

HASTANE KÖKENLİ GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZLAR

Mustafa Kemal ÇELEN, Celal AYAZ, Mehmet Faruk GEYİK, Salih HOŞOĞLU, Mehmet ULUĞ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

ÖZET

Dicle Üniversitesi Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Merkez laboratuvarında iki yıllık sürede (2003-2004) değişik klinik örneklerden soyutlanan ve Centers for Disease Control kriterlerine göre hastane infeksiyonu etkeni olarak kabul edilen 182 Gram negatif bakteride genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) oluşturma E-test yöntemi ile araştırılmıştır. Klebsiella spp.'de 24/51 (% 47), Escherichia coli'de 14/42 (% 33), Pseudomonas spp.'de 13/39 (% 33), Acinetobacter spp.'de 4/17, Enterobacter cloacae'de 4/15, Proteus spp.'de 2/11, Serratia marcescens'de 1/3 oranında GSBL saptanmış, 4 Citrobacter freundii'de GSBL saptanmamıştır. 2001 yılında hastanemizde Gram negatif çomaklarda % 31 olan GSBL oluşturma bu çalışmada da % 34 (62/182) olarak belirlenmiş olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0.05). Özellikle rasyonel olmayan antibiyotik kullanımı ciddi hastane infeksiyonlarına yol açacak dirençli bakterileri öne çıkarmaktadır. Bu önemli sorun, kontrollü antibiyotik kullanımını sağlayacak stratejilere gereksinim olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: E-test, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, Gram negatif bakteriler, rasyonel antibiyotik kullanımı

SUMMARY

Extended-spectrum Beta-lactamases in Gram-negative Bacilli Isolated from Nosocomial Infections

Hundred and eighty-two Gram negative bacterial strains isolated in Dicle University Hospital, Infectious Diseases Laboratory and Central Laboratory in two-years period (2003-2004) and assessed as the etiological agents in nosocomial infections according to the Centers for Disease Control criteria were investigated for extended-spectrum beta-lactamase production (ESBL). ESBL production was detected in 24 of 51 (47 %) Klebsiella spp., in 14 of 42 (33 %) Escherichia coli, in 13 of 39 (33 %) Pseudomonas spp., in 4 of 17 Acinetobacter spp., in 4 of 15 Enterobacter cloacae, in 2 of 11 Proteus spp., in 1 of 3 Serratia marcescens and in none of 4 Citrobacter freundii strains. The total number of ESBL producing strains was 62 in 182 (34 %). This ratio was 31 % in the year 2001 (p>0.05). Infections with ESBL producing organisms can pose a therapeutic challenge; leading to treatment failure when wrong class of antibiotics are used. As a result it is very important that each hospital should create their rational antibiotic management strategies.

Keywords: E-test, extended-spectrum beta-lactamase activity, Gram negative bacteria, rational antibiotic use

Yazışma adresi: Mustafa Kemal Çelen, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

Tel.: (0412) 248 84 40, (0533) 620 70 22

e-posta:mkcelan@hotmail.com

Alındığı tarih: 08.02.2006, revizyon kabulü: 27.09.2006

*15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases'de sunulmuştur (2-5 Nisan 2005, Copenhagen)

GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı artan direnç sorunu bütün dünyayı tehdit etmektedir. Global bir sorun haline dönüşen direnç, Gram negatif bakterilerde (GNB) özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı ile kendini göstermektedir. Özellikle hastane kaynaklı infeksiyonlarda baskın olarak bulunabilen bu enzimlerin yaygınlığı ve hızla yayılımı tüm dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde rasyonel olmayan antibiyotik kullanımı ve kişisel hijyen kurallarına uyulmaması nedeniyle direnç sorunu gittikçe artmaktadır⁽³⁾. Bakteriler arasında GSBL kodlayan plazmitlerin kolayca geçiş yapabilmesi ve bu suşların ileriki dönemde çoğul direnç genlerine sahip plazmitleri biriktirmesi sonucunda hastane kaynaklı infeksiyonların direncinde GSBL türleri çok önemli bir yer tutmaktadır⁽¹³⁾. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlar başta seftazidim olmak üzere geriye kalan tüm üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonama karşı direnç geliştirirler. Bu suşlar değişik mekanizmalarla piperasilin, mezlosilin, kinolon ve aminoglikozidlere karşı da direnç geliştirebilmektedir. Ancak genellikle karbapenem türevlerine duyarlı bulunurlar⁽⁶⁾. *Klebsiella* ve *Escherichia coli* suşları GSBL üreten en önemli suşlardır. Hastane kaynaklı klinik örneklerden üretilen bu bakterilerde GSBL üretiminin test edilmesi önerilmektedir⁽¹⁶⁾. E-test, başta *Klebsiella* ve *E.coli* olmak üzere Gram negatif enterik bakterilerde GSBL belirlemesi için de standart ve kabul edilebilir bir yöntemdir⁽¹⁷⁾.

Gram negatif bakteri suşlarının GSBL oranı Türkiye’de son beş yıl içerisinde artış göstermiştir. Daha önce hastanemizdeki Geyik ve ark.⁽⁶⁾’nın yapmış oldukları çalışmada hastane kaynaklı Gram negatiflerde GSBL oranı % 31 olarak bulunmuştur. Bu nedenle rasyonel olmayan antibiyotik kullanımının yoğun olduğu hastanemizde GSBL oranının güncellenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz bölgesel düzeyde hizmet veren 1050 yataklı bir üniversite hastanesidir. Bu çalışmaya, Dicle Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarı ve Merkez laboratuvarında 2003-2004 yıllarında değişik klinik örneklerden etken olarak üretilen, Centers for Disease Control kriterlerine göre hastane infeksiyonu etkeni olarak kabul edilen GNB’ler dahil edilmiştir⁽¹⁾. Yanık ünitesi, Onkoloji kliniği, Hematoloji kliniği, Yoğun bakım ünitesi, Beyin cerrahisi kliniği, Jinekoloji ünitesi, Endokrinoloji kliniği, Pediatri kliniği, Üroloji kliniği ve Nefroloji kliniğinde yatan hastalardan yatışından en az 48 saat sonra İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji asistanları tarafından alınan çeşitli klinik örnekler çalışma kapsamına alınmıştır. Aynı hastadan

üreten tekrarlayan suşlar çalışma dışı bırakılmıştır. İzole edilen bakterilerin identifikasyonu için Vitek® (bioMérieux®, France) otomatize kültür antibiyogram sistemi kullanılmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması için McFarland 0.5 standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agar besiyerine yayıldıktan sonra bir tarafında seftazidim diğer tarafında seftazidim+klavulanat bulunan E-test şeritleri (AB Biodisk®) her besiyerine birer tane olacak şekilde yerleştirilip 35°C’de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri okunmuştur. E-test ile seftazidim MİK değerinin seftazidim+klavulanat MİK değerine oranının sekiz veya daha fazla olması GSBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir⁽⁷⁾. Yöntemin *Enterobacteriaceae* dışındaki türlerde (örneğin *Paeruginosa*’da) GSBL için güvenilir olmadığına dair yayınlar varsa da⁽¹⁵⁾, asıl amacımız iki dönemde izole edilen suşlarda alınan sonuçların karşılaştırılması olduğundan, ilk çalışmada kullanılan ve başka araştırmalarda da kullanılmış olan^(19,21) yöntem kullanılmış ve tabloda 2001 yılına ait suşlarla alınan GSBL pozitiflik oranları da gösterilmiştir.

BULGULAR

Hastane kaynaklı infeksiyon etkeni olarak izole edilen GNB’lerin sayısı ve oranı, bu bakterilerde GSBL oluşturan suş sayıları ve oranları tabloda gösterilmiştir. Nozokomiyal infeksiyon etkenleri olarak klinik örneklerden en sık izole edilen 182 GNB’nin dağılımı *Klebsiella* spp. % 28, *Escherichia coli* % 23, *Pseudomonas* spp. % 21, *Acinetobacter* spp. % 9, *Enterobacter cloacae* % 8, *Proteus* spp. % 6, *Citrobacter freundii* % 2 ve *Serratia marcescens* % 2 olarak bulunmuştur. *Klebsiella* suşlarında % 47, *E.coli*, *Pseudomonas* spp. ve *S.marcescens* suşlarında % 33, *E.cloacae* suşlarında % 27, *Acinetobacter* suşlarında % 24, *Proteus* spp. suşlarında % 18 GSBL pozitifliği saptanmış, 4 *C.frendii* suşunda pozitif sonuç alınmamıştır. Laboratuvarımızda 2001 yılına ait suşlarla aynı yöntem kullanılarak alınan sonuçlarla bu çalışmadaki sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo: Hastane kaynaklı infeksiyon etkeni bakteriler ve GSBL oluşturmaları.

Bakteri	İzole edilen ^x		GSBL oluşturan ^x		2001 yılında GSBL pozitifliği ⁽⁶⁾ (%) ^{xx}
	n	(%)	n	(%)	
<i>Klebsiella</i> spp.	51	(28)	24	(47)	(45)
<i>Escherichia coli</i>	42	(23)	14	(33)	(32)
<i>Pseudomonas</i> spp.	39	(21)	13	(33)	(13)
<i>Acinetobacter</i> spp.	17	(9)	4	(24)	(22)
<i>Enterobacter cloacae</i>	15	(8)	4	(27)	(27)
<i>Proteus</i> spp.	11	(6)	2	(18)	(14)
<i>Citrobacter freundii</i>	4	(2)	0	(0)	(0)
<i>Serratia marcescens</i>	3	(2)	1	(33)	(0)
Toplam	182		62	(34)	(31)

^x Bu çalışmada 2003-2004 yılına ait suşlarla alınan sonuçlar

^{xx} Aynı laboratuvarında ve aynı yöntemle 2001 yılına ait suşlarla alınan sonuçlar. Mukayese amacı ile konmuştur ve farkların hepsi anlamsızdır (p>0.05).

TARTIŞMA

Nozokomiyal infeksiyon etkeni Gram negatif bakteriler arasında giderek artan direnç, önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Plazmid kontrolünde olan TEM ve SHV enzimleri penisilinleri ve seftazidim başta olmak üzere üçüncü kuşak sefalosporinlerin çoğunu yıkmaktadır. Yeni sefalosporinlere dirençli ilk GSBL 1983 yılında Almanya'dan bildirilmiştir⁽¹¹⁾.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, mikrobiyolojik olarak oksiminio sefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe edilebilen enzimler olarak tanımlanmaktadır⁽²⁾. Çoğu GSBL, enterik Gram negatif bakterilerin klasik plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'den köken almaktadır. Köken olan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ila dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL'ler oluşur⁽¹⁴⁾.

Klebsiella ve *E.coli* suşlarında GSBL pozitifliği dünyanın her yerinden sıklıkla bildirilmesine rağmen GSBL üreten bu suşların bölgesel sıklığı oldukça değişkendir. Birçok laboratuvar rutin olarak GSBL taraması yapılmamakta ve rutin yöntemler ile GSBL pozitif suşlar her zaman yakalanmamaktadır⁽¹⁰⁾. Ekonomik düzeyi ve sağlık hizmeti kalitesi daha düşük olan ülkelerde yapılan çalışmalarda GSBL oranı daha yüksek bildirilmektedir. Bu ülkelerde görülen yüksek GSBL oranı morbiditeyi, mortaliteyi ve sağlık maliyetini artırmaktadır. GSBL üreten suşların çoğunluğu yatan hastalardan izole edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde daha sık olmak üzere, özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan, immün yetmezliği olan, yanık ünitelerinde yatan ve kanserli hastalar yüksek riskli grubu oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Avrupa ülkelerinin bir kısmında GSBL üreten bakterilerin oranı % 1 civarında olup henüz önemli bir problem oluşturmamaktadır⁽¹⁹⁾.

Klebsiella spp. ve *E.coli* en sık GSBL oluşturan bakterilerdir. Çin'de hastane kaynaklı 1017 bakterinin incelendiği geniş serili bir çalışmada; *Klebsiella* spp. ve *E.coli* suşlarında GSBL pozitifliği sırasıyla % 46 ve % 35 olarak saptanmıştır⁽⁵⁾. Suudi Arabistan'da kan kültüründen izole edilen 601 Gram negatif enterik çomakta GSBL varlığı araştırılmış, 95'inde (% 16) GSBL pozitifliği saptanmıştır. Suşların büyük bir çoğunluğunu (% 49) *Klebsiella* spp. oluşturmuştur⁽⁴⁾. Batı ve Güney Avrupa ülkelerinde 35 yoğun bakım ünitesini kapsayan bir çalışmada *Klebsiella* suşlarında GSBL pozitifliği 1994 yılında % 23, 1997-98 döneminde ise % 25 olarak bulunmuştur^(18,20). Hastanemizde 2001 yılını kapsayan bir çalışmada *Klebsiella* suşlarında GSBL pozitifliği % 45⁽⁶⁾, bu çalışmada da % 47 olarak bulunmuştur (p>0.05).

Türkiye'de GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarının özellikle hastane infeksiyonlarında antibiyotik direncinin en önemli nedeni olduğu bilinmektedir. Gür ve ark.^(8,9)'nın

yapmış olduğu çalışmalarda GSBL üreten suşların % 25'lere vardığı ifade edilmiştir. Türkiye'de bir kardiyoji yoğun bakım ünitesinde yapılan çalışmada izole edilen *Klebsiella* spp. ve *E.coli* bakterilerinin çoğunlukta olduğu 367 suşta GSBL pozitifliği % 21 olarak saptanmıştır⁽¹²⁾. Çalışmamızda ise GSBL pozitifliği % 34 olarak saptanmıştır. Hindistan'da yapılan bir çalışmada değerlendirilmeye alınan 50 *Pseudomonas* spp. suşunun 18'inde (% 36) GSBL pozitifliği tespit edilmiştir⁽¹⁹⁾. Bu oran çalışmamızda % 33 olarak saptanmıştır.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Gram negatif çomaklarda GSBL pozitifliğini gösteren, Geyik ve ark.⁽⁶⁾'nın çalışmasında GSBL pozitifliği % 31 olarak saptanmıştır. Hastanemizde rasyonel olmayan antibiyotik tüketimi ve özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerin yüksek oranda kullanılmasına bağlı olarak⁽³⁾, GSBL pozitifliği bu çalışmada da yüksek (% 34) bulunmuştur. Bu iki çalışmanın değerlendirilmesinde göze çarpan noktalardan biri GSBL üreten *Pseudomonas* spp. suşlarında Geyik ve ark.⁽⁶⁾'nın çalışmasındaki oran % 13 iken bu çalışmada % 33'e yükselmiştir. Ancak suş sayılarının azlığı nedeniyle bu fark istatistik olarak anlamsız kalmaktadır. Bunun dışında diğer Gram negatiflerde GSBL pozitifliği benzer bulunmuştur. Bu iki çalışmada GSBL pozitifliği yüzdesel olarak artmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu durum suş sayısının az olması, ya da rasyonel olmayan antibiyotik kullanımının devam etmesi ile ilişkili olabilir. Sağlık Bakanlığının özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımına getirdiği sınırlama ve doğru antibiyotik kullanımı konusunda yapılan eğitim programları sayesinde GSBL oranının önümüzdeki yıllarda azalması beklenebilir.

KAYNAKLAR

1. Akalın HE: CDC nosokomial infeksiyon tanımları, "Akalın HE (ed.): Hastane İnfeksiyonları" kitabında s.251-66, Güneş Kitabevi, Ankara (1993).
2. Bradford PA: Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important threat, Clin Microbiol Rev 2001;14(4):933-51.
3. Çelen MK, Hoşoğlu S, Geyik MF, Akalın Ş, Ayaz C: Dicle Üniversitesi Hastanesi'ndeki antibiyotik tüketimi indeksi ve geliştirilen kontrollü antibiyotik kullanımının etkileri, Flora 2005;10(4):180-4.
4. El-Khizzi NA, Bakheshwain SM: Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae isolated from blood culture in a tertiary care hospital, Saudi Med J 2006;27(1):37-40.
5. Geng SN, Rui YY, Wang Q, Mou CH, Zhou XH, Zhang J: Analysis of drug resistance spectrum and its mechanism in 1017 clinical bacterial isolates, Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2005;25(12):1529-32, 1545.
6. Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Uçmak H, Çelen MK, Hoşoğlu S, Ayaz C:

- Hastane kaynaklı Gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, *İnfeksiyon Derg* 2002;16(2):175-8.
7. Gökahmetoğlu S, Eşel D, Karaca N, Sümerkan B: Klebsiella ve E.coli suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem, çift sinerji ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 2001;15(1):98-102.
 8. Gür D, Akalın HE, Baykal M: Gram negatif bakterilerin yeni kuşak cefalosporin'lere direnç oranı ve bu dirençte beta-laktamazların rolü, *Mikrobiyol Bült* 1988;22(3):193-8.
 9. Gur D, Pitt TL, Hall LM, Akalın HE, Livermore DM: Diversity of klebsiellae with extended-spectrum beta-lactamases at a Turkish university hospital, *J Hosp Infect* 1992;22(2):163-7.
 10. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA: Detection of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains producing extended-spectrum beta-lactamases, *J Clin Microbiol* 1994;32(3):691-6.
 11. Knothe GP, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S: Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of K.pneumoniae and Serratia marcescens, *Infection* 1983;11(6):315-7.
 12. Kucukates E: Antimicrobial resistance among Gram-negative bacteria isolated from intensive care units in a Cardiology Institute in Istanbul, Turkey, *Jpn J Infect Dis* 2005;58(4):228-31.
 13. Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 1995; 8(4):557-84.
 14. Livermore DM: Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control, *J Antimicrob Chemoter* 1998;41(Suppl D):25-41.
 15. Livermore DM, Brown DFJ: Detection of beta-lactamase-mediated resistance, *J Antimicrob Chemoter* 2001;48(Suppl 1):59-64.
 16. Marra AR, Pereira CA, Castelo A et al : Health and economic outcomes of the detection of Klebsiella pneumoniae-produced extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in a hospital with high prevalence of this infection, *Int J Infect Dis* 2006;10(1):56-60.
 17. Navon-Venezia S, Leavitt A, Ben-Ami R et al: Evaluation of an accelerated protocol for detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacilli from positive blood cultures, *J Clin Microbiol* 2005; 43(1):439-41.
 18. Palucha A, Mikiewicz B, Hryniewicz W, Gniadkowski M: Concurrent outbreaks of extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms of the family Enterobacteriaceae in a Warsaw hospital, *J Antimicrob Chemoter* 1999;44(4):489-99.
 19. Pandey A, Malenic R, Asthana AK: Beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in hospitalized patients, *Indian J Pathol Microbiol* 2005;48(4):530-3.
 20. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA et al: Multiple antibiotic-resistant Klebsiella and Escherichia coli in nursing homes, *JAMA* 1999;281(6):517-23.
 21. Zarakolu P, Metan G, Haşçelik G, Akova M: Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanmasında farklı fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bült* 2005;39(3):265-72.