

HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN ESCHERICHIA COLI VE KLEBSIELLA PNEUMONIAE SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞI

Çağlar ÖZKAN¹, Mehmet OLDACAY², Günhan ERDEM³

ÖZET

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 58 *Klebsiella pneumoniae* ve 94 *Escherichia coli* suşunun seftriakson, sefotaksim, seftazidim, sefoksitin, aztreonam, sefoperazon ve imipenem direnç oranları disk difüzyon yöntemi ve aynı suşlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sıklığı çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır.

K.pneumoniae suşlarında en yüksek direnç % 21 ile sefoksitine, *E.coli* suşlarında ise en yüksek direnç % 13 ile seftazidime karşı bulunmuştur. GSBL sıklığı *K. pneumoniae* suşlarında % 66, *E.coli* suşlarında % 39 oranında saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)

SUMMARY

Frequency of extended spectrum beta-lactamases in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae strains isolated from nosocomial infections.

The resistance to ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, cefoxitin, aztreonam, cefoperazone and imipenem was investigated by the disk diffusion method in 58 *Klebsiella pneumoniae* and 94 *Escherichia coli* strains isolated from different clinical specimens. The frequency of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) was also investigated by double disk synergy method for the same strains.

In *K.pneumoniae* strains, the highest resistance was for cefoxitin (21%) with the disk diffusion method. In *E.coli* strains, the highest resistance was for ceftazidime (13%) with the same method. The frequency of ESBL was 66% in *K.pneumoniae* strains and 39 % in *E.coli* strains.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, extended spectrum beta-lactamase (ESBL)

GİRİŞ

Bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişmesi ile antibiyotik kullanımı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Antibiyotik kullanımının çok fazla olması nedeniyle hastaneler, bakterilerde antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması için en uygun ortamlardır. Hastane infeksiyonlarında saptanan etkenlerdeki antibiyotiklere direnç oranı, hastane dışında saptanan etkenlere göre daha yüksektir (7). Bakterilerde antibiyotik direncinin başta gelen nedenlerinden biri olan beta-laktamaz üretimi, endişe verici bir hızla yayılmakta ve çeşitlenmektedir. Bu son durumun, yeni beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanıma bir yanıtı olarak ortaya çıktığı görülmektedir. Öte yandan nozokomial etkenlerde başta olmak üzere, plazmidler yoluyla bakteriden bakteriye direnç aktarımı beta-laktamazların yaygınlığına katkıda bulunmaktadır (1).

Beta-laktamazlar arasında TEM ve SHV grubu enzimler, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık soyutlanan

türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik önem açısından ön planda gelmektedir. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamazları, penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinleri etkin bir biçimde parçaladıkları halde; sefotaksim, seftazidim ve aztreonam gibi geniş spektrumlu beta-laktamlara kısıtlı etki gösterir. Ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak yeni enzimler gelişmiştir. Geniş spektrumlu beta-laktam ajanları inaktive edebildikleri için genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olarak adlandırılmıştır. GSBL, en sık *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında bulunmakta ve bu türler ile oluşan infeksiyonların tedavisinde sorun yaratmaktadır. GSBL rutin laboratuvarlarda tanımlanmakta sorunlar yarattığı için, özel yöntemler kullanılmaktadır. Çift disk sinerji yöntemi GSBL saptamada kullanılan yöntemlerden bir tanesidir (6).

1- Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, 2- Devlet Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Çanakkale, 3- Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Çanakkale.

GSBL ilk kez Almanya'da tanımlanıp, daha sonra Fransa başta olmak üzere dünyanın çeşitli ülkelerinde önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır (7). Geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı gelişen bu aktarılabılır direnç, önce *K.pneumoniae* suşlarında tanımlanmıştır. Daha sonra *E.coli* ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan *Enterobacter*, *Salmonella*, *Serratia* ve *Morganella morganii* gibi bakterilerde de daha az sıklıkla belirlenmiştir (9). GSBL üreten mikroorganizmalar çoğunlukla hastane infeksiyonu etkeni olan türlerdir (2,5).

Direnç genleri, enterik bakteriler arasında kolaylıkla aktarılabilmektedir. Yapılan çalışmalar GSBL kodlayan genin kolayca *K.pneumoniae* suşlarından *E.coli* suşlarına geçtiğini göstermiştir. Direncin yoğun antibiyotik kullanımı ile ilişkili olması ve ortaya çıkan direncin Gram negatif çomaklar arasında kolaylıkla aktarıyor olması, dirençli suşların izlenmesinin önemini ortaya koymaktadır (10).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çesitli kliniklerden gönderilen örneklerin kültürlerinden izole edilen ve CDC kriterlerine göre hastane infeksiyonu etkeni olan 94 *E.coli* ve 58 *K.pneumoniae* suşu ile Ekim 1999 - Ekim 2000 tarihleri arasında Çanakkale Devlet Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışılmıştır. Suşların izolasyon ve identifikasyonunda klasik mikrobiyolojik yöntemler kullanılmıştır. *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. Bu yöntemin kullanılmasının nedeni ise beta-laktamaz inhibitörü olan klavulanat ile GSBL inhibisyonu oluşturulabilme özelliğinden yararlanmasıdır (3).

Kontrol suşları olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 kullanılmıştır. Çalışılan kökenlerin antibiyotik duyarlılık sınamaları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerileri doğrultusunda, disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır (8,13). Çalışmada Oxoid ve Bioanalyse firmalarının ticari olarak ha-

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin, özellikle de sefalosporinlerin yaygın kullanımı, GSBL üreten suşların artmasına yol açmaktadır. Plazmidler aracılığıyla aktarılabilmeleri nedeniyle, GSBL enzimlerine bağlı direnç hızla yayılabilen hastanelerde bu dirençli suşlara bağlı infeksiyon salgınları yaşanabilmektedir (12).

Pratikte uygulanan antibiyotik duyarlılık testleri, *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının GSBL direncinin belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için önerilen gündelik bir yöntem olmamakla beraber, özellikle *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında rastlanan yüksek GSBL sıklığı nedeni ile, bu enzimleri belirlemek için en sık kullanılan ve kolay olmasından dolayı tercih edilen yöntem çift disk sinerji yöntemidir. Çalışmada hastane infeksiyonu etkeni olan, *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında çift disk sinerji yöntemi ile GSBL sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

zırlanmış oldukları antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Çift disk sinerji yönteminde, Mueller-Hinton agar besiyerinin merkezine amoksisilin-klavulanik asit (20 µg + 10 µg) diski yerleştirilmiştir. Amoksisilin-klavulanik asit diskinin çevresine arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftriakson, sefotaksim, aztreonam, seftazidim, piperasilin, imipenem, sefoperazon ve sefiksime diskleri yerleştirilmiştir.

Testin temeli, klavulanik asit ile GSBL inhibisyonu oluşturularak, çevredeki antibiyotiklerin bu alandaki mikroorganizmaların üremelerini engellemesine dayanmaktadır. Buna göre GSBL için beta-laktam diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit diskinin doğru belirgin bir şekilde genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi, diğer bir deyimle klavulanik asidin antibiyotiği güçlendirmesi durumunda o suşun GSBL ürettiğine karar verilir (8,13).

BULGULAR

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemi ile denenen antibiyotiklere *K.pneumoniae* suşları için % 0-21 arasında, *E.coli* suşları için ise % 0-13 arasında direnç saptanmıştır. *K.pneumoniae* suşları için en yüksek direnç % 21 ile sefoksi-

tine, *E.coli* suşları için ise % 13 ile seftazidime aittir (Tablo 1).

Çalışmamızda 58 *K.pneumoniae* suşunun 38'inde (% 66); 94 *E.coli* suşunun ise 37'sinde (% 39) çift disk sinerji testi ile GSBL saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 1. *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlılıkları.

Antibiyotikler	<i>K.pneumoniae</i> (n:58)			<i>E.coli</i> (n:94)		
	Du	O	Di	Du	O	Di
Seftriakson	35	6	17	80	10	4
Sefotaksim	32	9	17	74	11	9
Seftazidim	36	4	18	75	6	13
Sefoksitin	34	3	21	76	11	7
Aztreonam	32	11	15	78	10	6
İmipenem	55	3	0	94	0	0
Sefoperazon	33	7	18	77	10	7

Du: Duyarlı, O: Orta derecede duyarlı, Di: Dirençli.

Tablo 2. GSBL üretimi saptanan *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarının sayı ve yüzdeleri.

	GSBL (+)	GSBL (-)
<i>K.pneumoniae</i>	38 (% 66)	20 (% 34)
<i>E.coli</i>	37 (% 39)	57 (% 61)

TARTIŞMA

Gram negatif bakteriler hastane infeksiyonlarının yaklaşık olarak yarısında etken olarak izole edilmektedir. Ülkemizde hastane infeksiyonu sıklığının % 2-12 arasında olduğu dikkate alınır, bu bakterilerin önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Araştırmalarda, *E.coli* ve *K.pneumoniae* türü bakterilerin hastane infeksiyonlarındaki izole edilme sıklığı sırası ile % 8-11 ve % 9-21 arasında bildirilmiştir (15).

GSBL oluşturan bakterilerin oranı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye, hastaneden hastaneye, hatta aynı hastane içinde çeşitli birimler arasında farklılıklar göstermektedir. GSBL enzimleri dünyada ve ülkemizde yaygın olarak bulunmaktadır. Fransa'da hastanelerden soyutlanan suşlarda % 30-40, hastane dışı suşlarda % 6 oranında GSBL oluşturan suşlar saptanmaktadır (11,16). ABD'de genel olarak *Klebsiella* türlerinin % 8'i GSBL oluşturmaktadır. Yunanistan'da *K.pneumoniae* suşlarının % 24'ünün, *E.coli* suşlarının ise % 4'ünün GSBL oluşturduğu saptanmıştır. Çeşitli birimler arasında farklılık bulunsa bile, yoğun bakım ünitelerinden soyutlanan *K.pneumoniae* suşlarında; Portekiz'de % 49, Belçika'da % 31, Fransa'da % 24, İtalya'da % 17, Hollanda'da % 16, Almanya'da % 9, İspanya'da % 1 olan GSBL oluşturma oranı ülkemizde ise % 88 gibi çok daha yüksek bir orana erişmektedir (4). Ülkemizde 1995 ile 2001 yılları arasında yapılmış olan benzer çalışmalar sonucunda ise GSBL üretme sıklığı *K.pneumoniae* suşlarında % 18-88 arasında saptanırken, *E.coli* suşlarında % 0-27 arasında belirlenmiştir (3,4,14). Çalışmamızda ise incelediğimiz *K.pneumoniae* suşlarının % 66'sında, *E.coli* suşlarının ise % 39'unda GSBL pozitifliği saptanmıştır. İncelemiş olduğumuz *E.coli* suşlarında saptanmış olduğumuz GSBL sıklığı ülkemizde bugüne dek belirlenmiş olan en yüksek değerdir. Bu sonuç son yıllarda hastane infeksiyonlarında 3. kuşak sefalosporinlere dirençli,

GSBL sentezleyen *E.coli* suşlarında hızlı bir artış olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar beta-laktam antibiyotik direncinin ülkemizde önemli bir sorun olduğunu ortaya koymaktadır. Antibiyotik kullanımı olduğu sürece, bir yandan beta-laktamaz sentezleyen suşlarda artış olacak, bir yandan da yeni beta-laktamazlar ortaya çıkacaktır. Çoğu gelişmekte olan her ülkede olduğu gibi Türkiye'de de antibiyotik kullanımının yaygınlığı ve özensizliği direnç sorununu hiç de göz ardı edilemeyecek boyuta taşımaya başlamıştır. Antibiyotiklerin kısıtlı kullanımı, her hastanenin kendi bakteriyel florası ve bunların antibiyotik direnç profillerinin bilinmesi ve buna göre antibiyotik kullanımının belirlenmesi, beta-laktamaz üretimini artıran beta-laktam grubu antibiyotiklerin yetersiz doz, süre ve gereksiz kullanımının önüne geçilmesi, antibiyogram sonuçlarının GSBL şüphesi uyandırdığı durumlarda, GSBL varlığının özel testlerle aranması ve antibiyotik kullanımı ile direnç ilişkisinin kesin olarak belirlenmesini sağlayacak çalışmaların yürütülmesi, bu enzimlere bağlı beta-laktam direncini azaltacak önlemlerden bazılarıdır.

Antibiyotiklere karşı direncin en düşük düzeye indirilebilmesi için, dirençle mücadelede kararlı adımlar atılması gereklidir. Bu mücadele, mortalite ve morbiditede azalma, hastanede kalış süresini kısaltma ve tedavi maliyetlerinde düşüşü beraber getirecektir. Sonuç olarak, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin bilinçsiz kullanılmasını önlemek amacı ile klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına büyük görev düşmektedir. GSBL üreten suşların titizlikle saptanarak klinisyenlere bildirilmesi, dirençli suşların hastane ortamında hızla yayılmasının ve hakim duruma geçmelerinin önüne geçilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Bal Ç: Beta-laktamazlar: Düünden bugüne, "Eraksoy H, Yenen OŞ (eds): *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji*" kitabında s. 259, Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, İstanbul (2000).
- 2- Cormican MG, Marshall SA, Jones R N: Detection of ESBL producing strains by the E test ESBL screen, *J Clin Microbiol* 34:1880 (1996).
- 3- Çetin BD, Gündüz A, Şensoy A, Korkmaz F, Seber E: Hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotik duyarlılık özellikleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 31:41 (2001).
- 4- Demirdağ K, Kizirgil A, Özden M, Kalkan A, Felek S, Toraman AZ: Hastane ve toplum kökenli Klebsiella pneumoniae ve Escherichia coli suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması, *ANKEM Derg* 15:748 (2001).
- 5- Gökahmetoğlu S, Eşel D, Karaca N, Sümerkan B: Klebsiella ve Escherichia coli suşlarında beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem, çift disk sinerji ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 15:98 (2001).
- 6- Gülay Z: Antimikrobiyal ilaçlara direnç, "Ustaçelebi Ş (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*" kitabında s. 91, Güneş Kitapevi, İstanbul (1999).
- 7- Gür D: Beta-laktamazlar, *Flora 2 (Ek 3):3* (1997).
- 8- Isenberg HD: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Vol 1, p. 5.1.1, American Society for Microbiology, Washington (1992).
- 9- Jacoby GA, Medeiros AA: More extended-spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 35:1697 (1991).
- 10- Kaleli İ, Özen N, Şengül M, Cehavir N, Akşit F: Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi, *ANKEM Derg* 12:442 (1998).
- 11- Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8:557 (1995).
- 12- Meyer KS, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ: Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins, *Ann Int Med* 5:353 (1993).
- 13- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Ninth Informational Supplement, M100-S9, Wayne (1999).
- 14- Özsoy MF, Pasha A, Yıldırım A, Erdemoğlu A, Emekdaş G, Öncü O: Klebsiella ve Escherichia coli suşlarında beta-laktam antibiyotiklere direnç ve "genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz" sıklığı, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 31:46 (2001).
- 15- Saniç A, Leblebicioğlu H, Nas Y: Ondokuz Mayıs Üniversitesi hastane infeksiyonları, *Mikrobiyol Bült* 30:147 (1996).
- 16- Sirot DL, Goldstein FW, Soussy, CJ, Courtieu AL: Resistance to cefotaxime and seven other beta-lactams in members of family Enterobacteriaceae; a 3 years survey in France, *Antimicrob Agents Chemother* 36:1677 (1992).