

Hastane İnfeksiyonu Etkeni Gram Negatif Bakterilerin Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz ve Antibiyotik Duyarlılık Özelliklerinin Araştırılması

Birsen DURMAZ ÇETİN, Alper GÜNDÜZ, Ayfer ŞENSOY, Fatma KORKMAZ, Engin SEBER

ÖZET

Hastane infeksiyonu etkenleri içinde önemli yeri olan gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu -laktamazlara (GSBL) bağlı -laktam antibiyotik direnci giderek önem kazanmakta ve bu direnç hastaneler arasında farklılık göstermektedir.

Bu çalışmada Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 1998 Haziran-1999 Eylül tarihleri arasında hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen Enterobacteriaceae ailesinden 117 gram negatif bakterinin GSBL aktivitesinin belirlenmesi ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya alınan suşların 38'inde (%32.5) çift disk sinerji yöntemi ile GSBL saptanmıştır. 51 *Klebsiella pneumoniae* suşunun 24'ünde (%47), 38 *Escherichia coli* suşunun altısında (%15.8), 9 *Enterobacter aerogenes* suşunun dördünde, 7 *Enterobacter cloacea* suşunun birinde, 4 *Klebsiella oxytoca* suşunun birinde, bir *Citrobacter freundii* ve bir *Enterobacter sakazakii* suşunda GSBL oluşumu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda denenen suşlara en etkili antibiyotikleri karbapenem grubu olduğu ve bunları kinolon ve aminoglikozidleri izlediği saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Nozokomiyal gram negatif bakteriler, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz, Çift disk sinerji yöntemi, antibiyotik duyarlılığı.

SUMMARY

Defermination of ESBL in Hospital Infections caused by gram negative organisms and Antibiotic Susceptibility of the Isolates.

Gram negative organisms take an important role in hospital infections and the -lactam antibiotic resistance due to ESBL is of Increasing importance and this resistance is different among hospitals.

In this study our goal was to deferminde the ESBL activity of 117 gram negative bacteria from Enterobacteria family caused hospital infections at Şişli Etfal Hospital during June 1998 – September 1999 and to define the antibiotic suscetibility using double disc synergy test ESBL was found out in 38 (32.5 %) of the isolates. ESBL was found out in 24 (47 %) of the 51 *K.pneumoniae*, in 6 (15.8 %) of the 38 *E.coli*, in 4 of the 9 *E.aerogenes* , in 1 of the 7 *E.cloacea*, in 1 of the 4 *K.oxytoca*, in one *C.freundii* and in one *E.sakazakii*.

According to our results the most effective antibiotics to the resistant isolates were carbapenems followed by quinolones and aminoglycosides

Key words: Nosocomial gram negative bacteria, extended spectrum -lactamases, double disc synergy test, antibiotic susceptibility

GİRİŞ

Hastane enfeksiyonu etkenleri içinde önemli yeri olan gram negatif bakterilerde çeşitli antibiyotiklere karşı direnç giderek yaygınlaşmakta, tedavi seçimi ve etkinliğinde sorunlar ortaya çıkmaktadır.

-laktamaz üretimi gram negatif bakterilerin -laktam antibiyotiklere direncinde rol oynayan en önemli mekanizmadır (1-3). Genişlemiş spektrumlu -laktamazlar (GSBL) plazmid aracılığı ile taşınan enzimlerdir. Bu -laktamazların çoğu, TEM-1, TEM-2 ve SHV tipi -laktamazlardan enzimin aktif bölgesinde bulunan 1-4 anahtar aminoasitin değişikliği ile oluşmaktadır (4). GSBL penisilinler, sefalosporinler ve oksimino -laktamları (aztreonam, sefotaksim, seftazidim) içeren geniş spektrumlu -laktam antibiyotikleri hidroliz ederler. GSBL'ler sefamisin, metoksiminosefalosporinler ve karbapenemleri etkilemezler, ancak klavulanik asit ve diğer -laktamaz inhibitörleri ile inaktive olurlar (3,4). Bakterilerdeki GSBL varlığı, rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile saptamazlar (GSBL) plazmid aracılığı ile taşınan enzimlerdir. Bu -laktamazların çoğu, TEM-1, TEM-2 ve SHV tipi -laktamazlardan enzimin aktif bölgesinde bulunan 1-4 anahtar aminoasitin değişikliği ile oluşmaktadır (4). GSBL penisilinler, sefalosporinler ve oksimino -laktamları (aztreonam, sefotaksim, seftazidim) içeren geniş spektrumlu -laktam antibiyotikleri hidroliz ederler. GSBL'ler sefamisin, metoksiminosefalosporinler ve karbapenemleri etkilemezler, ancak klavulanik asit ve diğer -laktamaz inhibitörleri ile inaktive olurlar (3,4). Bakterilerdeki GSBL varlığı, rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile saptamazlar

namamaktadır. Çünkü bunlar sefotaksim, seftriakson gibi geniş spektrumlu -laktamazlara invitro testlerde duyarlı görünmektedir (5,6). Bu enzimlerin saptanmasında klavulanik asitin GSBL aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanan çift disk sinerji yöntemi (ÇDSY)'nin kullanılması önerilmektedir (2,3).

Bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişmesi ile antibiyotik kullanımı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Geniş spektrumlu -laktam antibiyotiklerin aşırı kullanılmasının genişlemiş spektrumlu -laktamaz (GSBL) üreten gram negatif çomak epidemileri için önemli risk faktörü olduğu bildirilmektedir (7). Bunun yanında yoğun bakım ünitesinde bulunmak, yakın tarihte ameliyat geçirmiş olmak, girişimsel tıbbi cihaz uygulanması, uzun süre hastanede kalmak GSBL üreten gram negatif bakterilerle kolonizasyon veya infeksiyon oluşması için risk faktörleridir (8,9).

Çalışmamızda hastanemizde çeşitli klinik örneklerden hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilerin GSBL ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Şişli Etfal Eğitim ve Aratırma Hastanesi'nde 1998 Haziran-1999 Eylül tarihleri arasında hastane enfeksiyonu etkeni olarak çeşitli klinik örneklerden izole edilen 117 gram negatif bakteri çalışmaya alındı. İzole edilen bakteriler konvansiyonel metodlarla birlikte gerektiği durumlarda API 20 E (Biomeriux, France) ile tanımlandı. Çalışılan suşların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerileri doğrultusunda disk diffüzyon yöntemi ile araştırıldı (10). Çalışmada Müeller-Hinton agar ve antibiyotik diskleri Difco'dan sağlandı. Çalışmamızda kontrol suşu olarak E. coli ATTC 25922 kullanılmıştır.

GSBL varlığı çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. Bu yöntemle GSBL'lerin bir beta-laktamaz inhibitörü olan klavulanat ile inhibe edilebilme özelliğinden yararlanılmaktadır. Plağın merkezine amoksisilin-klavulanat (AMC) diski konularak merkezden merkeze uzaklık 30 mm olacak şekilde

Ceftriaxone (CRO), Cefotaksime (CTX), Aztreonam (ATM) diskleri yerleştirilmiştir. 18-20 saat 35°C de inkubasyondan sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Sefotaksim, seftriakson ve aztreonama ait inhibisyon zonlarında amoksisilin-klavulanat diskine doğru belirgin genişlemenin olması veya diskler arasındaki bölgede bir inhibisyon alanının gözlenmesi suşun GSBL oluşturduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan Gram negatif bakterilerin 84'ü (%71.7) idrar, 20'si (%17.0) yara-abse, 8'i (%6.8) trakeal aspirat, 4'ü (%3.4) kan, 1'i (%0.9) BOS örneklerinden izole edilmiştir.

İzole edilen 117 gram negatif çomağın 51'i (%43.5) K. pneumoniae, 35'i E. coli (%29.9), onu (%8.5) E. aerogenes, yedisi (%5.9) E. cloacea, dördü (%5.0) K. oxytoca, üçü (%2.5) Enterobacter spp, ikisi (%1.7) P. mirabilis, biri (%0.9) C. diversus, biri (%0.9) C. freundii, biri (%0.9) H. alvei, biri (%0.9) M. morgani, biri (%0.9) E. sakazakii'dir.

Çalışmaya alınan Gram negatif bakterilere en etkili antibiyotiklerin karbopenem grubu olduğu ve bunları kinolon ve aminoglikozidlerin izlediği görülmüştür. Bakterilerin duyarlılık oranları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışma sonucunda çift disk sinerji yöntemi ile suşların 38'inde (%32.5) GSBL varlığı saptanmıştır. 51 K. pneumoniae suşunun 24'ünde (%47), 38 E. coli suşunun altısında (%15.8), 9 E. aerogenes suşunun dördünde, 7 E. cloacea suşunun birinde, 4 K. oxytoca suşunun birinde ve bir C. freundii ve bir E. sakazakii suşunda GSBL oluşumu gözlenmiştir.

GSBL oluşturan suşlarla yapılan disk diffüzyon deneyinde; sefotaksim, seftriakson ve aztreonam karşısında meydana gelen ortalama zon çapları incelendiğinde; bazı bakteriler GSBL oluşturmalarına rağmen bu beta-laktamlara duyarlı gibi görünmekte ve yalancı duyarlı olarak saptanmaktadır. Çalışmamızda sefotaksim diski ile iki K. Pneumoniae, bir E.coli ve bir E. aerogenes suşunda, seftriak-

son diski ile bir E. coli ve bir E.aerogenes’de, aztreonam diski ile bir K.pneumoniae’de yalancı duyarlılık saptandı.

TARTIŞMA

Antibiyotiğe çoğul direnç gösteren gram negatif bak-

görölmekle birlikte, Enterobacter, Salmonella, E. coli, Serratia, Citrobacter, Morganella morgani i suşlarında GSBL oluşturabildiği bilinmektedir (12,13).

Tablo 1: Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotik	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%	n	%
Amoksisilin-Klavulanik Asit	23	20	20	17.5	74	63.2
Sefazolin	32	27.5	4	3.7	81	69.2
Sefodizim	63	53.8	3	2.5	51	43.7
Seftriakson	70	59.8	10	8.7	37	31.2
Sefotaksim	73	62.3	4	3.7	40	35.0
Sefepim	82	70.0	8	7.5	27	23.7
Gentamisin	74	63.2	-	-	43	37.5
Tobramisin	78	66.2	-	-	39	33.3
Netilmisin	76	64.9	3	2.6	38	32.5
Amikasin	91	77.7	-	-	26	22.5
Ofloksasin	90	76.9	4	3.7	23	20.0
Siprofloksasin	97	82.9	3	2.5	17	15.0
Trovfloksasin	88	75.2	5	4.2	24.0	21.2
İmipenem	116	99.1	-	-	1	0.8
Meropenem	115	98.2	1	0.8	1	0.8

teriler özellikle hastane enfeksiyonlarında saptanmaktadır. Bu bakteriler en sık aminoglikozidler, yeni kuşak beta-laktam antibiyotikler ve kinolonlara karşı dirençli bulunmakta ve antibiyotiklerden herhangi birinin kullanılması, kullanılan antibiyotiğin yanında diğer grup antibiyotiklere karşı da dirençli organizmaların seçilmesine neden olmaktadır (9).

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin, özellikle de sefalosporinlerin yaygın kullanımı GSBL üreten suşların seçilmesine yol açmaktadır. Plazmidler aracılığı ile aktarılabilmeleri nedeni ile GSBL enzimlerine bağlı direnç hızla yayılabilmekte, hastanelerde bu dirençli suşlara bağlı enfeksiyon salgınları yaşanabilmektedir (7,11). GSBL enzimleri Enterobacteriaceae ailesi içinde en yüksek oranda K. pneumoniae suşlarında

Çalışmamıza alınan 117 gram negatif bakterinin 38’inde (%32.5) GSBL pozitifliği saptanmıştır. İzole edilen 51 K.pneumoniae suşunun 24’ünde (%47), 38 E.coli suşunun altısında (%15.8), 9 E.aerogenes suşunun dördünde, 7 E.cloaceae suşunun birinde, 4 K.oxytoca suşunun birinde, bir E.sakazakii ve bir C.freundii suşunda çift disk sinerji yöntemi ile GSBL oluşumu gözlenmiştir.

Gülây ve arkadaşları (2) çift disk sinerji yönetemi ile K.pneumoniae suşlarında %56.8, Derbentli ve arkadaşları (14) ise K.pneumoniae suşlarında %40, Enterobacter spp.’de %29 oranında GSBL saptamışlardır.

Töreci ve arkadaşları (15) Enterobacteriaceae ailesinden 827 suşda yaptıkları çalışmada; K.pneumo-

niae, K.oxytoca ve Salmonella spp. suşlarında sırası ile %45.4, %31.8 ve %20 oranında, E.coli, Enterobacter spp. ve Proteus mirabilis suşlarında sırasıyla %3.5, %1.3 ve %0.6 gibi düşük oranlarda GSBL saptanmıştır.

Gültekin ve arkadaşları (16) ise hastane enfeksiyonu etkeni K.pneumoniae izolatlarının %54'ünde, E.coli izolatlarının ise %21'inde GSBL aktivitesi saptadıklarının bildirmişlerdir.

Çalışmamızda denenen suşlara en etkili antibiyotiklerin karbapenem grubu olduğu ve bunları kinolon ve aminoglikozidlerin izlediği görülmüştür. En yüksek duyarlılık oranı % 98.1 ile imipenem karşı elde edilmiş, bunu meropenem %98.2, Siprofloksasin %82.9, ofloksasin %76.2, sefepim %70 ile izlemiştir. Bir GSBL pozitif K.pneumoniae suşunda imipenem direnci, bir GSBL pozitif E.coli suşunda meropenem direnci saptanmıştır. Amikasin %77.7 ile en etkili aminoglikozid olarak bulunmuştur. Gentamisin duyarlılığı ise %63.2 oranında saptanmıştır.

Gültekin ve arkadaşları (16) da çalışmalarında hastane enfeksiyonu etkeni K.pneumoniae ve E.coli izolatlarına en etkin antibiyotiğin imipenem olduğunu bildirmişler ve bir GSBL pozitif K.pneumoniae ve bir E.coli suşundan imipenem direnci saptamışlardır.

Gürdoğan ve arkadaşlarının (17) yaptıkları çalışmada ise hastane ve poliklinik kökenli GSBL pozitif E.coli suşlarında %100 ile en yüksek duyarlılık imipenemde elde edilmiş, bunu sırası ile meropenem, amikasin ve sefepim izlemiştir. Aynı çalışmada hastane dışı GSBL pozitif ve negatif E.coli suşlarında ofloksasine karşı duyarlılık oldukça yüksek bulunmuş ancak hastane kökenli GSBL pozitif E.coli suşlarında %56.5 gibi düşük duyarlılık saptanmıştır.

GSBL oluşturan suşlarda yapılan disk diffüzyon deneyinde bazı bakteriler GSBL oluşturmalarına rağmen beta-laktamlara duyarlı gibi görünmekte ve yalancı duyarlı olarak saptanmaktadırlar. Çalışmamızda GSBL oluşturan bazı suşlarda sefotaksim, seftriaksan ve aztreonam diski ile yalancı du-

yarlılık gözlenmiştir. Bu nedenle GSBL üreten gram negatif bakterileri ve antibiyotik duyarlılığını ortaya koymak için disk diffüzyon testleri özel bir dizilimle yapılmalı ve gram negatif bakterilerde GSBL varlığında, bu antibiyotikler antibiyotik duyarlılık sonuçlarına bakılmadan tüm geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli olarak bildirilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1.Thomson KS, weber DA, Sanders CC, Sanders WE:** -laktamase production in members of the family enterobacteriaceae and resistance to-laktam enzyme inhibitory combinations. Antimicrob Agent Chemother ; 34: 622 (1990).
- 2.Gülây Z, Abacoğlu YH, Yuluğ N:** Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi. İnfeksiyon Dergisi ; 9:89 (1995)
- 3.Philippon A, Arlet G, Logrange PH:** Origin and impact of plazmid mediated extended spectrum -laktamases. Eur J Clin Microbiol Infect Disk 13(Suppl 1): 17 (1994).
- 4.Jacoby GA, Medeiros AA:** More extended-spectrum -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 35: 1697 (1991).
- 5.Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA:** Detection of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains producing extended spectrum -lactamases. J Clin Microbiol 32:691 (1994).
- 6.Vercauteren E, Descheemaeker P, Leven M, Sander CC, Goossens H:** Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum -lactamases and their prevalence among blood isolates of Escherichia coli and Klebsiella spp. In a Belgian training hospital. J Clin Microbiol 35: 2191 (1997).
- 7.Meyer KS, Eagan JA, Berger BJ, Rahel JJ:** Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins. Ann Int Med 5: 353(1993).
- 8.Quinn JP:** Clinical significance of extended spectrum beta lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1: 39 (1994).
- 9.Gür D:** Hastane enfeksiyonlarında önem kazanan gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane enfeksiyonları dergisi 1: 38 (1997).
- 10.National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Performance standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 6th ed, Approved Standard NCCLS Document M2A6, (1997).
- 11.Shannon K, Stapleton P, Xiang X, Johnson A:** et al. Extended-Spectrum Beta-lactemase-producing Klebsiella pneumoniae strains causing nosocomial outbreaks of infection in the United Kingdom. Journal of Clinical Microbiology, Oct, 1998; 3105-3110.
- 12.Jacoby GA, Medeiros AA:** More extended spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 9: 1697 (1991).
- 13.Chrotopher LE, Weymouth LA:** Detection and Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a

tertiary-care medical center. Journal of clinical microbiology, 2061 (1997).

14.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. 10:1 (1996).

15.Töreci K, Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N: Enterobacteriaceae ailesinden izole edilen 827 suşta genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturma sıklığı. 11. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, Kuşadası, 2-6 Ha-

ziran 1996, Kongre Kitabı, s: 121.

16.Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbas İ, Mamikoğlu L:-Hastane infeksiyonu etkeni Klebsiella pneumoniae ve Escherchia coli suşlarının genişlemiş spektrumlu -laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. İnfeksiyon Dergisi 13(4): 515 (1999).

17.Gürdoğan K, Arslan H: Hastane kökenli ve hastane dışı Escherichia coli'lerde çift disk sinerji yöntemiyle genişlemiş spektrumlu -laktamaz araştırılması ve izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumu Flora Dergisi 4131: 177 (1999).