

# HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ KLEBSIELLA SPP. VE ESCHERICHIA COLI SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI\*

Gülçin BAYRAMOĞLU<sup>1</sup>, Adil KARADAĞ<sup>1</sup>, Yavuz UYAR<sup>1</sup>,  
Abdullah GÜVENLİ<sup>1</sup>, Murat GÜNAYDIN<sup>1</sup>, Hakan LEBLEBİCİOĞLU<sup>2</sup>

## ÖZET

Nozokomiyal suşlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)'lara bağlı direnç çoğu kez rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde tanınmaz ve bakterinin taşıdığı potansiyel tehlike anlaşılabilir. Bakterilerde GSBL'ye bağlı direnci saptayabilmek amacıyla antibiyogramda özel testlerin yapılması ve yorumlamayı sağlayacak şekilde disk diziliminin uygulanması gereklidir. Bu çalışmada, hastanemizin farklı servislerinde yatan hastalardan izole edilen 284 *Escherichia coli* ve 204 *Klebsiella* suşunda GSBL oluşturma çift disk sinerji yöntemi (ÇDSY) ile araştırılmıştır. ÇDSY'de seftazidim, seftriakson, sefepim, sefotaksim ve aztreonam diskleri, amoksisilin-klavulanik asit diskinde merkezleri arasındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sonuçta 284 *E. coli* kökeninin 16'sında (% 5.6), 204 *Klebsiella* suşunun 67'sinde (% 32.8) GSBL üretimi saptanmıştır. GSBL pozitifliğine, daha fazla antibiyotik kullanılan, uzun süre yatan hastaların bulunduğu bölümlerde, özellikle de pediatri servislerinde daha sık rastlanmıştır.

## SUMMARY

*Investigation of extended spectrum beta-lactamases in Klebsiella spp. and Escherichia coli strains as agents of nosocomial infection.*

Resistance due to extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in the nosocomial strains usually cannot be detected in routine antibiogram tests and their potential risks may not be comprehended. Special antibiogram tests and disk arrangement enabling interpretive reading should be applied to detect the resistance due to the ESBL production. In this study, ESBL production was investigated by double disk synergy method (DDSM) in 284 *E.coli* and 204 *Klebsiella* strains isolated from hospitalized patients in different units. Ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, cefotaxime and aztreonam disks were placed 25 mm (center to center) from the amoxicillin-clavulanic acid disk in DDSM. ESBL production was positive in 16 (5.6 %) of 284 *E.coli* and in 67 (32.8 %) of 204 *Klebsiella* strains. ESBL positivity was more frequently determined at the units where antibiotics were used more often and hospitalization period was longer. Pediatric units took the first row in this respect.

\* 16. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (4-9 Haziran 2001, Antalya).

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1-Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2- İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

## GİRİŞ

Son yıllarda hastane epidemilerine yol açan *Klebsiella* ve *Escherichia coli* suşlarında üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı dirençte artış gözlenmeye başlanmıştır. Bu direnç, bakterilerde plazmid kontrolünde sentezlenen genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) ile oluşmakta ve bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır. GSBL'ler tüm üçüncü kuşak sefalosporinlere, monobaktamlara ve geniş spektrumlu penisilinlere direnç gelişmesine neden olmaktadır. TEM-1, TEM-2 veya SHV-1 beta-laktamazlardan 1-4 aminoasit değişikliği ile ortaya çıkan bu enzimleri aşırı sentezleyen izolatlar, beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara da direnç gösterebilmektedir (8,12). GSBL'lere bağlı direnç rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde her zaman tanınamamakta, bu nedenle tedavi başarısız olmakta ve dirençli suşlar seleksiyona uğrayarak ortama hakim olmaktadır (3). Ayrıca bu dirençli suşlarla oluşan hastane infeksiyonlarının tedavisinde sorunlar yaşanabilmekte ve mortalite daha yüksek olmaktadır (3,14). Bu nedenle bu enzimi sentezleyen suşların rutin laboratuvarlarda uygun yöntemlerle araştırılması ve klinisyene bildirilmesi gerekmektedir (8,9,11,13). Çift disk sinerji metodu (ÇDSM) bu enzimi sentezleyen suşların saptanmasında önerilen pratik ve ucuz yöntemlerden biridir (2,10,13).

Bu çalışmada, çeşitli servislerden gelen, değişik klinik örneklerden izole edilen ve hastane infeksiyonu etkeni tanısı almış *Klebsiella* spp. ve *E.coli* suşlarında ÇDSM ile GSBL sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 2000 yılı içinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde hastane infeksiyonu tanısı alan hastalara ait çeşitli klinik örnekler dahil edilmiştir. Örnekler % 5 koyun kanlı agar ve Eozin Methylene Blue (EMB) agar besiyerlerine ekilmiş ve 24-48 saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Üreyen bakteriler klasik yöntemler ve API ID-32E (Bio Merieux) sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. Tanımlanan 284 *E.coli* ve 204 *Klebsiella* suşu çalışmaya alınmıştır. Bu suşlarda GSBL aktiviteleri ÇDSM ile araştırılmıştır. Bu amaçla Mueller Hinton (Difco) besiyerine McFarland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan yüzeyel ekimler yapılmıştır. Besiyerinin ortasında amoksisilin-klavulanik asit (AMC-20/10 mg) diski olacak şekilde 25 mm (merkezden merkeze) aralıklı olarak seftazidim (CAZ-30 mg), seftriakson (CRO-30 mg), sefepim (FEP-30 mg), sefotaksim (CTX-30 mg) ve aztreonam (ATM-30 mg) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 16-18 saat inkübasyondan sonra CAZ, CRO, FEP, CTX veya ATM diski çevresindeki inhibisyon zonu- nun AMC diskine bakan yüzünde belirgin olarak genişleme olması sinerji varlığı ve GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir (2,3,5,10).

## BULGULAR

ÇDSM kullanılarak incelenen 284 *E. coli* suşunun 16'sında (% 5.6), 204 *Klebsiella* suşunun 67'sinde (% 32.8) GSBL üretimi saptanmıştır. GSBL oluşturan bakterilerin servislere göre dağılımı tabloda verilmiştir. GSBL pozitifliği, daha fazla antibiyotik kullanılan, uzun süre yatan hastaların olduğu bölümlerde, özellikle de pediatri servislerinde daha sık saptanmıştır.

Tablo. Servislere göre Klebsiella ve E. coli suşlarındaki GSBL oranları.

Servisler	E.coli (n=284)		Klebsiella (n=204)	
	GSBL (+) n (%)	GSBL (-) n (%)	GSBL (+) n (%)	GSBL (-) n (%)
Yenidoğan servisi	-	6 (100.0)	10 (62.5)	6 (37.5)
Pediyatrik infeksiyon	4 (28.6)	10 (71.4)	12 (52.2)	11 (47.8)
Pediyatrik cerrahi	3 (13.6)	19 (86.4)	9 (47.4)	10 (52.6)
Pediyatrik yoğun bakım	3 (17.6)	14 (82.4)	9 (45.0)	11 (55.0)
Cerrahi servisler	3 (2.6)	111 (97.4)	18 (33.3)	36 (66.7)
Yoğun bakım ünitesi	1 (20.0)	4 (80.0)	2 (20.0)	8 (80.0)
Dahili servisler	2 (1.9)	104 (98.1)	7 (11.3)	55 (88.7)
Toplam	16 (5.6)	268 (94.4)	67 (32.8)	137 (67.2)

## TARTIŞMA

GSBL sentezleyen mikroorganizmalar ile kolonizasyon veya infeksiyon oluşmasında, yoğun bakım biriminde bulunmak, yakın tarihte ameliyat geçirmiş olmak, instrumentasyon, hastanede kalış süresinin uzaması, antibiyotik ile özellikle geniş spektrumlu beta-laktamlar ile karşılaşmış olmak risk oluşturmaktadır (4,7,14). Beta-laktamaz üreten bakterilerin seleksiyonunda en önemli faktörün beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanımları olduğu bilinmektedir (10,16). Bu nedenle GSBL sıklığı antibiyotik kullanım özelliklerine bağlı olarak ülkeler, hastaneler, hatta aynı hastane içindeki farklı klinikler arasında da değişiklikler gösterebilmektedir (14,16). Örneğin Avrupa'da yoğun bakım ünitelerinden soyutlanan *Klebsiella* suşlarında GSBL oranı % 20-25, Fransa'da % 30-40 bulunmuştur (10,16). Ülkemizde ise bu oran çok daha yüksektir. 1996 yılında Günseren ve ark. (6)'nın sekiz merkezin katılımı ile yaptıkları bir çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen seftazidime dirençli *Klebsiella* suşlarının % 61.8'inde, *E.coli* suşlarının % 12.1'inde GSBL bulunduğu saptanmıştır. 1998 yılında yapılan beş merkezin katıldığı bir çalışmada hastane infeksiyonu etkeni *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL oluşturma araştırılmış ve bu enzimlerin bulunma sıklığının ülkemizde hastaneden hastaneye farklılık gösterdiği belirtilmiştir. *Klebsiella* suşlarının % 33-86'sının, *E. coli* suşlarının % 0-27'sinin GSBL sentezlediği saptanmıştır (8). Çalışmamızda bu oran *Klebsiella* suşlarında % 32.8, *E.coli*'de % 5.6 olarak bulunmuştur.

En fazla yenidoğan servisinde, takiben diğer pediatri servislerinde yatan hastalardan izole edilen suşların GSBL oluşturmaları dikkat çekici bulunmuştur. Tekerekoğlu ve ark.(15)'nin yaptığı bir çalışmada da çalışmamızla uyumlu olarak *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oluşturma oranı % 28 bulunmuş, GSBL pozitifliği en çok pediatrik yaş grubundan soyutlanan suşlarda gözlenmiştir. En sık yenidoğan ünitesinde gözlenmesinin nedeni, muhtemelen bu üniteye yoğun antibiyotik kullanımına bağlıdır. Sepsis ve menenjit yenidoğan döneminde ölüme sebep olan en önemli infeksiyon hastalıklarıdır. En sık rastlanan sepsis ve menenjit etkenleri *E.coli*, grup B streptokoklar ve *Listeria monocytogenes* olarak bildirilmektedir. Amerikan Pediatri Akademisi ampirik tedavi için ampisilin+sefotaksim önermektedir. Birçok yenidoğan ünitesinde olduğu gibi hastanemiz yenidoğan ünitesinde de ampirik tedavide ampisilin + sefotaksim kombinasyonu sıklıkla uygulanmaktadır. Bir antibiyotik yaygın kullanımı o antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların ve yeni direnç mekanizmalarının seçilmesine sebep olmaktadır (17). Abacıoğlu ve ark. (1)'nin

bir çalışmada nozokomiyal salgın döneminde bir yenidoğan ünitesindeki 34 hastadan izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının tümünün GSBL ürettiği gösterilmiştir.

Sonuç olarak, hastane infeksiyonlarında özellikle *Klebsiella* türlerinde GSBL varlığının araştırılması, tedavinin başarısı ve nozokomiyal infeksiyon epidemilerinin önlenmesi açısından önemlidir. Ayrıca ÇDSM, bu direncin belirlenmesinde antibiyotiklerin basitçe dizaynı ile sağlanabilen ve ekonomik olarak yük getirmeyen önemli bir yöntem olarak görülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- 1- Abacıoğlu YH, Aslani M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N: Resistotyping and plasmid profile analysis of multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak, *İnfeksiyon Derg* 9:63 (1995).
- 2- Akata F: Gram-negatif bakterilerde beta-laktamaz tipleri ve antibiyogramdan beta-laktamaz tipini tahmin etmede kullanılabilecek yöntemler, *İnfeksiyon Derg* 11:303 (1997).
- 3- Akata F, Otkun M, Teker B, Karabey O, Öğütlü A, Tuğrul M, Dündar V: Nozokomiyal Gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 11:225 (1997).
- 4- Gold HS, Moellering RC: Antimicrobial-drug resistance, *N Engl J Med* 335:1445 (1996).
- 5- Günaydın M, Eroğlu C, Uyar Y, Çetin M, Sünbül M, Leblebicioğlu H: Determination of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production by double disk synergy method and E test in *Klebsiella* strains, *ANKEM Derg* 15:79 (2001).
- 6- Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberöglü K, Yuluğ N, Doğanay M, Sümerkan B, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S, Köksal İ, Leblebicioğlu H, Günaydın M: A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey, *J Antimicrob Chemother* 43:373 (1999).
- 7- Gür D:  $\beta$ -laktamazlar, *Flora 2 (Ek 3):3* (1997).
- 8- Gür D: Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ilaçlara çoğul dirençli Gram-negatif bakteriler, *Hastane İnfeksiyonları Derg* 4:218 (2000).
- 9- Jacoby GA: Genetics of extended-spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13:2 (1994).
- 10- Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8:557 (1995).
- 11- Livermore DM, Yuan M: Antibiotic resistance and production of extended spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe, *J Antimicrob Chemother* 38:409 (1996).
- 12- Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A: Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar: Klinik önemi ve getirdiği sorunlar, *Flora 6:3* (2001).
- 13- Philippon A, Arlet G, Lagrange PH: Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases, *Eur J Microbiol Infect Dis* 13:17 (1994).
- 14- Quinn JP: Clinical significance of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13:39 (1994).

- 15- Tekerekoğlu MS, Ayan M, Ađel HE, Otlu B, Tařtekin N, Durmaz B: Klebsiella pneumoniae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranı ve eřitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *XXIX. Trk Mikrobiyoloji Kongresi, zet Kitabı* s. 375, Antalya (2000).
- 16- Tnger A, Hilmiođlu S, Dibek MA, avuřođlu C, Aktař C, zkan F, zinel MA: Hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan Klebsiella pneumoniae ve E. coli kkenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 12:165 (1998).
- 17- Vahabođlu H, Mlazımoğlu L, Ersoy D, Yıldıırım İ, Dodanlı S, Tařer B, Azkan V, İnan S: Yeni doğan menenjitlerinin mikrobiyolojik ynleri ve Klebsiella pneumoniae'ye bağlı bir epideminin analizi, *Klimik Derg* 6:124 (1993).