

Hastane Kaynaklı *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında PER-1 Tipi Beta-Laktamaz Sıklığının ve Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Araştırılması

Investigation of the Frequency of PER-1 Type Beta-Lactamase and Antimicrobial Resistance Rates in Nosocomial Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*

Aynur ATILLA¹, Cafer EROĞLU², Şaban ESEN², Mustafa SÜNBÜL², Hakan LEBLEBİCİOĞLU²

¹ Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Samsun.

¹ Samsun Training and Research Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Samsun, Turkey.

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

² Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Samsun, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 10.05.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 05.08.2011

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa, hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan ve çoğul antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle tedavisi oldukça güç olan bir hastane enfeksiyonu etkenidir. Ülkemizde yapılan çok merkezli çalışmalar, PER-1 tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakterilerin oldukça yaygın olduğunu göstermektedir. Antipsödomonal penisilinler ve sefalosporinler, aminoglikozidler, florokinolonlar ve karbapenemler gibi sınırlı sayıdaki antibiyotiğin *P.aeruginosa*'ya etkili olması nedeniyle, bu ilaçlara karşı direnç yol açan genlerin yayılımının izlenmesi ve kontrolü önem taşımaktadır. Bu çalışmada, hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında PER-1 tipi GSBL varlığı ve bunun tedavide sık kullanılan bazı antibiyotiklerle olan direnç ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Mayıs 2002-Haziran 2003 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde hastane enfeksiyonu tanısı alan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 110 *P.aeruginosa* suşu [40 idrar, 26 eksüda, 20 kan, 24 diğer (balgam, trakeal aspirat, doku, beyin omurilik sıvısı, plevral sıvı, konjunktiva)] çalışmaya alınmıştır. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması ATB sistemi ID 32 GN (bioMérieux, Fransa) ile yapılmıştır. PER-1 tipi GSBL varlığı polimeraz zincir reaksiyonu ile PER-1 ve PER-2 primerleri kullanılarak araştırılmıştır. Suşların antibiyotik duyarlılıkları standart disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. PER-1 pozitifliği, 110 *P.aeruginosa* suşunun 62 (%56.4)'sinde; seftazidime dirençli 65 suşun ise 51 (%78.5)'inde saptanmıştır. Suşlarda en yüksek duyarlılık oranı siprofloksasine (%76.4), en düşük duyarlılık oranı ise tikarsilin-klavulanik aside (%22.7) karşı tespit edilmiştir. PER-1 pozitif suşlarda beta-laktam antibiyotikle-

İletişim (Correspondence): Dr. Aynur Atilla, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İlkadım, Samsun, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 532 556 8767, **E-posta (E-mail):** aynur.atilla@gmail.com

re (piperasilin-tazobaktam hariç), amikasin ve gentamisin direnç oranları PER-1 negatif suşlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. PER-1 pozitif ve negatif suşların seftazidim, sefepim, aztreonam, piperasilin ve tikarsilin-klavulanik aside direnç oranları sırasıyla %82.3 ve %29.2 ($p < 0.01$); %75.8 ve %25 ($p < 0.01$); %83.9 ve %30.4 ($p < 0.01$); %73.8 ve %52.2 ($p < 0.05$); %85.5 ve %66.7 ($p < 0.05$) olarak izlenmiştir. Buna karşın PER-1 pozitif ve negatif izolatlarda piperasilin-tazobaktam direnci sırasıyla %35.5 ve %31.3, siprofloksasin direnci ise sırasıyla %19.4 ve %29.2 oranında saptanmış ve oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$). Sonuç olarak, hastanemizde izole edilen nozokomiyal *P.aeruginosa* suşlarında gerek PER-1 tipi GSBL sıklığının, gerekse beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı direncin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu bulgulara dayanılarak direncin önlenmesi için gereken çalışmaların yapılması ve direncin izlenmesine devam edilmesinin en uygun yaklaşım olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz; *Pseudomonas aeruginosa*; PER-1.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa which is a common cause of nosocomial infections, usually leads to treatment difficulties due to multi-drug resistance. PER-1 type extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing bacteria are shown to be common in Turkey. Since limited number of antibiotics such as antipseudomonal penicillins, cephalosporins, aminoglycosides, fluoroquinolones and carbapenems are available for the treatment of *P.aeruginosa* infections, it is essential to monitor and eventually control the spread of antibiotic resistance genes. The aims of this study were to investigate the presence of PER-1 type ESBLs in nosocomial *P.aeruginosa* isolates and to evaluate their resistance to some commonly used antibiotics. A total of 110 *P.aeruginosa* strains isolated from clinical samples [40 urine, 26 exudate, 20 blood, 24 others (sputum, tracheal aspirate, tissue biopsy, cerebrospinal fluid, pleural fluid, conjunctiva)] of the inpatients who were proven to have nosocomial infections in Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine Hospital between May 2002-June 2003 were included in the study. Identification of the isolates was performed by ATB system ID 32 GN (bio-Merieux, France). Antibiotic susceptibilities were detected by standard disk diffusion method and PER-1 type ESBL was searched by polymerase chain reaction using PER-1 and PER-2 primers. PER-1 positivity was detected in 62 of 110 (56.4%) *P.aeruginosa* isolates and 51 of 65 (78.5%) ceftazidime-resistant strains. The highest susceptibility rate was detected for ciprofloxacin (76.4%), while the lowest susceptibility rate was for ticarcillin-clavulanic acid (22.7%). Rates of resistance to beta-lactam agents (excluding piperacillin/tazobactam), amikacin and gentamicin were statistically significantly higher for PER-1 positive strains than PER-1 negative ones. Resistance rates to ceftazidime, cefepime, aztreonam, piperacillin and ticarcillin-clavulanic acid in PER-1 positive isolates versus negative ones were as 82.3% vs. 29.2% ($p < 0.01$), 75.8% vs. 25% ($p < 0.01$), 83.9% vs. 30.4% ($p < 0.01$), 73.8% vs. 52.2% ($p < 0.05$), 85.5% vs. 66.7% ($p < 0.05$), respectively. Considering resistance rates to piperacillin-tazobactam and ciprofloxacin, PER-1 positive isolates versus negatives were 35.5% vs. 31.3%, and 19.4% vs. 29.2%, respectively, revealing no statistical significance ($p > 0.05$). As a result, PER-1 type ESBL frequency and beta-lactam and aminoglycoside resistance rates were found remarkably high in nosocomial *P.aeruginosa* strains isolated in our hospital. It was concluded that antibiotic resistance should be continuously monitored and necessary measures to prevent further increase in resistance should be promptly established.

Key words: Extended-spectrum beta-lactamase; *Pseudomonas aeruginosa*; PER-1.

GİRİŞ

Beta-laktam antibiyotikler, günümüzde gerek hastane içinde gerekse hastane dışında en sık kullanılan antimikrobiyal ilaçlardır. Bakteriler tarafından beta-laktamaz enzimlerinin oluşturulması, beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen direncin en sık sebebidir¹.

Hastane ortamında yoğun olarak bulunan *Pseudomonas aeruginosa* ise çoğul antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle önem taşımaktadır. Çoklu ilaç direncine sahip *P.aeruginosa* suşlarıyla oluşan hastane enfeksiyonlarında mortalitenin üç kat, sekonder baktereminin dokuz kat daha yüksek olduğu, hastanede kalış süresinin 2.1 kat arttığı ve tedavi maliyetlerinde de artış gözlemlendiği belirtilmiştir². Diğer önemli bir nokta da, ilk iki gün içinde uygun antipsödomonal tedavi başlanırsa mortalitenin anlamlı olarak azalmasıdır³. PER-1 tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri beta-laktam antibiyotiklerin çoğuna dirençli olduğundan, bu tür beta-laktamaz ortaya çıktığında yayılımının izlenmesi ve kontrolü önemlidir⁴.

PER-1 enzimi ilk defa Paris'te bir Türk hastanın idrarından izole edilen *P.aeruginosa*'da bildirilmiş ve kromozom üzerinde lokalize olduğu ileri sürülmüştür⁵. Daha sonra bir çalışmada, *P.aeruginosa* suşları arasında başarılı bir şekilde transfer edilerek 154 kb çiftinden daha büyük bir plazmid üzerinde kodlandığı gösterilmiştir⁶. Bu enzim aynı zamanda *Salmonella Typhimurium*'da plazmid ve integron bölgesinde bulunmuş olup, bu durum Türkiye'de yaygın tür dağılımını açıklayabilir⁷. Her ne kadar *Salmonella* spp. gibi toplum kökenli patojenlerin bulunduğu enterobakterilerde bildirilmişse de, PER-1'in en sık *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. tarafından üretildiği görülmektedir⁸. İtalya'da PER-1 üreten *P.aeruginosa*'ya ait 10 ay süreli büyük bir nozokomiyal salgın bildirilmiş ve bu salgında PER-1'in katıldığı beta-laktam direnç fenotipinden farklı olarak epidemik suşlar, klorheksidin, povidon iyot ve toluen-p-sülfokloromid gibi çeşitli dezenfektanlara dirençli bulunmuştur⁹.

Beta-laktamaz genlerinin dağılımının, antibiyotik direncinin yayılımında önemli rol oynayabileceği ve GSBL üreten *P.aeruginosa*'ya bağlı ciddi enfeksiyonların tedavisinde gelecekteki antibiyotik seçimini sınırlayabileceği bildirilmektedir^{8,10}. Bu çalışmada, hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında kötü klinik prognozun bağımsız belirleyicilerinden olan PER-1 tipi GSBL varlığının ve bunun tedavide sık kullanılan bazı antibiyotiklerle olan direnç ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde hastane enfeksiyonu etkeni olarak çeşitli klinik örneklerden izole edilen 110 *P.aeruginosa* suşu dahil edildi. Suşlar, ardışık olarak Mayıs 2002-Haziran 2003 tarihleri arasında izole edildi. Aynı hastadan tekrar izole edilen suşlar çalışmaya alınmadı.

Rutin bakteriyolojik testlerle *Pseudomonas* olarak belirlenen izolatların Mueller-Hinton agara (MHA) ekimleri yapılarak 35°C ve 42°C'de inkübe edildi. 42°C'de üreyen ve MHA'da pigment yapanlar kaydedildi. Suşlar, ATB sistemi ID 32 GN (bioMerieux, Fransa) ile tür düzeyinde *P.aeruginosa* olarak tanımlandı.

Tüm izolatların antibiyotik duyarlılıkları, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerilerine göre standart disk difüzyon yöntemiyle belirlendi¹¹. Sef tazidim, seftapim, aztreonam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit, siprofloksasin, imipenem, amikasin ve gentamisin diskleri kullanıldı. Diskler yerleştirildikten sonra 35°C'de 16-18 saat inkübe edildi. Sonuçlar CLSI önerilerine göre değerlendirildi¹¹.

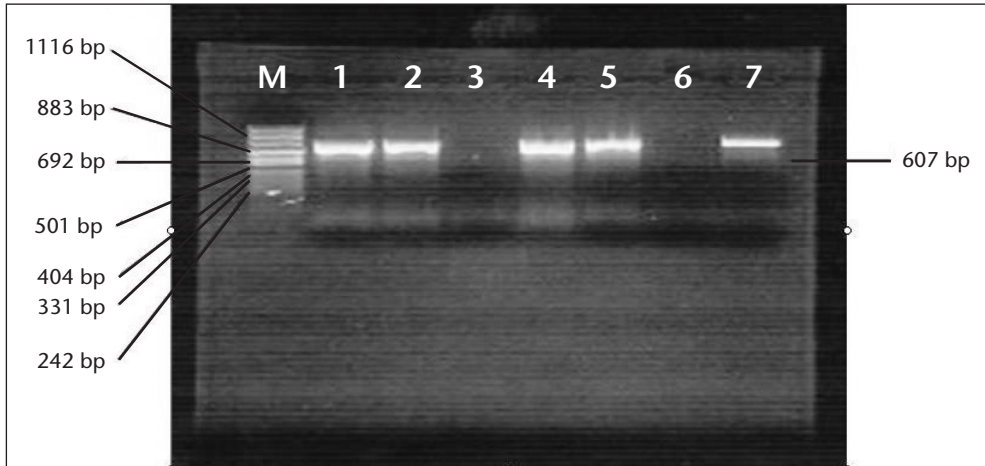
İzolatlarda PER-1 beta-laktamaz varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırıldı. Bu amaçla bakterilerden DNA izolasyonu, "High Pure PCR Template Preparation" (Roche Diagnostics, Almanya) kiti ile firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Hedef bölgenin çoğaltılması için PER-1 (5'-TGG GCT TAG GGC AGA AAG-3') ve PER-2 (5'-GAA TAC CTG GGC TCC GAT AA-3') primerleri (lontek, İstanbul) kullanıldı¹⁰. Öncelikle çalışılacak her örnek için PCR karışımı hazırlandı. PCR karışımı PCR tamponu, 1.5 mM Mg⁺, 200'er mM dNTP, 0.5 M primer PER-1, 0.5 M primer PER-2 ve 1.25 U Taq polimeraz (Fermentas)'dan oluşmaktaydı. Hazırlanan 45 µl karışım üzerine 5 µl izole edilen DNA örneği eklenerek ısı döngü cihazına (Sanyo MIR DR 40, Japonya) yerleştirildi ve PCR programı; 95°C'de beş dakika, bir döngü; 95°C'de bir dakika, 55°C'de bir dakika ve 72°C'de üç dakika olmak üzere 35 döngü; 72°C'de yedi dakika bir döngü olarak uygulandı.

PCR ürünlerinin saptanması amacıyla jel elektroforezi için %1.5'lik agaroz jel (Sigma, ABD) hazırlandı. İlk kuyucuğa Marker 8 (pUC Mix, Fermentas, Litvanya), diğer kuyucuklara 10'ar µl PCR ürünleri yüklendikten sonra 100 V'da 30 dakika elektroforez uygulandı. Elektroforez sonrası ayrılan bantlar ultraviyole transillüminatörde incelendi. 607 baz çifti (bp) büyüklüğünde bant görülen örnekler pozitif kabul edildi (Resim 1). Negatif kontrol olarak distile su ve pozitif kontrol olarak PER-1 pozitif *Acinetobacter* spp. kullanıldı.

Elde edilen veriler SPSS (Windows Ver. 10) programına kaydedildi. PER-1 pozitif ve negatif suşlardaki antibiyotik duyarlılık oranlarının karşılaştırılmasında istatistiksel değerlendirme ki-kare testiyle yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 110 *P.aeruginosa* suşunun 40 (%36.4)'ı idrar, 26 (%23.6)'sı eksüda, 20 (18.2)'si kan, 24 (%21.4)'ü diğer klinik örneklerden (balgam, trakeal aspirat, doku,



Resim 1. PER-1 pozitif PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü [M: Belirteç (Marker 8; pUc Mix), Hat 1: Pozitif kontrol; Hat 2, 4, 5, 7: Pozitif örnekler; Hat 3: Negatif kontrol (distile su); Hat 6: Negatif örnek].

Tablo I. PER-1 Pozitif ve Negatif Suşların Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Oranları

Antibiyotikler	PER-1				Toplam		p
	Pozitif		Negatif				
	n= 62	%	n= 48	%	n= 110	%	
Seftazidim	51	82.3	14	29.2	65	59.1	< 0.01
Sefepim	47	75.8	12	25.0	59	53.6	< 0.01
Aztreonam	52	83.9	14	30.4	66	61.1	< 0.01
Piperasilin	45	73.8	24	52.2	69	64.5	< 0.05
Piperasilin-tazobaktam	22	35.5	15	31.3	37	33.6	> 0.05
Tikarsilin-klavulanik asit	53	85.5	32	66.7	85	77.3	< 0.05
Amikasin	36	58.1	15	31.3	51	46.4	< 0.01
Gentamisin	51	82.3	25	52.1	76	69.1	< 0.01
Siprofloksasin	12	19.4	14	29.2	26	23.6	> 0.05

beyin omurilik sıvısı, plevral sıvı, konjunktiva, kornea) izole edilmiştir. Bu örneklerin 44'ü çocuk hastalıkları, 39'u cerrahi ve 16'sı dahili kliniklerde, 11'i ise erişkin yoğun bakım ünitesinde yatan hastalara aittir.

Çalışmamızda, *P.aeruginosa* suşlarının %56.4 (62/110)'ünde PCR ile PER-1 pozitifliği saptanmış; bu oranın seftazidime dirençli suşlar için %78.5 (51/65) olduğu görülmüştür.

P.aeruginosa suşlarının seftazidim, sefepim, aztreonam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit, imipenem, amikasin, gentamisin ve siprofloksasine duyarlılık oranları sırasıyla %40.9, %46.4, %38.9, %35.5, %66.4, %22.7, %56.4, %53.6, %30.9 ve %76.4 olarak belirlenmiştir. Buna göre duyarlılık oranı en yüksek bulunan antibiyotiğin siprofloksasin (%76.4), en düşük bulunan antibiyotiğin ise tikarsilin-klavulanik asit (%22.7) olduğu izlenmiştir. PER-1 pozitif suşlarda beta-laktam antibiyotiklere (piperasilin-tazobaktam hariç), amikasin ve gentamisine direnç oranları PER-1 negatif suşlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş; buna karşın PER-1 pozitif ve negatif suşların siprofloksasine direnç oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo I).

TARTIŞMA

P.aeruginosa nozokomiyal enfeksiyonlarda rol oynayan önemli bir fırsatçı patojendir. Çoğul antibiyotik alan immün sistemi yetersiz hastalarda kolayca kolonize olabilmektedir. Antipsödomonal penisilinler ve sefalosporinler, aminoglikozidler, florokinolonlar ve karbapenemler gibi sınırlı sayıdaki antibiyotiğin *P.aeruginosa*'ya etkili olması nedeniyle bu ilaçlara karşı dirence yol açan genlerin yayılımının izlenmesi ve kontrolü önem taşımaktadır⁹.

Klavulanik asitle inhibe olan GSBL'ler, Ambler sınıflama şemasının A sınıfına aittir ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı dirençten sorumludur. Bunlar 1980'li yılların baş-

larından itibaren *Enterobacteriaceae* üyelerinde yaygın olarak bildirilmesine rağmen *P.aeruginosa*'da son zamanlarda tanımlanmıştır⁸. Klavulanik asit sinerji testleri *P.aeruginosa*'daki GSBL'lerin tespiti için güvenilir değildir; ancak standart PCR'ye dayalı yöntemlerle beta-laktamaz genleri tanımlanabilir. İzoelektrik odaklama gibi diğer yöntemler ise, bir GSBL'yi tanımlamaktan çok sadece kazanılmış beta-laktamaz varlığını gösterebilir. Örneğin; PER-1 ve dar spektrumlu TEM-1 enzimleri aynı pI 5.4 değerlerini paylaşır⁸. GSBL'lerin tespitindeki laboratuvar güçlükleri, bunların daha az saptanması ve bildirilmesine, dolayısıyla GSBL üreten *P.aeruginosa* suşlarının özellikle gelişmekte olan ülkelere daha fazla yayılmalarına yol açabilmektedir⁸. PER-1 tip GSBL üç nedenden dolayı özel bir yere sahiptir:

a. Aztreonam ve antipsödomonal sefalosporinler (seftazidim ve sefepim) gibi beta-laktamların çoğuna karşı dirence katılır¹².

b. Bir *P.aeruginosa* suşundan diğer bir suşa in vitro transfer olabilen bir plazmid üzerinde taşınır⁶.

c. *P.aeruginosa*'nın diğer A sınıfı enzimlerinden farklı olarak cinsler arasında da geçiş gösterir⁴.

Çalışmamızda 110 *P.aeruginosa* suşunda PCR ile PER-1 pozitiflik oranı %56.4, seftazidime dirençli suşlarda ise %78.5 olarak bulunmuştur. Bu çalışma hastanemizde PER-1 tipi beta-laktamaz prevalansının yüksek ve hala yaygın bir sorun olduğunu göstermektedir. Vahaboğlu ve arkadaşları⁴ tarafından 1997 yılında yapılan, hastanemizin de yer aldığı çok merkezli çalışmada, *P.aeruginosa*'da PER-1 pozitifliği %11 (40/367), seftazidime dirençli suşlarda ise %38 oranında tespit edilmiştir. 1998 yılında üç hastanenin katıldığı diğer bir çalışmada aynı araştırmacılar *P.aeruginosa* izolatlarında PER-1 pozitifliğini %23.7 (18/76), 2005 yılında ise %55.4 (51/92) olarak bildirmişlerdir^{12,13}. Görüldüğü gibi PER-1 üreten *P.aeruginosa* oranı %11'den %55.4'e yükselmiştir.

İtalya ve Belçika'da yapılan çalışmalarda PER-1 üreten *P.aeruginosa*'ya bağlı nozokomial salgınlar bildirilmiş ve bu hastalar arasında Türk olan ya da Türkiye'ye seyahat edenlerin bulunmadığı ifade edilmiştir^{9,10}. İran'da da yanık ünitesinden elde edilen GSBL pozitif *P.aeruginosa* izolatlarında PER-1 oranı %49.3 olarak saptanmıştır¹⁴. Bu bulgular PER-1'in ülkemiz dışında da bulunabileceğini ve beta-laktam antibiyotiklere dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının PER-1 geni taşıyıcılığı yönüyle şüphe edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır^{14,15}.

PER-1 enzimi, dar spektrumlu penisilinler ve dar ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı yüksek, karbapenemlere karşı ise düşük afinite göstermekte; klavulanik asit ve imipenemle inhibe olmaktadır⁸. GSBL üreten *P.aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde uygun antibiyotik rejimiyle ilgili az sayıda klinik çalışma vardır. Luzzaro ve arkadaşları⁹ İtalya'da PER-1 üreten *P.aeruginosa*'ya bağlı salgını karbapenem tedavisi ile önlemişler; izole ettikleri epidemik suşun florokinolonlar ve aminoglikozidlere dirençli olduğunu vurgulamışlardır. PER-1 üreten *P.aeruginosa* ile yapılan deneysel bir pnömoni çalışmasında, amikasin ve imipenem kombinasyonunun duyarlı suşa karşı sinerjistik olduğu bulunmuş; in

vitro duyarlılık test sonuçlarıyla belirlendiği üzere sefepim ve piperasilin-tazobaktamın, in vivo olarak belirgin inokulum etkisi gösterdiği saptanmıştır¹⁶. Zarakolu ve arkadaşlarının¹⁷ çalışmasında da PER-1 pozitif izolatlarda seftazidim direnci %80 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda, PER-1 pozitif suşlarda beta-laktam antibiyotiklere (piperasilin-tazobaktam hariç) direnç oranı negatiflere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo I). Bu sonuçlar PER-1 enziminin penisilinler (piperasilin-tazobaktam hariç) ile dar ve geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize ettiğini göstermektedir, ancak piperasilin-tazobaktamın PER-1 üreten *P.aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde güvenli olarak kullanılabilmesi için ileri klinik çalışmalara gereksinim vardır.

P.aeruginosa dışında PER-1 üretimi, ülkemizde Vahaboğlu ve arkadaşları^{4,7} tarafından *S. Typhimurium* ve *Acinetobacter* türlerinde; İtalya'da ise Luzzaro ve arkadaşları⁹ tarafından *Alcaligenes faecalis*'te gösterilmiştir. Bu enzimin diğer A sınıfı enzimlerinden farklı olarak türler arasında geçiş gösterebilmesi, çalışmamızda yüksek oranda tespit edilen PER-1 pozitif *P.aeruginosa* suşlarının, hastanemizdeki *Acinetobacter* spp. ve diğer türler için potansiyel bir risk oluşturabileceğini düşündürmektedir.

GSBL üreten bakteriler çoğu zaman değişik mekanizmalarla beta-laktam dışındaki antibiyotik gruplarına (aminoglikozidler, kinolonlar) karşı da direnç geliştirebilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1990-1993 yılları arasında yoğun bakım ünitesindeki hastalara ait 6675 *P.aeruginosa* izolatında seftazidime direnç oranı %14.2 olarak bulunmuş; seftazidime dirençli suşlarda gentamisin ve amikasin direnç oranlarının duyarlı suşlara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir¹⁸. Bizim çalışmamızda da, PER-1 pozitif izolatlarda amikasin ve gentamisine direnç oranı negatif olanlara göre istatistiksel olarak daha yüksektir (Tablo I). Ancak siprofloksasine direnç oranları açısından PER-1 pozitif ve negatif suşlar arasında anlamlı fark görülmemiştir (Tablo I).

Sonuç olarak hastanemizde, nozokomiyal enfeksiyon etkeni olan *P.aeruginosa* suşlarının da birçok antibiyotiğe karşı dirençten sorumlu PER-1 tipi GSBL sıklığının yüksek (%56.4) olduğu saptanmış; bu suşların beta-laktam (karbapenemler dahil) ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı da önemli oranda dirençli (%35.5-83.9) olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle direncin izlenmesi, direnç gelişiminin önlenmesi için gerekli çalışmaların yapılması ve en uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesi en doğru yaklaşım olacaktır.

TEŞEKKÜR

Pozitif kontrol olarak PER-1 pozitif *Acinetobacter* spp. izolatını sağlayan Prof. Dr. Haluk Vahaboğlu'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Livermore DM, Williams JD. Beta-laktams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance, pp: 502-78. In: Lorian V (ed), Antibiotics in Laboratory Medicine. 1996, Williams and Wilkins, Baltimore.
2. French GL, Philips I. Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections, pp: 1243-64. In: Mayhall CG (ed), Hospital Epidemiology and Infection Control. 1999, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

3. Carmelli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(6): 1379-82.
4. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, et al. Widespread detection of PER-1 type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(10): 2265-9.
5. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(5): 962-9.
6. Danel F, Hall LM, Gur D, Akalin HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35(2): 281-94.
7. Vahaboglu H, Dodanlı S, Eroğlu C, et al. Characterization of multiple-antibiotic-resistant *Salmonella* Typhimurium strains: molecular epidemiology of PER-1 producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone. *J Clin Microbiol* 1996; 34(12): 2942-6.
8. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(8): 2385-92.
9. Luzzaro F, Mantengoli E, Perilli M, et al. Dynamics of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. *J Clin Microbiol* 2001; 39(5): 1865-70.
10. Vahaboglu H, Coskuncan F, Tansel O, et al. Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type)-producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J Med Microbiol* 2001; 50(7): 642-5.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. CLSI Document M100-S12, 2002. CLSI, Wayne, PA.
12. Vahaboglu H, Saribas S, Akbal H, Ozturk R, Yucel A. Activities of cefepime and five other antibiotics against nosocomial PER-1-type and/or OXA-10-type beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42(2): 269-70.
13. Kolaylı F, Gacar G, Karadenizli A, Sanic A, Vahaboğlu H, Study Group. PER-1 is still wide spread in Turkish hospitals among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*. *FEMS Microbiol Letter* 2005; 249(2): 241-5.
14. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns* 2010; 36(1): 70-4.
15. Claeys G, Verschraegen G, de Baere T, Vaneechoutte M. PER-1 beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45(6): 924-5.
16. Mimoz O, Elhelali N, Leotard S, et al. Treatment of experimental pneumonia in rats caused by a PER-1 extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(1): 91-7.
17. Zarakolu P, Metan G, Gürkan Aydın N, Altun B, Haşçelik G, Akova M. Hastane kaynaklı *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında PER-1 türü genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerinin sıklığı. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41(3): 363-7.
18. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002; 34(5): 634-40.