

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığı ve Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz oranı

*Antibiotic Susceptibility and Extended Spectrum β -lactamase Positivity of *Escherichia coli* Strains Isolated from Blood Cultures*

Uğur Arslan¹, Hatice Türk Dağ², Şerife Yüksekaya¹, Elif Uysal¹, İnci Tuncer¹

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
²Batman Bölge Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

ÖZET

Amaç: Kan akımı enfeksiyonları sıklıkla yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Antibiyotik duyarlılık paternleri bakteremili hastalarda ampirik anti-mikrobik tedavi seçimi için yol göstermelidir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) gram negatif bakterilerde beta-laktam direncinin en önemli sebebidir. Bu çalışmanın amacı kan akımı enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını ve GSBL üretimini saptamaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, 01/01/2004-31/12/2007 tarihleri arasında kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, CLSI önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışıldı. GSBL üretimi, CLSI standartlarına göre çift disk sinerji testi ile tarandı ve fenotipik doğrulama testi ile belirlendi. ESBL pozitif ve negatif suşların yıllara göre dağılımı değerlendirildi.

Bulgular: İzole edilen 182 *E. coli* suşunun, 81'i (%44.5) GSBL pozitif idi. GSBL oranının 2004- 2007 yılları arasında arttığı gözlemlendi fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. GSBL üreten suşlar, meropenem %100, amikasin %84, siprofloksasine %19, piperasilin-tazobaktam %79, trimetoprim-sulfametaksazole %32, gentamisine %37 oranında duyarlı bulundu. Amoksisiline ise duyarlı suş yoktu. GSBL üretmeyen suşların duyarlılıkları, meropenem %100, amikasin %90, siprofloksasin %84, piperasilin-tazobaktam %97, trimetoprim-sulfametaksazol %55, gentamisin %88 ve amoksisilin %28 olarak saptandı. GSBL üreten ve üretmeyen organizmaların antibiyotik duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

Sonuç: Bu sonuçlar, kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında GSBL üretiminin oldukça yüksek ve GSBL üreten ve üretmeyen suşlara karşı meropenemin en etkili ajan olduğunu göstermektedir. GSBL kaynaklı β -laktam direnci, coğrafi bölgeler içinde ve arasında farklılık göstermekle birlikte dünyada oldukça yaygındır ve hastaneler uygun antimikrobik tedavi için kendi oranlarını bilmek zorundadır.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, kan kültürü

SUMMARY

Objectives: Bloodstream infections are frequently associated with high morbidity and mortality. Antimicrobial susceptibility patterns should guide empirical antimicrobial regimens in bacteremic patients. Extended-spectrum β -lactamases (ESBL) are the most frequent cause of beta-lactam resistance in gram negative bacteria. The aim of this study was to determine the antibiotic susceptibilities and the ESBL production of *Escherichia coli* strains isolated from bloodstream infections.

Materials and methods: In this study, antibiotic susceptibilities of *E. coli* strains isolated from bloodstream infections between January 2004-January 2008 have been studied by Kirby-Bauer disk diffusion method according to the recommendations of CLSI. ESBL production was screened by double disc synergy method and confirmed by phenotypic confirmatory test according to CLSI performance standards. The distribution of ESBL positive and negative strains were also evaluated according to the years.

Results: Of the 182 *E. coli* strains isolated, 81 (44.5%) were ESBL positive. It is observed that ESBL positivity has been increasing from the year 2004 to 2007 but this increase was not statistically significant. The antibiotic susceptibilities of the ESBL producing organisms were found to be 100% for meropenem, 84% for amikacin, 19% for ciprofloxacin, 79% for piperacillin-tazobactam, 32% for trimethoprim-sulfamethoxazole, 37% for gentamicin and 0% for amoxicillin. The antibiotic susceptibilities of the ESBL non-producing organisms were found to be 100% for meropenem, 90% for amikacin, 84% for ciprofloxacin, 97% for piperacillin-tazobactam, 55% for trimethoprim-sulfomethoxazole, 88% for gentamicin and 28% for amoxicillin. The difference between antibiotic susceptibility rates of the ESBL producing and non-producing organisms were statistically significant.

Conclusion: The results indicate that ESBL production of *E. coli* strains isolated from blood samples is significantly high and meropenem is the most active agent against ESBL producing organisms. β -lactam resistance due to ESBLs is common throughout the world, with clear differences in prevalence between and within particular geographic regions.

Key Words: *Escherichia coli*, extended-spectrum β -lactamase, blood cultures

GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonları yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Antibiyotik duyarlılık paternleri, bakteremili hastalarda ampirik antimikrobik tedavi seçimi için yol göstericidir. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL) gram negatif bakterilerde beta-laktam direncinin en önemli sebebidir (1).

Escherichia coli, intra-abdominal enfeksiyonlar, üriner sistem enfeksiyonları ve primer bakteremiye neden olan nozokomiyal bir patojendir. Bu mikroorganizma oksimino beta laktam antibiyotiklere karşı genellikle duyarlıdır. Son iki dekatta, oksimino beta laktam antibiyotikler de dahil olmak üzere geniş spektrumlu sefalosporinler, dünya çapında kullanılmakta ve GSBL üreten antibiyotiklere dirençli suşlar, *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* başta olmak üzere,

Enterobacteriaceae ailesi arasında ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda GSBL üreten mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon sıklığındaki belirgin artış büyük bir endişe kaynağıdır. GSBL üreten mikroorganizmalar sıklıkla birden fazla anti-mikrobik ajana karşı dirençli olduğundan, bu enfeksiyonlar için tedavi seçenekleri sınırlıdır. Bu mikroorganizmaların neden olduğu birçok salgın bildirilmiştir ve GSBL üretiminin klinik sonuçları olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Günümüzde GSBL üreten organizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için karbapenemler tavsiye edilmektedir (2,3).

Bu çalışmanın amacı kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını ve GSBL üretimini saptamaktır.

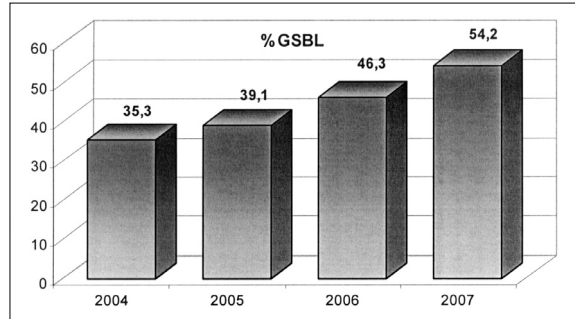
GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, 01/01/2004-31/12/2007 tarihleri arasında kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve GSBL üretimi belirlenmiştir. Bakteri identifikasyonu, konvansiyonel yöntemler ve Phoenix 100 BD Otomatize Sistem (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks) kullanılarak yapılmıştır. Bakterilerin antibiyotik duyarlılık testi Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri dikkate alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. GSBL üretimi, CLSI standartlarına göre çift disk sinerji testi ile taranmış ve fenotipik doğrulama testi ile belirlenmiştir (4). GSBL üretimini belirlemek için seftazidim (30 µg), seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg) ve sefotaksim (30 µg), sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg) diskleri kullanılmıştır. İlaçların zon çapları farkının klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edilmesine göre 5 mm ve üstünde geniş olması GSBL pozitif olarak sonuçlandırılmıştır. Standart suş olarak ATCC *E. coli* 25922 kullanılmıştır. GSBL pozitif ve negatif suşların yıllara göre dağılımı değerlendirilmiştir.

GSBL üreten ve üretmeyen organizmaların antibiyotik duyarlılıkları arasındaki farkın istatistiksel değerlendirilmesinde EPI 6 software programında ki-kare testi kullanılmıştır. Bir veya daha fazla gözde beşten küçük değer varsa Fisher exact testi uygulanmıştır. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

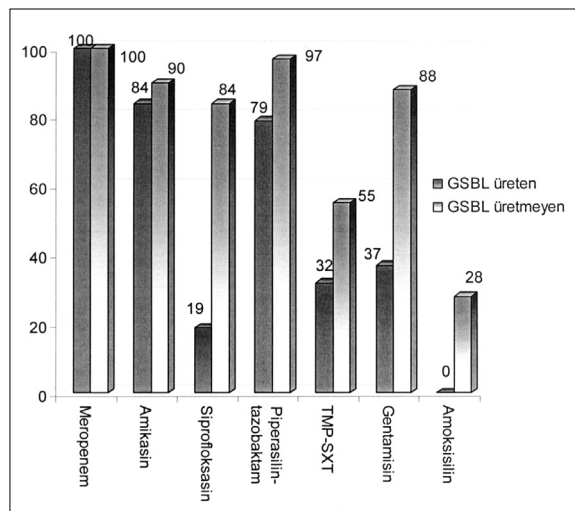
BULGULAR

İzole edilen 182 *E. coli* suşunun, 81'inde (%44.5) GSBL üretimi tespit edilmiştir. GSBL oranının 2004-2007 yılları arasında arttığı (%35.3, %39.1, %46.3, %54.2) gözlenmiş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 1).



Grafik 1: GSBL oranlarının yıllara göre dağılımı

GSBL üreten suşların antibiyotik duyarlılığı amikasin için %84, siprofloksasin için %19, piperasilin-tazobaktam için %79, trimetoprim-sulfametoksazol için %32 ve gentamisin için %37 olarak bulunmuştur. Amoksisilin'in GSBL üreten suşların hepsine (%100) dirençli olduğu belirlenmiştir. GSBL üretmeyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı ise amikasin için %90, siprofloksasin için %84, piperasilin-tazobaktam için %97, trimetoprim-sulfametoksazol için %55, gentamisin için %88 ve amoksisilin için %28 olarak saptanmıştır. Meropenem direnç tespit edilmemiştir (Grafik 2). GSBL üreten ve üretmeyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Grafik 2: GSBL üreten ve üretmeyen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık oranları

TARTIŞMA

GSBL, yoğun bakım ünitelerinde kullanılan antibiyotiklerin seçici baskısı sonucu ortaya çıkmaktadır. GSBL pozitif izolatlara, standart disk difüzyon testinde genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlere yanlı duyarlılık gösterdiği için CLSI tarafından önerilen özel tespit yöntemlerinin kullanılması gereklidir. Fenotipik doğrulama testleri son derece duyarlı ve özgül olmasına rağmen, bu testlerin yanlı pozitif veya negatif olabileceğini gösteren birçok örnek vardır. GSBL pozitif fenotipik doğrulama testi gösteren bir izolat, tüm sefalosporinlere (sefamisinler dışında, sefoksitin ve sefotetan), aztreonama ve penisilinlere dirençli olarak rapor edilmelidir. β -laktam/ β -laktamaz inhibitörü kombinasyonları zon çapları uygun aralık içinde ise duyarlı olarak bildirilebilir (5).

GSBL üreten organizmaların prevalansı bazı coğrafi bölgelerde özellikle yüksek olmakla birlikte dünya çapında yaygındır. SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı coğrafi konumu ve büyüklüğüne göre dağıtılmış hastanelerde geniş bir ağ üzerinden hastane ve toplum kökenli enfeksiyonlara sebep olan önemli patojenleri ve antibiyotik direnç profillerini izlemek için kurulmuştur. 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 30, Kanada'da 8, Latin Amerika'da 10, Avrupa'da 24 kurum katılmıştır. 1998 yılında Batı Pasifik bölgesi ve Asya'da 16 sağlık merkezi eklenmiştir. *E. coli* suşlarının GSBL oranları Kanada'da %17.1, Avrupa'da %20.9, Latin Amerika'da %20.1, Amerika Birleşik Devletleri'nde %16.4 ve Batı Pasifik Bölgesi'nde %16.7 olarak saptanmıştır (6).

Kang ve arkadaşları (7) tarafından yapılan bir araştırmada, hastaların kan kültürlerinden elde edilen 982 *E. coli* ve 471 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya alınmıştır. *E. coli* suşlarında %7.7 ve *K. pneumoniae* suşlarında ise %15.9 oranında

GSBL üretimi tespit edilmiştir.

GSBL üreten mikroorganizmaların sıklığı ve antibiyotik direnç paterni coğrafi bölgelere göre değişebilir. Bishara ve arkadaşları (8) tarafından iki İsrail hastanesinde yetişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında GSBL üreten organizmaların sıklığı ve duyarlılığı değerlendirilmiştir. GSBL üreten organizmaların sıklığı *K. pneumoniae* [%32 (241/765)] suşlarında *E. coli* [% 10 (57/547)] suşlarına göre daha yüksek bulunmuştur. GSBL üreten organizmaların amoksisilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktam, amikasin ve siprofloksasine direnç oranları *K. pneumoniae* suşlarında sırasıyla %95, %82, %49 ve % 77, *E. coli* suşlarında ise %77, %35, %25 ve %100 olarak saptanmıştır (8).

Üçüncü basamak bir hastanede kan kültüründe izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesine ait mikroorganizmalarda GSBL prevalansının belirlenmesi için, El-Khizzi ve arkadaşları (9) tarafından Ocak 2003-Aralık 2004 tarihleri arasında bir çalışma yapılmıştır. Toplam 601 izolat standart disk difüzyon yöntemi ile test edilmiş ve GSBL E-test stripleri ile doğrulanmıştır. Toplam 95 (%15.8) izolattın GSBL ürettiği tespit edilmiştir. Bunlar arasında *K. pneumoniae* suşlarında %48.4, *E. coli* ve *Enterobacter cloacae* suşlarında %15.8 GSBL oranı saptanmıştır. Diğer izolatlarda ise az sayıda GSBL üretimi belirlenmiştir (9).

GSBL prevalansının farklı coğrafi bölgelerde ve farklı kurumlarda büyük ölçüde değiştiği tespit edilmiştir. On Avrupa ülkesinde 31 merkezin katıldığı 1610 *E. coli* ve 785 *K. pneumoniae* suşunun alındığı bir sürveyans çalışmasında, GSBL oranı Almanya'da %1.5 iken Rusya, Polonya ve Türkiye'de %47 olarak bulunmuştur (10). Türk MYSTIC 2007 çalışmasında GSBL oranı *E. coli*'de %19.5 ve *K. pneumoniae* kö-

kenlerinde %48.7 olarak tespit edilmiştir (11). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, 1995-1999 arasında nozokomiyal enfeksiyonlardan izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesinden 194 suş arasında GSBL prevalansı çift disk sinerji yöntemi ile çalışılmış ve GSBL E-test stripleri ile doğrulanmıştır. 21 *K. pneumoniae*, bir *E. coli* ve bir *Providencia rettgeri* suşunun GSBL (%11.8) ürettiği tespit edilmiştir. Bu izolatlar genellikle beta-laktam olmayan antibiyotiklere de dirençlidir (12). Kizirgil ve arkadaşları (13) 7856 kan kültürlerinden izole edilen 166 enterik bakteride %35 oranında GSBL üretimi saptamıştır. GSBL oranı *E. coli* suşlarında %25 olarak belirlenmiştir. GSBL üreten organizmaların antibiyotik duyarlılıkları; meropenem için %100, amikasin için %89, siprofloksasin için %64, piperasilin-tazobaktam için %50, trimetoprim-sulfametoksazol için %36 ve amoksisilin-klavulanik asit için %19 olarak bulunmuştur (13). Malatya'da yapılan bir çalışmada kan kültürlerinde üreyen 55 *E. coli* suşunun 19'unda (%34.5) GSBL üretimi tespit edilmiştir. GSBL üreten organizmaların antibiyotik duyarlılıkları; meropenem için %100, amikasin için %100, piperasilin-tazobaktam için %46.6, trimetoprim-sulfametoksazol için %58.8, siprofloksasin için %0 ve gentamisin için %70.5 olarak bulunmuştur (14). Bizim çalışmamızda izole edilen 182 *E. coli* suşunun, 81'inin (%44.5) GSBL ürettiği tespit edilmiştir. GSBL oranının 2004-2007 yılları arasında arttığı (%35.3, %39.1, %46.3, %54.2) gözlenmiş fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. GSBL üreten mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları amikasin için %84, siprofloksasin için %19, piperasilin-tazobaktam için %79, trimetoprim-sulfametoksazol için %32 ve gentamisin için %37 olarak bulunmuştur. GSBL üreten *E. coli* suşlarının hepsi amoksisiline dirençliydi. GSBL

üretmeyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları ise amikasin için %90, siprofloksasin için %84, piperasilin-tazobaktam için %97, trimetoprim-sulfametoksazol için %55, gentamisin için %88 ve amoksisilin için %28 olarak saptanmıştır. Meropeneme direnç tespit edilmiştir. GSBL üreten mikroorganizmalar plasmid üzerinde diğer direnç genlerini de taşıdığı için diğer antibiyotiklere de dirençli olabilir. Çalışmamızda GSBL üreten ve üretmeyen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu sonuçlar, kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarında GSBL üretiminin oldukça yüksek ve GSBL üreten organizmalara karşı meropenemin en etkili ajan olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan birçok çalışmada da belirtildiği gibi karbapenemler GSBL üreten mikroorganizmalarda tek seçenektir.

Sonuç olarak GSBL kaynaklı beta-laktam direnç, coğrafi bölgeler içinde ve arasında farklılık göstermekle birlikte dünyada oldukça yaygındır. GSBL fenotipi taraması GSBL yaygınlığının düşük olduğu ülkelerde bile önemlidir. Çünkü GSBL üretimi gram negatif mikroorganizmalarda önemli bir direnç mekanizmasıdır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları, hastane epidemiyologları ve klinisyenler, GSBL üreten mikroorganizmaları tanımalıdır, böylece antibiyotik yönetimi ve enfeksiyon kontrolü daha etkin yapılabilir.

İletişim / Correspondence

Hatice Türk Dağı
Batman Bölge Devlet Hastanesi
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Tel: 0505 253 3638
e-mail: haticeturkdagi@yahoo.com

Kaynaklar

1. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, and the Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:196-202.
2. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Reviews* 2005; 18:657-86.
3. Du B, Long Y, Liu H, et al. Extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med* 2002; 28:1718-23.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing. 15th informational supplement: M100-A15. CLSI, Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
5. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2001; 32(Suppl 2):S94-103.
6. Kang C, Kim S, Park WB, et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:4574-81.
7. Bishara J, Livne G, Ashkenazi S, et al. Antibacterial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Isr Med Assoc J* 2005; 7:298-301.
8. El-Khizzi NA, Bakheshwain SM. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolated from blood culture in a tertiary care hospital. *Saudi Med J* 2006; 27:37-40.
9. Goosens H. MYSTIC programme: summary of European data from 1997 to 2000. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 41:183-9.
10. Akata F, Otkun MT, Özkan E, Tansel O, Otkun M, Tuğrul M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* in Trakya University Hospital, Turkey. *New Microbiol* 2003; 26:257-62.
11. Kizirgil A, Yakupoğulları Y, Şenol FF, Aşçı ZT. Kan kültürü örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksi Derg* 2005;19: 111-4.
12. Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A, Ay S. Kan kültürlerinde üreyen *Escherichia coli*'lerin antibiyotik duyarlılıkları, GSBL oranları ve hastane birimlerine göre dağılımı. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg* 2006;13:147-50.