

HASTANE VE TOPLUM KÖKENLİ KLEBSIELLA PNEUMONIAE VE ESCHERICHIA COLI SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Kutbettin DEMİRDAĞ¹, Ahmet KIZIRGİL², Mehmet ÖZDEN¹,
Ahmet KALKAN¹, Süleyman FELEK¹, Zülal AŞÇI TORAMAN¹

ÖZET

Çoklu direnç genleri taşıyan plazmidler aracılığıyla taşınan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL), özellikle hastane kökenli Gram negatif bakteriler tarafından üretilmekte ve bu bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların sağaltımında sorunlara yol açmaktadır. Bu çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 42 *Klebsiella pneumoniae* ve 65 *Escherichia coli* suşu ile poliklinik hastalarına ait çeşitli örneklerden izole edilen 140 *E.coli* suşunun GSBL üretimi çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. Hastane enfeksiyonu etkeni 42 *K.pneumoniae* suşunun 28'inde (% 67) ve 65 *E.coli* suşunun 10'unda (% 15); toplum kökenli 140 *E.coli* suşunun dördünde (% 3) GSBL pozitifliği saptanmıştır. Özellikle hastane kökenli *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında GSBL sıklığı yüksek bulunmuştur. Bu etkenlerin neden olduğu enfeksiyonların sağaltımında ve özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda GSBL pozitifliğinin dikkate alınmasının uygun olacağı kanısı desteklenmiştir.

SUMMARY

Investigation of extended spectrum beta-lactamase positivity in hospital and community acquired Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains.

Extended spectrum beta-lactamases (ESBLs), mediated by multiple resistance plasmid genes are mainly produced by hospital acquired Gram negative bacteria and present significant problems in treatment of infections caused by these agents. In this study, ESBL production was investigated by the double disk synergy test in 42 *Klebsiella pneumoniae* and 65 *Escherichia coli* strains isolated from as nosocomial infection agents and 140 *E.coli* strains isolated from outpatient clinics. Twenty-eight (67 %) of 42 *K.pneumoniae* and 10 (15 %) of 65 *E.coli* strains isolated from hospitalized patients and 4 (3 %) of 140 *E.coli* strains isolated from outpatients produced ESBL. In conclusion, ESBL frequency was especially higher in hospital acquired *K.pneumoniae* and *E.coli* strains. It is concluded that in the treatment of infections with these agents particularly in hospital acquired cases; ESBL positivity should be taken into consideration.

GİRİŞ

Gram negatif bakterilerde GSBL üretimi 1980'li yılların başından itibaren gözlenmeye başlanmış olup, özellikle *Klebsiella* türleri ve *E.coli* tarafından giderek artan sıklıkta üretilmektedir (1,5,12,23). GSBL oluşturan bakteriler; aztreonama, 3. kuşak sefalosporin-

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

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1-İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2- Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

lere ve geniş spektrumlu penisilinlere direnç gösterirken, sefoksitine, karbapenemlere ve beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlılıklarını genellikle sürdürürler (21,22). GSBL enzimleri esas itibarıyla TEM ve SHV enzimlerinden köken almakta olup son yıllarda TEM ve SHV kökenli olmayan, plazmid kaynaklı yeni GSBL'ler de tanımlanmıştır. Bu yeni enzimler sefamisinler dahil tüm sefalosporinleri ve klavulanat kombinasyonlarını inaktive etmektedir (11). Bazı GSBL üreten bakteriler in-vitro şartlarda sefalosporinlere düşük düzeyde direnç gösterdiğinden rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde GSBL üretimi gözden kaçmaktadır (5,11). Bu nedenle GSBL sentezleyen suşların saptanması için modifiye yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla en sık klavulanik asidin GSBL aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanan çift disk sinerji testi kullanılmaktadır.

GSBL üreten suşların çoğu hastane kökenli olup toplum kökenli suşlarda GSBL üretimi daha az görülmektedir. Özellikle beta-laktam antibiyotik kullanımının yaygın olduğu hastane ortamının selektif baskısı altında, GSBL üreten bakteri kolonizasyonları görülmekte ve nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır. GSBL taşıyan bakterilerin yoğun bakım hastalarında oluşturdukları infeksiyonlarda mortalite % 30-50 arasında değişmektedir (22).

Bu çalışmada hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşları ile toplum kökenli *E.coli* suşlarında GSBL sıklığının çift disk sinerji testi ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastane infeksiyonu tanısı konulan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen 42 *K.pneumoniae* ve 65 *E.coli* suşu ile poliklinik hastalarına ait örneklerden izole edilen 140 *E.coli* suşu çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin tanımlanmasında klasik mikrobiyolojik yöntemler kullanılmıştır (15).

Suşların GSBL üretimi NCCLS kriterlerine uygun olarak, çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır (18). İncelenecek bakteri steril saf su içerisinde 0.5 Mc Farland yoğunluğu elde edilecek şekilde sulandırılmış, hazırlanan bakteri süspansiyonu eküvyonla Mueller Hinton Agar (Oxoid) besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Besiyerinin merkezine bir adet amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC-Oxoid) ve çevresine disk merkezleri arası uzaklık 30 mm olacak şekilde sefotaksim (CTX-Oxoid), seftazidim (CAZ-Oxoid) ve aztreonam (ATM-Oxoid) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra CTX, CAZ ve ATM diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun AMC diskinde doğru belirgin biçimde genişlemesi GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir. Kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 ve *K.pneumoniae* ATCC 700603 suşları kullanılmıştır. İstatistiksel analiz için SPSS Ver10.0 yazılımındaki Fisher's exact test kullanılmıştır.

BULGULAR

Hastane infeksiyonu etkeni 42 *K.pneumoniae* suşunun 28'inde (% 67), 65 *E.coli* suşunun 10'unda (% 15); toplum kökenli 140 *E.coli* suşunun 4'ünde (% 3) GSBL pozitifliği saptanmıştır (Tablo).

Tablo. GSBL pozitifliğinin türlere göre dağılımı.

	Hastane kökenli suşlar			Toplum kökenli suşlar		
	Suş sayısı	GSBL +	%	Suş sayısı	GSBL +	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42	28	67	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	65	10	15	140	4	3

Hastane ve toplum kökenli *E.coli* suşlarının GSBL üretim sıklığı arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (χ^2 :10,94, $p < 0.01$).

TARTIŞMA

Kromozomal kaynaklı GSBL üretimi bildirilmekle birlikte üretimin genellikle plazmid kaynaklı olması bakteriler arasında GSBL üretiminin yayılmasına ve hızlı bir direnç artışına neden olmaktadır (12,17,21). Özellikle yatan hastaların ampirik tedavisinde veya profilakside geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu antibiyotikler GSBL üreten suşlara etkisiz kalmaktadır. Bu nedenle, GSBL varlığının saptanması, tedavi ve enfeksiyon kontrol yaklaşımları açısından önemlidir (22).

Yapılan çalışmalarda en sık GSBL üreten mikroorganizmanın *Klebsiella* türleri olduğu bildirilmektedir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan bakterilerin oranı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, aynı ülkede hastaneler arasında da farklılıklar göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde GSBL üreten *Klebsiella* suşlarının sıklığı % 8 iken, bu oran Yunanistan'da % 24, İngiltere'de % 15.7, Fransa'da % 30-40, Portekiz'de % 14 olarak saptanmıştır (16,19). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *K.pneumoniae* suşlarında % 11-88 arasında değişen oranlarda GSBL pozitifliği bildirilmiştir (2,6,8,13,24). *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığını Kaygusuz ve ark. (14) yatan hastalarda % 70, poliklinik hastalarında % 11, Yetkin ve Arman (27) yatan hastalarda % 19, poliklinik hastalarında % 10 olarak saptamışlardır. Hastane enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda GSBL sıklığı daha yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanılmasına bağlı olarak dirençli suşlar ortaya çıkmakta ve nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır (4). Pena ve ark. (20) GSBL pozitif 49 *K.pneumoniae* suşunun 44'ünün (% 90) yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edildiğini bildirmişlerdir. Nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığını Gülay ve ark. (7) % 84, Gültekin ve ark. (8) % 54, Çetin ve ark. (3) % 47 olarak saptamışlardır. Sunulan çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni *K.pneumoniae* suşlarında bu oran % 67 olarak saptanmış olup literatürde bildirilen çalışmaların (3,7,8) sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Son yıllarda hastane epidemilerinde 3. kuşak sefalosporinlere dirençli, GSBL sentezleyen *E.coli* suşlarında artış gözlenmeye başlamıştır. Ülkemizde 1996 yılında sekiz merkezin katıldığı bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarının % 12.1'inde GSBL üretimi saptanmıştır (9). Ülkemizde beş merkezin katıldığı, 1998 yılında yapılan bir çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni *E.coli* suşlarında GSBL sıklığının hastaneler arasında farklılık gösterdiği belirlenmiş ve *E.coli* suşlarının % 0-27' sinin GSBL sentezlediği saptanmıştır (10). Hastane enfeksiyonu etkeni *E.coli* suşlarında Gültekin ve ark. (8) % 21, Çetin ve ark. (3) ise % 15.8 oranında GSBL aktivitesi saptadıklarını bildirmişlerdir. Yine ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda *E.coli* suşlarının % 12, % 6, % 4 ve % 21.5 gibi farklı oranlarda GSBL oluşturduğu bildirilmiştir (2,14,25,26). Sunulan çalışmada GSBL pozitifliği hastane kökenli *E.coli* suşlarında % 15 iken, toplum kökenli suşlarda % 3 olarak saptanmış olup aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$).

Sonuç olarak GSBL üretiminin özellikle hastane enfeksiyonu etkeni suşlarda daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerin etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi veya azaltılması için her hasta-

nenin bakteriyel florasının ve GSBL üretim sıklığının bilinmesi ve tedavi stratejilerinin buna göre belirlenmesi gerekmektedir. Bu nedenle rutin antibiyotik duyarlılık testlerinin GSBL üretimini saptayacak şekilde yapılmasının gerektiği savı desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1- Akata F, Otkun M, Teker B, Karabay O, Ögütü A, Tuğrul M, Dündar V: Nozokomiyal gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 11: 255 (1995).
- 2- Aktaş O, Erterk M, Gürgün S, Çelebi S, Keşli R: GSBL oluşturan gram olumsuz enterik bakterilerin antimikrobiklere duyarlılığı, *ANKEM Derg* 12:128 (1998).
- 3- Çetin BD, Gündüz A, Şensoy A, Korkmaz F, Seber E: Hastane infeksiyonu etkeni gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere duyarlılık özellikleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 31: 41 (2001).
- 4- French GL, Shannon KP, Simmons N: Hospital outbreak of *K.pneumoniae* resistant to broad spectrum cephalosporins and beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 beta-lactamase, *J Clin Microbiol* 34: 358 (1996).
- 5- Gill VJ, Federko DP, Witebsky FG: The clinician and the microbiology laboratory. Extended spectrum beta-lactamase detection, "Mandell GL, Dolin R, Bennett JE (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5. baskı" kitabında s.204, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
- 6- Gülay Z, Amyes SGB, Yuluğ N: Hastane infeksiyonlarından soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlılığının ve beta-laktamaz tiplerinin incelenmesi, *Mikrobiyol Bül* 39: 1 (1996).
- 7- Gülay Z, Thomson CJ, Yuluğ N, Amyes SG: High prevalence of extended spectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a University Hospital in Turkey, *J Chemother* 12: 145 (2000).
- 8- Gültekin M, Öğünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamıkoğlu L: Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 13: 515 (1999).
- 9- Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu 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).
- 10- Gür D: Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ilaçlara çoğul dirençli Gram negatif bakteriler, *Hastane İnfeksiyonları Derg* 4:218 (2000).
- 11- Jacoby GA: Genetic of extended spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13 (Suppl 1): 2 (1994).
- 12- Jacoby GA, Medeiros AA: More extended spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1697 (1991).
- 13- Kaleli İ, Özen N, Şengül M, Cevahir N, Akşit F: Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemiyle belirlenmesi, *ANKEM Derg* 12: 446 (1998).
- 14- Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K: Çocuk hastalardan izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, *ANKEM Derg* 11: 432 (1997).

- 15- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 4. baskı, s.135, J.B. Lippincott Company, Philadelphia (1997).
- 16- Livermore DM: Beta-lactamase in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 8: 557 (1995).
- 17- Livermore DM, Williams JD: Beta lactams: Mode of action and mechanism of bacterial resistance, "Lorian M (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*" kitabında s.502, Williams and Wilkins, New York (1996).
- 18- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 6. ed, Approved Standard M2-A6, NCCLS, Wayne (1997).
- 19- Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A: Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar: Klinik önemi ve getirdiği sorunlar, *Flora* 6 (Ek 1): 3 (2001).
- 20- Pena C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, Ariza J, Gudiol F: An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia, including strains producing extended-spectrum beta-lactamase, *J Hosp Infect* 47: 53 (2001).
- 21- Philippon A, Arlet G, Lagrange PH: Origin and impact of plasmid mediated extended spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13: 17 (1994).
- 22- Quinn JP: Clinical significance of extended spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13 (Suppl 1): 39 (1994).
- 23- Sirot D: Detection of extended spectrum plasmid mediated beta-lactamases by disk diffusion, *Clin Microbiol Infect* 2 (Suppl 11): 35 (1996).
- 24- Şanlıdağ T, Saygı G, Özçelik S, Çakır N, Çeliksöz A: *Klebsiella pneumoniae* suşlarında "extended broad-spectrum" beta-laktamazların araştırılması, *ANKEM Derg* 10: 120 (1996).
- 25- Töreci K, Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N: Enterobacteriaceae ailesinden ardarda izole edilen 827 suşta genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturma sıklığı, *ANKEM Derg* 10: 121 (1996).
- 26- Tünger A, Dibek MA, Çavuşoğlu C, Aktaş L, Özkan F, Özinel MA: *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* kökenlerinde extended spektrum beta-laktamaz sıklığının araştırılması, 8. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Program ve Özet Kitabı s. 732, Antalya (1997).
- 27- Yetkin A, Arman D: *Klebsiella* suşlarında geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, 8. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Program ve Özet Kitabı s. 683, Antalya (1997).