

DIŞKIDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETEEN ENTEROBACTERIACEAE ÜYELERİNİN PREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

EVALUATION OF PREVALANCE EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE MEMBERS IN FECES

Ömer KÜÇÜKBASMACI

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

İletişim / Correspondence:

Ömer KÜÇÜKBASMACI

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34098, Cerrahpaşa, İstanbul

E-mail: obasmaci@istanbul.edu.tr

ÖZET

Çalışmamızda 150 kişiden alınan 150 dışkı örneğinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri aranmıştır. Son üç aydır hastaneye yatmamış ve antibiyotik tedavisi almamış kişiler çalışmaya dahil edilmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ürettiği seftazidim ve seftriakson içeren Mac Conkey besiyerleri ile saptanan bakterilerde çift disk sinerji testi ve kombine disk testi yöntemleriyle GSBL varlığı doğrulanmıştır. GSBL ürettiği saptanan bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları saptanmıştır. GSBL üreten tüm kökenlerde PCR ile GSBL genleri varlığı araştırılmıştır. 150 hastanın 32' sinde (%21.3) GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* kökeni varlığı saptanmıştır. elde edilen GSBL üreticisi bakterilerin türlerine göre dağılımı ve oranlarına bakıldığında GSBL üreticisi 32 bakterinin 27' si (%84.4) *Escherichia coli*, dördü (%12.5) *Klebsiella pneumoniae*, biri (%3.1) *Klebsiella oxytoca*'dır. GSBL üreticisi 32 kökenin 29' unda (%90.6) blaCTX-M geni, 22' sinde (%68.7) blaTEM geni, ve 11' inde (%34.3) blaSHV geni saptanmıştır. Asemptomatik dışkı florası üyesi GSBL üreten *Enterobacteriaceae* kökenlerinin hangi sıklıkta ve hangi tiplerde olduğunu bilmek karmaşık GSBL epidemiyolojisini aydınlatılabilmek açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: GSBL, dışkı, *Enterobacteriaceae*, CTX-M

SUMMARY

We have studied the prevalence of extended spectrum beta lactamases (ESBL) in 150 fecal samples from 150 persons. Those who were not hospitalized within last three months and were not treated by antibiotics were included in this study. Cefotaxime and cefotaxime supplemented medium was used for the selective isolation of potential ESBL producing *Enterobacteriaceae*. Colonies were screened and confirmed by the double-disc synergy test and combined disc test for ESBL production. Antimicrobial susceptibilities of ESBL producing isolates for various antibiotics were determined. ESBL producing bacteria were identified as *Escherichia coli* (84.4%), *Klebsiella pneumoniae* (12.5%), *Klebsiella oxytoca* (3.1%). The ESBL producing isolates recovered from our patients corresponded to a CTX-M type (89.4%), TEM type (76.3%) and SHV type (31.5%). Information on the prevalence and types of asymptomatic fecal flora members producing ESBL may be very helpful to improve our understanding about the complex epidemiology of ESBLs

Key Words: ESBL, Feces, *Enterobacteriaceae*, CTX-M

GİRİŞ

Bakterilerde beta-laktamaz üretimi sık rastlanılan bir direnç mekanizmasıdır. Yeni antibiyotikler geliştirildikçe, bakteriler de aynı hızla yeni direnç yöntemleri geliştirmektedir. Bu direnç mekanizmalarının en önemlilerinden birisi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlardır (GSBL). GSBL ilk başlarda sadece hastane kaynaklı bakterilerde görülmekteyken özellikle son yıllarda toplumda da yaygın olarak görülmeye başlamıştır (1,2). Ülkemizde hastane kökenli bakteriler için çeşitli veriler bulunurken, dışkıdan izole edilen *Enterobacteriaceae* kökenlerinde özellikle salgın dışı dönemlerde GSBL sıklıkları ve tipleri hakkında da az sayıda çalışma bulunmaktadır (3-5). Bu çalışmada Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde ayakta hastaların dışkı örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinde GSBL sıklıkları ve enzimlerin tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2008-Nisan 2008 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na bağlı çeşitli laboratuvarlara başvuran çeşitli hastalardan elde edilen 150 dışkı örneği incelemeye alınmıştır. Hastaların hepsine son üç ay içinde hastanede yatıp yatmadıkları ve son üç aydır antibiyotik kullanıp kullanmadıkları soruldu. Hastaların dışkıları tuzlu suda süspansiyon edildikten sonra içlerinde seftazidim (1 µg/ml) ve seftriakson (1 µg/ml) bulunan MacConkey agar besiyerlerine ekilmiştir. Besiyerlerinde üreyen *Enterobacteriaceae* üyelerini tanımlamada standart mikrobiyolojik yöntemler kullanılmış ve muhtemel GSBL varlığı çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır. Çift disk sinerji yöntemi ile GSBL pozitifliğinden kuşku edilen kökenlerde klavulanik asit eklenmiş seftotaksim ve seftazidim kombinasyon diskleriyle GSBL varlığı araştırılmıştır. Disk difüzyon yöntemiyle amoksisilin/klavulanat, sefuroksim, sefoksitin, seftotaksim, seftazidim, sefepim, piperasilin/tazobaktam, imipenem, amikasin, siprofloksasin duyarlılıkları saptanmıştır (6). Ayrıca GSBL üreten tüm *Enterobacteriaceae* üyelerinde PCR ile *bla* TEM, *bla* SHV, *bla* CTX-M genlerinin varlığı önceden tarif edilen primerler ile araştırılmıştır (7).

BULGULAR

Çalışmaya son üç aydır hastanede yatmamış ve yine son üç aydır antibiyotik tedavisi almamış 150 kişi dahil edilmiştir. Bu 150 kişinin 82'si erkek, 68'i kadındır. 150 hastanın 32'sinde (%21.3) GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* kökeni varlığı saptanmıştır. Çalışmada elde edilen GSBL üreticisi bakterilerin türlerine göre dağılımı ve yüzde oranlarına bakıldığında GSBL üreticisi 32 bakterinin 27'si (%84.4) *Escherichia coli*, dördü (%12.5) *Klebsiella pneumoniae*, biri (%3.1) *Klebsiella oxytoca*'dır (Tablo 1).

Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm GSBL üreten kökenlere karşı en yüksek duyarlılığa sahip beta-laktam antibiyotik imipenem (%100) ve sefoksitin (%100) olurken, üçüncü kuşak sefalosporinler arasında en az duyarlılığa sahip olanlar seftriakson (%3.1) ve seftotaksim (%6.2) bulunmuştur. Amoksisilin/klavulanat duyarlılığı %50 bulunurken, piperasilin/tazobaktam duyarlılığı %59.4 bulunmuştur. Beta-laktam dışı antibiyotiklerden siprofloksasin ve amikasine duyarlılık oranları sırasıyla %46.9 ve %87.6 olmuştur. Tüm antibiyotiklere karşı duyarlılık oranları tablo 2'de ayrıntılarıyla verilmiştir.

Çalışmada elde edilen GSBL üreticisi kökenlerde PCR yöntemiyle *bla*SHV, *bla*TEM, *bla*CTX-M genleri varlığına bakılmıştır. GSBL üreticisi 32 kökenin 29'unda (%90.6) *bla*CTX-M geni, 22'sinde (%68.7) ve *bla*TEM geni 11'inde (%34.3) *bla*SHV geni saptanmıştır.

TARTIŞMA

Dışkıda *Enterobacteriaceae* taşıyıcılığı hakkında çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ülkemizde ise bu konuda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Aksoy ve ark. (3) parazitolojik inceleme için polikliniklere başvurmuş ve son bir ayda antibiyotik kullanmamış olduğu gösterilen 140 hastanın %3'ünde GSBL üreten bakteri saptanmıştır. Daha önce yine Cerrahpaşa Tıp

Tablo 1. GSBL üreten bakterilerin türlerine göre dağılımı.

Bakteriler	Sayı (%)
<i>E. coli</i>	27 (%84.4)
<i>K. pneumoniae</i>	4 (%12.5)
<i>K. oxytoca</i>	1 (%3.1)
Toplam	32

Fakülte'sinde tarafımızdan yapılmış çalışmada 250 dışkı örneğinin 38'inde (%15.2) GSBL üreten *Enterobacteriaceae* saptanmıştır; aynı çalışmada yatan hastalardaki GSBL sıklığı %22 iken poliklinik hastalarında %14,4 bulunmuştur (5). Bu çalışmada ise 150 kişinin 32'inde (%21.3) GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* kökeni varlığı saptanmıştır. Bu sonuç önceki çalışma sonuçlarına göre daha yüksektir. Üstelik bu çalışmaya dahil edilen kişilerin hiçbiri son üç aydır antibiyotik tedavisi almamış ve hastanede yatarak tedavi olmamışlardır. Bu sonuçlar GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin günümüzde toplumda yüksek bir oranda bulunduğunu göstermektedir.

Ülkemizde 2006 yılında Azap ve ark. (4) yatan hasta ve poliklinik hastası dışkılarında GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi prevalansını sırasıyla %43.7 ve %15.2 bulmuşlardır. Ülkemizde Duman ve ark. (8) 2006 yılında yenidoğan yoğun bakım ünitesinden topladıkları 367 dışkının %33.7'sinde GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi saptamışlar, bu kökenlerin %59'unu *Klebsiella spp.* ve %41'ini *E.coli* olarak tanımlamışlardır.

Çalışmamızda GSBL üreticisi 32 kökenin 29'unda (%90.6) blaCTX-M geni, 22'inde (%68.7) blaTEM geni ve 11'inde (%34.3) blaSHV geni saptanmıştır. Daha önce yaptığımız çalışmada ise elde edilen 38 GSBL üreticisi *Enterobacteriaceae* üyesinin 34'ünde (%89,4) blaCTX-M geni, 29'unda (%76,3) blaTEM

geni ve 12'sinde (%31,5) blaSHV geni saptanmıştır (5). Sonuçlar birbirleriyle uyumlu gözükmektedir. Bu sonuçlar son yıllarda GSBL epidemisinde görülen eğilimi yansıtmaktadır. SHV tipi GSBL daha az sıklıkla rastlanılırken, CTX-M tipi beta-laktamazlar ön plana çıkmaktadır. Türkiye'de yaygın olan CTX-M tipi grup 1 içerisinde yer alan CTX-M 15'tir. Gönüllü ve ark. (9) *E.coli* kökenlerinin %86.8'inde bu tip enzimleri saptamışlardır. Taşlı ve Bahar (10) dışkıdan elde ettikleri 63 GSBL üreticisi kökenin %52.7'sinde blaTEM, %74.3'ünde blaSHV geni saptamışlardır fakat bu çalışmada araştırmacılar CTX-M tipi enzimleri araştırmamışlardır. Öte yandan bu çalışmanın CTX-M tipi enzimlerin tüm dünyada tam olarak yaygınlaşmadığı yıllarda yapıldığı gözardı edilmemelidir.

GSBL sadece beta-laktam antibiyotik seçeneklerini kısıtlamakla kalmayıp aynı zamanda başta florokinolonlar olmak üzere aminoglikozidler, trimetoprim-sulfametaksazol gibi birçok farklı antibiyotik sınıfına da direnci beraberinde getirmektedir (11). Çalışmamızda kökenlerin %53.1'i siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Aminoglikozid direnci ise daha düşük düzeydedir. Bu çalışmada özellikle hastanede yatmayan ve bir süredir antibiyotik tedavisi almayan hastalarda asemptomatik GSBL üreten *Enterobacteriaceae* prevalansı saptanmaya çalışılmıştır. Bir ön çalışma niteliğinde olan çalışmamız devam etmektedir. Elde ettiğimiz kö-

Tablo 2. GSBL üreten bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları.

Antibiyotik adı	Dirençli Sayı (%)	Orta Dirençli Sayı (%)	Duyarlı Sayı (%)
AMC	11 (%34.4)	5 (%15.6)	16 (%50)
TZP	7 (%21.9)	6 (%18.7)	19 (%59.4)
CXM	28 (%87.6)	2 (%6.2)	2 (%6.2)
FOX	0 (%0)	0 (%0)	32 (%100)
CAZ	6 (%18.7)	6 (%18.7)	20 (%62.6)
CRO	27 (%84.4)	4 (%12.5)	1 (%3.1)
CTX	27 (%84.5)	3 (%9.3)	2 (%6.2)
FEP	5 (%15.6)	5 (%15.6)	22 (%68.8)
IMP	0 (%0)	0 (%0)	32 (%100)
AN	1 (%3.1)	3 (%9.3)	28 (%87.6)
CIP	17 (%53.1)	0 (%0)	15 (%46.9)

AMC: amoksisilin-klavulanik asit, TZP: Piperasilin, CXM: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, CTX: Sefotaksim, FEP: Sefepim, IMP: İmipenem, AN: Amikasin, CIP: Siprofloksasin

kenlerin dizi analiziyle enzim profilleri de saptanmaya çalışılacaktır. GSBL epidemisinin toplumda ki prevalansını ve tiplerini saptamak bu karmaşık ve çok önemli enzim ailesini tanımamıza yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med* 2005; 352:380-391.
2. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18:657-86
3. Aksoy A, Göçmen S, Kaçmaz B, Canver S. İnsan ve sığırlardan izole edilen fekal E.coli suşlarında antibiyotik direnç ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi. *ANKEM Dergisi* 2005; 19:130-134.
4. Azap K, Arslan H, Karaman Ö, Togan T. Risk factors for faecal carriage of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in the community. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 01.04.2006 - 04.04.2006.
5. Derya Ünver, Ömer Küçükbasmacı. Salgın dışı durumlarda dışkıda genişlemiş spektrumlu beta-Laktamaz üreten Enterobacteriaceae üyelerinin prevalansının saptanması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2008; 38: 126-131.
6. Clinical and Laboratory Standarts Institute. Performance standarts for antimicrobial testing; Seventeenth Informational Supplement. CLSI Document 2007; M100-S16
7. Lee Sh, Jeong Sh, Lee Kj. Evolution of TEM beta-lactamase genes identified by PCR with newly designed primers in Korean clinical isolates. *Clin Microbiol Infect.* 2001; 7:98-100.
8. Duman M, Abacioglu H, Karaman M, Duman N, Özkan H. Beta-lactam antibiotic resistance in aerobic commensal fecal flora of newborns. *Pediatrics International* 2006; 47:267-273.
9. Gonullu N, Aktas Z, Kayacan Cb, Salcioglu M, Carattoli A, Yong De, Walsh Tr. Dissemination of CTX-M-15 beta-lactamase genes carried on Inc FI and FII plasmids among clinical isolates of *Escherichia coli* in a university hospital in Istanbul, Turkey. *J Clin Microbiol.* 2008; 46:1110-2
10. Taşlı H, Bahar H. Molecular haracterization of TEM and SHV derived extended spectrum beta-lactamases in hospital based Enterobacteriaceae in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58:162-167.
11. Tolun V, Küçükbasmacı O, Törümküney-Akbulut D, Catal C, Anđ-Küçüker M, Anđ O. Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10:72-5.