

## GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETEN KAN İZOLATI *KLEBSIELLA* SUŞLARINA KARŞI BETA-LAKTAMAZ İNHİBİTÖRLÜ ANTİBİYOTİKLERİN İN-VİTRO ETKİNLİĞİ

Yusuf YAKUPOĞULLARI, Zülal AŞÇI TORAMAN, Ahmet KİZİRGİL

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

### ÖZET

*Kan kültürlerinden soyutlanan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten Klebsiella suşlarında piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat, amoksisilin-klavulanat ve ampisilin-sulbaktamın in-vitro etkinliği E-test ile araştırılmıştır. 56 Klebsiella pneumoniae suşunun 35'inde (% 62.5) ve 21 Klebsiella oxytoca suşunun dokuzunda (% 43) çift disk sinerji yöntemi ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bu suşların 21'i (% 48) piperasilin-tazobaktama, 20'si (% 45) sefoperazon-sulbaktama, beşi (% 11) tikarsilin-klavulanata, beşi (% 11) amoksisilin-klavulanata ve üçü (% 7) ampisilin-sulbaktama duyarlı bulunmuştur. Çalışılan antibiyotikler içinde, piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı göreceli olarak daha yüksek olmakla birlikte, kan dolaşımı enfeksiyonları gibi hayatı tehdit eden durumlarda, beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerin ancak çok az sayıdaki duyarlı suşlarda kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.*

**Anahtar sözcükler:** beta-laktamaz inhibitörleri, GSBL, kan kültürü, Klebsiella

### SUMMARY

#### **In Vitro Activity of Antibiotics with Beta-lactamase Inhibitors against Extended-spectrum Beta-lactamase Producing Blood Isolates of Klebsiella Strains**

*In vitro activity of piperacillin-tazobactam, cefoperazone-sulbactam, ticarcillin-clavulanate, amoxicillin-clavulanate and ampicillin-sulbactam were investigated with E-test in blood isolates of extended-spectrum beta-lactamase producing Klebsiella strains. Of the total 56 Klebsiella pneumoniae and 21 Klebsiella oxytoca, extended-spectrum beta-lactamase was detected in 35 (62.5 %) K.pneumoniae and nine (43 %) K.oxytoca strains by double disk synergy test. Of the extended-spectrum beta-lactamase producing strains, 21 (48 %) were found as susceptible to piperacillin-tazobactam, 20 (45 %) to cefoperazone-sulbactam, five (11 %) to ticarcillin-clavulanate, five (11 %) to amoxicillin-clavulanate and three (7 %) to ampicillin-sulbactam. Although, there were relatively higher susceptibility to piperacillin-tazobactam and cefoperazone-sulbactam than other combinations, the efficacy ratios were low even for these two combinations. This shows that beta-lactam and beta-lactamase inhibitor combinations can be used rarely in life threatening conditions, such as blood stream infections.*

**Key words:** beta-lactamase inhibitors, blood cultures, ESBL, Klebsiella

---

**Yazışma adresi:** Yusuf Yakupoğulları, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ  
Tel.: (0424) 233 35 55

e-posta:yusufyakoup@hotmail.com

Alındığı tarih: 27.01.2004, revizyon kabulü: 14.06.2004

## GİRİŞ

Seksenli yıllardan itibaren genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), Gram negatif enterik çomaklarda önemli bir direnç mekanizması olarak karşımıza çıkmıştır. GSBL en sık *Klebsiella pneumoniae* suşlarında bulunmakla birlikte, *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerinde de saptanmaktadır. Çoğunlukla hastane kaynaklı infeksiyonlarda karşılaşılan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, klasik TEM ve SHV tip beta-laktamazlardan nokta mutasyonları ile oluşurlar. Karbapenemler dışında hemen hemen tüm beta-laktamlara karşı direnç gelişimine yol açan GSBL üretimi, bakteriyemi veya sepsis gibi hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonlarda kullanılabilen etkin antibiyotik sayısını sınırlamaktadır<sup>(14)</sup>.

Özellikle yoğun bakım ünitelerinde GSBL üreticisi *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu büyük hastane salgınları gözlenmiştir. Bu salgınlarda gelişen infeksiyonların yaklaşık yarısının kan dolaşımı infeksiyonu olduğu bildirilmiştir<sup>(12)</sup>. Ülkemiz hastanelerinde de önemli bir nozokomiyal patojen olan *Klebsiella* suşlarının GSBL üretiminin % 80'leri geçtiği gözlenmektedir<sup>(5)</sup>. *Klebsiella* suşlarındaki bu yüksek GSBL sıklığı, tedavi maliyetleri, mortalite ve morbidite oranlarını olumsuz yönde etkilemektedir.

Beta-laktamaz inhibitörü ile güçlendirilmiş beta-laktam antibiyotiklerin, GSBL pozitif suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılabilceği birçok yayında vurgulanmış olmasına rağmen, bu antibiyotiklerin etkinliği hakkında çok değişik sonuçlar bildirilmiştir<sup>(10)</sup>.

Bu çalışmada, bir üniversite hastanesi olan Fırat Tıp Merkezi'nde 2002-2003 yılları arasında yapılan kan kültürlerinden soyutlanan GSBL üreticisi *Klebsiella*'ların, Türkiye ilaç sektöründe mevcut olan beta-laktamaz inhibitörü ile güçlendirilmiş beta-laktam antibiyotiklere duyarlılığının saptanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Bakteri türleri

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, kan kültürlerinden soyutlanan *Klebsiella* suşları çalışmaya alınmıştır. Kan kültürleri, Bactec 9120 (Becton-Dickinson) ve Bact-Alert (Organon Teknika) otomatize kan kültürü cihazları ile yapılmıştır. Üreyen bakteriler, klasik bakteriyolojik yöntemler ve API ID 32E (bio-Merieux) ticari kitleri kullanılarak tanımlanmıştır. Bir hastadan birden çok kez soyutlanan suşlardan sadece biri çalışmaya alınmıştır.

### GSBL saptanması

Çalışmaya alınan suşların GSBL üretimi çift disk sinerji

yöntemi ile belirlenmiş, başka bir doğrulama testi kullanılmamıştır. Steril serum fizyolojik içerisinde McFarland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton agar yüzeyine yayılmıştır. Ortaya amoksisilin/klavulanik asit (AMC 20+10 µg) diski konmuş ve çevresine, aralarındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ 30 µg), sefotaksim (CTX 30 µg) ve aztreonam (ATM 30 µg) diskleri (Oxoid) yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saat aerop inkübasyonu takiben, çevredeki uç antibiyotik diskinden AMC diskinde doğru açılan sinerjistik alanın varlığı, GSBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir.

### Antibiyotik duyarlılık testi

Kan kültürlerinden soyutlanan ve GSBL ürettiği saptanan *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılığı E-test (AB Bio-Disk) ile piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat, amoksisilin-klavulanat ve ampisilin-sulbaktam şeritleri kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda araştırılmıştır. Sonuçlar NCCLS önerileri doğrultusunda yorumlanmıştır<sup>(9)</sup>.

## BULGULAR

On dört aylık süre zarfında, merkezimizde yaklaşık 7800 adet kan kültürü yapılmış ve toplam 288 Gram negatif bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerden, 56'sı *K.pneumoniae* ve 21'i *K.oxytoca* olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, *K.pneumoniae* suşlarının 35'inin (% 62.5) ve *K.oxytoca* suşlarının dokuzunun (% 43) GSBL oluşturduğu bulunmuştur. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten 35 *K. pneumoniae* suşunun 13'ü yoğun bakım, dokuzu çeşitli cerrahi klinikler, beşi yenidoğan olmak üzere sekizi pediatri kliniği ve geri kalanı ise çeşitli dahili kliniklerdeki hastaların kan kültürlerinden soyutlanmıştır. GSBL oluşturan dokuz *K.oxytoca* suşunun üçü pediatri kliniği, altısı ise yoğun bakımdaki hastaların kan kültürlerinden izole edilmiştir.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve her bir antibiyotik için MİK50 ve MİK90 değerleri tabloda gösterilmiştir. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları arasında belirgin fark bulunamadığı için tabloda iki bakteri türü birlikte alınmıştır.

**Tablo:** GSBL oluşturan 44 *Klebsiella* suşunda duyarlı suş sayısı, oranları, MİK50 ve MİK90 değerleri.

	PTc	CPS	Tlc	XL	AB
Duyarlılık	21-% 48	20-% 45	5-% 11	5-% 11	3-% 7
MİK50 (µg/ml)	96	128	192	192	256
MİK90 (µg/ml)	256	>256	>256	>256	>256

PTc: Piperasilin-tazobaktam, CPS: Sefoperazon-sulbaktam, Tlc: Tikarsilin-klavulanat, XL: Amoksisilin-klavulanat, AB: Ampisilin-sulbaktam.

## TARTIŞMA

İlk bulunuşundan günümüze kadar GSBL enzimlerinin görülme sıklığı ve çeşitliliğinde hızlı bir artış olmuştur. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin aşırı kullanımı, GSBL için seçici etki oluşturmakta ve bu enzimleri üreten suşların yatan hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde kolonizasyonunu hızlandırmaktadır. Yoğun beta-laktam kullanımı, invaziv girişimler, kateterizasyon, geniş yanıklar ve büyük cerrahi müdahaleler, GSBL pozitif suşlarla gelişen bakteriyemi veya sepsis olguları için başlıca risk faktörleridir<sup>(7,14)</sup>.

GSBL oluşturan bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı infeksiyonlarında, karbapenemlere alternatif olabilecek tedavi seçenekleri hala tartışılmaktadır<sup>(6)</sup>. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu bakteriyemi veya sepsis olgularında karbapenemler dışındaki etkin antibiyotiklerle yapılan tedavilere rağmen mortalite oranı yüksek seyretmektedir. Gioia ve Livermore<sup>(3)</sup>, GSBL üreten yoğun bakım kökenli *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını incelemiş ve dört yıllık bir dönemde bu suşlarda kinolon ve aminoglikozit direncinin iki-üç kat, piperasilin-tazobaktam direncinin ise yaklaşık iki kat arttığını ve yüksek düzeyde dirençli suşların ortaya çıktığını; ayrıca karbapenem MİK'larının 2-4 µg/ml'lik üst sınır düzeylerine ulaştığını saptamışlardır. Bu sonuçlar, GSBL infeksiyonlarında kullanılacak antibiyotiklerin etkinliğinde hızlı bir erozyon olduğunu göstermektedir. Beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerin GSBL üreten bakteri suşlarına etkinlik profillerinin saptanması, karbapenemler gibi yüksek maliyetli ve son seçenek antibiyotiklerin etkinliğinin korunması bakımından da önemlidir. Bazı klinik uygulamalarda bu ajanların sadece ciddi infeksiyonların tedavisinde kullanımı ile olumlu sonuçlar alındığı gözlenmiştir. Leleu ve ark.<sup>(8)</sup> piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun, GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu endokardit ve menenjit gibi infeksiyonların sağaltımında düşük dozlarda dahi etkin olabileceğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Gioia ve ark.<sup>(4)</sup> GSBL üreten *Klebsiella* suşlarında piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun etkinliğinin çok değişken olduğunu ve ayrıca duyarlılık oranlarının tazobaktam komponentinin konsantrasyonuna göre farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Ambrose ve ark.<sup>(1)</sup>'nin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, GSBL üreten *Escherichia coli* suşlarının piperasilin-tazobaktam duyarlılığı *Klebsiella* suşlarından daha yüksek bulunmuş ve her iki antibiyotiğe de duyarlı *K.pneumoniae* suşlarının yol açtığı infeksiyonlarda, sefepimin piperasilin-tazobaktama göre daha düşük dozlarda ve daha uzun zaman aralıklarıyla etkin olarak kullanılabilirliğini bildirilmişlerdir. Ayrıca, iki yıllık bir takipte, piperasilin-tazobaktam kullanılan GSBL infeksiyonlarının yarısından fazlasında tedavi başarısızlığının izlenmesi üzerine,

bu ajanın rutin olarak GSBL infeksiyonlarında kullanımının uygun olmayacağı saptanmıştır<sup>(2)</sup>.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşların neden olduğu kan dolaşımı infeksiyonlarının tedavisinde mikrobiyolojik çalışmalara rağmen bazı zorluklarla karşılaşmaktadır. Bunlardan biri, Patersson ve ark.<sup>(11)</sup>'nin yaptığı çok merkezli çalışmada belirtildiği gibi; in-vitro testlerde etkili bulunan antibiyotiklerin klinik kullanımda etkisiz kalmasıdır. Tedavide karşılaşılan ikinci problem ise inokulum etkisi olup, standart mikrobiyolojik inceleme esnasında yapılan antibiyogramda antibiyotiklerin 10<sup>5</sup> cfu/ml bakteri yoğunluğunda test edildiklerinde duyarlı sınırlarda bulunan MİK değerleri, bakteri inokulumunun 10<sup>7</sup> cfu/ml'e çıkması ile belirgin olarak artmaktadır. Thomson ve Moland<sup>(16)</sup>, GSBL üreten suşlarda inokulum etkisi ile sefalosporinlerin MİK değerlerinin yaklaşık 128 kat, piperasilin-tazobaktam MİK değerinin ise 4-64 kat arttığını saptamışlardır. Bu çalışmada araştırmacılar karbapenem MİK değerlerinin inokulum etkisinden etkilenmediği veya minimal düzeyde etkilendiğini bildirmişlerdir.

Yurt dışı ve yurt içi çalışmaların sonuçlarına göre GSBL üreten suşların piperasilin-tazobaktam duyarlılığı % 50-90, sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı % 60-90, amoksisilin-klavulanat duyarlılığı % 24-85 ve ampisilin-sulbaktam duyarlılığı ise % 61 olarak bildirilmiştir<sup>(2,13,15,17)</sup>. Yukarıdaki bilgiler ışığında, çalışmamızda saptanan duyarlılık oranları düşük gözükmektedir. Bu çalışmadaki izolatların yaklaşık yarısının (% 43) ciddi boyutta beta-laktam antibiyotik kullanımı olan yoğun bakım ünitelerinden soyutlanmasının, saptadığımız yüksek direnç oranlarının başlıca nedeni olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda, en yüksek duyarlılık oranı elde edilen piperasilin-tazobaktam da dahil olmak üzere tüm antibiyotiklerin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri direnç sınırları içinde bulunmuştur. Sefoperazon-sulbaktam ile piperasilin-tazobaktam etkinliği arasında çok az bir fark gözlenmiştir. Tikarsilin-klavulanat ve amoksisilin-klavulanat etkinliği birbirine eşit olarak saptanmış; en düşük aktiviteye sahip olan antibiyotiğin ise ampisilin-sulbaktam olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, GSBL üreten kan izolatu *Klebsiella* suşlarına karşı, beta-laktamaz inhibitörü içeren antibiyotik kombinasyonlarından piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam göreceli olarak daha etkin bulunmuştur. Ancak, gittikçe daha da karmaşıklaşan GSBL direncine karşı bu ilaçların etkinliğinin, ciddi infeksiyonlarda güvenle kullanılabilir kadar yüksek olmadığı da düşünülmüştür. Tikarsilin-klavulanat, amoksisilin-klavulanat ve ampisilin-sulbaktam ise GSBL pozitif kan izolatları için yeterli etkinlikten oldukça uzak görünmektedir. Bu çalışmada, alternatif ajanlar arasında gösterilen beta-laktamaz inhibitörleri ile güçlendirilmiş beta-laktam antibiyotiklerin GSBL pozitif kan izolatu *Klebsiella* suşlarına karşı etkinlikleri ölçülmüş ve hiçbiri istenilen düzeyde bulunmamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Ambrose PG, Bhavnani SM, Jones RN: Pharmacokinetics-pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1643.
2. Burgess DS, Hall RG, Lewis JS, Jorgensen JH, Patterson JE: Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period, *Pharmacotherapy* 2003;23:1232.
3. Gioia SB, Livermore DM: Antimicrobial resistance among *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in southern and western Europe in 1997-98, *J Antimicrob Chemother* 2000;45:183.
4. Gioia SB, Yuan M, Hall LMC, Livermore DM: Variable susceptibility to piperacillin-tazobactam amongst *Klebsiella* spp. with extended spectrum beta-lactamases, *J Antimicrob Chemother* 2003;51:605.
5. Gulay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a university hospital in Turkey, *J Chemother* 2000; 12:145.
6. Kim YK, Pai H, Lee HJ et al: Bloodstream infections by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1481.
7. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO: Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes, *Clin Infect Dis* 2001;32:1162.
8. Leleu G, Kitzis MD, Vallois JM, Gutman L, Decazes JM: Different ratios of the piperacillin-tazobactam combination for the treatment of experimental meningitis due to *Klebsiella pneumoniae* producing the TEM-3 extended-spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:195.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, M2 A6, Vol 17, No:1, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova (1997).
10. Patersson DL: Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), *Clin Microbiol Infect* 2000;6:460.
11. Patersson DL, Ko WC, Gottberg AV et al: Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, *J Clin Microbiol* 2001;6:2206.
12. Pena C, Pujol M, Ardanuy C et al: Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42: 53.
13. Özbilge H, Zeyrek FY, İnanç Y: Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu, *ANKEM Derg* 2003;17:13.
14. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar, *Flora Derg* 2001; 6 (Suppl 1):3.
15. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, and Study Group: Occurrence of extended spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:196.
16. Thomson KS, Moland ES: Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in the tests with extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45: 3548.
17. Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y: A preliminary survey of extended spectrum of beta-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan, *FEMS Microbiol Let* 2000;184:53.