

HASTANE KAYNAKLI GRAM-NEGATİF BAKTERİLERDE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZLAR

EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE IN GRAM-NEGATIVE BACILLI ISOLATED FROM NOSOCOMIAL INFECTIONS

Mehmet Faruk GEYİK Ömer Faruk KÖKOĞLU Hasan UÇMAK M. Kemal ÇELEN
Salih HOŞOĞLU Celal AYAZ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Diyarbakır

Anahtar Sözcükler: Gram-negatif bakteri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, E-test, hastane infeksiyonu

Key Words: Gram-negative bacteria, extended spectrum beta-lactamase activity, E-test, nosocomial infections

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; Dicle Üniversitesi Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Merkez Laboratuvarı'nda bir yıllık sürede değişik klinik örneklerden soyutlanan, Centers for Disease Control (CDC) kriterlerine göre hastane infeksiyonu etkeni kabul edilen 124 Gram-negatif bakteride genişlemiş spektrumlu beta-laktamazları (GSBL) E-test yöntemiyle araştırmaktır. En sık GSBL üreten suşlar Klebsiella spp. %45 (15/33), Escherichia coli'de %32 (10/31), Pseudomonas spp.'de %13 (3/24), Enterobacter spp.'de %27 (3/11), Acinetobacter spp.'de %22 (2/9) ve Proteus spp.'de %14 (1/7) olarak bulunmuştur. İzole edilen 124 suştan 38'inin (%31) GSBL ürettiği belirlenmiştir. Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen Gram-negatif bakterilerde, özellikle Klebsiella spp. ve Escherichia coli suşlarında GSBL üretimi araştırılmalıdır. Bu infeksiyonlarda kullanılacak uygun antibiyotik seçiminde bakterilerin GSBL pozitifliğinin de dikkate alınması gerekir.

SUMMARY

The purpose of the study was to determine extended spectrum beta-lactamase (ESBL) activity in nosocomial Gram-negative bacilli. The nosocomial bacterial isolates from Dicle University Hospital Infectious Disease Laboratory and Central Laboratory during a one-year period were assessed according to Centers for Disease Control (CDC) criteria. In this period, 124 nosocomial Gram-negative bacteria were studied to determine extended spectrum beta-lactamase (ESBL) expression by using E-test method. The ESBL expression was seen mostly in 45% (15/33) of Klebsiella spp., 32% (10/31) of Escherichia coli, 27% (3/11) of Pseudomonas spp., 27% (3/11) of Enterobacter spp., 22% (2/9) of Acinetobacter spp. and 14% (1/7) of Proteus spp.. Totally, ESBL expression was detected in 38 out of 124 strains (31%). Extended spectrum beta-lactamase production should be screened in nosocomial Gram-negative bacteria especially in E. coli and Klebsiella spp. The presence of ESBL must be considered for choosing appropriate antibiotic treatment of their infections.

GİRİŞ

Günümüzde antibiyotiklere karşı gittikçe artan direnç sorunu, bütün dünyayı tehdit etmektedir. Gram-negatif bakterilerde (GNB) antibiyotik direncinin en önemli nedenle

rinden biri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) üreten suşların varlığıdır (1). Bu enzimler hastane kaynaklı infeksiyonlarda daha önemlidir. Bunlar oldukça yaygın olmaları ve hızla yayılmaları nedeniyle

bütün dünyada sorun olmaya devam etmektedirler. Gelişmekte olan ülkelerde hijyen kurallarına uyum eksikliği ve antibiyotik kullanımının rasyonel olmayışından dolayı bu sorun gittikçe daha genişlemektedir. Bakteriler arasında GSBL kodlayan plazmitlerin kolayca geçiş yapabilmesi ve bu suşların uzun dönemde çoklu dirençli plazmitleri biriktirmesi sonucunda hastane kaynaklı infeksiyonların direncinde GSBL türleri çok önemli bir yer oluşturmaktadır (2). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlar seftazidim başta olmak üzere bütün üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonama karşı direnç kazanırlar. Bu suşlar piperasilin, mezlosilin, aminoglikozit ve kinolonlara karşı da değişik mekanizmalarla direnç geliştirebilirler, ancak karbapenem türevlerine karşı genellikle duyarlı kabul edilirler (3). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten en önemli bakteriler *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarıdır. Klinik örneklerden izole edilen bu suşların beta-laktam ilaçlara karşı test edilmesi önerilmektedir (4).

Gram-negatif bakteri suşlarının GSBL pozitifliğiyle ilgili olarak Türkiye’de yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak büyük şehirlerde ve belli coğrafik alanlardan yapılmış yayınlardır. Dicle Üniversitesi Hastanesi’nde (DÜH) GSBL pozitifliğini gösterir bir çalışma şu ana kadar yapılmamıştır. Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu Bölgesi için referans hastane konumunda olan DÜH’de nozokomiyal infeksiyonlardan sorumlu GNB’lerde GSBL oranını saptamak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Dicle Üniversitesi Hastanesi 1050 yataklı, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu’nun bir kısmına hizmet veren bir bölge hastanesidir. Bu çalışmaya, Dicle Üniversitesi Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Merkez Laboratuvarı’nda değişik klinik örneklerden etken olarak soyutlanan, Centers for Disease Control (CDC) kriterlerine göre hastane infeksiyonu etkeni kabul edilen GNB’ler alınmıştır (5). İzole edilen bakterilerin identifikasyonu için Vitek®, (bioMérieux®, Fransa) otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptaması için; McFarland 0.5 standardına göre hazırlanmış bakteri süspansiyonu Mueller–Hinton agar besiyerine yayıldıktan sonra bir tarafında seftazidim diğer tarafında seftazidim+klavulanat bulunan E-test şeritleri (AB Biodisk®) her besiyerine birer tane olacak şekilde yerleştirilip 35°C’de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri okunmuştur. E-test ile seftazidim MİK değerinin seftazidim+klavulanat MİK değerine oranının sekiz veya daha fazla olması GSBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir (6).

BULGULAR

Nozokomiyal infeksiyon etkenleri olarak klinik örneklerden en sık izole edilen 124 GNB’nin dağılımı; *Klebsiella* spp. % 27, *Escherichia coli*% 25, *Pseudomonas* spp. % 19, *Enterobacter* spp. % 9 *Acinetobacter* spp. % 7, *Proteus* spp. % 6, *Serratia marcescens* ve *Citrobacter freundii* % 2 olarak bulunmuştur. Aynı hastadan izole edilen tekrarlayan suşlar çalışma dışı bırakılmıştır. Nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen GNB’ler ve GSBL pozitifliği Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastane kaynaklı Gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları

Bakteri	Sayı	GSBL (+)	%
<i>Klebsiella</i> spp.	33	15	45
<i>E. coli</i>	31	10	32
<i>Pseudomonas</i> spp.	24	3	13
<i>Enterobacter</i> spp.	11	3	27
<i>Acinetobacter</i> spp.	9	2	22
<i>Proteus</i> spp.	7	1	14
<i>Serratia marcescens</i>	3	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	2	0	0
*Diğerleri	4	0	0

* *Aeromonas veronii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*

Klebsiella suşlarının 15’i (% 45) GSBL pozitif bulunmuştur. Bunların içinde dört tanesi Çocuk Cerrahisi Kliniği ameliyathanesinden kaynaklanan hastane infeksiyonu epidemisinde izole edilmiştir.

TARTIŞMA

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar oldukça geniş bir çeşitlilik gösterirler. Plazmit kontrolünde olan TEM ve SHV enzimleri penisilinleri ve seftazidim başta olmak üzere üçüncü kuşak sefalosporinlerin çoğunu yıkmaktadır. Yeni sefalosporinlere dirençli ilk GSBL 1983 yılında Almanya’dan bildirildi (7). Ardından beta-laktam antibiyotiklere karşı GSBL’lar tarafından oluşturulan ciddi bir direncin hızla yayıldığı gözlemlendi. TEM-1 ve SHV-1 genlerinin mutasyonu ile oluşan bu enzimler diğer mikroorganizmalara kolayca transfer olabilmektedirler (8).

Klebsiella ve *E. coli* suşlarında GSBL pozitifliği dünyanın her yerinden sıklıkla bildirilmesine rağmen GSBL üreten bu suşların gerçek sıklığı oldukça değişiktir. TEM veya SHV derivesi GSBL’ların büyük çoğunluğu hastane kaynaklıdır ve sıklıkla hastane kaynaklı salgınlara yol açarlar. Birçok laboratuvar rutin olarak GSBL taraması yapılmamakta ve rutin yöntemler ile GSBL pozitif suşlar her zaman yakalanmamaktadır (4). Genişlemiş

spektrumlu beta-laktamaz saptamada özgüllüğü ve duyarlılığı en yüksek test agar dilüsyon yöntemi olmasına rağmen rutin kullanımı zor bir yöntemdir. Çalışmada kullanılan E test ve çift disk sinerji yönteminin GSBL üreten suşları saptamada en iyi yöntemler olduğu bildirilmiştir (9).

Gelişmekte olan ülkelerde daha sık olmak üzere, özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatanlar, immün yetmezliği olanlar, yanık ünitelerinde yatanlar ve kanserli hastalar yüksek riskli grubu oluşturmaktadırlar. Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Avrupa ülkelerinin bir kısmında GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının oranı % 1'ler civarındadır ve halen çok ciddi bir problem oluşturmamaktadır (10, 11). Batı ve Güney Avrupa ülkelerinde 35 YBÜ'ni kapsayan bir surveyans çalışmasında (11); *Klebsiella* suşlarında GSBL pozitifliği 1994 yılında % 23, aynı gruptan 21 YBÜ'de 1997-1998 döneminde % 25 olarak bulunmuştur.

Ekonomik düzeyi ve sağlık hizmetlerinin kalitesi daha düşük ülkelere bildirilen çalışmalarda GSBL pozitifliği gelişmiş ülkelere oranla çok daha yüksektir. Bu ülkelerde GSBL üreten suşların sıklığı morbidite ve mortaliteyi artırmakta ve ekonomik olarak büyük kayıplara neden olmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşların çoğu, yatan hastalardan izole edilen ve sıklıkla *Klebsiella* suşlarıdır. *Enterobacteriaceae*'nin diğer üyeleri de GSBL üretebilmektedir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitif bakteriler çoğu zaman β -laktam dışındaki antibiyotik gruplarına karşı da dirençlidir. Örneğin, GSBL pozitif *E. coli* suşlarının % 55'inin amikasinine, % 48'inin siprofloksasine dirençli olduğu belirlenmiştir (12). *Klebsiella* suşları arasında GSBL sıklığı % 20'lerden yüksektir ve bazen bu sayı % 50'nin üzerine çıkmaktadır. *Escherichia coli* suşları arasında ise nispeten daha düşük oranlar bildirilmektedir. Ancak bazen bunların da oldukça yüksek oranlara ulaştığı görülmektedir (13, 14). Yazarların çalıştığı hastanedeki GSBL pozitif suş oranının yüksek olması nedeniyle hastaneden izole edilen *Klebsiella* suşlarında beta-laktam direnci mutlaka araştırılmalıdır. Ayrıca yurt dışında ve Türkiye'de *Klebsiella* suşlarının çocuklarda artan sayıda salgınlar yaptığı rapor edilmiştir (15). Çalışmanın yapıldığı dönemde de Çocuk Cerrahisi Kliniği'nde *K. pneumoniae*'nin neden olduğu bir salgın gözlenmiştir.

Türkiye'de GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının özellikle hastane infeksiyonlarında antibiyotik direncinin en önemli nedeni olduğu bilinmektedir. Gür ve ark. (16, 17)

nın çalışmalarında, GSBL üreten suşlarının % 25'lere varan sıklıkta olduğu görülmektedir. Türkiye'de beta-laktamaz üreten suşların *E. coli* ve *K. pneumoniae* infeksiyonlarında önemli bir yeri olduğunu gösteren birçok başka çalışma da vardır (18-21). *Klebsiella pneumoniae* suşları arasında GSBL üreten suşlar % 52'den % 88.6'ya kadar değişen oranlarda bildirilmiştir (22-24). Özer ve Mutlu (25)'nin çalışmasında, *E. coli* suşlarında bu oran % 11 olarak bulunmuştur. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen Gram-negatif basillerin antibiyotik duyarlılığıyla ilgili yapılan çok merkezli bir çalışmada (12), antibiyotik direncinin en önemli nedeni olarak GSBL üretimi gösterilmektedir. Leblebicioğlu ve ark. (26)'nın çalışması, GSBL pozitifliğinin hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *E. coli* suşlarında % 15.5 ve *K. pneumoniae* suşlarında % 55.5 olduğunu göstermiştir. Avrupa'da YBÜ'lerinden izole edilen bakteriler arasında GSBL sıklığı en yüksek ülke Türkiye olarak görülmektedir (19). Bu çalışmadaki % 45'lik oran bu sonuçlara benzerdir. *Klebsiella* suşlarındaki bu yüksek GSBL oranlarının diğer GNB'den farklı olarak deri ve yüzeyle daha uzun süre canlı kalabilmesine bağlanmaktadır (27). Literatürde *Enterobacter* suşlarında % 4-44, *Pseudomonas* suşlarında % 0-18 ve *Citrobacter* suşlarında % 0-6 oranları bildirilmiştir (9). Çalışmada dört *Proteus* suşundan sadece birinde GSBL pozitifliği saptandı. Yayınlarında *Proteus* suşlarında düşük oranda GSBL pozitifliğinden söz edilmektedir (16).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz epidemiolojisi ile ilgili yapılan çalışmaların bazıları az sayıda suş içermekte ve genelde tek merkezli oldukları için sadece bir bölgedeki GSBL epidemiolojisini yansıtmaktadırlar. *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının GSBL pozitifliğiyle ilgili olarak Türkiye'de yapılan çalışmalar ağırlıklı olarak büyük şehirlerde ve belli coğrafi alanlardan yapılmıştır. Doğu ve Güneydoğu Anadolu'dan GNB'lerde GSBL pozitifliğini ve bunun antibiyotik direncindeki yerini gösterir geniş kapsamlı bir çalışma şu ana kadar yapılmamıştır. Saklamaya alınan bu bakterilerde ileride yapılacak moleküler çalışmalarla bu suşların sahip olduğu GSBL'ların tiplendirilmesi mümkün olacaktır. Uygunuz antibiyotik kullanımına bağlı olarak GSBL pozitif GNB'lerin yıllar içinde artış gösterdiği açıktır. Bu nedenle her hastane kendi nozokomiyal infeksiyon etkenlerini ve antibiyotik direnç paternlerini araştırmalıdır. Hastane kaynaklı GNB'lerde GSBL araştırmasıyla rasyonel antibiyotik kullanımına katkıda bulunulacaktır.

KAYNAKLAR

1. Sanders CC, Sanders WE. β -lactam resistance in Gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 824-83.
2. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-84.
3. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora* 2001; 6 (Ek 1): 3-23.
4. 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.

5. **Akalin HE.** CDC Nosokomial enfeksiyon tanımları. Akalin HE, ed. *Hastane Enfeksiyonları*'nda. 1. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, **1993**; 251-66.
6. **Gökahmetoğlu S, Eşel D, Karaca N, Sümerkan B.** *Klebsiellave E. coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-lakamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem, çift disk sinerji ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* **2001**; 15: 98-102.
7. **Knothe GP, Shah P, Kremery V, Antai M, Mitsuhashi S.** Transferable resistance to cefotaxime, ceftioxin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *K. pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* **1983**; 11: 315-7.
8. **Sirot D.** Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* **1995**; 36 (Suppl A): 19-34.
9. **Köroğlu 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.
10. **Palucha A, Mikiewicz B, Hryniewicz W, Gniadkowski M.** Concurrent outbreaks of extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms of the family Enterobacteriaceae in a Warsaw hospital. *J Antimicrob Chemother* **1999**; 44: 489-99.
11. **Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, Weinstein RA.** Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* **1999**; 281: 517-23.
12. **Gunseren F, Mamikoglu L, Ozturk S, et al.** A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* **1999**; 43: 373-8.
13. **Biedenbach DJ, Johnson DM, Jones RN.** *In vitro* evaluation of cefepime and other broad-spectrum beta-lactams in Taiwan medical centers. The Taiwan Antimicrobial Resistance Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1999**; 35: 299-305.
14. **Lewis MT, Gales AC, Sader HS, Pfaller MA, Jones RN.** Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns for pathogens isolated from Latin American patients with a diagnosis of pneumonia: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1998). *Diagn Microbiol Infect Dis* **2000**; 37: 63-74.
15. **Royle J, Halasz S, Eagle G, Gilbert G, Dalton D, Jelfs P, Isaacs D.** Outbreak of extended spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* **1999**; 80: 64-8.
16. **Gur D, Akalin HE, Baykal M.** Resistance of gram negative bacteria to new generation cephalosporins and the role of beta-lactamases in this type of resistance. *Mikrobiyol Bült* **1988**; 22: 193-8.
17. **Gur D, Pitt TL, Hall LM, Akalin HE, Livermore DM.** Diversity of klebsiellae with extended-spectrum beta-lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect* **1992**; 22: 163-7.
18. **Sultan N, Kutluay L E, Çağlar K.** Hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu etkeni bakterilerin beta-laktamaz aktivitesi ve bu bakterilere sulbaktam+sefoperazonun *in-vitro* etkisi. *ANKEM Derg* **1992**; 6: 146.
19. **Pfaller MA, Korten V, Jones RN, Doem GV.** Multicenter evaluation of the antimicrobial activity for seven broad-spectrum beta-lactams in Turkey using the E test method. Turkish Antimicrobial Resistance Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1999**; 35: 65-73.
20. **Kocabeyoğlu O, Koşan E, Öztürkeri H, Yılmaz M, Özer FT.** Gram-negatif bakterilerde beta-laktamaz aktivitesinin araştırılması. *ANKEM Derg* **1991**; 5: 128.
21. **Erdem İ, Mülazımoğlu L, Bakkal M, Güldüren S, Dodanlı S, Vahaboğlu H.** Taksim Hastanesinde 1993-94 yıllarında izole edilen Gram-negatif bakterilerin antibiyotik direnç paternleri ve beta-laktamaz türleri. *ANKEM Derg* **1995**; 9: 131.
22. **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: 14-8.
23. **Derbentli Ş, Katrancı H, Nakipoğlu Y.** Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* **1996**; 10: 1-13.
24. **Gulay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG.** High prevalence of extended spectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a University Hospital in Turkey. *J Chemother* **2000**; 12: 145-52.
25. **Özer M, Mutlu G.** Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının beta-laktamaz etkinlikleri ve üçüncü kuşal sefalosporinlere duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bült* **1995**; 29: 338-43.
26. **Leblebicioğlu H, Nas Y, Eroglu C, Sunbul M, Esen S, Gunaydin M.** Detection of extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Chemother* **1999**; 11: 103-6.
27. **Gür D.** β -laktamazlar. *Flora* **1997**; 2 (Ek 3): 3-18.