

T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ  
SONUÇ RAPORU

*Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* izolatlarında çeşitli antibiyotik duyarlılıkları ve Pulsed Field Gel Electrophoresis ( PFGE ) yöntemiyle tiplendirilmesi

Proje Numarası: 2012/67  
Proje Yürütücüsünün Adı: Latife İşeri  
Yardımcı Araştırmacıların Adı/Adları:  
Zehra Yürüken, Rıza Durmaz.  
Başlama Tarihi: 01.06.2012  
Bitiş Tarihi: 01.06.2013  
Rapor Tarihi: 30. 08. 2013

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	2
ÖZET .....	3
ABSTRACT .....	4
GİRİŞ VE AMAÇ .....	5
MATERYAL VE YÖNTEM .....	6
SONUÇ VE TARTIŞMA.....	7
LİTERATÜR.....	17
EKLER .....	21

## I. ÖZET

Bakterilerin tanımlanması standart klinik mikrobiyolojik yöntemler ile yapılmış, API 20NE (Biomerieux) sistemi ile doğrulanmıştır. Bakterilerin invitro koşullarda antibiyotiklere direnç durumları Clinical and Laboratory Standards Institute önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bakterilerin klonal ilişkisi epidemiyolojik tiplendirmenin altın standardı olarak tanımlanan pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) ile araştırıldı.

Çalışılan 33 *P. aeruginosa* suşundan 18 genotipi saptandı. Onyedisi (%51,5) suş 5 küme oluşturdu. Yirmi bir suş (%63,6)'i klonal yönden ilişkili bulundu. İzolatların 12 adeti (%36,3) özgü PFGE profili gösterdi. Kırk sekiz adet *A. baumannii* suşundan ise 13 (%27,08) genotip saptandı. Kırk bir (%85,4) suş, 8 küme oluşturdu. Kırk üç (%89,5) suş klonal yönden ilişkili olarak değerlendirildi. İzolatların 5 adeti (%10,4) özgü PFGE profili gösterdi.

*P.aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları %27-39 arası iken *A. baumannii*'nin direnç oranları %71 'in üzerinde yer aldı.

Sonuç olarak, altı ay içerisinde, otuz üç *P. aeruginosa* ve 48 *A. baumannii* izolatu yoğun bakım ünitesinden izole edildi. onların çoğu arasında klonal bağlantılar vardı. Bu yoğun bakım ünitelerinde acil önlemler alınması gerektiğini göstermektedir. .

## II. ABSTRACT

Bacterial identification was performed by traditional methods and confirmed by API 20E (Biomerieux) method. The resistance of isolates to antimicrobials was investigated by according to suggestions of Clinical and Laboratory Standards Institute. The genetic relations were researched by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method.

We observed 18 genotype (% 54, 5) among 33 *P. aeruginosa* isolates. Seventeen (%51, 5) isolates formed 5 clusters. Twenty one isolates (% 63, 6) were found in a clonally relationship. 12 isolates (% 36, 3) had a specific PFGE profile. We determined 13 genotypes (% 27, 08) among 48 *A. baumannii* isolates. Forty one (%85, 4) isolates created 8 clusters. The forty three of strains (%89, 5) were found clonally relationship. Five isolates (% 10, 4) had a specific PFGE profiles.

The resistance rates to antimicrobials of *P. aeruginosa* isolates were 27-39%. The resistance rates of *A. baumannii* were higher than 71% .

Consequently, the thirty-three *P. aeruginosa* and 48 *A. baumannii* isolates were isolated in intensive care unit within a period of six months. There were the clonally relationship among most of them. These isolates caused 81 infections the same and/or different patients with various intervals. It shows that urgent precautions should be taken in intensive care units.

### III. GİRİŞ VE AMAÇ

Hastaneye yatan hastaların % 5-15'inde enfeksiyon gelişmektedir (1). *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* önemli hastane enfeksiyonu etkenleridir. Bunların hastane ortamında uygulanan tedavilerle zaman içerisinde direnç kazanması ciddi tedavi sorunları oluşturmaktadırlar (1-9).

Bu bakterilerin hastalar arasındaki çapraz geçişleri kolonizasyon ve/veya salgın oluşumunu artırır. Hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde hijyen bazlı klasik bilgiler yanında, mikroorganizmanın kaynağı, mikroorganizmaların izole edildiği kaynaklar arasındaki ilişkiyi ortaya koyan suş tiplendirme yöntemlerinin katkısı fazladır (10, 11). Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) ilk kez 1983 yılında tarif edilmiş ve kısa bir sürede moleküler epidemiyolojik analizler arasında "altın standart" haline gelmiştir (12).

Bu çalışmada; Hastanemizde sık görülen *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının yayılımı ve hastanemizde sık kullanılan antibiyotiklere direnç gelişimini önlemeye katkıda bulunmak amacıyla, yoğun bakım örneklerinden izole edilen her iki bakterinin de suşları arasındaki klonal ilişkiler PFGE yöntemiyle araştırılmış, antibiyotiklere direnç oranları saptanmış, benzer suşların antibiyotiklere karşı direnç durumları incelenmiştir.

## V. MATERYAL VE YÖNTEM

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Süleyman Demirel Uygulama ve Araştırma hastanesi yoğun bakım ünitesinde Kasım 2009- Nisan 2010 yılları arasında yatan hastaların çeşitli materyallerden 33 adet *P. aeruginosa* ve 48 adet *A. baumannii* suşu izole edildi.

Kanlı ve EMB besiyerlerine ekilen örneklerden üreyen suşlar TSİ, üre sitrat, indol, hareket, besi yerlerine çekilerek geleneksel yöntemlerle tanımlanmıştır. Amikacin 30 µg, Ceftazidim 30 µg, Gentamicin 10 µg, İmipenem 10 µg, Cefepime 30 µg, Piperacillin/Tazobactam 100/10 µg, Aztreonam 30 mcg, Meropenem 10 mcg diskleri kullanılarak antibiyotiklere karşı dirençleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıp Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine değerlendirilmiştir. Genotiplendirme işlemi pulsed field jel elektroforezi (PFGE) yöntemi kullanılarak yapılmıştır (12-20).

## VI. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada yoğun bakımdan 33 *P. aeruginosa* izole edildi. PFGE profillerine göre 18 genotip gözlemlendi. Tüm suşların %51'ini (17 suş) içeren 5 küme oluştu. 3 ve daha fazla bant farkı kriterine göre 21 suş (%63.6 oranında) klonal yönden ilişkili bulundu. Dendogramı şekil 1de verilmiştir.

Birinci Küme: (genotip 1) aralarında PFGE e göre bant farkı olmayan iki suşdan (18, 62 nolu suşlar) oluşmaktaydı.. Bir ay ara ile iki farklı hastadan izole edilen bu suşlardan biri (62 nolu suş) tüm antibiyotiklere duyarlıyken, diğeri (18 nolu suş) tüm antibiyotiklere dirençli bulunmuştur.

İkinci Küme: aynı PFGE gen dizilimine sahip iki suşu (82, 85 nolu suşlar) ve onlara benzerlik (%97) gösteren 63, 65, 66, 67, 68, 81, 82, 85 nolu suşları içeren genotip 3 den oluşuyordu. Tümü test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu.

Üçüncü küme: aynı hastadan izole edilen 3 suştan oluşmaktadır. Genotip 10 ve 10a yı içerir. Genotip 10, 70 ve 80 nolu suşları kapsamaktaydı. Bunlar genetik olarak %96,6 benzerken, antibiyotiklere dirençleri tamamen farklıydı. 70 nolu suş tüm antibiyotikleri duyarlı 80 nolu suş tümüne dirençli bulundu. Genotip 10a (72 nolu suş) bunlarla %94,6 oranında genetik benzerliğe sahipti ve tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu.

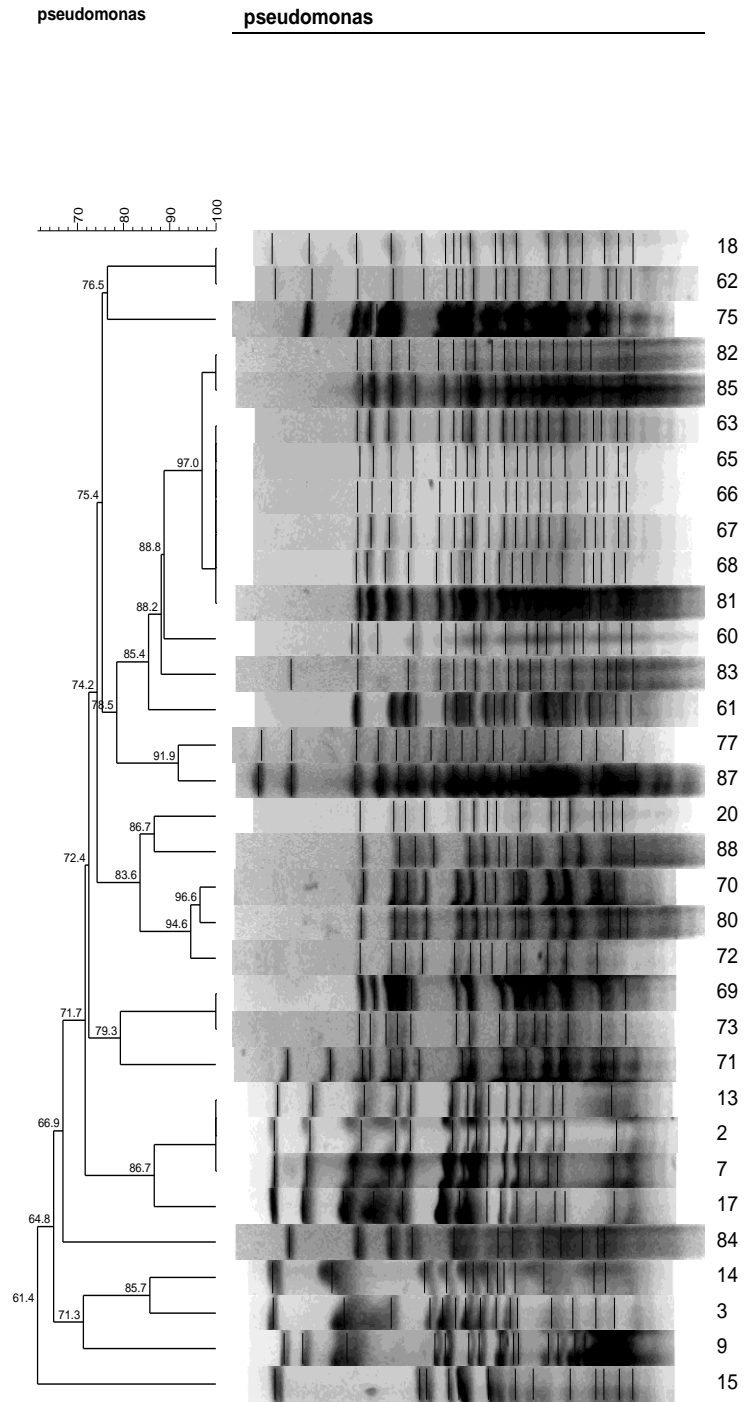
Dördüncü küme: (genotip 11). PFGE profilleri aynı, farklı antibiyotik profillerine sahip iki suştan oluşmaktadır (69,73). 69 nolu suş tüm antibiyotiklere duyarlıydı. 73 nolu suşun sadece IMP ve MEM' e duyarlı FEP' e ise az olduğu gözlemlendi. Bunlar 6 ay ara (Kasım-Nisan) ile farklı hastalardan izole edilmiştir.

Beşinci küme: genotip 13; ikisi aynı (2 ve 7 nolu suşlar) biri farklı (13 nolu suş) hastadan izole edilen aynı PFGE profiline sahip üç suş içermektedir. 7 nolu nolu suş tüm antibiyotiklere dirençli bulundu. 13 nolu suş CN ve AK, 2 nolu suş CN duyarlıydı

*P. aeruginosa* suşlarının %30 TPZ'e, %30'u AK'a, %27'si CN, %30'u FEP, %30'u IMP, %33'ü MEM, %36'sı CAZ, %39'u AZT'e dirençli bulunmuştur ( tablo 1).

*P. aeruginosa* izolatlarının %40'i çoklu antibiyotik direncine sahipti (3 ve daha fazla antibiyotiğe direnç). %60'ı tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu.. En duyarlı oldukları antibiyotik ise %73 direnç oranıyla CN olarak saptandı.

Şekil 1- *P. Aeruginosa* dendogramı



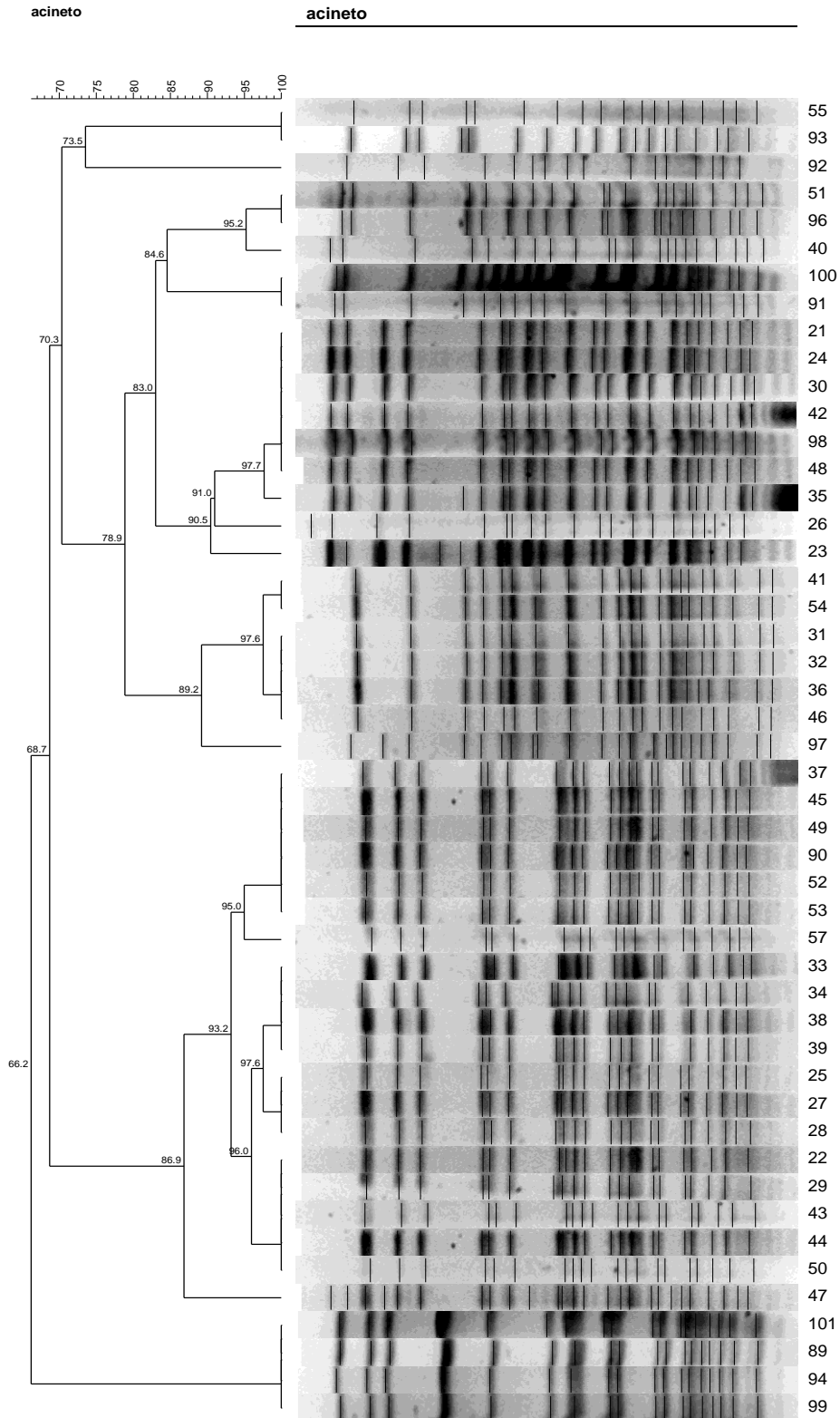


**Tablo 1-** İzolatların antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>	
	S	R	S	R
TPZ	8(24.2)	10(30.3)	2(4.1)	45(91.8)
AK	23(69.7)	10(30.3)	9(18.4)	37(75.5)
CN	23(69.7)	9(27.3)	22(44.9)	23(46.9)
FEP	18(54.5)	10(30.3)	8(16.3)	40(81.6)
IMP	22(66.7)	10(30.3)	14(28.6)	35(71.4)
MEM	22(66.7)	11(33.3)	14(28.6)	35(71.4)
CAZ	20(60.6)	12(36.4)	5(10.2)	42(85.7)
AZT	20(60.6)	13(39.4)	5(10.2)	44(89.8)

Altı aylık süre içerisinde toplam 48 *A. baumannii* suşu izole edilmiştir. bunların 22 si (%46) si balgam örneğiydi. Solunum enfeksiyonlarının (balgam örnekleri) hepsinin mekanik ventilasyona bağlı olarak geliştiği saptanmıştır. En dirençli *A. baumannii* suşları kan ve BOS kültürlerinden izole edildi. Kan izolatlarını biri CN'e duyarlı 9'u (%90) tüm ilaçlara dirençli bulundu. İkinci sırada yüksek direnç oranları balgam izolatlarında saptandı. Bunların 4' ü (%18) tüm ilaçlara dirençliydi biri az duyarlı olmak üzere 7'si (%39) sadece CN' e duyarlı bulundu.

Şekil 2- *A. baumannii* dendogramı



Örneklerin dağılımı tablo 2’ de verilmiştir.

**Tablo 2 - Örnek türü ve izole edildiği bakteriler ( p=0.003, Ki-kare testi)**

Örnek	<i>P. aeruginosa</i> (%)	<i>A.baumannii</i> n(%)
Balgam	7 (%21.2)	22 (%44.9)
İdrar	11 (%33.3)	5 (%10.2)
Yara	9 (%27.3)	6 (%12.2)
Kan	3 (%9.1)	10 (%20.4)
BOS	–	5 (%10.2)
Diğer	3 (%9.1)	1 (%2)

İzole edilen 48 adet *A. baumannii* suşunun %92 TPZ, %75.5’u AK, %47’si CN, %82’u FEP, %71’i İMP, %71’i MEM, %86’sı CAZ, %90’u AZT dirençli bulunmuştur( tablo 1). Bunların %91.6 (44 suş) çoklu antibiyotik direncine sahipti. Suşların 21’i (%43) tüm antibiyotiklere dirençli bulundu. İki az duyarlı olmak üzere 13 suş (%27) sadece CN duyarlıydı. En sık direnç ise TPZ’e görüldü (%91.8). İki TPZ’ ye az duyarlı olmak üzere 4 suş (%8) tüm antibiyotiklere duyarlıydı. Bu dört suşun ikisi yüzde yüz benzer genotipteydi. Bunlar ve diğer iki izolat arası benzerlik çok düşüktü (%66,68).(tablo 1).

Kırksekiz *A. baumannii* izolatı PFGE ile 13 genotip oluşturdu. Kırkbir suşu içeren 8 küme oluştu ve 5 tane (%10,4) özgül suş saptandı. Üç yada daha aşağı bant farkı oluşturma kriteri göz önüne alındığında 48 suşun 43’ü (%89,5) klonal açıdan ilişkili olarak değerlendirildi.

Birinci Küme: genotip 1: aynı PFGE genotipine sahip iki suştan oluşuyordu (93, 55 nolu suşlar). Biri Kasım 2009’ da idrar yolu enfeksiyonununundan diğeri Aralık 2009’ da başka hastanın BOS’ undan izole edilmiştir. Her ikisi de tüm antibiyotiklere dirençli bulunmuştur.

İkinci Küme: genotip 3 PFGE genotipleri aynı iki suştan oluşmaktadır (51 ve 96 nolu suşlar). Tüm antibiyotiklere dirençli olan 51 nolu suş Aralık 2009’ da yaradan izole edilmiş. Diğeri FEP’ e az duyarlı MEM ve İMP’e duyarlı bulunmuştur. Ocak 2010’ da başka bir hastanın balgamdan izole edilmiştir. Bu küme ile %95.2 oranında benzer olan bir başka suş 3a olarak değerlendirildi. Bu suş sadece CN’ e duyarlıydı.

Üçüncü Küme: genotip 4 PFGE bantları aynı iki izolatu içerir. Bu suşlardan ilki (100 nolu suş). Ekim 2009' da yaradan izole edilmiş, İMP, MEM, AK ve CN duyarlı bulunmuştur. İkincisi (91 nolu suş) bundan bir ay sonra başka bir hastanın balgamında saptanmış ve tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Dördüncü Küme: genotip 5, birbiri ile aynı PFGE bandına sahip 6 (21, 24, 30, 42, 98, 48 nolu suşlar) suş ve bunlara %97,7 oranında benzeyen 35 nolu suştan oluşmaktadır. 48 nolu suş tüm antibiyotiklere dirençliydi. 21, 24 ve 42 nolu suşlar aynı antibiyotik direnç profiline sahipti ve sadece gentamisine duyarlıydı. 30 nolu suşun AK az duyarlı, CN' e duyarlı olduğu gözlemlendi. 35 nolu suş gentamisin ve amikasin duyarlıydı. 98 nolu suş ise FEP, İMP ve MEM'e duyarlı CAZ'a az duyarlı bulundu. 21 ve 42 nolu suşlar aynı hastadan, 38 ve 35 nolu suşlar aynı hastadan, olmak üzere 5 farklı hastadan Aralık 2009-Mart 2010 arasında izole edildiler.

Beşinci Küme: genotip 8 (41, 54, 31, 32, 36, 46 nolu suşlar) beşi Kasım ve Aralık 2009' da ,biri Şubat 2010'da izole edilmiştir (41 nolu suş). Dört suş (46, 31, 36, 32 nolu suşlar) aynı yılda farklı hastalardan alınan üç balgam, bir kan kültüründen izole edildi ve aynı genotipe sahipti.

Altıncı Küme: genotip 10 PFGE bantları aynı olan, altı suşu içeriyordu (suş numaraları: 37, 45, 49, 90, 52, 53 nolu suşlar). 90 nolu suş TPZ, AZT' ye dirençli diğerlerine duyarlı iken diğerleri tümüne dirençli bulundu.

Yedinci Küme: genotip 11. Birbiri ile %97.6 ve %96 PFGE gen benzerliğine sahip 3 gruptan oluşmaktadır. Birincisi birbiri ile aynı olan 33, 34, 38, 39 nolu suşları içerir. Bunlar farklı hastaların balgam, kan ve yara kültürlerinde üremiştir. Yaradan izole edilen 39 nolu suş tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu. 33 ve 34 nolu suşlar sadece aminoglikozitlere (AK ve CN) duyarlıydılar. 38 nolu suş tüm antibiyotiklere dirençliydi ve kandan izole edildi.

İkinci grup birbiri ile aynı, birinci gruptaki suşlarla %97,6 benzer genotipe sahip, tüm antibiyotiklere dirençli 25, 27, 28 nolu suşlardan oluşmaktadır. 25 ve 28 nolu suşlar aynı hastanın balgam ve yarasında sırasıyla Aralık 2009 ve Ocak 2010' da izole edildi. diğeri Aralık 2009' da farklı bir hastanın kanından izole edildi.

Üçüncü grup (22, 29, 43, 44 ve 50 nolu suşlar) birbiri ile aynı diğerleri ile %96 benzer genotipe sahipti. 50 nolu suş sadece gentamisine duyarlı diğerleri tüm antibiyotiklere dirençli bulundu.

Sekizinci küme: genotip 13; genotip olarak birbirinin aynı antibiyotik direnç profili açısından farklı bulunan 4 suşu (101, 89, 94, 99 nolu suşlar) içeriyordu. Farklı hastaların

idrar ve balgamından izole edilmişlerdi. 99 ve 100 nolu suşlar aynı atadan köken alan farklı direnç profiline sahip suşlar olabilir. 100 nolu suş sadece TZP, AK ve AZT' ye dirençli 99 nolu suş ise sadece İMP ve MEM' e duyarlı bulundu. İki suş (89, 94 nolu suşlar) biri TPZ' ye az duyarlı olmak üzere tüm antibiyotiklere duyarlıydı.

*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* önemli hastane enfeksiyonu etkenleridir (21-23). bunların hastane ortamında uygulanan tedavilerle zaman içerisinde direnç kazanması ciddi tedavi sorunları oluşturmaktadırlar (24). *P. aeruginosa* kökenleri; idrar yara ve trakeal aspirat örneklerinden izolasyon ilk üç sırayı almaktadır (25, 26, 27). Yaptığımız çalışmada; hastane enfeksiyonu etkeni olan *P. aeruginosa* suşları, en sık idrar örneklerinden (%33,3) izole edilmiştir. İkinci sıklıkta yara örnekleri (%27,3) ve üçüncü ise balgam örnekleri (%21,2) gelmektedir.

Otuz üç *P. Aeruginosa* suşunun 21 klonal olarak benzer bulundu. 17 suş 5 küme oluşturdu. Genotip 1'de yer alan iki suşun antibiyotik direnç profilleri tamamen zıttı ve sadece bir ay ara ile izole edilmişti. Bu nedenle birinden diğerine yayıldığı söylenemez. Ancak ortak atadan gelen, zaman içerisinde antibiyotiklere direnç kazanan aynı genotipe sahip iki farklı suş olarak değerlendirilebiliriz.

Genotip 2 nin ilk izolatu (85 nolu suş) kan örneğinden Kasım 2009'da izole edildi. aynı genotip (82 nolu suş) bir ay sonra başka hastanın yarasından izole edildi.

Genotip 3'ün iki suşu (63 ve 65 nolu izolatlar) aynı hastanın idrar ve yarasında eş zamanlı (Ocak 2010) saptandı. Aynı genotip, bir ay sonra başka bir hastanın (66 ve 81 nolu suşlar) idrar ve yarasından yine eş zamanlı izole edildi. Diğer üçü farklı hastalarda, yakın zamanlarda enfeksiyonlara neden oldu. Son izolat Nisan 2010' da gözlendi. Bu durum, aynı genotipin, personel aracılığıyla hastalar arasında 4 ay boyunca taşındığını göstermektedir.

Genotip 10 (70 ve 80 nolu suşlar) ve 10a (72 nolu suş) yı içeren üçüncü küme oldukça ilginçti. Bu kümedeki tüm suşlar aynı hastadan izole edildi. Genotip 10' un 80 nolu suşu hastanın balgamından 15 Mart'ta saptandı. Aynı tarihte yarasından genotip 10a (72 nolu suş) izole edildi. 70 nolu suş Mayıs da aynı hastanın yara kültüründen izole edildi. Bu tarihte hastanın kateterinden küme dışı özgül bir suş olan genotip 9 da izole edildi.

70 ve 80 nolu suşlar %96.6 oranında genotip benzerliğine sahipti. 70 nolu suş tüm ilaçlara duyarlıyken 80 nolu suş tümüne dirençli bulundu. Bunlarla %94,5 oranında genetik benzerliğe sahip olan genotip 10a da tüm ilaçlara duyarlı bulundu. Genotip 9 da tüm ilaçlara duyarlıydı. Aynı hasta 2 ay içerisinde yukardaki dört farklı suşla enfekte olmuştu.

Dördüncü küme aynı gen dizilimine farklı antibiyotik duyarlılığına sahip iki suşu içeren Genotip 11 Kasım 2009 ve Nisan 2010' da iki farklı hastada yara ve solunum yolu enfeksiyonu yaptı.

Beşinci küme: genotip 13 ün Kasım 2009'da izole edilen 13 nolu suşu CN ve AK' e duyarlıydı. 2 nolu suş eş zamanlı olarak farklı bir hastanın idrarından izole edildi. Sadece CN duyarlıydı. Bu suş muhtemelen hastanede var olan genotip 13 ün AK' e direnç kazanması ile oluşmuştu. 3 ay sonra aynı genotip, (13 nolu suş) hastanın yarasından tekrar izole edildi. Bu süre içerisinde CN' e de direnç kazanmıştı.

Hastanemizde yoğun bakım ünitesinde 6 ay boyunca görülen 33 *P. aeruginosa* enfeksiyonu gözlemlendi. 18 genotip oluştu. Bunlardan izole edilen suşların %40' i çoklu antibiyotik direncine sahipti( 3 ve daha fazla antibiyotiğe direnç). %60' ı tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu.. En duyarlı oldukları antibiyotik ise %70 direnç oranıyla CN olduğu saptandı. TPZ, AK, FEP, İMP, MEM, CAZ, AZT'ye direnç oranları %27 ile 39 arasında yer aldı. Brezilya, Hindistan ve Türkiye' den yoğun bakım ve travma ve yanık ünitesi kökenli *P. aeruginosa* suşlarında bildirilen direnç oranları; FEP %54.5, AZT %36.4-88, MEM %45.4, CN %36.4-100, İMP %37- %50, TPZ %23,5 -56, AK %18.2-26, %29,6-59, CAZ %35-45,8, %54.5- 96, (24, 28-31) bizim direnç oranlarımız bunlardan genellikle daha düşük olduğu (TPZ %30, AK %30, CN %27, FEP %30, İMP %30, MEM %33, CAZ %36, AZT %39) gözlenmektedir. Bu hastanemiz açısından sevindirici bir durumdur. Ancak 6 ayda 33 *P. aeruginosa* enfeksiyonu yoğun bakım ünitesi için ciddi bir sorundur.

Hastanemiz yoğun bakım ünitesinde 6 ay boyunca 48 suş izole edilmiş, 13 *A. baumannii* genotipi görülmüştür. Tüm antibiyotiklere dirençli olan genotip 1 bir ay ara ile iki farklı hastada, biri ciddi olmak üzere iki enfeksiyona neden olmuştur.

Genotip 3 ve 4 muhtemelen hastane kaynaklı suşlardı. Her iki genotip de kendi aralarında aynı PFGE bantlarına sahip ikişer suş içeriyordu ve antibiyotik direnç profilleri farklıydı. Genotip 3'ün suşları (51 ve 96 nolu suşlar) ortak ata ve hastane kökenli, zaman içinde farklı antibiyotiklere direnç oluşturmuş suşlar olmalıdır. Genotip 3a da bunlara yakın benzerliğe (%95,2) sahip olması nedeni ile hastane kökenli bir suş olabilir. Genotip 4 ün 100 ve 91 nolu suşları da yine hastanede ortak bir atadan köken alan farklı antibiyotik direnç profillerine sahip suşlar olmalıdır.

Genotip 5' in iki suş (21 ve 42 nolu suşlar) aynı hastanın balgamında bir ay ara ile saptandı aynı genotipe sahiptiler sadece CN' e duyarlıydılar. Muhtemelen aynı hastanın devam eden solunum yolu enfeksiyonundan alınmış iki ayrı örnekten üremişti.

Genotip 5' in PFGE de bir bant farkına sahip olan iki farklı suşu (48, 35 nolu suşlar) iki ay içinde aynı hastada gözlemlendi. İlki (48 nolu suş) kandan izole edildi tüm antibiyotiklere dirençliydi. İkincisi kateter enfeksiyonundan izole edildi AK ve CN' e duyarlıydı. Genotip 5'in diğer suşları (24, 98, 30 nolu suşlar) farklı hastaların balgam örneğinden izole edilmişti. 30 nolu suş aralıkta izole edildi ve AK az duyarlı CN' e duyarlı bulundu. 24 nolu suş Mart' da izole edildi ve sadece CN' e duyarlıydı. Bu suş 30 nolu suşun zaman içerisinde AK'e direnç kazanmasıyla oluşmuş olabilir. Genotip 5'in yaptığı enfeksiyonların tümü muhtemelen aynı genotipin zaman içerisinde antibiyotiklere direnç kazanması ile oluşmuş, hastanemize ait suşlarla oluşmuştu.

Genotip 8'in aynı hastanın balgam ve kanından iki ay ara ile izole edilen 54, 41 nolu suşlarının PFGE bantları aynıydı. İkiside sadece CN 'e duyarlı bulundular. Hasta ya solunum yolu enfeksiyonu ardından sepsise girmişti yada başından beri sepsisliydi. Bu iki suş genotipin 8' in diğer dört suşuna %97.6 oranında benzerdi. Genotip 8' in diğer dört suşu (31, 36, 32, 46 nolu suşlar) PFGE' de aynı genotipe sahipti ve bunlar farklı kişilerden izole edilmişti. 31, 46 nolu suşlar sadece CN' e duyarlı 36 nolu suş CN' e orta duyarlı, 32 nolu suş hepsine dirençli bulundu. Bu grup genotip 82 in zaman içinde CN' ne direnç kazanması ile oluşmuş suşlardı.

Genotip 10' un iki suşu (45, 49 nolu suş) aynı hastaya aitti. Aralık 2009 ve Ocak 2010 da kan ve BOS' dan izole edilmişti. Hasta muhtemelen sepsisliydi.

Bu genotipin daha duyarlı olan suşu (90 nolu suş) bir hastanın balgamında izole edildi. Diğer 5 suşunun 3'ü kan ikisi BOS' dan izole edildi ve bunlar tüm antibiyotiklere dirençli suşlardı. 90 nolu suş hariç tümü aynı bakterinin dört farklı hastaya yayılarak oluşturduğu hastane enfeksiyonları olmalıdır.

Genotip 11 in 33, 34 nolu suşları Kasım ayında iki farklı hastada solunum yolu enfeksiyonu yapmıştı, aynı PFGE bantlarına sahipti ve sadece aminoglikozitlere duyarlıydı. Bu iki suş birinden diğerine taşınmış aynı etken olabilir. 38 nolu suş Ocak 2010 da farklı bir hastanın kanında görüldü. Bu suş 33, 34 nolu suşların bu süre içinde aminoglikozitlere direnç kazanmasıyla oluşmuş hastanemize ait bir suş olduğunu düşünüyoruz.

Haziran 2010' da izole edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunan 39 nolu yara izolatu, 33, 34, 38 nolu suşlarla aynı PFGE bantlarına sahip olması nedeniyle hastanemiz kökenli bu suşların duyarlı bir formu olabilir.

Genotip 11 in ikinci grubunda yer alan 25, 27, 28 nolu suşlar hastanemizde var olan ve hastalar arası personel aracılığıyla taşınan suşlar olmalıdır. Bunların öncekilerle benzerliği %97.6 olarak gözlemlendi.

Genotip 11' in üçüncü grubunu oluşturan önceki suşlarla %96 benzerliğe sahip olan 5 suştan 43, 44 nolu iki suş aynı hastanın Aralık 2009 ve Ocak 2010' da balgam ve kanından izole edildi. Muhtemelen bunlar hastada devam eden bir enfeksiyonun iki farklı kültüründen izole edilmiş aynı suşlardı. Diğer üç suşun ikisi Aralık 2009 ve Ocak 2010 izolatydı. Farklı hastalardan izole edilmişti 22, 29 ve 43, 44 nolu suşlar hastalar arasında personel tarafından taşınan hastane suşları olmalıdır. Bunlarla aynı PFGE tipine sahip sadece CN duyarlı olan 50 nolu suşun ise aynı atadan köken alan yine hastanemize ait bir suş olmalıdır.

Genotip 11'in tüm ilaçlara duyarlı bulunan 39 nolu suşu hariç diğer 11 suşu hastanemize ait muhtemelen kendi personelimiz aracılığıyla taşınan hastane enfeksiyonu etkenleriydi.

Genotip 13' ü oluşturan 4 suşun ikisi 89 ve 94 nolu suşlar aynı suşun hastane içi yayılımı olmalıydı. Diğer ikisi ise (99 ve 100 nolu suşlar) aynı kökenin hastane içerisinde zamanla bazı ilaçlara direnç kazanması ile oluşmuş yeni suşlar olmalılar.

Yoğun bakım kökenli suşların antibiyotik direnç oranları Brezilya, Hindistan ve Türkiye'den FEP % 63.68 , AZT %72.7, CAZ % 63.6, %85, %97, MEM % 63.6, CN %45.4, İMP %54.5, %85.5, %88.9, TZP %37, %45.4, AK %27.3, %43, %92 olarak bildirilmiştir (28, 30, 31). Bizim suşlarımızın %92 'si TPZ, %75.5'u AK, %47'si CN, %82'u FEP, %71'u İMP, %71'ü MEM, %86'sı CAZ, %90'u AZT dirençli bulunmuştur ( tablo 1). Yoğun bakım ünitemizde 6 ayda 48 enfeksiyonun görülmesi ve etken olarak izole edilen bu suşların antibiyotiklere direnç oranlarının bu kadar yüksek oluşu endişe verici bir sonuçtur.

Sonuç olarak : 6 aylık bir süre içinde yoğun bakım ünitesinden izole edilen 33 *P. aeruginosa*, 48 *A. baumannii* suşu; bazen aynı hasta bir iki ay ara ile aynı tür bakterinin farklı genotipiyle, bazen de farklı hastalarda aynı genotiple 81 farklı enfeksiyona neden oldu. Altı ayda bu kadar fazla enfeksiyonun görülmesi, *P. aeruginosa* suşlarının direnç oranlarının kısmen düşük olması tedavi şansını yükseltse de, *A. baumannii* suşlarının bir çok ilaca karşı yüksek direnç oranları göstermesi yoğun bakım ünitelerinde acil önlemler alınması gerektiğini göstermektedir.



## VII. LİTERATÜR

1. Yüce A. : Hastane İnfeksiyonlarının önemi ‘ ‘ A. Yüce, N. Çakır (eds) : Hastane İnfeksiyonları ‘ ‘ kitabı, Güven Kitapevi, İzmir, 2003: 3
2. Berezin BE, Towner KJ. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens. Microbiological, clinical and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996;9:148–65.
3. Peterson DL. Serious infections in the intensive care unit: *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis 2006;43 (suppl 2):41–2.
4. Ardiç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. Ankem derg 2004;18:145–8.
5. Jain R, Danziger LH. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: an emerging challenge to clinicians. Ann. Pharmacother. 2004;38:1449–1459.
6. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant gram-negative bacteria. Int. J. Antimicrob. Agents 2005;25:11–25.
7. Pollack M. *P. aeruginosa*: Mandell GL, Douglas RL, Bennett JE, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York:Churchill Livingstone; 1995; p:1980-2003.
8. Yalçın N. Nozokomiyal Gram-negatif çomak infeksiyonları. Klimik Derg 2000 özel sayı: 23-25.
9. Çiftçi İH, Çetinkaya Z. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005;35(2):98-102.
10. Aparajita, Richard V. Goering, Shabbir S, Steven L. Foley,5, Marcus J. Zervos. Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. Clin Microbiol 2006;19:512- 530.
11. Jarvis WR. Usefulness of molecular epidemiology for outbreak investigations. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 1994;15:500–503.

12. Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, Heersma H, Dijkshoorn L. Standardization and Interlaboratory Reproducibility Assessment of Pulsed-Field Gel Electrophoresis-Generated Fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 2005; s: 4328-4335.
13. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1997;18(6):426–39.
14. Centers for Disease Control and Prevention: Standardized laboratory protocol for molecular subtyping of *Escherichia coli* 0157:H7, non-typhoidal *Salmonella* serotypes, and *Shigella sonnei* by pulsed- field gel electrophoresis (PFGE), [http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/ecoli\\_salmonella\\_shigella\\_protocols.pdf](http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/ecoli_salmonella_shigella_protocols.pdf).
15. Turabelidze D, Kotetishvili M, Kreger A, Morris JG Jr, Sulakvelidze A: Improved pulsed-field gel electrophoresis for typing vancomycin-resistant enterococci, *J Clin Microbiol* 2000;38(11):4242-5.
16. Kayabaş Ü, Bayraktar M, Otlu B, Uğraş M, Ersoy Y, Bayındır Y and Durmaz R, : An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures in a urology unit: A pulsedfield gel electrophoresis-based epidemiologic study: *Am J Infect Control* 2008;36:33-8.
17. Güdücüoğlu H, Durmaz R, Yaman G, Çizmeci Z, Berktaş M, Durmaz B: Spread of a single clone *Acinetobacter baumannii* strain in an intensive care unit of a teaching hospital in Turkey, *New Microbiol* 2005;28(4):337-43.
18. Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A et al: Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrugresistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy, *Clin Microbiol Infect* 2007;13(5):481-9.
19. Maslow JN, Glaze T, Adams P, Lataillade M: Concurrent outbreak of multidrug-resistant and susceptible subclones of *Acinetobacter baumannii* affecting different wards of a single hospital, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(1):69-75.
20. Harald Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, Heersma H, Dijkshoorn L: Standardization and Interlaboratory

- Reproducibility Assessment of Pulsed-Field Gel Electrophoresis-Generated Fingerprints of *Acinetobacter baumannii*: Journal of Clinical Microbiology, Sept. 2005; p: 4328–4335.
21. Levin AS, Gobara S, Mendes C.M.F, Cursino R, Sinto S.Environmental Contamination by Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22: 717-720.
  22. Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* Suşlarının Karbapenemlere ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2004;18(3):145-148.
  23. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G, Özbakkaloğlu B. Yoğun Bakım Ünitesi ve Diğer Ünitelerde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İn-vitro Antibiyotik Direnci. *Ankem Derg* 2005;19(3):115-118.
  24. İnan A, Özgültekin A, Akçay Şenbayrak S, Engin Öztürk D.Altertions in Bacterial Spectrum and Increasing Resistance Rates in IsolatedMicroorganisms from Device-Associated Infections in an İntensive Care Unit of a Teaching Hospital in İstanbul. *Jpn J Infect Dis*, 2012;65:146-151.
  25. Aydın K, Çaylan R, Köksal İ, Volkan S, Öksüz R. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılığı. *Hastane İnfek Derg.*2000; 4: 92-96.
  26. Turgut H, Turhanoğlu M, Çetin ÇB, Yalçın AN. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının bazı antibiyotiklere direnci. *İnfek Derg.* 2002;16, 63-66.
  27. Akçay SS, Topkaya A, Oğuzoğlu N. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında imipenem ve meropenem duyarlılığı. *İnfek Derg.* 2003;17: 465- 469.
  28. Stratevo T, Ouzounova-Raykova V, Markova B, Todorrova A, Mortava-Proevski Y, Mitov I: Problematic clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the university hospitals in Sofia, Bulgaria: current status of antimicrobial resistance and prevailing resistance mechanisms. *J Med Microbiol.* 2007 Jul;56(Pt7):9:56-63.

29. Resende M.M, Monteiro S.G, Callegari B, Figueiredo P.M.S, Monteiro C. R. A. V, and Monteiro-Neto V. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in northern Brazil an analytical descriptive cohort study. *BMC Infect Dis.* 2013;13: 119.
30. Zoghalmi A, Kanzari L, Boukadida J, Messadi A.A, Ghanem A. Epidemiological profile and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in burn and Traumatology Center in Tunisia over a three-year period. *La tunisia Medica*,2012; Vol 90(no:011): 803-806.
31. Goel V, Hogade A.S and Karadesai S.G. Ventilator associated pneumonia in a medical intensive care unit: Microbial aetiology, susceptibility patterns of isolated microorganisms and outcome. *Indian J Anaesth*,2012 Nov-Dec;56(6):558-562.

## VIII. EKLER

- a) Proje kapsamında alınan Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar:

Proje kapsamında alınan makine ve teçhizat laboratuvarımızda korunmakta ve Kırıkkale Üniversitesi proje araştırma dairesince desteklenen diğer projemizin çalışmalarında kullanılmaya devam edilmektedir.

- b) Sunumlar-bildiriler

Henüz herhangi bir sunum ve bildiri yapılmamıştır.

- c) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler).

Çalışma henüz herhangi bir dergide yayınlanmamıştır Makale yazımı devam etmektedir. Herhangi bir dergide basımı halinde bildirilecektir.