

# Hastane İnfeksiyonu Etkeni *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Seftazidime Duyarlılığın E-Test ve Disk Diffüzyon Yöntemleri İle Araştırılması

Mustafa GÜL(\*), Ayfer ŞENSOY(\*\*), Birsen ÇETİN(\*\*), Fatma KORKMAZ(\*\*), Engin SEBER(\*\*)

(\* ) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş  
(\*\* ) Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

## ÖZET

Hastane infeksiyonlarının en sık rastlanan etkenlerinden olan *Pseudomonas aeruginosa* antibiyotiklere dirençli olması nedeni ile önemli sorun oluşturmaktadır. Bu çalışmada, hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının antipseudomonal etkili bir antibiyotik olan seftazidime karşı duyarlılıkları, Kirby-Bauer disk diffüzyon ve E-test (Epsilometer-test) yöntemleri ile araştırılmıştır. Çalışmada incelenen 71 *P.aeruginosa* suşunun 30'u (%42.2) idrar, 27'si (%38) yara-abse, 12'si (%16.3) trakeal aspirat, biri (%1.4) plevra mayii, biri (%1.4) asit mayiinden izole edilmiştir. Suşların disk diffüzyon yöntemine göre %42.3 'ü, E-test yöntemine göre %50.7'si seftazidime duyarlı olarak saptanmıştır.

İki test arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüş ( $p<0.001$ ) ve seftazidime duyarlılığının saptanmasında, E-test yöntemi disk diffüzyon yöntemine göre daha duyarlı bulunmuştur. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu hastane infeksiyonlarının ampirik tedavisinde seftazidimin ilk seçenek antibiyotik olarak kullanılmasının yerine, duyarlılık test sonucuna göre kullanılmasının daha yararlı olacağı bir kez daha belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*, hastane infeksiyonu, seftazidim duyarlılığı, disk diffüzyon yöntemi, E-test.

## SUMMARY

**Investigation of Susceptibility of Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* Strains against Ceftazidime by E-Test and Disc Diffusion Method**

*Pseudomonas aeruginosa*, mostly seen in nosocomial infections, causes important problems due to antibiotic resistance. In this study, susceptibility of nosocomial *P.aeruginosa* strains against ceftazidime, an antipseudomonal antibiotic, was investigated by Kirby-Bauer disc diffusion and E-test methods. Of the 71 *P.aeruginosa* strains 30 (42.2 %) strains were isolated from urine, 27 (38 %) from wound-abscess, 12 (16.3 %) from tracheal aspirates, 1 (1.4 %) from pleural fluids, 1 (1.4 %) from acid fluids. 42.3 % of the strains were sensitive to ceftazidime by disc diffusion method and 50.7 % by E-test method.

The difference between two methods was statistically significant ( $p<0.001$ ) and E-test method was found to be more sensitive than disc diffusion method in the detection of ceftazidime susceptibility. In the empirical treatment of nosocomial *P. aeruginosa* infections, the use of ceftazidime should be based on the susceptibility test rather than its use as a first choice antibiotic.

**Key Words:** *Pseudomonas aeruginosa*, nosocomial infection, ceftazidime, disc diffusion method, E-test

## GİRİŞ

*Pseudomonas* cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunmakta, fırsatçı infeksiyonlar ve hastane infeksiyonlarına yol açmaktadır. Bunlardan *P. aeruginosa* hastane infeksiyonu etkenleri içinde ilk sıralarda yer almakta, çeşitli antibiyotiklere direnç geliştirebilmekte ve oluşturduğu infeksiyonlara bağlı yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır (1,2). Hastane infeksiyonlarının %10-25'inden *P. aeruginosa* sorumlu tutulmaktadır (3,4).

*P. aeruginosa* genellikle çoklu antibiyotik direnci gösterebildiğinden tedavilerde de sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle kullanımda olan antibiyotiklere karşı duyarlılığın izlenmesi gerekmektedir. Seftazidim Gram pozitif ve negatif bakterilerce üretilebilen ve klinik açıdan önemli olan beta-laktamazlara karşı yüksek derecede dirençli olan antipseudomonal bir üçüncü kuşak sefalosporindir (5). *P.aeruginosa* infeksiyonlarının kombine tedavisinde öncelikle tercih edilen ajanlardan olup ampirik tedavilerde de kullanılmaktadır.

Bu çalışmada hastane infeksiyonu etkeni olarak izole

İletişim : Mustafa Gül  
e-posta mustafagultr@yahoo.com

edilen *P.aeruginosa* suşlarının seftazidime duyarlılıkları E-test ve disk diffüzyon yöntemleri ile araştırılmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Centers for Disease Control (CDC) kriterlerine (4) göre tanımlanan hastane infeksiyonlarından izole edilen 71 *P.aeruginosa* suşu incelenmiştir. Hastane infeksiyonuna yol açan suş ile kolonizasyon ayrımı yapılmış ve çalışmaya her hastaya ait tek bir örnek alınmıştır. Suşların tanımlanması, Gram boyama, oksidaz reaksiyonu, karbonhidrat oksidasyonu, Mueller Hinton besiyerinde pigment oluşturma özelliklerine bakılarak yapılmış, gerektiğinde API NE (Biomerieux Fransa) kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları, disk diffüzyon yöntemi ile NCCLS standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Besiyeri olarak Müller-Hinton agar kullanılmış ve antibiyotik diskleri Difco'dan sağlanmıştır. E-test yönteminde ise, besiyeri olarak PDM Antibiotic Sensitivity Test Medium (AB Biodisk. İsveç) üzerine 0.5 Mc Farland'a ayarlanmış bakteri süspansiyonundan ekim yapıldıktan sonra seftazidim sribi (AB Biodisc, İsveç) yerleştirilmiştir. 35°C de 16-18 saatlik inkübasyon sonucunda Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri NCCLS standartlarına uygun olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntem ile suşların %50'sini ve % 90'ını inhibe eden MİK değerleri MİK50 ve MİK90 olarak kabul edilmiştir.

Kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır ve istatistiksel analiz student t testi ile yapılmıştır.

## BULGULAR

İncelenen 71 suşun %60.5'i yoğun bakım ünitelerinden, %39.4'ü de servis hastalarından izole edilmiştir. Suşların çoğunluğu idrar (%42.2) ve yara-apseden (%38) izole edilmiş olup %16.9'u trakeal aspirat, %1.4'ü plevral mayii, %1.4'ü asid mayii örneklerinden izole edilmişlerdir. Seftazidim'in incelenen *P. aeruginosa* suşları için MİK50 değeri 8µg/ml ve MİK90 değeri 256 µg/ml, MİK aralığı 0.016-256 µg/ml'dir. *P.aeruginosa* suşlarının, disk diffüzyon yöntemi ile %42.3'ü, E-test yöntemi ile

%50.7'si seftazidime duyarlı bulunmuştur. Duyarlılık açısından iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (p<0.001). Disk diffüzyon ve E-test ile saptanan seftazidime duyarlılık yüzdeleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. *P.aeruginosa* suşlarının disk diffüzyon ve E-test yöntemi ile seftazidime duyarlılık sonuçları**

Testler	Duyarlılık		Orta Duyarlılık		Dirençlilik	
	%	n	%	n	%	n
Disk Diffüzyon	42.3	30	7	5	50.7	36
E-Test	50.7	36	-	-	49.3	35

## TARTIŞMA

*P.aeruginosa*, immun yetmezliği olanlarda, uzun süre kemoterapi veya radyoterapi alanlarda, metabolik veya malign hastalığı olanlarda, yaşlılarda, ağır yanıklı kişilerde meydana gelen infeksiyonların sık karşılaşılan etkenidir, özellikle hastane infeksiyonlarına yol açan patojenlerin başında yer almakta ve lokalize yaradan, pnömoni ve menenjitte kadar geniş bir hastalık tablosuna neden olmaktadır (6,7). *P.aeruginosa*'nın etken olduğu infeksiyonların tedavileri de gün geçtikçe zorlaşmaktadır. Dirençli suşların çoğalması, birden fazla direnç paternlerinin olması ve tedavi sırasında direnç geliştirebilme özellikleri bu bakterilere belirli bir tedavi uygulanmasını engellemektedir (8).

*P.aeruginosa* suşlarında beta-laktam antibiyotiklere direnç, sıklıkla beta-laktamaz enzimlerine bağlıdır. Beta-laktam antibiyotiklerle karşılaşan bakterinin beta-laktamaz sentezi induksiyona bağlı olarak artar, antibiyotiğin inaktive edilmesi ile induksiyon durur (3,9). Seftazidim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler kromozomal beta-laktamazları zayıf indüklerler. İndüklenebilir beta-laktamaz taşıyan bakteriler, bu antibiyotiklerle karşılaştıklarında, enzim sentezlerini arttırmayacaklarından kolayca öldürülürler. Ancak bakteri popülasyonu içindeki dereprese mutant olarak tanımlanan ve fazla miktarda beta-laktamaz sentezleyen bakteriler, antibiyotiklerce yok edilemezler ve infeksiyon ortamında dirençli mutant olarak kalırlar (4). Bu suşlar hastane mikroflorasına karışıp yayılarak hastane infeksiyonlarında rol alırlar.

Son yıllarda *P.aeruginosa*'larda çeşitli genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) (Grup 2be)

saptanmıştır (5). Bu grupta yer alan PER-1, TEM 42, SHV 2a'nın seftazidime direnç oluşturduğu gösterilmiştir. Grup 2d'de yer alan oksaanilazlardan OXA 11, OXA 14, OXA 15, OXA 16'nın seftazidim direncine yol açtığı saptanmıştır (6,7). Üçüncü kuşak sefalosporinler, infeksiyonların ampirik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum, gerek dereprese mutantların seleksiyonuna, gerekse GSBL sentezleyen bakterilerin ortaya çıkmasına neden olarak tedavide başarısızlık ve mortalite oranlarında artışa yol açmaktadır.

Beta-laktam antibiyotiklere karşı *P.aeruginosa*'da, incelenen örneklerle ve antibiyotik kullanma politikalarına göre değişebilen duyarlılık oranları gözlenmektedir. *P.aeruginosa* suşlarında seftazidim duyarlılığını araştıran çalışmalarda Karray ve ark. (10) %77 duyarlılık saptarken, Cheng ve ark. (11) bu oranı %29 olarak bildirmiştir. Türkiyede yapılan çalışmalarda seftazidim duyarlılığını Çolak ve ark. (12) %75, Birengel ve ark. (13) %53.4, Yücesoy ve ark. (14) %49, Aydoğan ve ark. (15) %47, Cesur ve ark. (16) %45.1 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *P.aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılık disk diffüzyon yöntemi ile %42.3, E-test yöntemi ile %50.7 bulunmuştur.

Antibiyotiklere duyarlılığının saptanmasında referans yöntem olarak kullanılan agar dilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kantitatif değerler verirken, rutin kullanımda uygulaması zor ve zaman alıcı yöntemlerdir. En yaygın olarak kullanılan disk diffüzyon yönteminde ise, duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olmak üzere kantitatif olmayan sonuçlar verilmektedir. Disk diffüzyon yöntemindekine eş zaman ve emek harcanarak yapılan diğer bir yöntem olan E-test ise bir uçtan diğer uca giderek artan antibiyotik konsantrasyonu içeren stripler kullanılarak kantitatif sonuçlar elde edilebilen bir testtir (17,18). E-test ile yapılan duyarlılık test sonuçlarının agar dilüsyon ve disk difüzyon test sonuçları ile uyumlu olduğu bildirilirken, incelenen antibiyotiklere göre bu uyumun değişkenlik gösterebildiği belirtilmektedir (19,20). Çalışmamızda seftazidime duyarlılığı saptamada, disk diffüzyon yöntemi ile E-test arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir. Gençler ve ark. (21)

benzer bir çalışmada, disk diffüzyon metodu ile E-test arasındaki uyumun bazı antibiyotikler için mükemmel olmasına rağmen seftazidimin de arasında bulunduğu diğer antibiyotikler için zayıf korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmamızdaki seftazidime duyarlılık bazı çalışmalara göre daha düşük olarak bulunması ise, hastanemizde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uzun süreli kullanımına bağlı olduğu düşünülmektedir.

*P.aeruginosa* suşlarının duyarlılık paternlerinin çalışmanın yapıldığı yıla, bölgeye, hastaneye ve hatta kliniğe göre değişkenlik gösterdiği bilinmektedir. Olası hastane infeksiyonlarına yol açan *P.aeruginosa* suşlarında ampirik antibiyotik tedavisine başlarken, her hastanenin kendi sonuçlarının göz önüne alınması ve ona göre antibiyotik seçilmesi gerektiği bilinmektedir. *P.aeruginosa*'nın etken olduğu hastane infeksiyonlarının ampirik tedavisinde seftazidim ilk seçilecek antibiyotik olarak gözükmediğinden duyarlılık deneylerinin sonuçlarına göre kullanılmasının uygun olacağı bir kez daha vurgulanmaktadır. *P.aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılığının doğru olarak belirlenmesi hedeflendiğinde ise, E-testin kolay ve güvenilir bir test olarak tercih edilebilecek bir yöntem olacağı söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- 1-Pollack M:** *Pseudomonas aeruginosa*. "Mandell G, Bennett J, Dolin R, et al(eds): Principles and Practice of Infectious Disease", p 1980-2003, 4th ed, Churchill Livingstone Inc, New York (1995).
- 2-Hanberger H, Garcia Rodriguez JA, Gobernado M, et al:** Antibiotic susceptibility among aerobic gram negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. JAMA 281: 167 (1999).
- 3-Gülseren F, Mamkoğlu L, Öztürk S, et al:** A surveillance study of antimicrobial resistance of gram negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 43: 373 (1999).
- 4-Çetin ÇB, Yalçın AN, Turgut H, Kaleli İ, Orhan N:** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde hastane infeksiyonları. Hast İnfek Derg 3:161 (1999).
- 5-Kayaalp O:** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. "Antibiyotikler ve Diğer Kemoterapötikler: Sefalosporin Türleri" 1: 682-683, Altıncı Baskı, Feryal

Matbaacılık, Ankara (1991).

**6-Gilligan PH:** Pseudomonas and Burkholderia “Murray PR, Baron JE, Pfaller MA, et al.: Manual of Clinical Microbiology”, 509-10, 6th ed. ASM Press, Washington (1995).

**7-Erdem B:** Pseudomonaslar “Ustaçelebi Ş, et al.: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji” 551-66, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).

**8-Arman D:** Gram negatif çomak infeksiyonlarında güncel tedavi yaklaşımları. ANKEM Derg.15:421 (2001).

**9-Livermore DM:** Clinical significance of B-lactamase induction and stable derepression in gram negative rods. Eur J Clin Microb Infect Dis 6:439 (1987).

**10-Karray H, Hammami A, Mahjoubi F, Bouaziz M, Damak J, Jeddi HM:** In vitro study of the sensitivity to antibiotics of 213 P.aeruginosa strains isolated in an intensive care unit of Sfax Hospital. Pathol Biol 41:307 (1993).

**11-Cheng K, Smyth RL, Govan JRW, et al:** Spread of beta-lactam resistant Pseudomonas aeruginosa in a cystic fibrosis clinic. Lancet 348: 36 (1996).

**12-Çolak D, Ergin Ç, Ögünç D, Öngüt G, Demirgiller D, Mutlu G:** Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas türlerine karşı çeşitli antibiyotiklerin in vitro etkinliği Türk Mikrobiyol Cem Derg 26:48 (1996).

**13-Birengel S, Kurt H, Tekeli E:** Nozokomiyal patojenler olarak izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının antimikrobiyal dirençlilikleri [özet p-10/26]. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program Kitabı, s. 271 (2001).

**14-Yücesoy M, Biberöglü K, Yuluğ N:** İnfeksiyon etkeni Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin E test ile araştırılması. İnfek Derg 10: 229 (1996).

**15-Aydoğan H, Küçükkaraaslan A, Saraçlı MA, Özyurt M, Başustaoğlu A:** GATA Mikrobiyoloji

Kliniğinde izole edilen Pseudomonas aeruginosa izolatlarında antibiyotik direnç durumları, [özet p-12/10] XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı, s.376 (2000).

**16-Cesur S, Albayrak F, Birengel S, Kolcu Z, Tekeli E:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının karbapenem ve diğer beta-laktam antibiyotiklere duyarlılıkları.Türk Mikrobiyol Cem Derg 33: 203 (2002).

**17-Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C:** Comparison of the E test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol 29:533 (1994).

**18-Miller LA, Rittenhouse SF, Utrup LJ, Poupard JE:** Comparison of three methods for determining of a single MIC of an antimicrobial agents. J Clin Microbiol 32:1373 (1994).

**19-Joyce LF, Downes J, Stockman K, Andrew JH:** Comparison of five methods, including the PDM Epsilon meter test (E test) for antimicrobial susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa. J Clin Microbiol 30: 2709 (1992).

**20-Ülkar GB, Tülek N, Mert A:** Pseudomonas aeruginosa suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılığının belirlenmesinde disk diffüzyon ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bül 33: 99 (1999).

**21-Gençer S, Ak Ö, Benzonana N, Batirel A, Özer S:** Pseudomonas aeruginosa izolatlarına karşı dokuz antibiyotiğin duyarlılığında E test ve disk diffüzyon metodlarının karşılaştırılması. [özet p-10/28] X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program Kitabı, s. 272 (2001).