

MALİGNİTELİ OLGULARDAN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARININ
TİPLENDİRİLMESİA. Turan SOY¹ O.Cem AKTEPE¹ Hüfya ALTINYOLLAR¹
Nılay ÇÖPLÜ¹ EngİN GÜVENER²

ÖZET

Bu çalışmada Ankara'da değişik hastanelerin Onkoloji Ünitelerinde çeşitli malignite tanılıları ile izlenmekte olan 171 olgunun *Pseudomonas aeruginosa* ile kolonizasyonları ve infeksiyonları araştırıldı. Hastalardan izole edilen 32 *P. aeruginosa* izolatında piyosin oluşturma (Fyfe ve ark.nın "spotting" yöntemi ile) ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarına göre tiplendirme çalışmaları gerçekleştirildi. Elde edilen disk zon çapları multivaryant istatistik analiz yöntemi ile birbirleriyle karşılaştırıldı. *P. aeruginosa* ile kolonizasyon ve infeksiyon ilişkisini belirlemek amacıyla elde ettiğimiz sonuçların güvenilirlik parametreleri Galen ve Gambino'nun yöntemlerine göre saptandı. Sonuç olarak piyosin tiplendirmesi ve antibiyotiplendirme ile izolatlar %100 oranında tiplendirilebilmiştir. Bu yöntemlere göre yapılan değerlendirmelerimizde hastalar arasında bakteriyel geçiş gösterilememiştir. İki olgu dışında piyosin tiplendirmesi ve antibiyotiplendirme sonuçları uyumlu bulunmuştur. Disk difüzyon metodu ile yapılan antibiyogramların kantitatif olarak değerlendirilmesi ile suşları daha fazla oranda tiplendirmek mümkün olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, piyosin, antibiyotik duyarlılığı, malignite

TYPING OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS ISOLATED FROM MALIGNANCY CASES

SUMMARY

In this study, 171 cases who were hospitalized for several malignancies in Oncology wards of different Hospitals in Ankara, were examined for *Pseudomonas aeruginosa* colonization and infection. 32 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from those patients were typed by pyocine patterns (spotting method of Fyfe et al.) and antibiotic susceptibility patterns (Kirby-Bauer Disc Diffusion Method). Disc Diffusion zone diameters of different strains were compared by multivariant statistical analysis. The results of relationship between *Pseudomonas aeruginosa* colonisation and infection were investigated in confidentiality intervals of Galen and Gambino's parameters. Finally, has been able to type 100% of isolates by pyocine typing and antibiotyping. However, it couldn't be shown the bacterial transmission among hospitalized patients. Out of two cases, it was found a correlation between both methods for typing. It is possible a detailed typing by antibiotyping with a qualitative analysis of numeric results.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, pyocine, antibiotic susceptibility, malignancy

GİRİŞ

Bakteriyolojik sürveyans kültürleri, *Pseudomonas aeruginosa* ile oluşan infeksiyonların epidemiyolojisinin anlaşılmasında ve kolonize hastaların belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

(1) İlerlemiş evredeki kanserli hastalar *P. aeruginosa* ile kolonizasyona oldukça duyarlıdır. (2) Sürveyans kültürleri ile bakteriyel kolonizasyonun saptanması, gelişebilecek infeksiyonların tahmin edilebilmesi yönünden oldukça

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

Geliş tarihi : 02.07.1998 Kabul edilmiş tarihi : 18.10.1998

Yazışma Adresi : Dr. A. Turan SOY, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

yararlıdır.(3) Çok yaygın olmasına rağmen *P.aeruginosa*'nın nasıl bulaştığı ve nozokomiyal dağılımı oldukça az anlaşılabilmiştir. Bu durumun başlıca nedeni ise epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilecek tiplendirme yöntemlerinin yetersizliğidir.(4) Günümüzde sıklıkla kullanılan tiplendirme yöntemleri; serogruplandırma, piyosin üretimi ya da duyarlılığı, antibiyotiplendirme, faj duyarlılığı, izoenzim paternlerinin analizi, plazmid analizi ve endonükleaz enzimlerinin kullanıldığı DNA'nın tiplendirilmesidir (1).

Bu çalışmada, çeşitli hastanelerin onkoloji servislerinde yatan kanser tanısı almış hasta gruplarında, *P.aeruginosa*'nın etkeni olduğu kolonizasyon ile infeksiyonun ilişkisi incelendi. Bu amaçla değişik gruplardaki hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşları, piyosin oluşturmaları ve antibiyotik duyarlılıkları temel alınarak tiplendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak-Temmuz 1996 tarihleri arasında Ankara'daki çeşitli onkoloji merkezlerinde malignite tanısıyla yatırılarak izlenmekte olan 171 hasta incelemeye alındı. Hastalar 15 - 81 yaşları arasında olup (yaş ortalaması 42.5), 106'sı erkek ve 65'i kadındı.

Tüm hastalardan hastaneye yatışlarının ilk 24 saati içinde, 3. gününde ve sonrasında haftada bir olmak üzere rektal sürüntü, ayrıca hematolojik maligniteli hastalardan nazofarinks ve aksilla sürüntü örnekleri alındı. Bunun için usulüne uygun hazırlanmış ucu pamuklu silgiçler kullanıldı. Rektal sürüntü örnekleri anüsün 1-2 cm yukarısından, nazofarinks sürüntü örnekleri boğaz mukozasından, aksilla sürüntü örnekleri ise steril su ile ıslatılmış silgiçlerin költükaltı bölgesinin yarısından fazlasına sürülmesi ile alındı. Örnekler Cary-Blair taşıma ortamında laboratuvara nakledilerek, Cetrimid agar (Merck) besiyerine ekimleri yapıldı. 37°C'de 48 saat inkübasyonu takiben değerlendirildi. Ayrıca yara ve idrar örneklerinin %5 kanlı jeloz ve EMB agar (oxid) besiyerlerine ekimleri yapılarak 37°C'da 24 saat inkübe edildi. Üreme saptanan tek koloni dahi kolonizasyon

olarak değerlendirildi. Ateş bulgusu olan (>38°C) ve bir başka infeksiyon odağı bulunmayan hastalarda, idrarda 10⁵ CFU/ml üzerindeki miktardaki üremeler ve yaralardan izole edilen *P.aeruginosa* kökeni infeksiyon etkeni olarak kabul edildi (5).

Derin dondurucuda (-20°C)'de saklanan suşlar daha sonra iki değişik yöntemle tiplendirildi.

Piyosin tiplendirmesi: Piyosin tiplendirmesi amacıyla kullanılan sekiz indikatör (1-8), beş subindikatör (A-E) ve bir standart piyosin üreten *P.aeruginosa* suşu, Dr. Catherine Doherty'den (Department of Bacteriology, Medical School, University of Edinburgh, Scotland) temin edildi. Bu çalışmada piyosin tiplendirme yöntemi olarak, Fyfe ve ark.'nın "Spotting" yöntemi kullanıldı (6).

Antibiyotiplendirme: Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptandı. Antibiyotik duyarlılık testleri için 20 farklı antibiyotik diski kullanıldı (Oxoid). Tiplendirmeyi etkileyebilecek tüm parametreler (besiyeri kalınlığı, inokulum yoğunluğu, inkübasyon süresi, ışık şiddeti gibi) dikkatlice standardize edildi.

Çalışmaya alınan *P.aeruginosa* kökenleri, izole edildikleri hastane servislerine göre gruplandırıldı. Her gruptaki izolatlar, aralarında değerlendirilmeye alındı.

Antibiyogramlarla elde edilen inhibisyon zon çapı değerleri ile suşlar birbirleriyle karşılaştırıldı. Her bir suşun bir diğeri ile ve diğer tüm suşlar ile yakınlık derecesini saptamak amacıyla multivaryant gruplandırma yöntemlerinden, benzerlikleri saptamada kullanılan öklit uzaklığı fonksiyonu kullanıldı (7).

Her suşun bir diğeri ile öklit uzaklığı değerleri SPSS istatistik programı ile elde edildi. Suşlar SPSS'de gruplandırılarak ward yöntemi ile dendrogramları elde edildi.

Aynı piyotip ve antibiyotipdeki kolonize suşların saptanmasının oluşan infeksiyonları tahmin edebilirliği olan güvenilirlik parametreleri, Galen ve Gambino'nun yöntemlerine göre saptandı (3).

BULGULAR

Çalışmaya alınan 171 hastanın 25'inden 35 *P.aeruginosa* izolatu elde edildi. Dördü kolonize olan 12 enfeksiyonlu ve 10'u sadece kolonizasyonu olan toplam 22 hastadan elde edilen 32 izolat tiplendirme çalışmasına alındı. Üç suş ise kuruma koşullarından tekrar canlandırılmadı. Suşların tümü piyosin oluşturma paternlerine göre ve antibiyotiplendirme ile tiplendirildi.

Piyosin tiplendirmesi:

Test edilen suşların aktif olarak piyosin oluşturmaları ile çalışılan yöntemle elde edilen piyotiplerin servislere göre dağılımı Tablo-1' de görülmektedir.

Tablo 1. Çalışmaya alınan toplam 32 izolata ait piyosin tiplerinin hastane servislerine göre dağılımı

Hastane/Servis	Nazofarenks	Akside	Rektum	İçeri	Yarık
İbni Sina H	-	-	56/q, 61/n, 57/p	4 a, 24-a	37 a
Tıbbi Onkoloji	-	-	56/q, 43/d	-	-
Hematoloji	60/q	-	56/q, 19/d, 111/p	-	-
Onkoloji H	-	-	10p, 24 d, 102/p	-	-
Hematoloji	162/d	-	1 b, 10 a, 24 a, 5 a	66 b, 1 a, 1 d, 24 a	1 b
AROK	66/b	-	-	-	-
A. Antikjen	-	-	24/d, 55/n	-	-
Onkoloji Akk	-	-	21/k, 31/x	17/a, 43/d	-

S* Piyosin oluşturan paterni, 105 piyosin tipinin hiçbir ile bağdaşmadı
T* Piyosin aktivite ile 8 indikatör suşun hiçbirinde inhibisyon oluştu

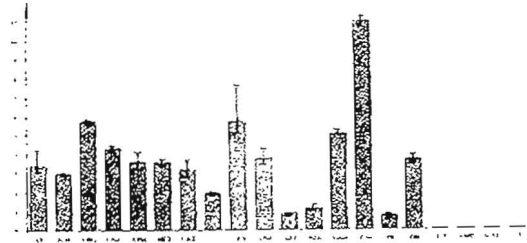
Sekiz indikatör suş ile 13 piyosin tipi saptandı. Bir suş piyosin oluşumu saptanmadığı ve üç suş ise Gillies ve Govan'ın 105 piyosin oluşturma paterninden hiçbirini ile bağdaşmadığı için toplam dört suş tiplendirilemedi. Böylece indikatör suşlar ile %87.5 oranında tiplendirim sağlandı. En sık olarak tip 1 piyosin oluşturma paterni dört olguda saptandı (%12.5).

Tüm izolatlar 5 subindikatör suş ile test edildiğinde ise toplam 17 piyosin oluşturma paterni saptandı ve böylece suşlar %100 oranında tiplendirilebildi.

Antibiyotiplendirme:

"Antibiyotiplendirme" yönteminin güvenilirliğini saptamak amacıyla, biri ATCC 27853 olan 10 *P.aeruginosa* suşu ile 20 farklı antibiyotik bir hafta içinde dört kez test edilmesi ile elde edilen zon çaplarına göre her antibiyotik için elde edilen dört ayrı standart sapma değerinin ortalamaları ve

değişim aralığı Grafik-1'de görülmektedir.

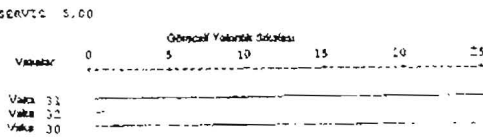
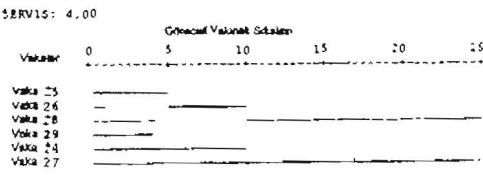
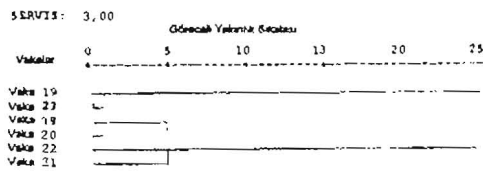
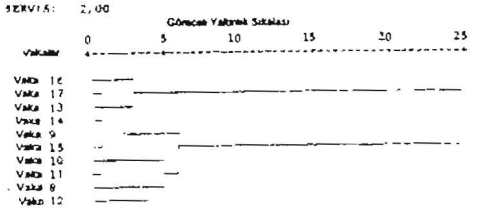
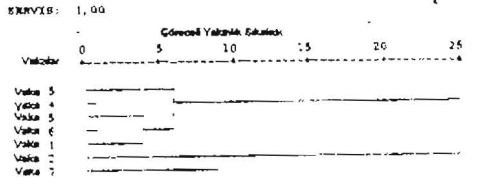


Grafik 1: Toplam 10 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 20 antibiyotikle dört dela testi edilmesiyle elde edilen inhibisyon zon çaplarına ait standart sapmaların mm olarak ortalama değeri ve değişim aralığı. Ak:Amikasin, ZOZ Seftriazoksim, CRO Seftriakson, CAR Karbemsisin, ATM:Aztreonam, MEZ:Mezlosilin, CAZ Sefazidim, C Kloramfenikol, OFX:Ofloksasin, IMP:Impenem, SXT:Sulfameloksazin+Trimetopim, FOX:Seftoksimin, KAN Kanamisin, CIP Siprofloksasin, PB Polimiksin-B, CN:Genlamin, CZ:Seftazolim, AMP Ampisilin, SUK Sübaktam+AMPİSİLİN, CX Sefturoksim

Ortalama standart sapma değerlerinin en büyüğü siprofloksasinde (11.2 mm), standart sapma değerlerindeki en farklı sonuçlar ise ofloksasinde (5.16 mm; 5.41 mm; 5.44 mm; 7.79 mm) elde edildi. İnhibisyon zon çapı veren 16 antibiyotik için yapılan testlerin sonucu olarak, ortalama standart sapması 3.85 mm ve tüm standart sapma değerlerinin değişim aralıklarının ortalaması 0.48 mm olarak saptandı. Böylece tekrarlanan testlerde zon çaplarının farklı değerleri birbirine yakın olan suşlar elde edildi. Dört antibiyotik ise hiçbir zon çapı vermedi.

Herbir suşun birdiğeri ile olan öklit uzaklığı değerleri, en az iki izolatu birbiri ile karşılaştırarak her bir servisteki izolatların bir diğeri ile her biri en az iki izolat içeren grupların oluştuğu saptandı. Aynı öklit uzaklığı veya antibiyotipteki izolatlardan oluşan sekiz grupta 17 izolat belirlendi. Beş ayrı servisten elde edilen veriler ile oluşturulan dendrogramlar şekil 1(a,b,c,d,e)'de gösterilmiştir.

Aynı antibiyotipde olduğu saptanan sekiz gruptan üçünde, beş izolatu piyosin tiplendirmesi ile benzerliği doğrulanamadı. Bunun dışında kalan 14 izolatu içeren beş grup ise piyosin tiplendirilmesi ile doğrulandı. Bu çalışma ile piyosin tiplendirmesi ve antibiyotiplendirme %6.5 (5/8) oranında birbiriyle uyumlu bulundu.



Şekil 1: İzolatların servislere göre dendrogramları (a: Servis-1, b: Servis-2, c: Servis-3, d: Servis-4, e: Servis-5)

Direnç paternleri gözönüne alındığında homojen bir farklılık gözlenmemekte, gruplanan ve gruplanmayan her iki izolat kümesinde amikasin dışında birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 2. Değişik servislere izolatlarının her iki yöntemle tipleri

Hastane/ Servis	Grup	Hasta no	Şişme	İzolasyon yeri	Okült uzaklığı	Piyozit
Onkoloj H Hematoloj	1	3	3	Nazolarenks sürüntüsü	0,7	102/d
		3	4	Rectum sürüntüsü	0,7	102/d
	2	4	5	Rectum sürüntüsü	1,2	10p
		4	6	Rectum sürüntüsü	1,2	10p
Üroloj	3	7	7/8	Nazolarenks sürüntüsü	0,5	66/b
		7	11	İdrar	0,5	66/b
		8	13	Rectum sürüntüsü	4,1	10/a
	4	8	14	İdrar	0,0	24/a
		8	15	Rectum sürüntüsü	0,0	24/a
	5	9	16	Yara	0,0	1/a
		10	17	İdrar	0,0	1/a
A. Andçen H	6	11	18	Rectum sürüntüsü	2,5	31/x
		12	20	Rectum sürüntüsü	2,5	31/x
İbnî Sina H Onkoloj	7	18	26	Rectum sürüntüsü	12,2	61/x
		19	27	Yara	12,2	37/a
Hematoloj	8	22	31	Rectum sürüntüsü	10,8	56/q
		21	22	Rectum sürüntüsü	10,8	43/d

Tablo 3. Gruplanan ve gruplanılmayan izolatların test edilen 16 antibiyotik ile direnç yüzdeleri

Antibiyotik	Direnç (%)	
	Gruplanan (N=12)	Gruplanmayan (N=20)
Amikasin	30	13,6
Gentamisin	30	45
Kanamisin	100	95
Ofloksasin	30	40
Siprofloksasin	0	2
Karbenisilin	66,6	50
Mezlositin	50	45
Sellizoksim	66,6	75
Selnakson	50	60
Sellazidim	30	30
Azireonam	30	30
İmpenem	0	5
Seloksitin	100	100
Kloramfenikol	100	70
Ko-Trimoksazol	100	100
Polimiksin	0	5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanserli olgularda *P.aeruginosa*'nın bir patojen olarak eskiye oranla daha sıklıkla gözlenmesi, infeksiyon kaynaklarının ve geçiş yollarının belirlenmesine yönelik tiplendirme yöntemlerinin önemini artırmıştır (8).

P.aeruginosa infeksiyonu için risk taşıyan hastalarda pek çok sürveyans çalışması yapılmıştır. Schimpff ve ark. hematolojik maligniteli 42 bakteremi olgusunun 20'sinde önceden kolonizasyon saptamışlar, ancak bunların 14'ünde belirgin kolonizasyon-infeksiyon ilişkisi belirlemişlerdir (9). Bu araştırmacılar kolonize suşların çoğunun infeksiyona neden olmadığını bildirmişlerdir. Bode 87 lösemi olgusunda %54 oranında *P.aeruginosa* kolonizasyonu saptamış ve hastaneye yatan hastaların ilk 35 gün süresince kolonizasyon oranlarının arttığını bildirmiştir (10). Hastaların %45'inin aynı piyosin tipi ile kolonize olduğunu saptamış, en sık tip 1 ve tip 3'ü (%56) izole etmiştir. Murthy ve ark. çeşitli hastane servislerinde yaptıkları çalışmada 180 hastada %22.6 oranında kolonizasyon saptamışlar ve maligniteli hastaların sıklıkla kolonize olabildiğini bildirmişlerdir (13). Griffith ve ark. kanserli olgularda %27 oranında kolonizasyon saptamışlar ve sıklıkla dirençli suşların etken olduğunu bildirmişlerdir (5).

Bu çalışmaya alınan ve hepsi medikal tedavi görmekte olan maligniteli olgular, sıklıkla ve kısa süreler içinde hastaneye yatırılarak hastane ortamına maruz kalan hastalardı. Tiplendirme çalışmasına alınan ve tiplendirilen 22 olgudan 32 suş iki ya da daha fazla olguda aynı piyotip paterninde olmak üzere 15 farklı piyotip oluşturmuştur. Hastalar servislerine göre ayrı ele alınıp, antibiyotiplerine göre 17 suş sekiz grup oluşturdu. Bu gruplardan ikisinde (grup 7 ve 8) farklı piyosin tipleri saptandığı için bu gruplar değerlendirmeden çıkarıldı.

Dördüncü grupta da 13 numaralı suş, piyosin tipi ile doğrulanamadığı için gruptan çıkarıldı. Tümüyle aynı antibiyogram paterninde ancak farklı piyosin tipinde izolatlar saptanmadı. Ancak aynı serviste kalan hastalardan izole

edilen ve aynı piyosin tipine ve farklı antibiyotipe sahip izolatların bulunduğu gözlemlendi (suş no. 18,20,5,6,10,11). Bu sonuç özellikle hastane ortamlarında direnç gelişiminde rolü olan R faktörlerini düşündürmektedir. Aynı servislerden izole edilen aynı tipdeki suşlar ele alındığında ilk dört gruba giren izolatlar, aynı bireyin farklı bölgelerinden izole edilerek, her birey için bir grup oluşmuştur. Diğer iki gruptan ise izole edilen suşlar aynı serviste ve aynı zaman sürecinde Prostat kanseri tanısı konularak opere edilmiş iki hastadan birinin kateterinden alınan idrarından, diğerinin ise insizyon bölgesinde oluşan pürülan yara infeksiyonundan elde edilmiştir. İzolatların piyotip ve antibiyotipleri aynı olup, muhtemelen aynı kaynaktan yayılan ve eradikasyonu oldukça güç olabilen hastane suşu idiler.

P.aeruginosa ile oluşan nozokomiyal yara infeksiyonlarının sıklıkla hava yolu ile kontamine toz parçacıklarının bulaşması ile oluşabildiği ve odalarda havalandırma sistemlerinin yayılmayı önlemede önemli olduğu bildirilmiştir. Bunun dışında kontamine dezenfektan solüsyonlar ve hasta bakımı ile uğraşanlar da suçlanmaktadır (11). En sık hastane infeksiyonlarının oluştuğu üriner sisteme bulaşmada ise sindirim kanalının etken ile kolonize olması sıklıkla neden olabilmektedir. *P. aeruginosa* ile kolonize hastaların hastaneye girişlerinde tanımlanabilmeleri; sözkonusu erken dönemde alınması gerekli önlemlerin başında gelmelidir. Duyarlı bir yöntem olmasına rağmen; alınan örneklerin gramında 100'ün altında bulunan jerm sayısını veya sindirim kanalının rektum dışındaki kısımlarında oluşan kolonizasyonları saptayamaması, kültür ekimlerinin güvenilirliğini azaltmaktadır. Kanserli hastaların sıklıkla hastaneye giriş veya yatış sırasında zaten *P.aeruginosa* ile kolonize oldukları, ancak bunun oldukça az bir bölümünün sürveyans kültürlerinde üreme saptandığı ve bunun infeksiyon kontrol çalışmalarının başarısızlığının önemli bir nedeni olduğu bildirilmektedir (2,12).

P.aeruginosa ile oluşan hastane infeksiyonlarında sıklıkla klinik ve çevresel izolatlar arasında ilişki bulunmadığı ve infeksiyon etkeni suşların

hastaların endojen floralarından kaynaklandığı bildirilmektedir (13-15). Dolayısıyla bu çalışmada çevresel izolatlar çalışılmadı.

CDC kaynaklı yayınlarda, *P.aeruginosa* ile hastanelerde oluşan salgınlarda suşlar ortama ve zamana yayıldıkça direnç paternlerinin değiştiği ve ayrıca epidemiyolojik olarak birbiriyle ilgisi bulunmayan suşların aynı antibiyogram paternine sahip bulunabildiği açıklanmaktadır (16,17).

Bu çalışmada, yapılan tiplendirme sonucu gruplanma, yani yayılma gösteren dört izolatin birinin nazofarinksde ve birinin rektumda kolonize olması, kalan iki hastadan izole edilen infeksiyon etkeni olan ve aynı piyotip ve antibiyotipteki suşlarla kolonizasyon gösterilememiştir. Bununla beraber hepsinin aynı hastane servisinden izole edilmiş ve oldukça dirençli suşlar olmasına rağmen gruplanma gösteren 12 izolat ile gruplanma göstermeyen 20 izolatin antibiyogram paternleri karşılaştırıldığında amikasin için gruplanma gösteren suşlarda direnç paterninin daha sıklıkla gözlemlendiği saptanmıştır (Tablo-3).

Baltch ve Griffith, bir senelik bir süreçte aynı servislere yatan 173 hastadan 238 *P.aeruginosa* izolati elde etmişler ve piyosin tiplendirmesi ile salgın oluşturan infeksiyon etkeni suşa rastlamamışlar, ancak aynı kişilerin farklı bölgelerinden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarını aynı piyosin tipinde bulmuşlardır (18). Pek çok çalışmada piyotip 1 en sık patojen etken olarak izole edilmekle birlikte insan kaynaklı olmayan izolatlardan da bu tip en sıklıkla izole edilmektedir (19).

P.aeruginosa'nın epidemiyolojisine yönelik çalışmalarda, piyosin tiplendirmesi sero-tiplendirme ve faj tiplendirmelerine göre oldukça iyi benimsenmiş ve daha duyarlı bir yöntemdir (18). Sıklıkla antibiyotik direnç paterni ve piyosin tipi arasında ilişki gözlenmektedir (20).

P.aeruginosa'nın direnç paternindeki değişmelerde eş zamanlı olarak piyosin tipi, serotipi ve faj tipi de değişmektedir. Ancak antibiyogramlar iyi bir şekilde standardize edildiklerinde farklı laboratuvarlarda aynı sonuçları sağlamaktadır. Disk difüzyon yöntemi, antimikrobiyal difüzyon yöntemlerine göre pratik ve daha

duyarlıdır (21). Giacca ve ark. 193 *P.aeruginosa* izolatını kantitatif antibiyogram paternleri ile gruplandırmışlar ve grupların %6,2'sini piyosin oluşumu ve seroloji ile tiplendirememişler, sadece antibiyogramlarla elde ettikleri inhibisyon zon çapı değerlerini multivaryant istatistik analizi ile değerlendirerek tiplendirme sağlamışlardır (22). Ancak direnç plazmidlerinin hastane ortamlarında kolayca yayılabildiği gibi kaybedilmesinde yöntemin özgülüğünü kısıtlamaktadır.

Bu çalışmada kolonize suş ile infeksiyon oluşumuna sadece birden fazla sıklıkla kolonizasyon saptanan, yani persistan kolonize hastalarda rastlandı. Persistan kolonize hastaların kolonize suş ile infeksiyona yakalanma özgülüğü daha fazla bulundu. Ayrıca tüm kolonize hastalarla karşılaştırıldığında %12 olan infeksiyona yakalanma ihtimali persistan kolonize hastalarda %29 olarak bulundu. Kolonize olmayan hastaların infeksiyona yakalanmama ihtimali persistan kolonize ve tüm kolonize hastalarda %94 olarak saptandı. Bu sonuçlar süreyans kültürlerinin, riskli hasta gruplarının izlenmesindeki önemini göstermektedir.

P.aeruginosa'nın farklı kökenlerinin tiplendirilmesi için, izolatları yeterince tanımlayabilen, yani duyarlılığı yüksek olan, suşları yeterince birbirinden ayırabilen yani özgülüğü iyi olan duyarlı ve seçici tiplendirme yöntemleri oluşan salgınlardan erken dönemde belirlenmesi ve etkin olabilecek infeksiyon kontrol önlemlerinin saptanması yönlerinden oldukça gereklidir. Günümüzde sıklıkla kullanılan tiplendirme yöntemlerinin hiçbirisi tek başına kullanılabilen düzeyde epidemiyolojik çalışmalar için yeterli değildir ve en az iki yöntemin birlikte kullanılması önerilmektedir. Antibiyogramlar ile tiplendirme, en pratik ve *Pseudomonas* türleri için en önemli sayılan epidemiyolojik yöntem olarak bildirilmektedir. Antibiyogramların kantitatif olarak değerlendirilmesi sayesinde yöntemin duyarlılığı artmaktadır (23).

Bu çalışmada antibiyotiplendirme ile iki grupta sınıflandırılan dört izolatin piyotipleri farklı bulundu. Bunların dışında kalan 28 izolat için her iki tiplendirme yöntemi ile uyumlu sonuçlar elde

edildi. Kullanılan iki tiplendirme yöntemi ile %100 oranında tiplendirme sağlandı. Geniş kapsamlı bir epidemiyolojik çalışmanın planlanması halinde kantitatif olarak antibiyotiklerin belirlenmesi, ayrı-

ca piyosin tiplendirilmesi, serotiplendirme faj duyarlılığı veya genotipik tiplendirme yöntemlerinden biri ile desteklenmesi yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1-Ojeniyi B, Hoiby N. Comparison of different typing methods of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibio Chemother* 1988; 44:13-22.
- 2-Newman KA, Schimpff SC. Hospital hotel services as risk factors for infection among immunocompromised patients. *Rev Infect Dis* 1987;9(1):206-12.
- 3-Wingard JR, Dich F, Charache P, Saral R. Antibiotic-resistant bacteria in surveillance stool cultures of patients with prolonged neutropenia. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30(3):435-9.
- 4-The International *Pseudomonas aeruginosa* Typing Study Group. A multicenter comparison of methods for typing strains of *Pseudomonas aeruginosa* predominantly from patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1994; 169: 134-42.
- 5-Griffith SF, Nathan C, Selander RK, et al. The epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in oncology patients in a General Hospital. *J Infect Dis* 1989;160(6):1030-6.
- 6-Fyfe JAM, Harris G, Govan JRW. Revised pyocin typing for *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1984; 20(1):47-50.
- 7-Orlaci L, ed. Multivariate analysis in vegetation research. W Junk Publishers, The Hague 1978.
- 8-Pitt TL. Epidemiological typing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7(2):238-47.
- 9-Schimpff SC, Greene WH, Young VM, Wiernik PH. Significance of *Pseudomonas aeruginosa* in the patient with leukemia or lymphoma. *J Infect Dis* 1974; 130 (suppl):24-32.
- 10-Bodey GP. Epidemiological studies of *Pseudomonas* species in patient with leukemia. *Am J Med Sci* 1970; 260:82-9.
- 11-Pradella S, Pletschette M, Mantey-Stiers F, Bautsch W. Macrorestriction analysis of *Pseudomonas aeruginosa* in colonized burn patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13(2):122-8.
- 12-Olson B, Weinstein RA, Nathan C, Chamberlein W, Kabins SA. Epidemiology of endemic *Pseudomonas aeruginosa*; Why infection control efforts have failed. *J Infect Dis* 1984; 150:808-16.
- 13-Murthy SK, Baltch AL, Smith RF, et al. Oropharyngeal and fecal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital patients. *Clin Microbiol* 1989; 27(1): 35-40.
- 14-Kern W, Wolz C, Döring G. Molecular epidemiological study of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with leukemia. *Eur Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9(4): 257-61
- 15-Orsi GB, Mansi A, Tamao P, Chiarini-Visca P. Lack of association between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Hospital Wards. *J Hosp Infect* 1994; 27: 49-60.
- 16-Farmen III JJ, Weinstein RA, Zierdt CH, Brokopp CD. Hospital outbreaks caused by *Pseudomonas aeruginosa*; Importance of serogroup 011. *J Clin Microbiol* 1982; 16(2): 226-270.
- 17-Schaberg DR, Haley RW. Nosocomial Bacteriuria; A prospective study of case clustering and antimicrobial resistance. *Ann Int Med* 1980; 93: 420-4.
- 18-Baltch AL, Griffin PE. *Pseudomonas aeruginosa*; Pyocine types and clinical experience with infections in a General Hospital. *Am J Med Sci* 1972; 264(3): 233-49.
- 19-Govan JRW. Pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa*, T Bergan, JR Norris eds. *Methods in Microbiology* London 1978; 198-122.
- 20-Baltimore RS, Dobek AS, Stark FR, Artenstein MS. Clinical and epidemiological correlates of *Pseudomonas* typing. *J Infect Dis* 1974;130 (suppl): 53-60.
- 21-Aber RC, Mackel DC. Epidemiological typing of nosocomial microorganism. *Am J Med* 1981; 70: 899-905.

SOY, AKTEPE, ALTINYOLLAR, ÇÖPLÜ, GÜVENER. *PSEUDOMONAS* TİPLEMESİ

22-Giacca M, Monti-Bragadin C. Multivariate analysis of antibiograms for typing *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol 1987;552-558.

23-Flournoy DJ. Quantitative antibiograms as a potential tools for epidemiological typing. Infect Control 1982; 3: 384-7.