

**KISA BİLDİRİ:**  
**HASTANE ENFEKSİYONU ETKENİ OLARAK KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA SPP.* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ PREVALANSI**

SHORT COMMUNICATION:  
 PREVALENCE OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASES IN NOSOCOMIAL *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA SPP.* STRAINS ISOLATED FROM BLOOD CULTURES

**Pınar ZARAKOLU<sup>1</sup>, Gökhan METAN<sup>2</sup>, Gülşen HASÇELİK<sup>3</sup>, Murat AKOVA<sup>1</sup>**

**ÖZET:** Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) prevalansının saptanması amaçlanmıştır. Ocak 2003-Kasım 2005 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen toplam 344 suş (244 *E.coli*, 86 *K.pneumoniae*, 34 *K.oxytoca*) çalışmaya dahil edilmiştir. Bir hastadan, hastane yatışı boyunca izole edilen tek bir izolat çalışmaya alınmıştır. Etest (AB Biodisk, Solna, İsveç) yöntemiyle seftazidim veya sefotaksim MİK değeri  $\geq 1$  olan izolatlar seftazidim-klavulanik asit ve sefotaksim-klavulanik asit kombine Etest şeritleriyle test edilerek, oranın  $\geq 8$  olduğu koşullar GSBL pozitifliği olarak kaydedilmiştir. Buna göre *E.coli* izolatlarının %33'ü (74/224), *K.pneumoniae* izolatlarının %31.4'ü (27/86) ve *K.oxytoca* izolatlarının %47'si (16/34) Etest şeritlerin herhangi biri ile pozitif sonuç vermiştir. *E.coli* izolatlarının %5.4'ü (4/74), *K.pneumoniae* izolatlarının %3.7'si (1/27) ve *K.oxytoca* izolatlarının %43.1'inde (7/16) GSBL üretimi, sadece sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit oranının  $\geq 8$  olmasıyla belirlenmiştir. Seftazidim/seftazidim-klavulanik asit oranının yanı sıra sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit oranının belirlenmesi özellikle CTX-M gibi sefotaksimi parçalayan GSBL türlerinin saptanmasında önemlidir. Hastanemizde hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL prevalansının yüksek olduğu gözlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının izlenerek tedavinin uygun antibiyotik ile değiştirilmesi GSBL üreten bakterilerle gelişen bakteriyemilerin tedavisinde büyük önem taşımaktadır.

*Anahtar sözcükler:* *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine the prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in nosocomial bacteremia isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* at Hacettepe University Adult

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara. (zarakolu@hacettepe.edu.tr)

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

<sup>3</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Hospital in Ankara, Turkey. A total of 344 blood culture isolates of *E. coli* (n=244), *K.pneumoniae* (n=86) and *K.oxytoca* (n=34) were included in the study from January 2003 to November 2005. Only one isolate from one patient was tested in the study. The isolates with ceftazidime and/or cefotaxime MIC values  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  were tested by ceftazidime-ceftazidime/clavulanic acid and cefotaxime-cefotaxime/clavulanic acid Etest (AB Biodisk Solna, Sweden) strips and evaluated as ESBL positive if the ratio was  $\geq 8$ . Of the isolates, 33% (74/224) of *E.coli*, 31.4% (27/86) of *K.pneumoniae* and 47% (16/34) of *K.oxytoca* were detected as ESBL producers by any kind of two strips. However, 5.4% (4/74) of *E.coli*, 3.7% (1/27) of *K.pneumoniae* and 43.1% (7/16) of *K.oxytoca* ESBL-producing isolates could be detected only by cefotaxime-cefotaxime/clavulanic acid strips. It is important to use cefotaxime-cefotaxime/clavulanic acid as well as ceftazidime-ceftazidime/clavulanic acid ratio for detection of ESBL types that preferentially hydrolyze cefotaxime. Since prevalence of ESBL production is high in nosocomial *E.coli* and *Klebsiella* spp. isolates in our hospital, surveillance of antibiotic susceptibility patterns is important for the empirical treatment of bacteremic patients.

*Key words: Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, extended spectrum beta-lactamase.*

## GİRİŞ

*Escherichia coli* ve *Klebsiella* türleri hastane kaynaklı bakteriyemilerden en sık izole edilen etkenlerdir. Bu bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerinin yaygın olarak saptanması tedavi seçeneklerini önemli ölçüde kısıtlamakta, seftazidim, seftaksim gibi geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama karşı direnç neden olurken sefamisinler ve karbapenemlerden etkilenmemektedir. Bu enzimlerin varlığı özellikle bakteriyemilerde saptanan yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili bulunmuştur<sup>1</sup>.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL varlığının doğru tanımlanması uygunsuz antibiyotik kullanımının engellenmesi açısından önem taşımaktadır<sup>2</sup>. Günümüzde tanımlanan GSBL enzimlerinin sayısı 200'ü geçmektedir. TEM, SHV, CTX-M gibi grubun ana üyelerini oluşturan enzimlerin yanı sıra PER, Toho, GES-1, VEB-1, OXA türü enzimler dünyanın farklı bölgelerinden tanımlanmıştır. Farklı enzimlerin farklı substratlara karşı daha yüksek ilgi göstermesi, antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarının GSBL enzimlerinin varlığı açısından yorumlanmasını zorlaştırmaktadır<sup>1</sup>.

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi'nde hastane enfeksiyonu etkeni olarak kan kültürlerinden izole edilen *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *K.oxytoca* suşlarında GSBL enzimlerinin sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2003-Kasım 2005 tarihleri arasında hastane enfeksiyonu etkeni olarak kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* (n=244), *K.pneumoniae* (n=86) ve *K.oxytoca* (n=34) türleri olmak üzere 344 suş çalışmaya dahil edildi. Her hastadan sadece bir izolat çalışma kapsamına alındı. Kan kültürleri yatak başında uygun cilt temizliği yapılarak alındı, alınan örnekler BACTEC besiyerine ekilerek %5-

10 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. Suşların tür düzeyindeki tanımlaması Sceptor (Becton Dickinson, USA) sistemi ile yapıldı ve izolatlar çalışma sonuna dek -80°C'de saklandı. Suşlar test edilmeden önce iki kez taze kültürleri yapıldı. Etest (AB Biodisk, Solna, İsveç) yöntemiyle seftazidim veya sefotaksim minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri  $\geq 1$  olarak belirlenen izolatlar seftazidim-klavulanik asit ve sefotaksim-klavulanik asit kombine Etest şeritleriyle test edilip oranın  $\geq 8$  olduğu durum GSBL pozitifliği olarak kaydedildi<sup>3</sup>. *E.coli* ATCC 25922 ve *K.pneumoniae* ATCC 700603 kalite kontrol suşları olarak kullanıldı.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen *E.coli* izolatlarının %33'ü (74/224), *K.pneumoniae* izolatlarının %31.4'ü (27/86), *K.oxytoca* izolatlarının ise %47'si (16/34) her iki Etest şeridinden en az bir tanesi ile GSBL pozitif bulunmuştur. Bu izolatların tümünün seftazidim veya sefotaksim MİK değeri  $\geq 1$  olarak belirlenmiştir. *E.coli* izolatlarının %5.4'ünde (4/74), *K.pneumoniae* izolatlarının %3.7'sinde (1/27) ve *K.oxytoca* izolatlarının %43.1'inde (7/16) sadece sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit Etest şeritleri ile GSBL enzimi varlığı saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanıma girmesinden hemen sonra 1980'lerin başında bu antibiyotikleri hidrolize eden GSBL enzimleri bildirilmiştir<sup>4</sup>. Bu enzimler kısa sürede *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları başta olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı üyelerinde saptanır olmuştur. Bu bakterilerin etken olduğu pek çok hasta bakımı kaynaklı salgın bildirilmiştir<sup>5</sup>. GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu bakteriyemi, pnömoni, peritonit gibi ağır enfeksiyonlarda üçüncü kuşak sefalosporinlerin MİK değeri 4-8 µg/ml arasında bile olsa %90'ın üzerinde tedavi başarısızlığı bildirilmektedir<sup>6,7</sup>. Farklı çalışmalarda uygunsuz antibiyotik tedavisi ile hastanede yatış süresinin uzadığı ve tedavi maliyetlerinin arttığı; uygun antibiyotik kullanımı ile hastane kaynaklı bakteriyemi sonucu ortaya çıkan mortalite ve morbiditenin azaltılabileceği bildirilmiştir<sup>8-10</sup>.

*E.coli* ve *Klebsiella* türlerinde GSBL saptanma oranı ülkeler arasında, aynı ülkede merkezler arasında, izolatların hastane veya toplum kaynaklı, hastanede yoğun bakım kaynaklı olması ile belirgin farklılıklar göstermektedir<sup>8</sup>. Hollanda'da bir haftalık bir süreçte 11 hastaneden toplanan 571 *E.coli* ve 196 *K.pneumoniae* izolatında GSBL oranı %1'in altında bulunmuştur<sup>11</sup>. Yine Avrupa'da yoğun bakım ünitelerinden izole edilen suşların GSBL oranı incelendiğinde, İsviçre'de *Klebsiella* türlerinde %3, Portekiz'de %34 oranında belirlenmiştir<sup>12</sup>. Beijing'de yapılan bir çalışmada, iki yıl süre ile kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının %27'sinde GSBL enzimleri saptanmıştır<sup>13</sup>.

Ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda, GSBL üreten bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların önemli ve yaygın bir sorun olduğu dikkat çekmektedir. Bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinden izole edilen 193 *Klebsiella* izolatının %58'inde GSBL enzimi saptanmıştır<sup>14</sup>. Bir başka çalışmada dört aylık bir süre içerisinde farklı klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae* izolatlarının

%47'sinde, *E.coli* izolatlarının ise %12'sinde GSBL saptanmıştır<sup>15</sup>. Bir üniversite hastanesinde dört yıl boyunca izole edilen *Klebsiella* türlerinde GSBL oranı %14.3 iken, *E.coli*'de %6.7 olarak tespit edilmiştir<sup>16</sup>. Ekşi ve arkadaşları ise, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *E.coli* suşlarının %32'sinde ve *Klebsiella* spp. suşlarının %45'inde GSBL aktivitesini pozitif bulmuştur<sup>17</sup>.

TEM ve SHV grubu enzimlerin belirlenmesi için seftazidimin uygun bir substrat olduğu bilinmektedir. CTX-M grubu enzimler ise genelde seftazidime duyarlı sefotaksime dirençliyen, bu grubun üyelerinden CTX-M-15 ve CTX-M-27 seftazidime karşı yüksek düzeyde dirençlidir<sup>18</sup>. CTX-M türü enzimlerle yapısal benzerliği olan Toho türü enzimler, sefotaksime karşı seftazidime göre daha etkindirler<sup>19</sup>. Avrupa'da yapılan bir çalışmada GSBL üreten 91 *Klebsiella* izolatının sadece %36'sı sefotaksime dirençli rapor edilmiştir. CTX-M tipi GSBL üreten suşların seftazidim duyarlı rapor edilmesi uygun antibiyotik tedavisi planlanmasını güçleştirmektedir<sup>20</sup>. Steward ve arkadaşlarının<sup>21</sup> yaptığı çalışmada, GSBL üreten 117 *K.pneumoniae* izolatının 11'i seftazidim, ikisi sefotaksim ile saptanmıştır. Coudron ve arkadaşlarının<sup>22</sup> yaptığı çalışmada ise, GSBL saptama oranı seftazidim ile %86, sefotaksim ile %91 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit ve seftazidim/seftazidim-klavulanik asit seritlerinin beraber kullanımıyla GSBL saptama oranında artış olmuştur.

Hastanemizde kan kültüründen izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* sp. suşlarında GSBL saptanma sıklığı, Avrupa'daki çeşitli merkezlerden yüksek bulunmuştur. Avrupa'dan 51 merkezin katıldığı bir çalışmada bakteriyemi etkeni mikroorganizmalarda GSBL sıklığı *E.coli* suşlarında %5.3, *K.pneumoniae* suşlarında %27 olarak bildirilmiştir<sup>23</sup>. Ülkemizde halen sürdürülmekte olan çok merkezli bir çalışmada, yine kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarının %31.7'sinde, *K.pneumoniae* suşlarının %33.3'ünde GSBL enzimleri saptanmış, bunların %71.4'ü CTX-M tipi enzimler olarak tiplendirilmiştir<sup>24</sup>.

Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının izlenerek tedavinin uygun antibiyotik ile değiştirilmesi, GSBL üreten bakterilerle gelişen bakteriyemilerin tedavisinde büyük önem taşımaktadır<sup>25</sup>. Hastanemizde izole edilen *E.coli* ve *Klebsiella* sp. suşlarında yüksek oranda saptanan GSBL enzimlerinin varlığı, enfeksiyon kontrol önlemleri ve hastaların uygun şekilde tedavi edilmesinde antibiyotik kullanım politikalarının doğru uygulanmasının önemini vurgulamaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 218: 657-86.
2. Blomberg B, Jureen R, Manji KP, et al. High rate of fatal cases of pediatric septicemia caused by gram-negative bacteria with extended spectrum beta-lactamases in Dar es Salaam, Tanzania. J Clin Microbiol 2005; 43: 745-9.
3. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing strains by the Etest ESBL screen. J Clin Microbiol 1996; 34:1880-4.
4. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi, S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983; 11: 315-17.

5. Bush K. New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1085-9.
6. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2206-12.
7. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1481-91.
8. Lautenbach E, Patel BL, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162-71.
9. Anonymous. The cost of antibiotic resistance: effect of resistance among *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* on length of hospital stay. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23: 106-8.
10. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patients outcomes in the ICU setting. *Chest* 2000; 118: 146-55.
11. Stobberingh EE, Arends J, Hoogkamb-Korstanje JAA, et al. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in Dutch hospitals. *Infection* 1999; 27: 348-54.
12. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA* 1999; 281: 67-71.
13. 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.
14. Gunsoren 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.
15. Ozgunes I, Erben N, Kiremitci A, et al. The prevalence of extended-spectrum beta lactamase producing *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* in clinical isolates and risk factors. *Saudi Med J* 2006; 27: 608-12.
16. Alıcı O, Açıkgöz ZC, Göçer S, Gambarzade S, Karahocagil MK. Prevalence of extended-spectrum beta lactamases in gram negative rods: data of 2001-2004 period. *Mikrobiyol Bul* 2006; 40: 355-61.
17. Eksi F, Ozer G, Balci I. Investigation of the frequency of extended spectrum beta-lactamases and antibiotic resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 447-52.
18. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1-14.
19. Labia R. Analysis of the *bla(toho)* gene coding for Toho-2 beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2576-7.
20. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 183-9.
21. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum beta-lactamase detection methods. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2864-72.
22. Coudron PE, Moland ES, Sanders CC. Occurrence and detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* at a veterans medical center: seek and you may find. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2593-7.

23. Unal S, Masterton R, Goossens H. Bacteraemia in Europe antimicrobial susceptibility data from the MYSTIC surveillance programme. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23: 155-63.
24. Gür D, Gülay Z, Arıkan Akan Ö ve ark. Gram negatif hastane izolatlarında yeni beta-laktamlara direnç ve GSBL sıklığı. Çok merkezli HİTİT çalışması sonuçları. 12. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 16-20 Kasım 2005. Antalya. Kongre Kitabı, s: 212.
25. Metan G, Zarakolu P, Çakır B, Haşçelik G, Uzun O. Clinical outcomes and therapeutic options of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 254-7.