

Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESBL sıklığının araştırılması

Füsun Zeynep Akçam, İbak Gönen, Onur Kaya, Güler Yaylı

SDÜ Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları AD, Isparta

Özet

Amaç: Hastane infeksiyonu etkeni olarak sıklıkla izole edilen ve genişlemiş spectrum beta laktamaz (ESBL) yapımları nedeniyle, oluşturdukları infeksiyonların tedavisinde güçlüklerle karşılaştığımız bakterilerin, antibiyotik duyarlılıkları ve ESBL oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Hastane infeksiyonu tanısı almış olan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 135 gram negatif bakteri (83 E.coli, 40 Klebsiella sp, 12 Proteus sp) çalışmaya alınmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle, ESBL yapımı çift disk sinerji testi (ÇDST) ile araştırılmıştır. **Sonuçlar:** Escherichia coli kökenlerinin 6 (%7.2)'sında, Klebsiella kökenlerinin 14 (%35)'ünde; ESBL üretimi saptanmıştır. Proteus kökenlerinde ise ESBL pozitifliği saptanmamıştır. Tüm suşlarda en dirençli beta-laktam antibiyotik %20 oranıyla ampicilin (AMP) iken, imipenem (IPM)'e direnç görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Hastane infeksiyonu, Enterobacteriaceae, genişlemiş spektrum beta-laktamaz, antibiyotik duyarlılığı

Absract

The determination of susceptibility of beta-lactam antibiotics and extended spectrum beta-lactamase production in enterobacteriaceae which responsible from nosocomial infections

Aim: The determination of antibiotic susceptibilities and production of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) in bacteria which most causes of nosocomial infections that we forced with its treatment is aimed.

Material and Method: 135 gram-negative bacteria (83 E.coli, 40 Klebsiella spp, 12 Proteus spp) were included in the study which isolated from various patients who defined that nosocomial infection. The antibiotic susceptibilities were determined with disc diffusion method, and the production of ESBL was studied with double disc synergy test (DDST). **Results:** The production of ESBL were found in 6 (7.2%) of E.coli, and in 14 (35%) of Klebsiella spp. The ESBL was not found in any Proteus spp. In all bacteria, ampicillin (AMP) was the most resistant (20%) beta-lactame antibiotics. No resistant bacteria were found to imipenem (IPM).

Keywords: Nosocomial infection, Enterobacteriaceae, extended spectrum beta-lactamases, antibiotic susceptibility

Giriş

Hastane infeksiyonları gerek tedavi zorluğu gerekse yüksek mortalite ve morbiditeye sahip olmaları nedeniyle günümüz tıbbının en önemli sorunları arasında yer almaktadır(1). Hastane infeksiyonu etkenleri ve direnç profilleri ülkeler arasında, hastaneler arasında ve hatta aynı hastanenin değişik birimleri arasında bile farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle her hastane kendi florasını ve direnç profilini saptamalıdır. Bu, gerek hastane infeksiyonlarının kontrolü, gerekse ampirik antibiyotik seçimi açısından önemlidir.

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden ve inaktif hale getiren beta-laktamaz üretimi, başta Entero-bacteriaceae üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir. Sayıları

350' ye ulaşan beta-laktamazlardan yaklaşık 150 tane si genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (Extended Spektrum Beta Lactamases=ESBL) olup plazmidik özellikleri nedeniyle bakteriler arasında aktarılabilirler(2,3). ESBL' ler, Gram negatif çomaklarda bulunan, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir(4). ESBL' lere en çok Klebsiella türleri ve E. coli' de rastlanmakla birlikte son yıllarda diğer patojen bakteriler arasında da hızla yaygınlaşmaktadır(5). ESBL üreten bakterilerle infeksiyon riskini arttıran çeşitli faktörler; uzun süre hastanede yatış, yoğun bakım ünitesinde bulunma, idrar, venöz vb. kateter uygulamaları gibi çeşitli girişimler ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik kullanımı gibi faktörlerlerdir(6). ESBL üreten bakterilerin, hastane infeksiyonu etkeni olarak sıklıkları artmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavilerinde güçlüklerle karşılaşmaktadır(7,8).

ESBL üreten kökenlerin saptanmasında çift disk sinerji testi (ÇDST), E-test ve üç boyutlu test gibi değişik yöntemler kullanılabilir(9,10). ESBL üretimini saptamada en sık kullanılan yöntem ise, günlük

Yazışma Adresi:

Dr. F. Zeynep Akçam
Çelebiler Mah. 137. Cad. Hubanlar Apt. No: 10 Kat:1 İSPARTA
Telefon: 2112500
E-posta: fzeynep@med.sdu.edu.tr

uygulamaya yatkın ve üzerinde en fazla araştırma yapılmış olan ÇDST olup bu yöntemde beta-laktam ve beta-laktamaz inhibitörleri arasında sinerji varlığı araştırılır (11,12).

ESBL üreten kökenlerin penisilinler, sefalosporinler ve aztreonama dirençli oldukları halde rutin antibiyogramda duyarlı bulunabilmeleri ve bu antibiyotiklerin kullanıldığı tedavilerde sorunlarla karşılaşılması nedeniyle, bu enzim üretiminin gösterilmesinin gerekli olduğu bildirilmektedir(13).

Bu çalışmada, hastanemizde, hastane infeksiyonu etkeni olarak saptanan Enterobacteriaceae üyesi Gram negatif çomakların çeşitli beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık durumu ve ESBL üretim sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

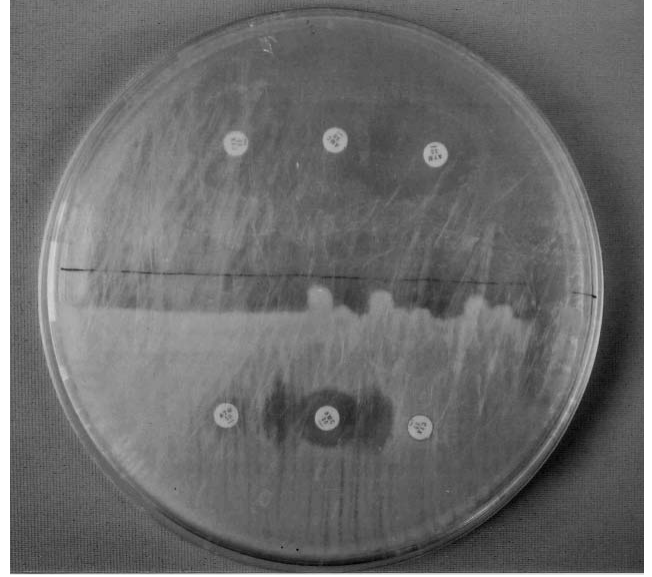
Gereç ve Yöntemler

Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarında, hastane infeksiyonu tanısı alan olgulardan izole edilen Enterobacteriaceae üyeleri arasından, 83 E.coli, 40 Klebsiella spp ve 12 Proteus spp çalışmaya alınmıştır. Grup sayısı 10'un altında olan bakteriler çalışmaya dahil edilmemiştir. İlk izolasyonlarında konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle isimlendirilip saklanan bakterilerin, çalışma sırasında 24-48 saatlik subkültürleri kullanılmıştır.

Çalışmaya alınan bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları NCCLS önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir(14). Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz yapımı ÇDST ile araştırılmıştır. Bu amaçla; 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanan bakteri süspansiyonları Mueller-Hinton agar (Oxoid, England) yüzeyine yayılmış, besiyeri merkezine amoksisilin-klavulanik asit (AMC) diski ile çevresine, ondan 25 mm uzaklıkta olacak şekilde seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ), sefotaksim (CTX) ve aztreonam (ATM) diskleri (Oxoid, England) yerleştirilmiştir. Etüvdeki 24 saatlik inkübasyonu takiben, CRO, CAZ, CTX veya ATM inhibisyon zonlarında AMC diskine doğru belirgin genişleme olması yada iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin inhibe olduğu bir bölgenin görülmesi ESBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir (Resim 1). İnhibisyon zon çapları dar yada geniş olduğu için efeklin anlaşılmadığı durumlarda, diskler arası mesafe değiştirilerek test tekrar edilmiştir.

Sonuçlar

Çalışmaya alınan bakterilerin çeşitli beta-laktam antibiyotiklere olan duyarlılıkları Tablo 1' de gösterilmiştir. Ampisilin (AMP), sefuroksim (CXM) ve sefazolin (KZ) her üç mikroorganizma için de en az duyarlı antibiyotikler olarak gözlenirken, piperasilin-



Resim 1 : ÇDS yöntemi ile belirlenen ESBL etkileri

tazobaktam (TZP) ve sefoperazon-sulbaktam (SCF)'a yüksek oranda duyarlılık olduğu görüldü. Seftazidim (CAZ) ve sefotaksim (CTX), E.coli ve Proteus spp. izolatlarında %80'in üzerinde etkili iken, Klebsiella spp.'ler, CAZ'e %40.0, CTX'e %32.5 gibi yüksek oranlarda dirençli bulunmuştur. Çalışmaya alınan bakteriler arasında imipenem (IPM)' e karşı direnç gözlenmemiştir.

Escherichia coli ve Klebsiella spp. izolatlarında ESBL varlığı sırasıyla %7.2 ve %35.0 olarak saptandı. Proteus spp.'lerde ise ESBL varlığı gösterilemedi.

Tartışma

Hastanemiz sürveyans sonuçlarına göre, Enterobacteriaceae üyelerinden E.coli ve Klebsiella spp., Pseudomonas aeruginosa' dan sonra en sık Gram negatif hastane infeksiyonu etkenleri arasında yer

Tablo 1 : Hastane İnfeksiyonu etkeni Enterobacteriaceae üyesi bakterilerde çeşitli beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık.

Antibiyotik	E. coli		Klebsiella spp.		Proteus spp.	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
AMC	67	80,7	29	72,5	9	75
AMP	24	28,9	1	2,5	2	16
TZP	30	88,2	20	80	7	100,0
KZ	47	56,6	19	47,5	6	50
CXM	70	84,3	21	52,5	8	66,6
CRO	75	90,3	24	60,0	9	75
ZOX	79	95,1	29	72,5	10	83,3
CTX	76	91,5	27	67,5	11	91,6
CAZ	76	91,5	24	60,0	10	83,3
SCF	79	95,1	34	85,0	12	100,0
IPM	83	100,0	40	100,0	12	100,0

AMC:Amoksisilin-klavulanik asit AMP: Ampisilin TZP: Piperasilin-tazobaktam KZ: Sefazolin CXM :Sefuroksim CRO :Seftriakson ZOX :Seftizoksim CTX :Sefotaksim CAZ : Seftazidim SCF :Sefaperazon-sulbaktam IPM : İmipenem

almaktadır(15,16). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de özellikle ESBL salgılayan Enterobacteriaceae üyelerinin etken olduğu infeksiyonlar artış göstermektedir. ESBL' ler hemen hemen tüm enterik bakterilerde tanımlanmış olmasına rağmen sıklıkla *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde bulunmaktadır(17,18). Ülkemizden, Aktaş ve ark.(19) ESBL üretimini ÇDST yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında, 52 *E. coli*'de %19.2, 12 *Klebsiella pneumoniae*'da % 58.3 olarak saptarlarken, 6 *Proteus* kökeninde bu çalışmada olduğu gibi ESBL pozitifliği saptamamışlardır. Şahin ve ark.(20) ise aynı yöntem ile, çalışmalarına aldıkları 108 *E. coli*, 44 *Klebsiella* spp. ve 22 *Proteus* spp.'de sırasıyla % 19.4, % 15.9 ve % 13.6 oranlarında ESBL pozitifliği saptamışlardır. Yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda da ESBL sıklığı *Klebsiella* kökenlerinde %13.0 ile %86.6, *E. coli* kökenlerinde %11.0 ile %63.6 oranları arasında rapor edilmiştir(21-23). Gerek ülkemizde gerekse yurtdışındaki ESBL oranlarında görülen farklılıklar, bakterilerdeki enzim üretim sıklığının belli şartlarla değişiyor olması ile ilgilidir. (6) Enzim üretimindeki artışın geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik kullanımıyla yakın ilişkili ve beta-laktam direncindeki artışla paralel olduğu bilinmektedir(24). Özkan ve ark.(25) *E. coli*'lerde seftriakson, seftazidim ve sefotaksim gibi 3. kuşak sefalosporinlere %80-85 oranında duyarlılık saptarken *Klebsiella pneumoniae* suşlarında ise bu çalışmada olduğu gibi düşük oranda duyarlılık (%60-63) saptamışlardır. Hastanemizdeki *Klebsiella* kökenlerinde görülen üçüncü kuşak direnci de bu bakterilerdeki ESBL üretimi ile orantılıdır.

Değişik ülkelerde ve merkezlerde yapılan çalışmalar beta-laktam antibiyotiklere direncin artmakta olduğunu ve bunun dünya çapında bir sorun olduğunu göstermektedir. Son on yılda plazmidle kodlanan ESBL' ler çok hızlı bir şekilde artmıştır. Halen bu suşların çoğu beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlarla tedavi edilebilmektedir. Ancak bu kombinasyonlarla tedavi edilemeyen suşların sayısı da giderek artmaktadır(1,26). Ayrıca ESBL üreten suşlar değişik mekanizmalarla diğer antibiyotik sınıflarına da gitkiçe artan oranda direnç geliştirmekte olup, eğer önlem alınmassa gelecekteki antibiyotik seçeneklerimizin son derece kısıtlanacağı öngörülmektedir(24). Hastanemizde, özellikle *Klebsiella* kökenleri başta olmak üzere yüksek ESBL üretimi ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı azalan duyarlılık sözkonusudur. Geniş bir endikasyona sahip olan bu grup antibiyotiklerle ampirik tedavi tercih edildiğinde tedavi başarısızlıkları görülebilir. Problem halen sadece *Klebsiella* ile oluşan infeksiyonlar için görülmektedir. Ancak, direnç özelliklerinin, farklı tür bakteriler arasında da yayılabildiği bilinmekte olup,

öngörüldüğü şekilde hastanemizde de ciddi sıkıntılar yaşanabileceği açıktır.

Sonuç olarak; antibiyotik direnci artış hızını azaltabilmek adına, her zaman üzerinde durulan fakat her zaman yeterli derecede uygulanamayan rasyonel antibiyotik kullanımı için ısrarcı olunması gerektiğini bu çalışma ile bir kez daha hatırlatmak istiyoruz.

Kaynaklar

1. Korten V. Hastane İnfeksiyonları. Toçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. eds. İnfeksiyon hastalıkları kitabında. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi. Birinci baskı 1996; 281-91
2. 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
3. Bush K. New beta-lactamases in gram negative bacteria. Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001; 32(7): 1085-89
4. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, et all. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National committee for clinical laboratory standards extended-spectrum -lactamase detection methods. JCM 2001; 39(8): 2864-72
5. Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in gram negative bacteria; Global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992; 15(5): 824-83
6. Gür D. Beta-laktamazlar. Flora 1997; 3(Ek-1) : 1-16
7. Bermudes H, Arpin C, Jude F, El-Harrif Z, Bebear C, Quantin C. Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in a French hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16(7): 523-29
8. Procop GW, Tuohy MJ, Wilson DA, Williams D, Hadziyannis E, Hall GS. Cross-class resistance to non beta-lactam antimicrobials in extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. Am J Clin Pathol 2003; 120(2): 265-67
9. Bal Ç. Beta-laktamazlar: Güncel durum. Flora 2003; 8(2):111-23
10. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of beta-lactam resistance among nonfastidious gram negative bacilli. Infect Dis Clin N America 1993; 7(2): 411-23
11. Gill VJ, Fedorko DP, Witebsky FG. The clinician and microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, (eds). Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2000: 184-221
12. Livermore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase mediated resistance. J Antimicrob Chemother 2001; 48: (suppl 1): 59-64
13. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rew 1995; 8(4): 557-84
14. National committee for clinical laboratory standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Ninth Informational Supplement, M100-S9, Wayne (1999).
15. Akçam Z, Tan G, Duran A. SDÜ Tıp Fakültesi hastane

- infeksiyonları 2001 yılı sürveyans sonuçları. Hastane İnfeksiyonları Kongresi 2002, Kongre kitabı s: 82
16. Yaylı G, Gürdal H, Duran A, Tan G. SDÜ Tıp Fakültesi Hastanesinde 1998-2000 yılları arasında görülen hastane infeksiyonları. Hastane İnfeksiyonları Kongresi 2002, Kongre kitabı s: 81-82
 17. Bush K. Is it important to identify extended spectrum beta-lactamase producing isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15(5): 361-4
 18. Coudron PE, Moland S, Sander CC. Occurrence and detection of extended spectrum -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae at a Veterans Medical Center; seek and you may find. *J Clin Microbiol* 1997; 35(10): 2593-6
 19. Aktaş H, Şahin , Yiğit N, Al F, Tuncel E. Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji ve E-test yntemleri ile araştırılması. *İnfek Derg* 2001; 15(3): 325-28
 20. Şahin İ, Kaya D, ksz , Okay A, Şencan İ, ztrk E. Klinik örneklerden izole edilen gram negatif omaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı. *İnfek Derg* 2003 ; 17(1): 45-8
 21. Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal SK. Prevalance of extended spectrum beta-lactamase producing gram negative bacteria in septicemic neonates in tertiary care hospital. *J Med Microbiol* 2003; 52(5): 421-25
 22. Tzelepi E, Magana CH, Platsouka E, Safianou D, Paniara O, Legakis NJ, Vatopoukus AC, Tzouvelekis LS. Extended spectrum beta-lactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21(3): 285-88
 23. Ho PL, Tsang DN, Que TL, Ho M, Yuen KY. Comparison of screening methods for detection extended spectrum beta-lactamases and their prevalance among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. *APMIS* 2000; 108(3): 237-40
 24. Rice L. Extended spectrum -lactamase: Evolution and clinical importance. *CHEST* 2001; 119(2 suppl): 391-96
 25. zkan , 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):65-68.
 26. Inoue M. Beta-laktam direncinde önemli noktalar ve yanıtlar. Birinci "Net Care" Toplantısı metinleri. Monte Carlo, Ekim 1999