

Nozokomiyal Kaynaklı *Klebsiella Pneumoniae* ve *Escherichia Coli* İzolatlarında Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimi

EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE PRODUCTION IN NOSOCOMIAL ESCHERICHIA COLI AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE ISOLATES

Dr. Hamza BOZKURT,^a Dr. Muhammed Güzel KURTOĞLU,^b Dr. Kumru AYGÜL,^b
Dr. Yasemin BAYRAM,^b Dr. Mustafa BERKTAŞ^b

^aAnkara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ANKARA

^bMikrobiyoloji ABD, Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, VAN

Özet

Çalışmada hastanemizde nozokomiyal patojen olarak soyutlanan *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) suşlarında Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) varlığı ve oranlarının araştırılması amaçlandı.

Ardışık olarak soyutlanan, 86'sı *E. coli*, 14'ü *K. pneumoniae* olmak üzere toplam 100 nozokomiyal etken alınarak çift disk sinerji metodu (ÇDSM) ile Amoksisilin-klavulanat, seftriakson, sefotaksim, seftazidim ve aztreonam diskleri kullanılarak GSBL aktiviteleri araştırıldı.

Çalışma sonucunda *E. coli* suşlarında %24.41, *K. pneumoniae* suşlarında ise %42.85 oranında GSBL pozitifliği tespit edildi.

GSBL varlığının tespitinin ve antimikrobiyal duyarlılık testleri ile birlikte raporlanmasının tedavi başarısını artırmada önemli rolü olacağı bir kez daha vurgulandı.

Anahtar Kelimeler: Nozokomiyal enfeksiyon, *E. coli*,
K. pneumoniae, GSBL,
antimikrobiyal duyarlılık testi

Abstract

In this study we aimed to investigate the presence and rates of ESBL of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated as nosocomial pathogens in our hospital.

We applied Double Disk Synergy Method to 86 *E. coli* and 14 *K. pneumoniae* strains (total 100 strains) isolated consecutively by using Amoxicillin-clavulanic acid, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime and aztreonam discs in order to detect ESBL activity.

In this study 24.41% of the *E. coli* strains and 42.85% of the *K. pneumoniae* strains were found to produce ESBL.

By our study it's pointed again that the detection of the ESBL production and reporting with antimicrobial susceptibility testing is so important for enhancing the success of treatment.

Key Words: Nosocomial infection, *E. coli*,
K. pneumoniae, ESBL,
antimicrobial susceptibility test

Turkish Medical Journal 2007, 1:150-153

Son yıllarda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda antimikrobiyal ajanlara direnç oranları giderek artmaktadır.¹ Nozokomiyal enfeksiyonlar arasında en sık izole edilen patojenler *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleridir ve bu etkenlerin neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde en sık tercih edilen ilaçlar β-laktam antibiyotiklerdir.² Enterobakteriler zaman içerisinde β-laktam antibiyotiklere karşı çok sayıda

direnç mekanizması geliştirmiş olup Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) direnci bunlar içerisinde önemli yer tutmaktadır.^{1,3-5}

GSBL ilk defa 1983'te Almanya'da *K. pneumoniae* türlerine karşı geniş spektrumlu β-laktamların kullanılmaya başlanmasından hemen sonra bulunmuştur.^{1,5-7} GSBL varlığı en sık *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında bulunmakla birlikte diğer gram negatif çomaklarda da nadir olarak tespit edilmektedir. Bunlardan bazıları *Proteus*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* ve *Morganella* türleri olarak sıralanabilir.⁸⁻¹⁰ GSBL'ler; penisilinler, sefalosporinler ve aztreonamı hidrolize ederek etkisizleştirirler, fakat karbapenemleri hidrolize ede-

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Hamza BOZKURT
Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Bilkent, ANKARA
hamzabozkurt@hotmail.com

Copyright © 2007 by Türk Tıp Dergisi

mezler. Bilinen eski plazmid kökenli β -laktamazlardan olan TEM ve SHV'nin yapısındaki aminoasitlerin birden dörde kadar sayıdaki aminoasidin değişmesi sonucu GSBL'ler oluşur.^{3,6,7,11}

Rutin laboratuvarlarda bazı özel testler yapılmazsa GSBL varlığı tespit edilemeyebilir. Kolay uygulanabilen ve en yaygın kullanılan metot, çift disk sinerji metodu (ÇDSM)'dur.^{6-9,12,13}

GSBL aracılı direnç, plazmidler aracılığıyla türler arasında aktarılabilmekte, hastanelerde salgınlar oluşturabilmekte, yetersiz tedaviler sonucu hastanede kalış süresini uzatabilmekte ve mortalite oranlarını arttırabilmektedir.^{14,15} GSBL pozitiflik oranları şehirler arasında bile farklılık göstermektedir.⁸

Çalışmada bu konuya açıklık getirmek ve yöremizdeki oranları saptamak amacıyla hastanemizde yatan hastalardan üretilen nozokomiyal *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında GSBL varlığının ve oranının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında nozokomiyal patojen olarak soyutlanan 86 *E. coli* ve 14 *K. pneumoniae* suşu (toplam 100 izolat) materyal olarak kullanılmıştır. İzolatlar ardışık olarak soyutlanmış ve çalışmaya dâhil edilmiştir.

Örnekler konvansiyonel yöntemler kullanılarak kültürleri yapılmış ve soyutlanan bakterilerin identifikasyonları ile antimikrobiyal duyarlılık testlerinde Sceptor (Becton Dickinson-USA) sisteminden destek alınmıştır. GSBL araştırılması yanında tüm suşların imipenem duyarlılığına bakılmıştır.

Çift Disk Sinerji Metodu ile GSBL tespiti:

E. coli ve *K. pneumoniae* suşlarında GSBL varlığı ÇDSM ile araştırılmıştır. Bakterilerin 0.5 McFarland yoğunluğunda süspansiyonları eküvyonla Müller Hinton Agar (OXOID, UK) besiyerine yayılmıştır. Merkezde amoksisilin-klavulanat olmak üzere çevresine disk merkezleri arası uzaklık 25 mm olacak şekilde seftriakson (CRO, 30 µg, OXOID), seftaksim (CTX, 5 µg, OXOID), seftazidim (CAZ, 10 µg, OXOID) ve aztreonam (ATM, 30 µg, OXOID) diskleri yerleştirilmiştir. 35 °C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra CAZ, CRO, CTX ve ATM diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun AMC dis-

kine doğru ≥ 5 cm genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasında bakteri üreyen alanlarda üreme olmayan bir bölgenin varlığı ile GSBL üretiminin olduğuna karar verilmiştir.^{6,10,12} Çalışmamızda olanaksızlık sebebiyle standart suş (ATCC suşu) kullanılmamıştır.

Bulgular

Hastane enfeksiyonu etkeni 86 *E. coli* suşunun 21'inde (%24.41), 14 *K. pneumoniae* suşunun altısında (%42.85) GSBL pozitifliği saptanmıştır. GSBL pozitif suşların saptandığı servisler ve suşların izole edildiği örnek türlerinin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Hastanemizde GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının, hastaların uzun süreli yattığı ve sık antibiyotik kullanımının olduğu pediatri, üroloji, dahiliye ve ortopedi servislerinde saptanması ilgi çekici olarak bulunmuştur. Bu çalışmada GSBL pozitif izolatların en çok idrar örneklerinden soyutlandığı gözlenmiştir (Tablo 2).

Çalışmaya alınan izolatların hiçbirinde imipenem direnci tespit edilmemiştir.

Tartışma ve Sonuç

Plazmidlerle aktarılabilen GSBL'ler karbapenemler dışındaki β -laktam antibiyotikleri, özellikle de üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolizle etkisizleştirebilmektedir. GSBL aracılı direnç, plazmidler aracılığıyla türler arasında aktarılabilmekte, hastanelerde salgınlar oluşturabilmektedir. Bu durum tedavi başarısızlığında, hastanede kalış süresinin uzamasında ve mortalite oranlarının artmasında önemli roller üstlenmektedir. Üstelik bu direncin giderek yaygınlaşması da bu sorunu büyütmektedir. Günümüzde tanımlanan GSBL'lerin sayısı farklı türlerde (TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES,

Tablo 1. GSBL pozitif suşların saptandığı servisler

Servis	GSBL pozitif hasta sayısı
Pediatri	14/22
Üroloji	5/14
Yoğun Bakım	4/30
İç Hastalıkları	2/18
Ortopedi	2/16
Toplam	27/100

Tablo 2. GSBL pozitif suşların izole edildiği örnek türlerinin dağılımı

Materyal	GSBL pozitif örnek sayısı
İdrar	17/36
Trakeal aspirat	6/30
Yara	2/21
Kan	2/13
Toplam	27/100

OXA gibi) iki yüzü aşmıştır. *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında GSBL pozitifliğinin sıklığı dünyanın her yerinden bildirilmektedir. Rutin laboratuvarlarda GSBL varlığı tespit edilemeyebilir; bunun için bazı özel testler gerekir. Bunlar; ÇDSM, üç boyutlu test, izoelektrik odaklama, E-Test, moleküler yöntemler ve otomatize sistemlerdir. Bu yüzden GSBL pozitiflik oranlarının bilinenden farklı olduğu düşünülmektedir.^{3,6,7,13,16} GSBL tarama yöntemleri içinde kullandığımız "ÇDSM", özgüllüğü yüksek ve kolay uygulanabilir bir metoddur. Ancak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), GSBL varlığının fenotipik doğrulanmasında araştırılmasında kombine (modifiye) disk difüzyon testinin kullanılmasını önermektedir.^{7,13}

Nozokomiyal kökenli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında GSBL sıklığını araştıran Demirağ ve ark.¹² *Klebsiella* için %47, *E. coli* için %15 oranlarını tespit etmişlerdir. Dizbay ve ark.⁸ bu oranı *K. pneumoniae* suşları için %33.3, *E. coli* suşları için %12 bulmuşlardır. Bayramoğlu ve ark.¹¹ bulduğu değerler ise *K. pneumoniae* ve *E. coli* için sırasıyla %32.8 ve %5.6'dır. Özkan ve ark.⁹ çalışmalarında GSBL pozitifliğini hastane enfeksiyonu etkeni olan *K. pneumoniae* suşları için %66, *E. coli* suşları için %39 olarak vermişlerdir. Tünger ve ark.¹⁷ çalışmalarında GSBL pozitifliği *Klebsiella* suşları için %49.3, *E. coli* suşları için %21.5 olarak bulmuşlardır. Bülüş ve ark.¹⁸ 2000-2002 yılları arasında yürüttükleri GSBL taramasında *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* için pozitiflik oranlarını sırasıyla %48 ve %40 olarak vermişlerdir. Aynı çalışmada *E. coli* suşlarında GSBL oranı %14 bulunmuştur. Kizirgil ve ark.¹⁹ kan kültürlerinden soyutlanan 166 enterik basil üzerinde yaptıkları çalışmada %35'inin GSBL ürettiğini bildirmişlerdir. Korten ve ark.²⁰ dokuz merkezde 5208 Enterobacteriaceae

izolatında GSBL oranını %48.7 olarak bildirmişlerdir. Zarakolu ve ark.²¹ nozokomiyal kökenli *E. coli*'lerde GSBL oranını %28 ve *K. pneumoniae* suşlarında %47 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Dizbay, Bülüş ve Eroğlu'nun çalışmalarında da GSBL pozitif suşlar, bizim çalışmamızda olduğu gibi en çok idrar örneklerinden izole edilmiştir.^{8,18,22}

Yapılan çalışmalarda bildirilen GSBL oranları *E. coli* suşları için %5.6-39 aralığında, *K. pneumoniae* suşları için %32.8-49.3 aralığında değişmektedir. Bu sonuçlarla çalışmada aldığımız sonuçlar uyumludur.

GSBL pozitif olan ve olmayan suşların imipenem duyarlılığı incelendiğinde literatürde de benzer sonuçlar alındığı ve imipenem direncinin pek saptanmadığı görülmektedir.^{15,23}

Sonuç olarak, nozokomiyal enfeksiyonlu hastalardan soyutlanan *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında saptanan GSBL oranlarının azımsanmayacak oranlarda olduğu ve tedavi protokollerinde dikkate alınmayı gerektirdiği görülmektedir. Bu nedenle nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında GSBL varlığının araştırılması ve buna uygun tedavi protokolleri, bu hastaların tedavi başarılarını arttıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Kotapati S, Kuti JL, Nightingale CH, Nicolau DP. Clinical implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* on cefepime effectiveness. *J Infect* 2004;30:1-7.
2. Segatore B, Setacci D, Perili M, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Enterobacteriaceae producing complex beta-lactamase patterns including extended-spectrum enzymes. *J Antimicrob Agent* 2004;23:480-6.
3. Akova M. Dikkat: Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) var! *ANKEM Derg* 2004;18(Ek2):98-103.
4. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.
5. Swenson JM, Hindler F, Jorgensen JH. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th Edition. Washington: ASM Press; 2003. p.1184-95.
6. Schwaber JM, Raney PM, Rasheed JK, et al. Utility of NCCLS Guidelines for Identifying Extended-Spectrum- β -Lactamases in Non-*Escherichia coli* and Non-*Klebsiella* spp. of Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2004; 42:294-8.
7. Ülkar ÜGB, Tülek N, Mert A. Gram-olumsuz basillerde genişlemiş spektrumlu β -laktamaz saptanmasında çift disk sinerji ve E-Test yöntemleri. *İnfek Derg* 1999;13: 385-90.

8. Dizbay M, Karakuş R, Arman D. Hastane infeksiyonu etkeni Gram- negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığının saptanması. *Hast İnfek Derg* 2004;8:40-4.
9. Özkan Ç, Oldacay M, Erdem G. Hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz sıklığı. *ANKEM Derg* 2002;16:65-8.
10. Tenover FC, Mohammed MJ, Gorton TS, Dembek ZF. Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum β -lactamases: Survey of laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol* 1999;37:4065-70.
11. Bayramoğlu G, Karadağ A, Uyar R, Güvenli A, Günaydın M, Leblebicioğlu H. Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması. *ANKEM Derg* 2001;15:730-4.
12. Demirağ K, Kizirgil A, Özden M, Koklan A, Felek S, Toraman AZ. Hastane ve toplum kökenli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz sıklığının araştırılması. *ANKEM Derg* 2001;15:748-52.
13. Koroğlu M, Tekerekoğlu MS, Durmaz B, Durmaz R. Gram negatif çomaklarda Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz varlığını saptamada farklı yöntemlerin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 2001;15:46-52.
14. Stürenburg E, Sobottka I, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new screen agar plate for detection and presumptive identification of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;51:51-5.
15. Yıldız Ü, Durmaz G, Us T, Akgün Y. Genişlemiş spektrumlu Beta- laktamaz salgılayan enterik bakterilerin meopenem, imipenem, sefodizim ve sefepim duyarlılıkları. *İnfek Derg* 2000;14:373-7.
16. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended- spectrum beta-lactamases. *J Clin Microbiol* 1994;32:691-6.
17. Tünger A, Hilmioğlu S, Dibek AM, et al. Hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişlemiş spektrumlu Beta- laktamaz sıklığı. *İnfek Derg* 1998;12:165-8.
18. Bülüç M, Gürol Y, Bal Ç. Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz oranları: 2000-2002. *Türk Mikrobiol Cem Derg* 2003;33:31-4.
19. Kizirgil A, Yakupoğulları Y, Şenol FF, Aşçı Toraman Z. Kan kültürü örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2005;19:111-4.
20. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007 Sep 19 [Epub ahead of print].
21. Zarakolu P, Hasçelik G, Unal S. Antimicrobial susceptibility pattern of nosocomial gram negative pathogens: results from MYSTIC study in Hacettepe University Adult Hospital (2000-2004). *Mikrobiyol Bul* 2006;40:147-54.
22. Eroğlu Ö, Beğendik Cömert F, Külah C, Aktaş E. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* kökenlerinde enzim tiplerinin izoelektrik odaklama yöntemi ile belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg* 2007;37:76-84.
23. Yavuzdemir Ş, Aysev DA, Güriz H. Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz yapan *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003;33:126-9.