

# *Pseudomonas* Suşlarında OXA Tipi Karbapenemazların Varlığı: Türkiye’den İlk Bildirim\*

## The Presence of OXA Type Carbapenemases in *Pseudomonas* Strains: First Report from Turkey

Fatma ESENKAYA TAŞBENT<sup>1</sup>, Mehmet ÖZDEMİR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Konya.

<sup>1</sup> Konya Directorate of Public Health, Public Health Laboratory, Konya, Turkey.

<sup>2</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

<sup>2</sup> Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Konya, Turkey.

\* Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş (No: 12151800) ve 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi’nde (4-7 Haziran 2014, Ankara) poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 02.09.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 14.11.2014

### ÖZ

Tüm dünyada önemli bir nozokomiyal patojen olan *Pseudomonas* suşlarında gittikçe artan oranlarda karbapenem direncine rastlanmaktadır. Karbapenem direncinden çoğunlukla metallo-beta-laktamaz (MBL) ve moleküler sınıf D’de yer alan karbapenemleri hidrolize eden oksasilinaz enzimleri sorumlu tutulmaktadır. MBL enzimlerine sıklıkla *Pseudomonas*’larda rastlanırken; sınıf D oksasilinazların tamamına yakını karbapeneme ve çok ilaca dirençli olan *Acinetobacter baumannii*’de bulunmuştur. Bu çalışmada, karbapeneme dirençli *Pseudomonas* suşlarında karbapenemaz üretimine neden olan OXA-23, OXA-40 ve OXA-58 genlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Kasım 2011-Ekim 2013 tarihleri arasında, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden (85 bronkoalveoler lavaj, 31 yara, 18 trakeal aspirat, 16 idrar, 14 kan, 10 balgam, 3 kateter, 3 boğaz, 2 drenaj mayisi, 1’er apse ve periton sıvısı) izole edilen imipenem ve/veya mero-peneme dirençli 184 *Pseudomonas* spp. suşu alınmıştır. İzolatların tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistem (VITEK-2, bioMérieux, Fransa) ile yapılmış; antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistem ile CLSI önerilerine göre belirlenmiştir. Suşlarda OXA-23, OXA-40 ve OXA-58 genlerinin varlığı, ticari bir PCR kiti (Hyplex CarbOxa ID; Amplex Diagnostics GmbH, Almanya) ile araştırılmıştır. Moleküler çalışma, genomik DNA ekstraksiyonu, multipleks PCR amplifikasyonu ve hibridizasyon olmak üzere üç aşamada yapılmış; son aşamada ELISA temelli bir sistemde hibridizasyon sağlanmıştır. Çalışmamızda, karbapeneme dirençli 184 *Pseudomonas* suşunun 12 (%6.5)’inde OXA-23,

**İletişim (Correspondence):** Uzm. Dr. Fatma Esenkaya Taşbent, Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, 42040 Selçuklu, Konya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 332 223 0000, **E-posta (E-mail):** fesentas@hotmail.com

1 (%0.54)'inde OXA-40 ve 1 (%0.54)'inde OXA-58 pozitifliği olmak üzere, toplam 14 (%7.6) suşta OXA genlerinin varlığı saptanmıştır. Karbapeneme dirençli *Pseudomonas* suşlarının %70 (129/184)'i yoğun bakım ünitelerinden gelen örneklerden izole edilmiş; en sık izolasyonun yapıldığı örnek bronkoalveoler lavaj (85/184; %46.2) olmuştur. Bu çalışma, bölgemizde ve Türkiye'de *Pseudomonas* suşlarında OXA grubu karbapenemaz varlığını araştıran ve oranlarını ortaya koyan ilk araştırmadır. *Acinetobacter*'lerde tespit edilmiş bu direnç genlerinin *Pseudomonas*'larda da bulunduğu gösterilmiş olup, bu genlerin karbapenem direncine, doğrudan veya diğer direnç mekanizmalarını sinerjik olarak etkileyerek sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma direnç mekanizmalarını açıklamak için yapılacak yeni çalışmalara basamak teşkil edecektir.

**Anahtar sözcükler:** *Pseudomonas*; OXA genleri; karbapenemaz; karbapenem direnci.

## ABSTRACT

*Pseudomonas* spp. that are one of the important nosocomial pathogens worldwide, and carbapenem resistance is observed in an increasing rate. Major factors leading to carbapenem resistance are metallo-beta-lactamases (MBLs) and carbapenem-hydrolyzing class D oxacillinases. MBLs are frequently prevalent in *Pseudomonas* spp., while carbapenem-hydrolyzing class D oxacillinases has been almost exclusively found in multidrug and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. The aim of this study was to investigate the presence of OXA-23, OXA-40 and OXA-58 genes that encode carbapenemases, in carbapenem-resistant *Pseudomonas* spp. strains. A total of 184 imipenem and/or meropenem-resistant *Pseudomonas* spp. strains isolated from different clinical samples (85 bronchoalveolar lavage, 31 wound, 18 tracheal aspirate, 16 urine, 14 blood, 10 sputum, 3 catheter, 3 throat, 2 drainage fluid, 1 abscess, 1 peritoneal fluid) in Medical Microbiology Laboratory of Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine, between November 2011 to October 2013, were included in the study. The isolates were identified by conventional methods and an automated system (VITEK-2 Compact, bioMérieux, France), while the antibiotic susceptibility tests were performed with Kirby-Bauer disk diffusion method and automated system according to the recommendations of CLSI. The presence of OXA-23, OXA-40 and OXA-58 genes in strains were investigated by a commercial PCR kit (Hyplex CarbOxa ID; Amplex Diagnostics GmbH, Germany). Molecular studies were carried out in three steps, namely extraction of genomic DNA; multiplex PCR amplification and hybridization. In the final step, hybridization was achieved in the ELISA-based system. In our study, 12 (6.5%) out of 184 carbapenem-resistant *Pseudomonas* spp. strains were positive for OXA-23, 1 (0.54%) for OXA-40 and 1 (0.54%) for OXA-58, with a total positive rate of 7.6% (n= 14). Most of the carbapenem-resistant *Pseudomonas* spp. strains (129/184; 70%) were isolated from the samples of patients in intensive-care units, and bronchoalveolar lavage specimens were the most prevalent samples (85/184; 46.2%). This study determined the presence and frequency of OXA type carbapenemases among *Pseudomonas* strains for the first time in our region and Turkey. These resistance genes demonstrated in *Acinetobacter* spp. were also detected in this study in *Pseudomonas* spp. and they may cause carbapenem resistance directly or by affecting the other resistance mechanisms with a synergistic effect. This study is expected to provide a basis for further studies to elucidate resistance mechanisms.

**Keywords:** *Pseudomonas*; OXA genes; carbapenemase; carbapenem resistance.

## GİRİŞ

Günümüzde, bir yandan çok sayıda yeni ilaçlar geliştirilirken, öte yandan bunlara hızla direnç kazanan mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlar bildirilmektedir. Uygunsuz antibiyotik kullanımının, dirençli izolatların ortaya çıkmasında önemli bir

faktör olduğu ve bu durumun dünya genelinde önemli bir sorun oluşturduğu düşünülmektedir<sup>1,2</sup>.

Karbapenemler, bilinen en geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler olup, klinikte gözlenen birçok beta-laktamaza karşı stabiliteye sahiptir. Son yıllarda, karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli *Pseudomonas* suşları ile meydana gelen enfeksiyonların sıklığında anlamlı bir artış görülmekte ve tedavilerinde önemli sorunlar yaşanmaktadır<sup>1,3,4</sup>. *Pseudomonas*larda başlıca direnç mekanizmaları; kromozomal ve plazmid kaynaklı beta-laktamazların üretimi, hedef ve porin proteinlerindeki değişiklik sonucu dış membran geçirgenliğinin azalması ve dışa-atım (efflux) pompa sistemi ile antimikrobiyal ilacın dışarı atılmasıdır<sup>5</sup>. Bu bakteriler geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ve AmpC tipi beta-laktamazların yanı sıra imipenem (IMP) ve/veya meropenem (MEM)'i hidrolize edebilen karbapenemaz enzimlerine sahiptirler<sup>5-7</sup>. Karbapenemlere direnç gelişiminde en önemli mekanizma karbapenemazların varlığıdır. Karbapenemazlar, beta-laktam sınıfı olan karbapenemlerden birini, en azından IMP veya MEM'den birini, belirgin olarak hidrolize eden beta-laktamazlar olarak tanımlanabilir<sup>3,8</sup>. Bu enzimlerin sayı ve çeşitliliğindeki artış sonucu sınıflandırılma ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Beta-laktamazlar, fonksiyonel ve moleküler olarak sınıflandırılmıştır. Fonksiyonel sınıflamada karbapenemazlar grup 2d, 2f ve 3 içerisinde, moleküler sınıflamada ise sınıf A, B ve D içerisinde yer almaktadır. Sınıf D oksasilinazlar; oksasilinleri hidrolize eden ve sık rastlanmayan beta-laktamazlar olup, karbapenemi hidrolize eden oksasilinazlar (KHO) olarak adlandırılır. Günümüzde 120'den fazla D grubu beta-laktamaz tanımlanmış olup bunlardan 45 kadarı KHO aktivitesi gösterir<sup>9-11</sup>. KHO'lar, OXA 23, 27, 49 (grup 1), OXA 24, 25, 26, 40, 72 (grup 2), OXA-58 (grup 3) ve OXA-51 (grup 4) olarak gruplandırılmaktadır<sup>11-13</sup>.

Karbapenemazlar içinde klinik yönden en önemlilerinden biri metallo-beta-laktamaz (MBL) enzimleridir ve bu enzimlere en çok *Pseudomonas*larda rastlanmıştır. Karbapenemlerin tedavideki yoğun kullanımına paralel olarak, son yıllarda OXA tipi karbapenemaz bildirimleri de artmaktadır<sup>5-7</sup>. KHO grubundaki bu OXA enzimleri, *A.baumannii* tipine özgül olarak bilinmekte ve *A.baumannii*'de karbapenem direncinin en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir<sup>14</sup>. KHO grubu OXA enzimlerinin *Pseudomonas*lardaki varlığı ve sıklığına dair yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada karbapenem direncine yol açan bu enzimlerin sentezlenmesinde rol alan gen bölgelerinin, karbapeneme dirençli *Pseudomonas*larda varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Kasım 2011 - Ekim 2013 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına kültür için gönderilen klinik örneklerden izole edilen; IMP ve/veya MEM'e dirençli olan 184 *Pseudomonas* spp. izolatu dahil edildi. Aynı hastanın tekrarlayan izolatları çalışmaya alınmadı.

Laboratuvarımıza gelen kan, idrar, trakeal aspirat, balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL) gibi çeşitli örnek tipleri kanlı besiyeri ve EMB besiyerlerine ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistem (VITEK-2, bioMerieux, Fransa) birlikte kullanıldı. İzolatların antibiyotik duyarlılığı,

otomatize sistem ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI kriterlerine göre değerlendirildi. Standart suş olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 kullanıldı.

*Pseudomonas* olarak tanımlanan ve IMP ve/veya MEM'e dirençli olan izolatların saf kültürlerinden, gliserollü beyin kalp infüzyon buyyon saklama besiyerlerine alındı ve PCR çalışmasına kadar -20°C'de saklandı. Çalışılacağı zaman saklanan suşların kanlı agara tek koloni pasajları yapılarak PCR uygulandı.

### **OXA Genlerinin Multipleks PCR (M-PCR) ile Çalışma Aşamaları**

Çalışma kültür plaklarından DNA ekstraksiyonu, M-PCR amplifikasyonu ve hibridizasyon olmak üzere üç aşamada yapıldı.

DNA ekstraksiyonu, Hyplex Prep Modul ekstraksiyon kiti (Amplex Diagnostics GMBH, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Hazırlanan DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Ekstrakte edilen DNA örneklerine, ticari kitin içerdiği primerler kullanılarak multipleks PCR (Hyplex CarbOxa ID, Cat.No. 3880; Amplex Diagnostics GmbH, Almanya) ile amplifikasyon işlemi uygulandı. Son aşamada örnekler termal döngü cihazına (Sensoquest Labcycler, Technomed, Almanya) yüklenerek amplifikasyon aşaması tamamlandı. Daha sonra hibridizasyon aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

Hibridizasyon çalışmasında, elde edilen amplifikasyon ürünlerinin ELISA temelli bir sistemde (Hyplex CarbOxa ID, Cat.No. 3881-3884; Amplex Diagnostics GmbH, Almanya) özgül oligonükleotid problemlerle hibridizasyonu sağlandı. Çalışma öncesinde PCR örnekleri termal döngü cihazında 10 dakika 95°C'de denatüre edildi.

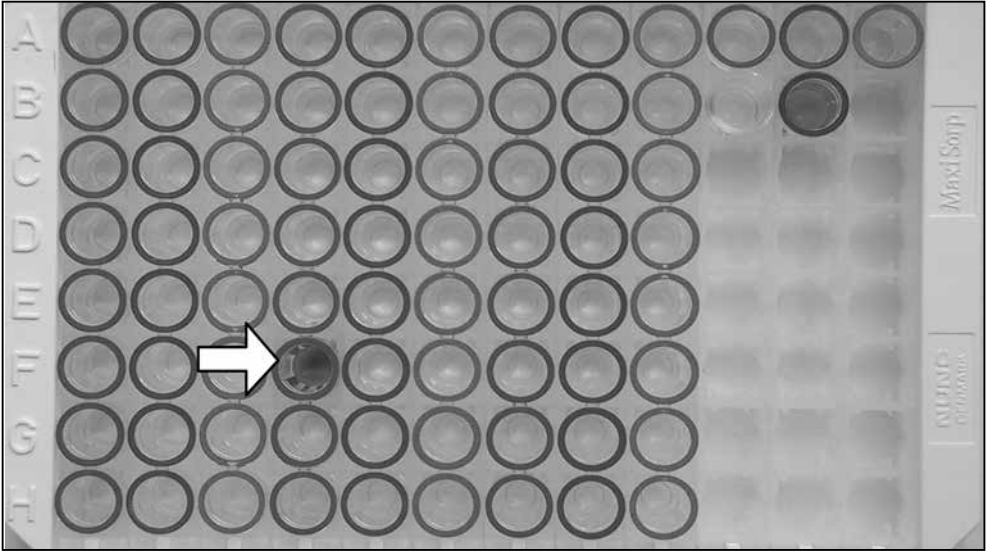
Hibridizasyon çalışmasına başlamadan önce her örnek için üç adet kuyucuk hazırlandı. Farklı renklerdeki kuyucukların her biri, bir gen bölgesini temsil etmektedir. Mor renkli kuyucuk OXA-23, koyu yeşil kuyucuk OXA-40, mavi kuyucuk ise OXA-58 genini göstermektedir. Negatif kontrol için de üç kuyucuk hazırlandı (mor, koyu yeşil, mavi). PCR pozitif kontrol için bir tane koyu mavi olan kuyucuk, "blank" için de bir adet rensiz kuyucuk kullanıldı. Çalışma sonunda kuyucuklardaki renk değişimi izlendi. Son aşamada örnekler fotometrede 450 nm dalga boyunda okutuldu. Fotometrede reaktif kontrol ve negatif kontrolün  $\leq 0.200$ , pozitif kontrolün  $\geq 1.500$  olması durumunda çalışma prosedürü başarılı kabul edilip sonuçlar değerlendirildi. Örnekler için  $\geq 0.400$  olanlar pozitif, 0.200-0.400 arasındakiler sınırda,  $\leq 0.200$  olanlar negatif kabul edildi. Sınırda bulunan örnekler tekrarlandı.

### **BULGULAR**

Çalışmaya alınan 184 *Pseudomonas* spp. suşunun 117 (%63.5)'si erkek, 67 (%36.5)'si kadın hastalardan (yaş ortalaması:  $35.3 \pm 25.13$ , yaş aralığı: 1-89 yıl) izole edilmiştir. Karbapeneme dirençli *Pseudomonas* suşlarının %70 (129/184)'i çeşitli yoğun bakım ünitelerinden gelen örneklerden izole edilmiş; en sık izolasyonun yapıldığı örnek bronkoalveoler lavaj (BAL; %46.2) olmuştur. *Pseudomonas*'larda karbapenem direncine en sık (%32.6) reanimasyon yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde rastlanmış; bunu pediatri klinikleri

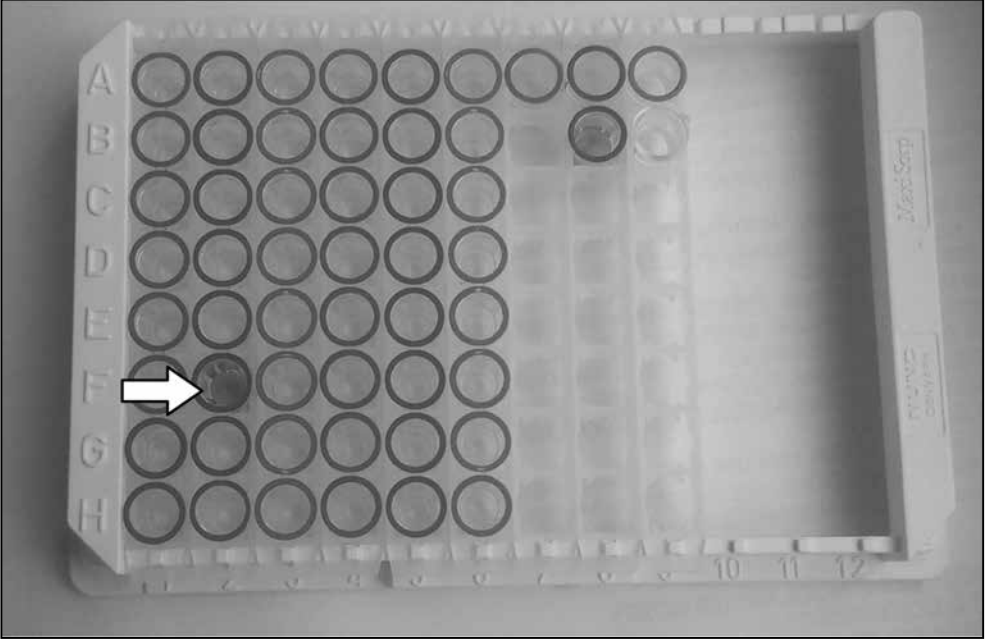
**Tablo 1.** Karbapeneme Dirençli *Pseudomonas* Suşlarının İzole Edildiği Klinik Örneklerle Göre Dağılımı

| Klinik örnek            | Sayı (%)  |
|-------------------------|-----------|
| Bronkoalveoler lavaj    | 85 (46.2) |
| Yara                    | 31 (16.9) |
| Trakeal aspirasyon mayi | 18 (9.8)  |
| İdrar                   | 16 (8.7)  |
| Kan                     | 14 (7.6)  |
| Balgam                  | 10 (5.5)  |
| Boğaz                   | 3 (1.6)   |
| Kateter                 | 3 (1.6)   |
| Drenaj mayi             | 2 (1.1)   |
| Apse                    | 1 (0.5)   |
| Periton                 | 1 (0.5)   |
| Toplam                  | 184 (100) |

**Resim 1.** Mikroplakta OXA-23 pozitifliğinin görüntüsü (OXA-23 pozitifliği ok işareti ile gösterilmiştir. Koyu renkli görülen diğer pozitiflik, pozitif kontrole aittir).

(%13.5) ve çocuk YBÜ (%11.9) izlemiştir. Suşların izole edildiği örneklerle göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda, karbapeneme dirençli 184 *Pseudomonas* suşunun 12 (%6.5)'inde OXA-23, 1 (%0.54)'inde OXA-40 ve 1 (%0.54)'inde OXA-58 pozitifliği olmak üzere, toplam 14 (%7.6) suшта OXA genlerinin varlığı saptanmıştır (Resim 1, 2). OXA-23 pozitifliği



**Resim 2.** Mikroplakta OXA-40 pozitifliğinin görüntüsü (OXA-40 pozitifliği ok işareti ile gösterilmiştir. Koyu renkli görülen diğer pozitiflik, pozitif kontrole aittir).

saptanan 12 hastanın 7'si erkek, 5'i kadın olup, yaşları 12-73 yıl (yaş ortalaması:  $48.5 \pm 19.8$ ) arasında değişmektedir. OXA-23 pozitif suşların 8'i reanimasyon YBÜ, 3'ü acil YBÜ, biri de plastik cerrahi kliniğinden gelen örneklerden (5 BAL, 3 yara, 2 trakeal aspirat, 1 kan, 1 kateter) izole edilmiştir. OXA-40 pozitif suşun reanimasyon YBÜ'deki 54 yaşındaki bir erkek hastanın BAL örneğinden; OXA-58 pozitif suşun ise yine reanimasyon YBÜ'deki 58 yaşında bir erkek hastanın yara örneğinden izole edildiği belirlenmiştir.

## TARTIŞMA

Karbapenem grubu antibiyotikler enfeksiyonların tedavisinde son seçenek durumunda olduğu için, karbapenem direncinin ayrı bir önemi vardır. Karbapenem direncine yol açan en önemli faktör karbapenemazların varlığıdır. Bu karbapenemazlardan *P.aeruginosa*'da sınıf B MBL hakimken, *A.baumannii*'de sınıf D oksasilinazlar hakimdir. Sınıf D oksasilinazlardan KHO'lar sıklıkla *A.baumannii* suşlarında bulunmuştur<sup>15-17</sup>. *Acinetobacter*'ler dışında bir bakteride KHO'ların varlığı, ilk kez Fransa'da yapılan bir çalışmada bildirilmiştir<sup>18</sup>. Bu çalışmada, 1996 ile 1999 yılları arasında farklı hastalardan toplanan 10 *Proteus mirabilis* suşunda kromozomal yerleşimli OXA-23 geni tespit edilmiş ve bu genin yapısı *A.baumannii*'deki OXA-23 geni ile aynı bulunmuştur<sup>18</sup>. OXA-23 üreten *P.mirabilis* izolatlarının IMP için minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri 0.25-0.50 µg/ml arasında, MEM için 2-4 µg/ml arasında olup karbapenem direnci gözlenmemiştir. Bu çalışmada, OXA-23 enziminin karbapenem direncine etkisini göstermek için, OXA-23 kodlayan plazmid ile *Escherichia coli* ve *P.mirabilis* suşundan rekombinasyon

suşları oluşturulmuş ve rekombine suşun MİK değerlerinde yükselme tespit edilmiştir. MİK değerlerindeki bu artış OXA-23 varlığı ile ilişkilendirilmiştir. Adı geçen çalışmada, enterobakterilerde OXA genleri kazanılabilirken, bu genlerin diğer bakteri ailelerine dağılımını engelleyen, bilinmeyen faktörler olabileceği belirtilmiştir. OXA-23 kodlayan plazmid *P.mirabilis* suşuna kazandırılabilmesine rağmen, plazmid bu suşta çoğalamamaktadır. OXA-23 geninin bu suşta sürdürülebilmesi için muhtemelen rekombinasyon, kointegrasyon, veya transpozisyon gibi genetik olaylarla plazmidin kromozoma bağlanması gerektiği ifade edilmiştir<sup>18</sup>.

Girlich ve arkadaşlarının<sup>19</sup> yaptığı bir diğer çalışmada; bir *P.aeruginosa* suşunda doğal olarak bulunan bir oksasilinaz olan OXA-50 geni tanımlanmıştır. Bu genin *A.baumannii*'deki OXA-23 ve OXA-27 genleri ile sırasıyla %44 ve %43 homoloji gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmanın devamında OXA-50 geni bir plazmid üzerine klonlanmış ve *P.aeruginosa* ve *E.coli*'de eksprese edilmiştir. Bu durumun *E.coli*'de meropenem duyarlılığını değiştirmediği, ancak *P.aeruginosa*'da meropenem duyarlılığını azalttığı rapor edilmiştir<sup>19</sup>. Bu araştırmacılar ayrıca, *Ralstonia (Pseudomonas) pickettii*, *Aeromonas* spp., *Shewanella* spp. ve *P.aeruginosa* gibi gram-negatif bakterilerin, oksasilinaz genleri için önemli bir rezervuar olduğunu vurgulamışlardır<sup>19</sup>.

Karbapenemi hidrolize eden oksasilinazlar, MBL ile kıyaslandığında daha zayıf hidrolitik aktiviteye sahiptirler ve bu geni barındıran suşlar IMP ve MER için direnç sınırını oluşturan MİK konsantrasyonlarına ulaşmak için ek direnç mekanizmalarına (dışa-atım ve geçirgenliğin azalması gibi) ihtiyaç duyabilirler<sup>17</sup>. İlk olarak Sevilano ve arkadaşları<sup>16</sup> 2009 yılında, iki *P.aeruginosa* suşunda plasmid üzerinde yer alan OXA-40 genini göstermişlerdir. İspanya'da yapılan bu çalışma, *Pseudomonas*'larda OXA karbapenemazların varlığına dair ilk bildirimdir. Bu genin *A.baumannii*'deki OXA-40 geni ile %100 homoloji gösterdiği belirtilmiştir. Daha önceki bildirimlerin çoğunda, OXA-40 geninin *A.baumannii*'de yalnızca kromozomda yerleştiği belirtilmiş olmasına rağmen, bu çalışmada OXA-40 geninin plazmid üzerinde yer aldığı gösterilmiştir. Bu ve benzer çalışmalarda her ne kadar OXA-40 geni taşıyan plazmidin transferiyle ilgili konjugasyon çalışmaları başarısız olsa da, bu genlerin aktarılabilir elemanlar üzerinde bulunması önemlidir<sup>16</sup>.

Bir diğer çalışmada, KHO'lardan yeni bir grup olduğu belirtilen OXA-198 enzimi bir *P.aeruginosa* suşunda bulunmuş ve yüksek düzeyde karbapenem direncinden bu enzimle birlikte ek direnç mekanizmalarının sorumlu olduğu vurgulanmıştır<sup>20</sup>. Garch ve arkadaşlarının<sup>20</sup> yaptığı bu çalışma, Sevilano ve arkadaşlarının<sup>16</sup> çalışmasından sonra *P.aeruginosa*'daki KHO'ların ikinci tanımlanması olarak belirtilmiştir. OXA-198 *Chlorobi* filumundan yeşil sülfür bakterilerinin bir üyesi olan *Chlorobaculum parvum*'un doğal beta-laktamazları ile %83 aminoasit dizi benzerliği göstermektedir. Sınıf 1 integron üzerinde bulunan ve *Pseudomonas* ya da gram-negatif bakterilere kolayca transfer edilebilen bir plazmid tarafından taşınan bu beta-laktamazın *P.aeruginosa* tarafından kazanılması, KHO'ların yayılmasına yol açabilir. Dahası bu integronun *VIM-1* geni pozitif bir *P.aeruginosa* suşunda bulunan, transpozon ile taşınan genle de çok benzer olduğu ve kolaylıkla konjugatif plazmidlere aktarılacağı belirtilmiştir<sup>20</sup>.

Karbapenemlere karşı beta-laktamazlara bağlı direnç *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Bacteroides fragilis* gibi bazı bakterilerde sap-tanmış olmasına karşın, kromozom kontrolünde olmaları nedeniyle son yıllara kadar oluşturdukları direnç sınırlı kalmıştır. Ancak, son yıllarda plazmid kontrolünde olan karbapenemazların ortaya çıkması, bu durumu değiştirmeye başlamıştır<sup>8,21</sup>. KHO'ların orijini veya muhtemel kazanım mekanizmaları ile ilgili çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bugüne kadar *Acinetobacter*'de tanımlanan KHO'ların kromozomal olarak kodlandığı gözlenmiştir. Ancak bazı türlerde OXA-23 ve OXA-58'i kodlayan genlerin plazmid tarafından da kodlandığı, poliklonal olarak yayıldığı gösterilmiştir<sup>22,23</sup>. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada OXA-40 geninin her iki lokalizasyonda da yer alabileceği bildirilmiştir<sup>24</sup>.

Çalışmamızda; hastanemizde izole edilen karbapeneme dirençli 184 *Pseudomonas* suşundan 12'sinde OXA-23, birer suşta ise OXA-40 ve OXA-58 geni olmak üzere toplam 14 (%7.6) suşta pozitiflik tespit edilmiş olup, bu bulgu bölgemiz ve ülkemizde elde edilmiş ilk veridir. Bu direnç genlerinin *Pseudomonas*larda da yer aldığı ve karbapenem direncine, doğrudan ya da diğer direnç mekanizmalarını sinerjik olarak etkileyerek sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu genlerin taşınabilir elemanlar üzerinde de bulunabilmesi, yayılımları ile ilgili kaygıları artırmaktadır. Karbapeneme dirençli *Pseudomonas* ve diğer gram-negatif bakterilerde direnç mekanizmalarının tümüyle aydınlatılması, alınacak önlemler açısından önem arz etmektedir. KHO'ların bakteri suşları arasında aktarılıp aktarılamayacağı ve *Pseudomonas*'lardaki karbapenem direncine etkisi ileri çalışmalarla irdelenmelidir.

## KAYNAKLAR

- Özgüven V, Dizer U. Monobaktam ve karbapenemler, s: 202-14. Topçu AW, Söyletici G, Doğanay M (ed), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2002, 1. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Gales AC, Menezes LC, Silbert S, Sader HS. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo-beta-lactamase. J Antimicrob Chemother 2003; 52(4): 699-702.
- Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. Expert Opin Investig Drugs 2002; 11(4): 529-44.
- Akalın H. *Pseudomonas* enfeksiyonları. 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 8-10 Nisan 2004, İstanbul. Program ve Özet Kitabı, s: 124-30.
- Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. J Med Microbiol 2009; 58(9): 1133-48.
- Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram negative aerobes. Clin Microbiol Infect 2002; 8(6): 321-31.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(6):1211-33.
- Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(2): 223-32.
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54(3): 969-76.

10. Brown S, Young HK, Amyes SGB. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. Clin Microbiol Infect 2005; 11(1): 15-23.
11. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother 2006; 57(3): 373-83.
12. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, et al. Acquired carbapenemases in gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. Clin Microbiol Infect 2010; 16(2): 112-22.
13. Vahaboğlu H. Çoğul dirençli non-fermentatif gram-negatif basiller. Hastane Enfeksiyonları Derg 2000; 4(4): 222-5.
14. Sarı AN, Bıçmen M, Gülay Z. The first report on the outbreak of OXA-24/40-like carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. Jpn J Infect Dis 2013; 66(5): 439-42.
15. Fritsche TR, Sader HS, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Emerging metallo-beta-lactamase-mediated resistances: a summary report from the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program. Clin Infect Dis 2005; 41(Suppl 4): S276-8.
16. Sevillano E, Gallego L, García-Lobo JM. First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P.aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A.baumannii*. Pathologie Biologie 2009; 57(6): 493-5.
17. Walsh TR. Clinically significant carbapenemases: an update. Curr Opin Infect Dis 2008; 21(4): 367-71.
18. Bonnet R, Marchandin H, Chanal C, et al. Chromosome-encoded class D  $\beta$ -lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(6): 2004-6.
19. Girlich D, Naas T, Nordmann P. Biochemical characterization of the naturally occurring oxacillinase OXA-50 of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(6): 2043-8.
20. Garch FE, Bogaerts P, Bebrone C, Galleni M, Glupczynski Y. OXA-198, an acquired carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(10): 4828-33.
21. Gür D. Temel tiptan kliniğe beta- laktamazlar. Hacettepe Tıp Derg 2002; 33(2): 102-9.
22. Merkier AK, Catalano M, Ramírez MS, et al. Polyclonal spread of bla(OXA-23) and bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina. J Infect Dev Ctries 2008; 2(3): 235-40.
23. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(1): 202-8.
24. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price LS, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(9): 2941-5.