

Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde, Aynı Plazmid Paternine Sahip *Enterobacter cloacae* İzolatlarının Neden Olduğu Nozokomiyal Bakteriyemiler[#]

Dr. Mustafa ÖZYURT*, Dr. Özgül KISA*,
Dr. Cengiz KAYAHAN**,
Dr. Ahmet BAŞUSTAĞLU*, Dr. Hüseyin GÜN*

* Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
** Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.

VIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur (6-10 Ekim 1997, Antalya).

ÖZET

Çalışmamızda cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan yedi hastaya ait kan kültürlerinden 15 günlük bir süre içerisinde izole edilen toplam dokuz *Enterobacter cloacae* izolatı ile aynı türe ait biri parenteral beslenme solüsyonu diğeri de görevli hemşirenin elinden olmak üzere iki çevresel izolatin biyotiplendirme, antibiyotiplendirme ve plazmid paternleri çıkartılarak infeksiyon kaynağının belirlenmesine çalışıldı. Çalışmada kan kültürlerinden izolasyon BacT/Alert (Organon Technica) otomatize sisteminde, identifikasyon işlemleri ise konvansiyonel ve API ID 32 GN (BioMerieux, Fransa) sistemi ile yapıldı. *E. cloacae* olarak tanımlanan 11 izolatin Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle aynı antibiyotik direnç paternine sahip oldukları saptandı. Hastane infeksiyonu etkeni oldukları düşünülen bu izolatların, miniprep yöntemi ile yapılan plazmid analizlerinde bakterilerin hepsinde sırası ile 3.5, 3 ve 2 Kb ağırlığında üç adet plazmid tespit edilmesiyle bunların aynı izolatlar olduğu kanıtlandı.

Anahtar Kelimeler: *Enterobacter cloacae*, Hemokültür, Nozokomiyal Bakteriyemi, Antibiyotiplendirme, Miniprep Yöntemi.

SUMMARY

Nosocomial Bacteremia Cases at a Surgical Intensive Care Unit Caused by *Enterobacter cloacae* Isolates with the Same Plasmid Patterns

In this study, we aimed to determine the source of nosocomial *Enterobacter cloacae* bacteremia at a surgical intensive care unit by using different methods such as biotyping, antibiotyping and plasmid analysing. We isolated nine strains from blood cultures of seven different patients, one from parenteral solution and one from the hand of a nurse. Identifications were made by conventional bacteriological methods and API ID 32 GN strips (BioMerieux-France). All strains have the same antibiotic resistance patterns. We found the same plasmids (3.5, 3, 2 Kb) at these strains with miniprep technique.

Key Words: *Enterobacter cloacae*, Blood Cultures, Nosocomial Bacteremia, Antibiotyping, Miniprep Method.

GİRİŞ

Enterobacter cinsine ait türlere son 10 yıldır nozokomiyal bakteriyemi etkeni olarak sıkça rastlanmaktadır (1). Tüm gram negatif bakteriyemi ataklarının ortalama %7.7'sinden sorumlu tutulan *Enterobacter*'lerin klinik örneklerden en sık izole edilen türleri *Enterobacter aerogenes* ve *Enterobacter cloacae*'dir (1-3). Bakteriyemiden başka bu patojenin neden olduğu infeksiyonlar arasında üriner ve solunum sistemi infeksiyonları, kutanöz yaralar, özellikle sepsis ve menenjit gibi ciddi infeksiyonlar yer alır (3).

Bakteriyemiler için belirlenebilen giriş kapıları sıklık sıralarına göre akciğer, üriner sistem,

gastrointestinal kanal, açık yaralar ve santral venöz kateterler olarak bildirilmektedir (1,4,5). Buna rağmen son 10 yılda gelişen *Enterobacter* bakteriyemi vakalarının %21-72'sinde infeksiyon kaynağının belirlenemediği bildirilmiştir (1).

E. cloacae hareketli, sporsuz, çoğunlukla kapsülsüz veya ince kapsüllü, gram olumsuz basillerdir. Başta glikoz olmak üzere şekerleri gaz oluşturarak parçalarlar. İndol ve metil red testleri negatif, voges proskauer ve sitrat testleri pozitifdir. Genel özellikleri açısından *Klebsiella* türleri ile benzerlik gösterirlerse de, hareketli olmaları ve ornitin dekarboksilasyonu yapmaları nedeni ile bu bakterilerden ayrılırlar (3).

E. cloacae, gerek yenidoğan, gerekse cerrahi yoğun bakım ünitelerinde çoğu kez, kullanılan tıbbi ekipmanların herhangi bir yolla kontaminasyonu veya hasta bakımı ile ilgili personelin yetersiz kişisel hijyeni nedeni ile ciddi nozokomiyal salgınlara yol açabilmektedir (6-10). Bu noktada, mikrobiyoloji laboratuvarları hastane infeksiyonlarının tanısında anahtar role sahiptir. Etken veya etkenlerin rezervuarını ve bulaşma yollarını bulmak, izolatların tiplendirilmesi yaparak tek suştan kaynaklanan epidemileri açığa çıkartmak ve sürveyans çalışması kapsamında kolonizasyon taraması yaparak gelişebilecek hastane infeksiyonu epidemilerini saptamak bu infeksiyonların kontrolünde oldukça kritik ve önemli çalışmalardır. Bu amaçla nozokomiyal patojenlere ait birçok tiplendirme yöntemleri geliştirilmiş olup bunlar, biyotiplendirme, antibiyotiplendirme, serotiplendirme, bakteriyofaj ve bakteriyosin tiplendirmesi, plazmid profil analizi, restriksiyon endonükleaz analizi, southern blot analizi, pulsed field gel elektroforezi, polimeraz zincir reaksiyonu, ribotiplendirme, poliakrilamid jel elektroforezi, immüno blotting ve multilokus enzim elektroforezi olarak sıralanabilir (11-15).

Bu çalışmada hastanemizin bir cerrahi yoğun bakım ünitesinde aynı dönemde yatmakta olan bazı hastaların kan kültürlerinden izole edilen *E. cloacae* izolatlarının, biyotiplendirme sonuçlarını, antibiyotik direnç paternleri ve plazmid profillerini inceleyerek hastane infeksiyonu etkeni olup olmadıklarını ve etkenin kaynağını araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Hastanemizin cerrahi yoğun bakım ünitelerinden sadece birinde (yaklaşık 150 metrekare-

lik bir alanda) çeşitli nedenlerle aynı dönemde yatmakta olan yedi hastadan 15 günlük süre içerisinde gelişen bakteriyemilerde alınan dokuz ayrı kan örneğinde konvansiyonel yöntemlerle izole ve identifiye edilen bakteriyemilerin tümünün *E. cloacae* olması, sürveyans çalışması kapsamında etkenin bir nozokomiyal patojen olabileceğini düşündürdü. Kaynağı araştırmak üzere ilgili yoğun bakım ünitesine gidilerek hastaların doktor ve hemşireleri ile görüşüldüğünde, parenteral solüsyonların uygulanmasını takiben bazen hastalarda kısa süreli titremelerin olduğu bu nedenle bir parenteral beslenme solüsyonunun verilisinin kesildiği bildirildi. Bunun üzerine kullanılmakta olan serumlar, setleri ile birlikte mikrobiyolojik inceleme için alındı. Ayrıca kullanımı kesilmiş bir adet parenteral beslenme solüsyonu ile depoda mevcut serumlar, serum setleri ve intravenöz kateterlerden mikrobiyolojik inceleme için örnekleme yapıldı. Parenteral beslenme solüsyonundan aynı seride üretilmiş başka bir numune kalmadığından şahit numune alınmadı. Son olarak hastalara o anda uygulanmış venöz kateterler ile hastaların, görevli doktor ve hemşirelerin burun, boğaz ve el sürüntü örnekleri de alınarak incelemeye dahil edildi.

Kan kültürlerinden etken izolasyonu için mikrobiyoloji laboratuvarımızda BacT/Alert (Organon Teknica) otomatize sistemi kullanılmaktadır. Gram olumsuz basil oldukları anlaşılan izolatlarla konvansiyonel olarak, hareket muayenesi ile oksidaz ve katalaz testleri yapılarak ön identifikasyon işlemleri uygulandı. Oksidaz negatif, katalaz pozitif ve hareketli olduğu belirlenen izolatların tamamında ayrıca sitratı kullanabilme özellikleri, üreaz ve indol aktiviteleri ile Kligler Iron Agar (KIA)'da glikoz ve laktoza olan etkileri ayrı ayrı araştırıldı (2,3).

Biyokimyasal özelliklerine göre *E. cloacae* olduğu düşünülen izolatların *E. cloacae* ATCC 13047 kontrol suşu kullanılarak API ID 32 GN sistemi ile identifikasyonları teyid edildi.

Antibiyotiplendirme için tüm izolatların NCCLS kriterleri doğrultusunda disk difüzyon yöntemiyle ampisilin, sefazolin, trimetoprim/sulfametoksazol, gentamisin, seftazidim, siprofloksasin ve imipenem duyarlılıkları araştırıldı.

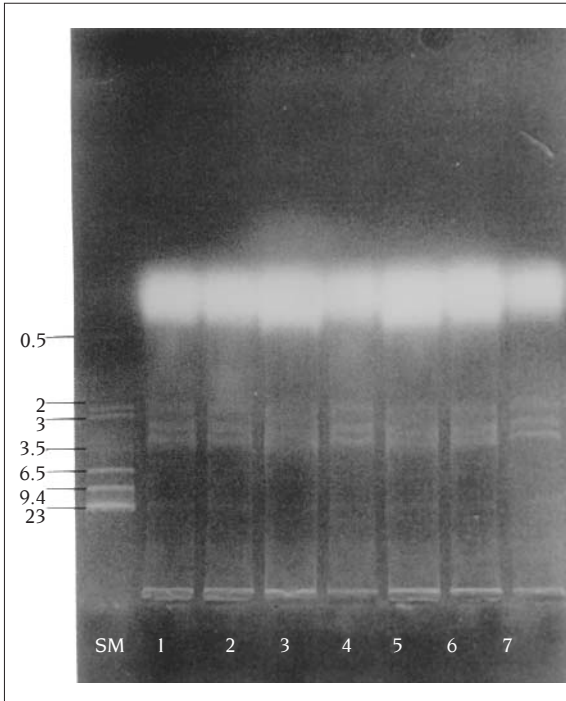
Son olarak aynı etken olduğu düşünülen tüm izolatların plazmid profilleri miniprep yöntemi kullanılarak gösterildi (16).

BULGULAR

Çalışmamız sırasında hastalara ait dokuz kan kültürü örneği ile yoğun bakımda görevli bir hemşirenin elinden ve parenteral beslenme solüsyonundan izole edilen toplam 11 bakterinin; gram olumsuz, hareketli, oksidaz negatif, glikoz ve laktozu gaz oluşturarak kullanan, sitrat ve üreaz pozitif, indol negatif oldukları saptandı. Bu özelliklerine göre *E. cloacae* olduğu düşünülen etkenler, API ID 32 GN sistemi ile de *E. cloacae* olarak tanımlandı. Tıbbi ekipmanlardan alınan sürtü örneklerinden *E. cloacae* izole edilmedi.

Disk diffüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogramda tüm izolatların trimetoprim-sulfametaksazol, gentamisin, seftazidim, siprofloksasin ve imipeneme duyarlı, ampicilin ve sefazoline dirençli oldukları tespit edildi.

Miniprep yöntemine göre yapılan plazmid analizlerinde, tüm izolatlarda sırası ile 3.5, 3 ve 2 Kb ağırlığında üç adet plazmid saptandı. Resim 1'de Size Marker ile birlikte beş hastadan (Hasta no: 1, 2, 3, 4, 5) ve parenteral beslenme solüsyonu (No: 6) ve hemşirenin elinden (No:7) izole edilen *E. cloacae* izolatlarına ait plazmid profilleri görülmektedir.



Resim 1. İzolatların Plazmid Profili.

TARTIŞMA

Özellikle hastane kaynaklı bakteriyemilerin %6.3'ünden sorumlu tutulan *E. cloacae*, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda gelişen nozokomiyal infeksiyonlarda önemli bir patojen etken olmaya devam etmektedir (1,3). Bazen nozokomiyal infeksiyonlarda kaynağa ulaşabilmek zor olsa da genellikle yoğun bakım ünitelerinde kaynak, tıbbi bir ekipman, uygulanan invaziv bir girişim veya direkt bakımla görevli bir personel olabilmektedir (1,7,10,17).

Çağlayangil ve arkadaşları 24 aylık bir dönemi kapsayan çalışmalarında saptadıkları *Enterobacter sepsislerinin* %57'sinde infeksiyon kaynağını belirleyemezken bu vakaların intravenöz uygulamalarda gelişen primer bakteriyemiler olabildiklerini belirtmişlerdir (1). Lacey ve arkadaşları yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki *E. cloacae*'nin neden olduğu bir salgında kontaminasyonun kan gazı makinasının probundan kaynaklandığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir (7). Chodoff ve arkadaşları içlerinde *E. cloacae*'nin bulunduğu bir polimikrobiyal gram negatif bakteriyemi salgınında kaynağın, kullanılan serum fizyolojik olduğunu saptamışlardır (18). Wade ve arkadaşları ise gönüllüler üzerinde yaptıkları bir araştırmada yeterli el hijyeninin bu tür salgınları önlemede en etkin yol olduğunu vurgulamışlardır (17).

Bugün bakterilerde plazmidler tarafından kodlandığı bilinen birçok özellik bulunmaktadır. Bunlar antibiyotik direnç özelliğinden, toksin yapımına, hemolizin oluşumundan birçok biyokimyasal özelliğe kadar oldukça geniş bir yelpaze içinde yer alır. Bununla beraber, aynı bakteriden kaynaklanan kökenlerdeki plazmid profillerinin aynı olması epidemiyolojik araştırmalarda ve özellikle nozokomiyal infeksiyonlarda kaynağın saptanmasında oldukça değerli bulgulardır (11,12,19,20).

Bununla ilgili olarak, Lacey ve arkadaşları ile Chodoff ve arkadaşları, yaptıkları çalışmalarda infeksiyon kaynağını saptamada özellikle plazmid profillerini belirlemenin önemini vurgulamışlardır (7,18). Plazmid profillerinin belirlenmesinde en sık kullanılan moleküler yöntemlerden birisi de miniprep yöntemidir ve başarı ile kullanılmaktadır (16). Biz de çalışmamızda antibiyotiplendirme ve biyotiplendirme ile birlikte bu yöntemi kullanarak bakteriyemiye neden olan etkenin nozokomiyal kaynaklı olabileceğini göstermeye çalıştık.

Bu çalışmada hemokültür izolasyonlarının din-
şında kaynağa yönelik incelemelerde aynı etke-
ni izole ettiğimiz parenteral beslenme solüsyo-
nu ile aynı lot numarasına sahip elde başka bir
solüsyon olmadığı için kontaminasyonun primer
olarak solüsyondan mı kaynaklandığı yoksa se-
konder olarak manipülasyonlar sırasında mı
oluştğu konusuna tam açıklık kazandıramadık.
Ancak yoğun bakımda görevli bir hemşirenin
elinden de bu etkenin izole edilmiş olması, bu
hemşirenin sözkonusu yoğun bakım hastalarıyla
irtibatının sürekliliğinin yanısıra yeterli el anti-
sepsisinin sağlanamamış olması gibi faktörler
kaynağın, bu hemşirenin elleri olabildiği ihtima-
lini güçlendirmektedir.

Burada basit ve önemsizmiş gibi görünen el
yıkama alışkanlığının ne kadar önemli olabilece-
ği bir kez daha gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Çağlayangil A, Sümerkan B, Doğanay M. Entero-
bakter sepsisi: 35 olgunun klinik ve epidemiyolo-
jik özellikleri. Flora 1997;2(2):91-7.
2. Farmer JJ, Kelly MT. *Enterobacteriaceae*. In: Balows A,
Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy JH(ed).
Manuel of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Wash-
ington DC: American society for micro-
biology 1991:360-83.
3. Koneman WE, Allen DS, Janda MW, Schrecken-
berger CP, Winn CW. The *Enterobacteriaceae*. Color
Atlas and Rextbook of Diagnostic Microbiology.
Forth Edition. Washington JB Lippincott Company
1992:105-84.
4. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, et al. *Enterobacter*
bacteremia: Clinical features and emergence of
antibiotic resistance during therapy. Ann Intern
Med 1991;115:585-90.
5. Burchard KW, Barral DT, Reed M, et al. *Enterobac-
ter* bacteremia in surgical patients. Surgery
1986;100:857-562.
6. Rudnick JR, Beck-Sague CM, Anderson RL, Shable
B, Miller JM, Jarvis VR. Gram negative bacteremia
in open heart surgery patientstraced to probable
tap-water contanimation of pressure-monitoring
equipment. Infect Control Hosp Epidemiol
1996;17(5):281-5.
7. Lacey SL, Want SV. An outbreak of *Enterobacter clo-
acae* associated with contamination of a blood gas
machine. J Infect 1995;30(3):223-6.
8. Acolet D, Ahmet Z, Houant E, Hurley R, Kaufmann
ME. *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care
unit: Account of an outbreak and its relations-
hip to use of third generation cephalosporins. J
Hosp Infect 1994;28(4):273-86.
9. Thomas A, Lalitha MK, Jesudason MV, John S.
Transducer related *Enterobacter cloacae* sepsis in
postoperative cardiothoracic patients. J Hosp In-
fect 1993;25(3):211-4.
10. Beck-Sague CM, Chong WH, Roy C, Aderson R, Jar-
vis WR. Outbreak of surgical wound infections as-
sociated with total hip arthroplasty. Infect Control
Hosp Epidemiol 1992;13(9):526-34.
11. Erturan Z, Bal Ç, Katrancı H, Anđ Ö. *Enterobacter*
suşlarında bakteriyosin tiplendirmesi. İnfeksiyon
Dergisi 1997;11(4):349-52.
12. Pfealler MA. Typing methods for epidemiological
investigation. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann
KL, Isenberg HD, Shadomy JH(ed). Manuel of Clini-
cal Microbiology. Fifth edition. Washington DC:
American society for microbiology 1991:171-82.
13. Maslow JN, Mulligan ME, Arbeit RD. Moleculer
epidemiology: The application of contemporary
techniques to typing bacteria. Clin Infect Dis
1993;17:153-62.
14. Eisenstein BI. New moleculer techniques for mic-
robial epidemiology and the diagnosis of infecti-
ous diseases. J Infect Dis 1990;161:595-602.
15. Haşçelik G. Hastane infeksiyonlarında laboratu-
varın rolü. Hastane İnfeksiyonları Dergisi
1997;1:21-30.
16. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular clo-
ning. A laboratory manual, Second edition, Cold
Spring Harbor Laboratory Press 1989:1.25-1.40.
17. Wade JJ, Desai N, Casewell MW. Hygienic hand di-
sinfektion for the removal of epidemic vancomy-
cin resistant *Enterococcus faecium* and gentamicin re-
sistant *Enterobacter cloacae*. J Hosp Infect
1991;18(3):211-8.
18. Chodoff A, Pettis AM, Schoomaker D, Shelly MA.
Polymicrobial Gram-negative bacteremia associ-
ated with saline solution flush used with a need-
leless intravenous system. Am J Infect Control
1995;23(6):357-63.
19. Joseph FJ, James J, Twitty A. Plasmids as epidemi-
ologic markers in nosocomial Gram-negative bac-
cilli experience at a university and review of the
literature. Rewievs Infect Dis 1986;5:693-704.
20. Wachsmuth K. Molecular epidemiology of bacte-
rial infections: Examples of methodology and of
investigations of outbreaks. Reviews of Infect Dis
1986;5:682-91.

YAZIŞMA ADRESİ:

Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZYURT

GATA Mikrobiyoloji ve

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Etlük-ANKARA