

# Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Salgılayan ve Salgılamayan *Escherichia coli*, *Klebsiella* Suşlarında Ko-Trimoksazol, Sefepim ve Karbapenem Duyarlılıkları

Dr. Özlem KURT AZAP\*,  
Dr. Funda TİMURKAYNAK\*, Dr. Göknur YAPAR\*,  
Dr. Ünal ÇAĞIR\*, Dr. Hande ARSLAN\*

\* Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

## ÖZET

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakterilerle gelişen infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotikler kısıtlıdır. Çalışmanın amacı, GSBL üreten ve üretmeyen *Escherichia coli*, *Klebsiella* suşlarında ko-trimoksazol [trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMZ)], sefepim, imipenem ve meropenem için minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) değerlerini ve duyarlılık oranlarını belirlemektir. 2004 yılında merkezimizde izole edilen 263 *E. coli* suşunun 127 (%48.2)'si, 176 *Klebsiella* suşunun 58 (%31.1)'i GSBL pozitif bulunmuştur. Çalışmaya 36'sı GSBL negatif, 33'ü GSBL pozitif, toplam 69 *E. coli* ve 34'ü GSBL negatif, 23'ü GSBL pozitif toplam 57 *Klebsiella* suşu alınmıştır. Suşların MIK değerleri "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda agar dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. GSBL pozitif suşların TMP-SMZ ve sefepim için MIK değerleri daha yüksek iken, karbapenemler için MIK değerleri arasında belirgin farklılık yoktur. Test edilen tüm suşlar imipenem ve meropenem duyarlıdır. İn vitro duyarlılık sonuçlarına göre karbapenemler, GSBL pozitif suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde güvenle kullanılabilecek antibiyotiklerdir.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, *Klebsiella*, GSBL, Sefepim, Karbapenem, Ko-trimoksazol.

## SUMMARY

**Susceptibility Rates of Co-Trimoxazole, Cefepime, Carbapenems Against ESBL Producing and Non-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Strains**

The number of antibiotics to be used in the treatment of infections caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing bacteria is limited. The aim of this study was to determine the minimal inhibitory concentrations (MIC) and susceptibility rates of ESBL producing and non-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains against co-trimoxazole, cefepime, imipenem and meropenem. One-hundred and twenty-seven (48.2%) of 263 *E. coli* strains and 58 (31.1%) of 176 *Klebsiella* strains isolated from the hospitalized patients in 2004 were ESBL producers. A total of 69 *E. coli* isolates (36 ESBL negative and 33 ESBL positive) and 57 *Klebsiella* isolates (34 ESBL negative, 23 ESBL positive) were included to this study. MIC values of the strains were determined by agar dilution method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria. MIC values of co-trimoxazole and cefepime against ESBL positive strains are higher than the ESBL negative ones. MIC values of carbapenems were similar against both the ESBL negative and positive bacteria. All the strains tested were found to be susceptible to imipenem and meropenem. Carbapenems seem to be appropriate choices in the treatment of infections caused by ESBL producing bacteria based on the in vitro susceptibility data.

**Key Words:** *Escherichia coli*, *Klebsiella*, ESBL, Cefepime, Carbapenem, Co-trimoxazole.

## GİRİŞ

Beta-laktam antibiyotikler, etki spektrumlarının geniş olması ve yan etki yönünden güvenilir olmaları nedeniyle en yaygın kullanılan antibiyotik grubudur. Dünyada tüketilen antibiyotiklerin %65'ini penisilinler ve sefalosporinler oluşturmaktadır (1). Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakteriler de direnç geliştirmektedir. Beta-laktam antibiyotiklere direnç geliştirme mekanizmalarından biri olan beta-laktamazların çok çeşitli türleri vardır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), çok sayıda geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiğe direnç gelişmesine neden olmaları ve hızla yayılabilmeleri nedeniyle oldukça önemlidir. GSBL'ler ilk olarak 1985 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda SHV-2 enziminin gösterilmesiyle gündeme gelmiştir (2). En sık, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*'da görülmekle birlikte *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp. gibi enterik bakterilerle *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi non-fermentatif bakterilerde de görülebilmektedir (3). Günümüzde sayıları 200'e ulaşan GSBL'lerin önemi giderek artmakta ve klinikte ciddi sorunlara ve tedavi başarısızlıklarına yol açabilmektedir. En sık TEM ve SHV türü enzimler görülmekle birlikte, son yıllarda CTX-M türü enzimlerin de sıklığı artmaya başlamıştır. Bunların dışında OXA, PER, VEB, GES, TLA, BES gibi birçok GSBL enzim türü vardır (4). GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonların tedavisiyle ilgili bilgiler, in vitro antibiyotik duyarlılık sonuçları, deneysel hayvan modelleri, vaka raporları, retrospektif veya prospektif gözleme dayalı çalışmalar sonucu ortaya çıkmıştır. GSBL üreten bakteriler de genellikle ko-trimoksazol [trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMZ)], aminoglikozid ve kinolon grubu antibiyotiklere de direnç görüldüğünden antibiyotik seçimi kısıtlanmaktadır. Karbapenemler GSBL pozitif bakterilerin etken olduğu ciddi infeksiyonlarda ilk seçenek antibiyotikler olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, GSBL pozitif ve GSBL negatif *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında TMP-SMZ, sefepim, imipenem ve meropenemin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerini ve duyarlılık oranlarını belirlemektir.

## MATERYAL ve METOD

Çalışmaya, Başkent Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2004 yılında gön-

derilen materyallerden [kan, balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı, yara, derin trakeal aspirat, plevral sıvı, periton sıvısı] izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşları alınmıştır. Örneklerin tamamı hastanede yatan hastalardan alınmıştır. İdrardan izole edilen suşlarda GSBL taraması yapılmadığından çalışmaya idrar örnekleri alınmamıştır. Bakteriler -80°C'de saklanmıştır. Çalışmaya, tek koloni düşürülerek pasajı yapılan bakteriler bir gecelik inkübasyondan sonra alınmıştır. Test edilen suşların 36'sı GSBL negatif *E. coli*, 33'ü GSBL pozitif *E. coli*, 34'ü GSBL negatif *Klebsiella*, 23'ü GSBL pozitif *Klebsiella*'dır. Tüm suşlar "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriakson ile test edilmiştir. Zon çapları seftazidim için  $\leq 22$  mm, aztreonam için  $\leq 27$  mm, sefotaksim için  $\leq 27$  mm veya seftriakson için  $\leq 25$  mm olanlar seftazidim/seftazidim-klavulanik asit diskleri ile test edilmiştir (6). Sef-tazidim-klavulanik asit diskinin çevresindeki zon çapı, seftazidimin çevresindeki zon çapından 5 mm veya daha fazla olan suşlar GSBL pozitif olarak kabul edilmiştir (6). TMP-SMZ, sefepim, imipenem ve meropenem için antibiyotik tozları üretici firmalardan temin edilmiştir. Tüm suşlarda agar dilüsyon yöntemi ile MİK tayini yapılmıştır (6). Kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır, kontrol suşlarının MİK değerleri CLSI tarafından önerilen sınırlar içinde bulunmuştur (6). Her bir suş için MİK belirlendikten sonra MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> değerleri ve duyarlılık yüzdeleri hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Mikrobiyoloji laboratuvarına 2004 yılı içinde gönderilen idrar dışı örneklerden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşları, GSBL pozitifliği yönünden değerlendirilmiştir. İzole edilen 263 *E. coli* suşunun 127 (%48.2)'si, 176 *Klebsiella* suşunun 58 (%33)'i GSBL pozitifdir. Çalışmaya 36'sı GSBL negatif, 33'ü GSBL pozitif, toplam 69 *E. coli* ve 34'ü GSBL negatif, 23'ü GSBL pozitif toplam 57 *Klebsiella* suşu alınmıştır. Belirlenen MİK konsantrasyonları ve duyarlılık oranları Tablo 1'de verilmiştir. GSBL pozitif suşların TMP-SMZ MİK değerleri, GSBL negatiflere göre iki dilüsyon daha yüksektir. TMP-SMZ duyarlılık oranları GSBL pozitif suşlar için daha düşük bulunmuştur (GSBL negatif *E. coli*, GSBL pozitif *E. coli*, GSBL negatif *Klebsiella*, GSBL pozitif *Klebsiella* için sırasıyla %78, %46, %73, %42). GSBL negatif suşların tamamı sefepi-

Tablo 1. *Escherichia coli* ve *Klebsiella* Suşlarının MİK Değerleri (mg/L) ve Duyarlılık Oranları.

	<i>E. coli</i>		<i>Klebsiella</i>	
	GSBL negatif (n= 36)	GSBL pozitif (n= 33)	GSBL negatif (n= 34)	GSBL pozitif (n= 23)
<b>TMP-SMZ</b>				
MİK <sub>50</sub>	0.25	1	0.25	1
MİK <sub>90</sub>	0.5	2	0.5	2
MİK aralığı	0.5-16	0.5-16	0.5-16	0.5-16
Duyarlılık (%)	78	46	73	42
<b>Sefepim</b>				
MİK <sub>50</sub>	0.06	16	0.12	16
MİK <sub>90</sub>	0.12	32	0.12	32
MİK aralığı	0.06-0.2	2-64	0.06-0.5	2-64
Duyarlılık (%)	100	12	100	9
<b>İmipenem</b>				
MİK <sub>50</sub>	0.06	0.12	0.12	0.25
MİK <sub>90</sub>	0.12	0.12	0.5	0.5
MİK aralığı	0.06-1	0.06-1	0.06-1	0.06-1
Duyarlılık (%)	100	100	100	100
<b>Meropenem</b>				
MİK <sub>50</sub>	0.06	0.06	0.06	0.06
MİK <sub>90</sub>	0.06	0.06	0.06	0.06
MİK aralığı	0.06-0.12	0.06-0.12	0.06-0.12	0.06-1
Duyarlılık (%)	100	100	100	100

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu, GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, TMP-SMZ: Trimetoprim-sülfametoksazol (ko-trimoksazol).

me duyarlı iken, GSBL pozitif olanlarda duyarlılık oranları belirgin düşüktür (GSBL pozitif *E. coli* ve GSBL pozitif *Klebsiella* için sırasıyla %12, %9). Tüm suşlar imipenem ve meropeneme duyarlı bulunmuştur. İmipenem ve meropenem için MİK değerleri GSBL negatif ve pozitif suşlar için belirgin farklılık göstermemektedir.

### TARTIŞMA

Gram-negatif bakterilerin beta-laktamaz ürettiği uzun yıllardır bilinmektedir. İlk plazmid üzerinde taşınan beta-laktamaz ise 1960 yılında Yunanlı bir hastanın kanından izole edilen *E. coli*'de gösterilmiştir ve hastanın adının ilk üç harfi ile (TEM) isimlendirilmiştir (7). Ardından SHV türü enzimler ortaya çıkmıştır. Sefotaksim, seftriakson, seftazidim gibi o zamana kadar saptanan beta-laktamazlara dayanıklı oksiiimino beta-laktamların klinik kullanıma girmesinden sadece iki yıl sonra da ilk GSBL enzimi gösterilmiştir (7). Hızla yayılan bu tür enzimler nedeniyle ilk hastane

kaynaklı salgın 1985 yılında Fransa'dan bildirilmiştir (5). GSBL sıklığı, coğrafi olarak farklılık gösterdiği gibi hastaneler arasında da farklılık göstermektedir. 1997 yılından itibaren yürütülen "Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC)" çalışmasının 1997-2003 yılları arasındaki verilerine göre GSBL pozitifliği Doğu Avrupa ve Güney Amerika ülkelerinde en yüksek olup, *K. pneumoniae* suşları için %58.7-51.9, *E. coli* suşları için %28.9-18.1; Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde en düşük olup, *K. pneumoniae* suşları için %16.7-12.3, *E. coli* suşları için %6.2-7.5'tir (2). Bu çalışmada GSBL pozitifliği oranı *Klebsiella* için %33; *E. coli* için %48.2 olarak bulunmuştur. *E. coli* için saptanan bu yüksek oranın nedenlerinden biri idrar suşlarının çalışmaya dahil edilmemesi olabilir. Türkiye'den yayınlanan diğer çalışmalarda ise *Klebsiella* ve *E. coli* suşlarında GSBL pozitiflik oranını Yıldız ve arkadaşları sırasıyla %39 ve %12.5; Ünlü ve arkadaşları ise %64.7 ve %76.2 olarak bildirmiştir (8,9).

GSBL pozitifliği coğrafyaya göre farklılık gösterdiği gibi, hangi yöntemle araştırıldığına göre de değişmektedir. CLSI önerileri dışında, çift disk sinerji, üç-boyutlu test, E-test ve otomatize sistemlerle de GSBL tayini yapılabilmektedir. Bu testlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri birbirinden farklıdır (10-13). Tenover'in 1999 yılında yayınladığı bir çalışmada, 38 mikrobiyoloji laboratuvarının 8 (%21)'i GSBL salgılayan suşları tespit edememiştir (14). Günümüzde CLSI standartlarında önerilen tarama ve doğrulama testleri rutinde kolay uygulanabilen ve maliyeti yüksek olmayan testlerdir (5). Bu çalışmada, CLSI önerilerine göre fenotipik tarama ve doğrulama testi yapılmıştır (6). Çalışmanın önemli kısıtlılıklarından biri enzim tiplerinin belirlenememiş olmasıdır.

GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* suşları çoğunlukla birçok antibiyotiğe dirençli olduklarından bu mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda tedavi seçenekleri kısıtlıdır. Bu tür infeksiyonlarda farklı antibiyotiklerin etkinliğini belirlemek üzere yapılmış kontrollü ve randomize klinik çalışma yoktur ve çeşitli nedenlerle yapılması oldukça güçtür. Bu konuda, retrospektif çalışmalar ve in vitro duyarlılık çalışmaları yol gösterici olmaktadır (1). Karbapenemler GSBL pozitif suşların tedavisinde ilk seçenek olarak görülmektedir. Ancak geniş antibakteriyel spektruma sahip olan bu antibiyotiklerin yaygın kullanımı enterik bakterilerle birlikte *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi nonfermentatif bakterilerde de direnç gelişmesine, sonuçta ağır nozokomiyal infeksiyonlar için tedavi seçeneklerinin azalmasına neden olabilmektedir (15). Sefepim, özellikle SHV türü birçok GSBL'ye in vitro etkilidir. Bununla birlikte, bakteri inokülumunun artırılması ile sefepim duyarlılığında azalma görülebilir.

Bu çalışmada, GSBL negatif ve pozitif suşlarda karbapenem MİK değerleri oldukça düşük bulunmuştur, suşların tamamı imipeneme ve meropeneme duyarlıdır (Tablo 1). Ünlü ve arkadaşları ile Şener ve arkadaşlarının çalışmalarında da karbapenemlere dirençli suş saptanmamıştır; Gülay ve arkadaşlarının çalışmalarında ise %2.3 imipenem direnci saptanmıştır (9,16,17). 2003 yılı MYSTIC sonuçlarına göre meropenem direnci *E. coli* suşları için %0.5, *K. pneumoniae* suşları için %1.2'dir (18). Literatürde de belirtildiği gibi, bu çalışmada da GSBL pozitif suşlar için sefepim MİK değerleri yüksektir ve

duyarlılık oranları düşüktür (8,11). Birçok yayında sefepimin GSBL pozitif suşlar için iyi bir tedavi seçeneği olamayacağı belirtilmiştir (1,6,11,15). GSBL negatif suşların ise tamamı sefepime duyarlıdır (Tablo 1). MYSTIC 2003 yılı sonuçlarına göre (GSBL pozitifliği ayırt edilmeksizin) *E. coli* suşlarında sefepim direnci oranı %34.8, *K. pneumoniae* suşlarında %35.5'tir (18).

GSBL üreten suşlar için iyi bir tedavi seçeneği olabilecek olan TMP-SMZ'ye karşı direnç ise yine GSBL pozitif suşlarda daha yüksektir (1,11). Bu çalışmada da GSBL negatif suşların duyarlılığı %70'lerde iken, GSBL pozitif suşların duyarlılığı %40'lardadır (Tablo 1).

Son yıllarda GSBL'ler sadece araştırma laboratuvarlarında görülen ilginç enzimler olmaktan çıkmış, özellikle enterik bakterilerin tedavisi güç infeksiyonlara neden olmasına yol açmıştır (19). GSBL üreten bakteriler, hızla yayılmakta ve hastanelerde salgınlara yol açabilmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarının GSBL için tarama ve doğrulama testlerini *E. coli*, *Klebsiella* ve *Proteus mirabilis* için uygulaması CLSI tarafından önerilmektedir (6). GSBL pozitif suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin sayısı oldukça kısıtlıdır. İn vitro duyarlılık sonuçlarına göre karbapenemler, bu seçeneklerin başında gelmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Ulusoy S. Beta-Laktamazlar ve Klinik Önemi (Mezuniyet Sonrası Eğitim Dizisi). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005.
2. Turner PJ. Extended-spectrum beta-lactamases. Clin Infect Dis 2005;41:273-5.
3. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. N Engl J Med 2005;352:380-91.
4. Romero L, Lopez L, Rodriguez-Bano J, et al. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbiol Infect Dis 2005;11:625-31.
5. Köksal İ. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar Serisi). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), formerly NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 5<sup>th</sup> Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Wayne, PA: CLSI, 2005.
7. Giamarellou H. Multi-drug resistance in gram-negative bacteria that produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs). Clin Microbiol Infect 2005;11(Suppl 4):1-16.

8. Yıldız Ü, Durmaz G, Us T, Akgün Y. Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan enterik bakterilerin meropenem, imipenem, sefodizim ve sefepim duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi* 2000;14:373-7.
9. Ünlü GV, Ünlü M, Bakıcı MZ, Gür D. Kan kültürlerinden soyutlanan gram-negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere direnci ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları. *İnfeksiyon Dergisi* 2003;17:459-63.
10. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad spectrum beta-lactamases conferring transferrable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867-78.
11. Rupp ME, Fey PD. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae. *Drugs* 2003;63:353-65.
12. Akyıldız R, Özsoy MF, Altunay H, et al. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta-laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *KLİMİK Dergisi* 1998; 11:53-8.
13. Linscott AJ, Brown WJ. Evaluation of four commercially available extended-spectrum beta-lactamase phenotypic confirmation tests. *J Clin Microbiol* 2005;43:1081-5.
14. Tenover FC, Mohammed MJ, Gorton TS, Dembek ZF. Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: Survey of laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol* 1999;37:4065-70.
15. Reese AM, Frei CR, Burgess DS. Pharmacodynamics of intermittent and continuous infusion piperacillin/tazobactam and cefepime against extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26:114-9.
16. Şener AG, Yüce A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında imipenem, meropenem ve sefoperazon-sulbaktamın etkinliği. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2001;15:325-9.
17. Gülay Z, Amyes SGB, Yuluğ N. Hastane infeksiyonlarından soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlılığının ve beta-laktamaz tiplerinin incelenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1996;30:1-11.
18. Gülay Z. Gram-negatif çomaklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye Haritası. *ANKEM Derg* 2005;19(Ek 2):66-77.
19. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.

#### YAZIŞMA ADRESİ

Uzm. Dr. Özlem KURT AZAP

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

İnfeksiyon Hastalıkları ve

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

06490 Bahçelievler - ANKARA

e-mail: okurtazap@baskent-ank.edu.tr

Makalenin Geliş Tarihi: 18.08.2005 Kabul Tarihi: 03.05.2006