

MALATYA DEVLET HASTANESİNDE KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA SPP.* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ POZİTİFLİĞİ İLE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

Meryem IRAZ

Malatya Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, MALATYA

ÖZET

Gram negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direncin önemli bir mekanizması genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enziminin üretimidir. GSBL pozitifliğine en fazla *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında rastlanmaktadır. Çalışmada hastaların klinik örneklerinden izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında GSBL prevalansı ve antibiyotik direncinin retrospektif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. GSBL enzimi 401 *E.coli* suşununun 107'sinde (% 27), 65 *Klebsiella spp.* suşununun 15'inde (% 23) pozitif olarak saptanmıştır. Çalışmada en etkili antibiyotikler imipenem, sefotetan, seftazidim, nitrofurantoin ve piperasilin/tazobaktam olarak bulunmuştur. En yüksek direnç ise ampisiline karşı tespit edilmiştir. Çalışmada *E.coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında GSBL pozitiflik oranlarının düzenli olarak izlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*, GSBL, *Klebsiella spp.*, VITEK2

SUMMARY

Extended-Spectrum Beta-lactamase Prevalence and Resistance to Antibiotics in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* Strains Isolated from Clinical Samples in Malatya State Hospital

An important mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics in Gram-negative bacteria is extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production. ESBL positiveness is encountered mostly in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* strains. Our aim in reporting the current retrospective study is to determine the ESBL prevalence and resistance to antibiotics in *E.coli* and *Klebsiella spp.* strains isolated from clinical samples of patients. Hundred and seven (27 %) of 401 *E.coli* strains, and 15 (23 %) of 65 *Klebsiella spp.* strains were found as ESBL positive. Our study revealed imipenem, cefotetan, ceftazidime, nitrofurantoin and piperacilline/tazobactam as the most effective antibiotics. The highest resistance detected was to ampicilline. We suggest that the ESBL-positiveness rates of *E.coli* and *Klebsiella spp.* strains should be regularly followed.

Keywords: ESBL, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, VITEK2

GİRİŞ

Gram negatif organizmalarda beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direncin en önemli mekanizması beta-laktamaz üretimidir^(2,11,15). Beta-laktamaz enzimleri beta-laktam grubu antibiyotikleri parçalayarak inaktif hale getirirler^(7,15). Ancak sefotaksim, seftazidim ve aztreonam gibi geniş spektrumlu beta-laktam ajanlara karşı aynı etkiyi göstermezler⁽¹³⁾.

Beta-laktamazlar arasında yaygın olanlar TEM-1 ve SHV-1 enzimleridir. Bu enzimleri kodlayan genlerdeki spesifik nokta mutasyonları sonucu oluşan geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) oksimino-sefalosporinleri (sefotaksim, sefpodoksim ve seftazidim gibi) ve aztreonamları da inaktif hale getirebilirler^(7,13). GSBL'ler yoluyla mikrobiyal direnç ilk kez 1980'de Avrupa ve daha sonra ABD'de 3.kuşak sefalosporinlerin klinikte kullanılmaya başla-

Yazışma adresi: Meryem Iraz, Malatya Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, MALATYA
Tel.: (0422) 323 80 23/1342, GSM: (0506) 691 42 58
e-posta: meriraz@mynet.com
Alındığı tarih: 09.06.2009, revizyon kabulü: 05.11.2009

masından sonra bildirilmiştir. Bazı bakteriler GSBL'yi plazmidler ile de aktarabilirler; bu nedenle infeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması zorunlu hale gelmektedir⁽⁷⁾.

GSBL üreten suşlar in-vitro deneylerde beta-laktam antibiyotiklere karşı duyarlı saptansa da klinikte bu ilaçlarla tedaviye dirençli olabilirler. Bu nedenle GSBL üreten suşların tüm geniş spektrumlu penisilinlere, sefalosporinlere ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmeleri gerektiği bildirilmiştir⁽⁴⁾.

Tanıda GSBL direncini saptamadaki eksiklik tedaviyi olumsuz etkileyebilir ve GSBL üreten organizmaların kontrolsüz yayılımına neden olabilir. GSBL pozitifliğine en fazla *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında rastlanılmaktadır^(8,15). GSBL pozitifliğine neden olan suşların tespitinde çift disk sinerji testi, E test, üç boyutlu test ve otomatize sistemler kullanılmaktadır^(11,15).

Çalışmada Malatya Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL prevalansı ve antibiyotik direncinin retrospektif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Eylül 2008-Mayıs 2009 arasında 466 hastanın gönderilen idrar, yara, dışkı, kan ve balgam

örneklerinden izole edilen suşların otomatize sistem VITEK2 (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) ile saptanan identifikasyon ve antibiyogram sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Otomatize VITEK2 sistemi GSBL direnç mekanizmasını GN13 kartlarını kullanarak CLSI standartlarına uygun olarak saptamaktadır. Ayrıca GSBL pozitif suşlarda penisilin, sefalosporin (sefamisinler dışında) ve aztreonama karşı duyarlı saptanan sonuçları dirençli olarak değiştirmektedir.

Bu çalışmada; *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL görülme oranları belirlenmiş, bu bakterilerin GSBL pozitif ve negatif suşlarının antibiyotik duyarlılıklarındaki farkların istatistiksel değerlendirmesi SPSS 13.0 paket programında ki-kare testiyle yapılmıştır.

BULGULAR

Çeşitli servis ve polikliniklerden gelen 371 idrar, 65 dışkı, 12 yara, 12 balgam, 3 kan ve 3 diğer örneklerden izole edilen 466 suşun 122'si (% 26) GSBL pozitif bulunmuştur. GSBL enzimi 401 *E.coli* suşunun 107'sinde (% 27), 65 *Klebsiella* spp. suşunun 15'inde (% 23) pozitif olarak saptanmıştır ($p>0.05$). Bu sonuçlar ve GSBL oluşturan ve oluşturmayan suşlarda denendiği antibiyotiklere dirençli suş sayısı ve yüzdeleri tabloda gösterilmiştir.

Tablo. *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL oluşturma ve GSBL pozitif ve negatif suşlarda çeşitli antibiyotiklere direnç [n (%)].

	E.coli n: 401			Klebsiella spp. n: 65		
	GSBL pozitif	GSBL negatif	p	GSBL pozitif	GSBL negatif	p
	107 (27)	294 (73)		15 (23)	50 (77)	
Ampisilin	107 (100)	157 (53)	<0.001	15 (100)	41 (82)	
Ampisilin/sulbaktam	92 (86)	68 (23)	<0.001	15 (100)	17 (34)	<0.001
Sefotetan	0	1 (0.3)		0	0	
Seftriakson	89 (83)	2 (0.7)	<0.001	6 (40)	0	<0.001
Seftazidim	9 (8)	1 (0.3)	<0.001	1 (7)	0	
Sefepim	40 (37)	1 (0.3)	<0.001	3 (20)	0	<0.05
Aztreonam	43 (40)	1 (0.3)	<0.001	6 (40)	0	<0.001
Piperasilin/tazobaktam	5 (5)	7 (2)		7 (47)	6 (12)	<0.05
İmipenem	0	0		0	0	
Trimetoprim/sulfametoksazol	73 (68)	121 (41)	<0.001	6 (40)	7 (14)	
Gentamisin	50 (47)	28 (10)	<0.001	2 (13)	3 (6)	
Siprofloksasin	65 (61)	23 (8)	<0.001	4 (27)	2 (4)	<0.05
Nitrofurantoin (n:371)*	0	3 (1)		3 (23)	3 (9)	

*Yalnız idrar izolatlarına denenmiştir.

Ampisilin/sulbaktam, seftriakson ve aztreonam dirençte iki bakteride de GSBL oluşturan suşlarda oluşturmayanlara göre ileri derecede anlamlı bir fark ($p<0.001$) bulunmuştur. Ampisilin, seftazidim, trimetoprim/sulfametoksazol ve gentamisine dirençte ise GSBL oluşturan *E.coli* suşlardaki direnç farkı ileri derecede anlamlı iken ($p<0.001$), *Klebsiella* spp. suşlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sefepim ve siprofloksasine *E.coli* suşlarındaki direnç GSBL pozitif suşlarda ileri derecede anlamlı ($p<0.001$), piperasilin/tazobaktam için anlamsız iken bu antibiyotiklere *Klebsiella* spp. suşlarında az anlamlı ($p<0.05$) bir fark bulunmuştur. Sefotetan, imipenem ve nitrofurantoinde iki bakteri için de GSBL ile ilişkili anlamlı bir direnç farkı saptanmamıştır.

E.coli ve *Klebsiella* spp. suşlarının her ikisinde de en etkili antibiyotikler imipenem, sefotetan, seftazidim, nitrofurantoin ve piperasilin/tazobaktam olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

İnfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalarda GSBL varlığı tedavi stratejisinin belirlenmesinde önemlidir⁽³⁾. GSBL üretimi bölgeden bölgeye değiştiği ve ampirik tedavide antibiyotik seçiminde yol gösterici olması nedeniyle, bir bölgede klinik örneklerden izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL oranının bilinmesi faydalı olacaktır⁽⁹⁾.

GSBL üreten suşların saptanmasında çift disk sinerji testi, E test, üç boyutlu test ve otomatize sistemler kullanılabilir^(11,15). Otomatize sistemlerin GSBL taranmasında, bakteri identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığını tespit etmede maliyet etkinlik ve zaman kaybını azaltmak için rutin klinik laboratuvarlarda kullanımı giderek artmaktadır. Çeşitli otomatize sistemlerin doğruluğu ile ilgili çok sayıda çalışma bildirilmiştir^(7,15). Mehli ve ark.⁽¹⁵⁾ GSBL enziminin tespitinde çift disk sinerji testi yerine VITEK2 otomatize cihazının kullanılabilirliğini bildirmişler ve duyarlılığını % 100, özgüllüğünü de % 94.1 olarak bulmuşlardır. Benzer olarak, Sanders ve ark.⁽¹⁸⁾ VITEK2 ile GSBL'nin güvenilir bir şekilde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu

çalışmamızda da GSBL enziminin tespitinde VITEK2 otomatize sistemi kullanılmıştır. GSBL taranmasında, sefpodoksim ve seftazidim ile yüksek duyarlılık sağlanır. Ayrıca aztreonam, sefotaksim ve seftriaksondan birinin kullanılması duyarlılığı daha da artırır⁽⁹⁾. VITEK2 otomatize cihazında seftazidim ve aztreonam antibiyotikleri bulunmaktadır.

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan pek çok bakterinin GSBL ürettiği bilinmektedir. Özellikle *Klebsiella* spp. suşlarında spontan mutasyonların sık olması nedeniyle GSBL'ye sık rastlanıldığı tespit edilmiştir^(14,15). Yapılan çok merkezli çalışmalarda, farklı coğrafik bölgelerde GSBL oranı *E.coli*'de % 2-45, *Klebsiella* spp. izolatlarında ise % 6-30 olarak bildirilmektedir^(12,19,20). Ho ve ark.⁽¹²⁾ da, *E.coli* suşlarının % 11'inde, *Klebsiella* spp. suşlarının ise % 13'ünde GSBL saptamışlardır.

Türkiye'de yapılan farklı çalışmalarda da Özkan ve ark.⁽¹⁷⁾ *E.coli*'de % 39, *Klebsiella* spp.'de % 66; Mumcuoğlu ve ark.⁽¹⁶⁾ *E.coli*'de % 20, *Klebsiella* spp.'de % 44; Delialioğlu ve ark.⁽⁵⁾ *E.coli*'de % 29, *Klebsiella* spp.'de % 35.8 ve Yetkin ve ark.⁽²²⁾ kan kültürlerinden izole edilen *E.coli*'de % 34.5 oranında GSBL saptamışlardır. Benzer şekilde Işık ve ark.⁽¹³⁾ kan kültüründen izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oranını çift disk sinerji testi ile % 63.7 olarak bulmuşlardır. Eski Türk ve ark.⁽⁶⁾ da klinik örneklerden elde ettikleri *K.pneumoniae* suşlarında GSBL pozitiflik oranını % 52 olarak saptamışlardır. Ayrıca Güdücüoğlu ve ark.⁽⁹⁾ *E.coli* izolatlarının GSBL pozitifliğini % 29, *K.pneumoniae* izolatlarının GSBL pozitifliğini % 49 oranında bulmuşlardır. Diğer taraftan *Klebsiella* spp. izolatlarında GSBL pozitifliğinin *E.coli*'ye göre daha düşük oranda bulunabildiği de bildirilmiştir. Mehli ve ark.⁽¹⁵⁾ *E.coli*'de % 49, *Klebsiella* spp.'de % 44 oranında GSBL pozitifliği saptamışlardır. Yine Güzel Tunçcan ve ark.⁽¹⁰⁾ *E.coli* suşlarının % 38, *Klebsiella* spp. suşlarının % 32'sinde GSBL pozitifliği bildirmişlerdir. Al-Muhtaseb ve Kaygusuz⁽¹⁾ 59 *E.coli* suşunun 20'sinde (% 34), 41 *K.pneumoniae* suşunun 10'nunda (% 24) GSBL saptamışlardır. Çalışmamızda GSBL enzimi 401 *E.coli* suşunun 107'sinde (% 27), 65 *Klebsiella* spp. suşunun 15'inde (% 23) pozitif olarak saptanmıştır.

Çalışmamızın yapıldığı hastanede *E.coli*'de *Klebsiella* spp.'ye göre GSBL pozitifliği yüksektir. Ancak yapılan ki-kare testine göre bu yükseklik anlamlı bulunmamıştır. Çalışmaların yapıldığı bölgelere göre oranların da değiştiği bilinmektedir. Bu durum bölgede kullanılan geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik sıklığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca elde edilen veriler her hastanenin çalışmanın yapılmış olduğu dönemdeki antibiyotik direnç profilini yansıtmaktadır. Bu da antibiyotiklerle tedavi stratejisinin belirlenmesinde bölgesel GSBL pozitifliğinin belirlenmesi gerektiği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda en etkili antibiyotikler imipenem, sefotetan, seftazidim, nitrofurantoin ve piperasilin/tazobaktam olarak bulunmuştur. En yüksek direnç ise ampiciline karşı tespit edilmiştir (Tablo). *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında antibiyotik direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir^(9,22). GSBL pozitif bakterilerin sefoksitin ve sefotetan gibi sefamisinlere in-vitro olarak duyarlı tespit edilseler bile, bu antibiyotiklere de çeşitli mekanizmalarla direnç görülebileceğinden klinik kullanımda ilk ilaç olarak kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir^(9,21).

E.coli ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL pozitiflik oranlarının düzenli olarak izlenmesi ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin kullanımına avantajlar ve dezavantajlar göz önünde bulundurularak karar verilmesi gerekir. Ayrıca infekte hastaların izolasyonu, enfeksiyon riskinin bulunduğu bölümlerde aktif sürveyans çalışmalarının yapılması ve enfeksiyon etkeninde GSBL pozitiflik tespit edilenlerin tedavisinin daha dikkatli yapılması sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Al-Muhtaseb M, Kaygusuz A: Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sıklığı, ANKEM Derg 2008;22(4):175-82.
2. Bert F, Juvin M, Ould-Hocine Z et al: Evaluation and updating of the Osiris expert system for identification of *Escherichia coli* beta-lactam resistance phenotypes, J Clin Microbiol 2005;43(4):1846-50.
3. 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.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (Çeviri editörü D.Gür): Antibiyotik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onyedinci Bilgi Eki, M100-S17, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2007).
5. Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları, ANKEM Derg 2005;19(2):84-7.
6. Eskitürk A, Korten V, Söyletir G: Akut bakım gerektiren hastalarda gelişen enfeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella* türlerinde antibakteriyel duyarlılık paternlerinin ve geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması, ANKEM Derg 1996;10(1):14-8.
7. Färber J, Moder KA, Layer F et al: Extended-spectrum beta-lactamase detection with different panels for automated susceptibility testing and with a chromogenic medium, J Clin Microbiol 2008;46(11):3721-7.
8. Gavin PJ, Suseno MT, Thomson RB Jr et al: Clinical correlation of the CLSI susceptibility breakpoint for piperacillin-tazobactam against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species, Antimicrob Agents Chemother 2006;50(6):2244-7.
9. Güdücüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci, ANKEM Derg 2007;21(3):155-60.
10. Güzel Tunçcan Ö, Tozlu Keten D, Dizbay M, Hızal K: Hastane kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı, ANKEM Derg 2008;22(4):188-92.
11. Harada S, Ishii Y, Yamaguchi K: Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical laboratory and therapy, Korean J Lab Med 2008;28(6):401-12.
12. Ho PL, Tsang DN, Que TL et al: Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong, APMIS 2000;108(3):237-40.
13. Işık F, Arslan U, Tuncer İ: Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç yöntemin karşılaştırılması, ANKEM Derg 2007;21(3):165-70.
14. Jacoby GA, Medeiros AA: More extended-spectrum beta-lactamases, Antimicrob Agents

- Chemother 1991;35(9):1697-704.
15. Mehli M, Zer Y, Gayyurhan E: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Enterobacteriaceae suşlarında GSBL oluşturmaın ÇDST ve Vitek2 yöntemleri ile araştırılması, ANKEM Derg 2007;21(2):71-5.
 16. Mumcuoğlu İ, Gündüz T, Baydur H: Escherichia, Klebsiella ve Proteus suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu, ANKEM Derg 2004;18(1):9-11.
 17. Özkan Ç, Oldacay M, Erdem G: Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, ANKEM Derg 2002;16(1):65-8.
 18. Sanders CC, Barry AL, Washington JA et al: Detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae with Vitek ESBL test, J Clin Microbiol 1996;34(12):2997-3001.
 19. Villegas MV, Correa A, Perez F et al: Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli isolates from Colombian hospitals, Diagn Microbiol Infect Dis 2004;49(3):217-22.
 20. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N: Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region, Clin Infect Dis 2001;32(2):94-103.
 21. Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Güriz H: Genişlemiş spektrumlu betalaktamaz yapan E.coli suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2003;33(2):126-9.
 22. Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A, Ay S: Kan kültürlerinde üreyen Escherichia coli'lerin antibiyotik duyarlılıkları, GSBL oranları ve hastane birimlerine göre dağılımı, İnönü Üniv Tıp Fak Derg 2006;13(3):147-50.