

ARAŞTIRMA

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz sıklığının araştırılması

Müjde Eryılmaz¹, Merve Eylül Bozkurt¹, Muharrem Murat Yıldız², Ahmet Akın¹

ÖZET: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* (E.coli) suşlarının yol açtığı enfeksiyonlar; güç tedavi edilmesi, mortalite oranının yüksek olması ve büyük ekonomik kayıplara yol açması nedenleriyle önemlidir. Çalışmamızda Eylül 2008-Nisan 2009 tarihleri arasında Etlik Lokman Hekim Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan alınan, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 114 adet E.coli suşunda GSBL sıklığı araştırılmıştır. Çalışmamızda GSBL varlığının tesbiti amacıyla Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda çift disk sinerji testi ve fenotipik doğrulama testi kullanılmıştır. GSBL üreten E.coli sıklığı %18,42 olarak saptanmıştır. GSBL pozitif E.coli suşlarının prevalansının bilinmesi, ampirik tedavide antibiyotik seçimi için yol gösterici olması açısından önemlidir.

ANAHTAR KELİMELE: çift disk sinerji testi, *Escherichia coli*, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz

GİRİŞ

GSBL'ler sefotaksim, seftazidim, seftriakson gibi oksiminobeta-laktamlara ve aztreonama direnç kazandıran ve genetik şifresi plazmid üzerinden taşınan enzimlerdir. İlk olarak 1983 yılında Avrupa'da *Klebsiella pneumoniae* türlerine karşı, geniş spektrumlu beta-laktamların kullanılmaya başlanmasından hemen sonra, tanımlanan bu enzimler, daha sonra Enterobacteriaceae familyasının diğer üyelerinde de gösterilmiştir (1, 2).

GSBL aracılı direnç, plazmidler aracılığıyla türler arasında aktarılabilmekte, hastanelerde salgınlar oluşturabilmekte ve mortalite oranlarını arttırabilmektedir (2). GSBL direncini bakteriler arasında taşıyan plazmidler, çoğunlukla diğer antibiyotiklere karşı direnci de taşımaktadır (3). Bu enzimler geniş spektrumlu penisilinazların türevleridir ve çoğu TEM ya da SHV enzimlerinden köken almaktadır (4). Hibridizasyon deneyleri ile GSBL'lerin TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta laktamaz genlerinde meydana gelen basit nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıktığı saptanmıştır (1).

Penisilinler, sefalosporinler ve aztreonamı hidrolize ederek etkisizleştirebilen bu enzimler, genellikle beta laktamaz inhibitörleri ile hidrolize edilebilirler. Ancak bunlar karbapenemlere (imipenem, meropenem, ertapenem), sefamisinlere (sefoksitin, moksalaktam) ve temosiline karşı etkili değildirler (1, 2, 3, 5, 6).

GSBL üreten E.coli kökenlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi oldukça güç, mortalite ve morbidite oranı da yüksektir (7).

Bu çalışmada 8 aylık bir süre içinde Etlik Lokman Hekim Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan alınan, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 114 adet E.coli suşunda GSBL varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Etlik Lokman Hekim Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan Eylül 2008 - Nisan 2009 tarihleri arasında alınan çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 114 adet E. coli suşu kullanılmıştır. E.coli izolatlarının identifikasyonu API 20 E (bioMerieux) identifikasyon

KURUM

¹Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji AD,
Ankara, Türkiye

²Etlik Lokman Hekim
Hastanesi, Ankara, Türkiye

İLETİŞİM

Müjde Eryılmaz

E-posta:

mujdeyuce@yahoo.com

Gönderilme:

18 Temmuz 2009

Revizyon:

10 Eylül 2009

Kabul:

14 Eylül 2009

kiti kullanılarak yapılmıştır. Kontrol olarak E.coli ATCC 25922 suş'u kullanılmıştır.

GSBL pozitifliği CLSI kriterlerine uygun olarak çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. Standart prosedürlere göre inokülasyon yapılan Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck, Germany) besiyerinde amoksisilin / klavulanik asit (AMC, 20/10 µg) diski ortada olacak şekilde etrafına seftriakson (CRO, 30 µg), sefotaksim (CTX, 30 µg), seftazidim (CAZ, 30 µg), aztreonam (ATM, 30 µg) disklerini merkezden merkeze 25 mm. uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. Hazırlanan plaklar 35 °C'de 18-24 saat bekletilmiş ve disklerden herhangi birinin AMC diski-ne bakan etrafında inhibisyon zonunda genişleme olması ve/veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bir bölgenin görülmesi GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir (8).

CLSI'nın fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine disk (modifiye) sinerji yönteminde ise yine MHA bulunan plaklara sürüntü ekim yapılarak, oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Ekim yapılan plaklara CAZ (30 µg), CTX (30 µg), seftazidim-klavulanik asit (30/10 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (30/10 µg) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, CTX ve CAZ diskinin inhibisyon zon çapının, CLSI önerileri doğrultusunda klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edilmesine göre >5 mm artması GSBL pozitif kabul edilmiştir (8).

BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden 114 E.coli suş'unun 93 tanesinde GSBL negatif, 21 tanesinde GSBL pozitif bulunmuştur (Tablo 1). Bu suşların 107 tanesi idrar, 7 tanesi de yara örneklerinden izole edilmiştir (Tablo 2). Suşların 102 tanesi kadın, 12 tanesi erkek hastalardan izole edilmiştir (Tablo 3). GSBL pozitif olan 21 suş'un; 1 tanesi yaradan diğer 20 tanesi idrar örneklerinden izole edilmiştir. 21 suşun; 19 tanesi kadın, 2 tanesi erkek hastalardan izole edilmiştir.

TABLO 1. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen E.coli suşlarının GSBL üretim oranları

	Sayı	%
GSBL (+)	21	18.42
GSBL (-)	93	81.58
TOPLAM	114	100

TABLO 2. GSBL varlığına göre E.coli suşlarının izole edildikleri klinik örneklerin dağılımı

	E.coli'nin İzole Edildiği Klinik Örnek	
	İdrar	Yara
GSBL (+)	20	1
GSBL (-)	87	6
TOPLAM	107	7

TABLO 3. GSBL varlığına göre E.coli suşlarının izole edildikleri hastaların cinsiyet dağılımı

	E.coli'nin İzole Edildiği Hastanın Cinsiyeti	
	Kadın	Erkek
GSBL (+)	19	2
GSBL (-)	83	10
TOPLAM	102	12

TARTIŞMA

E.coli, yenidoğan bebeklerde, nötropenik kanser hastalarında ve altta yatan hastalığı olan çocuklarda ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır (9). E.coli tüm beta laktam antibiyotiklere hassas iken, ilk olarak 1987'de GSBL üreten suşları bildirilmiştir. GSBL üreten E.coli suşlarının yol açtığı enfeksiyonlar mortalitede artışa neden olmakla birlikte ciddi ekonomik kayıplara da neden olmaktadır (3).

Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, enfeksiyonların tedavi edilmesinde karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. GSBL pozitif E.coli suşlarının oranının bilinmesi ampirik tedavide antibiyotik seçimi için yol gösterici olacaktır (3, 10).

Ülkemizde 2006 ve daha sonraki yıllarda bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalarda direnç oranları göz önüne alındığında, GSBL sıklığı merkezler arasında farklılıklar göstermektedir. Çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri E.coli suşlarında Güler ve ark (11) %10,5 oranında GSBL pozitiflik saptarken; Çelebi ve ark (12) %54,4 gibi yüksek bir oran bildirmişlerdir. İdrar örneklerinden izole edilen E.coli suşlarının GSBL pozitifliği için Yetkin ve ark (13) %30,3 oranını bildirirken; Akyar (14) %12 oranını saptamıştır. Çalışmaların sonuçları arasındaki bu farklılık, merkezler arasındaki antibiyotik kullanım politikalarının farklı olması sebebine dayandırılabilir. Ayrıca çalışmada yer alan numune sayısının farklılığı ile de ilişkilendirilebilir. Gazi ve ark (15) yatan hastalardan izole ettikleri E.coli suşlarında %17,8, poliklinik hastalarından izole ettikleri suşlarda ise %9,8 oranında GSBL varlığı saptarken, Güdücüoğlu ve ark (16) yatan hastalar için %47, poliklinik hastaları için %18 GSBL pozitiflik oranlarını bildirmişlerdir. Koçoğlu ve ark (3) toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri E.coli suşları için %3,4 GSBL pozitiflik gibi düşük bir oran bildirirken, Bozkurt ve ark (2) hastane enfeksiyonu etkeni E.coli suşları için %24,4 oranını bildirmişlerdir. Yukarıda incelenen çalışmalarda da görüldüğü gibi GSBL prevalansı merkezden merkeze değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz %18,42 GSBL pozitiflik oranı son yıllarda ülkemizde yapılan çalışmalarla uyumludur.

Soo Ko ve ark (17) Kore'nin çeşitli bölgelerinde bulunan sekiz hastanenin katılımı ile gerçekleştirdikleri çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri E.coli suşlarında %10,2 oranında GSBL pozitiflik saptarken; Mehrgran ve Raahbar (18) %67,2 gibi yüksek bir oran bildirmişlerdir. İspanya'da yapılan bir çalışmada ise Romero ve ark (19) %1 GSBL pozitiflik gibi oldukça düşük bir oran saptamışlardır. Farklı ülkelerde, son yıllarda yapılan çalışmalardan bildirilen oranlar arasındaki bu farklılık antibiyotik kullanım politikalarının farklılığı ile ilişkilendirilebilir.

E.coli suşlarında GSBL üretiminin artışı oldukça ciddi bir problemdir ve bu mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotikler oldukça kısıtlıdır (20). GSBL üreten suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde sorunlar yaşanabileceğinden, bu suşların rutin laboratuvarlarda araştırılması ve klinisyene bildirilmesi gereklidir (21).

Sonuç olarak; tedavisi pahalı ve güç hastane enfeksiyonlarına neden olan E.coli suşlarının GSBL üretim oranları sürekli izlenmeli, enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen geniş spektrumlu Beta-laktam antibiyotikler dikkatli kullanılmalı, GSBL üreten E.coli suşları ile enfekte hastalar izole edilmeli, risk altındaki hastane bölümlerinde dikkatli ve ayrıntılı sürveyans çalışmaları yapılmalıdır (4).

Investigation of the prevalence of extended spectrum beta lactamase producing escherichia coli strains isolated from various clinical specimens

SUMMARY: Infections caused by *Escherichia coli* (E.coli) producing extended-spectrum beta lactamase (ESBL) are important because they are difficult to treat, have high mortality rate and cause big economic losses. In this study, prevalence of ESBL production in 114 E.coli strains, isolated from various clinical specimens at Lokman Hekim Hospital between September 2008-April 2009 was observed. The production of ESBL was determined with double disc synergy test and phenotypic confirmation test according to the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. The prevalence of ESBL producing E.coli isolates was found to be 18,42%. The results of the studies on prevalence of ESBL positive E.coli strains will be helpful for using antimicrobials in empiric treatment.

KEY WORDS: double disc synergy test, *Escherichia coli*, extended spectrum beta-lactamase

KAYNAKLAR

- Hoşgör M, Özkan F, Yapar N, Tünger A, Özinel MA. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde çift diskli sinerji testi ile üç boyutlu yöntemin karşılaştırılması. *Klinik Derg*, 11:59-60, 1998.
- Bozkurt H, Kurtoğlu MG, Aygül K, Bayram Y, Berktaş M. Nozokomiyal kaynaklı *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* izolatlarında genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üretimi. *Türk Med J*, 1:150-153, 2007.
- Koçoğlu E, Karabay O, Koç İnce N, Özkardeş F, Yıldırım R. Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması. *Ankem Derg*, 21:5-9, 2007.
- Işık F, Arslan U, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamazların belirlenmesinde üç yöntemin karşılaştırılması. *Ankem Derg*, 21:165-170, 2007.
- Kaçmaz B, Çakır FÖ, Aksoy A. Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması. *Ankem Derg*, 19:125-129, 2005.
- Mody RM, Erwin DP, Summers AM, Carrero HA, Selby EB, Ewell AJ, Moran KA. Ertapenem susceptibility of extended spectrum beta-lactamase producing organisms. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 6:6, 2007.
- Pullukçu H, Aydemir Ş, Işıkgöz Taşbakan M, Çilli F, Tünger A, Ulusoy S. Susceptibility of extended-spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* urine isolates to Fosfomycin, Ciprofloxacin, Amikacin and Trimethoprim-Sulfamethoxazole. *Türk J Med Sci*, 38:175-180, 2008.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Çeviri editörü D Gür): Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onbeşinci Bilgi Eki. M100-S14, S15, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2005.
- Al-Muhtaseb M, Kaygusuz A. Kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) sıklığı. *Ankem Derg*, 22:175-182, 2008.
- Kaya O, Akçam FZ, Uyar C, Demir C, Yaylı G. 2000-2004 yılları arasında izole edilen üropatojen *Escherichia coli* suşlarında artan antibiyotik direnci. *SDÜ. Tıp Fak Derg*, 13:22-26, 2006.
- Güler Ö, Aktaş O, Uslu H. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde beta laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Ankem Derg*, 22:72-80, 2008.
- Çelebi S, Yüce N, Çakır D, Hacımustafaoğlu M, Özkaya G. Çocuklarda genişlemiş spektrumlu β -laktamaz üreten *E.coli* enfeksiyonlarında risk faktörleri ve klinik sonuçları; Beş yıllık çalışma. *Çocuk Enfeksiyon Derg*, 3:5-10, 2009.
- Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A. İdrarda üreyen *Escherichia coli*'lerin geniş spektrumlu beta laktamazlar yönünden irdelenmesi. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg*, 13:249-252, 2006.
- Akyar I. Antibiotic resistance rates of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* strains isolated from urinary tract infections in a private hospital. *Mikrobiyol Bul*, 42:713-5, 2008.
- Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S. İdrar kültürlerinden izole edilen gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. *Ankem Derg*, 21:19-22, 2007.
- Güdücüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci. *Ankem Derg*, 21:155-160, 2007.
- Ko KS, Lee YM, Song JH, Lee H, Jung DS, Jung SI, Kim SW, Chang HH, Yeom JS, Kim YS, Ki HK, Chung DR, Kwon KT, Peck KR, Lee NY. Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamase producing enterobacteriaceae isolated in korean hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 61:453-59, 2008.
- Mehrgan H, Rahbar M. Prevalence of extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. *Int J Antimicro Ag*, 31:147-51, 2008.
- Romero EDV, Padilla TP, Hernandez AH, Grande RP, Vazquez MF, Garcia IG, Garcia-Rodriguez JA, Bellido JLM. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* producing multiple extended spectrum β -lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 59:433-37, 2007.
- Karaoğlu İ, Zer Y, Namıduru M. GSBL Pozitif *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında tigesiklinin invitro etkinliği. *Ankem Derg*, 22:69-71, 2008.
- Ertuğrul MB, Çolak N. İdrardan izole edilen toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg*, 18:161-165, 2004.