TOPLUM KAYNAKLI ÜRİNER SİSTEM İNFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Esra KOÇOĞLU*, Oğuz KARABAY, Nevin KOÇ İNCE**, Fatma ÖZKARDEŞ*, Rasime YILDIRIM***

*Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BOLU
**Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BOLU

ÖZET

Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen Escherichia coli suşlarında, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sıklığı ile bu infeksiyonlarda sıklıkla kullanılan bazı antibiyotiklere karşı direnç sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Üriner sistem yakınmaları ile ayaktan başvuran hastaların idrar örneklerinden izole edilen E.coli suşlarının CLSI önerileri doğrultusunda çeşitli antibiyotiklere duyarlılık testi yapılmıştır. Bu suşların GSBL üretimi çift disk sinerji testiyle taranmış ve kombine disk kullanılarak fenotipik doğrulama testi yapılmıştır. Taranan 267 E.coli suşunun dokuzunun (% 3.4) GSBL pozitif olduğu tespit edilmiştir. Üriner sistem infeksiyonlarında sıkça kullanılan gentamisine % 10.1, amikasine % 1.8, siprofloksasine % 16.8 ve trimetoprim/sulfametoksazole % 30.3 oranında direnç saptanmıştır. Sonuçlarımıza göre, hastane kaynaklı infeksiyonların tedavisinde problem oluşturan GSBL üreten kökenlerin, artık toplum kaynaklı infeksiyonlar için de etken olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, toplum kaynaklı üriner infeksiyonlarda, uygun antibiyotik tedavisine rağmen klinik düzelme saptanamayan olgularda, GSBL varlığı etyolojide düşünülmelidir.

Anahtar sözcükler: *antibiyotik direnci, Escherichia coli, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonları*

SUMMARY

The Frequency of Extended Spectrum Beta-lactamase Production and Antibiotic Susceptibility of *Escherichia coli* Strains Isolated from Community-acquired Urinary Tract Infections

In this study, it was aimed to investigate the frequency of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production and resistance to frequently used antibiotics in Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infections. Antibiotic susceptibility tests were performed according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute. ESBL production of these strains was investigated by double disk synergy test, and phenotypically confirmed by combined disk test. Extended spectrum beta-lactamase was detected in nine (3.4 %) of 267 E.coli strains. Resistance to tested antibiotics were found as follows: 10.1 % to gentamicin, 1.8 % to amikacin, 16.8 % to ciprofloxacin and 30.3 % to trimethoprim/sulfametoxazole. Our results show that extended spectrum beta-lactamase production that causes problems in the treatment of hospital-acquired infections can also cause troubles in the treatment of community-acquired infections. For this reason, ESBL production should be considered in the etiology of community-acquired urinary tract infections, if clinical improvement can not be achieved in spite of suitable antibiotic therapy.

Keywords: *antibiotic resistance, community-acquired urinary tract infections, Escherichia coli, extended spectrum beta-lactamase*

Yazışma adresi: Esra Koçoğlu. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BOLU
Tel.: (0374) 253 46 56/3211, (0542) 342 91 49
e-posta: kocogluesra@yahoo.com
Alındığı tarih: 05.12.2006, revizyon kabulü: 28.12.2006

*XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları (KLİMİK) Kongresi'nde sunulmuştur (16–20 Kasım 2005, Antalya)

GİRİŞ

İdrar yolu infeksiyonlarının etkenleri arasında en sık saptanan bakteriler *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleridir. Bu aile içinde de toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında sıklıkla izole edilen bakteri *Escherichia coli*'dir[17,18,20]. *Enterobacteriaceae* ailesinin genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten üyeleri penisilinlere, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama dirençlidirler[4,20]. Bu mikroorganizmalar aynı zamanda aminoglikozidlere, trimetoprim-sulfametoksazole (TMP-SMZ) ve kinolonlara da sıklıkla dirençlidir. Enterobakterilerde görülen direnç dikkat gerektiren önemli bir problemdir[5,18].

Yeni kuşak beta-laktam antibiyotiklere karşı Gram negatif bakterilerde görülen direnç tüm dünyada ve ülkemizde hızla artmaktadır. Bakteriler bu grup antibiyotiklere en sık beta-laktamaz enzimlerini üreterek direnç geliştirirler[13,19]. GSBL direncini bakteriler arasında taşıyan plazmidler çoğunlukla diğer antibiyotiklere karşı direnci de taşımaktadır[12,19]. Böyle bir sorunun varlığı tedavi olanaklarını kısıtlamaktadır. Hastane kaynaklı infeksiyonlarda etkenin GSBL üretmesi ciddi bir sorun olarak varlığını sürdürürken toplum kaynaklı infeksiyonlarda da GSBL pozitifliği günden güne artmakta ve tedavi başarısını ciddi ölçüde olumsuz olarak etkilemektedir[5,18].

Toplumdan kazanılmış olan infeksiyonların tedavisi çoğunlukla ampirik olarak yapılmakta ve antibiyotik duyarlılıklarında ortaya çıkan direnç farklılıkları tedavide başarısızlıklara yol açarak maddi kayıplara neden olmaktadır. Bu yüzden hastane kaynaklı izolatların direnç oranının belirlenmesi kadar toplum kaynaklı izolatların direnç oranının belirlenmesi de önemlidir. Bu çalışmada toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL oluşturma ve bu infeksiyonlarda sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan suşlar, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında Eylül 2003-Temmuz 2005 tarihleri arasında üriner sistem yakınmaları ile ayaktan başvuran hastaların idrar örneklerinden izole edilmiştir. Laboratuvarımızda idrar örneklerinin ekimleri standart ölçülü özeyle kanlı agara ve eosin metilen blue agara yapılmaktadır. Koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özelliği, biyokimyasal testler ve gerektiği durumlarda API 32E (bioMerieux, Marcy L'Etoile, Fransa) ticari kitleri kullanılarak bakteri tanımlamasına gidilmiştir. Orta akım idrarı olarak toplanan idrar örneklerinin kültürü yapılarak idrarın 10^5 /mL veya daha fazla sayıda koloni oluşturan *E.coli* izolatları çalışma yapılıncaya kadar "skim milk" içinde -20°C'de saklanmış, çalışma yapılacağı zaman yeniden canlandırılarak antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılmıştır. Duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır[7].

GSBL pozitifliği çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır. Bunun için standart prosedürlere göre inokülasyon yapılan Mueller Hinton agarda amoksisilin/klavulanik asit (AMC) diski ortada olacak şekilde etrafına sefotaksim, seftazidim ve aztreonam diskleri merkezden merkeze 25 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir[13]. Hazırlanan plaklar 35°C'de 18-24 saat bekletilmiş ve disklerden herhangi birinin AMC diskine bakan tarafında inhibisyon zonunda genişleme olması ve/veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bir bölgenin görülmesi GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca fenotipik doğrulama yapmak için tüm izolatların antibiyogram plaklarına, seftazidim-klavulanik asit diski (30 μg/10 μg, Oxoid) de eklenmiştir. Seftazidim-klavulanik asit diskinin oluşturduğu duyarlılık zon çapının seftazidim diskinin tek başına oluşturduğu zon çapından 5 mm ve daha fazla olması GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir.

Üriner sistem infeksiyonlarında sıklıkla

tercih edilen antibiyotiklerden gentamisin (10 μg, Oxoid), amikasin (30 μg, Oxoid), TMP-SMZ (1.25/23.75 μg, Oxoid) ve siprofloksasine (5 μg, Oxoid) karşı duyarlılık oranları kaydedilmiştir.

BULGULAR

Çalışmadaki 267 suşun 197'si erişkin ve 70'i çocuk yaş grubundan izole edilmiştir. Toplam 267 *E.coli* suşunun dokuzunda (% 3.4) GSBL saptanmıştır. Üriner sistem infeksiyonlarında sıklıkla tercih edilen antibiyotiklerden TMP-SMZ'e % 30.3, siprofloksasine %16.8, gentamisine % 10.1 ve amikasine % 1.8 oranında direnç saptanmıştır.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten 9 suşun 5'inin (% 56) TMP-SMZ'e, 3'ünün (% 33) siprofloksasin ve gentamisine dirençli olduğu bulunurken amikasine direnç saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Antibiyotiklere direnç, infeksiyonların tedavi edilmesinde karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. Toplum kaynaklı infeksiyonlarda antibiyotik direnç oranlarının bilinmesi ampirik tedavinin etkinliği ve başarısı açısından önemlidir. Yapılan çalışmalarda toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında sıklıkla *E.coli* (% 56.3–77.3) izole edildiği vurgulanmıştır[17,18]. Hastanemize başvuran toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlu hastaların % 67.9'undan *E.coli* izole edilmiştir. Toplum kaynaklı üriner infeksiyonlardan sorumlu olan bu suşların çeşitli antibiyotiklere direnci ve GSBL üretimi ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar epidemiyolojik faktörlere, infeksiyon kontrol önlemlerine ve antibiyotik kullanım politikalarına bağlanmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında farklı oranlarda GSBL üretimi bildirilmektedir[1,3,6,8]. Astal ve ark.[3] toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında % 3.3 oranında GSBL pozitifliği bildirmişlerdir. De Champs ve ark.[8] Fransa'da *E.coli* suşlarında GSBL pozitifliği oranını % 0.2 olarak bildirmişlerdir. Aynı ülkede 2003 yılında yapılan bir diğer çalışmada *E.coli* suşları içinde GSBL pozitifliği % 0.3 olarak bulunmuştur[1]. İspanyada yapılan bir çalışmada ise 4 yıllık bir süreçte GSBL üreten toplum kaynaklı *E.coli* oranının % 0.4'ten % 1.7'ye yükseldiği bildirilmiştir[6]. Yapılan bu çalışmalarla, çalışmamızda saptadığımız oran benzerdir.

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında farklı oranlarda GSBL pozitifliği bildirilmiştir. Ertuğrul ve Çolak[11] *E.coli*'lerde GSBL sıklığını % 7, Pullukçu ve ark.[19] % 17.7 olarak bildirmişlerdir. Özden ve ark.[16] ise toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole ettikleri *E.coli* suşlarında % 8.3 oranında GSBL pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda *E.coli* suşlarının GSBL üretme oranı ülkemizde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında daha düşüktür.

Calbo ve ark.[6] GSBL pozitifliğinin gün geçtikçe arttığını ve daha önce antibiyotik kullanılmasının risk faktörü olarak önemli payı olduğunu vurgulanmaktadır. Klinisyenler artan bu direnç oranlarını göz önünde bulundurarak beta-laktam antibiyotikler yerine beta-laktam olmayan antibiyotikleri tercih etmektedirler. Komplike olmayan idrar yolu infeksiyonlarında sıklıkla kullanılan antibiyotikler siprofloksasin ve TMP-SMZ'e karşı direncin yapılan son çalışmalarda giderek arttığı vurgulanmaktadır. Bu çalışmalarda toplum kaynaklı suşların en fazla TMP-SMZ'e dirençli olduğu tesbit edilmiştir (% 36-63)[2,10,14,15,21,22].

Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında dikkat çeken diğer bir nokta da giderek artan siprofloksasin direncidir. Literatüre bakıldığında Uzunovic-Kamberovic[22] dört yıllık bir araştırmada antibiyotiklere karşı gelişen direnç oranlarını araştırmışlar ve siprofloksasine karşı yıllar içinde direncin giderek arttığını vurgulamıştır. Lau ve ark.[14] idrar yolu infeksiyonu etkeni olarak izole ettikleri *E.coli* suşlarında siprofloksasin direncini % 17 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda da bu antibiyotiklere karşı benzer direnç oranları bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda GSBL üreten suşla-

rın beta-laktam sınıfından olmayan antibiyotiklere de sıklıkla dirençli olduğu vurgulanmıştır. Astal ve ark.[3] çalışmalarında GSBL üreten suşların % 81'inin TMP-SMZ'e ve % 54.5'inin siprofloksasine dirençli olduğunu vurgulamışlardır. Özden ve ark.[16] ise GSBL üreten suşların % 70.4'ünün TMP-SMZ'e ve % 59.3'ünün siprofloksasine dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da GSBL üreten suşların TMP-SMZ ve siprofloksasine direnç oranlarının yüksek olduğu saptanmıştır.

Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni *E.coli* suşlarında GSBL sıklığının araştırıldığı bu çalışmada % 3.4 oranında GSBL tespit edilmiş olması yakın gelecekte toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında ciddi problemler yaşanabileceğini düşündürmektedir. Kullanımda yüzlerce antibiyotik olmasına rağmen, direncin de hızla artması antibiyotiklerin akılcı kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Tedavi başarısızlığı görülen toplum kaynaklı infeksiyonlarda GSBL olasılığı düşünülmelidir[9]. Yakın bir gelecekte GSBL nedeniyle tedavi başarısızlıklarında artış görülebilir. Bunu önlemek amacıyla, antibiyotik kullanma kalitesi iyileştirilmeli, klinisyenler antibiyotik kullanımı hakkında bilgilendirilmeli, bölgesel direnç oranları saptanmalı ve buna göre antibiyotik kullanma politikaları oluşturulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Arpin C, Dubois V, Coulange L et al: Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community and private health care centers, Antimicrob Agents Chemother 2003;47(11):3506-14.
2. Arslan H, Azap OK, Ergonul O, Timurkaynak F and Urinary Tract Infection Study Group: Risk factors for ciprofloxacin resistance among Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey, J Antimicrob Chemother 2005;56(5):914-8.
3. Astal Z, Sharif FA, Abdallah SA, Fahd MI: Extended spectrum beta-lactamases in Escherichia coli isolated from community-acquired urinary tract infections in the Gaza Strip, Paletsine, Ann Saudi Med 2004;24(1):55-7.
4. Bhattacharya S: ESBL- from petri dish to the patient, Indian J Med Microbiol 2006;24(1):20-4.
5. Bradford PA: Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat, Clin Microbiol Rev 2001;14(4):933-51.
6. Calbo E, Romani V, Xercavins M et al: Risk factors for community-onset urinary tract infections due to Escherichia coli harbouring extended-spectrum beta-lactamases, J Antimicrob Chemother 2006;57(4):780-3.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement M100-S15, CLSI, Wayne, PA (2005).
8. De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J: A 1998 survey of extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in France. The French Study Group, Antimicrob Agents Chemother 2000;44(11):3177-9.
9. Del Carmen Rodriguez M, Vera DE, Ramirez-Ronda CH, Saavedra S: Phenotypic confirmation of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at the San Juan Veterans Affairs Medical Center, P R Health Sci J 2004;23(3):207-15.
10. Dimitrov TS, Udo EE, Emara M, Awni F, Passadilla R: Etiology and antibiotic susceptibility patterns of community-acquired urinary tract infections in a Kuwait hospital, Med Princ Pract 2004;13(6):334-9.
11. Ertugrul MB, Çolak N: İdrardan izole edilen toplum kökenli Escherichia coli suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, ANKEM Derg 2004;18(3):161-5.
12. Esen Ş: ESBL'lerin epidemiyolojik özellikleri, "Köksal İ (ed): Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (ESBL)" kitabında s.26-30, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2004).
13. Gülay Z: ESBL'lerin tanı yöntemleri, "Köksal İ (ed): Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar; Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (ESBL)" kitabında s.13-25, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2004).
14. Lau SM, Peng MY, Chang FY: Resistance rates to commonly used antimicrobials among pathogens of both bacteremic and non-bacteremic community-acquired urinary tract infection, J Microbiol Immunol Infect 2004;37(3):185-91.
15. Matute AJ, Hak E, Schurink CA et al: Resistance of uropathogens in symptomatic urinary tract infections in Leon, Nicaragua, Int J Antimicrob Agents 2004;23(5):506-9.
16. Ozden M, Kalkan A, Demirdag K, Kilic SS, Ozdarendeli A: Ciprofloxacin and co-trimoxazole resistance and extended spectrum beta-lactamase production in Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections, Int J Antimicrob Agents 2003;21(5):492-3.
17. Özsüt H: İdrar yolları infeksiyonları, "Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds): İnfeksiyon Hastalıkları, 2. baskı" kitabında s.1059-64, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul (2002).
18. Paterson DL: Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae, Am J Infect Control 2006;34(5 Suppl 1):S20-8.
19. Pullukçu H, Taşbakan M, Aydemir Ş ve ark: İdrar kültürlerinden soyutlanan bakteriler ve çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi, AN-

KEM Derg 2006;20(1):26-30.
20. Sobel JD, Kaye D: Urinary tract infections, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R(eds): Principle and Practice of Infectious Disease, 6th ed." kitabında s.875-905, Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
21. Şencan İ, Sevinç ME: Toplum kökenli üropatojen Escherichia coli izolatlarında antimikrobiyal direncin izlemi, Klimik Derg 2002;15(3):85-8.
22. Uzunovic-Kamberovic S: Antibiotic resistance of coliform organisms from community-acquired urinary tract infections in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina, J Antimicrob Chemother 2006;58(2):344-8.