

Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerde Siprofloksasin Direncinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi(*)

Kutbettin DEMİRDAĞ(**), Mehmet ÖZDEN(**), Affan DENK(**), S. Sırrı KILIÇ(**),
Ahmet KALKAN(**)

(*) Hastane İnfeksiyonları Kongresi'nde (11-14 Nisan 2002, Ankara) sunulmuştur

(**) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Bu çalışmada, 1 Ocak 2000 ve 31 Aralık 2001 tarihleri arasında değişik klinik örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilen Gram negatif bakterilerin siprofloksasine direnci retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Klinik örneklerden bakterilerin izolasyonu rutin mikrobiyolojik yöntemler ile yapılmıştır. Antibiyotiklere duyarlılıkları NCCLS önerilerine uygun olarak disk diffüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

Çalışma kapsamına alınan 411 suşun 116'sında (% 28) siprofloksasin direnci saptanmıştır. 2000 yılı içerisinde izole edilen dirençli suş oranı % 19 iken 2001 yılında bu oranın % 35'e yükseldiği saptanmıştır. Toplum ve hastane kökenli suşlarda siprofloksasin direnci sırasıyla % 19, % 35 olarak bulunmuştur. Toplum kökenli suşlarda yıllara göre direnç oranlarının sırasıyla % 15'den, % 23'e; hastane kökenli suşlarda % 22'den, % 42'ye yükseldiği saptanmıştır. İzole edilen bakterilere göre; Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakterilerde direnç % 27 (Klebsiella % 42, Escherichia coli % 28, Enterobacter suşlarında % 27, Proteus % 14 ve diğerleri % 7), Pseudomonas aeruginosa'da % 14 ve Acinetobacter suşlarında % 55 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, infeksiyon etkeni Gram negatif bakterilerde siprofloksasin direncinde yıllara göre artış saptanmıştır. Bu artışın hastane kökenli suşlarda toplum kökenli suşlara göre yüksek olduğu ve en yüksek artışın Acinetobacter spp'de olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gram negatif bakteriler, siprofloksasin direnci

SUMMARY

Retrospective Evaluation of Ciprofloxacin Resistance in Gram Negative Bacteria Isolated from Different Clinical Samples.

In the present study, ciprofloxacin resistance in Gram-negative bacteria isolated from different clinical samples during 2 year period, between January 1, 2000 and December 31, 2001, were retrospectively assessed. Bacterial isolation from clinical samples was made using standard microbiological methods. Antimicrobial sensitivity was assessed using disk-diffusion method according to NCCLS recommendations.

We observed ciprofloxacin resistance in 116 strains (28%) out of 411 strains that was assessed during study. The resistance was found to be 19% in strains; which were isolated in 2000, and 35% which were isolated in 2001. In addition, ciprofloxacin resistance was observed as 19% and 35% in community-acquired and nosocomial strains, respectively. The resistance rate increased from 15% to 23% in community-acquired strains and from 22% to 42% in nosocomial strains during 2000 to 2001 years, respectively. According to the isolated bacteria, the resistance was found to be 27% in Enterobacteriaceae family (Klebsiella spp 42%, Escherichia coli 28%, Enterobacter spp. 27%, Proteus spp. %14 and others 7%), 14% in Pseudomonas aeruginosa and 55% in Acinetobacter spp.

In conclusion, there is a marked increase in ciprofloxacin resistance in Gram-negative bacteria isolated as an infection agent from different samples between 2000 and 2001 years. This increase was higher in the nosocomial strains than community-acquired strains, and the highest increase was observed in Acinetobacter spp.

Key words: Gram negative bacteria, ciprofloxacin resistance

GİRİŞ

Nozokomiyal ve toplum kökenli infeksiyonlardan sorumlu Gram negatif bakterilerin antibakteriyel

ajanlara karşı direnci giderek artmakta ve tüm dünyada önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (1). Florokinolonlar geniş spektrumlu antimikrobiyal

ajanlar olup Klebsiella Escherichia coli, Pseudomonas gibi Gram negatif bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaktadırlar (2,3). Son yıllarda, gerek Avrupa ve ABD, gerekse ülkemizden bildirilen sonuçlarda klinik izolatlara karşı siprofloksasin aktivitesinin giderek azaldığı belirtilmektedir. Özellikle E. coli ve diğer Enterobacteriaceae türlerine karşı giderek artan oranda kinolon direnci söz konusudur (3,4). Toplum ve hastane kökenli Gram negatif bakterilerde siprofloksasine duyarlılığın düzenli olarak saptanması, bu antibiyotiklerin doğru ve yerinde kullanılması ile terapötik etkilerinin devamlılığının sağlanması gerektiği kaçınılmaz bir gerçektir.

Bu çalışmada, değişik klinik örneklerden infeksiyon etkeni olarak izole edilen Gram negatif bakterilerin siprofloksasine duyarlılıkları retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, 1 Ocak 2000-31 Aralık 2001 tarihleri arasında İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) kriterlerine göre infeksiyon etkeni olarak değerlendirilen toplam 411 Gram negatif suş çalışma kapsamına alın-

mıştır. Örnekler %5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue (EMB) agar besiyerlerine ekilmiştir. Besiyerleri aerop koşullarda 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen mikroorganizmaların identifikasyonu konvan-siyonel yöntemlerle yapılmıştır. (5). Suşların izole edildiği hastane ve toplum kökenli infeksiyonların ayırımında CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) kriterleri esas alınmıştır. (6). İzole edilen bakterilerin siprofloksasine duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon ile siprofloksasin diskleri (Oxoid) kullanılarak araştırılmıştır. (5,7) Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 10.01 paket programında χ^2 testi kullanılmıştır. P değerinin < 0.05 olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

İncelenen Gram negatif suşlar ve izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımları Tablo 1'de sunulmuştur. Suşların 169'u (% 41) toplum kökenli, 242'si (% 59) ise hastane kökenli idi. En sık izole edilen Gram negatif bakterinin E. coli (% 52) olduğu, bunu Pseudomonas cinsinin (% 12) izlediği saptanmıştır.

Çalışmada incelenen toplam 411 suşun 116'sında (% 28) siprofloksasine dirençli olduğu görülmüştür.

Tablo 1. İzole edilen suşlar ve klinik örnekler göre dağılımı

	E.coli	Pseudomonas	Acinetobacter	Klebsiella	Enterobacter	Proteus	Serratia	Diğer*
İdrar	184	11	4	16	11	11	2	9
Yara yeri	18	14	9	8	6	6	6	4
Kan	7	11	18	8	2	3	1	1
Aspirasyon sonda ucu	---	5	7	4	---	---	---	---
İdrar+vasküler kateter	2	3	3	--	1	1	---	---
Endotrakeal aspirat	---	2	---	---	2	---	1	---
Torasentez mayii	1	1	---	---	---	---	1	---
Parasentez mayii	1	---	1	---	---	---	---	---
Diğer	1	2	---	2	---	---	---	---
Toplam	214	49	42	38	22	21	11	14

* Citrobacter, Hafnia alvei, Edwardsiella, Providencia ve Morganella morganii

İki yıllık süre toplam olarak değerlendirildiğinde en fazla direncin *Acinetobacter* (% 55) olduğu bunu sırasıyla *Klebsiella* (% 42), *Escherichia coli* (% 28), *Enterobacter* (% 27) nin izlediği belirlenmiştir. (Tablo 2). 2000 yılı içerisinde izole edilen suşlarda siprofloksasine dirençlilik oranı % 19 iken bu oranın 2001 yılında % 35'e yükseldiği, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. ($p<0.05$).

Toplum ve hastane kökenli suşların siprofloksasine dirençli suşların yıllara göre değerlendirildiğinde, toplum kökenli suşlarda dirençli suşların oranlarının % 15'den, % 23'e; hastane kökenli suşlarda bu oranın % 22'den, % 42'ye yükseldiği saptanmıştır (Tablo3-4).

Tablo 2. 2000-2001 yıllarında siprofloksasine dirençli toplum ve hastane kökenli suşlara göre dağılımı

İzole edilen suşlar	Toplum kökenli dirençli suş (n)	Hastane kökenli dirençli suş (n)	Toplam dirençli suş	
			(n)	%
<i>E.coli</i> (n:214)	28	32	60	28
<i>Pseudomonas</i> (n:49)	1	6	7	14
<i>Acinetobacter</i> (n:42)	1	22	23	55
<i>Klebsiella</i> (n:38)	0	16	16	42
<i>Enterobacter</i> (n:22)	1	5	6	27
<i>Proteus</i> (n:21)	1	2	3	14
<i>Serratia</i> (n:11)	0	0	0	0
Diğer* (n:14)	0	1	1	7
Toplam (n:411)	32	84	116	28

* *Citrobacter*, *Hafnia alvei*, *Edwardsiella*, *Providencia* ve *Morganella morganii*

Tablo 3. 2000 yılında siprofloksasin direncinin toplum ve hastane kökenli suşlara göre dağılımı

İzole edilen suşlar	Toplum kökenli (n)	Hastane kökenli dirençli suş (n)	Toplam dirençli suş	
			n	%
<i>E.coli</i> (n:85)	9	6	15	18
<i>Pseudomonas</i> (n:30)	1	3	4	13
<i>Acinetobacter</i> (n:8)	0	2	2	25
<i>Klebsiella</i> (n:9)	0	4	4	44
<i>Enterobacter</i> (n:19)	1	5	6	32
<i>Proteus</i> (n:7)	1	0	1	14
<i>Serratia</i> (n:7)	0	0	0	0
Diğer* (n:5)	0	0	0	0
Toplam (n:170)	12 (%15)	20 (%22)	32	19

* *Citrobacter*, *Hafnia alvei*, *Edwardsiella*, *Providencia* ve *Morganella morganii*

Tablo 4. 2001 yılında siprofloksasin direncinin toplum ve hastane kökenli suşlara göre dağılımı

İzole edilen suşlar	Toplum kökenli dirençli suş		Hastane kökenli dirençli suş			
	(n)	(%)	(n)	(%)		
E.coli (n:129)	19		26		45	35
Pseudomonas (n:19)	0		3		3	16
Acinetobacter (n:34)	1		20		21	62
Klebsiella (n:29)	0		12		12	41
Enterobacter (n:3)	0		0		0	0
Proteus (n:14)	0		2		2	14
Serratia (n:4)	0		0		0	0
Diğer* (n:9)	0		1		1	11
Toplam (n:241)	20	(%23)	64	(%42)	84	35

* Citrobacter, Hafnia alvei, Edwardsiella, Providencia ve Morganella morgani

TARTIŞMA

Siprofloksasin, antibakteriyel spektrumunun geniş ve bakterisidal aktivitesinin iyi olması nedeniyle özellikle Gram negatif bakterilerle oluşan infeksiyonlar başta olmak üzere birçok infeksiyonun ampirik tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak toplumda ve hastanelerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmasıyla birlikte 1990 yılından bu yana Gram negatif bakterilerde kinolon direncinde global bir artışın olduğu görülmüştür

(1-3).

Goldstein'in (8) yaptığı çok merkezli bir çalışmada Gram negatif bakterilerde siprofloksasin direncinin % 3.2 olarak saptandığı bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen nonfermentatifler haricindeki Gram negatif bakterilerde siprofloksasin direnci % 10 olarak saptanmıştır(9). Çalışmamızda Enterobacteriaceae türleri ve nonfermentatifler dahil olmak üzere Gram negatif bakterilerde siprofloksasin direnci % 28 olarak saptanmış ve yıllar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Japonya'da yapılan çok merkezli bir çalışmada E. coli suşlarında % 56, Klebsiella spp.'de % 25, Proteus spp.'de % 13, P. aeruginosa'da %25, Acinetobacter spp.'de % 37 oranlarında siprofloksasine direnç

saptanmıştır (10). Brisse ve ark (11)'nin yaptıkları bir çalışmada K. pneumoniae'da siprofloksasin direnci % 7.2, K. oxytoca'da % 3.4 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Gram negatif bakteri izolatlarındaki kinolon direncinin oldukça yüksek olduğu ve direnç oranlarının suşlara göre; E. coli % 56, P. aeruginosa % 38, Acinetobacter spp. % 64 olarak saptandığı bildirilmiştir (12). Çalışmamızda Enterobacteriaceae türlerindeki direncin % 27 (Klebsiella % 42, Escherichia coli % 28, Enterobacter % 27, Proteus % 14 ve diğerleri % 7), nonfermentatiflerdeki direncin % 33 (Pseudomonas aeruginosa'da % 14 ve Acinetobacter'de % 55) olduğu görülmüştür. Bu oranlar ülkemizden ve yurtdışından bildirilen oranlarla benzerlik göstermektedir.

Suşların siprofloksasine karşı durumu yıllara göre incelendiğinde özellikle Acinetobacter ve E. coli suşlarında direncinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Benzer çalışmalarda Acinetobacter suşlarının yıllara göre yüksek oranda direnç artışı gösteren bir etken olduğu bildirilmektedir (13,14). Acinetobacter gibi P. aeruginosa suşlarında da siprofloksasine karşı direncinin yüksek olduğu ve yıllar içerisinde artış görüldüğü bildirilmektedir (14,15). Çalışmamızda Pseudomonas suşlarında siprofloksasine direncin 2000 yılında %13 iken 20001 yılında %16 olduğu ve yıl-

lara göre artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Gram negatif bakterilerin siprofloksasin direncinin suşlara göre farklılık gösterdiği gibi, suşların toplum ya da hastane kökenli oluşuna göre de farklılık gösterdiği bildirilmektedir. İtalya’da yapılan bir çalışmada bir yıllık izlem sonucunda hastane ve toplum kökenli enfeksiyonlardan elde edilen Gram negatif izolatlarda direncin arttığı ve yayıldığı gösterilmiştir (4). Bu çalışmada E coli’de siprofloksasin direnci toplum kökenli izolatlarda %8.7 iken hastane kökenlilerde % 15.36 olarak saptanmıştır. P. aeruginosa’da bu direncin sırasıyla % 18.6, % 30.33; P. mirabilis’de % 5.7, % 30.39 olarak saptandığı bildirilmiştir. Yine üriner enfeksiyon etkeni E. coli’lerin toplum ve hastane kökenlerinin siprofloksasin duyarlılıklarının derlendiği bir çalışmada toplum kökenlilerde duyarlılık oranları % 94.8-99.2 arasında değişirken, hastane kökenlilerde % 82.5-99 arasında değiştiği bildirilmektedir (16). Çalışmamızda, toplum kökenli suşlarda % 19, hastane kökenli suşlarda ise % 35 oranında direnç saptanmıştır. Her iki kaynaklı suşlarda yıllara göre artış saptanmış ve bu artışın hastane kökenli suşlarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda gerek toplum gerekse hastane kökenli E. coli suşlarında, siprofloksasin direnci yıllara göre artış gösterirken hastane kökenli Acinetobacter spp. suşlarında direnç oranı yıllara göre anlamlı derecede artmıştır (p<0.05). Enterobacter suşlarında ise 2000 yılında % 32 siprofloksasin direnci saptanırken 2001 yılında izole edilen Enterobacter suşlarında direnç gözlenmemiştir. Enterobacter suşlarının 19’u 2000 yılında izole edilirken, 2001 yılında sadece 3 Enterobacter izole edilmiştir. Enterobacter suşlarında direnç oranının 2001 yılında % 0 olmasının nedeni izole edilen suşların sayıca az olmasına bağlı olabilir.

Sonuç olarak enfeksiyon etkeni olarak izole edilen Gram negatif bakterilerde siprofloksasin direncinde yıllara göre artış saptanmıştır. Bu artışın hastane kökenli suşlarda toplum kökenli suşlara göre yüksek olduğu ve en yüksek artışın Acinetobacter spp.’de olduğu gözlenmiştir. Gram negatif bakterilerdeki bu yüksek direncin, kinolon grubu antibiyotiklerin oldukça yaygın ve uygunsuz kullanımına bağlı olabi-

leceği düşünülebilir. Çalışmamızın sonuçları, gerek toplum ve gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde rasyonel antibiyotik kullanımının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Pfaller MA, Herwaldt LA: The clinical microbiology laboratory and infection control: emerging pathogens, antimicrobial resistance, and new technology. Clin Infect Dis 25: 858 (1997).
2. Hooper DC: Quinolones. “Mandell GL, Dolin R, Bennett JE (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases”, p404, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
3. Wagenlehner F, Stöwer-Hoffmann J, Schneider-Brachert W, et al: Influence of a prophylactic single dose of siprofloksasin on the level of Escherichia coli to fluoroquinolones in urology. Int Journal of Antimicrob Agents 15: 207 (2000).
4. Drago L, Mombelli B, Vecchi ED, Tocalli L, Nardi G, Gismondo MR: Epidemiology of Gram-negative antibiotic resistance in outpatients a year of surveillance. Int Journal of Antimicrob Agents 16: 479 (2000).
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, p121, 5th ed, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (1997).
6. Garnier JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hoge JM: CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control 16: 128 (1988).
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 6th ed, Approved Standard M2-A6 NCCLS, Villanova, Pa (1997).
8. Goldstein FW, the Multicentre Study Group: Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 19:112 (2000).
9. Seber E, Özcan N, Hoşaf E, Güneş K, Çalıcı A: Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen Gram negatif bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları, ANKEM Derg 15:163 (2001).
10. Wang Fu, Zhu D, Hu F, Zhang Y: Surveillance of bacterial resistance among isolates in Shanghai in 1999. J Infect Chemother 7: 117 (2001).
11. Brisse S, Milatovic D, Fluit AC, Verhoef J, Schmitz

FJ: Epidemiology of quinolone resistance of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 64 (2000).

12. Gönüllü N, Aktaş Z, Şalcıoğlu M, Bal Ç, Anđ Ö: Comparative in vitro activities of five quinolone antibiotics, including gemifloxacin, against clinical isolates. *Clin Microbiol Infect* 7: 499 (2001).

13. Ruiz J, Nunez ML, Perez J, Simarro E, Campos LM, Gomez J: Evolution of resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* over a 6-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18: 292 (1999).

14. Yapar N, Erdenizmenli M, Gülay Z, Biçmen MK, Yüce A, Yuluđ N: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* ve *Staphylococcus* türlerinin antibiyotik direnci. *İnfeksiyon Derg* 14: 507 (2000).

15. Bengisun JS, Palabıyıköğlü İ, İlhan F, Kutlutürk M: İzole edilen gram negatif bakterilerde siprofloksasin ve levofloksasin direnci, 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı s.380, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, İstanbul (2000).

16. Chomarat M: Resistance of bacteria in urinary tract infections. *Int Journal of Antimicrob Agents* 16: 483 (2000)