
Nozokomiyal İnfeksiyonlardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Epidemiyolojik Analizi#

Ufuk ÖVER*, Ayşegül YAĞCI*, Dilek MOLBAY*, Güner SÖYLETİR*

* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Hastanemizde 1997-1999 yılları arasında, nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilen, 142 *Pseudomonas aeruginosa* suşu arasındaki epidemiyolojik ilişki, genotipik olarak randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction - RAPD-PCR ile ve fenotipik olarak antibiyotik direnç paternleri kullanılarak belirlenmiştir. Nozokomiyal izolatlar, fenotipik olarak 18 farklı gruba ayrılmış olup belirli bir fenotipik grubun, belirli bir zaman diliminde baskınlık göstermediği saptanmıştır. Nozokomiyal suşlar genotipik paternlerindeki benzerliklere göre 7 ana gruba ayrılmış olup, bu gruplara girmeyen izolatlar, çoğunlukla farklı genotipik paternler sergilemişlerdir. Genotipik grupların bazılarında suşların izolasyon süresi 15 aya kadar uzamakla birlikte, bazılarında suşlar 1 ay gibi kısa bir zaman periyodunda izole edilmişlerdir. Fenotipik ve genotipik analiz sonuçları karşılaştırıldığında, birbirleriyle uyum göstermedikleri, aynı fenotipik paterne sahip suşlardan bazılarının farklı genotipik paternler sergiledikleri saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, hastanemizde çeşitli *P. aeruginosa* klonlarının varlığını, bunlardan bazılarının belirli bir zaman diliminde, belirli ünitelerde baskınlık gösterdiğini, çalışma süresi boyunca bu mikroorganizmaya bağlı büyük bir salgın olmadığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, Nozokomiyal infeksiyon, RAPD-PCR, Antibiyotik duyarlılık paternleri

SUMMARY

Epidemiological Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Nosocomial Infections

The epidemiological relationship among nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* which were isolated during 1997 and 1999 period had been evaluated by using both randomly amplified polymerase chain reaction - RAPD-PCR as genotyping method and antibiotic susceptibility patterns as phenotyping method. Nosocomial isolates showed 18 phenotypic groups and none of these groups were predominant in a certain period of time. Most of the isolates showed different genotypic patterns and the strains with identical RAPD patterns displayed in seven groups. Although the isolation period of the strains in some RAPD gro-

ups seemed to be longlasting (15 months); the strains in certain groups were isolated in a very short period of time (1 month). There was no correlation between RAPD and antibiotic susceptibility typing methods. Some of the isolates in the same phenotypic group, exhibited different RAPD patterns. An outbreak due to this microorganism did not occur during the study period. As a conclusion, this study indicated that presence of many different clones of *P. aeruginosa* and predominancy of some of them in certain units in our hospital between 1997 and 1999.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, Nosocomial infection, RAPD-PCR, Antibiotic susceptibility patterns

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından SBAG-1937 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Nozokomiyal enfeksiyonlar, hastanede yatış süresini uzatması, tedavisinde karşılaşılan güçlükler, mortalite oranını yükseltmesi ve ülke ekonomisine getirdiği ağır yük nedeniyle, günümüz tıbbının ana konularından birini oluşturmaktadır^[1,2]. Nozokomiyal enfeksiyonlarla mücadelenin ana hedefi, enfeksiyon kontrol önlemlerinin ve uygun antibiyotik kullanım politikalarının uygulanmasının sağlanmasıdır. *Pseudomonas aeruginosa*, nozokomiyal enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen ve antibiyotiklere karşı gösterdiği yüksek direnç ile klinikte problem oluşturan bir mikroorganizmadır^[1-4]. *P. aeruginosa*'nın bulaş kaynaklarının tespiti, suşlar arasındaki epidemiyolojik ilişkinin belirlenmesi, hem endemik, hem de zaman zaman ortaya çıkan epidemik enfeksiyonların (salgın) önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Nozokomiyal *P. aeruginosa* suşlarının epidemiyolojik analizinde fenotiplendirme ve genotiplendirme yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır^[5-9]. Fenotiplendirmede kullanılan yöntemler arasında, antibiyotik duyarlılık paternleri, biyokimyasal özellikleri, piyosyanin üretimi, bakteriyofaj duyarlılık paterni ve serotiplendirme sayılabilir^[5-7]. Antibiyotik duyarlılık paternlerine göre tiplendirme, mikroorganizmaların epidemiyolojik olarak ilişkilendirilmesinde en sık başvurulan yöntemlerden biridir. Son yıllarda geliştirilen moleküler yöntemler, fenotipik yöntemlerin epidemiyolojik ilişkilendirmede yetersiz kalabileceğini ortaya koymaktadır^[5-9]. Moleküler tiplendirme yöntemleri arasında, restriksiyon enzimleriyle DNA'nın kesilmesi sonucu oluşan bantların değerlendirilmesi "Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)", DNA parçalarının işaretli gen problemleriyle hibridizasyonu, mikroorganizmalarda tekrarlayan ortak DNA bölgelerine yönelik primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction - RAPD-PCR), genomik DNA'nın makro-restriksiyon analizi "Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)" ve EcoR1 ile restriksiyonunu takiben özel primerlerle (MseI-AD1) amplifikasyonunu baz

alan "Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)" sayılabilir^[5-8,10-13]. Bunlardan PFGE, yüksek duyarlılık ve özgüllüğü ile altın standart kabul edilse de; son yıllarda suşlar arasındaki klonal ilişkiyi belirlemek üzere, PFGE ile uyumlu sonuçlar veren, hızlı, kolay uygulanabilir, maliyeti düşük bir yöntem olan RAPD-PCR, hastane epidemiyolojisine yönelik çalışmalarda ön tarama yöntemi olarak geniş bir uygulama alanı bulmuştur^[8,10,11]. Bu yöntemde mikroorganizmalardaki ortak gen bölgelerine yönelik hazırlanan çeşitli primerler (ERIC1, ERIC2, PH1, OPM1, M13, 1290, RAD1, 325) kullanılmakla birlikte, bunlardan "Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequence 1 (ERIC1)" ve ERIC2 yaygın olarak tercih edilenlerdir^[10,11,14]. Bu çalışma, hastanemizde nozokomiyal enfeksiyon etkeni mikroorganizmalar arasında ön sıralarda yer alan *P. aeruginosa* suşları arasındaki klonal ilişkiyi belirlemek, bunlara bağlı olası salgınları ortaya çıkarmak üzere planlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Prospektif olarak 1997 yılından itibaren hastanemizin çeşitli servislerindeki hastalardan enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 142 *P. aeruginosa* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. İzolatların nozokomiyal enfeksiyon etkeni oldukları, hastanemizin enfeksiyon kontrol ünitesi tarafından onaylanmış olup, hastaneye başvurduğunda inkübasyon döneminde olmayan ve hastanede yatışı sırasında *P. aeruginosa*'ya bağlı enfeksiyon geliştiren hastalara ait izolatlar çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanmaları, klasik yöntemlerle (Gram boyama, oksidaz testi, OF reaksiyonu) ve sceptor (Becton-Dickonson) otomatik identifikasyon sistemiyle yapılmıştır^[4].

Fenotiplendirme Yöntemi Olarak Antibiyotik Duyarlılık Testi

P. aeruginosa suşlarının amikasin, gentamisin, tobramisin, siprofloksasin, imipenem, seftriakson, seftazidim, sefepim, aztreonam ve piperasilin grubu

antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, disk difüzyon ve otomatik olarak (sceptor) mikrodilüsyon yöntemleriyle belirlenmiştir^[4].

Genotiplendirme Yöntemi Olarak RAPD-PCR

a. DNA izolasyonu: İzolatların Müeller Hinton agarda 37°C'de bir gecelik inkübasyon sonrası üreyen kolonilerinden yapılmıştır. Fosfat tamponlu tuzlu suda (0.067 M, pH 7.2), yoğunluğu 5 x 10⁸ cfu/mL olacak şekilde hazırlanan 1 mL'lik bakteri süspansiyonuna 20 µL proteinaz K (20 µg/mL), 20 µL 1 M Tris (pH 7.6) katılmıştır. Bu karışım 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra 30 dakika kaynatılarak 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir^[14]. Çökeltinin üzerine 0.2 mL Tris EDTA (10 mM Tris HCL, 1 mM EDTA - pH 8.0) ve 0.8 mL etanol (%70) ilave edildikten sonra 1500 rpm'de 15 dakika santrifüjlenip, etanolla bir kez daha yıkandıktan sonra üzerine 100 µL Tris EDTA (TE) eklenmiş ve böylece ekstrakte edilen bakteri DNA'sı, elektroforetik olarak λ DNA ile kıyaslanarak, miktarı belirlendikten sonra, RAPD-PCR'a alınmaya kadar +4°C'de saklanmıştır^[10,11,14].

b. RAPD-PCR: *P. aeruginosa* suşlarından ekstrakte edilen DNA'nın amplifikasyonu, 10 mM Tris HCL, 2.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl %0.1, 0.2 mM dNTP, 50 pmol primerler (ERIC1 ve ERIC2), 0.5 U Taq polimeraz ve 10 ng kalıp DNA içeren 100 mL reaksiyon karışımı içinde gerçekleştirilmiştir^[10,11]. PCR, 94°C'de 3 dakika denatürasyonu takiben, 94°C'de 1 dakika, 25°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakikalık 35 döngü ve son olarak 72°C'de 10 dakikalık döngü ile yapılmıştır^[15]. Amplifikasyon ürünleri, 10 µg/mL etidyum bromid içeren %1'lik agaroz

jelde yürütülerek, oluşan bantlar UV-transilüminatörde görüntülenmiştir. PCR ürünlerinin büyüklükleri 1 Kb'lik DNA markırı ile kıyaslanarak saptanmıştır.

c. Sonuçların değerlendirilmesi: Agaroz jeldeki DNA parçalarının fotoğrafları, tüm araştırmacılar tarafından bağımsız olarak kıyaslanmış ve genotipik paternleri aynı olan (aynı sayı ve yerde DNA bantlarının varlığı) izolatlar gruplandırılmıştır.

BULGULAR

Ocak 1997 ve Aralık 1999 tarihleri arasında hastanemizde nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilen 142 adet *P. aeruginosa* suşu çalışma kapsamına alınmış olup, yoğun bakım ünitesi (YBÜ), *P. aeruginosa*'ya bağlı nozokomiyal infeksiyonların en çok (n: 43) görüldüğü birim olmuştur (Tablo 1). Bunu pediatri (n: 27), dahiliye (n: 22), pediatrik cerrahi (n: 19), üroloji (n: 12), plastik cerrahi (n: 9), beyin cerrahisi (n: 6) ve nöroloji (n: 4) üniteleri izlemektedir. *P. aeruginosa* suşları en sık (n: 61) solunum yolu örneklerinden izole edilmiş olup, özellikle YBÜ ve pediatri servislerinden gelen 47 solunum örneğinin 38'ini derin trakeal aspirasyon (DTA), bronkoalveolar lavaj (BAL) gibi tıbbi ekipman yardımıyla alınmış örnekler oluşturmaktadır (Tablo 1).

Yoğun bakım, dahiliye, pediatri, pediatrik cerrahi servislerinde, çalışma periyodu boyunca *P. aeruginosa* izolasyonu süreklilik göstermiş, diğer servislerde bu süre yaklaşık 1 yıla sınırlı kalmıştır. Yoğun bakım ve dahiliye ünitelerinde, 1999'un Eylül ayına kadar olan dörder aylık zaman dilimlerinde değişiklik göstermeyen *P. aeruginosa* izolasyon sıklığının (1-9 izolat), 1999'un son 4 ayında belirgin artış (24 izolat) gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 1. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının servis ve örnek cinsine göre dağılımı

Servis	SYÖ*	Örnek cinsine göre izolasyon sayısı (n)				Toplam
		İdrar	Kan	Apse	Diğer	
• YBÜ	32	3	4	0	4	43
• Dahiliye	5	10	2	2	3	22
• Pediatri	15	4	5	1	2	27
• Pediatrik cerrahi	6	5	3	1	4	19
• Üroloji	0	10	1	1	0	12
• Plastik cerrahi	0	0	0	9	0	9
• Beyin cerrahi	2	0	1	0	3	6
• Nöroloji	1	0	1	2	0	4
• Toplam	61	32	17	16	16	142

* SYÖ: Solunum yolu örneği

Tablo 2. En az 4 izolat içeren fenotipik grupların antibiyotik direnç profilleri

Grup	İzolat sayısı	İzolasyon aralığı	AK	GN	NN	CIP	IMP	CRO	CAZ	CEF	ATM	PRL
A	34	97-99	H	H	H	H	H	AH	H	H	H	H
B	15	98-99	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
C	16	97-99	H	D	D	D	D	D	D	D	D	D
D	14	97-99	H	D	D	D	H	D	D	D	D	D
E	10	97-99	H	D	H	H	H	AH	H	H	AH	H
F	8	97-99	D	D	D	D	D	D	H	H	D	D
G	8	97-98	D	D	D	D	H	D	H	H	D	D
H	8	97-99	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
I	4	97-99	H	H	H	H	H	D	D	H	D	D
J	4	97-98	H	H	H	D	H	D	D	H	AH	D
K	4	97-99	H	H	D	D	D	D	H	H	H	D
L	4	97-99	H	H	H	H	D	D	H	H	H	H

AK: Amikasin, GN: Gentamisin, NN: Tobramisin, CIP: Siprofloksasin, IMP: İmipenem, CRO: Seftriakson, CAZ: Sef tazidim, CEF: Sefepim, ATM: Aztreonam, PRL: Piperasilin, H: Hassas, AH: Az hassas, D: Dirençli.

Fenotipik Gruplar

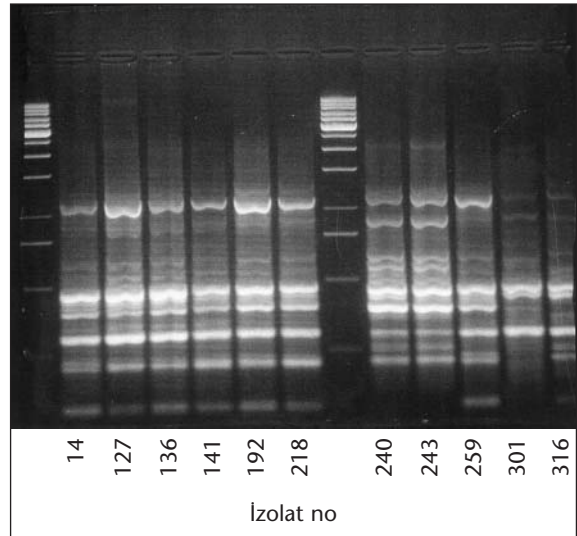
Nozokomiyal 142 *P. aeruginosa* suşu, 10 antibiyotiğe karşı gösterdiği duyarlılık paternine göre 18 farklı fenotipik gruba (A-S) ayrılmıştır. Ancak suşların %61.9'u (n: 89), bu gruplardan 5'inde (A-E) yer almıştır (Tablo 2). İzolatların 81'i (%57) en az 4 antibiyotiğe, 65'i (%46) ise en az 7 antibiyotiğe dirençli bulunmuştur.

Grupların direnç profilleri kıyaslandığında, B ve C gruplarının direnç paternlerinin, grup C üyelerinin amikasin hassas olmaları dışında aynı olup, test edilen tüm antibiyotiklere dirençli oldukları görülmektedir (Tablo 2). Çoğunlukla hassas suşların yer aldığı A ve H gruplarının duyarlılık paternlerinin de, bir antibiyotik (seftriakson) dışında tamamen aynı olduğu saptanmıştır.

Fenotipik gruplardaki suşların izolasyon tarihleri geniş bir zaman periyoduna yayılmış olup, hiçbir fenotipik grup, belirli bir zaman diliminde baskınlık göstermemiştir. Yoğun bakım ve dahiliye ünitelerinde izolasyon sıklığında artışın tespit edildiği 1999'un son 4 ayında izole edilen 24 suşun 9 farklı fenotipik patern sergiledikleri saptanmıştır (Tablo 4).

Genotipik Gruplar

Nozokomiyal 142 izolatın 28'inin 7 genotipik gruba (I-VII) dağıldığı ve geri kalan suşların, 2 izolat içeren küçük gruplar dışında, farklı genotipik paternler sergiledikleri tespit edilmiştir (Tablo 3). Resim



Resim 1. Grup I'de yer alan izolatların (14, 127, 136, 141, 192, 218, 259) RAPD paternleri

1'de, genotipik grup I'de yer alan 7 izolatın (suş no: 14, 127, 136, 141, 192, 218, 259) ve ayrıca nöroloji, pediatri ve beyin cerrahisi servislerinden 4 izolatın (suş no: 240, 243, 301, 316) RAPD paternleri gösterilmiştir. Grup I'deki izolatlar, 1 yıllık bir zaman diliminde izole edilmiş olup, izolasyon sıklığının Ağustos 97'de yoğunlaştığı belirlenmiştir (Tablo 3). Grup II'de yer alan suşlar da, bazı aylarda yoğunlaşmak kaydıyla, 1 yılı aşan bir zaman diliminde 4 farklı servisten izole edilmişlerdir. Diğer 5 genotipik

Tablo 3. Genotipik benzerlik gösteren izolatlar ve özellikleri

Genotipik grup	İzolat no	Örnek cinsi	İzolasyon tarihi	Servis	Fenotip
I	14	Apse	Mart-97	Plastik cerrahi	J
I	127	DTA	Ağustos-97	YBÜ	K
I	136	Apse	Ağustos-97	Plastik cerrahi	F
I	141	DTA	Ağustos-97	YBÜ	K
I	192	DTA	Kasım-97	YBÜ	F
I	218	DTA	Aralık-97	YBÜ	F
I	259	Kan	Şubat-98	YBÜ	B
Toplam: 7			Mart 97- Şubat 98		F(3), K(2), B(1), J(1)
II	12	İdrar	Mart-97	Üroloji	E
II	131	İdrar	Ağustos-97	Dahiliye	A
II	134	İdrar	Ağustos-97	Üroloji	E
II	272	İdrar	Şubat-98	Pediyatri	G
II	332	BAL*	Mayıs-98	Beyin cerrahisi	E
II	335	DTA**	Mayıs-98	Beyin cerrahisi	E
Toplam: 6			Mart 97- Mayıs 98		E(4), A(1), G(1)
III	38	DTA	Eylül-99	YBÜ	C
III	53	DTA	Eylül-99	YBÜ	C
III	31	DTA	Eylül-99	YBÜ	B
Toplam: 3			Eylül 99		C(2), B(1)
IV	156	DTA	Eylül-97	YBÜ	R
IV	196	DTA	Kasım-97	YBÜ	C
IV	216	DTA	Aralık-97	YBÜ	E
Toplam: 3			Eylül 97- Aralık 97		C(1), E(1), R(1)
V	19	DTA	Mart-97	Nöroloji	M
V	39	İdrar	Nisan-97	Dahiliye	G
V	158	Apse	Eylül-97	Nöroloji	E
Toplam: 3			Mart 97- Eylül 97		E(1), G(1), M(1)
VI	357	DTA	Eylül-98	YBÜ	B
VI	401	İdrar	Kasım-98	YBÜ	B
VI	408	DTA	Kasım-98	YBÜ	C
Toplam: 3			Eylül 98- Kasım 98		B(2), C(1)
VII	64	İdrar	Eylül-99	Dahiliye	B
VII	32	İdrar	Eylül-99	Dahiliye	B
VII	107	DTA	Ekim-99	YBÜ	C
Toplam: 3			Eylül 99- Ekim 99		B(2), C(1)

* DTA: Derin trakeal aspirasyon; ** BAL: Bronkoalveoler lavaj.

grupta yer alan izolatların çoğunluğu (15 izolattan 10'u), YBÜ'deki hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilmiş olup, izolasyon periyodları, grup V dışında, 1-4 ay arasında değişmektedir (Tablo 3). Özellikle grup III ve VII'deki izolatlar 1 ay gibi kısa bir zaman diliminde izole edilmişlerdir.

P. aeruginosa izolasyonunun sıklığında artışın tespit edildiği dönemdeki 24 suşun 6'sı genotipik grup III ve VII'de yer almakta olup, geri kalan 18 izolat, birbirlerinden farklı genotipik paternler sergilemişlerdir (Tablo 4).

TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonlarının ortaya çıkışında rol alan genel risk faktörleri arasında mikroorganizmaya ait faktörler (örneğin dirençli patojenler), konağa

ait faktörler (örneğin immünsüpresyon, yaş), çevresel faktörler (örneğin tıbbi girişimlerde kullanılan endoskop, endotrakeal tüp, vb. araçlar), el yıkama gibi hijyenik alışkanlıklar sayılabilir^[2]. Nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinin önde gelenlerinden biri olan *P. aeruginosa*'nın (hastanemizde 3. sırada), hastane ortamında yaygın olarak bulunuşu, yüksek antibiyotik direnci, olumsuz çevre koşullarında (dezenfektan solüsyonlarda bile) inatla canlılığını koruyabilmesi nedeniyle tıbbi girişimlerde kullanılan aletlerden (endotrakeal tüp, endoskop, vb.) ve diğer çevrelerden eradikasyonu oldukça zor bir mikroorganizmadır. Üç yılı kapsayan çalışma periyodunda, *P. aeruginosa* izolasyonunun süreklilik gösterdiği ve en sık yapıldığı ünitenin yoğun bakım olması, bu ünitenin hastanemizin en sık hasta transferi yapılan ünitesi olması ve yukarıda sözü edilen risk faktörlerinden çoğuna (konak, mikroorganizma, çevre) sahip oluşuyla açıklanabilir. *P. aeruginosa* izolasyonunun süreklilik gösterdiği diğer servisler de (dahiliye, pediatri, pediatrik cerrahi), hasta yoğunluğunun fazla olduğu üniteler olup, bu ünitelerde de YBÜ gibi *P. aeruginosa*'yı barındıran kaynakların çokluğu ve çeşitliliği sözkonusu olabilir.

İzolatlar arasındaki klonal ilişkinin, RAPD-PCR ve antibiyotik duyarlılık paternlerinin analizi ile değerlendirildiği çalışmamızda 18 farklı fenotipik patern saptanmış olmakla birlikte, duyarlılık paternleri irdelendiğinde, suşların 1 ya da 2 antibiyotiğe karşı gösterdikleri farklı duyarlılık nedeniyle, farklı fenotipik gruplarda yer aldıkları görülmektedir (Tablo 2). Örneğin suşların yarısının içinde yer aldığı bazı fenotipik paternler (B ve C, A ve H), tek antibiyotik dışında tamamen aynıdır. Bu durum duyarlılık paternlerini baz alarak fenotiplendirmenin ayırtediciliğini sınırlandıran bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer yandan, çoklu dirençli izolatların oranının da azımsanmayacak ölçüde olması (%57'si en az 4 antibiyotiğe dirençli), epidemiyolojik ilişkinin, antibiyotik duyarlılık profiline göre belirlenmesini sınırlandıran bir diğer faktör gibi gözükmektedir.

İzolatlar genotipik olarak çok sayıda farklı RAPD-PCR paternleri sergilemiş olup, suşların az bir kısmı (28 izolat), 7 genotipik gruba dağılım göstermiştir (Tablo 3). Bu sonuç, çalışma periyodu boyunca hastanemizde belirli bir genotipin neden olduğu büyük bir salgının olmadığını göstermektedir. Her ne kadar yoğun bakım ve dahiliye ünitelerinde 1999'un son 4 ayında izolasyon sayısının sıklığındaki belirgin artış bir salgını akla getirirse de; bu dönemde izole edilen 24 suştan sadece 6'sının (grup III ve

Tablo 4. YBÜ ve Dahiliye servisinde 1999'un son 4 ayında izole edilen 24 suşun dahil olduğu fenotipik ve genotipik gruplar

İzolat no	Genotipik grup	Fenotipik grup
27	*	D
30	*	H
31	III	B
32	VII	B
38	III	C
53	III	B
55	*	A
56	*	A
59	*	A
64	VII	B
65	*	A
77	*	L
79	*	B
80	*	B
96	*	B
98	*	F
103	*	C
104	*	C
106	*	P
107	VII	C
117	*	A
120	*	E
140	*	D
150	*	A

* Yedi genotipik gruptan herhangi birine girmeyen izolatlar.

VII'deki izolatlar) klonal ilişki göstermesi ve diğerlerinin farklı genotipik paternler sergilemeleri, bir salgının sözkonusu olmadığını ortaya koymaktadır (Tablo 4). Ayrıca nozokomiyal *P. aeruginosa* klonlarının bu çeşitliliği, izolatların farklı kaynaklardan hastalara bulaşarak, enfeksiyona yol açtığını göstermekte ve hastanemizde hijyenik kuralların etkin olarak uygulanması konusunda uyarıcı nitelikte gözükmektedir.

Genotipik ve fenotipik tiplendirme sonuçları kıyaslandığında, aralarında uyum olmadığı ve aynı genotipik grupta yer alan izolatların farklı fenotipik paternler sergiledikleri saptanmıştır. Örneğin genotipik Grup I'de yer alan 7 izolat, 4 ayrı fenotipik grupta (B, F, J, K); Grup II'de yer alan 6 izolat ise 3 ayrı fenotipik grupta (A, E, G) yer almışlardır (Tablo 3). Bu izolatlar sadece antibiyotik duyarlılık paternlerine göre tiplendirilseydi, epidemiyolojik olarak ilişkili toplam 13 suştan 6'sı dışarıda kalacaktı. Aynı şekilde diğer genotipik gruplardaki izolatların fenotipik paternleri irdelendiğinde, hiçbir genotipik grupta izolatların tamamının aynı fenotipte yer almadıkları ve bu izolatları antibiyotik duyarlılık paternlerine göre epidemiyolojik olarak ayırt etmenin mümkün olmayacağı açıkça görülmektedir (Tablo 3).

Sonuç olarak bu çalışma bize, hastanemizde çeşitli *P. aeruginosa* klonlarının var olduğunu, bunlardan bazılarının özellikle YBÜ ve dahiliye servislerinde belirli sürelerle inatla varlığını sürdürdüğünü ve *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılık paternlerine göre tiplendirilmesinin, klonal ilişkiyi belirleme de yetersiz kalabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Korten V. Hastane İnfeksiyonları. İnfeksiyon Hastalıkları. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996:281-90.
2. Korten V. Hastane İnfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve genel risk faktörleri. Hastane İnfeksiyonları. Eds; Akalın E. Ankara: Güneş Kitabevi, 1993:35-45.
3. Syndman DR. Nosocomial and iatrogenic infections. Mechanisms of microbial diseases. Schaechter M, Medoff G, Eisentein BI (eds). Maryland, Williams and Wilkins USA 1993:865-72.
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The nonfermentative gram-negative bacilli. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Lippincott Philadelphia USA 1997: 253-320.
5. Grundmann H, Schneider C, Hartung D, Daschner FD, Pitt TL: Discriminatory power of three DNA based typing techniques for *Pseudomonas aeruginosa*. J Infect Dis 1995;33:528-34.
6. Bingen E, Bonacorsi S, Rohlich P, et al. Molecular epidemiology of *P. aeruginosa* serotype O:12 outbreak isolates from a pediatric hospital. J Clin Microbiol 1996;34:3226-9.
7. Tassios PT, Gennimata V, Maniatis A, Fock C, Legakis N, The Greek *P. aeruginosa* Study Group. Emergence of multidrug resistance in ubiquitous and dominant *Pseudomonas aeruginosa* serogroup O: 11. J Clin Microbiol 1998;36:897-901.
8. Elaichoini A, Verschraegen G, Claeys G, Devleeschouwer M, Godard C, Vaneechoutte M. *Pseudomonas aeruginosa* serotype O: 12 outbreak studied by arbitrary primer PCR. J Clin Microbiol 1994;32:666-71.
9. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33:2233-9.
10. Renders N, Romling U, Verburgh H, Belkum AV. Comparative typing of *P. aeruginosa* by random amplification of polymorphic DNA or pulsed field gel electrophoresis DNA macrorestriction fragments. J Clin Microbiol 1996;34:3190-5.
11. Speijer H, Savelkoul PHM, Bonten MJ, Stobberingh E, Tjhe JHT. Application of different genotyping methods for *P. aeruginosa* in a setting of endemicity in an intensive care unit. J Clin Microbiol 1999;37: 3654-61.
12. Blanc DS, Siegrist HH, Sahli R, Francioli P. Ribotyping *P. aeruginosa*: Discriminatory power and usefulness as a tool for epidemiological studies. J Clin Microbiol 1993;31:71-77.
13. Grattard F, Gaudin OG, Posetto B, Ros A, Mbida AD. Genotyping homogeneity of *Pseudomonas aeruginosa* O:12 strains demonstrated by analysis of protein profiles DNA fingerprints and ribosomal rRNA gene restriction patterns. Eur J Microbiol Infect Dis 1993;12:57-61.
14. Cimolai N, Trombley C. Enterobacterial intergenic consensus sequence polymerase chain reaction as a typing method for *Burkholderia cepacia*. Clin Microbiol Infect Dis 1996;2:59.
15. Renders N, Van Belkum A, Barth A, et al. Typing of *Pseudomonas aeruginosa* strains from cystic fibrosis: Phenotyping versus genotyping. Clin Microbiol Infect 1996; 1:261.

Yazışma Adresi:

Dr. Ufuk ÖVER

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Haydarpaşa Kampüsü

81326, Haydarpaşa-İSTANBUL

Makalenin Geliş Tarihi: 16.06.2000

Kabul Tarihi: 30.10.2000