

## ***Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretimi ve Antibiyotiklere Direnç: Beş Yıllık İzlem**

Extended spectrum beta-lactamase production and antibiotic  
resistance in *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains:  
five-year follow up results

**Mehmet Parlak, Aytekin Çıkman, Abdullah Bektaş, Mustafa Berketaş**

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

### Özet

**Amaç:** Çalışmada, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi ve antibiyotik direnç oranlarındaki değişimin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Beş yıllık (Ocak 2006-Eylül 2010) bir süreçte laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden izole edilen 3488 *E.coli*, 994 *K.pneumoniae* suşunun GSBL üretimi ve antibiyotiklere direnç oranları retrospektif olarak araştırıldı. Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan tüm suşların kesin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testi için BD Phoenix otomatize sisteminden (Becton Dickinson, USA) yararlanıldı.

**Bulgular:** *E.coli* suşlarında %48, *K.pneumoniae* suşlarında ise %67 oranında GSBL pozitifliği tespit edildi. İzole edilen suşlara en etkili antibiyotiklerin karbapenem grubu olduğu ve bu grup antibiyotikleri *E.coli* suşlarında amikasin, nitrofurantoin ve sefoksitin, *K.pneumoniae* suşlarında ise amikasin, sefoksitin ve siprofloksasin izlediği görüldü. Yıllara göre antibiyotik direnç oranlarında da artışlar meydana geldiği gözlemlendi.

**Sonuç:** Bölgemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oranları hayli yüksektir. Bunun bir sonucu olarak antibiyotik direnç oranlarında gözlenen artış, her hastanenin periyodik olarak kendi verilerini değerlendirmesi ve buna paralel antibiyotik kullanım politikası belirlemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, GSBL, antibiyotik direnç

**Başvuru Tarihi:** 09.03.2011 **Kabul Tarihi:** : 09.08.2011

### Abstract

**Objective:** Aim of this study was to determine the change in antibiotic resistance rates and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains.

**Materials and Methods:** ESBL production and antimicrobial resistance rates were investigated retrospectively in 3488 *E.coli* and 994 *K.pneumoniae* strains isolated from clinical specimens collected by our laboratory during five years (January 2006-September 2010). BD Phoenix automated system (Becton Dickinson, USA) was used for the final identification and antibiotic susceptibility testing of all strains previously identified by conventional methods.

**Results:** 48% of *E.coli* and 67% of *K.pneumoniae* strains were detected as ESBL-positive. Our results show that carbapenems are the most effective antibiotics group for both *E.coli* and *K.pneumoniae* strains, followed by amikacin, nitrofurantoin and sefoksitin for *E.coli* and amikacin, cefoxitin and ciprofloxacin for *K.pneumoniae* strains. During five-year period increase in antibiotic resistance rates was observed.

**Conclusion:** Our results indicate that the ESBL production of both *E.coli* and *K.pneumoniae* isolated from samples obtained from our region is markedly high. Observed increase in antibiotic resistance rates suggest that each hospital should periodically evaluate its own data and concordantly assess its antibiotic use policies.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ESBL, antibiotic resistance

**Application:** 09.03.2011 **Accepted:** : 09.08.2011

## Giriş

Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz üretimi beta-laktam antibiyotiklere dirence katkıda bulunan en önemli faktördür.<sup>1</sup> Bakteri suşlarının sürekli beta-laktam antibiyotiklere maruz kalması, beta-laktamaz enzimi üretiminde aşırı artış ve mutasyona neden olur.<sup>2</sup> Üretilen bu beta-laktamazlar penisilinleri, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları (aztreonam) hidroliz etme yeteneğindedir. Bu nedenle, bu yeni beta-laktamazlar, geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılır.<sup>2,3</sup> Mutasyonlara bağlı aminoasit modifikasyonları ile yeni GSBL'ler oluşabilmekte ve bir klinik izolatta aynı anda birden çok GSBL enzimi bulunabilmektedir. GSBL'lere bağlı direnç, klonal yayılım veya konjugatif plazmid transferi ile diğer mikroorganizmalara aktarılabilir. Dirençli suşlarla salgınların en önemli nedeni bu direnç aktarımıdır.<sup>3</sup>

GSBL, en sık *Klebsiella pneumoniae* olmak üzere *Escherichia coli* ve diğer enterobakteriler arasında saptanmakta, bunları diğer bakteriler izlemektedir.<sup>4</sup> Bakterilerdeki GSBL varlığı, rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile saptanamamaktadır. Bu suşlar, sefotaksim ve seftriakson gibi geniş spektrumlu beta-laktamazlara invitro testlerde duyarlı görünmektedirler. Bu nedenle GSBL üretiminin saptanmasında klavulanik asitin GSBL aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanan çift disk sinerji yönteminin kullanılması önerilmektedir.<sup>5</sup> Günümüzde GSBL direnç mekanizmasını yüksek duyarlılıkta saptayabilen ve buyyon mikrodilüsyon metoduyla çalışan otomatize sistemler de geliştirilmiştir.<sup>6</sup>

GSBL üretimi ülkemizde ve dünyada yıllara paralel bir artış göstermekte, bu artış tedavi başarısızlığı, mortalite ve morbidite oranlarında yükselmeye neden olmaktadır. Bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL varlığının gösterilmesi bir zorunluluk haline gelmiştir.<sup>7</sup> Her ünitedeki etkenlerin ve antibiyotik duyarlılık durumlarının bilinmesi, empirik tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir.<sup>8</sup> Çalışmada, laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının beş yıllık süreçte genişlemiş spektrumlu beta-

laktamaz üretimi ile antibiyotik direnç oranlarındaki değişimin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Laboratuvarımıza beş yıllık (Ocak 2006 - Eylül 2010) bir süreçte gönderilen klinik örneklerden izole edilen, 3488 *E.coli* ve 994 *K.pneumoniae* suşunun GSBL üretimi ve antibiyotiklere direnç oranları retrospektif olarak araştırıldı.

Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan tüm suşların kesin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testi için BD Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, USA) kullanıldı. Çalışmada elde edilen sonuçlar ise cihaz ile birlikte bulunan Epicenter analiz sistemi ile değerlendirildi. BD Phoenix otomatize sistem, GSBL direnç mekanizmasını, buyyon mikrodilüsyon metoduyla CLSI standartlarını temel alarak tespit etmektedir. GSBL pozitif suşlar penisilin, sefalosporin (sefamisin grubu hariç) ve aztreonama duyarlı veya orta duyarlı olarak tespit edilse de, bu sonuçlar dirençli olarak değiştirilmektedir. BD Phoenix, GSBL üretimini, GSBL ürettiği genotipik olarak doğrulanan suşların %90'ından daha büyük kısmında saptayabilmekte ve sonuçlar genellikle altı saat içinde alınabilmektedir. Bu sistem *Klebsiellae* ve *E.coli*'ye ilaveten, *Enterobacter*, *Proteus* ve *Citrobacter* spp. suşlarının GSBL üretimini de büyük bir doğrulukla saptayabilmektedir.<sup>6</sup> GSBL için, *E.coli* ile *K.pneumonia* ve bu grupların içerisinde yılların karşılaştırılmasında Z test (oran karşılaştırması) kullanılmıştır.

## Bulgular

Beş yıllık bir süreçte toplam 3488 *E.coli* ve 994 *K.pneumoniae* izole edildi. Elde edilen suşların kliniklere göre dağılımı (Tablo 1) ve örnek türlerine göre dağılımı (Tablo 2) verildi.

GSBL üretim sıklığı, *E.coli* suşlarında toplam %48 ve *K.pneumonia* suşlarında ise %67 oranında gözlemlendi. *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının GSBL oranlarının yıllara göre dağılımı ile antibiyotik direnç oranları (Tablo 3) verildi.

**Tablo 1:** E.coli ve K.pneumoniae suşlarının kliniklere göre dağılımı

Klinik	<i>E.coli</i> (%)	<i>K.pneumoniae</i> (%)
Pediyatri	1862 (53,4)	538 (54,1)
Üroloji	377 (10,8)	52 (5,2)
İç Hastalıkları	317 (9,1)	37 (3,7)
Kadın Hast. ve Doğum	299 (8,6)	61 (6,1)
Yoğun Bakım	93 (2,7)	110 (11,1)
Göğüs Hastalıkları	92 (2,6)	67 (6,8)
Genel Cerrahi	85 (2,4)	14 (1,4)
İntaniye	62 (1,8)	12 (1,2)
Kulak Burun Boğaz	57 (1,6)	21 (2,1)
Ortopedi	44 (1,3)	13 (1,3)
Diğer	200 (5,7)	69 (7,0)
TOPLAM	3488 (100)	994 (100)

GSBL için, *E.coli* ile *K.pneumonia* arasındaki Spearman rank korelasyonu 0.462 ( $p=0.434$ ) olarak elde edilmiş ve bu korelasyon katsayısı istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. Her iki bakteri grubunda, GSBL üretim sıklığının

**Tablo 2:** *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının örnek türlerine göre dağılımı

Örnek Türü	<i>E.coli</i> (%)	<i>K.pneumoniae</i> (%)
İdrar	2604 (74,6)	476 (47,9)
Yara	252 (7,2)	68 (6,9)
Kan	142 (4,1)	108 (10,9)
Vajen	140 (4,0)	36 (3,6)
Trakeal Aspirat	109 (3,1)	170 (17,1)
Balgam	72 (2,1)	39 (3,9)
Kulak	55 (1,6)	16 (1,6)
Periton Sıvısı	63 (1,8)	7 (0,7)
Diğer	51 (1,5)	74 (7,4)
TOPLAM	3488 (100)	994 (100)

yıllar içerisinde artışı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmada izole edilen suşlara en etkili antibiyotiklerin karbapenem grubu antibiyotikler olduğu ve bu grup antibiyotikleri *E.coli* suşlarında amikasin, nitrofurantoin ve sefoksitin, *K.pneumoniae* suşlarında ise amikasin, sefoksitin ve siprofloksasinin izlediği görülmüştür. En

**Tablo 3:** İzole edilen E.coli ve K.pneumoniae suşlarının GSBL ile antibiyotiklere direnç oranları (%)

	<i>E.coli</i>					<i>K.pneumoniae</i>				
	2006 n:842	2007 n:741	2008 n:688	2009 n:721	2010 n:496	2006 n:235	2007 n:175	2008 n:205	2009 n:199	2010 n:180
GSBL*	39	46	54	50	52	61	62	70	73	67
İmipenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Meropenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Amikasin	1	1	1	0	1	12	4	4	6	5
Nitrofurantoin**	2	3	2	4	2	23	41	45	46	43
Sefoksitin	5	3	4	4	6	9	9	12	12	8
Piperasilin-Tazobaktam	19	17	19	19	18	51	50	53	45	54
Gentamisin	21	24	26	20	25	37	38	42	41	43
Siprofloksasin	35	34	34	30	33	11	8	13	35	36
Seftazidim	36	41	45	42	46	62	61	68	76	74
Sefepim	37	42	46	42	46	63	62	70	76	74
Aztreonam	37	42	45	42	46	63	62	69	76	74
Sefazolin	46	48	50	45	49	67	66	72	79	77
Amoksisilin-Klavulanat	47	48	52	48	51	69	66	73	79	79
SXT***	54	53	51	48	48	47	53	55	65	68
Ampisilin	73	74	74	74	73	100	100	100	100	100

\*: Genişlemiş spectrum beta-laktamaz, \*\*: Yalnızca idrar örneklerinde çalışılmıştır, \*\*\*: Trimetoprim-Sulfametoksazol

yüksek direnç oranları *E.coli* suşlarında ampicillin (%77), trimetoprim-sulfametoksazol (%51) ve amoksisilin-klavulanata (%49) karşı, *K.pneumoniae* suşlarında ise ampicillin (%100), amoksisilin-klavulanat (%73) ve aztreonama (%72) karşı saptanmıştır. Bir GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşunda ise imipenem ve meropenem direnci birlikteliği tespit edilmiştir. Her iki grup bakteride de amikasin en etkili aminoglikozid olarak bulunmuştur.

## Tartışma

Son yıllarda enterik Gram negatif mikroorganizmalar arasında giderek artan antimikrobiyal direnç nedeniyle tedavide sorunlar yaşanmaktadır.<sup>9</sup> GSBL enzimlerine bağlı direnç, plazmidler aracılığı ile aktarılabilmesi nedeni ile hızla yayılabilmekte, hastanelerde bu dirençli suşlara bağlı salgınlar yaşanabilmektedir.<sup>5</sup> GSBL enzimleri *Enterobacteriaceae* ailesi içinde en yüksek oranda *K. pneumoniae* suşlarında görülmekle birlikte, *Enterobacter*, *Salmonella*, *E.coli*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Morganella morganii* suşlarının da GSBL oluşturabildiği bilinmektedir. Özellikle *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesinin arttığı gözlenmektedir.<sup>5,9</sup> GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* türlerinin sıklığı; coğrafi alanlara, hastanenin hizmet verdiği etkinliklere, populasyonun yaşı ve hastalardaki eşlik eden hususlara bağlı olarak değişebilmektedir.<sup>10</sup>

Beta laktamaz üretme yeteneğini kazanan bakteriler, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler başta olmak üzere farklı gruptan antibiyotiklere de direnç gösterirler.<sup>11</sup> Bu durum klinikte tedavi seçeneklerini kısıtlamakta, mortalite ve morbiditeye neden olmakta, hastanede yatış süresini ve maliyeti arttırmaktadır.<sup>9</sup>

GSBL prevelansı ülkeler ve bölgeler arasında değişkenlik göstermekle birlikte, ülkemizde *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının GSBL oluşturma oranları %0-49 arasında değişmektedir.<sup>7</sup> Ülkemizde çeşitli merkezlerde saptanan

GSBL oranları incelendiğinde *E.coli* ve *K.pneumoniae* için sırasıyla; Güdücüoğlu ve ark %29 ve %49, Akyar ve ark %10.9 ve %13.6, Albayrak ve ark %18.8 ve %21.9, Bülüç ve ark %14 ve %48, Güler ve ark ise sadece *E.coli* için %10.5 olarak vermişlerdir.<sup>3,6,7,11,12</sup> Çalışmamızda GSBL oranları *E.coli* suşlarında %48, *K.pneumoniae* suşlarında ise %67 olarak tespit edilmiş olup diğer yapılan çalışmalardan yüksektir. Bunun yanısıra yıllara göre antibiyotik direnç oranlarında da artışlar meydana geldiği gözlenmiştir.

GSBL pozitif bakterilerde karbapenem dışı antibiyotiklere, özellikle florokinolonlara karşı yüksek direnç oranları bildirilmektedir.<sup>9</sup> Bizim çalışmamızda GSBL oranları *E.coli* suşlarında daha düşük saptanmasına rağmen siprofloksasine direnç oranı *E.coli*'lerde %33, *K.pneumoniae*'da ise %21 olarak bulunmuştur. Bu durum florokinolonlara dirençte başka mekanizmaların da etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan rutin duyarlılık deneylerinde (disk difüzyon, mikrodilüsyon, hızlı otomatize testler) bazı GSBL (+) suşları yanlışlıkla duyarlı olarak tanınabilir.<sup>13</sup> Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL saptama yöntemleri rutin olarak uygulanmalı ve sonuçlar buna göre yorumlanarak verilmelidir. Böylece tedavinin başarısızlığı, yüksek maliyeti ve direnç gelişiminin artması önlenilebilir.<sup>14</sup>

Bölgemizde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oranlarının hayli yüksek olduğu görülmektedir. Sürekli ve uygun olmayan antibiyotik kullanımı sonucunda ortaya çıkan GSBL oranlarındaki artış ve buna bağlı direnç gelişiminin önüne geçebilmek için, her hastane kendi verilerini periyodik olarak izleyerek değerlendirmeli, antibiyotik kullanım politikaları belirleyerek gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçmeli ve tedavide antibiyogram sonuçları da dikkate alınarak uygun antibiyotiklerin kullanımı sağlanmalıdır.

## Kaynaklar

1. Medeiros AA. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997; 24: 19-45.
2. Gupta V. An update on newer  $\beta$ -lactamases. Indian J Med Res 2007; 126: 417-427.
3. Akyar I, Kocagöz S, Kocagöz T, Sar NS, Gültekin M, Ercis S ve ark. Beş yılda izole edilen 15434 Escherichia coli ve 3178 Klebsiella spp. suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yıllara, kliniklere ve örnek türlerine dağılımı. ANKEM Derg 2010; 24: 34-41.
4. Tzelepi E, Magana Ch, Platsouka E, Sofianou D, Paniara O, Legakis NJ et al. Extended-spectrum beta-lactamase types in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in two Greek hospitals. Int J Antimicrob Agents 2003; 21: 285-288.
5. Durmaz Çetin B, Gündüz A, Şensoy A, Korkmaz F, Seber E. Hastane enfeksiyonu etkeni gram negatif bakterilerin genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001; 31: 13-17.
6. 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: 155-160.
7. Albayrak N, Kaya Ş. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üretimleri ve antibiyotik direnç oranları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2009; 39: 16-21.
8. Ak Ö, Batırel A, Özer S, Çolakoğlu S, Arıkan Z. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2008; 38: 71-76.
9. Tunçcan ÖG, Ketten DT, Dizbay M, Hızıl K. Hastane kaynaklı Escherichia coli ve Klebsiella suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı. ANKEM Derg 2008; 22: 188-192.
10. Yalçın AN. Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı ve direnç sorununa genel bakış. ANKEM Derg 2009; 23: 136-142.
11. Güler Ö, Aktaş O, Uslu H. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde beta-laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması. ANKEM Derg 2008; 22: 72-80.
12. Bülüç M, Gürol Y, Bal Ç. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oranları: 2000-2002. Turk Mikrobiyol Cem Derg 2003; 33: 31-34.
13. Kandemir O, Ersöz G, Şahin E, Kaya A. Hastanede yatarak tedavi gören hastalardan soyutlanan gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve induklenebilir kromozomal beta-laktamaz sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 32: 207-211.
14. Kayman T, Ayangil D. Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde izole edilen Enterobacteriaceae izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2007; 21: 203-207.