

157955

T.C  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN  
*STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* SUŞLARININ  
ANTİBİYOTİK DİRENÇ PATERNLERİ VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE TİPLENDİRİLMELERİ



Dr. Dolunay GÜLMEZ  
UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır  
Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. A. Gülşen Hasçelik

ANKARA  
2004

## TEŞEKKÜR

Bu tezin planlanması, gerçekleştirilmesi ve yazımı sırasında bilgi birikimi ve deneyimini esirgemeyen Prof. Dr. Gölřen Hařelik'e teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca katkıları nedeniyle Yrd. Doç. Dr. Özgen Köseoğlu Eser ve Belgin Altun'a teşekkür ederim.



## ÖZET

*Stenotrophomonas maltophilia*, sınırlı bir patojenitesi olmasına karşın, son yıllarda önemli bir nozokomiyal patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle düşükün ve bağışıklık sistemi baskılanmış hasta popülasyonlarında mortalite oranları yüksek seyreden ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Yapısal olarak birçok antibiyotiğe dirençli olması nedeniyle, tedavisinde güçlüklerle karşılaşmaktadır.

Bu çalışmada 1998-2003 yıllarında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'nda izole edilen 188 hastaya ait 205 *S. maltophilia* suşu izolasyon sıklığı, antimikrobiyal ajanlara direnç durumu ve aralarındaki genetik ilişki açısından incelenmiştir. İzole edilen *S. maltophilia* sayısının izole edilen tüm bakterilere oranı 1998 yılında % 0.48 iken 2003 yılında % 1.23 olmuştur. *S. maltophilia*'nın çoğunlukla (% 86.8) hastaneye yatıştan 48 saat ve daha sonra üretildiği ve hastaların % 90.4'ünde altta yatan hastalık bulunduğu saptanmıştır. Yoğun bakım birimlerinde *S. maltophilia* izole edilme riski diğer servislere oranla daha yüksek bulunmuştur.

Antimikrobiyal ajanlara direnç durumu, agar dilüsyon yöntemi ile NCCLS (Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi) tarafından nonfermentatif bakteriler için önerilen 11 antimikrobiyal ajana karşı (imipenem, meropenem, trimetoprim/sülfametoksazol, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, seftazidim, sefepim, sefotaksim, piperasilin, piperasilin/tazobaktam) saptanmıştır. Trimetoprim/sülfametoksazol dışındaki ajanlara direnç % 60'ın üzerinde bulunmuştur. Bu durum, *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde diğer nonfermentatif bakterilerden farklı bir yaklaşımın gerekliliğine işaret etmektedir.

Genotiplendirme için ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) ve PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) analizi yöntemleri kullanılmıştır. Çalışılan 205 *S. maltophilia* suşunda PFGE ile 188, ERIC-PCR ile 180 farklı genotip saptanmıştır. Suşlar tek bir hastaneden köken almalarına karşın oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir. Birden fazla

izolatu çalışmaya alınan 15 hastanın yalnızca 8 tanesinde izolatlar benzer patern göstermiştir. Aynı patern veren izolatların az olması ve grupların az sayıda suştan oluşması hastanemizde *S. maltophilia* ile gelişen enfeksiyonlarda çapraz bulaşın yaygın olmadığını göstermektedir. Özellikle devamlı bakım birimlerinde küçük çaplı salgınlar ortaya çıkabilse de alınan önlemler yayılmayı sınırlayabilmektedir.

ERIC-PCR yöntemi, referans yöntem olan PFGE analizine göre daha az sayıda genotip saptayabilmiş olmasına karşın, ayırım gücü yüksek bulunmuştur. İşgücü, zaman ve maliyet açısından avantajlı bir yöntem olması nedeniyle ERIC-PCR *S. maltophilia* izolatlarının genotiplendirilmesi için uygun bir yöntem olarak belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** *Stenotrophomonas maltophilia*, antibiyotik direnci, agar dilüsyon, moleküler tiplendirme, PFGE, ERIC-PCR.

**Destekleyen Kurumlar:** Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje no: 03 D 03 101 004)

## ABSTRACT

Despite its limited pathogenicity, *Stenotrophomonas maltophilia* is an emerging nosocomial pathogen. It causes serious infections with high mortality rates among debilitated and immuno suppressed patients. Treatment options are limited due to intrinsic resistance to many antimicrobial agents.

The aim of this study is to detect the isolation frequency, antimicrobial resistance and genotypic relations of 205 *S. maltophilia* strains isolated from 188 patients in Hacettepe University Faculty of Medicine Clinical Microbiology Laboratory between 1998 and 2003. The ratio of isolated *S. maltophilia* to total isolated bacteria was 0.48 % in 1998 and 1.23 % in 2003. *S. maltophilia* was isolated mostly after 48 hours of hospital administration (86.8 %), and 90.4 % of the patients had underlying diseases. The risk of *S. maltophilia* isolation was higher in intensive care units than other services.

The resistance of *S. maltophilia* to 11 antimicrobial agents (imipenem, meropenem, trimethoprim/sulfamethoxazole, amikacin, gentamicin, ciprofloxacin, ceftazidime, cefepime, cefotaxime, piperacillin, piperacillin/tazobactam) recommended by NCCLS to be tested for nonfermentative bacteria was determined by agar dilution method. The resistance was above 60 % for all antimicrobial agents except trimethoprim/sulfamethoxazole. This finding indicates the need for a different therapeutic approach in *S. maltophilia* infections.

ERIC-PCR and PFGE analysis were used for genotyping of the isolates. Of the 205 strains studied, 188 genotypes were detected by PFGE and 180 were detected by ERIC-PCR. High genetic diversity was found among *S. maltophilia* isolates despite they were all isolated in a single hospital. More than one isolate was studied for 15 patients. Isolates from 8 of these 15 patients gave identical patterns. The number of strains with identical patterns and number of strains in an identical pattern group were small. This shows the cross-infections with *S. maltophilia* is not common in our hospital. Small outbreaks, especially from intensive care units, could be controlled by standard precautions.

Although ERIC-PCR could detect less number of genotypes than the reference method, PFGE, its discriminatory power was high. It is a rapid and easy method with a lower cost than PFGE and can be used for *S. maltophilia* genotyping.

**Key words:** *Stenotrophomonas maltophilia*, antibiotic resistance, agar dilution, molecular typing, PFGE, ERIC-PCR

**Supported by:** Hacettepe University Scientific Research Unit (Project no: 03 D 03 101 004)



**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
Teşekkür	iii
Özet	iv
Abstract	vi
İçindekiler	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xiii
Tablolar	xiv
Giriş	1
Genel Bilgiler	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Mikrobiyolojik Özellikler	3
2.2.1. Morfolojik Özellikler ve Üreme Özellikleri	3
2.2.2. Yapısal Özellikler	4
2.2.3. Biyokimyasal Özellikler	5
2.2.4. Patogenez ve Virülans Faktörleri	6
2.2.5. Antimikrobiallere direnç	8
2.2.6. Antifungal etki	12
2.3. Epidemiyoloji	13
2.3.1. Doğal Habitat ve Taşıyıcılık	13
2.3.2 Görülme Sıklığı ve Risk Faktörleri	13
2.3.3. Tiplendirme	14
2.4. Klinik	16
2.4.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları	16
2.4.2. Bakteriyemi	17
2.4.3. Endokardit	18
2.4.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları	18
2.4.5. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları	18
2.4.6. Oftalmolojik Enfeksiyonlar	19

2.4.7. Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları	19
2.4.8. Deri, Yumuşak Doku, Kemik ve Eklem Enfeksiyonları	20
2.5. Tanı ve İn Vitro Duyarlılık Testleri	20
2.5.1. Laboratuvar Tanısı	20
2.5.2. İn Vitro Duyarlılık Testleri	20
2.6. Tedavi	22
2.7. Prognoz	23
2.8. Korunma	23
Gereç ve Yöntem	25
3.1. Suşlar	25
3.2. Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılık Testleri	25
3.3. Genotiplendirme	26
3.3.1. ERIC-PCR	26
3.3.2. PFGE Analizi	28
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	29
Bulgular	30
4.1. Hastalar ve suşlar	30
4.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	37
4.3. Genotiplendirme	38
Tartışma	41
Sonuç	53
Kaynaklar	54



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<i>AlgC</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> fosfoglukomutaz geni
AP-PCR	Arbitrarily-primed PCR
ATCC	American Type Culture Collection
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BCDB	Beyin cerrahi devamlı bakım
°C	Celcius derecesi
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum iyonu (+2 değerlikli)
<i>cadA</i>	Kadmiyum atım pompası determinanı
<i>cadC</i>	<i>cadA</i> 'nın transkripsiyonel regülatörü
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
dATP	Deoksiadenintrifosfat
dCTP	Deoksisitozintrifosfat
DDB	Dahiliye devamlı bakım
dGTP	Deoksiguanozintrifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTA	Derin trakeal aspirasyon
dTTP	Deoksitimidintrifosfat
EDTA	Etilendiamin-tetra-asetik asit
EMB	Eozin metilen mavisi
ERIC-PCR	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR
E/W	East/West
<i>FlhC</i>	<i>S. maltophilia</i> flagellin geni
GCDB	Genel cerrahi devamlı bakım
GEN	Gentamisin

HEp-2	Human epitelial carcinoma-2
HIV	Human Immunodeficiency virus
H.Ü.T.F.	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
OMP	Dış membran proteini
ONPG	Ortonitrofenil-beta-d-galaktopiranozid
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum iyonu (+2 değerlikli)
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum klorür
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MİK50	Test edilen suşların % 50'sini inhibe eden MİK değeri
MİK90	Test edilen suşların % 90'ını inhibe eden MİK değeri
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mM	Milimol
<i>mphBM</i>	Makrolid fosfotransferaz
NCCLS	The National Committee of Clinical Laboratory Standards
N/S	North/South
PCR	Polimeraz zincir tepkimesi
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
PIP	Piperasilin
P/T	Piperasilin/tazobaktam
RND	Root Nodulation Division
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SmeDEF	<i>S. maltophilia</i> atım pompası
SmeM	<i>S. maltophilia</i> çoklu ilaç atım proteini
SMF-1	<i>S. maltophilia</i> fimbriyal protein
<i>spgM</i>	<i>S. maltophilia</i> fosfoglukomutaz geni
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
StmPr1	Alkalin serin proteaz
TAE tamponu	Tris-asetat-EDTA tamponu
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE tamponu	Tris-borat-EDTA tamponu

TEM	Temoniera'dan kısaltılmıştır (İlk izole edilen olgunun ismi)
TE tamponu	Tris-EDTA tamponu
T/S	Trimetoprim/sülfametoksazol
Tris	Tris(hidroksimetil)aminometan
VIA agar	Vankomisin, imipenem, amfoterisin B agar
Zn <sup>+2</sup>	Çinko iyonu (+2 değerlikli)



## TABLOLAR

Tablo no.		Sayfa
Tablo-1	<i>S. maltophilia</i> izole edilen hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları	30
Tablo-2	H.Ü.T.F. Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na gelen örneklerin, üreyen bakterilerin, izole edilen <i>S. maltophilia</i> suşlarının ve çalışmaya alınan suşların yıllara göre dağılımı	31
Tablo-3	<i>S. maltophilia</i> izole edilen hastaların servislere göre dağılımı ve hasta sayısının yatak sayısına oranı	32
Tablo-4	İzole edilen <i>S. maltophilia</i> suşlarının örnek türlerine göre dağılımı	33
Tablo-5	<i>S. maltophilia</i> izole edilen hastalarda altta yatan hastalıklar	34
Tablo-6	<i>S. maltophilia</i> ile birlikte üreyen mikroorganizmalar	35
Tablo-7	<i>S. maltophilia</i> izole edilen hastaların hastaneye yatışından bakterinin üremesine kadar geçen ortalama sürenin servislere göre dağılımı	36
Tablo-8	Çalışmaya alınan <i>S. maltophilia</i> suşlarının 24. ve 48. saatlerde antimikrobiyal ajanlara direnç durumu	37
Tablo-9	ERIC-PCR ile aynı paterni veren suşlar, PFGE paternleri, bunların antibiyogramlarının karşılaştırılması, izole edildikleri hastalar, servisler ve tarihler	39

**ŞEKİLLER**

Şekil no.		Sayfa
Şekil-1	ERIC-PCR paternleri	40
Şekil-2	PFGE paternleri	40



## GİRİŞ

*Stenotrophomonas maltophilia* son yıllarda önem kazanan fırsatçı bir patojendir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının, invaziv girişimlerin ve aynı zamanda immün sistemi baskılanmış hasta sayısının artması antibiyotiklere çoğul dirençli olan bu bakterinin hastanelerde, özellikle yoğun bakım birimlerinde enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkmasına neden olmaktadır<sup>1-3</sup>. Bu mikroorganizma beta-laktamlar, aminoglikozitler gibi pek çok antimikrobiyal ajana karşı çoklu direnç göstermekte, bu durum kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Sonuç olarak *S. maltophilia* düşük virulansına karşın vücudun her bölgesinde enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkabilmekte, bu mikroorganizmaya bağlı pnömoni, bakteriyemi, endokardit, üriner sistem enfeksiyonu, menenjit, kolanjit, yumuşak doku ve yara enfeksiyonları bildirilmektedir<sup>3-7</sup>.

*S. maltophilia*, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında gittikçe artan sıklıkta izole edilmektedir. İzolasyon oranları 1970'lerin başında % 2'lerde iken, bu oran 1980'lerde % 8'lere yükselmiştir. Bazı merkezlerde % 35'leri aşan oranlar bildirilmiştir<sup>4</sup>. Çok merkezli bir çalışmada, *S. maltophilia* 1997-2001 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen nonfermentatif Gram negatif bakteriler içinde *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinin ardından üçüncü sıraya yerleşmiştir<sup>8</sup>. Son yıllarda önem kazanan bu bakteri hakkında halen bilgilerimiz sınırlıdır.

*S. maltophilia* pek çok antimikrobiyal ajana karşı kalıtsal olarak dirençlidir. Direnç oranları karbapenemlere % 96-100, seftazidime % 25-85, sefepime % 43-70, tikarsilin/klavulanata % 4-75, amikaside % 70-100, gentamisine % 47-100, çoğu çalışmada en etkin ajan olduğu belirtilen trimetoprim/sülfametoksazole ise % 0-96 arasında değişmektedir<sup>4</sup>. Bu değişken oranlar, tedavi protokollerinin belirlenebilmesi için her hastanenin kendi direnç paternini belirlemesinin gerekliliğini ortaya koymuştur.

*S. maltophilia*'nın bulaş yolları henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Sporadik olarak gelişen veya klonal bir yayılım sonucu ortaya çıkan enfeksiyonların ayrımı için fenotipik ve/veya genotipik tiplendirme çalışmaları

yapılmaktadır. Fenotipik yöntemler çoğu kez suşların farklı olduklarını göstermekte yetersiz kalmışlarsa da, genotipik yöntemler çeşitliliği saptamakta başarılı bulunmuşlardır<sup>2,9</sup>.

Bu çalışmada, 1998-2003 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na gelen klinik örneklerden izole edilen *S. maltophilia* suşlarının görülme sıklığı ve çeşitli antimikrobiyal ajanlara in vitro direnç durumu belirlenmiştir. Ayrıca, bu suşların ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) ve PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) gibi iki moleküler yöntemle tiplendirmeleri yapılmış ve suşların ilişkileri araştırılmıştır.



## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

*Stenotrophomonas maltophilia*, ilk olarak 1943'te plevral sıvıdan izole edilmiş ve *Bacterium bookeri* olarak adlandırılmıştır. Bu mikroorganizma, Hugh tarafından 1958'de oral karsinomlu bir hastanın orofaringeal sürüntü örneğinden izole edilmiş ve *Pseudomonas maltophilia* olarak yeniden isimlendirilmiştir. DNA-rRNA hibridizasyon tekniklerinin taksonomide kullanılmaya başlamasıyla *Pseudomonas maltophilia* ATCC 13637'nin genomik yapısının *Pseudomonas* genomundan çok *Xanthomonas* cinsine yakın olduğunu gösterilmiş ve Swings tarafından 1983'te *Xanthomonas* cinsi içinde değerlendirilmiştir. *Xanthomonas maltophilia*'nın DNA-rRNA hibridizasyon çalışmalarında diğer *Xanthomonas* türlerinden farklı bir erime noktası olduğu, poliamin ve yağ asidi analizi çalışmalarında oldukça ayrık bir paterne sahip olduğu ve sekiz birimli ubikinonların *Xanthomonas* cinsine özgü olmadığı anlaşılmıştır. Ayrıca bu bakterinin DNA'sı *Xanthomonas*'a özgü 16S rRNA primerleriyle amplifiye edildiğinde, diğer *Xanthomonaslar*'dan farklı bantlar görülmüştür. Bu çalışmalar sonunda, 1993 yılında *Stenotrophomonas* cinsi bu grubun tek temsilcisi olarak kabul edilmiştir. Bu bakterinin adı, Yunanca'da dar anlamına gelen steno, besleyen anlamına gelen trophus ve birim anlamına gelen monad sözcüklerinden türetilmiştir<sup>4,10</sup>. Son yıllarda *Stenotrophomonas africana*<sup>11</sup>, *Stenotrophomonas acidaminiphila*<sup>12</sup>, *Stenotrophomonas rhizophila*<sup>13</sup> adlı bakteriler de grup içinde önerilmişse de, bu görüş henüz tam olarak kabul görmemiştir.

### 2.2. Mikrobiyolojik Özellikler

#### 2.2.1. Morfolojik Özellikler ve Üreme Özellikleri

*Stenotrophomonas maltophilia*, Gram boyama sonrası ışık mikroskopunda 0.5-1.5 µm uzunluğunda Gram negatif düz ya da hafif kıvrık basil yapısında olup tek ya da çiftler halinde görülebilmektedir. Polar flagelleri sayesinde hareketlidir. Spor oluşturmaz. Zorunlu aerobdur. Normal



atmosferde ya da % 5'lik CO<sub>2</sub> içeren ortamda üreyebilmektedir. Optimum üreme sıcaklığı 35°C olup 5°C'nin altındaki ve 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda üreyememektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarında rutinde kullanılan kanlı agar, MacConkey agar, EMB agar gibi besiyerlerinde rahatlıkla üretilmektedir. Besiyerlerinde düzgün kenarlı, parlak koloniler şeklinde gözlenmektedir. Kanlı agarda beyaz, açık sarı ya da lavanta yeşili koloniler görülebilmektedir. Bazı suşlar kanlı agarda yeşilimsi renk değişikliği veya beta hemoliz yapabilmektedirler. MacConkey, EMB gibi besiyerlerinde saydam, laktoz negatif koloniler oluşturmaktadır. Laktozu geç fermente etme özelliği nedeniyle oda sıcaklığında ya da etüvde bekleyen kolonilerde laktoz pozitifliğe kayma olabilmektedir. Bazı suşlar triptik soy ve Mueller-Hinton agar gibi saydam besiyerlerinde kahverengimsi renk değişikliği gösterebilmektedir<sup>4,14</sup>. Steril olmayan vücut bölgeleri ve çevresel örnekler için antibiyotik içeren selektif besiyerleri kullanılması önerilmektedir. Selektif besiyerlerinden VIA agar (Vankomisin, imipenem, amfoterisin B, mannitol/bromtimol mavisi), *S. maltophilia*'nın yanısıra vankomisin dirençli enterokokların ve karbapenem dirençli *P. aeruginosa*'nın üremesine izin vermektedir. Enterokoklar mannitol pozitif, *P. aeruginosa* ise oksidaz pozitif olmaları nedeniyle ayrılabilir<sup>15</sup>.

*S. maltophilia* balgam, bronkoalveolar lavaj, derin trakeal aspirat, kan, kateter, püy, idrar gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilebilmektedir. Bunun yanında hastanede de lavabolar, küvetler, solunum aygıtlarının nemli parçaları gibi çevresel örneklerden ve doğada özellikle su kaynaklarından üretilmektedir. Kuru yüzeylerden üretilmesi nadirdir. Kuruluğa oldukça dayanıksızdır<sup>4</sup>. Dezenfektanlara karşı direnç görülebilmektedir. Hastanede kullanılan bazı dezenfektan maddelerin *S. maltophilia* ile kontamine olabildiği bildirilmiştir<sup>4,16,17</sup>.

### 2.2.2. Yapısal Özellikler

*S. maltophilia*'nın duvar yapısı, Gram negatif bakteri hücre duvarına benzemektedir. Somatik O ve flagellar H antijenleri tanımlanmıştır<sup>4</sup>. *S. maltophilia*'nın toplam 31 O antijeni saptanmış ve en sık rastlanılan O3

dahil 7 tanesinin yapısı belirlenmiştir. Bu bakterinin, *Brucella* türleri ve *Legionella pneumophila* O antijenleri ile çapraz reaksiyon verebildiği bildirilmiştir<sup>4,18</sup>.

*S. maltophilia*'nın özgül bir hücresel yağ asidi içeriği bulunmaktadır. Dallanan zincirli 15 karbonlu yağ asidi olan 13-metiltetradekanoik asit oranı % 26'lara ulaşabilmektedir<sup>4</sup>. Buna ek olarak, diğer bakterilerde saptanamamış olan 2-hidroksi-9-metildekanoik asit, 3-hidroksi-9-metildekanoik asit, 3-hidroksi-11-metildodekanoik asit gibi üç dallanan zincirli hidroksi yağ asidi tanımlanmıştır. Bu özellik tanıda kullanılabilir<sup>19</sup>.

*S. maltophilia*'nın fimbriyalara sahip olduğu, bir veya birkaç polar flagella taşıyabildiği gösterilmiştir. Negatif boyama ve transmisyon elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, fimbriya sentezlenen koşullarda flagellanın da eksprese edildiği saptanmıştır. Fimbriyal yapılar, 5-7 nm genişliğinde olup, bakteri yüzeyinde birkaç µm'lik çıkıntılar yapmaktadırlar. Son yıllarda *S. maltophilia*'ya özgül bir fimbriyal protein de tanımlanmıştır. Bu protein, 17 kDa'luk fimbrin altbirimlerden oluşmakta ve SMF-1 olarak isimlendirilmektedir<sup>20</sup>.

Flagella filamentleri yaklaşık 45 nm genişliğinde ve 15µm uzunluğundadır. Ana yapısal eleman 38 kDa'luk bir flagellin olup FliC olarak adlandırılmıştır. İlk 14 aminoasit kalıntısında *Serratia marcescens* flagellini ile % 78.6, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei* flagellinleri ile % 71.4, *P. aeruginosa*'nın flagelliniyle ise yalnızca % 57.2 özdeşlik göstermektedir. Antijenik olarak ise bunlardan yalnızca *P. mirabilis* flagellinine ve *P. aeruginosa* Fla-A ve Fla-B'sine karşı antikorlarla çapraz reaksiyon verdiği saptanmıştır. Bazı suşlarda flagellin moleküler kütlesi değişiklik göstermekte, 33 kDa'luk proteinler de bildirilmektedir. Bazı suşlarda da immüno blot testlerinde çift bant görülebilmektedir<sup>21</sup>.

### 2.2.3. Biyokimyasal Özellikler

*S. maltophilia* nonfermentatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif bir bakteridir. Bazı suşlarda oksidaz reaksiyonunun hafif pozitifleştiği saptanmıştır. Lizin dekarboksilazı pozitifdir. Bu özelliği nedeniyle diğer bir

nonfermentatif bakteri olan *Burkholderia cepacia*'ya benzemektedir. *B. cepacia*'dan DNaz varlığı, polimiksine duyarlı olması ve mannitol oksidasyon-fermentasyon reaksiyonunun negatif olması ile ayrılabilir. Maltoz içeren oksidasyon-fermentasyon besiyerinde kuvvetli asit reaksiyon verirken, glukoz içeren oksidasyon fermentasyon besiyerlerinde 24 saatin sonunda negatif ya da zayıf pozitif sonuç vermektedir. Laktozu geç fermente etmekte, ortonitrofenil-beta-d-galaktopiranozid (ONPG) testi pozitif reaksiyon vermektedir. Eskülini hidrolize edebilmesi tanıda önemli bir özelliktir. Çoğu bakteriye göre inaktif bir metabolizmaya sahiptir. Arjinin dekarboksilaz, asetamid reaksiyonu, üre hidrolizi, nitrat ve nitrit oluşumu gibi nonfermenter bakterilerin tanısında yardımcı reaksiyonlar negatiftir<sup>14</sup>.

#### 2.2.4. Patogenez ve Virülans Faktörleri

*S. maltophilia*'nın daha çok düşkün ya da immün sistemi baskılanmış kişilerden izole edilmesi, patojenitesinin sınırlı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca bu bakterinin virülans faktörleri hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır. Klinik örneklerden izole edilmesinin önemi tam olarak bilinmemektedir. Enfeksiyon bölgesinden genellikle tek başına değil, bir ya da birkaç bakteri ile birlikte, daha çok *P. aeruginosa* ile birlikte izole edilmektedir. Bu nedenle *S. maltophilia*'nın enfeksiyon patojenitesindeki dolaylı rolü halen merak konusudur. Geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik tedavisi, bu ilaçlara dirençli *S. maltophilia* gibi bakterilerin seçilmesini sağlamakta, aynı zamanda beta-laktamazlarını da indüklemektedir. Kataoka ve arkadaşlarının 2003'te yayınlanan bir çalışması, *S. maltophilia*'nın başka patojenlerin tedaviye direncini etkileyebileceği ile ilişkili kanıtlar göstermiştir. *S. maltophilia* seftazidim ve imipenem bulunan ortamda, rahatlıkla üreyebilmektedir. Seftazidim ve imipeneme duyarlı *P. aeruginosa* ve *S. marcescens* ise antibiyotik varlığında canlılıklarını koruyamamaktadırlar. Bu duyarlı bakterilerin *S. maltophilia* ile birlikte antibiyotik içeren ortama ekildiklerinde üremelerine devam edebildikleri gösterilmiştir. Üreyen *P. aeruginosa* ve *S. marcescens* suşlarında antibiyotik duyarlılığı yeniden test edildiğinde halen duyarlı oldukları görülmüştür. Sonuç olarak *S. maltophilia* antimikrobiallere

duyarlı etken bakterilerin tedavisini engelleyebilmektedir. Bu nedenle, kültürlerde *S. maltophilia* ile birlikte izole edilen diğer bakterilerin in vitro duyarlılığı, *S. maltophilia* varlığında çok dikkatli değerlendirilmeli ve tedavi ona göre planlanmalıdır<sup>22</sup>.

Son yıllarda *S. maltophilia* patogeneğinde bazı virülans faktörleri tanımlanmıştır. Bu faktörler arasında konak epitel hücrelerine ve inorganik yüzeylere tutunabilme, biyofilm oluşturma, lipopolisakkaritler, bazı ekstraselüler enzimlerin salgılanması, serumun bakterisidal etkisine direnç sayılmaktadır.

*S. maltophilia*'nın epitel hücrelerine, yapay kalp kapakçıkları, protezler, kateterler gibi inert yüzeylere adezyon yapabildiği bilinmektedir. Son yıllarda epitel hücrelerine adezyonda ve inert yüzeylerde biyofilm oluşturmada etkin bakteriyel yüzey faktörleri tanımlanmıştır. *S. maltophilia*'da tanımlanan fimbriyal protein SMF-1'in 37°C'de sentezlendiği gösterilmiştir. Bu durum, özelliğın in vivo olarak eksprese edildiğini düşündürmektedir<sup>20</sup>.

Kateterler ve benzeri yüzeylerde kolonizasyonunu kolaylaştıran etkenlerden biri de pozitif yüzey yükünün cam ve teflona tutunmayı artırmasıdır<sup>23</sup>. İnorganik yüzeylere tutunabilme ve biyofilm oluşturarak kalıcı olabilme yetisinin intravenöz sıvılarda hayatta kalabilme ve üreyebilme özelliği ile birleşmesi, damar yolu ilişkili *S. maltophilia* enfeksiyonunun patogeneğinde önem kazanmaktadır.

Biyofilm oluşumu, bakterilerin konak savunmasından ve antimikrobiyal ajanların etkilerinden kaçmalarında olduğu kadar, inorganik yüzeylere tutunmalarında önemli rol oynamaktadır. *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Vibrio cholerae*'da fimbriya ve flagella gibi yüzeyel hidrofobik determinantların varlığının biyofilm oluşumu için zorunlu olduğu bilinmektedir<sup>21</sup>. Fimbriyal protein SMF-1'in, biyofilm yapısına yardımcı olduğu belirtilmektedir. Elektron mikroskopunda fimbriya benzeri kısa ve ince filamanların yanında, bakteriler arasında uzanan daha kalın ve uzun flagella benzeri iplikçiklerin bakteriden bakteriye ve bakteriden plastik yüzeye uzandığı saptanmıştır. Bu gözlem, flagellanın da biyofilm yapısına katıldığını düşündürmektedir<sup>20,21</sup>. Bazı antibiyotiklerin biyofilmin içinde bulunan *S. maltophilia*'yı öldürebildiği

gösterilmiştir. Yapılan bir çalışma trimetoprim/sülfametoksazol ve kinolonların biyofilm üzerine etkili olduğunu saptarken, seftazidimi etkisiz bulmuştur<sup>24</sup>.

Lipopolisakkaritlerin enfeksiyonun gelişimi ve kalıcılığındaki önemi uzun zamandır dikkati çekmektedir. Yapılan çalışmalar, O polisakkaritinin kaybının virülansın azalmasıyla ilişkisini göstermiştir<sup>4,25</sup>. *S. maltophilia*'da da lipopolisakkaritlerin patogeneze ve antibiyotik direncine katkısı araştırılmaktadır. Son yıllarda *P. aeruginosa*'da lipopolisakkarit ve alginat sentezinden sorumlu olan fosfoglukomutazı kodlayan *algC* genine homolog bir *spgM* geninin varlığı *S. maltophilia*'da da gösterilmiştir. Sıçanlarda yapılan çalışma, *spgM* mutantlarının akciğerleri kolonize edemediğini ancak, sokak suşunun enfeksiyondan yedi gün sonra bile akciğerlerden izole edilebildiğini göstermiştir. Virülanstaki bu değişikliğin nedenleri araştırıldığında, *spgM* mutantının komplemana duyarlı olduğu ve serumda hızla öldürülebildiği bulunmuştur. Membran akışkanlığı, lipopolisakkarit yan zincir uzunluğu ve olasılıkla kor polisakkarit içeriği, *S. maltophilia*'nın antibiyotik direncindeki sıcaklığa bağlı varyasyonlarından da sorumlu tutulmaktadır. *SpgM* geninin kodladığı fosfoglukomutaz, lipopolisakkarit sentezini etkileyerek hem virülansta hem de antibiyotiklere duyarlılıkta önemli değişimlere yol açan bir bakteriyel faktördür<sup>26</sup>.

Hücre dışına salgılanan bazı enzimlerin de patogeneze rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, bakterinin DNaz, RNaz, fibrinolizin, lipaz, hyaluronidaz, proteaz ve elastaz sentezleyebildiğini göstermiştir. Hücre dışı bir alkalik serin proteaz olan *StmPr1*'in serum ve bağ dokudaki bazı proteinleri parçaladığı ve bunun bazı hastalardaki pulmoner kanama gibi doku lezyonlarından sorumlu olabileceği öne sürülmektedir<sup>27</sup>.

Az sayıda suşla yapılan bir çalışmada, serum direncinin klinik izolatlarda, çevreden izole edilenlere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir<sup>4</sup>.

### 2.2.5. Antimikrobiyallere direnç

#### Beta-laktamlar

*S. maltophilia*, beta-laktamların çoğuna karşı dirençlidir. Bu dirençten L1 ve L2 beta-laktamazları ve azalmış dış membran geçirgenliği sorumlu

tutulmaktadır. L1 beta-laktamazı aktif bölgesinde  $Zn^{+2}$  taşıyan bir metallobeta-laktamazdır. Karbapenemler dahil çoğu beta-laktamlara karşı değişen düzeylerde dirençten sorumlu tutulmaktadır. Aztreonama karşı etkisizdir. L2 beta-laktamazı, aktif bölgesinde serin taşımakta ve esas olarak sefalosporinaz aktivitesi göstermektedir. *S. maltophilia*'da aztreonam direncinden sorumludur. L1'in aksine beta-laktam inhibitörlerine duyarlıdır<sup>4</sup>.

*S. maltophilia*'da saptanan bu iki beta-laktamazın yapımlarının intrinsik ve indüklenebilir olması, regülatör elemanları paylaşan kromozomal genlerce kodlandıklarını düşündürse de bu kesin değildir<sup>28,29</sup>. Deneysel olarak, *S. maltophilia*'dan alıcı *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *P. mirabilis* suşlarına sefalosporin ve aztreonam direncinin aktarılabildiği gösterilmiştir<sup>4</sup>. Rutin plazmid izolasyon yöntemleri ile elde edilen 200 kb'lık bir DNA parçasında hem L1 hem de L2'nin taşınabildiği de bilinmektedir. Ancak bu DNA parçası tüm izolatlarda tespit edilebildiğinden plazmid olarak mı, fragmente kromozom parçası olarak mı değerlendirilmesi gerektiği açıklığa kavuşmamıştır<sup>30</sup>.

*S. maltophilia*'da L1 ve L2'ye ek olarak başka beta-laktamazlar da sentezlenebilmektedir<sup>31</sup>. Transpozonda taşınan TEM tipi bir beta-laktamazın varlığı da bildirilmiştir<sup>32</sup>. Mobil genetik elemanlara bağlı direnç genlerinin gösterilmesi ve L1 ve L2'nin plazmidde taşınabilmesi olasılığı, direnç aktarımında rezervuar olabileceğine işaret etmektedir.

Bakteriyel membranın penisilin ve sefalosporinlere karşı geçirgenliğinin düşük olması da dirence katkıda bulunmaktadır. Ancak geçirgenliğin membran porinlerinin niteliksel ya da niceliksel özellikleri ile değişip değişmediği bilinmemektedir<sup>4</sup>.

### **Aminoglikozitler**

*S. maltophilia*, aminoglikozitlere intrinsik direnç göstermektedir. Direnç mekanizmaları arasında aminoglikozitlerin içeri girişinin engellenmesi, 16S rRNA'da mutasyon, 16S rRNA'nın enzimatik modifikasyonu, ribozomal proteinlerin genlerinde mutasyon ve aminoglikozit modifiye eden enzimlerin varlığı ve atım pompaları bildirilmiştir<sup>33,34</sup>. Direnç çoğunlukla multifaktöriyeldir.

Aminoglikozit direncinden daha çok aminoglikozitlerin hücre içine alımındaki azalma sorumludur. Aminoglikozit modifiye eden enzimler yaygın değildir<sup>33</sup>.

Antimikrobiyal ajanlara, özellikle aminoglikozitlere duyarlılıkta sıcaklığa bağlı değişim, *S. maltophilia*'da sıklıkla izlenebilmektedir. Antimikrobiyal etki, çoğunlukla 37°C'de 30°C'dekinden daha fazladır. Kolistinde ve bazı beta-laktamlarda tersi de görülebilmektedir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) değerlerinde 4 dilüsyondan fazla değişiklik olabilmektedir. Bu olay 35°C'nin altında etkisini göstermeye başladığından, vücut sıcaklığının düşebildiği sepsiste ya da düşük sıcaklığın normal şartlarda görülebildiği periferel vücut bölgelerinde tedavi başarısızlıklarına neden olabilmektedir<sup>35,36</sup>.

### Florokinolonlar

Kinolonlara dirençle ilgili daha az çalışma bulunmaktadır. Dirençli suşlar in vitro olarak kolaylıkla seçilmekte ve direnç dış membran proteinlerindeki niteliksel ve niceliksel değişimlere bağlanmaktadır. Kinolona dirençli suşlarda kloramfenikol ve doksisisikline çapraz direnç de bildirilmiştir<sup>37</sup>. Yeni kinolonlardan özellikle daha lipofilik olanlar, siprofloksasin ve ofloksasine göre daha etkili bulunmuşlardır. Örneğin, 60 klinik suş ile yapılan bir çalışmada levofloksasine direnç % 15 , ofloksasine direnç % 12.7 olarak tespit edilmiştir. Levofloksasin 4 saat içinde bakterisidal etkinlik gösterirken, ofloksasin ve siprofloksasin 8 saatin sonunda bile bakterisidal etkinlik gösterememektedir<sup>38</sup>. Aynı hastadan elde edilen suşlarda, tedavi sırasında izolatların % 50'sinin en az bir antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirdiği de bildirilmiştir<sup>39</sup>.

### Makrolidler

*S. maltophilia*'da makrolid fosfotransferaz (*mphBM*) ve kadmiyum atım pompası determinantı (*cadA*) ve onun transkripsiyonel regülatörünü (*cadC*) içeren bir gen kümesi saptanmıştır. Yapılan dizi analizinde, bu genlerin *S. aureus*'taki eritromisin ve kadmiyum direncinden sorumlu genlerin izoformları oldukları gösterilmiştir<sup>40</sup>. *S. maltophilia*'nın yapısal özellikleri ve G+C içeriği de Gram pozitif kökeni desteklemektedir. Olasılıkla transpozonda

taşınmış olan bu gen kümesi Gram pozitif bakteriler ile Gram negatif bakteriler arasındaki DNA aktarımına *S. maltophilia*'da gösterilen ilk örnek olaydır. Karışık ve/veya kronik enfeksiyonlar *S. maltophilia*'da sık görülmekte ve DNA aktarımına zemin hazırlamaktadır<sup>40</sup>.

Eritromisin direncinden, ilaca karşı geçirgenliğin azalmasının yanısıra bir çoklu ilaç atım pompasının da sorumlu olabileceği gösterilmiştir<sup>41</sup>.

### **Çoklu antibiyotik direnci**

Klinik *S. maltophilia* izolatlarında çoğunlukla birden fazla antibiyotiğe karşı çoklu direnç gözlenmektedir. Çoklu antibiyotik direnci görülen suşların 50 kDa molekül ağırlığında bir dış zar proteini eksprese ettikleri belirlenmiştir. SmeM (*S. maltophilia* multidrug efflux) olarak isimlendirilen bu protein, *P. aeruginosa*'nın MexAB-OprM atım pompasına ait OprM proteini ile çapraz reaksiyon vermektedir. Benzer şekilde, bu çoklu antibiyotik direncine sahip suşların 110 kDa'luk bir sitoplazmik membran proteininin de MexB komponenti ile çapraz reaksiyon verdiği gösterilmiştir<sup>34</sup>. *S. maltophilia*'nın çoklu antibiyotik direncini açıklamak için SmeM varlığı yeterli olamamıştır. Eritromisine duyarlı bir *E. coli* suşunda direnç gelişimine neden olabilen bir *S. maltophilia* gen bölgesini tanımlamak üzere yapılan daha ayrıntılı bir çalışmada, SmeDEF olarak isimlendirilen bir atım pompası tanımlanmıştır<sup>41</sup>. SmeD, membran füzyon proteini ailesiyle homoloji göstermektedir. SmeE ise RND (Root Nodulation Division) ailesi proteinlerine benzemektedir. SmeF'nin birkaç dış membran proteinine (OMP) benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Karbonil siyanid m-klorofenilhidrazon varlığı ve yokluğunda etidyum bromür ve norfloksasin birikimi çalışıldığında SmeDEF'in, membran proton hareketi kuvvetine bağımlı bir atım pompası olduğu anlaşılmıştır. SmeDEF ekspresyonu, eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol, nalidiksik asit, norfloksasin ve ofloksasin MİK değerlerinde belirgin artışa yol açmıştır. Bu proteinin birkaç antimikrobiyal ajana karşı MİK değerlerinde yükselmeye neden olması, çoklu antibiyotik direncindeki rolünü belirtmektedir<sup>41</sup>.



### **Antimikrobiyal direncin *S. maltophilia*'nın fizyolojisine etkisi**

Antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanmanın çoğu zaman bakteriye fizyolojik bir bedel ödettiği bilinmektedir. Bu durum *S. maltophilia*'da da geçerlidir. Dirençli mutantlar duyarlı sokak suşlarına göre çevreye daha az uyumlu olup, antibiyotik baskısı olmadığında ortamı duyarlı suşlara bırakma eğilimindedirler. Bu durum, bir antibiyotiğin kullanımı kısıtlandığında ona karşı direncin azalmasını açıklamaktadır. SmeDEF pompasının aşırı üretimi de bakteriye fizyolojik bir yük getirmektedir. Zengin besiyerinde aşırı SmeDEF sentezleyen mutant, sokak suşuna göre daha küçük koloniler oluşturabilmektedir. Sokak suşu ile aşırı SmeDEF sentezleyen mutantın bir arada kültürleri yapıldığında, sokak suşu mutant suş miktarını iki hafta içinde neredeyse saptanamayan düzeylere indirmektedir. Ayrıca hayvan modelinde yapılan çalışmalar, mutant suşun virülansının belirgin ölçüde azaldığını göstermektedir<sup>42</sup>. Aşırı SmeDEF sentezleyen mutantın aminoasitleri verimli bir şekilde kullanamadığı, buna karşın karbonhidrat kullanımının sokak suşuna göre daha verimli olduğu belirlenmiştir. Bu durumda, fizyolojik yükün ağırlığının, bulunan ortama göre değişebileceği belirtilmektedir<sup>42</sup>.

### **2.2.6. Antifungal etki**

*S. maltophilia*, doğal yaşam ortamında bitki zararlısı (fitopatojen) mantarları inhibe edebilmektedir. Antifungal etkisinin insanda klinik yansıması henüz bilinmese de, in vitro bazı çalışmalar yapılmıştır. On farklı *S. maltophilia* izolatının insan patojeni mantarlar üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. kefir*, *C. guilliermondi*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* için belirgin, *Aspergillus fumigatus* için ise az miktarda inhibitör etki saptanmıştır. *E. coli*, *Haemophilus influenza* ve *Staphylococcus aureus*'ta inhibitör etki görülmemiştir. Bu durum kistik fibrozis hastalarında fungal enfeksiyonun nadir olması ve en sık *A. fumigatus*'un görülmesi ile uyumludur<sup>43</sup>. *S. maltophilia*'nın saprofitik, fitopatojen ve insana patojen bazı mantarlara etkili maltophilin adı verilen bir antifungal molekül ürettiği de bilinmektedir<sup>44</sup>.

## 2.3. Epidemiyoloji

### 2.3.1. Doğal Habitat ve Taşıyıcılık

*S. maltophilia*, doğada yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Nehirler, su kuyuları, göller, lağımlar, şişe suları gibi su kaynaklarında, toprakta, çeltik tarlalarında ve çeşitli bitkilerde (muz, çimen, lahana, şeker kamışı, şeker pancarı, hurma ağaçları, şalgam, pamuk, fasülye, buğday, hardal, orkide, narenciye ağaçları, mısır, tütün, baklagiller ve bekletilen kereste) varlığı gösterilmiş, ayrıca, dondurulmuş balık, süt, yumurta, et ürünleri gibi yiyeceklerden de üretilmiştir<sup>4</sup>. Laboratuvarda hücre kültürlerini kontamine edebildiği ve % 1'lik sodyum azid gibi bazı dezenfektanlarda üreyebildiği bilinmektedir<sup>17</sup>. *S. maltophilia* hastane ortamında ıslak yüzeylerden izole edilebilmektedir. Kuru bölgelerden izolasyonu nadirdir. İnsanlarda *S. maltophilia* taşıyıcılığı olabileceği gösterilmiş, gaytadan, hastane personelinin ellerinden, orofaringeal sürüntülerden izolasyon yapılabilmektedir<sup>45,46</sup>. Ancak salgın sırasında hastane personeli ya da hastalardan alınan deri sürüntülerinde ve hastane personelinden alınan nazofaringeal sürüntülerde üretilmemiştir<sup>47</sup>.

*S. maltophilia*'nin hayvanlarca taşınması konusundaki veriler kısıtlıdır. Balıktan, çiğ inek ve koyun sütünden, tavşan gaytasından, kertenkeleden, yılandan, kurbağadan, laboratuvar hayvanlarının gastrointestinal sistemlerinden, hatta bir nematod olan *Neoaplectana carpocapsae*'den izole edilmiştir<sup>4</sup>. Bunun insan kolonizasyonuna ve enfeksiyonlarına etkisi bilinmemektedir.

### 2.3.2 Görülme Sıklığı ve Risk Faktörleri

*S. maltophilia*'nin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izolasyon oranları 1970'lerden beri sürekli bir artış göstermektedir. İzolasyon oranları 1970'lerin başında % 2'lerde iken 1980'lerde % 8'lere yükselmiştir. Bazı merkezlerde % 35'leri aşan oranlar gözlenmektedir<sup>4</sup>. Geniş çaplı bir araştırmada klinik örneklerde *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter*'in ardından

% 8'lik izolasyon oranıyla üçüncü en sık Gram negatif nonfermentatif bakteri olarak bildirilmiştir<sup>8</sup>. *S. maltophilia* enfeksiyonlarında geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, santral venöz kateterler ve mekanik ventilasyon gibi invaziv girişimler, bağışıklık sisteminin baskılanması, hastanede kalma süresinin uzaması risk faktörleri arasında sayılmaktadır<sup>14,46</sup>. Çeşitli yayınlarda belirtilen risk faktörlerinin karşılaştırılması hasta popülasyonlarının, enfeksiyon tanımlarının ve istatistiksel yöntemlerin farklı olması nedeniyle yapılamasa da, enfeksiyon öncesi antibiyotik kullanımı, immün sistemin baskılanması ve hastanın genel durumunun kötü olması gibi faktörler hemen hemen tüm çalışmalarda ortak olarak bulunmuştur<sup>4</sup>.

*S. maltophilia*'nın nozokomiyal salgınlara yol açabildiği bilinmektedir. Bunlardan bazılarında kaynak belirlenebilmiştir. Kullanılan dezenfektanın kontamine olması, kapiller diyaliz aygıtının uygunsuz dezenfeksiyonu, hastalara verilen soğuk içecekler için kullanılan buz makinesinin kontaminasyonu bunlardan bazılarıdır. Hastalar arasında çapraz geçiş de mümkündür<sup>48</sup>.

### 2.3.3. Tiplendirme

*S. maltophilia* suşları arasındaki ilişkinin incelenmesi için pek çok tiplendirme yöntemi kullanılmıştır<sup>4</sup>. Fenotipik yöntemler, suşların farklılıklarını belirlemede genellikle başarılı olamamışlardır. *S. maltophilia*'da suşlar arasında biyokimyasal çeşitlilik nadir görülmekte ve biyotiplendirmenin ayırım gücü, farklı suşları ayırt etmek için yetersiz kalmaktadır. Antimikrobiyal duyarlılık paternine göre tiplendirme, *S. maltophilia*'da yararlı olmamıştır. Özellikle duyarlı-dirençli ayırımı ile elde edilen paternler çeşitlilikten yoksundur ve klonların ayırt edilmesinde yeterli olmamaktadır. MİK değerleri kullanıldığında elde edilen sonuçlar daha iyi olmakla birlikte, intrinsik direncin tüm suşlarda bulunması nedeniyle suşlar arasında yeterli ayırım sağlanamamaktadır<sup>4</sup>. Serotiplendirme, O antijenine göre yapılmaktadır. Tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasına karşın ayırım gücünün düşük olması ve özgül antiserumların her laboratuvarda bulundurulamaması, *S. maltophilia* tiplendirmesinde serotiplendirmenin kullanımını sınırlamaktadır<sup>49</sup>.

*S. maltophilia*'da suşlar fenotipik olarak benzer olsalar da, belirgin bir genomik çeşitlilik gösterdiklerinden genotipik tiplendirme yöntemleri daha iyi sonuçlar vermektedir<sup>50</sup>. Elektroforez ile ayırım yapan yöntemlerde elektrik akımı altında agaroz porlarından geçen DNA parçaları büyüklüklerine göre ayrılmaktadır. Büyük DNA parçaları akım farklı yönlerden pulsar şeklinde verildiğinde yönlerini küçük parçalar kadar kolay değiştiremediklerinden daha kolay ayrılmaktadırlar. Geliştirilen bu teknik PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) olarak isimlendirilmektedir<sup>51</sup>. Kromozomal DNA'nın restriksiyon enzimleriyle kesimi ve PFGE sonrası elde edilen bant paternlerinin değerlendirilmesi ayırım gücünün ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olması nedeniyle *S. maltophilia* tiplendirmesinde referans yöntem olarak kabul edilmektedir<sup>52,53</sup>. Bu amaçla farklı restriksiyon enzimleri denenmiş, XbaI enzimi en iyi sonuçları vermiştir<sup>54,55</sup>. Bu bakterinin genotipik tiplendirilmesinde AP-PCR (Arbitrarily-primed PCR) ve özellikle ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) başarıyla kullanılmaktadır. AP-PCR yönteminde özgül bir bölgeyi hedef almayan primerlerle elde edilen ürün analiz edilmektedir. Bu yöntemin tekrarlanabilirliği tartışma konusudur. Kalıp DNA ile primerin birleşme sıcaklığının ilk birkaç döngüde düşük tutulması nedeniyle özgül bir birleşme olmaması aynı suş ile çok farklı sonuçlar alınabilmesine neden olmakta, bu nedenle farklı laboratuvarlarda elde edilen bant paternleri karşılaştırılmamaktadır. ERIC-PCR'da, ERIC dizilerine yönelik primerler kullanılmaktadır. Bunlar, bakteriyel genomun ekstragenik kısmında bulunan yaklaşık 126 baz çifti uzunluğunda dizilerdir. İyi korunmuş merkezi ters tekrarlar (inverted repeat) içerirler. Tekrarlanabilirlik sorunları AP-PCR ile benzerlik göstermekte ancak daha kolay yorumlanabilmektedir<sup>53</sup>. *S. maltophilia* genotiplendirmesinde rRNA genlerinin probalar ile analizi (ribotiplendirme) ve 16S rRNA geninin dizisinin belirlenmesi de kullanılmaktadır ancak, ayırım güçleri PFGE'e üstün değildir<sup>52,56</sup>.

## 2.4. Klinik

*S. maltophilia* ile ilgili ilk yayınlarda, bu bakterinin enfeksiyonla ilişkisi tam olarak belirlenememiştir<sup>4</sup>. Bakterinin karışık kültürlerden izole edilmesi ve nekropsi örneklerinden kontaminant olarak izole edilebilmesi, özellikle yüzeysel enfeksiyonlarda kolonizasyon ile gerçek enfeksiyonun ayırımında güçlükler neden olmuştur. Çoğu durumda kolonizasyon ile enfeksiyonun ayırt edilmesinde zorluklarla karşılaşmış ve klinik gidişin ya da mortalitenin *S. maltophilia* ile ilişkisi kanıtlanamamıştır. Bu yüzden ciddi ölçüde düşük ya da immün sistemi baskılanmış kişiler dışında nadiren sorun çıkarabilen, patojenitesi son derece sınırlı bir mikroorganizma olduğu düşünülmüştür. Ancak, steril vücut bölgelerinden, otopsilerde hastalık bölgelerinden tek başına izole edilmesi, *S. maltophilia*'nın gerçek bir patojen olduğunu göstermiştir<sup>4</sup>. Hematolojik bir malignitesi ya da solid tümörü olan hastalarda 1988 ile 1992 yılları arasında yapılan bir çalışmada 68 hastada üst solunum yolunda *S. maltophilia* varlığı saptanmış, bunlardan pnömoni gelişen 29 hastanın yalnızca 10'unda *S. maltophilia* balgamda üretilmiştir. Bu 10 hastanın 5 tanesi kaybedilmiş ve otopsi yapılabilen 3 hastada akciğer dokusunda *S. maltophilia* saptanmıştır<sup>57</sup>.

*S. maltophilia* özellikle nozokomiyal bir patojen olarak tanımlansa da toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda da etken olabilmektedir. *S. maltophilia* enfeksiyonları arasında toplumdan kazanılmış enfeksiyonların oranı % 26'lara kadar çıkabilmektedir<sup>4</sup>.

### 2.4.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları

*S. maltophilia* nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak en sık solunum sisteminde enfeksiyona neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda *S. maltophilia* suşlarının % 56-69'unun solunum sisteminden izole edildiği gösterilmiştir<sup>4</sup>. Bu bakteriye ait enfeksiyonlar, belirli bir dönemde salgınlar şeklinde gözlenmektedir. Nozokomiyal pnömoni risk faktörleri arasında mekanik ventilasyon, trakeostomi, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, aerosol halinde polimiksin tedavisi ve nebulizatörler gibi solunum sistemi aletlerinin kullanımı sayılabilmektedir. Toplumdan kazanılmış pnömonilerde

ise, çoğu hastada kronik obstrüktif akciğer hastalığı, bronşektazi, kifoskolyoz, ya da endobronşiyal obstrüksiyon gibi altta yatan hastalıklar bulunmaktadır<sup>4</sup>.

*S. maltophilia*'ya bağlı solunum sistemi enfeksiyonları yüksek mortalite ile birlikte seyretmektedir. Geç başlangıçlı ventilatöre bağlı pnömonilerde mortaliteye en çok etkisi olan yüksek riskli patojenler arasında sayılmaktadır. Nötropenik hastalarda mortalite % 40'lara kadar çıkabilmektedir. Bu durumun, *S. maltophilia* enfeksiyonlarında verilen ampirik antimikrobiyal tedavinin genellikle uygunsuz olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir<sup>36</sup>.

*S. maltophilia*'nın kistik fibrozis hastalarından izole edilebildiği 1975'ten beri bilinmekte ve izolasyon sıklığı artmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda, merkezler arasında belirgin fark gözlenmiştir. *S. maltophilia*'nın bu hastalarda artması anti-pseudomonal antibiyotiklerin kullanımı ve hastanede yatış sürelerinin uzaması ile ilişkili bulunmuştur<sup>4,58</sup>.

Üst solunum yollarında *S. maltophilia*'nın etken olduğu gerçek enfeksiyon oldukça nadirdir. Faringeal sürüntülerden izole edilmesinin klinik önemi bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada, yüzme sonrası mastoiditis bildirilmiştir<sup>59</sup>.

#### 2.4.2. Bakteriyemi

Bakteriyemi, *S. maltophilia* enfeksiyonlarında yaygın görülen ve sıklığı gittikçe artan bir tablodur. Pulmoner, üriner, ya da gastrointestinal sistemlerden kaynaklanabilmekte ancak, giriş yeri her zaman tespit edilemeyebilmektedir. İntravasküler aletlerin *S. maltophilia* bakteriyemisindeki rolü gittikçe daha iyi anlaşılmaktadır. Giriş yeri saptanamayan olgularda bu aletlerin de enfeksiyon kaynağı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bazı salgınlarda kontamine aygıtlar kaynak olarak saptanabilmiştir. Özellikle tekrar kullanılan aletler hastadan hastaya yayılımda bir risk taşımaktadırlar. Kan kültürleri usulüne uygun olarak alınmadığında, ortamda oldukça sık rastlanan bir mikroorganizma olan *S. maltophilia* ile kontaminasyon kolayca gerçekleşebilmektedir<sup>4</sup>.

### 2.4.3. Endokardit

Literatürde *S. maltophilia*'ya bağlı yirminin üzerinde endokardit olgusu bildirilmiştir<sup>7</sup>. Bildirilen risk faktörleri arasında kardiyopulmoner cerrahi, prostetik kapak, konjenital kalp defektleri ve intravenöz ilaç bağımlılığı bulunmaktadır. Risk faktörüne sahip olmayan kişilerde halde *S. maltophilia* endokarditi gelişimi nadirdir. Prognoz değişken olup diğer Gram negatif bakteriyel etkenlere göre daha iyi olduğu saptanmıştır. Antimikrobiyal tedavi, bazı olgularda tek başına yeterli olabilmişse de, enfekte kapağın cerrahi yolla değiştirilmesi zorunlu olabilmektedir<sup>7</sup>.

*S. maltophilia*'nın etken olduğu diğer kardiyovasküler enfeksiyonlar perikardit, yapay kalp transplantasyonunda psödoperikardiyal kesenin enfeksiyonu ve mitral kapak prolapsusu ile ilişkili bakteriyemidir<sup>4</sup>.

### 2.4.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları

*S. maltophilia* idrar örneklerinden üretilbilmesine karşın, üriner sistem patojeni olarak rolü tam anlamıyla ortaya konamamıştır. Üriner sistemde yaygın bir enfeksiyon etkeni değildir. Çoğu olguda hastane kaynaklı olup çoğu kez üriner sistem cerrahisi, üriner kateterizasyon ya da konjenital yapısal anomalilere ikincil olarak görülmektedir<sup>4</sup>. Üriner kateterizasyon sırasında kullanılan dezenfektanın kontaminasyonu ile gelişen bir salgın da bildirilmiştir<sup>16</sup>.

Üretrit, periüretral abse, epididimit rapor edilen diğer klinik tablolardır<sup>4</sup>.

### 2.4.5. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

*S. maltophilia*'ya bağlı santral sinir sistemi enfeksiyonları nadir görülmektedir. Bu enfeksiyonlar, yenidoğan ve infantlarda spontan olarak gelişebilirken, erişkinlerde genellikle nörocerrahi işlemleri sonrası ortaya çıkmaktadır. Beyin omurilik sıvısı şantları, ventrikülostomi tüpleri, Ommaya rezervuarları gibi yabancı cisimlerin varlığında menenjit ve spinal epidural kateter varlığında spinal abse oluşumu rapor edilmiştir. Özellikle cerrahi sonrası santral sinir sistemi tutulumu da risk faktörleri arasında sayılabilmektedir<sup>4,6</sup>. Önceden nörocerrahi geçirmemiş erişkin hastalarda

santral sinir sistemi enfeksiyonu çok nadirdir. Yeni bir *Stenotrophomonas* türü olarak ortaya atılan *S. africana* HIV pozitif bir hastanın beyin omurilik sıvısından izole edilmiştir<sup>11</sup>.

#### 2.4.6. Oftalmolojik Enfeksiyonlar

*S. maltophilia*'ya bağlı konjunktivit, keratit, dakriyosistit ve preseptal selülit olguları bildirilmiştir. Bu bakteri kontakt lens sıvılarında üreyebildiğinden, özellikle lens kullanıcılarında buna bağlı enfeksiyonlar sık görülmektedir. Bakteri lens kaplarından ve solüsyonlarından izole edilebilmektedir. Katarakt cerrahisi sonrası gelişen enfeksiyonlar da rapor edilmiştir<sup>4</sup>. Amibik keratit patogenezinde *S. maltophilia* ve *Acanthamoeba* türlerinin sinerjistik etkileşimleri de araştırma konusudur<sup>4,60</sup>.

#### 2.4.7. Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları

*S. maltophilia*'nın gaytada asemptomatik olarak taşınabildiği bilinmektedir. Diyareli hastalarda selektif besiyeri kullanılarak yapılan bir taramada % 10.9'luk izolasyon oranı bildirilmiştir<sup>4</sup>. Hematolojik malignitesi olan hastalarda bu oran % 33'e çıkabilmektedir<sup>61</sup>. Gastrointestinal enfeksiyonlarda nadiren etken olarak gösterilmektedir. Asit sıvısından, karaciğer ve karın içi abselerden ve maligniteye bağlı safra yolu obstrüksiyonları sonrası gelişen kolanjit olgularından izole edildiği rapor edilmiştir. İmmün sistemi baskılayan agresif kemoterapi altındaki hastaların oral floralarında, akut enfeksiyon belirti ve bulguları gözlenmeden *S. maltophilia* görülebilmektedir<sup>4</sup>. Kronik ambulatuar peritoneal diyaliz hastalarında, kanül çıkış yerinin enfeksiyonu sonrası *S. maltophilia*'ya bağlı peritonit gelişebilmektedir<sup>62,63</sup>.

Crohn Hastalığı ve ülseratif kolit patogenezinde, *S. maltophilia*'nın hücre duvarı defektli varyantlarının rolünün olabileceği ortaya atılmıştır. Ancak yapılan araştırmalarda elde edilen immünolojik, serolojik, immünohistokimyasal ve moleküler kanıtlar, kronik inflamatuvar barsak hastalığı etyolojisinde *S. maltophilia*'nın rolünün olmadığını göstermiştir<sup>4</sup>.



#### 2.4.8. Deri, Yumuşak Doku, Kemik ve Eklem Enfeksiyonları

Travma ya da ortopedik cerrahiye takiben kemik ve eklem enfeksiyonları gelişebilmektedir. Damar içi ilaç bağımlılığı da bu enfeksiyonlarda predispozan bir faktör olabilmektedir<sup>4</sup>.

### 2.5. Tanı ve İn Vitro Duyarlılık Testleri

#### 2.5.1. Laboratuvar Tanısı

*S. maltophilia* vücudun herhangi bir yerinden alınan klinik örnekten izole edilebilmektedir. Rutin olarak kullanılan kanlı agar, MacConkey agar gibi besiyerlerinde, normal atmosfer şartları altında, 36°C'de üretilmektedir. Flora içeren örneklerde VIA agar gibi selektif besiyerleri izolasyon şansını artırmaktadır. Tanımlama biyokimyasal testlerle yapılabilmektedir. Gram negatif nonfermentatif bir basil saptandığında oksidazın negatif olması, eskülin hidrolizi ve lizin dekarboksilaz pozitifliği tanıda yönlendirici olmaktadır. Doğrulama için polimiksin duyarlılığı ve DNaz pozitifliği araştırılmalıdır. Otomatize sistemler ile de tanımlama yapılabilir ancak, her sistemin güvenilirliği farklıdır. *S. maltophilia* yanlışlıkla *B. cepacia*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Alcaligenes faecalis*, *Bordetella bronchiseptica* gibi bazı nonfermentatif Gram negatif bakterilerden biri olarak tanımlanabilmektedir. *B. cepacia* olarak hatalı tanı verilmesi özellikle kistik fibrozis hastalarında sorun olabilmektedir.

Biyokimyasal testler her zaman kesin tanımlama yapamadığından gaz-sıvı kromatografisi, direkt problu kütle spektrometrisi ve 16S rRNA fragmentlerinin tek zincir konformasyon polimorfizmi elektroforezi gibi moleküler yöntemler tanımlama için kullanılabilir<sup>4</sup>.

#### 2.5.2. İn Vitro Duyarlılık Testleri

*S. maltophilia*'nın in vitro duyarlılığının belirlenmesi için disk difüzyon, agar veya buyyon dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. Disk difüzyon yönteminde, 24 ve 48 saatte ölçülen zon çapları kinolonlar ve özellikle siprofloksasin sonuçlarında sorun çıkarmaktadır. Bu yöntemle yanlış duyarlı

ve dirençli sonuçların sık görülmesi nedeniyle kesin sonuç vermek hatalı raporlara neden olabilmektedir<sup>64</sup>. Bu nedenle Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (NCCLS), agar ya da buyyon dilüsyon yöntemlerini önermektedir. Agar dilüsyon yöntemi daha güvenilir kabul edilmektedir. Bu yöntemler, zaman ve işgücü gerektirdiklerinden rutin laboratuvarlarda uygulanmaları mümkün olmamaktadır. E test başka bir seçenek olarak ortaya atılmıştır. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar, agar dilüsyon ile % 94 korelasyon göstermektedir. Ayrıca, E test'in tikarsilin/klavulanat duyarlılığı sonuçlarında agar dilüsyonla uyumsuzluk bildirilmiştir<sup>64</sup>. Kullanım kolaylığına karşın bu test pahalı bir yöntemdir.

In vitro duyarlılık testlerini etkileyen iki önemli faktör tarif edilmiştir. Bunlardan birincisi besiyerinin içeriği, diğeri üreme sıcaklığıdır. Besiyerinin içeriği özellikle beta-laktamlara karşı duyarlılık sonuçlarını etkileyebilmektedir. Besiyerindeki  $Zn^{+2}$  içeriği imipeneme yanlı duyarlı sonuçlara yol açabilirken,  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$ 'un böyle bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bu etki meropenemde gözlenmemiştir. İki değerlikli katyonlar, üreidopenisilin ve karboksipenisilin MK değerlerini de etkileyebilmektedirler. Benzer etki tetrasiklin, polimiksin B, aminoglikozitler ve trimetoprim/sülfametoksazol için de gözlenmiştir. İkinci bir faktör olan üreme sıcaklığının etkisi özellikle aminoglikozitlerde ve polimiksin B'de gözlenmiş, 30°C'de inkübasyonun duyarlılığı azalttığı saptanmıştır<sup>36</sup>.

*S. maltophilia* için in vitro olarak saptanan duyarlılığın, in vivo klinik yanıt ile uyumu kesin değildir. Klinik ve laboratuvarın ortak katılımıyla yapılacak geniş ölçekli çalışmalar, testlerin standardizasyonu ve eşik değerlerinin kesinleştirilmesi için gerekli görülmektedir.

Suşlar arasındaki çeşitlilik çok fazladır. Çalışmalarda izlenmiş standart bir yöntem olmadığı için sonuçların karşılaştırılması sağlıklı değildir. Agar ve buyyon dilüsyon yöntemlerinin yanında dama tahtası sulandırım (checkerboard) yöntemi ve öldürme-zaman çalışmaları da kullanılmıştır. Ayrıca her çalışmada test edilen antimikrobiyal ajanlar ve kombinasyonlar farklıdır. Üstelik sinerjinin test edilen suşa özgü olması da olasıdır. In vitro

olarak sinerjistik bulunan kombinasyonların yanısıra, sinerjistik bulunmayan kombinasyonlarla da in vivo başarılı sonuçlar alınmıştır<sup>4</sup>.

## 2.6. Tedavi

*S. maltophilia*'nın pek çok antimikrobiyal ajana dirençli olması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin henüz standardize edilememiş olması nedeniyle ilaç seçiminde sıkıntılar yaşanmaktadır. Duyarlılık testlerinin sonucu ile in vivo yanıtın uyumu bilinmemektedir. Tedavi önerileri daha çok retrospektif verilere dayanmaktadır. Literatürde beta-laktamlara karşı direnç yüzdeleri çok yüksektir. Örneğin imipenem için % 96-100, seftazidim için % 25-85, tikarsilin/klavulanat için % 4-75 direnç oranları bildirilmiştir<sup>4</sup>. Meropenem in vitro testlerde etkili görüldüğünde bile, test edilen *S. maltophilia* suşunun dirençli olarak rapor edilmesi önerilmektedir. Çünkü, dirençli mutantların da hızla seçilebildiği gösterilmiştir<sup>65</sup>. Diğer antibiyotik grupları için sonuçlar çok değişkendir. Tetrasiklin için % 31-98, aminoglikozitlerden amikasin için % 70-100, gentamisin için % 37-100, en etkili antimikrobiyal ajan olarak bilinen trimetoprim/sülfametoksazol için ise % 0-96 direnç bildirilmiştir<sup>4</sup>. Sonuçların bu kadar değişken olmasının nedenlerinden biri, test koşullarının ve direnç-duyarlılık eşiklerinin standardize edilememesidir. Bu dezavantajlarına karşın eldeki veriler yorumlandığında çoğu zaman en etkili tedavi seçeneğinin trimetoprim/sülfametoksazol olduğu görülmektedir. Trimetoprim/ sülfametoksazol, çoğu *S. maltophilia* suşu için bakteriyostatik etki göstermektedir. Bu nedenle tolere edilebilen en yüksek dozun kullanılması önerilmektedir. Beta-laktamların özellikle ampirik tedavide bir seçenek olmadığı vurgulanmaktadır. Seftazidim, sefepim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler duyarlılık testi sonuçlarına göre önerilebilmektedir. İlginç bir nokta da diğer beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerinin zayıf aktivitesine karşın, tikarsilin/klavulanatın bir seçenek olabilmesidir. Kinolonlara karşı duyarlılık değişkenlik göstermektedir. Kinolon tedavisi ile tedavi başarısızlıkları ve kinolon tedavisi alan hastalarda *S. maltophilia* süperenfeksiyonu gelişebildiği bildirilmiştir. Aminoglikozitlerin *S. maltophilia* monoterapisinde yerleri olmadığı bilinmektedir. Minosiklin ve doksisisiklin

tetrasikline göre çok daha fazla in vitro etkinlik göstermekte ancak, klinik deneyimler sınırlı kalmaktadır. Kloramfenikolün *S. maltophilia*'ya karşı etkinliğinin iyi olduğu ve klinikte başarılı sonuçlar alındığına yönelik yayınlar bulunmaktaysa da, monoterapi ile tedavi başarısızlıkları gözlenmiştir<sup>4</sup>.

*S. maltophilia* enfeksiyonlarında standartlaşmış bir tedavi şeması bulunmamakta, antimikrobiyal tedavi in vitro duyarlılık sonuçlarına göre belirlenmektedir. Tek ilaçla tedavi önerilmemektedir. Endokardit ve menenjit olgularında 6 hafta boyunca günde 320 mg /1600 mg trimetoprim/ sülfametoksazole ek olarak 3.2 g tikarsilin/klavulanat ya da 1.7mg/kg tobramisin tedavisiyle başarılı sonuçlar bildirilmiştir<sup>6,7,66</sup>. Yumuşak doku enfeksiyonlarında günde 2 kez 160 mg/ 800 mg trimetoprim/ sülfametoksazol ve 750 mg siprofloksasin ile iki haftalık bir tedavi yeterli olabilmektedir<sup>67</sup>.

Antimikrobiyal tedavinin yanısıra, enfekte yabancı cisim varlığında kateterin ya da prostetik cismin çıkarılmasının *S. maltophilia* enfeksiyonlarındaki önemi vurgulanmalıdır. Enfeksiyon odağının çıkarıldığı durumlarda uygunsuz antimikrobiyal tedaviye karşın klinik düzelme gözlenebilmektedir<sup>4</sup>.

## 2.7. Prognoz

*S. maltophilia* enfeksiyonlarının çoğunda altta yatan hastalık ve/veya hastalıklar bulunmakta ve prognoz bu hastalıkların şiddeti ile korelasyon göstermektedir. Bazı çalışmalarda uygunsuz antimikrobiyal tedavinin mortaliteyi etkilemediği bildirilmektedir<sup>68</sup>.

## 2.8. Korunma

*S. maltophilia* enfeksiyonundan korunmak için, öncelikle enfeksiyondan temel korunma önlemlerine dikkat edilmelidir. Bunlar arasında uygunsuz antibiyotik kullanımının önlenmesi, vücut içine verilen sıvıların, hastayla temas eden malzemenin ve aletlerin uygun şekilde sterilize edilmesi ve kullanılması, hastanın bulunduğu ortamın gerektiği şekilde dezenfeksiyonu gibi temel kurallar bulunmaktadır. *S. maltophilia*, personelin ellerinde tespit edilebildiğinden, el yıkama ve gerekli durumlarda eldiven kullanılması önem

kazanmaktadır<sup>4</sup>. Enfeksiyon kontrolü için sağlık personelinin, hastalardan ve çevresel örneklerden tarama kültürleri yapılması, gerektiğinde önlem alınmasını kolaylaştırabilmektedir<sup>69</sup>. *S. maltophilia*'nın buz makinelerinden ve karbonatsız şişe sularından da izole edilebilmesi nedeniyle ek önlemler de gerekebilir. Karbonatlı sular, bu bakteri yönünden daha güvenli bulunmuştur<sup>4</sup>.



## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Suşlar

Çalışmaya 1 Ocak 1998 - 31 Aralık 2003 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na gelen klinik örneklerden izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşları alınmıştır. Klinik örnekler uygun besiyerlerine ekilmiş, uygun inkübasyon koşullarında inkübe edildikten sonra değerlendirmeye alınmıştır. İzole edilen bakterilere Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapılmıştır. Suşlar, Sceptor (Becton-Dickinson, USA) sistemi ile tanımlanmış, tanı manuel testlerle doğrulanmıştır. Bunun için lizin dekarboksilaz ve deoksiribonükleaz varlığı ile eskülin hidrolizi test edilmiştir. Gram boyamada Gram negatif basillerin görülmesi, oksidaz testinin negatif olması, katalazın, lizin dekarboksilaz reaksiyonunun, DNazın ve eskülin hidrolizinin pozitifliği ve Sceptor sisteminin sonucu ile bakteriye *S. maltophilia* tanısını konulmuştur. Bir hastaya ait birden fazla izolat olduğunda, farklı vücut bölgelerinden izole edilenler ayrı bir suş olarak kabul edilmiştir. Bu koşulları yerine getiren 188 hastadan 205 izolat çalışmaya alınmıştır.

### 3.2. Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılık Testleri

Bu çalışmada antimikrobiyal ajanlara duyarlılık sonuçları, Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi'nin (NCCLS) *P. aeruginosa* ve diğer *Enterobacteriaceae* dışı bakteriler için önerdiği agar dilüsyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntem ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) saptanmış ve burada belirtilen eşik değerlere göre suşlar dirençli ya da duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Orta derecede duyarlı suşlar dirençli kabul edilmiştir<sup>70</sup>. Bu sonuçlardan yararlanılarak MİK50 ve MİK90 değerleri saptanmıştır<sup>71</sup>. Besiyeri olarak Mueller-Hinton agar (Difco Laboratories, USA) kullanılmıştır. Test edilen antimikrobiyal ajanlardan imipenem (Merck, Sharp & Dohme), meropenem (Zeneca Inc.), trimetoprim /sülfametoksazol (Roche / Fako İlaçları AŞ.), amikasin (Fako İlaçları AŞ.), gentamisin (Fako İlaçları AŞ.), siprofloksasin (Fako İlaçları AŞ.), seftazidim

(Glaxo-Wellcome Co.), sefepim (Bristol Myers Squibb Co.), sefotaksim (Bilim İlaç San. Tic.), piperasilin (Eczacıbaşı) ve piperasilin/tazobaktam (Eczacıbaşı/Wyeth) ilgili firmalardan temin edilmiştir. Her antimikrobiyal ajan için kullanılan dilüsyonlar literatürdeki bildirimler göz önüne alınarak, kalite kontrol suşunun değer aralıklarını kapsayacak şekilde belirlenmiştir<sup>70</sup>. Test edilecek her suş için Mueller-Hinton buyyonu (Difco Laboratories, USA) içinde 0.5 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlanarak, 10 kat seyreltilmiştir. Çoklu inokülatör (Mast Diagnostics, United Kingdom) yardımıyla 1 µl hacimde bakteri süspansiyonları Müller – Hinton test plaklarına inoküle edilmiştir. Kalite kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853, piperasilin/tazobaktam için ek olarak *E. coli* ATCC 35218 kullanılmıştır. Her deneyde üremenin kontrolü için, antimikrobiyal içeren plaklardan önce ve sonra, herhangi bir antimikrobiyal ajan içermeyen Mueller - Hinton agar plaklarına inokülasyon yapılmıştır. Plaklar 36°C'lik sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Yirmidört ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda, plaklarda gözle görünür koloni oluşumu not edilerek her suş için MİK değerleri okunmuştur.

### 3.3. Genotiplendirme

Bu çalışmada *S. maltophilia* suşlarının tiplendirilmesi için ERIC-PCR ve PFGE yöntemleri kullanılmış ve test değerlendirilemediğinde tekrar edilmiştir. Yöntemler literatürdeki çalışmalar esas alınarak optimize edilmiştir<sup>55,72-74</sup>.

#### 3.3.1. ERIC-PCR

##### DNA ekstraksiyonu

Mueller-Hinton buyyonuna tek koloni ekimi yapıldıktan sonra bir gece 37°C'de inkübe edilmiştir. Bunun 3 ml'si alınarak 12000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Kalan çökelti 3 kez 750 µl Tris – EDTA (10 mM Tris(hidroksimetil)aminometan (Sigma-Aldrich Co. T 1503), 1 mM etilendiamin-tetra-asetik asit (EDTA, Sigma-Aldrich Co.

E 5134), pH 8.0) tamponu (TE) ile yıkanmıştır. Kalan çökeltiye 500 µl TE tamponu eklenerek 20 dk kaynayan suda bekletilmiştir. Kaynatmanın ardından 12000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilen bakteri süspansiyonlarının üstte kalan sıvısı ayrı bir mikrosantrifüj tüpüne alınarak kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

#### **PCR protokolü**

Yirmibeş µl'lik bir PCR karışımı hazırlamak için 15.5 µl su, 2.5 µl MgCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich Co. M 1028), 2.0 µl 2.5'er mM dATP, dTTP, dGTP ve dCTP içeren karışım (Epicentre Technologies D 59104), 0.3 µl primer ERIC2 (ERIC2: 5'AAG TAA GTG ACT GGG TGA GCG 3') (Trilink Biotechnologies HM1), 2.6 µl 10X PCR tamponu (Sigma-Aldrich Co.-Aldrich Co. P 2192), 0.13 µl Taq polimeraz (Sigma-Aldrich Co. D 6677) ve 2'şer µl kalıp DNA kullanılmıştır. Her karışımda kalıp DNA yerine su içeren bir negatif kontrol tüpü hazırlanarak kontaminasyon varlığı denetlenmiştir.

#### **Termal döngü cihazı (thermal cycler) programı**

Elde edilen PCR karışımı, termal döngü cihazına (MJ-Research Inc., USA) konarak aşağıdaki program uygulanmıştır:

1. 94°C 3 dk
2. 94°C 45 sn
3. 30°C 1 dk
4. 72°C 1 dk (2,3 ve 4 nolu basamaklar ardarda 2 kez)
5. 94°C 30 sn
6. 55°C 30 sn
7. 72°C 1 dk (5,6 ve 7 nolu basamaklar ardarda 44 kez)
8. 72°C 4 dk
9. 4°C sürekli

#### **Elektroforez**

Elde edilen PCR ürünleri, TAE ( 0.5 M Tris(hidroksimetil)aminometan, 28.55 ml/l asetik asit (Merck UN 2789) ve 0.05 M EDTA pH 8.0) tamponu içinde % 1.5 agaroz (Sigma-Aldrich Co. A5093) ile hazırlanmış jelde 110 voltta 2 saat yürütülmüş, % 0.1'lik etidyum bromür ile boyanarak görüntülenmiştir ve bilgisayar ortamına (UVP Jel dökümantasyon sistemi,



USA) aktarılmıştır. Moleküler ağırlık belirleyicisi olarak DNA Molecular Weight Marker XIV (Roche Diagnostics, 1 721 933) kullanılmıştır. İki ve daha fazla sayıda farklı bant görülen suşların ilişkisiz oldukları kabul edilmiştir.

### 3.3.2. PFGE Analizi

#### DNA disklerinin hazırlanması

DNA ekstraksiyonu için Mueller-Hinton buyyonda bir gece inkübe edilen kültürlerden 5 ml alınarak 4 000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı atılmıştır. Çökelti 1 ml PIV tamponu (0.01 M Tris(hidroksimetil)aminometan, 0.1 M NaCl) ile sulandırılarak karıştırılmış ve 10 000 rpm'de 10 dakika daha santrifüj edilmiştir. Üstte kalan sıvı tekrar atılarak çökelti 200 µl PIV tamponu ile sulandırılmıştır. Bu karışım homojenize edilirken, düşük sıcaklıkta eriyen agarozun (Genaxis Biotechnology GX04006) % 2'lik çözeltisi hazırlanarak eritilmiştir. İki çözelti eşit miktarda karıştırılmıştır. Parafilm ile kaplanmış ve kenarlarına lam yerleştirilmiş cam üzerine yeni karışımdan 20'şer µl damlatılmıştır. Damlaların üzerine kenarları diğer lamaların üzerine gelecek şekilde alkolle silinmiş temiz bir lam kapatılarak DNA diskleri hazırlanmıştır. Diskler donduktan sonra 500 µg/ml proteinaz K (Sigma-Aldrich Co. P 2308), 50 µg/ml ribonükleaz A (Sigma-Aldrich Co. R 4875), 50 µg/ml lizostafin (Sigma-Aldrich Co. L 7386) ve 100 µg/ml lizozim (Sigma-Aldrich Co. L 7651) eklenmiş bir parçalama solüsyonu (6 mM Tris, 1 M EDTA, % 2 sodyumdeoksikolat (Merck, Art 6504), % 0.5 sodyumlauroilsarkozin (Sigma-Aldrich Co. L 5125)) içeren tüplere aktarılmışlardır. Bir gece 56°C'de inkübasyon sonrası diskler yıkama aralarında 30 dakika bekletilerek 5 kez TE tamponu ile yıkanmışlardır. Son yıkamadan sonra 1-2 ml TE tamponu içinde +4°C'de saklanmışlardır.

#### Restriksiyon enzimi ile kesim:

Diskler, 75 µl Xbal kesim tamponu (Roche Diagnostics, SuRE/Cut Buffer H) içeren ependorf tüplere alınarak 37°C'de 30 dk bekletilmiştir. Farklı tüplerde, her disk için 20U Xbal restriksiyon enzimi (Roche Diagnostics 674

265) içeren 45µl tampon hazırlanarak diskler bunlara aktarılmış ve bir gece 37°C'de inkübe edilmişlerdir. Sürenin sonunda her disk için 5 µl durdurma çözeltisi (10 ml TE, 10 ml gliserol, 25 mg bromfenol mavisi) eklenmiş ve diskler elektroforeze hazır hale getirilmişlerdir.

#### **PFGE için jel ve yürütme tamponlarının hazırlanması**

4000 ml TBE (0.5 M Tris, 0.5 M borik asit (Carlo Erba Reagenti 302177), 0.01 M EDTA, pH=8) tamponu hazırlanarak PFGE tankına konmuştur. PFGE yürütme jeli için 150 ml TBE tamponu içine 1.65 g High Gel Strength Agarose (Genaxis Biotechnology G X04017) eklenerek eritilmiş ve kalıba dökülmüştür. Suşlara ait DNA diskleri ve moleküler ağırlık belirleyici (Pulse Marker 50-1000kb, Sigma-Aldrich Co. D 2416) jel üzerindeki kuyulara yerleştirilerek az miktarda PFGE running gel ile üzerleri örtülmüştür. Soğutma sistemi çalıştırılmış ve yürütme sırasında sıcaklığın +4°C civarında olması sağlanmıştır. Jel yerleştirilerek makine (Pharmacia Biotech GN Controller) çalıştırılmış, 150 Voltta 22 saat süren aşağıdaki program başlatılmıştır:

1. 10 saniye N/S (Kuzey/Güney), 10 saniye E/W (Doğu/Batı) 3 saat
2. 15 saniye N/S, 15 saniye E/W 3 saat
4. 20 saniye N/S, 20 saniye E/W 6 saat
5. 90 saniye N/S, 90 saniye E/W 10 saat

Programın bitişini takiben yürütmenin sonunda, jel % 0.1'lik etidyum bromür ile boyanarak görüntülenmiştir. Değerlendirme Tenover kriterlerine göre yapılmıştır<sup>75</sup>.

#### **3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Verilerin analizinde Microsoft Windows için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak McNemar ve chi-square testleri uygulanmıştır. Uygulanan tüm istatistiksel testlerde 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

### 4.1. Hastalar ve suşlar

Çalışmaya 188 hastaya ait 205 *S. maltophilia* suşu alınmıştır. Hastalardan 104'ü erkek, 84'ü kadındır. Hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımı Tablo-1'de verilmiştir. Yaş dağılımında cinsiyetlere göre istatistiksel bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Her iki cinsiyette de hastaların yarısından fazlasını 50 yaşın üzerindeki hastalar oluşturmaktadır.

**Tablo-1. *S. maltophilia* izole edilen hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları**

	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Toplam n (%)
0-16 yaş	6 ( 5.77)	7 ( 8.33)	13 ( 6.92)
17-50 yaş	36 ( 34.62)	34 ( 40.48)	70 ( 37.23)
>50 yaş	62 ( 59.61)	43 ( 51.19)	105 ( 55.85)
Toplam	104 (100)	84 (100)	188 (100)

H.Ü.T.F. Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na gelen örneklerden üretilen *S. maltophilia* suşlarının yıllara göre dağılımı Tablo-2'de verilmiştir. *S. maltophilia*'nın yıllara göre artış göstererek 2003 yılında tüm suşlardaki görülme oranının % 1.23'e çıktığı görülmektedir. 2003 yılında izole edilen suşlar, çalışmaya alınan suşların % 35.6'sını oluşturmaktadır. *S. maltophilia*'nın diğer Gram negatif nonfermentatif bakterilere göre oranı da 2001 yılında % 4.0 iken 2002'de % 5.8'e, 2003'te ise % 9.7'ye yükselmiştir.

**Tablo-2.** H.Ü.T.F. Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na gelen örneklerin, üreyen bakterilerin, izole edilen *S. maltophilia* suşlarının ve çalışmaya alınan suşların yıllara göre dağılımı

Yıl	Gelen örnek sayısı	Üreyen bakteri sayısı	Üreyen <i>S. maltophilia</i> sayısı (Üreyen <i>S. maltophilia</i> sayısı/ üreyen bakteri sayısı, %)	Çalışmaya alınan <i>S. maltophilia</i> sayısı n (%)
1998	46 640	6 068	29 (0.478)	16 ( 7.8)
1999	43 151	6 398	57 (0.890)	41 (20.0)
2000	42 262	8 689	50 (0.575)	15 ( 7.3)
2001	43 171	9 025	44 (0.478)	18 ( 8.8)
2002	47 171	10 435	86 (0.825)	42 (20.5)
2003	47 652	11 129	137 (1.231)	73 (35.6)
Toplam	272 745	51 744	403 (0.779)	205 (100)

*S. maltophilia* izole edilen hastaların servislere göre dağılımları incelendiğinde en fazla üremenin dahili servislerde olduğu görülmüştür (Tablo-3). Ancak, bu dağılım servislerin *S. maltophilia* izolasyonu açısından risk durumunu tam olarak yansıtmamaktadır. Hastanemizde dahili servislere ait yatak sayısı 286, cerrahi servislere ait yatak sayısı 500, devamlı bakım birimlerine ait yatak sayısı ise 52'dir. *S. maltophilia* izole edilen hasta sayısının yatak sayısına göre oranı hesaplandığında en yüksek oran % 100 ile devamlı bakım birimlerinde görülmekte, bunu % 28.3 ile dahili servisler ve % 8.6 ile cerrahi servisler izlemektedir.

**Tablo-3.** *S. maltophilia* izole edilen hastaların servislere göre dağılımı ve hasta sayısının yatak sayısına oranı

	Hasta sayısı n (%)	Yatak sayısı n (%)	Hasta sayısı/Yatak sayısı (%)
Poliklinikler	12 ( 6.4)	–	–
Servisler:	176 (93.6)	838 (100)	21.0
• Dahili servisler	81 (43.1)	286 (34.1)	28.3
• Cerrahi servisler	43 (22.9)	500 (59.7)	8.6
• Devamlı bakım üniteleri (Dahili ve cerrahi)	52 (27.6)	52 ( 6.2)	100
Toplam	188 (100)	838 (100)	22.4

İzole edilen *S. maltophilia* suşlarının örnek türlerine göre dağılımı incelendiğinde solunum yolu örnekleri (% 40) tüm örnekler içinde bakterinin en sık izole edildiği grubu oluşturmaktadır (Tablo-4).

**Tablo-4.** İzole edilen *S. maltophilia* suşlarının örnek türlerine göre dağılımı

Örnek Türü	Suş sayısı, n (%)
Solunum Yolu Örnekleri	82 (40.0 )
• Balgam	18 ( 8.78)
• BAL	36 (17.56)
• DTA	27 (13.17)
• Boğaz	1 ( 0.49)
Kan	44 (21.46)
Püy	27 (13.17)
İdrar	14 ( 6.83)
Torasentez	11 ( 5.36)
Kateter	10 ( 4.88)
Safra	10 ( 4.88)
Göz	3 ( 1.46)
Parasentez	1 ( 0.49)
Lens kabı	1 ( 0.49)
Böbrek taşı	1 ( 0.49)
Vajen	1 ( 0.49)
Toplam	205 (100)

*S. maltophilia* izole edilen 188 hastanın 170'inde (% 90.4) altta yatan hastalık bulunmaktadır. Bunlardan en sık görüleni malign hastalıklardır. Hastalardan 134'ü (% 71.3) birden fazla altta yatan hastalık tanısı almıştır. Hastalardan 5'inde altta yatan hastalık bulunmamıştır. Bunlardan birinde lens kullanımına bağlı keratit gelişmiştir. Hastalardan 13'ünün risk faktörleri ile ilgili bilgilerine ulaşamamıştır. Hastalarda saptanan altta yatan hastalıklar Tablo-5'te verilmiştir. Hastalıkların ciddiyeti bilinmemekle birlikte, *S. maltophilia* üremesi olan hastaların 59'u (% 31.4) durumları düzelemeden kaybedilmiştir.

**Tablo-5. *S. maltophilia* izole edilen hastalarda altta yatan hastalıklar**

Altta yatan hastalık	Hasta sayısı
Malign hastalıklar	66
Hipertansiyon	43
Obstrüktif akciğer hastalığı	38
Diabetes mellitus	30
Böbrek yetmezliği	24
Koroner arter hastalığı	24
Kalp yetmezliği	17
Serebrovasküler olay	13
Otoimmün hastalıklar	10
• Ankilozan spondilit	3
• Sistemik lupus eritematosus	2
• Glomerulonefrit	2
• Skleroderma	1
• Polimiyozit	1
• Poliarteritis nodosa	1
• Psöriazis	1
Safra yolları patolojisi	8
Üriner sistem anomalisi	5
Restriktif akciğer hastalığı	3
Karaciğer yetmezliği	2
Karaciğer absesi	2
Tüberküloz	2
Creutzfeld-Jacob hastalığı	1
Parkinson hastalığı	1
Kronik inflamatuvar demiyelinizasyon	1
Miyotonik distrofi	1
<b>Toplam</b>	<b>170</b>

Çalışmaya alınan 205 *S. maltophilia* suşunun 97'si (% 47.3) tek başına izole edilmiştir. Polimikrobiyal enfeksiyonlardan izole edilen 108 suşun 62'si 1 adet, 39'u 2 adet, 7'si 3 adet mikroorganizma ile birlikte izole edilmiştir. Birlikte en sık izole edilen mikroorganizma *P. aeruginosa*'dır (Tablo-6).

**Tablo.6. *S. maltophilia* ile birlikte üreyen mikroorganizmalar**

Mikroorganizma	n (%)
<i>P. aeruginosa</i>	43 ( 24.7)
<i>S. aureus</i>	35 ( 20.1)
<i>Klebsiella</i> türleri	21 ( 12.1)
<i>Acinetobacter</i> türleri	18 ( 10.3)
Mayalar	12 ( 6.9)
Koagülaz negatif stafilokoklar	11 ( 6.3)
Diğer enterikler ( <i>E.coli</i> , <i>C. freundii</i> , <i>H. alvei</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. agglomerans</i> )	21 ( 12.1)
Enterokoklar	7 ( 4.1)
Diğer nonfermentatif bakteriler ( <i>P. putida</i> , <i>F. odoratum</i> )	2 ( 1.1)
Diğerleri ( <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. mucosa</i> , <i>S. anginosus</i> )	4 ( 2.3)
<b>Toplam</b>	<b>174 (100)</b>



Çalışılan 205 *S. maltophilia* suşundan 178 tanesi (% 86.8) hastanın hastaneye yatışından en az 2 gün sonra izole edilmiştir. Hastanın hastaneye yatışından *S. maltophilia* üremesine kadar geçen sürelerin servislere göre ortalaması Tablo-7'de verilmiştir. Çalışmamızda kontrol grubu bulunmadığından bu sürelerin istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılamamıştır.

**Tablo-7. *S. maltophilia* izole edilen hastaların hastaneye yatışından bakterinin üremesine kadar geçen ortalama sürenin servislere göre dağılımı**

	Hasta sayısı n (%)	Hastanın hastaneye yatışından <i>S. maltophilia</i> üremesine kadar geçen ortalama süre (gün)
Dahili servisler	81(46.0)	32.5
Cerrahi servisler	43(24.4)	39.6
Devamlı bakım üniteleri (dahili ve cerrahi)	52(29.6)	38.3
Toplam	176(100)	36.4

#### 4.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Çalışmaya alınan *S. maltophilia* suşlarının antimikrobiyal ajanlara direnç durumu, MİK50 ve MİK90 değerleri Tablo-8'de verilmiştir. En etkili ajan trimetoprim/sülfametoksazol olarak bulunmuştur. Diğer ajanların hepsinde direnç oranı %60'ın üzerindedir. Trimetoprim/sülfametoksazol, siprofloksasin, seftazidim, sefepim, piperasilin ve piperasilin/tazobaktam için 24. ve 48. saatlerde elde edilen direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**Tablo.8.** Çalışmaya alınan *S. maltophilia* suşlarının 24. ve 48. saatlerde antimikrobiyal ajanlara direnç durumu

Antimikrobiyal ajan	MİK aralığı (µg/ml)	24. saatte			48. saatte		
		Dirençli suş sayısı n (%)	MİK50 (µg/ml)	MİK90 (µg/ml)	Dirençli suş sayısı n (%)	MİK50 (µg/ml)	MİK90 (µg/ml)
İmipenem	0.5-1024	202 (98.5)	512	512	203 (99.0)	512	1024
Meropenem	0.5-512	201 (98.0)	128	256	201 (98.0)	128	256
Trimetoprim/ Sülfametoksazol	0.25/4.75 - 32/608	58 (28.3)	2/38	8/152	73 (35.6)	2/38	8/152
Amikasin	2-1024	174 (84.9)	128	512	176 (85.8)	128	512
Gentamisin	2-2048	194 (94.6)	128	512	196 (95.6)	128	512
Siprofloksasin	0.5-256	189 (92.2)	4	8	199 (97.1)	4	32
Seftazidim	1-512	146 (71.2)	32	256	153 (74.6)	64	256
Sefotaksim	1-512	196 (95.6)	128	256	197 (96.1)	128	256
Sefepim	2-128	126 (61.5)	16	32	159 (77.6)	16	32
Piperasilin	4-2048	184 (89.8)	128	1024	197 (96.1)	256	1024
Piperasilin/ Tazobaktam	2/4-1024/4	180 (87.8)	128	512	193 (94.2)	128	512

### 4.3. Genotiplendirme

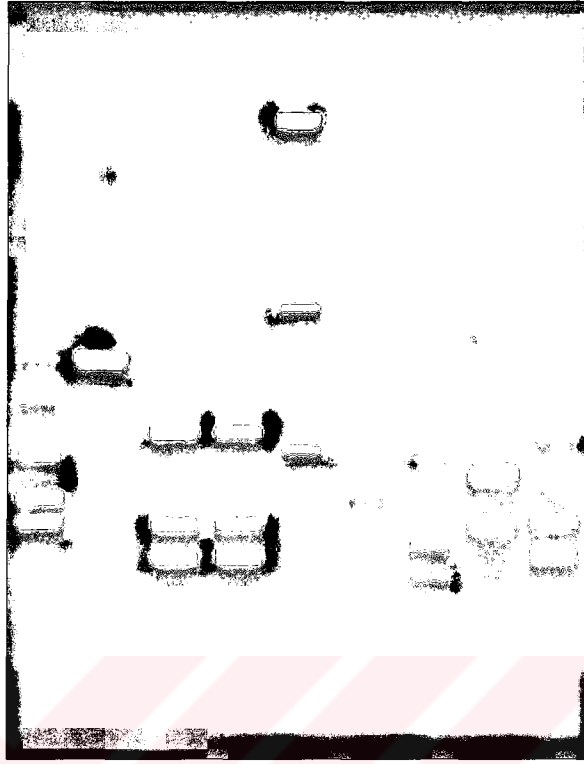
Genotiplendirme için ERIC-PCR ve PFGE yöntemleri uygulanmıştır. Bu çalışmada, aynı suşun tekrarlayan testlerinde aynı patern elde edilmiştir. Çalışmaya alınan 205 suş ERIC-PCR ile 180, PFGE ile 188 ayrı genotipe ayrılmıştır. Birden fazla suşu olan 15 hastadan yalnız 8'inin suşları ERIC-PCR ve PFGE ile benzer patern vermiştir. PFGE ile daha fazla genotip saptanmıştır. Aynı paterni veren suşlar genellikle devamlı bakım birimlerinden izole edilmiştir. ERIC-PCR ile aynı paterni veren ama farklı servislerden izole edilen suşların PFGE ile farklı patern verdikleri görülmüştür. Antibiyogram sonuçlarının tiplendirme için güvenilir olmadığı da doğrulanmıştır. MİK değerleri arasında en fazla iki dilüsyon fark olması benzer olarak kabul edildiğinde, buna göre yapılan tiplendirme genotiplendirme ile uyumlu bulunmamıştır. ERIC-PCR ile aynı paterni veren 42 suşun PFGE paternleri, izole edildikleri hastalar, bunların antibiyogramlarının karşılaştırılması, servisleri ve izolasyon tarihleri Tablo-9'da verilmiştir.

ERIC-PCR ile elde edilen paternlere örnekler Şekil-1'de, PFGE ile elde edilen paternlere örnekler ise Şekil-2'de görülmektedir.

Tablo.9. ERIC-PCR ile aynı paterni veren suşlar, PFGE paternleri, bunların antibiyogramlarının karşılaştırılması, izole edildikleri hastalar, servisler ve tarihler

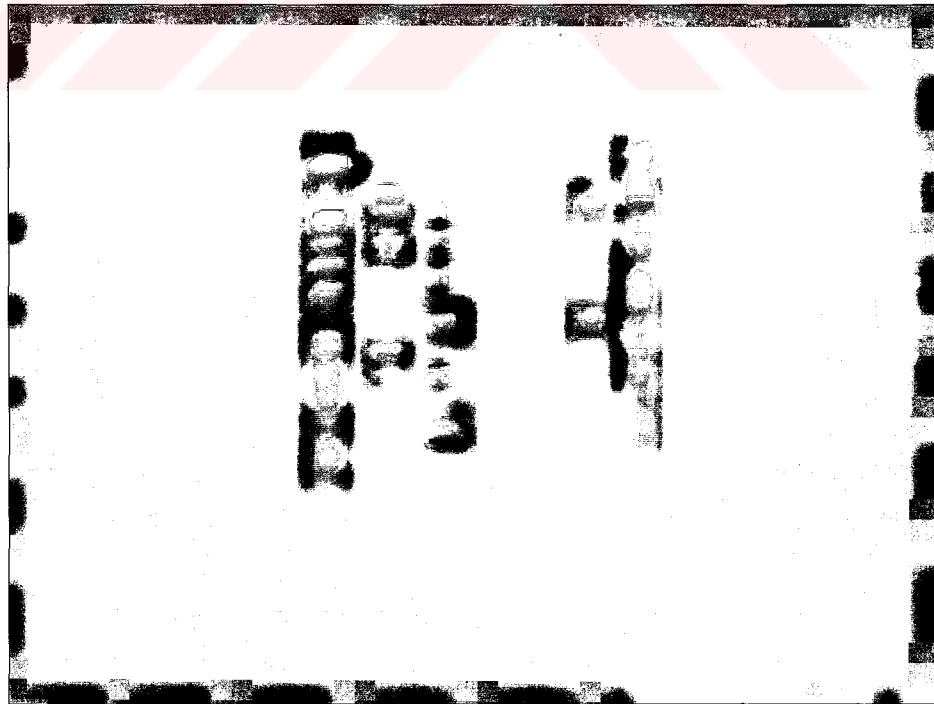
ERIC-PCR patern no.	PFGE patern no.	Antibiyogram	Suş no.	Hasta no.	Servis	Tarih
E1	P1	PIP, P/T farklı	21	H16	DDB	26.02.1999
E1	P1		26	H1	DDB	19.04.1999
E1	P1		51	H1	DDB	20.04.1999
E2	P2	Benzer	22	H17	DDB	12.03.1999
E2	P2		23	H18	DDB	15.03.1999
E2	P2		24	H19	DDB	15.03.1999
E3	P14	CAZ farklı	54	H20	DDB	25.11.1999
E3	P15		56	H21	Bl. 85	28.08.1999
E4a	P3	Benzer	64	H22	BCDB	27.10.2000
E4b	P3		65	H23	Bl. 51	16.11.2000
E5	P16	Benzer	70	H24	Bl. 76	04.05.2000
E5	P17		71	H25	DDB	03.05.2000
E6	P18	Benzer	80	H26	Bl. 72	28.02.2001
E6	P19		81	H27	Bl. 73	04.01.2001
E7	P20	Benzer	87	H28	Bl. 53	02.11.2001
E7	P21		89	H29	GCDB	06.12.2001
E8	P4	Benzer	84	H30	DDB	17.04.2001
E8	P4		85	H31	DDB	29.05.2001
E9	P22	GEN, CIP, PIP, P/T farklı	93	H32	Bl. 72	09.02.2002
E9	P23		94	H33	Bl. 51	12.03.2002
E10a	P5	Benzer	102	H34	Yanık	26.04.2002
E10b	P5		103	H35	Bl. 73	01.05.2002
E11	P6	Benzer	111	H5	BCDB	07.09.2002
E11	P6		118	H5	BCDB	12.10.2002
E11	P7	Benzer	113	H6	Bl. 75	20.09.2002
E11	P7		116	H6	Bl. 75	04.10.2002
E11	P7		115	H36	Bl. 52	04.10.2002
E12	P8	CIP farklı	122	H37	DDB	16.11.2002
E12	P8		123	H38	DDB	19.11.2002
E13a	P9a	Benzer	137	H8	Bl. 84	10.01.2003
E13b	P9b		141	H8	Bl. 84	31.01.2003
E13b	P9c		146	H8	Bl. 84	07.02.2003
E14	P10	T/S, GEN farklı	154	H9	Bl. 85	04.04.2003
E14	P10		156	H9	Bl. 85	07.04.2003
E15	P11	Benzer	181	H12	Bl. 74	20.09.2003
E15	P11		190	H12	Bl. 74	02.11.2003
E16	P12a	Benzer	185	H14	Bl. 43	27.09.2003
E16	P12b		186	H14	Bl. 43	27.09.2003
E16	P12b		187	H14	Bl. 43	27.09.2003
E17a	P13	191, 195 benzer.194 CAZ farklı.	191	H13	DDB	30.10.2003
E17a	P13		195	H13	DDB	03.11.2003
E17b	P24		194	H39	Bl. 86	3.11.2003

E18 E19 E5 E5 M E20 E21 E22 E23



Şekil.1. ERIC-PCR paternleri (M= Moleküler ağırlık standardı)

P2 P2 P2 P4 P6 P6 P3 M P5 P8 P10 P11P12a P14 P15 P16 P9a



Şekil.2. PFGE paternleri (M= Moleküler ağırlık standardı)

## TARTIŞMA

Gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlar, antimikrobiyal ajanların kullanıma girmesiyle birlikte artmaya başlamıştır. Antimikrobiyal ajanların kullanımı bunlara dirençli mikroorganizmaların kolonizasyonunu artırmakta ve genel durumu kötüleşen hastalarda bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyonların gelişmesini kolaylaştırmaktadır<sup>76</sup>. *S. maltophilia*, antimikrobiyal ajanlara çoklu direnç göstermesi ve özellikle karbapenemlere doğal dirençli olması nedeniyle Gram negatif bakteriler arasında dikkat çekmiştir<sup>1-3</sup>. Yapılan ilk çalışmalarda *S. maltophilia*'nin daha çok diğer bakteriler ile birlikte üretilmesi ve kolonizasyon/enfeksiyon ayrımının kesin olmaması nedeniyle, *S. maltophilia* enfeksiyon etkeni olarak tanımlanmamıştır. Özellikle hastane ortamında, düşükün ve/veya immün sistemi baskılanmış kişilerde enfeksiyona yol açan fırsatçı bir patojen olarak kabul edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, *S. maltophilia*'nin steril vücut bölgelerinden ve otopsi materyallerinden tek başına izole edilmesi enfeksiyonlarda etken olabileceğini göstermiştir. Toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda ve altta yatan hastalığı olmayan bireylerde de etken olabileceği dikkati çekmiştir<sup>4</sup>. *S. maltophilia*'nin kültürde birden fazla mikroorganizmayla birlikte üremesi, bu bakteriyle gelişen enfeksiyonu ekarte etmek için yeterli olmamıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde bir çocuk hastanesinde solunum yolu dışındaki örnekleri kapsayan bir çalışmada, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *S. maltophilia* suşlarının % 70.6'sının karışık kültürlerden elde edildiği belirtilmiştir. *S. maltophilia* ile birlikte en sık üreyen mikroorganizmalar *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* olmuştur<sup>77</sup>. Bizim çalışmamızda izole edilen *S. maltophilia* suşlarında kolonizasyon/enfeksiyon ayrımı yapılmamıştır. Çalışmaya alınan 205 suşun 133'ü (% 64.9) BAL, DTA, kan, torasentez, parasentez, safra, göz, böbrek taşı gibi örneklerden üretilmiştir (Bkz. Tablo-4). Suşların % 47.3'ü tek başına izole edilmiştir. Karışık kültürlerde *S. maltophilia* ile birlikte en sık izole edilen mikroorganizmaların *P. aeruginosa* (% 24.7) ve *S. aureus* (% 20.1) olduğu belirlenmiştir (Bkz. Tablo-6). Bu durum, laboratuvarımızda izole edilen

*S. maltophilia* suşlarının enfeksiyon etkeni olarak önem taşıdığını göstermektedir.

*S. maltophilia* klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında gittikçe artan sıklıkta üretilmeye başlanmıştır. İzolasyon oranları 1970'lerin başında % 2'lerde iken, 1980'lerde % 8'lere, bazı merkezlerde % 35'lere yükselmiştir<sup>4</sup>. Asya-Pasifik, Avrupa ve Amerika kıtalarını içeren kapsamlı bir çalışmada antibiyotik duyarlılık paternleriyle birlikte baskın patojenler değerlendirilmiş ve *S. maltophilia*, 1997-2001 yılı verilerinde klinik örneklerden % 8 oranında izole edilmiştir. Bu çalışmada *S. maltophilia*, *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter*'in ardından üçüncü en sık Gram negatif nonfermentatif bakteri olarak bulunmuştur<sup>8</sup>. *S. maltophilia*'nın ciddi klinik enfeksiyonlardaki izolasyon oranları da bu bulgulara benzemektedir. Bakteriyemi ataklarını inceleyen bir çalışmada, 1991-2000 yılları arasında izole edilen bakterilerin arasında *S. maltophilia*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinin ardından üçüncü en sık bakteriyemi etkeni olmuştur<sup>5</sup>. Bizim çalışmamızda *S. maltophilia*'nın yıllık izolasyon oranlarına bakıldığında, 2003 yılında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Değerlendirmede aynı hastaya ait izolatlardan yalnızca farklı vücut bölgelerinden olanlar çalışmaya alınmış ve çalışmaya alınan suşların 2003 yılında 73 ile (%35.6) en yüksek sayıya ulaştığı görülmüştür (Bkz. Tablo-2). *S. maltophilia*'nın diğer Gram negatif nonfermentatif bakterilere göre oranında artma eğilimi gözlenmiş, 2001 yılında % 4.0 olan bu oran 2002'de % 5.8'e, 2003'te ise % 9.7'ye yükselmiştir. Bu veriler, literatürde bildirilen artış eğilimi ile uyumlu olmakla birlikte nedeninin saptanması için ek araştırmalara gerek vardır.

Yurdumuzda *S. maltophilia*'nın görülme sıklığı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. *S. maltophilia*'ya bağlı endokardit, menenjit, pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonu olguları bildiren yayınlar mevcuttur<sup>6,7,78,79</sup>.

*S. maltophilia* en sık solunum yolu örneklerinden ve kandan izole edilmektedir<sup>2,4</sup>. İspanya'da bir üniversite hastanesinde 1995-1998 yıllarında yapılan bir çalışmada, 105 *S. maltophilia* suşunun 79'unun solunum yolu örneklerinden, 19'unun ise kandan izole edildiği bildirilmiştir<sup>80</sup>. Yaptığımız çalışmada da 205 suştan 82'si (% 40) solunum yolundan alınan örneklerden

(BAL, balgam, DTA, boğaz) izole edilmiştir. Bunu kandan izole edilen 44 suş (% 21.46) izlemektedir (Bkz. Tablo-4).

*S. maltophilia* enfeksiyonu için bazı risk faktörleri saptanmıştır. Bunlardan en önemlisi hastanın hastanede yatışıdır. *S. maltophilia* enfeksiyonları çoğunlukla hastane ortamında gelişmektedir. Antibiyotik kullanımı, santral venöz kateterler ve mekanik ventilasyon gibi invaziv girişimler, altta yatan hastalıklar, bağışıklık sisteminin baskılanması, hastanede kalma süresinin uzaması ve devamlı bakım birimlerine kabul edilme risk faktörleri arasında sayılmaktadır<sup>3,4,14,81</sup>. Bir çocuk hastanesinde 1992-1998 arasında solunum yolu dışındaki kan, idrar, konjunktiva, paranasal sinüs, beyin omurilik sıvısı, cerrahi yara, deri ve yumuşak doku gibi klinik örnekleri inceleyen bir çalışmada *S. maltophilia* saptanan 85 olgudan 51'i (% 60) gerçek enfeksiyon olarak kabul edilmiştir. Bunların 42'si (% 82.4) nozokomiyal enfeksiyon olarak gelişmiştir. Hastaların öykülerine bakıldığında % 90.2'sinde altta yatan hastalık bulunduğu, % 78.7'sinde daha önce hastaneye yatış, % 78.4'ünde daha önce antibiyotik kullanımı ve % 76.5'inde santral venöz kateter uygulaması olduğu bildirilmiştir<sup>77</sup>. Devamlı bakım birimlerinde *S. maltophilia* enfeksiyon ve kolonizasyonu için risk faktörlerini araştıran diğer bir çalışmada ise antibiyotik kullanımı, mekanik ventilasyon ve trakeostomi gibi invaziv girişimler ve hastanın hastaneye uçakla nakli risk faktörü olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada respiratuvar emme kateterlerinin dış yüzeylerinden *S. maltophilia* üretilmiş ve *S. maltophilia* ile kolonize/enfekte hastaların solunum yolu salgılarının ve yara akıntılarının salgın için kaynak olabileceği vurgulanmıştır<sup>46</sup>. Çeşitli yayınlarda belirtilen risk faktörlerinin karşılaştırılması hasta popülasyonlarının, enfeksiyon tanımlarının ve istatistiksel yöntemlerin farklı olması nedeniyle yapılamasa da, enfeksiyon öncesi antibiyotik kullanımı, immün sistemin baskılanması ve hastanın genel durumunun kötü olması gibi faktörler hemen hemen tüm çalışmalarda ortak olarak bulunmuştur<sup>4</sup>. Yaptığımız çalışmada da izole edilen *S. maltophilia* suşlarının çoğunluğunun (% 93.6) hastanede yatan hastalardan izole edildiği görülmektedir. Suşların % 86.8'i hastaneye yatıştan 48 saat ve daha sonra izole edilmiştir. Bir mikroorganizmanın nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak



kabul edilmesi için, hastanın hastaneye kabulünden en az 48-72 saat sonra izole edilmiş olması gerekmektedir<sup>82</sup>. Çalışmaya alınan suşların çoğunun toplumda kazanılmış değil, nozokomiyal enfeksiyonlarda etken olduğu görülmektedir.

*S. maltophilia* enfeksiyonu risk faktörleri arasında hastanın devamlı bakım birimlerine kabul edilmesi de bulunmaktadır<sup>4</sup>. İtalya'daki bir üniversite hastanesinde iki yıllık bir sürede izole edilen *S. maltophilia* suşlarını inceleyen bir çalışmada, servisler arasındaki en yüksek izolasyon oranı % 44.2 ile devamlı bakım birimlerinde saptanmıştır<sup>2</sup>. Çaylan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da 44 *S. maltophilia* suşunun 23'ü devamlı bakım birimlerinden izole edilmiştir<sup>83</sup>. Bizim çalışmamızda ise izole edilen *S. maltophilia* suşlarının servislere göre dağılımına bakıldığında dahili servislerden izole edilen suşların daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak, bu dağılım servislerin *S. maltophilia* izolasyonu açısından risk durumunu tam olarak yansıtmamaktadır. Hastanemizde dahili servislere ait yatak sayısı 286, cerrahi servislere ait yatak sayısı 500, devamlı bakım birimlerine ait yatak sayısı ise 52'dir. *S. maltophilia* izole edilen hasta sayısının yatak sayısına göre oranı hesaplandığında en yüksek oran % 100 ile devamlı bakım birimlerinde görülmekte, bunu % 28.3 ile dahili servisler ve % 8.6 ile cerrahi servisler izlemektedir (Bkz. Tablo-3). Bu durumda devamlı bakım birimlerinde yatan hastalar en riskli grubu oluşturmaktadır.

Hastanede yatış süresinin uzaması *S. maltophilia* üremesi için risk faktörlerinden birisidir<sup>4</sup>. Villarino ve arkadaşlarının devamlı bakım birimlerindeki *S. maltophilia* kolonizasyonu/enfeksiyonunu inceledikleri bir çalışmada, bu bakteriye bağlı enfeksiyonlarda ortalama hastanede yatış süresi 42.2 gün, devamlı bakım birimlerinde yatış süresi ise 22.6 gün olarak belirlenmiştir. Bu süreler kontrol grubunda sırasıyla 19 ve 9 gün olup aradaki fark anlamlı bulunmuştur<sup>46</sup>. Bizim çalışmamızda da hastaneye yatıştan *S. maltophilia* üremesine kadar geçen süre oldukça uzun (ortalama 36.4 gün) bulunmuştur. Kontrol grubu alınmadığı için bu sürenin istatistiksel değerlendirmesi yapılamamıştır. Hastaneye yatıştan *S. maltophilia* üremesine

kadar geçen sürede servisler arasında belirgin bir fark görülmemiştir (Bkz. Tablo-7).

Altta yatan bir ya da birden fazla hastalık bulunması *S. maltophilia* enfeksiyonu için diğer bir risk faktörüdür<sup>4</sup>. Sattler ve arkadaşları solunum yolu dışındaki *S. maltophilia* enfeksiyonlarını incelemişler ve hastaların % 90.2'sinde altta yatan hastalık olduğunu belirlemişlerdir<sup>77</sup>. Yaptığımız çalışmada da, hastalarda altta yatan hastalık bulunmasının baskın bir özellik olduğu dikkati çekmiştir. Hastaların % 97.1'inde en az bir altta yatan hastalık bulunmaktadır. *S. maltophilia* enfeksiyonu riskinin en yüksek olduğu devamlı bakım birimlerindeki hastaların % 51.1'inde, üçten fazla altta yatan hastalık olduğu saptanmıştır. Hastalıkların ciddiyeti belirlenememekle birlikte, *S. maltophilia* üremesi olan hastaların 59'unun (% 31.4) durumlarının düzelemediği ve kaybedildikleri gözlenmiştir. Mortalitenin *S. maltophilia*'ya bağlı olup olmadığı saptanamamıştır. Sistemik ve lokal olarak bağışıklık sistemini etkileyen malign hastalıklar, diabetes mellitus, otoimmün hastalıklar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, böbrek yetmezliği, hastanın genel durumunu etkileyen hipertansiyon, kalp yetmezliği ve serebrovasküler olay gibi risk faktörleri hastalarımızda sıklıkla gözlenen risk faktörleridir. Hastaların % 55.32'sinin 50 yaşın üzerinde olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo-1). Bu yaş grubunda altta yatan hastalıkların daha sık görülmesi bu enfeksiyonlara karşı eğilime neden olarak gösterilebilir. Çalışmamızda dosyalarında kayıtlı altta yatan hastalığı bulunmayan 5 hastadan birinde lens kullanımına bağlı keratit söz konusudur. Dezenfektanlara direnç gösterebilen *S. maltophilia*'nın<sup>17</sup> lens solüsyonlarında da üreyebildiği bilinmektedir<sup>60</sup>.

*S. maltophilia*'da in vitro duyarlılık testleriyle belirlenen direncin in vivo klinik yanıt ile uyumu tam olarak bilinmemektedir. Testler henüz tam olarak standardize edilmemiş ve duyarlı-dirençli eşik değerleri kesinleşmemiştir. Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi'nin (NCCLS) önerileri, agar ya da buyyon dilüsyon yöntemlerinin kullanılması yönündedir. Agar dilüsyon yöntemi daha güvenilir kabul edilmektedir. Mikrodilüsyon, disk difüzyon, E test ve ticari mikrodilüsyon yöntemlerini karşılaştıran bir

çalışmada, 16-18. saatte saptanan değerler ile 48. saatte saptanan değerler karşılaştırılmıştır<sup>64</sup>. İnkübasyon süresi 48 saate uzatıldığında disk difüzyon testinde zonların daraldığı ve zon içi kolonilerin görünür hale geldiği saptanmıştır. E testte de inkübasyon süresinin uzatılmasıyla zon içi üremeler ortaya çıkmıştır. Dilüsyon ve difüzyon testlerinde 48 saat inkübasyon beta-laktamlar, aminoglikozitler ve siprofloksasin direnç oranlarında anlamlı fark oluşturmuştur. Mikrodilüsyon yönteminde bunlara ek olarak trimetoprim/sülfametoksazol sonuçlarında da anlamlı fark gözlenmiştir. Bu durum aynı çalışmada kontrol olarak kullanılan *P. aeruginosa* suşlarında görülmemiştir<sup>64</sup>. Seftazidim, tikarsilin/klavulanat, siprofloksasin ve gentamisin *S. maltophilia* üzerine etkisini inceleyen başka bir çalışmada 24 saati aşan inkübasyon sürelerinde aynı PFGE paternini veren dirençli mutantların ortaya çıktığı gözlenmiştir<sup>64</sup>. Howe ve arkadaşlarının çalışmasında da meropenem dirençli mutantların hızla seçilmesi nedeniyle, in vitro testlerde duyarlı görünen suşların da dirençli olarak rapor edilmesi önerilmektedir<sup>65</sup>. Güriz ve arkadaşlarının çalışmasında ise 59 *S. maltophilia* suşunun antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı disk difüzyon yöntemiyle araştırılmış ve siprofloksasin duyarlılığının saptanması için ayrıca agar dilüsyon yöntemi uygulanmıştır. Disk difüzyon yöntemiyle siprofloksasine karşı duyarlılık % 88 olarak saptanırken agar dilüsyon yöntemiyle % 49 olarak bulunmuştur. Ayrıca, Güriz ve arkadaşları aminoglikozitlere karşı direncin 30°C'de, 37°C'ye göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir<sup>85</sup>. Bizim çalışmamızda agar dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. İnkübasyon süresi 48 saate uzatıldığında karbapenemler ve sefotaksim dışındaki beta-laktamlara (seftazidim, sefepim, piperasilin ve piperasilin/tazobaktam), trimetoprim/sülfametoksazole ve siprofloksasine karşı direnç anlamlı olarak artmıştır. Bu durum yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Antimikrobiyal ajanlara direncin sağlıklı bir şekilde saptanabilmesi için klinik deneyimlerin de göz önüne alınarak bir referans yöntem belirlenmesi gerekmektedir. Testin standardize edilmesiyle yanlış duyarlı ve yanlış dirençli sonuç verilmesi engellenmeli ve sonuçların tedaviye yanıtla uyumu gözetilmelidir. İnkübasyon süresinin uzamasıyla bir antibiyotiğe karşı direnç

durumu değişen suşların, klinikte söz konusu ajan ile tedaviye nasıl yanıt verdikleri bilinmemektedir. Ancak, bakterisidal antimikrobiyal ajanların bu etkilerini gösteremedikleri gözlenmiştir. Kısa inkübasyonun dirençli mutantları saptamada yetersiz kalması bazı tedavi başarısızlıklarından sorumlu tutulmaktadır<sup>84,86</sup>. Farklı inkübasyon süreleri ile elde edilen sonuçların anlamının klinik çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çalışmalarda izlenmiş standart bir yöntem olmadığı için bildirilen direnç oranları çeşitlilik göstermektedir. Buna karşın, kullanımda olan pek çok antimikrobiyal ajana karşı in vitro direnç görülmesi hem klinik, hem de çevreden izole edilen *S. maltophilia* suşları için tipiktir<sup>55</sup>. Asya-Pasifik, Avrupa ve Amerika kıtalarını içeren kapsamlı bir çalışmada, 1997-2001 yılları arasında izole edilen 1488 klinik *S. maltophilia* suşunun antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık durumları mikrodilüsyon yöntemiyle incelenmiştir. Trimetoprim/sülfametoksazole % 5, gatifloksasine % 5, levofloksasine % 6, tikarsilin/klavulanata % 14 ve seftazidime % 34 direnç saptanmıştır. Test edilen diğer ajanlara karşı direnç % 50'nin üzerinde bulunmuştur. Siprofloksasine direncin (% 68), yeni kinolonlarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek olması dikkati çekmiştir<sup>8</sup>. Köksal ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 13 *S. maltophilia* suşunun 22 antimikrobiyal ajana karşı direnç durumu disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiş, trimetoprim/sülfametoksazole direnç gözlenmezken, amikasine % 23 oranında direnç görülmüştür. Diğer ajanlara karşı direnç % 50'nin üzerinde bulunmuştur<sup>78</sup>. Çaylan ve arkadaşlarının çalışmasında ise 44 *S. maltophilia* suşunun antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı E test ile incelenmiş, trimetoprim/sülfametoksazole % 2.3 ve tikarsilin/klavulanata % 4.6 direnç saptanmıştır. Çalışılan diğer antimikrobiyal ajanlara karşı direnç % 50'nin üzerinde bulunmuştur<sup>83</sup>. Çalışmamızda direnç durumunun belirlenmesi için NCCLS tarafından nonfermentatif bakteriler için önerilen antimikrobiyal ajanlar seçilmiştir. Bunlarda trimetoprim/sülfametoksazol dışındaki ajanlarda direnç oranı % 60'ın (inkübasyon süresi 48 saate uzatıldığında % 70'in) üzerinde bulunmuştur. Ayrıca, trimetoprim/sülfametoksazol dışındaki ajanlarda MİK50 değerleri duyarlılık eşik değerinden en az 2 dilüsyon daha yüksek

saptanmıştır (Bkz. Tablo-8). Bu durum *S. maltophilia* için önerilen antimikrobiyal ajanların diğer nonfermentatif bakterilerden farklı olması gerekliliğini vurgulamaktadır. Tüm çalışmalarda *S. maltophilia*'ya karşı en etkin ajanlardan biri olduğu saptanan trimetoprim/sülfametoksazolün diğer nonfermenterlere karşı etkinliği düşüktür<sup>8</sup>. Diğer nonfermentatif bakteriler için önerilen aminoglikozitlere, kinolonlara ve geniş spektrumlu beta-laktamlara çoğu *S. maltophilia* suşu dirençlidir. Çoklu dirençli mikroorganizmaların çoğuna karşı uygun bir seçenek olan karbapenemler tedavi seçeneği olarak gösterilmemektedir. Trimetoprim/sülfametoksazole ek olarak tikarsilin klavulanat, yeni kinolonlar, seftazidim gibi antibiyotikler kullanılabilir. Bu durumda klinik örnekten izole edilen *S. maltophilia* suşlarının doğru tanımlanması, tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Son yıllarda klinikte kullanılmakta olan antimikrobiyal ajanların etkisini artırmaya yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda metallobeta-laktamaz inhibitörü olarak bazı karbapenem türevlerinin kullanılması ve membran aktif peptidlerin antimikrobiyal ajanlarla kombinasyonunun sinerjistik etkileri olumlu sonuçlar vermiştir<sup>87,88</sup>. Ancak, bu bulgular in vivo olarak doğrulanmamıştır.

Yeni ortaya çıkan bir patojenin etken olduğu enfeksiyonlarda, salgın dönemleri dışında da tiplendirme çalışmalarına gerek duyulmaktadır. Yeni ortaya çıkan patojenlerdeki bulaş yollarının ve virülan klonların belirlenebilmesi için, epidemiyolojik olarak ilişkisiz görünen suşlarda tiplendirme yapılabilir. Çalışmamızda hastanemizdeki *S. maltophilia* enfeksiyonlarının bulaş dinamiklerinin saptanması amacıyla tiplendirme yapılmıştır. *S. maltophilia*'nın tiplendirilmesi amacıyla farklı yöntemler denenmiştir. Fenotipik yöntemlerin ayırım gücü farklı klonları ayırt etmek için yeterli bulunmamaktadır. Biyokimyasal testlerle ve antimikrobiyal duyarlılık testleriyle elde edilen paternlerde suşlar arasında çeşitlilik, nadiren görülmektedir<sup>4</sup>. *S. maltophilia* izolatları fenotipik olarak benzer olsalar da, belirgin bir genomik çeşitlilik gösterdiklerinden genotipik yöntemler daha olumlu sonuçlar vermektedir<sup>50,89</sup>. *S. maltophilia*'da restriksiyon enzimi ile kesim sonrası PFGE ile tiplendirme referans kabul edilmektedir. Ayırım gücü

ve tekrarlanabilirliği yüksektir<sup>52</sup>. Denenen restriksiyon enzimleri arasında XbaI iyi sonuçlar vermektedir<sup>54-56</sup>. Ayrıca, *S. maltophilia*'nın genotiplendirmesinde AP-PCR ve özellikle ERIC-PCR'in ayırım gücü ve tekrarlanabilirliği yeterli bulunmuştur. Bu yöntemlerin uygulanmaları PFGE analizine göre daha az zaman ve işgücü gerektirmektedir<sup>9,73,90,91</sup>.

Günümüzde genotiplendirme yöntemlerinin hepsi için standart değerlendirme kriterleri belirlenememiştir. Tenover ve arkadaşları tarafından PFGE değerlendirmesi için önerilen standart kabul görmüştür<sup>75</sup>. ERIC-PCR yönteminde ise böyle bir standart tanımlanmamıştır. Değerlendirme kriterleri tartışmalı olup, bant sayısı ve yoğunluğundaki farklılıklar değerlendirmeyi etkileyebilmektedir<sup>92</sup>. Bazı araştırmacılar iki ve daha fazla bant farklılığı olan suşları ilişkisiz olarak değerlendirmişlerdir<sup>9,90,91</sup>.

Hastalar arasında çapraz geçişin tanımlanması *S. maltophilia*'nın nozokomiyal salgınlara neden olabileceğini kanıtlamıştır. İspanya'da bir üniversite hastanesinin yenidoğan servisinde çıkan bir salgın incelenmiş ve dört ay içinde 7 hastadan izole edilen *S. maltophilia* suşlarının tek bir hastadan kaynaklandığı AP-PCR, ERIC-PCR ve PFGE ile gösterilmiştir<sup>48</sup>. Buna karşın genotiplendirme çalışmaları, klinik *S. maltophilia* izolatlarının oldukça çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuştur. Hastanede baskın klon varlığını araştıran bir çalışmada 139 izolatın 99 farklı PFGE paterni verdiği görülmüştür<sup>89</sup>. Diğer bir çalışmada ise hastalardan, hastane ortamından ve doğal ortamlardan izole edilmiş 130 suşa 4 farklı primer ile AP-PCR yöntemi kullanılarak genotiplendirme yapılmış, 112 farklı patern saptanmıştır. Aynı paterni gösteren suşlar çapraz enfeksiyon olduğunu düşündürecek şekilde aynı servisten izole edilmiştir. Farklı servislerden izole edilen iki suşun ise aynı X ışını cihazı ve teknisyeni ile temas eden hastalara ait oldukları belirlenmiştir<sup>90</sup>. Çaylan ve arkadaşlarının bir çalışmasında 20 aylık bir süre içinde 41 hastadan izole edilen 44 *S. maltophilia* suşu ERIC-PCR yöntemiyle tiplendirilmiş ve 26 farklı patern saptanmıştır<sup>83</sup>. Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada da 1998-2000 yılları arasında izole edilen 40 suş PFGE ile değerlendirilmiş ve 21 farklı patern saptanmıştır<sup>93</sup>. Kişide hastaneye yatıştan önce kolonize olmuş *S. maltophilia* suşlarının

antibiyotik baskısı altında seçilerek bazı nozokomiyal enfeksiyonlara yol açabileceği ileri sürülmüştür<sup>94</sup>. Kanıtlanması zor olan bu hipotez, tek bir hastaneden izole edilen suşlarda bile bu kadar çok çeşitlilik görülmesini açıklayabilir.

Yaptığımız çalışmada 6 yıllık bir dönem içinde izole edilen *S. maltophilia* suşları incelenmiştir. Farklı hastalara ait ya da aynı hastanın farklı klinik örneklerinden izole edilen suşlar değerlendirmeye alınmıştır. Suşlar ERIC-PCR ve PFGE yöntemleriyle tiplendirilmiş ve tanımlanan genotiplerdeki antimikrobiyal duyarlılık paternleri karşılaştırılmıştır. Çalışılan 205 suшта ERIC-PCR ile 180, PFGE ile 188 farklı genotip saptanmıştır. ERIC-PCR ile birden fazla suş içeren 17 genotip tanımlanmış, bunların 13'ü PFGE ile de aynı ya da benzer patern vermiştir (E1/P1, E2/P2, E4/P3, E8/P4, E10/P5, E11/P6-P7, E12/P8, E13/P9, E14/P10, E15/P11, E16/P12, E17/P13) (Bkz. Tablo-9). ERIC-PCR ile aynı paterni gösterdikleri halde PFGE ile farklı patern veren gruplar incelendiğinde (E3, E5, E6, E7, E9), bu suşların farklı servislerden izole edildiği görülmüştür. E17 patern grubunda farklı bir servisten izole edilmiş olmasına karşın ilişkili görünen bir suş da PFGE ile ilişkisiz bulunmuştur. PFGE'nin farklı klonları belirlemekte daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. Çalışmaya birden fazla suşu alınan 15 hastadan yalnızca 8 tanesinin ERIC-PCR ve PFGE paternleri benzer bulunmuştur. ERIC-PCR ile 63'ü Fransa'dan ve 3'ü Tunus'tan olmak üzere toplam 66 suşu tiplendiren Barbier-Frebourg ve arkadaşları, devamlı bakım hastalarının solunum yollarında birden fazla *S. maltophilia* suşunun kolonize olabildiğini saptamışlardır<sup>9</sup>. Bunu, seçici antibiyotik baskısı altındaki hastalarda çoklu *S. maltophilia* kolonizasyonu gelişebildiği şeklinde yorumlamışlardır. Çalışmamızda aynı ERIC-PCR ve PFGE paternini gösteren 13 gruptan 6'sında aynı hastaya ait izolatlar bulunmaktadır. Kalan 7 gruptan 4 tanesine ait suşlar DDB hastalarından izole edilmiştir. ERIC-PCR ve PFGE ile benzer patern veren ama farklı servislerden izole edilen 3 gruptan (E4/P3, E10/P5, E11/P7) birinde suşlar beyin cerrahi servisinden ve beyin cerrahi devamlı bakım biriminden, ikincisinde yanık servisi ve buna komşu genel cerrahi servisinden izole edilmiştir. Her iki durumda da servislere bakan doktorlar

ortak olup suşun taşınması olası görülmektedir. Ancak, E11 paterni veren grupta farklı bir durum gözlenmiştir. Bu gruptaki 5 suş BCDB, Dahiliye Bölüm 75 ve Ortopedi Bölüm 52'den izole edilmiştir. PFGE analizi, BCDB'da yatan bir hastaya ait iki suşun farklı olduğunu göstermiştir (P6). Ancak, dahili bir servis olan Bölüm 75 ve cerrahi bir servis olan Bölüm 52'den (Ortopedi) izole edilen suşlar PFGE ile de aynı paterni (P7) vermiştir. Bu 3 suşun izole edildiği 2 hasta arasında ilişki belirlenememiştir. Literatürde de benzer bulgular bildirilmiş, Barbier-Frebourg ve arkadaşlarının çalışmasında, ilişkisiz servislerden farklı tarihlerde izole edilen suşların aynı paterni verebildikleri gözlenmiştir. Bu çalışmada, Fransız bir hasta ile Tunuslu bir hastanın suşlarının aynı paterni vermesi ilginçtir. Bu iki hastanın başka bir ülkeye yolculuk öyküsü de bulunmamaktadır<sup>9</sup>.

ERIC-PCR yöntemiyle daha az sayıda genotip belirlenmiş olmasına karşın, her iki genotipik yöntemin ayırım gücü oldukça yüksek bulunmuştur. ERIC-PCR'ın daha ucuz olması, daha az zaman ve işgücü gerektirmesi bu yöntemin avantajlarıdır. Dezavantajı ise tekrarlanabilirlik sorunlarının olabilmesidir<sup>92</sup>. Bizim çalışmamızda iki farklı marka ERIC-2 primeriyle yapılan denemede tamamen farklı paternler elde edilmiştir. Bu nedenle tüm suşlar için aynı primer setinin kullanılmasına dikkat edilmiş ve bu şekilde aynı suşun tekrarlayan testlerinde aynı paternin ortaya çıktığı görülmüştür. Yüksek ayırım gücü ve diğer avantajları göz önüne alındığında ERIC-PCR çoğu laboratuvar için *S. maltophilia* tiplendirmesinde uygun seçenek olabilir.

Antimikrobiyal duyarlılık paternleri ile tiplendirmenin ayırım gücü düşüktür<sup>92</sup>. Berg ve arkadaşları, hastalardan ve doğadan izole edilen 40 *S. maltophilia* suşunu incelemiş, suşların hepsinin PFGE paternleri farklı olmasına karşın antibiyogram ile yalnızca 6 grup saptayabilmişlerdir<sup>55</sup>. Bizim çalışmamızda da ERIC-PCR ve PFGE ile farklı patern veren suşlarda aynı antimikrobiyal direnç paterni görülebildiği gibi, genotipik olarak aynı gruba dahil edilen suşlarda da antimikrobiyal MİK değerlerinde farklılıklar gözlenmiştir.



Sonuç olarak, çalışmamızda değerlendirilen *S. maltophilia* suşlarının çoğu (% 86.8) hastaneye yatıştan 48 saat sonra, genellikle altta yatan hastalığı olan hastalardan üretilmiştir. Antimikrobiyal ajanlara duyarlılık testleri sonuçları, literatür ile uyumlu olarak bu grup bakterilerdeki çoklu direnci vurgulamaktadır. Test edilen antimikrobiyal ajanlardan trimetoprim/sülfametoksazol dışındakilere karşı direnç oranı % 60'ın üzerinde bulunmuştur. Daha önce bildirilen çalışmalarla uyumlu olarak hastanemizde izole edilen *S. maltophilia* suşları genetik olarak oldukça çeşitlilik göstermektedir. Referans yöntem olan PFGE analizine göre daha kolay uygulanan ve ucuz bir yöntem olan ERIC-PCR'in ayırım gücü yüksek bulunmuştur. Burada olumlu olan nokta referans yöntem olan PFGE ile tiplendirmede büyük klonların gözlenmemesidir. Bu durum, hastanemizde *S. maltophilia* suşlarıyla çapraz enfeksiyon gelişmesinin nadir olduğunu göstermektedir. Küçük çaplı salgınlar ortaya çıkabilse de alınan önlemler yayılmayı sınırlayabilmektedir.

## SONUÇ

*S. maltophilia* gittikçe artan sıklıkta karşılaşılan bir patojendir. Hastane ortamında, özellikle devamlı bakım birimlerinde sorun oluşturmaktadır. Daha çok altta yatan hastalığı olan kişilerde ortaya çıkmakta ve antimikrobiyal ajanlara gösterdiği çoklu direnç sayesinde geniş spektrumlu antimikrobisyonların kullanımı ile risk artmaktadır<sup>1-3</sup>. Çalışmamızda da daha önce bildirilenle uyumlu olarak *S. maltophilia* suşlarının % 86.8'i hastaların hastaneye yatışından 48 saat sonra izole edilmiş ve devamlı bakım birimlerinde yatan hastaların daha yüksek risk altında oldukları görülmüştür. Hastaların % 90.4'ünde altta yatan hastalık saptanmıştır. İzole edilen *S. maltophilia* sayısında 2003 yılında hafif bir artış görülmüştür. Genotiplendirme sonuçlarına bakıldığında 1998-2003 yıllarında büyük bir salgın görülmemektedir.

Hem klinik hem de doğadan izole edilen *S. maltophilia* suşları tipik olarak antimikrobiyal ajanlara dirençlidirler<sup>55</sup>. Bu çalışmada NCCLS tarafından nonfermenter bakteriler için önerilen antimikrobiyal ajanlardan bazılarının *S. maltophilia*'ya karşı etkinlikleri test edilmiştir. Trimetoprim/sülfametoksazol dışındaki ajanlara karşı direnç % 60'ın üzerinde bulunmuştur. Bu durum, *S. maltophilia* için farklı tedavi şemaları geliştirilmesinin gerekliliğini vurgulamaktadır.

Çalışılan suşlar tek bir hastaneden izole edilmiştir. Buna karşın izolatlar genetik olarak oldukça çeşitlilik göstermektedir. Çalışılan 205 suşta ERIC-PCR ile 180, PFGE ile 188 farklı patern saptanmıştır. ERIC-PCR yöntemi, referans yöntem olan PFGE analizine göre daha az sayıda genotip saptayabilmiş ancak, ayırım gücü yüksek bulunmuştur. Aynı paterni veren izolatların az olması ve grupların az sayıda suştan oluşması hastanemizde *S. maltophilia* ile gelişen enfeksiyonlarda çapraz bulaşın yaygın olmadığını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Graff GR, Burns JL. Factors affecting the incidence of *Stenotrophomonas maltophilia* isolation in cystic fibrosis. *Chest* 2001;121:1754-60.
2. Crispino M, Boccia MC, Bagattini M et al. Molecular investigation of *Stenotrophomonas maltophilia* in a university hospital. *Journal of Hospital Infection* 2002;52:88-92.
3. Hanes SD, Demirkan K, Tolley E et al. Risk factors for late onset nosocomial pneumonia caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in critically ill trauma patients. *Clinical Infectious Diseases* 2002;35:228-35.
4. Denton M, Kerr KG. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiological Reviews* 1998;11:57-80.
5. Vidal F, Mensa J, Almela M et al. Bacteremia in adults due to glucose non-fermentative Gram-negative bacilli other than *P. aeruginosa*. *The Quarterly Journal of Medicine* 2003;96:227-34.
6. Çaylan R, Aydın K, Köksal İ. Meningitis caused by *Stenotrophomonas maltophilia*: Case report and review of the literature. *Annals of Saudi Medicine* 2002;22:216-8.
7. Aydın K, Köksal İ, Kaygusuz S et al. Endocarditis caused by *Stenotrophomonas maltophilia*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2000;32:427-30.
8. Jones RN, Sader HS, Beach ML. Contemporary in vitro spectrum of activity summary for antimicrobial agents tested against 18569 strains

of non-fermentative Gram-negative bacilli isolated in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2003;22:551-6.

9. Barbier-Freboung N, Boutiba-Boubaker I, Nouvellon M et al. Molecular investigation of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates exhibiting rapid emergence of ticarcillin-clavulanate resistance. *Journal of Hospital Infection* 2000;45:35-41.
10. Palleroni NJ, Bradbury JF. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1993;43:606-9.
11. Drancourt M, Bollet C, Raoult D. *Stenotrophomonas africana* sp. nov., an opportunistic human pathogen in Africa. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1997;47:160-3.
12. Assih EA, Ouattara AS, Thierry S et al. *Stenotrophomonas acidaminiphila* sp. nov., a strictly aerobic bacterium isolated from an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 2002;52:559-68.
13. Assih EA, Ouattara AS, Thierry S et al. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology* 2002;52:1937-44.
14. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. The non-fermentative Gram-negative bacilli: Allen A, Deitch S, ed. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5. baski. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997;5:253-320.

15. Kerr KG, Denton M, Todd N et al. A new selective differential medium for isolation of *Stenotrophomonas maltophilia*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 1996;15:607-10.
16. Wishart MM, Riley TV. Infection with *Pseudomonas maltophilia* hospital outbreak due to contaminated disinfectant. *Med J Aust* 1976;2:710-2.
17. Higgins CS, Murtough SM, Williamson E et al. Resistance to antibiotics and biocides among non-fermenting Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection* 2001;7:308-15.
18. Orrison LH, Bibb WF, Cherry WB et al. Determination of antigenic relationships among *Legionellae* and non-legionellae by direct fluorescent-antibody and immunodiffusion tests. *Journal of Clinical Microbiology* 1983;17:332-7.
19. Moss CW, Samuels SB, Liddle J et al. Occurrence of branched-chain hydroxy fatty acids in *Pseudomonas maltophilia*. *Journal of Bacteriology* 1973;114:1018-24.
20. de Oliveira-Garcia D, Dall'Agnol M, Rosales M et al. Fimbria and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. *Cellular Microbiology* 2003;5:625-36.
21. de Oliveira-Garcia D, Dall'Agnol M, Rosales M et al. Characterization of flagella produced by clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Emerging Infectious Diseases* 2002;8:918-23.
22. Kataoka D, Fujiwara H, Kawakami T et al. The indirect pathogenicity of *Stenotrophomonas maltophilia*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2003;22:601-6.

23. Jucker BA, Harms H, Zehnder AJB. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and teflon. *Journal of Bacteriology* 1996;178:5472-9.
24. Di Bonaventura G, Spedicato I, D'Antonio D et al. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: Modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ceftazidime. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004;48:151-60.
25. DeShazer D, Brett PJ, Woods DE. The type II O-antigenic polysaccharide moiety of *Burkholderia pseudomallei* lipopolysaccharide is required for serum resistance and virulence. *Molecular Microbiology* 1998;30:1081-100.
26. McKay GA, Woods D, MacDonald KL et al. Role of phosphoglucomutase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infection and Immunity* 2003;71:3068-75.
27. Windhorst S, Frank E, Genov N et al. The major extracellular protease of the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *The Journal of Biological Chemistry* 2002;277:11042-9.
28. Akova M, Bonfiglio G, Livermore DM. Susceptibility to beta-lactam antibiotics of mutant strains of *Xanthomonas maltophilia* with high- and low-level constitutive expression of L1 and L2 beta-lactamase. *Journal of Medical Microbiology* 1991;35:208-13.
29. Avison MB, Higgins CS, Ford PJ et al. Differential regulation of L1 and L2  $\beta$ -lactamase expression in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002;49:387-9.

30. Avison MB, Higgins CS, von Heldreich CJ et al. Plasmid location and molecular heterogeneity of the L1 and L2  $\beta$ -lactamases of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001;45:413-9.
31. Paton R, Miles RS, Amyes SGB. Biochemical properties of inducible beta-lactamases produced from *Xanthomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1994;38:2143-9.
32. Avison MB, von Heldreich CJ, Higgins CS et al. A TEM-2  $\beta$ -lactamase encoded on an active Tn-1 like transposone in the genome of a clinical isolate of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000;46:879-84.
33. Li X, Zhang L, McKay GA et al. Role of acetyltransferase AAC(6')-Iz modifying enzyme in aminoglycoside resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003;51:803-11.
34. Zhang L, Li X, Poole K. Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*; involvement of a multidrug efflux system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000;44:287-93.
35. Rahmati-Bahram A, Magee JT, Jackson SK. Temperature-dependent aminoglycoside resistance in *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia*; alterations in protein and lipopolysaccharide with growth temperature. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1999;37:665-76.
36. Hejnar P, Chmela Z, Rypka M. Fatty acid analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains showing different susceptibility to antibiotics at 0 and 37°C. *Folia Microbiologica* 2002;47:742-6.

37. Lecso-Bornet M, Pierre J, Sarkis-Karam D et al. Susceptibility of *Xanthomonas maltophilia* to six quinolones and study of outer membrane proteins in resistant mutants selected in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1992;36:669-71.
38. Bongfiglio G, Cascone C, Azzarelli C et al. Levofloxacin in vitro activity and time-kill evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000;45:115-7.
39. Gould IM, Milne K. In-vitro pharmacodynamic studies of piperacillin/tazobactam with gentamicin and ciprofloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997;39:53-61.
40. Alonso A, Sanchez P, Martinez J. *Stenotrophomonas maltophilia* D457R contains cluster of genes from Gram-positive bacteria involved in antibiotic and heavy metal resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000;44:1778-82.
41. Alonso A, Martinez J. Cloning and characterization of SmeDEF, a novel multidrug efflux pump from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000;44:3079-86.
42. Alonso A, Morales G, Escalante R et al. Overexpression of the multidrug efflux pump SmeDEF impairs *Stenotrophomonas maltophilia* physiology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004;53:432-4.
43. Kerr JR. Inhibition of growth of fungi pathogenic to man by *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Medical Microbiology* 1996;45:380-2.
44. Jakobi M, Winkelmann G, Kaiser D et al. Maltophilin: A new antifungal compound produced by *Stenotrophomonas maltophilia* R3089. *Journal of Antibiotics* 1996;49:1101-4.



45. VanCouwenberghe C, Cohen S. Analysis of epidemic and endemic isolates of *Xanthomonas maltophilia* by contour-clamped homogeneous electric field gel electrophoresis. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1994;15:691-6.
46. Villarino ME, Stevens LE, Schable B et al. Risk factors for epidemic *Xanthomonas maltophilia* infection/colonisation in intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1992;13:201-6.
47. Khardori N, Elting L, Wong E et al. Nosocomial infections due to *Xanthomonas maltophilia* (*Pseudomonas maltophilia*) in patients with cancer. *Reviews in Infectious Diseases* 1990;34:1609-10.
48. de Viedma DG, Marin M, Cercenado E et al. Evidence of nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* cross-infection in a neonatology unit analyzed by three molecular typing methods. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1999;20:816-20.
49. Schable B, Rhoden DL, Hugh R et al. Serological classification of *Xanthomonas maltophilia* (*Pseudomonas maltophilia*) based on heat stable O antigens. *Journal of Clinical Microbiology* 1989;27:1011-4.
50. Hauben L, Vauterin L, Moore ERB et al. Genomic diversity of the genus *Stenotrophomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1999;49:1749-60.
51. Sambrook J, Russell DW. Gel Electrophoresis of DNA and pulsed-field agarose gel electrophoresis: Argentine J, ed. *Molecular Cloning*, 3. baskı. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. Bölüm 5.
52. Marty N. Epidemiological typing of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Hospital Infection* 1997;36:261-6.

53. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *Journal of Clinical Microbiology* 1999;37:1661-9.
54. Canton R, Valdezate S, Vindel A et al. Antimicrobial susceptibility profile of molecular typed cystic fibrosis *Stenotrophomonas maltophilia* isolates and differences with noncystic fibrosis isolates. *Pediatric Pulmonology* 2003;35:99-107.
55. Berg G, Roskot N, Smalla K. Genotypic and phenotypic relationships between clinical and environmental isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Clinical Microbiology* 1999;37:3594-600.
56. Valdezate S, Vindel A, Maiz L et al. Persistence and variability of *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis patients Madrid, 1991-1998. *Emerging Infectious Diseases* 2001;7:113-22.
57. Fujita J, Yamadori I, Xu G et al. Clinical features of *Stenotrophomonas maltophilia* pneumonia in immunocompromised patients. *Respiratory Medicine* 1996;90:35-8.
58. Denton M, Todd N, Littlewood JM. Role of antipseudomonal antibiotics in the emergence of *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 1996;15:402-5.
59. Harlowe HD. Acute mastoiditis following *Pseudomonas maltophilia* infection. *Laryngoscope* 1972;82:882-3.
60. Bottone EJ, Madayag RM, Qureshi MN. *Acanthamoeba* keratitis: Synergy between amebic and bacterial cocontaminants in contact lens care systems as a prelude to infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1992;30:2447-50.

61. Kerr KG, Corps CM, Hawkey PM. Infections due to *Xanthomonas maltophilia* in patients with hematologic malignancy. *Reviews in Infectious Diseases* 1991;13:762.
62. Szeto CC, Li PK, Leung CB et al. *Xanthomonas maltophilia* peritonitis in uremic patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *American Journal of Kidney Disease* 1997;29:91-5.
63. Taber TE, Hegeman TF, York SM et al. Treatment of *Pseudomonas* infections in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* 1991;11:213-6.
64. Carroll KC, Cohen S, Nelson R et al. Comparison of various in vitro susceptibility methods for testing *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 1998;32:229-35.
65. Howe RA, Wilson MP, Walsh TR et al. Susceptibility testing of *Stenotrophomonas maltophilia* to carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997;40:13-7.
66. Kim J, Kim S, Kang H et al. Two episodes of *Stenotrophomonas maltophilia* endocarditis of prosthetic mitral valve: Report of a case and review of the literature. *Journal of Korean Medical Sciences* 2002;17:263-5.
67. Pereira O, Velho GC, Lopes V et al. Acral necrosis by *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of European Academy of Dermatology and Venereology* 2001;15:334-6.
68. Kremery V J, Pichna P, Oravcova E et al. *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in cancer patients: Report on 31 cases. *Journal of Hospital Infection* 1996;34:75-7.

69. Lanotte P, Cantagrel S, Mereghetti L et al. Spread of *S. maltophilia* colonization in a pediatric intensive care unit detected by monitoring tracheal bacterial carriage and molecular typing. *Clinical Microbiology and Infection* 2003;9:1142-7.
70. NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A4. In: National Committee for Clinical Laboratory Standards., ed. Villanova, Pa.: 1997;4.
71. Wilke Topçu A. MİK ve MBK testleri, Rutindeki Önemi ve Uygulamaları. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı Özet Kitapçığı. 1997.
72. Köseoğlu Ö, Şener B, Gür D. Çocuk hastalardan izole edilen *S. maltophilia* suşlarının moleküler epidemiyolojisi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2004;38:basımda.
73. Chatelut M, Dournes JL, Chabanon G et al. Epidemiological typing of *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 1995;33:912-4.
74. Yuk-Fong Liu P, Wu W. Use of different PCR-based fingerprinting techniques and pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 1997;28:19-28.
75. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology* 1995;33:2233-9.

76. Waterer GW, Wunderink RG. Increasing threat of Gram negative bacteria. *Critical Care Medicine* 2001;29:N75-N81.
77. Sattler CA, Mason EO. Nonrespiratory *Stenotrophomonas maltophilia* infection at a children's hospital. *Clinical Infectious Diseases* 2000;31:1321-30.
78. Köksal F, Öztürk R, Eroğlu C et al. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas* ve *Stenotrophomonas maltophilia* kökenlerinin antimikrobik maddelere duyarlılığı. *Ankem Dergisi* 1995;9:358-62.
79. Bayraktar B, Kaygusuz A, Öngen B et al. *Xanthomonas maltophilia* izolasyonları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 1994;24:154-7.
80. Valdezate S, Vindel A, Loza E et al. Antimicrobial susceptibilities of unique *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001;45:1581-4.
81. Alfieri N, Ramotar K, Armstrong P et al. Two consecutive outbreaks of *Stenotrophomonas maltophilia* (*Xanthomonas maltophilia*) in an intensive care unit defined by restriction fragment length polymorphism typing. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1999;20:553-6.
82. Uzun Ö. Hastane Enfeksiyonları: Tanımlar : Doğanay M, Ünal S, ed. Hastane Enfeksiyonları 1. baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003;1:35-58.
83. Çaylan R, Kaklıkkaya N, Aydın K et al. An epidemiological analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* strains in a university hospital. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2004;57:37-40.

84. Garrison MW, Anderson DE, Carroll KC et al. *Stenotrophomonas maltophilia*: Emergence of multidrug-resistant strains during therapy and in an in vitro pharmacodynamic chamber model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996;40:2859-64.
85. Güriz H, Aysev AD. Hastanede yatan hastalardan izole edilen *S. maltophilia* suşlarının antimikrobik duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 1999;29:153-7.
86. Bonfiglio G, Cascone C, Azzarelli C et al. Levofloxacin in vitro activity and time-kill evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000;45:115-7.
87. Nagano R, Adachi Y, Imamura H et al. Carbapenem derivatives as potential inhibitors of various  $\beta$ -lactamases, including class B metallo- $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999;43:2497-503.
88. Giacometti A, Cirioni O, Del Prete MS et al. In vitro activities of membrane-active peptides alone and in combination with clinically used antimicrobial agents against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000;44:1716-9.
89. Valdezate S, Vindel A, Martin-Davila P et al. High genetic diversity among *Stenotrophomonas maltophilia* strains despite their originating at a single hospital. *Journal of Clinical Microbiology* 2004;42:693-9.
90. Davin-Regli, Bollet C, Auffray JP et al. Use of amplified polymorphic DNA for epidemiological typing of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Hospital Infection* 1996;32:39-50.

91. Krzewinski JW, Nguyen CD, Foster JM et al. Use of random amplified polymorphic DNA PCR to examine epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans* from patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2001;39:3597-602.
92. 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. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 1997;18:426-39.
93. Köseoğlu Ö, Gülmez D, Altun B et al. *Stenotrophomonas maltophilia* as a nosocomial pathogen, abst.K-725. 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2003;366.
94. VanCouwenberghe C. Evidence of nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* infection in a neonatology unit analysed by three molecular typing methods. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2000;21:433-4.