

ESCHERICHIA, KLEBSIELLA VE PROTEUS SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VARLIĞI VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ DURUMU

İpek MUMCUOĞLU*, Turan GÜNDÜZ, Hakan BAYDUR*****

* Manisa Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, MANİSA

** Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Yüksek Okulu, MANİSA

*** Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, MANİSA

ÖZET

Gram negatif çomaklarda beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen dirençten sıklıkla sorumlu tutulan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) tüm sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilen enzimlerdir. Manisa Devlet Hastanesi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif çomaklarda "çift disk sinerji testi" yöntemi ile GSBL varlığı araştırılmış ve bu suşların bazı antibiyotiklere duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmamızda hastanemizden Şubat 2001-Temmuz 2003 arasında izole edilen 94 Escherichia coli, 62 Klebsiella spp., 42 Proteus spp., olmak üzere 198 suş değerlendirilmiştir. E.coli suşlarının 19'unda (% 20), Klebsiella suşlarının 27'sinde (% 44), Proteus suşlarının 6'sında (% 14) olmak üzere toplam suşların 52'sinde (% 26) GSBL varlığı saptanmıştır. GSBL üreten suşlar, üretmeyen suşlara göre, antibiyotiklere daha dirençli bulunmuştur. GSBL pozitif suşlara en etkili antibiyotikler imipenem, siprofloksasin ve amikasin olarak belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: gram negatif bakteriler, GSBL

SUMMARY

Investigation of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Production and Antimicrobial Resistance in Escherichia, Klebsiella and Proteus Strains

Extended spectrum beta-lactamases (ESBL), which are usually responsible for resistance for beta-lactam antibiotics in Gram negative bacilli, are enzymes which can hydrolyse cephalosporins and monobactams. In Gram negative bacilli isolated from various clinical samples in Manisa Government Hospital, the presence of ESBL is investigated by the "double disk synergy test" and the sensitivity of these strains to some antibiotics is examined by the disk diffusion method. 198 strains, including 94 E.coli, 62 Klebsiella spp., 42 Proteus spp., isolated between February 2001 and July 2003 are evaluated. The presence of ESBL is detected in 19 E.coli (20 %), 27 Klebsiella spp. (44 %), and 6 Proteus spp. (14 %) strains amounting to a total of 52 of all strains (26 %). ESBL producers are found more resistant to antibiotics than non-producers. The most effective antibiotics to ESBL positive strains were found as imipenem, ciprofloxacin and amikacin.

Key words: ESBL, gram negative bacilli

Yazışma adresi: Turan Gündüz. Merkez Efendi Mah. 8 Eylül Cad. 197/3, MANİSA

Tel.: (0536) 339 86 88

e-posta: turankamer@yahoo.com

Alındığı tarih: 10.10.2003, revizyon kabulü: 23.12.2003

GİRİŞ

Yeni kuşak beta-laktam antibiyotiklere karşı Gram negatif bakterilerde görülen direnç tüm dünyada ve ülkemizde hızla artmaktadır⁽⁸⁾. Bakteriler bu grup antibiyotiklere en sık beta-laktamaz enzimlerini üreterek direnç geliştirirler. Bu enzimler kromozomal veya plazmid kökenli olabilirler ve kolaylıkla yayılabilirler⁽¹⁶⁾. Bu direnç genlerinin seçilmesi ve yayılması için en uygun yer antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı hastanelerdir⁽⁵⁾. GSBL oluşturan suşlarla hastane infeksiyonu epidemileri oluşabilmekte ve bu suşlar genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavide sorunlar yaşanabilmektedir⁽²⁾. Çift disk sinerji testi, GSBL varlığını belirlemek için kullanılan uygulaması kolay ve maliyeti düşük bir tarama testidir⁽¹⁵⁾. Bu çalışmanın amacı çift disk sinerji tarama testini hastanemizde rutin kullanıma sokarak GSBL üreten suşların saptanmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kültürü yapılmak üzere laboratuvara gönderilen çeşitli klinik örnekler % 5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Mavis (EMB) agar besiyerlerine ekilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteriler klasik mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanmıştır. Suşların antibiyotiklere olan duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile denenmiş ve sonuçlar NCCLS önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir⁽¹⁵⁾. GSBL varlığı çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır⁽¹²⁾. Çift disk sinerji testinde merkeze amoksisilin-klavulanik asit (20/10 µg), çevreye merkezden merkeze uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim veya seftriakson diskleri yerleştirilmiştir. Son iki diskin inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit diskine bakan tarafında belirgin bir genişleme ya da iki diskin arasında bir inhibisyon alanı varsa bakterinin GSBL ürettiği kabul edilmiştir. İnhibisyon zonu oluşmadığında veya küçük zon oluştuğunda disk aralıkları 20 mm’ye düşürülmüş, zon çapları büyük olduğunda ise 40 mm’ye çıkarılmıştır⁽¹⁾. Çalışmamızda 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama dirençli oldukları halde sefoksitine duyarlı olan suşlar (>12 mm) ve seftazidime dirençli suşlar GSBL üreten suşlar olarak kabul edilmişlerdir⁽¹¹⁾. Bulgular Epi-İnfo 6.0 paket programında analiz edilmiştir.

BULGULAR

Şubat 2001-Temmuz 2003 tarihleri arasında izole edilen 94 *E.coli*, 62 *Klebsiella* spp., 42 *Proteus* spp. olmak üzere 198 suş çalışmaya alınmıştır. Bu suşların 52’sinde (% 26) GSBL varlığı saptanmıştır. GSBL pozitifliğinin suşlara göre dağılımı tablo 1’de ve bu suşların antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1: GSBL oluşturan suşların dağılımı.

Bakteri	Sayı	GSBL +	
		n	%
<i>E.coli</i>	94	19	20
<i>Klebsiella</i> spp.	62	27	44
<i>Proteus</i> spp.	42	6	14
Toplam	198	52	26

Çalışmamızda GSBL pozitif suşlar negatif suşlara göre amikasin (p<0.05), aztreonama (p<0.01), kloramfenikole (p<0.01) ve trimetoprim-sulfametoksazole (p<0.001) daha yüksek oranda dirençli bulunmuştur. Sefoksitine (p>0.05) ve siprofloksasine (p>0.05) ise GSBL pozitif veya negatif olması direnci etkilememiştir. Çalışılan suşlarda imipeneme direnç gözlenmemiştir (Tablo 2).

Tablo 2: GSBL oluşturan ve oluşturmeyen suşlarda çeşitli antibiyotiklere direnç durumu.

Antibiyotik	GSBL (+) n=52 %	GSBL (-) n=146 %	p
Amikasin	5.8	0	p<0.05*
Aztreonam	28.8	11	p<0.01**
Kloramfenikol	61.5	39.7	p<0.01**
İmipenem	0	0	---***
Sefoksitin	28.8	19.2	p>0.05**
Siprofloksasin	5.8	3.4	p>0.05**
Trimetoprim-sulfametoksazol	80.8	54.8	p<0.001**

* Ki-kare Fisher

** Ki-kare Pearson

*** Her iki grupta direnç % 0 olarak bulunduğu için test edilememiştir

TARTIŞMA

Geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler bakterisid etkili olması ve yan etkilerinin az olması nedeniyle klinisyenler tarafından oldukça sık kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak bu ilaçların klinikteki kullanımı arttıkça bu antibiyotiklere karşı özellikle beta-laktamazlara bağlı direnç de artmaya başlamıştır. En çok GSBL üreten mikroorganizmaların *Enterobacteriaceae* ailesinden olduğu ve birçok üyelerinin GSBL ürettiği bilinmektedir⁽¹⁴⁾. Rutin disk difüzyon testleriyle GSBL varlığı gösterilemediğinden tedavide problemler ortaya çıkmaktadır. GSBL varlığının çift disk sinerji yöntemiyle gösterilmesi tedavi için yol gösterici olmaktadır.

Yapılan çalışmalarda bölgeye ve ülkeye göre *Enterobacteriaceae* içinde GSBL üreten bakterilerin oranının % 1-74 arasında değiştiği bildirilmektedir. Ho ve ark.⁽¹⁰⁾ *E.coli* suşlarının

% 11'inde, *Klebsiella* suşlarının ise % 13'ünde GSBL saptamışlardır. De Champs ve ark.⁽³⁾ *Enterobacter* suşlarında % 30, *Proteus* suşlarında % 20 oranında GSBL saptamışlardır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Gülay ve ark.⁽⁷⁾ *E.coli* için % 17, *Klebsiella* spp. için % 45; Esen ve ark.⁽⁴⁾ *E.coli* için % 12.9, *Klebsiella* spp. için % 32.5; Geyik ve ark.⁽⁵⁾ *Klebsiella* spp. için % 45, *E.coli* için % 32, *Enterobacter* için % 27, *Proteus* spp. için % 14 oranında GSBL bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise GSBL varlığı *E.coli* için % 20, *Klebsiella* spp. için % 44, *Proteus* spp. için % 14 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda GSBL pozitif suşların negatif suşlara göre antibiyotiklere genellikle daha yüksek oranda dirençli olduğu tesbit edilmiştir. GSBL negatif ve pozitif kökenlerde amikasin, aztreonam, kloramfenikol, imipenem, sefoksitin, siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Bu antibiyotiklere GSBL pozitif suşların direnci sırasıyla % 5.8, % 28.8, % 61.5, % 0, % 28.8, % 5.8, % 80.8 olarak, GSBL negatif suşların direnci ise sırasıyla % 0, % 11, % 39.7, % 0, % 19.2, % 3.4, % 54.8 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda en etkili antibiyotikler olarak amikasin, imipenem ve siprofloksasin bulunmuştur. Kocazeybek⁽¹³⁾ de imipenem, amikasin ve siprofloksasinin en etkili antibiyotikler olduğunu bildirmiştir. Gürdoğan ve ark.⁽⁹⁾'nın yaptığı çalışmada en etkili antibiyotikler olarak ofloksasin, imipenem, amikasin ve sefepim bildirilirken, Gülay ve ark.⁽⁶⁾ imipenem, gentamisin, siprofloksasinin en etkili antibiyotikler olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlarla hastanemiz sonuçlarının benzer olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni birçok hastanede olduğu gibi hastanemizde de beta-laktam antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmasıdır. Bu da GSBL üreten suşların ortamda yoğunlaşmasına ve yayılmasına neden olmaktadır. Bu direncin rutin antibiyogramda gösterilememesi tedavide sorunlara da neden olmaktadır. Çalışmamızda çift disk sinerji testi rutinde tarama testi olarak uygulanarak dirençli suşlar saptanmış ve hastanemizde ampirik tedavide kullanılacak en uygun antibiyotikler belirlenmiştir. Bununla birlikte GSBL oranlarının daha doğru şekilde belirlenebilmesi ve GSBL üreten suşların daha duyarlı şekilde saptanabilmesi için çift disk sinerji testi yanında, NCCLS tarafından önerilen standart testler⁽¹⁵⁾ veya E-test⁽¹³⁾ kullanılması düşünülmelidir.

KAYNAKLAR

- Bal Ç: Antibiyotik duyarlılık testlerinde yanlış yönlendirici sonuçlar, "5. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler" kitabında s.72, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.41, İstanbul (2002).
- Bermudes H, Arpın C, Jude F, El-Harifi Z, Bebear C, Quentin C: Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in a French hospital, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997;16:523.
- De Champs C, Bonnet R, Sirot D, Chanal C, Sirot J: Clinical relevance of *Proteus mirabilis* in hospital patients: A two year survey, J Antimicrob Chemother 2000;45:537-9.
- Esen Ş, Eroğlu C, Sünbül M, Leblebicioğlu H: *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında TEM ve SHV türü beta-laktamaz sıklığı, Mikrobiyol Bül 2001;35:37-43.
- Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Uçmak H, Çelen MK, Hoşoğlu S, Ayaz C: Hastane kaynaklı gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, Enfeksiyon Derg 2002;16:175.
- Gülay Z, Atay T, Esen N, Biçmen M, Çetintepe L, Ocak B, Yuluğ N: Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarının moleküler epidemiyolojisi, 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı s.396, Antalya (2000).
- Gülay Z, Yüce A, Yuluğ N: *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında değişik beta-laktamaz inhibitörleri kullanılarak genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin saptanması, ANKEM Derg 1998;12:469.
- Günaydın M, Esen Ş, Saniç H, Leblebicioğlu H: Hastane infeksiyonları, SİMAD Yayınları, Vol.1, s.191-299, Samsun (2002).
- Gürdoğan K, Arslan H, Nazlıer S: Hastane kökenli ve hastane dışı *E.coli*'lerde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz araştırılması ve izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı, Poster no.12-233, Antalya (1998).
- Ho PL, Tsang DN, Que TL, Ho M, Yuen KY: Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among *E.coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong, APMIS 2000;108:237-240.
- Jarlier V, Nicholas MH, Fournier G, Philippon A: Extended spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns, Rev Infect Dis 1988;10:867-878.
- Kaleli İ, Özen N, Şengül M, Cevahir N, Akşit F: Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemiyle belirlenmesi, ANKEM Derg 1998;12:442-6.
- Kocazeybek BS: Antimicrobial resistance surveillance of gram negative bacteria isolated from intensive care units of four different hospitals in Turkey. Evaluation of the prevalence of extended spectrum and inducible beta-lactamases using different E-test strips and direct induction methods, Chemotherapy 2001;47:396.
- Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, Clin Microbiol Rev 1995;8:557-84.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, NCCLS Document, sixth ed., Approved Standard M2-A5 (M100-S7), Wayne (2002).
- Philippon A, Labia R, Jacoby G: Extended spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:1131-6.