ve 37°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Kültürde üreme olan örneklerin gram boyaması, koloni morfolojisi, aromatik koku varlığı, kanlı agarda beta hemoliz varlığı, oksidaz pozitifliği ile *P. aeruginosa* düşünülen mikroorganizmaların identifikasyonu otomatize sistem VITEK® 2 Compact (BioMerieux France) ile tür düzeyinde tanımlanarak doğrulanmıştır.

2.5. Suşların Besiyerine Transferi ve Disklerin Yerleştirilmesi

Antibiogram çalışmaları için önceden hazırlanmış 0,5 MacFarland yoğunluğuna sahip bakteri süspansiyonundan 0,2 ml alınarak MH agar yüzeyine homojen yayılım sağlanmıştır. MH agar yüzeyinin kuruması için plaklar 10-15 dakika oda ısısında biyogüvenlik kabini içinde bekletilmiştir. Disklerinin yerleştirilmesi için uygun hale gelen plaklar üzerine siprofloksasin (CIP), seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ), sefepim (FEP) gentamisin (CN), amikasin (AK), piperasillin/tazobaktam (TZP), imipenem (IMP), levofloksasin (LEV), tetrasiklin (TE), cefotaksim (CTX), sefeperazon/sulbaktam (SCF), meropenem (MEM), (Oxoid UK) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir.



Resim.2.7. Müller Hilton Agarda *P.aeruginosa* İçin Antibiyotik Disklerinin Yerleşimi

Antibiyotik diskleri bir plağa 7 diğer plağa 6 adet olmak üzere toplam 13 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir.

2.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi

P. aeruginosa suşlarının antibiyotik direnci Kirby Bauer Disk Diffüzyon Tekniği ile CLSI kriterleri esas alınarak incelenmiştir (2010).

Antibiyoqram için ekim yapılan plaklara

CIP 5 µg, CRO 30 µg, CAZ 30 µg, FEP 30 µg, CN 10 µg, AK, 30 µg, IMP 10 µg, LEV 5 µg, TE 30 µg, CTX 30 µg, SCF 75 µg, MEM 10 µg, ve TZP 10/1:110 µg (Oxoid UK) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 37°C' da 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek CLSI kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I), dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir.

2.7. Petri Kutularının İnkübe Edilmesi, İnhibisyon Zonlarının Ölçülmesi ve Değerlendirilmesi

Petri kutuları 37°C' da 1 gece inkübe edilmiştir. Petri kutuları inkubasyondan sonra aydınlık bir ortamda incelenmiştir. İnhibisyon zon çapı, zonun bir kenarından çemberin çapı doğrultusunda diğer kenarına kadar olan mesafe bir cetvel ile mm olarak ölçülmüştür. Zon çapları değerlendirilmesinde CLSI kriterleri esas alınmıştır .

Zon çapları değerlendirilmesinde kullanılan CLSI Ocak 2010 kriterleri aşağıdaki tablo da belirtilmiştir.

Tablo 3.2. *P.aeruginosa* İçin Zon Çapı Yorumlama Değerleri (CLSI 2010).

Test Bildirim Grubu	Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon çapı (yaklaşık mm)		
			R	I	S
PENİSİLİNLER**					
A	Piperasilin	100 µg	≥18	-	≤17
B	Tikarsilin	75 µg	≥15	-	≤14
O	Azlosilin	75 µg	≥18	-	≤17
O	Karbenisilin	100 µg	≥17	14-16	≤13
O	Mezlosilin	75 µg	≥16	-	≤15
Beta LAKTAM/Beta LAKTAMAZ İNHİBİTÖR KOMBİNASYONLARI					
B	Piperasilin/Tazobaktam	18 µg	≥15	-	≤17
O	Tikarsilin/Klavulanik Asit	15 µg	≥18	-	≤14
SEFEMLER (parenteral) (1.2.3.4. dahil)					
A	Seftazidim	30 µg	≥18	15-17	≤14
B	Sefepim	30 µg	≥18	15-17	≤14
O	Sefoperazon	75 µg	≥21	16-20	≤15
O	Sefotaksim	30 µg	≥23	15-22	≤14
O	Seftriakson	30 µg	≥21	14-20	≤13
O	Seftizoksım	30 µg	≥20	15-19	≤14
O	Moksalaktam	30 µg	≥23	15-22	≤14
KARBAPENEMLER					
B	İmipenem	10 µg	≥16	14-15	≤13
B	Meropenem	10 µg	≥16	14-15	≤13
MONOBAKTAMLAR					
B	Aztreonam	30 µg	≥22	16-21	≤15
LİPOPEPTİDLER					
O	Kolistin	10 µg	≥11	-	≤10
O	Polimiksin B	300 ünite	≥12	-	≤11
AMİNOGLİKOZİDLER					
A	Gentamisin	10 µg	≥15	13-14	≤12
A	Tobramisin	10 µg	≥15	13-14	≤12
B	Amikasin	30 µg	≥17	15-16	≤14
O	Netilmisin	30 µg	≥15	13-14	≤12
FLOROKİNOLONLAR					
B	Siprofloksasin	5 µg	≥21	16-20	≤15
B	Levofloksasin	5 µg	≥17	14-16	≤13
U	Lemofloksasin veya	10 µg	≥22	19-21	≤18
U	Ofloksasin	5 µg	≥16	13-15	≤12
U	Norfloksasin	10 µg	≥17	13-16	≤12
O	Gatifloksasin *	5 µg	≥18	15-17	≤14

* Bu sınır değeri sadece üriner sistem izolatları için geçerlidir.

** Bu ilaçlar için duyarlı kategorisi *P.aeruginosa* in neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda yüksek doz ile tedaviye gereksinim olduğunu belirtir. Bu enfeksiyonlar için monoterapide klinik başarısızlık gözlenmiştir. *P.aeruginosa* ya karşı in vitro olarak aktivite gösteren ikinci bir antimikrobik (örneğin, florokinolon, aminoglikozid) eklenilmesi düşünülmelidir. (CLSI 2010)

Antibiyotik duyarlılık değerlendirmede dikkat edilmesi gereken diğer husular;

-Tam inhibisyonun gözlemlendiği alanın (çıplak gözle değerlendirilir) çapı, disk çapı ile birlikte ölçülmüştür. Petri plağı aydınlık bir ortamda siyah, yansıtıcı olmayan bir zeminin birkaç santim üzerinde tutulmuştur. İnhibisyon zonu sınırı, çıplak gözle görülebilir üremenin bittiği alan olarak kabul edilmiştir. İnhibisyon zonunun kenarında sadece büyüteç ile görülebilen küçük kolonilerin oluşturduğu hafif üreme dikkate alınmamıştır.

Test Bildirim Grupları;

CLSI önerileri doğrultusunda Grup A; hem rutin birinci test panelinde bulunması hem de belirli mikroorganizmalarda rutin olarak bildirilmesi uygun olan ilaçlardır.

CLSI önerileri doğrultusunda Grup B; klinikte özellikle nazokomiyal enfeksiyonlar açısından önem taşıyan ve öncelikli olarak test edilmesi gerekli olan antibiyotikleri içermektedir. Bununla birlikte test sonuçları kısıtlı olarak, örneğin; mikroorganizma Grup A'daki aynı sınıftan ilaçlara dirençli olduğunda bildirilmelidir. Özelliği olan klinik örnekler için örneğin; BOS'ndan soyutlanan enterik basiller için üçüncü kuşak sefalosporinler, üriner sistem izolatları için (trimetropim/sülfametoksazol gibi) polimikrobiyal enfeksiyonlar; çoğul odaklı veya yaygın enfeksiyonlar; alerji, intolerans veya A grubundaki ilaçlar ile tedaviye yanıt alınamaması gibi nedenlerle klinik tarafından istenmesi durumunda, ayrıca enfeksiyon kontrolüne epidemiyolojik amaçlı katkı olarak B grubundaki antibiyotikleri çalışma kapsamında değerlendirilmiştir.

CLSI önerileri doğrultusunda Grup U (idrar); sadece veya öncelikle üriner sistem enfeksiyonlarını tedavi etmekle kullanılan belirli antimikrobik ilaçlar (örneğin; nitrofurantion ve bazı kinolonlar) çalışma kapsamında irdelenmiştir.

Sonuçların istatistiksel analizinde, sonuçlar, frekans ve yüzde dağılımı şeklinde verilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizinde SPSS 13.0 for Windows (veri analiz programı) versiyonu kullanılmıştır.

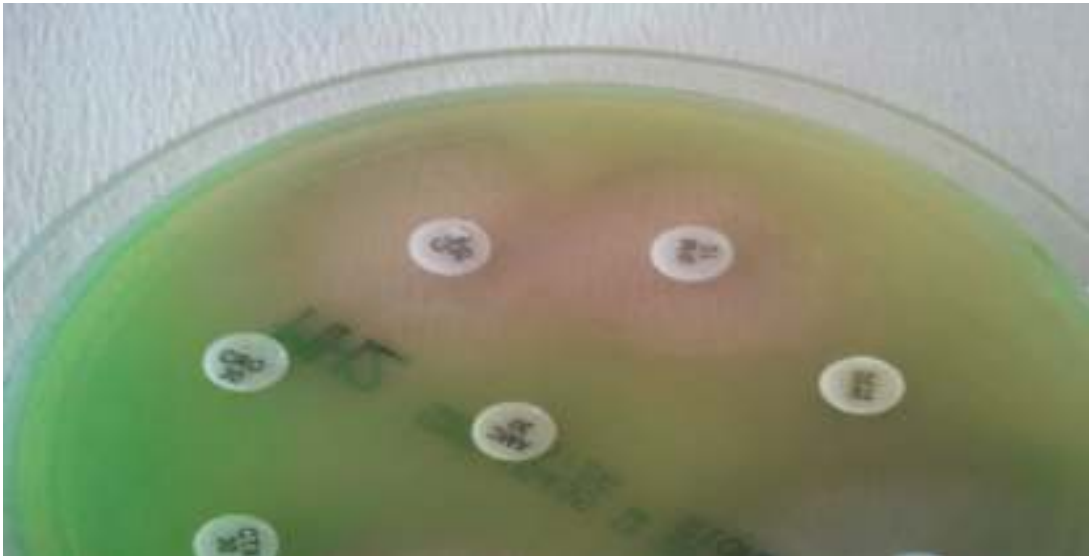
Tablo 3.3. Klinik Örneklerden İzole Edilen *P.aeruginosa* Bildirimlerinde Önerilen ABD ve FDA Onaylı Antimikrobik İlaç Grupları (CLSI 2010).

<i>P.aeruginosa</i>	
Grup A	Seftazidim
	Gentamisin
	Tobramisin
Grup B	Piperasilin
	Amikasin
	Aztreonam
	Sefepim
	Siprofloksasin
	Levofloksasin
	İmipenem
	Meropenem
	Pipereasilin/tazobaktam
	Tikarsilin
Grup U	Lomefloksasin veya Orfloksasin
	Norfloksasin

2.8.IBL Deneyi

Disk Yakınlaştırma Yöntemi: Sefoksitin ya da imipenem gibi güçlü beta laktamaz indükleyicilerinin çevresine merkeze 1,5-2,0 cm uzaklıkta olacak şekilde aztreonam veya 3. kuşak sefalosporin gibi zayıf indükleyici disk yerleştirildiğinde, zayıf indükleyici disklerdeki inhibisyon zonunun en az 4 mm' lik küçülmesi İBL varlığını gösterir (Sanders ve ark., 2002).

Resim.2.8. MH Agarda *P.aeruginosa* için IBL Pozitif

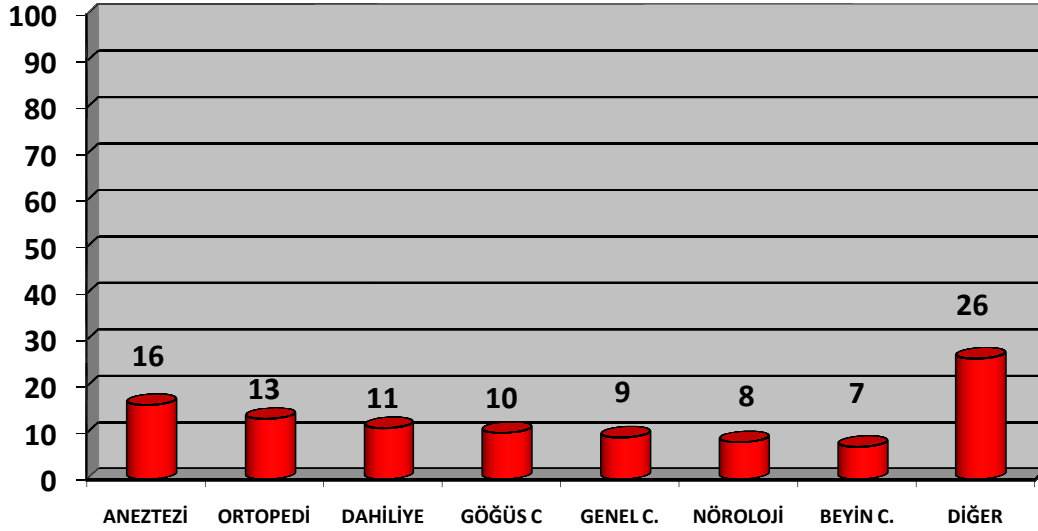


3. BULGULAR

Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2010 - Eylül 2011 tarihleri arasında gelen kan, idrar, balgam, trakeal aspirat, kateter ve yara yeri gibi klinik örneklerden izole edilen 218 *P. aeruginosa* suşu çalışmaya dahil edilmiştir.

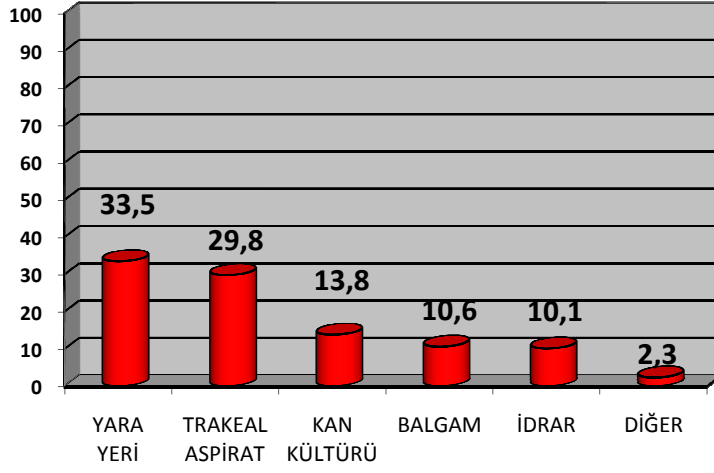
Çalışmaya dahil edilen suşların servislere göre dağılımına bakıldığında; %16 oranıyla Anestezi kliniğinin ilk sırayı aldığı gözlenmiştir. Devamında ortopedi ve dahiliye klinikleri %13 ve %11 oranlarıyla ikinci ve üçüncü sırayı almıştır. Diğer sonuçlar Grafik 3.1.'de özetlenmiştir.

Grafik 3.1. Suşların İzole Edildiği Örnek Tiplerinin Servislere Göre Dağılımı.



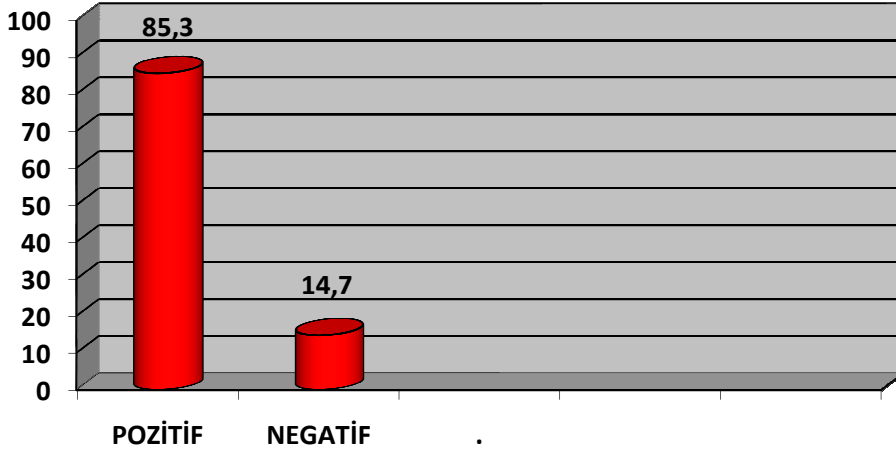
Çalışmaya dahil edilen suşların izole edildiği örnek tiplerine göre irdelendiğinde; %33,5 oranıyla yara yeri örneklerinin ilk sırayı %29,8 ile trakeal aspirat örneklerinin ikinci sırayı aldığı, kan kültürü ve balgam örneklerinde %13,8 ve %10,6 oranlarıyla üçüncü ve dördüncü sırada olduğu gözlenmiştir. Diğer sonuçlar Grafik 3.2.'de özetlenmiştir.

Grafik 3.2. Örnek Tiplerine Göre Dağılım.



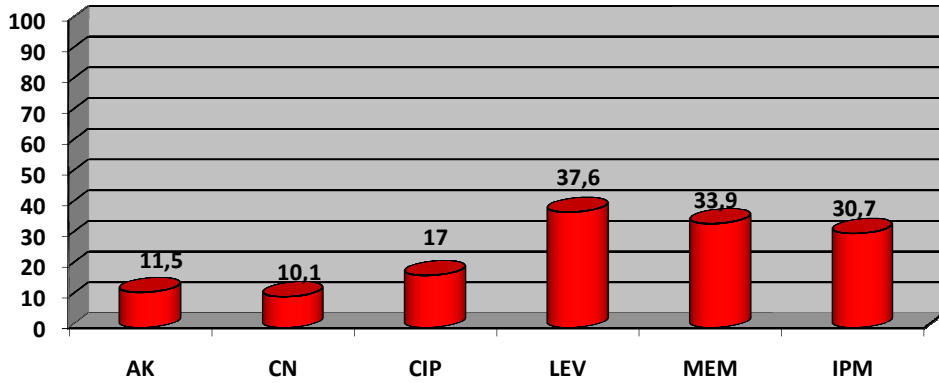
Yapılan çalışmalar sonucunda izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında saptanan indüklenebilir beta laktamaz (IBL) oranı ise, %85,3 (186) olarak saptanmıştır. Bu sayısal veriler Grafik 3.3.'de gösterilmiştir.

Grafik 3.3. Suşların IBL Pozitif ve Negatif Oranları.



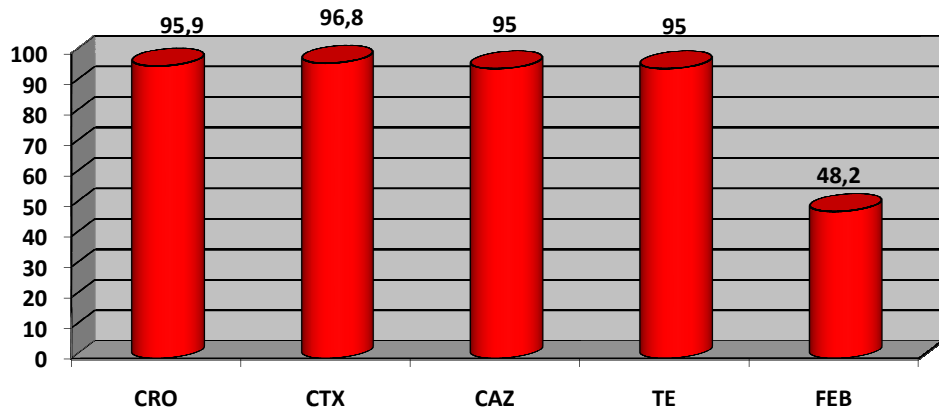
Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin duyarlılıkları irdelenmiştir. AK %11,5 (25) ve CN %10,1 (22) oranında direnç saptanmıştır. Elde edilen sayısal veriler Grafik 3.4.' de gösterilmiştir. Benzer şekilde kinolon grubu antibiyotikler için gerçekleştirilen çalışmalarda ise; CIP %17 (37) ve LEV %37,6 (82) oranında direnç saptanmıştır. Söz konusu veriler Grafik 3.4.'de özetlenmiştir. Karbapenemlerden meropenem ve imipenem için direnç çalışmaları yapılmış ve sırasıyla %33,9 (74) ve %30,7 (67) oranları elde edilmiştir. Söz konusu veriler Grafik 3.4.'de gösterilmiştir.

Grafik 3.4. Aminoglikozidlere, Kinolonlara ve Karbapenemlere Olan Direnç.



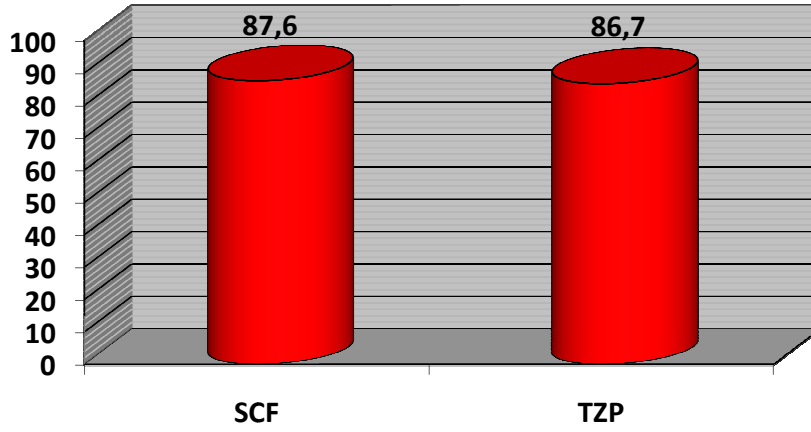
Çalışmaya dahil edilen suşlar için Sefalosporin grubu antibiyotiklerle duyarlılık çalışmalarında; 3. kuşak sefalosporin olan CRO, CTX ve CAZ sırasıyla %95,9 (209), %96,8 (211) ve %94 (205) gibi yüksek oranlarda direnç bulunduğu gözlenmiştir. 4. kuşaktan sefepim için direncin %48,2 (105), ribozom inhibitörü olan tetrasikline karşı ise %95 (207) olduğu saptanmıştır.

Grafik 3.5. 3. ve 4. Kuşak Sefalosporinlere ve Tetrasikline Olan Direnç.



Direnç çalışmaları kapsamında irdelenen kombinasyonlar için elde edilen direnç oranları ise TZP için %86,7 (189) ve SCF için %87,6 (191) olarak saptanmıştır. Sonuçlar Grafik 3.6.'de özetlenmiştir.

Grafik 3.6. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarına Olan Direnç.



Çalışmada değerlendirilen tüm antibiyotiklere ait duyarlı, dirençli ve orta duyarlılık sonuçları Tablo 3.4.'de verilmiştir.

Tablo 3.4. Değerlendirilen Tüm Antibiyotiklere Ait Duyarlı, Dirençli ve Orta Duyarlılık Sonuçları.

Antibiyotik Adı	Duyarlı		Dirençli		Orta Duyarlı	
	n	%	n	%	n	%
AK	188	86,2	25	11,5	5	2,3
FEP	96	44	105	48,2	17	7,8
SCF	20	9,2	191	87,6	7	3,2
CAZ	11	5	205	94	2	0,9
CRO	7	3,2	209	95,9	2	0,9
CIP	163	74,8	37	17	18	8,3
CN	187	85,8	22	10,1	9	4,1
IMP	135	61,9	67	30,7	16	7,3
LEV	130	59,6	82	37,6	6	2,8
MEM	133	61	74	33,9	11	5
TZP	19	8,7	189	86,7	10	4,6
TE	9	4,1	207	95	2	0,9
CTX	7	3,2	211	95,4	-	-
Toplam	218	100				

4. TARTIŞMA

P. aeruginosa nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinin başlıcalarından olup çoklu ilaç direnci nedeniyle sorun olan bir bakteridir. Özellikle uygunsuz antibiyotik kullanımı antibiyotik direnç artışının en önemli nedeni olmakla birlikte, *P. aeruginosa* bir çok antibiyotik grubuna da doğal olarak dirençlidir (Ayyıldız ve ark., 2002). *P. aeruginosa* yapısal özellikleri gereği çok çabuk direnç geliştirebilen bir bakteridir. Yanlış ve uygunsuz antibiyotik kullanımı direnç gelişimini arttırmakta, hastanelerdeki yoğun antibiyotik baskısı da bu dirençli kökenlerin seçilmesine yol açmaktadır. Son yıllarda çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* suşlarının artması, bu bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavilerinde sorun yaşanmasına neden olmaktadır. *P. aeruginosa* ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde, tedavi sırasında direnç gelişimini önlemek ve geniş etki spektrumu sağlamak amacı ile kombinasyon tedavisi önerilmekte, çoğunlukla da bir antipsödomonal beta laktam ile aminoglikozid veya kinolon kombinasyonu kullanılmaktadır (Pier ve Ramphal 2005).

Klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının kliniklere göre yapılan değerlendirme hakkında yurt dışında yapılan çalışmalarla ilişkili az sayıda veriye ulaşılmıştır. Bunlardan; Van Eldere 2003 deki çalışmasında 716 *P. aeruginosa* suşun dağılımı; %38 yoğun bakım, %21 dahiliye, %12 cerrahi, %5 hematoloji, %23 diğer olarak bildirmiştir.

P. aeruginosa izole edilen örneklerin servislere göre dağılımı için yurt içinde yapılan bildirimlerde; Kalem ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada dağılım %34 yoğun bakım, %24 cerrahi servisleri, %16 pediatri, %9 dahiliye, %8 göğüs, %8 nöroloji ve %5 diğer, Eyigör ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada %20 dahiliye, %16 pediatri, %7 göğüs, %7 plastik, %7 genel cerrahi, %6 noroloji, %3 üroloji ve %15 diğer şeklinde bir dağılım ortaya koymuşlardır. Literatürde yer alan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile bizim sonuçlarımız arasında benzerlikler söz konusudur. Yanı sıra çalışmamızda en çok yoğun bakım birimlerinden gelen örneklerden *P. aeruginosa*'nın izole edilmiş olmasını hastanemizde yoğun bakım yatak sayısının fazla olması ve ilimizde tek yoğun bakım ünitesi bulunan hastane olmamızla ilişkili olabileceği kanaatindeyiz. Ayrıca cerrahi yoğun bakım ünitelerinden izolasyon oranı dahili servislere ait yoğun bakımların izolasyon oranından

fazladır. Bu yüzden cerrahi servislere ait yoğun bakım ünitelerinde *P. aeruginosa* kolonizasyonunu önleme açısından önlemlerin artırılmasının faydalı olacağı inancındayız.

Klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının örnek tipi dağılımına göre yapılan değerlendirme için yurt dışında yapılan çalışmalarla ilişkili sınırlı sayıda veriye ulaşılmıştır. Bunlarda; Bonfiglio ve ark. 1998 yılında 1153 *P. aeruginosa* suşu ile yaptıkları çalışmada %35 solunum yolu sekresyonları, %22 idrar, %18 deri ve yumuşak doku, %4 kan, %3 kulak sürüntüsü, %15 diğer, F. Cobo Martinez ve ark. 2003 yılında 117 *P. aeruginosa* suşu ile yaptıkları çalışmada %40 solunum yolu sekresyonları, %28 yara, %14 idrar, %6,5 kan, %10 diğer, Hamze ve ark. 2004 yılında 464 suş ile yaptıkları çalışmada %39,3 idrar, %21,2 yara ve %16,5 oranında kulak sürüntülerinden *P. aeruginosa* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Literatür taramalarında *P. aeruginosa* izole edilen örnek dağılımı açısından yurt içinden çok sayıda bildirim rastlanmış, bu veriler literatürün yayın yılı dikkate alınarak sırasıyla Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Örnek Tipi Dağılımı Açısından Yurt İçi ve Yurt Dışı Veriler.

	Örnek tipi							n
	TA*	YARA	İDRAR	KAN	BALGAM	BAL	DiĞER	
Bonfiglio ve ark. 1998	%35	%18	%22	%4	ta	ta	%18	1153
F.Cobo Martinez ve ark. 2003	%40	%28	%14	%6,5	ta	ta	%10	117
Hamze ve ark. 2004	-	%21,2	%39,3	-	-	-	%50	464
Kalem ve ark. 2008	%40	%20	%15	%8	ta	ta	%5	150
Eyigör ve ark. 2009	-	%36	%19	%18	%20	-	%8	94
Özdemir ve ark. 2009	%33	%32	-	%6	-	%24	%7	159
Kireççi ve Sevinç 2008	%10	%20	%46	-	%8	-	%17	92
Dündar ve Sönmez 2009	%27	%26	%28	%2	ta	ta	%15	665
Tunçoğlu ve ark. 2009	%25	%36	%32	-	ta	ta	%7	179
Aktaş ve ark. 2010	%47	%20	%10	%13	ta	ta	%11	570
Özyurt ve ark. 2010	%13	%45	%15	%15	ta	ta	%10	350
Öztürk ve ark. 2010	%52	%26	%13	%6	ta	ta	-	97
Üstün 2010	%13	%60	%10	%6	ta	ta	%6	150
Öztürk ve ark. 2011	%54	%25	%10	%7	ta	ta	%4	100
Bu Çalışma 2011	%29,8	%33	%10,1	%13,8	%10,6	-	%2	218

* TA ; Trakeal aspirat.

Hem yurt dışından hem de yurt içinden örnek dağılımı ilişkili yapılan bildirimlerde en sık *P. aeruginosa* izole edilen örnek tiplerinin sırasıyla trakeal aspirat ve yara olduğu vurgulanmaktadır. Bu durum bizim verilerimizle uyumludur. Bakterinin özellikle yoğun bakım gibi hastaların uzun süreli kaldıkları birimlerde başta solunum cihazları olmak üzere kolonize halde buldukları da sıklıkla vurgulanan bir durumdur. Bu sonuçlardan yola çıkarak söz konusu birimlerde yatan hastaların enfekte olmasını önlemek için dezenfeksiyon önlemleri artırılmalı, solunum cihazları ve çevrede kolonize halde bulunan bakterilerden kurtulmak için yeni ve etkin yöntemler geliştirilmelidir.

IBL varlığı ve sıklığı açısından yurtdışından bildirimle ulaşılamamıştır. Yurt içinde yapılan çalışmalara ait yapılan bildirimlerden elde edilen verilerde; Özyurt ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada 350 *P. aeruginosa* suşunun %62'sinde IBL pozitifliği, Öztürk ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada 100 *P. aeruginosa* suşunun %32'sinde IBL pozitifliği bildirmişlerdir.

Araştırmamız kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda %85,3 (186) IBL pozitifliği saptanmıştır. Bu oran ülkemizden gerçekleştirilen bildirimlere oranla oldukça yüksektir. Konunun ayrıntılı araştırılması, moleküler epidemiyolojik analizlerin yapılması sonucunda daha kapsamlı bilgiler elde edilecektir. Ayrıca hastanemize kabul edilen hastaların önemli bir bölümünün daha önce başka hastanelerde tedavi almış olmalarıda dirençli suşların seleksiyonunu sağlamaktadır.

Antibiyotik gruplarından aminoglikozidlere, kinolonlara ve karbapenemlere karşı yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda bildirilen direnç oranları Tablo 4.2.de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Aminoglikozidlere, Kinolonlara ve Karbapenemlere Karşı Yurt İçi ve Yurt Dışı Çalışmalarda Bildirilen Direnç Oranları.

Antibiyotiklere Karşı Olan Direnç Oranları							
	AK	CN	CIP	LEV	MEM	IPM	n
F.Cobo Martinez ve ark.2003	-	%20,2	%14,4	%18,2	%6,1	%9,6	117
J.Van Eldere 2003	%10,5	%23,5	%24	%27,5	%9,5	-	716
Shawar ve ark. 1999	%13,1	%19,3	%20,7	-	-	-	1200
Kireççi ve Sevinç 2008	%3	%16	%9	-	-	%14	92
Dünder ve Sönmez 2009	%20	%28	%34	%32	%21	%22	665
Tunçoğlu ve ark. 2009	%5,6	%16,2	%22,9	-	%9,5	%7,8	179
Eyigör ve ark. 2009	%1	%4	%15	-	-	%3	94
Özyurt ve ark. 2010	%11,4	%55,1	%80	%78,9	%81,1	%77,1	350
Öztürk ve ark. 2010	%4	%25	%14	-	-	%23	97
Üstün 2010	%31	%61	%35	-	%50	%50	150
Bu Çalışma 2011	%86,2	%85,8	%74,8	%59,6	%61	%61,9	218

Bu tablodan da anlaşılacağı gibi antibiyotik duyarlılıkları ile ilişkili olarak yurt içi ve yurt dışından yapılan bildirimlerdeki birçok veri bizim verilerimizle uyumluken bazı verilerde bizim sonuçlarımıza göre farklılık içermektedir. Bu farklılığı ortaya çıkaran nedenlerin bölgesel farklılıklar, toplumsal farklılıklar ve yaşam tarzları, hastanelerin uyguladığı enfeksiyon kontrol önlemleri, ampirik tedavi tercihleri, hasta uyumu ve ilaç kullanım politikaları olabileceği düşüncesindeyiz. Zira bu sayılan faktörlerin her biri etkenin hayatta kalmasına, yaygınlığına, direnç geliştirmesine ve hastalık oluşturmaya katkı sağlamaktadır. Bu itibarla etkenin yaygınlığının ve hastalık oluşturmalarının önlenmesinde her birimin kendi şartlarını değerlendirerek ve direnç profillerini izleyerek politikalar geliştirmesinin önemli olduğu düşüncesindeyiz.

Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarına ve sefalosporinlere karşı yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda bildirilen dirençlilik oranları Tablo 4.3’de özetlenmiştir.

Tablo 4.3. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarına ve Sefalosporinlere Karşı Yurt İçi ve Yurt Dışı Çalışmalarda Bildirilen Dirençlilik Oranları.

Antibiyotiklere Karşı Olan Direnç Oranları						
	CAZ	SCF	TZP	FEP	CTZ	n
F.Cobo Martinez ve ark. 2003	%40	-	%8	%28	-	117
J.Van Eldere 2003	%28,5	-	%17,5	%30	-	716
Kalem ve ark. 2008	-	%63	%31	-	-	150
Dündar ve Sönmez 2009	%34	%34	%29	%31	-	665
Tunçoğlu ve ark. 2009	%23	-	-	%40	-	179
Özdemir ve ark. 2009	%64	%68	%77	%57	%17	159
Öztürk ve ark. 2010	%23	%34	%86	%87	-	97
Bu Çalışma 2011	%94	%87,6	%86,7	%48,2	%96,8	218

Çalışmamızda antibiyotik kombinasyonları için elde edilen direnç oranlarının önceki çalışmalarla elde edilenlerle karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlemlendi. Bu direncin söz konusu antibiyotiklerin hastanemizde Gram negatif etkenlere karşı ampirik olarak kullanma alışkanlığı ile ilişkili olabileceği kanaatindeyiz. Enfeksiyon kontrol komitemizin konuyla ilişkili olarak bilgilendirilmesinin direnci azaltılması ya da makul seviyeye inmesinde etkili olabileceği inancındayız.

Bu çalışmada, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında en düşük direnç oranları AK, CN ve CIP iken; CTX, TE, TZP, CRO, CAZ ve SCF'ye karşı yüksek oranlarda direnç saptanmıştır. Türkiye'de bu konuda bildirilen sonuçlar geniş bir dağılım göstermektedir. Çalışmamızda bulunan direnç oranları diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, daha yüksek bulunsada da ortalamaya yakın olduğu görülmüştür.

Tüm dünyada olduğu gibi, Türkiye'de de *P. aeruginosa* suşlarının diğer beta laktamlara artan direnci nedeniyle karbapenemler ilk seçenek olarak düşünülmektedir. Son zamanlarda *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenemaz üretimindeki artış, bu antibiyotiklere karşı direnci de beraberinde getirebilmektedir (Çakır ve ark., 2003). Çalışmamızda IPM için %30,7, MEM için %33,9 direnç oranı saptanmıştır. Paköz ve ark.'nın 2011'de yaptıkları çalışmada IPM için %36 oranında direnç, Dağı ve ark.'nın 2011'de yaptıkları çalışmada IMP için %30 oranında direnç, Öztürk ve ark. 2011'de IPM için %18 direnç, Güney ve ark. 2011'de IPM

için %26 MEM için %24 oranında direnç saptamışlardır. Bu sonuçlar, bizim elde ettiğimiz verilerle uyumludur. Karbapenemler, bakteriyel dirence karşı geliştirilmiş en geniş spektrumlu etkin beta laktam antibiyotikler olarak bilinmekle birlikte, özellikle son dönemlerde *P. aeruginosa* izolatlarında görülen karbapenem direncinin sorun yaratabileceği göz ardı edilmemelidir.

Tablo 4.4. *P. aeruginosa* İçin Yurt İçi ve Yurtdışından Bildirilen Direnç Aralıkları. (Dündar ve Tamer; 2009).

Antibiyotik	Türkiye'de yapılan çalışmalar	Yurt dışında yapılan çalışmalar	BU ÇALIŞMA
PIP	18-63	7-48	-
TZP	11-43	5-86	86,7
SCF	12-34	40-97	87,6
CAZ	15-62	9-84	94
FEP	3-63	7-97	48,2
AZT	13-59	26-82	-
IPM	3-38	5-41	30,7
MEM	3-49	10-37	33,9
CN	14-65	12-70	10,1
AK	2-34	5-93	11,5
TOB	3-59	7-97	-
CIP	7-40	11-73	17
LEV	30-41	26-39	37,6

Yukarıdaki tablodan da anlaşılacağı üzere TZP, SCF, LEV ve hatta IPM ve MEM için saptadığımız direnç oranları hem yurt içi bildirimlere hemde yurt dışı bildirim oranlarının ortalamalarının sınırında yer almaktadır. Hatta CAZ için saptadığımız direnç oranı bu ortalamaların üstündedir. Bu sonuçlar bulunduğumuz coğrafik bölgede dirençli *P. aeruginosa* suşlarının fazla oluşunu işaret etmektedir. Hastanemizde CAZ için bu kadar yüksek direnç çıkmasını *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında ampirik tedavide CAZ'ın seçiliyor olmasının etkili olabileceği düşüncesindeyiz. Yine FEB, AK ve CIP için saptadığımız direnç oranı bu ortalamalara göre makul sayılabilecek direnç yüzdesine sahiptir. Ayrıca CN için saptadığımız direnç oranı bu ortalamaların altında kalarak dikkat çekmiştir.

Bu konuda çok değişik sonuçların bildirilmiş olması, hastanelerin sürekli kendi direnç durumlarını saptamalarının ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalara göre suşların antibiyotiklere direnç oranları coğrafik bölgelere, hastaneden hastaneye hatta bölümlere göre bile değişebilmektedir. Bu farklılıkların nedeni her zaman açıklanamasa da ülkeler veya hastanelerin antibiyotik kullanım politikaları, enfeksiyon kontrol önlemleri gibi faktörlerden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Gales ve ark.; 2001).

Aynı hastanede yıllar içinde büyük direnç değişiklikleri olabilmektedir. Buna örnek olarak *P. aeruginosa*'nın antibiyotiklere direnç oranları hastanemizde 2005 yılları arasında Çiftci ve ark.'nın yaptığı çalışmadaki antibiyotik direnç oranlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu değerli ve bizi uyarıcı veri son yıllarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının enfeksiyon kontrol komiteleri tarafından titizlikle takip edilmemesine ve hastanede kolonize olan suşların değişimine bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 4.5. Hastanemizde 2005 ve 2011 yıllarında *P.aeruginosa* İçin Yapılan İki Araştırmanın Antibiyotik Direnç Sonuçları.

Antibiyotikler	Dirençli		Dirençli	
	n	%	n	%
	Çiftci ve ark. (2005)		Bu Çalışma (2011)	
AK	14	14	25	11,5
CN	48	47	22	10,1
CIP	29	29	37	17
MEM	14	14	74	33,9
IPM	15	15	67	30,7
FEP	19	19	105	48,2
CAZ	23	23	205	94

Yukarıdaki tabloda da görüldüğü gibi AK, CN ve CIP için direnç oranları azalmıştır. Bu durumun söz konusu ilaçların *P. aeruginosa* enfeksiyonları için ilk seçenek olmaması nedeni ile gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Fakat bu durum IPM, MEM, FEP için geçerli değildir.

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde, geniş etki spektrumu elde etmek, direnç gelişimi azaltmak ve farklı gruptan antibiyotiklerle sinerji elde etmek için yapılan kombinasyonlarda aminoglikozidlerin kombine tedavinin bir parçası olarak kullanılmasının faydaları bilinmektedir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda CN'e karşı % 14-65, AK'e karşı % 2-% 43 civarında direnç geliştiği görülmektedir (Tablo 4.4). Çalışmamızda 2005 yılından bu yana CN ve AK direncinde düşme gözlenmiştir. AK direncinin düşük olmasının nedeni hastanemizde diğer antibiyotiklere göre daha az kullanımına bağlı olabilir.

P. aeruginosa suşlarının, kinolonlara özellikle CIP'e yüksek oranda duyarlı olduğu, ancak ilerleyen yıllarda sık kullanımla ilişkili olarak bu gruba karşı hızla direnç geliştiği bilinmektedir. Yurt içinde yapılan çalışmalarda CIP direncinin % 7-40 arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 4.4). Hastanemizde 2005 yılından bu yana CIP'e dirençli suşların

oranında azalma gözlenmiştir. Bu durumun özellikle *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak karşılaşılan Gram negatif bakterilerde CIP direncinin artması ve ampirik kullanımının sınırlandırılması ile ilişkili olduğu düşüncesindeyiz.

Karbapenemler bilinen en geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerden olmakla beraber son zamanlarda çeşitli mekanizmalar ile karbapenemlere de direnç kazanılmaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda %3-49 oranlarında direnç geliştiği görülmektedir (Tablo 4.4). Yöremizde IPM'e dirençli suşların oranı 2005 yılında %15 iken 2011 yılında bu oran %30,7'e yükselmiştir. Benzer MEM'e dirençli suşların oranında %14'den %33,9'a yükselmiştir. Karbapenemlerin *P. aeruginosa* dahil pek çok enfeksiyon etkenine karşı etkili olduğunun bilinmesi ve bu grupta yer alan ajanların kontrolsüz kullanımının dirençte artışa neden olduğu görüşündeyiz. Söz konusu karbapenem grubu antibiyotiklerin hastanemiz kullanım politikalarının enfeksiyon kontrol komitesi tarafından gözden geçirilmesi gerekmektedir. Ayrıca alınacak önlemlerle hastanede kolonize olan dirençli suşların ortamdaki uzaklaştırılmasına çalışılmalıdır.

Sefalosporinlerin duyarlılık oranlarında da iki çalışma arasında ciddi bir azalma söz konusudur. Ancak 1997-2004 yılları arasında MYSTIC grubunun yaptığı çalışmada *P. aeruginosa* suşlarında CAZ'a %16-50 oranında direnç geliştiği bildirilmiştir. Aynı dönemde Çiftçi ve ark. tarafından hastanemizde gerçekleştirilen çalışmada da benzer oranlar verilmektedir. Ancak son bulgularımız CAZ için durumun çokta iç açıcı olmadığını göstermektedir. Zira dirençli *P. aeruginosa* suşların oranı %94'e kadar yükselmiştir. Durumun acil olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Hastanelerde operasyonlar öncesi profilaktik amaçlı III. kuşak sefalosporin kullanım alışkanlığı tüm uyarılara ve eğitimlere rağmen özellikle cerrahi servislerinde oldukça sık karşılaşılan bir durumdur. Direnç oranındaki bu artışın söz konusu antibiyotik kullanımının profilaktik kullanımı ile ilişkisi araştırılmalı ve konunun çözümü için eğitim programları düzenlenmelidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, antibiyotik duyarlılığının bölgeler, hastaneler, servisler arasında ve hatta aynı birimde yıldan yıla değişebileceği unutulmamalı ve direnç durumu sürekli izlenmelidir.

Ampirik tedavi seçiminde bu verilerden yararlanılmalı, ampirik olarak başlanan tedavi antibiyogram sonucuna göre yeniden gözden geçirilmelidir.

P. aeruginosa ile oluşan enfeksiyonlarda tedavi sırasında direnç gelişebileceği düşünülerek kültür ve antibiyogramlar tedavi sırasında tekrarlanmalı, bu durum mikrobiyoloji laboratuvarları ile eşgüdüm içinde mutlaka değerlendirilmelidir.

P. aeruginosa hastane enfeksiyonlarında sık rastlanan, kullanılan antimikrobiyallere hızla direnç geliştirebilen ve bu direnci aktarabilen bir bakteridir. Tedavide önemli bir seçenek olan karbapenemleri de içine alan antimikrobiyal direnç ve çoklu direnç paternleri nedeniyle bir *P. aeruginosa* suşunun hangi antibiyotiklere duyarlı olabileceğini kestirmek zordur. Bu yüzden kombine tedaviler düşünülmelidir.

Antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı hastane enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmaların bu ajanlara karşı direnç gelişimini hızlandırmaktadır. Bu nedenle hastanelerin kendi tedavi protokollerini belirlemelidir.

Akılcı antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulması ile uygun antibiyotik ya da antibiyotiklerin kullanılması ve hastaların sağlığına kavuşması ile iş gücü kaybını önleyerek ekonomiye katkı sağlayacaktır.

Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen sonuçların özellikle laboratuvar olanaklarının sınırlı olduğu ilimiz ve ilçelerinde sağlık hizmeti veren hekimlere yararlı ve yol gösterici olacağı inancındayız.

ÖZET

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Direnci

P. aeruginosa hastane infeksiyonuna neden olan önemli bir etkidir ve çoklu direnç gösteren izolat sıklığı giderek artmaktadır. Çalışmamızın amacı, klinik örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direncinin belirlenmesidir.

Yapmış olduğumuz çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde çeşitli servislerden gelen örneklerden Ocak 2010 ve Eylül 2011 tarihleri arasında izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnç durumları incelenmiştir. Bakterilerin izolasyonu için konvansiyonel biyokimyasal test prosedürleri kullanılmıştır. Tüm izolatların antimikrobiyal direnç durumları CLSI önerilerine uygun olarak Mueller-Hinton besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle ve VITEK 2 Compact ile değerlendirilmiştir.

Toplam 218 *P. aeruginosa* suşu idrar, balgam, trakeal aspirat, kateter, yara yeri ve diğer örneklerden izole edilmiştir. İncelenen suşların direnç oranları aşağıdaki gibidir; Amikasin %11,5, Gentamisin %10,1, Siprofloksasin %17, Levofloksasin %37,6, Meropenem %33,9, İmipenem %30,7, Seftriakson %95,9, Sefotaksim %96,8, Seftazidim %95, Sefoprerazon/Sulbactam %87,6, Piperasilin/Tazobaktam %86,7, Sefepim %48,2 ve Tetrasiklin %95. Suşların 186'ında(%85.3) indüklenebilir betalaktamaz aktivitesi kullanılan yöntem ile gösterilmiştir.

Bu direnç oranlarının, önceki yıllara göre gösterdiği değişim, en uygun tedaviyi planlamak ve dirençli suşların seleksiyonunu önlemek için antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçları mutlaka göz önünde bulundurulması gerektiğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler : *P. aeruginosa*, antibiyotik direnci.

SUMMARY

Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Clinical Specimens

P. aeruginosa is an important nosocomial pathogen and the prevalence of multiple resistant isolates has been increased. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance of *P. aeruginosa* strains isolated from clinical specimens.

In this study, the resistance rates of *P. aeruginosa* strains to various antibiotics isolated from specimens from various wards of Afyon Kocatepe University Medicine School Hospital, between January 2010 and September 2011, was examined. For the isolation of bacteria, conventional biochemical procedures were applied. Antimicrobial resistance tests of all isolates have been performed by disk diffusion method in Mueller-Hinton agar and VITEK 2 Compact, according to recommendations of Clinical Laboratory Standards Institute.

A total of 218 *P. aeruginosa* were isolated from urine, sputum, wound, blood catheter, tracheal aspiration and from other samples. The resistance rates of these strains were as follows; 11,5% to Amikacin, 10,1% to Gentamicin, 17% to Ciprofloxacin, 37,6% to Levofloxacin, 33,9% to Meropenem, 30,7% to Imipenem, 95,9% to Ceftriaxone, 96,8% to Cefotaxime, 95% to Ceftazidime, 86,7% Piperacillin/tazobactam, 48,2% to Cefepime, 48,2% Sefoprerazon / Sulbactam and 95 % tetracycline. The presence of inducible beta-lactamases in 186(85.3%) strains have been shown by the method used.

In accordance to this changing antibiotic resistance data to determine according to time schedule, indicated that antibiotic susceptibility results were considered for selecting optimal antibiotic therapy and prevent the selection of resistance isolates.

Keywords : *P. aeruginosa*, antibiotic resistance.

KAYNAKÇA

- AIRES, J. R., T. KOHLER, H. NIKAIDO ve P. PIESIAT (1999). Involvement of and active efflux systems in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **43**: 2624-2628.
- AKTAŞ E., H. A. TERZİ, C. KÜLAH, F. CÖMERT (2010). *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirmesi: Çeşitli antibiyotiklere azalan duyarlılık. *ANKEM Derg.* **24**:188-192.
- AMBLER, R. P (1980). The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **289**: 321-331.
- ARAKAWA Y, MURAKAMI M, SUZUKI K, ITO H, WACHAROTAYANKUN R, OHSUKA S, KATO N AND OHTA M. (1995). A novel integron-like element carrying the metallo- β -lactamase gene blaIMP. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**: 1612–1615.
- AYYILDIZ A, KOCAZEYBEK B, ARITÜRK S. (2002). Değişik klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg* **16**: 1-3.
- BAL Ç (2003). Beta laktamazlar: güncel durum. *Flora.* **8**:111-23.
- BİLGEHAN H: (2004). Klinik Mikrobiyoloji Tanı. Barış Yayınları, İzmir, 4. baskı:466 467.
- BERGAGNE E. (2004). *Pseudomonas* and miscellaneous gram negative bacilli. In: Colman J, Powerdyly GW eds. *Infectious Diseases*. Second ed., Toronto, 1733-1748.
- BONFIGLIO G., CARCIOTTO V., RUSSO G, STEFANI S., SCHITO G. C., DEBBIA E., NICOLETTI G. (1998). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* an Italian survey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **41**, 307-310.
- BONFIGLIO G, RUSSO G, NICOLETTI G. (2002). Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs.* **11**: 529-44.49.
- BORRIELLO, G., E. WEMER, F. ROE, A. M. KIM, G. D. EHRLICH ve P. S. STEWART (2004). Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **48**: 2659-2664.
- BRADFORD P.A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21 st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbial Rev*; **14**: 933-51.
- BUSH K, JACOBY G A, MEDEIROS A A. (1995). A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* **39**:1211-33.
- CORNAGLIA G, MAZZARIOL A, FONTANA R (2000). The astonishing complexity of antibiotics resistance. *Clin Microbial Infect*, 6:93–94.
- COVALLO J.I R. FABRE, F. LEBLANC, M. H. NICOLAS-CHANOINE ve THABAUT. (2000) Antibiotic susceptibility and mechanism of beta-laktam resistance in 1310 strains of *Pseudomonas aeruginosa*; a French multicentre study (1996). *J. Antimicrob. Chemother.* **46**:133-136.
- CUNHA B A (2000). Antibiotic resistance. Antibiotic therapy, Part I. *Medical Clinics of North America*, 84: 1407-29.
- DANIEL J. WOZNIAK AND DENNIS E. OHMAN (1991). *Pseudomonas aeruginosa* AlgB, a Two-Component Response Regulator of the NtrC Family, Is Required for algD Transcription *Journal of Bacteriology.* 1406-1413.
- DAVİD T.K, GERALD E.W, (1992). (Çeviri: Serter D.): Mikrobiyoloji. Saray Tıp Kitabevleri, İzmir, 2. baskı:127-128,

- DOCQUIER J D, LAMOTTE-BRASSEUR J, GALLENİ M G, AMICOSANTE J, FRERE AND ROSSOLINI G M.(2003). On functional and structural heterogeneity of VIM-type metallo- β -lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**: 257–66.
- DREENKARD, E. ve F. M. AUSUBEL (2002). *Pseudomonas* biyofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature.* **416**: 740-743.
- DÜNDAR D., G. SÖNMEZ TAMER (2009). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: üç yıllık değerlendirme. *ANKEM Derg.* **23**:17-21.
- ELDERE V. J.(2003). Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **51**:347-352.
- EYİĞÖR M., M. TELLİ, Y. TIRYAKİ, Y. OKULU, N. AYDIN (2009). Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* **23**:101-105.
- FOWERAKER, J. E., C. R. LAUGHTON, D. F. BROWN ve D. BILTON (2005). Phenotypic variability of *Pseudomonas aeruginosa* in sputa from patients with acute infective exacerbation of cystic fibrosis and its impact on the validity of antimicrobial susceptibility testing. *J. Antimicrob. Chemother.* **55**: 921-927.
- GALES AC, JONES RN, TURNİDGE J, RENNİE R, RAMPHAL R. (2001). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: Occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, *Clin Infect Dis.* **32**:146-55.
- GARAU G., BEBRONE C, ANNE C, GALLENİ M, FRERE J M AND DİDEBERG O. A. (2005). Metallo- β -lactamase enzyme in action: Crystal structures of the monozinc carbapenemase CphA and its complex with biapenem. *J. Mol. Biol.* **345**: 785-95.
- GENCER S., AK O., BENZONANA N., BAT A., ÖZER S.(2002). Susceptibility patterns and cross resistances of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* in a teaching hospital of Turkey. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* **1**:2.
- GILBERT, D. N., S. J. KOHLHELPP, K. A. SLAMA, G. GRUNKEMEIER, G. LEWIS, R. J. DWORKING, S.E. SLAUGHTER ve J. E. LEGGET. (2001). Phenotypic resistance of *Staphylococcus aerus*, selected Enterobacteriaceae, and *Pseudomonas aeruginosa* after single and multiple in vitro exposures to ciprofloksasin, levofloksasin, and triovfloksasin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**:883-892.
- GIUSEPPE C, AKOVA M, AMICOSANTE G, CAUDA R. (2007). Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **29**: 380-88.
- GOOSSENS, H. (2003). Susceptibility of multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: results from the European MYSTIC study group. *Clin. Microbiol. Infect.* **9**: 980-983.
- GÜNEY M., O. BEDİR, A. KILIÇ, A. C. BAŞUSTAOĞLU (2011). GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında hemokültür örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları. *Gülhane Tıp Derg.* **53**: 119-122
- GÜNEY M., O. BEDİR, A. KILIÇ, A. C. BAŞUSTAOĞLU.(2011). *Gülhane Tıp Derg.* **53**: 119-122.
- GÜR D. (1996). Beta-laktamazların sınıflandırılması. *Flora Dergisi* **1**:80–86.
- HANCOCK REW (1989). Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Disease* **27**:93-94.
- HASSETT, D. J., J. CUPPOLETRI, B. TRAPNELL, S. V. LYMAR, J. J. ROWE, S. S. YOON, G. M. HILLIARD, K. PARVATIVAR, M. C. KAMANI, D. J. WOZNIK, S. H. HWANG, T. R. MCDERMOTT ve U. A. OCHSNER (2002). Anaerobic metabolism and quorum sensing by *Pseudomonas aeruginosa* biyofilms in chronically infected cystic fibrosis airways: rethinking antibiotic-treatment strategies and drug targets. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **54**: 1425-1443.

- HAMZE M., DABBOUSI F., IZARD D. (2004). A 4 year study of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to antibiotics (1998-2001) in northern Lebanon. *Med Mal Infect.* Jul;**34**:321-401.
- HENTZER, M. G. M. TEITZEL, G. J. BALZER, A. HEYDOM, S. MOLIN, M. GIVSKOV ve M. R. PARSEK (2001). Alginate over production affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J. Bacteriol.* **183**: 5593-5401.
- JACOBY, G. A. ve L. S. MUNOZ-PRICE (2005). The new beta-lactamases. *N. Engl. J. Med*: 380-391.
- JALAL, S., O. CIOFU, N. HOIBY, N. GOTOH ve B. WRETLIND (2000). Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**: 710-712
- KALEM F., N. S. GÜNDEM, B. FEYZİOĞLU, U. ARSLAN, İ. TUNCER (2008). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg.* **22**:123-126.
- KİREÇCİ E., İ. SEVİNÇ (2008). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* **22**:209-212.
- KOHLER T (1999). Michea-Hamzehirpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother.* **43**: 424-7.
- KOHLER, T, M. MICHEAL-HAMZEHPOUR, S. F. EPP ve J.C. PECHERE (1999). Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contribution of OprD and efflux systems. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**: 424-427.
- KONEMAN ELMER W., WINN WASHINGTON C. ALLEN STEPHEN D., JANDA WILLIAM M. PROCOP GARY W., SCHRECKENBERGER PAUL C., WOODS GAIL C. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lipincott Wiliams &Wilkins.
- LAURETTI L, RICCIO M L, MAZZARIOL A, CORNAGLIA G, AMICOSANTE G, FONTANA R. (1998). Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**: 1584-90.
- LEE EH, NİCOLAS MH, KITZIS MD, et al (1991). Association of two resistance mechanisms in a clinical isolate of Enterobacter cloacae with high-level resistance to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* **35**:1093-8.
- LEE K, LEE W G, UH Y, HA G Y, CHO J AND CHONG Y. (2003). VIM- and IMP-type metallo- β - lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg. Infect. Dis.* **9**: 868-71.
- LI J., J. TUMIDGE, R. MILNE, R. L. NATION, ve K. COULTHARD (2001). In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**: 781-785.
- LI J., R. L. NATION, R. W. MILNE, J. D. TUMIDGE ve K. COULTHARD (2005). Evolution of colistin as an agent against multi-resistant Gram negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **25**: 11-25.
- LI X. Z. ve H. NIKAIDO (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs.* **64**: 159-204.
- LI, X. Z. ve H. NIKAIDO (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs* **64**: 159-204.
- LIVENORE D M. (1987). Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in gram negative rods. *Eur. J. Clin. Microbiol.* **6**:439-445.
- LIVENORE D M. (1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbial Rev.* **8**: 557-84.
- LIVENORE D M. (2002). Multiple mechanism of antimicrobial resistance in *P. aeruginosa*: our worst ? *Clin. Infect. Dis.* **34**:634-640.
- LIVENORE DM. (1991). Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis.:* 7-16.

- LOMBARDI G, LUZZARO F, DOCQUIER J D, RICCIO M L, PERILLI M, COLI A, AMICOSANTE G, ROSSOLINI G M AND TONIOLO A. (2002). Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- β -lactamase. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 4051-55.
- MARTINEZ C. F., RUIZ B. P. MANAS M. P., (2003). Current status of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotic. *Sociedad Espanola de Quimioterapia* 450-452.
- MACLEOD, D. L., L. E. NELSON, R. M. SHAWAR, B. B. LIN, L. G. LOCKWOOD. J. E. DIRK, G. H. MILLER, J. L. BURNS ve R. L. GARBER (2000). Aminoglycoside-resistance mechanisms for ciystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* isolates are unchanged by long-term, intermittent. *J. Infect. Dis.* **181**: 1180-1184.
- MAH, T. F., B. PITTS, B. PELLOCK, G. C. WALKER, P. S. STEWART ve G. A. OTOOLE (2003). A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biyofilm antibiotic resistance. *Nature* **426**: 306-310.
- MALOUIN F, BRYAN LE. (1986). Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of beta-lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* **30**:1-5.
- MASSIDDA O, ROSSOLINI G M AND SATTA G. (1991). The Aeromonas hydrophila cphA gene: molecular heterogeneity among class B metallo- β -lactamases. *J. Bacteriol.* **173**: 4611-17.
- MAYER K H, OPAL J M, MEDEIROS A A. (1994). Mechanisms of antobitic resistance. Mandell, Bennet T, Dolin (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, **13**:1015- 18.
- MILLER G. H. E J. SABATELLI, R. S. HARE, Y. GLUPCZYNSKI, P. MACKEY, D. SHIAES, K. SHIMIZU ve K. J. SHAW (1997). The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-changes with time end geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside resistance study gruops. *Clin. Inf. Dis.* **24**: 46-62.
- MINAMI S, AKAMA M, ARAKI H, et al (1996). Imipenem and cephem resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying plasmids coding for class B beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother.* **37**:433-4.
- NAAS, T. ve P. NORDMANN. 1999. OXA- type beta-lactameses. *Curr. Pharm. Des.* **5**: 865-879.
- NIKAIDO, H. (1996). Multidrug efflux pumps of gram negative bacteria. *J.Bacteriol.* **178**:5853-5859.
- NORDMANN P, POIREL L (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect.* **8**:321-33.
- OBRITSCH, M. D., D. N. FISH, R. MACLAREN ve R. JUNG (2004). National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patienrs from 1993 to 2002. *Antimicrob. Agents Chemotter.* **48**: 4606-4610.
- OGLE J. W., JANDA, D. E. WOODS ve M.L. VASIL (1987). Characterization and use of a DNA probe as an epidemiological maker of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Infect. Dis.* **155**:119-126.
- OH E. J, LEE S, PARK Y J, PARK J J, PARK K, KIM S I, KANG M W AND KIM B K. (2003). Prevalence of metallo- β -lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean university hospital and comparison of screening methods for detecting metallo- β -lactamase. *J. Microbiol. Methods,* **54**: 411-18.
- OPAL S M, MEDEİROS A A. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. IN: MANDELL G L, BENNETT J E, DOLIN R (eds). (2005). Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 253-70.
- OSANO E, ARAKAWA Y, WACHAROTAYANKUN R, OHTA M, HORII T, ITO H, F. YOSHIMURA AND KATO N. (1994). Molecular characterization of an enterobacterial metallo- β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**: 71-78.
- ÖZDEMİR M., İ. ERAYMAN, H. T. DAĞI, M. BAYKAN, B. BAYSAL (2009). Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* **23**:122-126.

- ÖZSOY M, ÖNCÜL O, YILDIRIM A, PAHSA A (2001). Genişletilmiş-spektrumlu betalaktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora*. **6**:3-23.
- ÖZTÜRK C. E., E. ÇALIŞKAN, İ. ŞAHİN (2011). *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve Metallo-Beta-Laktamaz sıklığı. *ANKEM Derg.* **25**:42-47.
- ÖZTÜRK C. E., H. T. ALBAYRAK, A. ALTINÖZ, H. ANKARALI (2010). *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotiklere direnç ve beta-laktamaz oranları. *ANKEM Derg.* **24**:117-123.
- ÖZYURT M., T. HAZNEDAROĞLU, O. BAYLAN, T. HOŞBUL, N. ARDIÇ, B. BEKTÖRE (2010). Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas* izolatlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg.* **24**:124-129.
- PAKÖZ N. İ. E., ŞERİBAN D. S., ARAL M. (2011). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2011;**25**(2):73-78.
- PAI, H., J. KIRN, J. H. LEE, K. W. CHOE ve N. GOTOH (2001). Carbapenem resistance mechanism in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob. Agents. Chemotter.* **45**: 480-484.
- PATRICIA A. (2001). Bradford, Phd. What's new in β -lactamases? *Current Infectious Disease Reports*. 3:13-19.
- PAYNE D J, CRAMP R, BATESON J H, NEALE J AND KNOWLES D. (1994). Rapid identification of metallo- and serine β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**: 991-96.
- PIER G.B, RAMPHAL R. (2005). *Pseudomonas aeruginosa*, In: Mandell G.L., Bennet J.E., Dolin R. eds. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone.2587-615.
- POIREL, L. G. F. WELDHAGEN, T. NAAS, C. DE CHAMPS, M. G. DOVE. ve P. NORDMANN (2001). GES-2, a class A beta lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob. Agents Chemotter.* **45**: 2598-2603.
- POOLE, K (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemotter.* **49**: 479-487.
- RASMUSSEN B A, BUSH K. (1997). Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **41**: 223-32.
- RICCIO ML, FRANCESHINI N, BOSCHI L (2000). Characterization of the metallo-betalactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of blaIMP allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob Agents Chemother.* **44**: 1229-35.
- RIBHI M. SHAWAR., DAVID L. MACLEOD., RICHARD L. GARBER., JANE L. BURNS., JENNY R. STAPP., CARLA L. CLAUSEN., S. K. TANAKA. (1999). Activities of Tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2877-2880.
- SADER, H. S., M. CASTANHEIRA, R.E.MENDES, M. TOLEMAN, T. R. WALSH ve R. N. JONES (2005). Dissemination and diverst of metallo-beta-lactamases in Latin Amerika'da: report from the SENTRY Antimicrobial surveillance program. *Int. J. Antimicrob. Agents* **25**: 57-61.
- SARI H. (2005). Karbapenemlere dirençli Gram negatif basil izolatlarında İmipenem-EDTA/Meropenem-EDTA disk yöntemi ve Modifiye Hodge Testi ile Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) varlığının araştırılması. Uzmanlık Tezi.
- SHIH, P. C. ve C. T. HUANG (2002). Effects of quorum sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemotter.* **49**: 309-314.
- SPOERING, A. L. ve K. LEWIS (2001). Biyofilms and planktonic ceels of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J. Bacteriol.* **183**: 6746-6751.
- SPRATT BG. (1989). Resistance to beta-lactam antibiotics mediated by alterations ofpenicillinbinding proteins. In: Bryan LE (Ed.). Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin: Springer-Verlag, 77-100.

- STEWART, P. S. ve J. W. COSTERTON (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* **358**: 135-138.
- STURENBURG, E. ve D. MACK. 2003. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J. Infect.* **47**: 273-295.
- SZCZEPANOWSKI, R., I. KRAHN, B. LINKE, A. GOESMAN, A. PUHLER ve A. SCHLUTER (2004). Antibiotic multi-resistance plasmid pRSBIO isolated from a wastewater treatment plant is related to plasmids residing in phytopathogenic bacteria and carries eight different resistance determinants including a multidrug transport systems. *Microbiology* **150**: 3613-3630.
- ŞİMŞEK E. (1993). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi Ltd Sti, Ankara, 2. baskı s:268-271.
- TETİK T. (2008). Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzole Edilen Gram Negatif Nonfermenter Bakterilerde Metallo Beta Laktamaz Enzim Aktivitesinin Araştırılması. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi.
- TIMOTHY R, WALSH T, MARK A, TOLEMAN M. LAURENT POIREL AND PATRICE NORDMANN. (2005). Metallo- β -Lactamases: the Quiet before the Storm? *Clin. Microbiol. Rev.* **18**: 306-25.
- TOLEMAN M A, BİEDENBACH D, BENNETT D, JONES R N AND WALSH T R. (2003). Genetic characterization of a novel metallo- β -lactamase gene, blaIMP-13, harboured by a novel Tn5051-type transposon disseminating carbapenemase genes in Europe: report from the SENTRY worldwide antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**: 583-90.
- TROILLET, N., M. H. SAMORE ve Y. CARMELI (1997). Imipenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. *Clin. Infect. Dis.* **25**: 1094-1098.
- TUNÇOĞLU E., G. YENİŞEHİRLİ, Y. BULUT (2009). Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg.* **23**:54-58.
- TÜRK DAĞI H., ARSLAN U, FINDIK D, TUNCER İ. (2011). Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *ANKEM Derg* 2011;**25**(2):107-110
- USLUER G. (2002). Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol. *Flora*, **7**: 135.
- USTAÇELEBİ Ş. (1999). *Pseudomonaslar*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. ed. Güneş Kitabevi, Ankara, 551-558.
- ÜSTÜN C. (2010). Hastane kökenli karbapenem dirençli ve duyarlı *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. *ANKEM Derg.* **24**:1-6.
- WANG, M., J. H. TRAN, G. A. JACOBY, Y. ZHANG, F. WANG ve D. C. HOOPER. 2003. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**:2242-2248.
- WATANABE M, IYOBE S, INOUE M AND MITSUHASHI S. (1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**: 147-51.
- WELDHAGEN, G. E. L. POIREL ve P. NORDMANN (2003). Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**: 2385-2392.
- YANA J J, WUB J J, TSAIA T S, CHUANG L C. (2004). Comparison of the double-disk, combined disk, and Etest methods for detecting metallo β lactamases in gram-negative bacilli. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* **49**: 5-11.
- YANO H, KUGA A, OKAMOTO R, KITASATO H, KOBAYASHI T AND INOUE M. (2001). Plasmid encoded metallo- β -lactamase (IMP-6) conferring resistance to carbapenems, especially meropenem. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**: 1343-48.
- YÜCE A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi.* **14** (2): 42-46.

YÜCESOY M, YULUG N, KOCAGÖZ S, UNAL S, ÇETİN S, ÇALANGU S. (2000). Antimicrobial resistance of gramnegative isolates from intensive care units in Turkey: comparison to previous three years. *J Chemother.* **12** :294-98.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez> Erişim Tarihi; 10.10.2011