

İdrar kültürlerinden soyutlanan *Enterobacteriaceae* türlerinin GSBL üretimi ile ertapenem ve diğer antibiyotiklere direncinin belirlenmesi

The determination of resistance to ertapenem and other antibiotics with ESBL product of Enterobacteriaceae isolated from urine samples

Aytekin Çıkman¹, Nadire Seval Gündem², Barış Gülhan¹, Merve Aydın¹, Mehmet Parlak³,
Yasemin Bayram³

ÖZET

Amaç: *Enterobacteriaceae* türleri, üriner sistem enfeksiyonlarından en sık izole edilen mikroorganizmalardır. Çalışmada, idrar kültürlerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin GSBL üretimi ve başta ertapenem olmak üzere çeşitli antibiyotiklere direnç durumları araştırılmıştır.

Yöntemler: Laboratuvarımızda Ocak 2012 - Mart 2012 tarihleri arasında konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan *Enterobacteriaceae* suşları çalışmaya dâhil edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile GSBL üretimi ise çift disk sinerji yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute önerileri doğrultusunda araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 117'si *E.coli*, 23'ü *Klebsiella* spp., 4 *Proteus* spp. ve 4 *Enterobacter* spp. olmak üzere toplam 148 suş izole edilmiştir. *E.coli* suşlarının 26'sı (%22), *Klebsiella* spp. suşlarının 8'i (%35) GSBL pozitif olarak bulunurken *Proteus* spp. ile *Enterobacter* spp. suşları için GSBL üretimi saptanmamıştır. İzole edilen tüm suşlar ertapenem ve meropenem karşı duyarlı bulunmuştur. Bu antibiyotikler dışında *Enterobacteriaceae* türlerine en etkili diğer antibiyotikler; amikasin, piperasilin-tazobaktam ve sefoksitin olarak bulunmuştur.

Sonuç: İdrar kültürlerinden izole edilen *Enterobacteriaceae*'lerin tedavisinde ertapenemin iyi bir alternatif olduğu görülmüştür. Bu gruptaki enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler başta olmak üzere amikasin, piperasilin/tazobaktam ve sefoksitin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Enterobacteriaceae*, ertapenem, GSBL

ABSTRACT

Objective: *Enterobacteriaceae* is the most frequently isolated bacteria in urinary system infections. This study investigated the antibiotic susceptibility including ertapenem and extended-spectrum beta-lactamase production of bacteria belongs to *Enterobacteriaceae* isolated from the urinary culture.

Methods: *Enterobacteriaceae* strains, identified by using conventional methods in our laboratory between January 2012 and March 2012, were included the study. The antibiotic susceptibilities were investigated with the Kirby-Bauer disc diffusion method and the ESBL productions were examined with the double-disc synergy method in accordance with the suggestions of Clinical and Laboratory Standards Institute.

Results: In the study, a total of 148 strains were isolated (117 *E.coli*, 23 *Klebsiella* spp. and 4 *Proteus* spp. and 4 *Enterobacter* spp.). While 26 of *E.coli* strains (22%), and 8 of *Klebsiella* spp. strains (35%) were considered ESBL positive, no ESBL production was determined for *Proteus* spp. and *Enterobacter* spp. strains. All the isolated strains were found to be susceptible to ertapenem and meropenem. Amikacin, piperacillin-tazobactam and cefoxitin were determined to be other antibiotics with the greatest effect on *Enterobacteriaceae* species.

Conclusion: Ertapenem was observed to be alternative in the treatment of *Enterobacteriaceae* isolated from the urinary culture. Carbapenems in particular, amikacin, piperacillin-tazobactam and cefoxitin were found to be the most effective antibiotics in the treatment of this infection.

Key words: *Enterobacteriaceae*, ertapenem, ESBL

¹ Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzincan

² Ereğli Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

³ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

Yazışma Adresi /Correspondence: Mehmet Parlak,

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van Email: mehmetparlak65@hotmail.com

GİRİŞ

Enterobacteriaceae'lar, tüm yaş gruplarında üriner sistem enfeksiyonlarında (ÜSİ) en sık izole edilen bakteri türlerini oluşturmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisi için antibiyotiklerin ampirik olarak yoğun şekilde kullanımı direnç sorununu da beraberinde getirmiştir [1,2]. Özellikle *Escherichia coli* (*E.coli*) ve *Klebsiella* spp. beta-laktamaz enzimleri ile antibiyotik inaktivasyonuna yol açmakta ve beta-laktam antibiyotiklere direnç geliştirmektedirler [3]. Üretilen bu beta-laktamazlar penisilinleri, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları hidroliz etme yeteneğindedir. Bu nedenle, bu yeni beta-laktamazlar, geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılmaktadır [4].

Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarının prevalansının oldukça yüksek olduğu bilinmektedir. Başta yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere GSBL üreten bakteriler, tedavide sorun oluşturarak ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda GSBL üreten mikroorganizmalarla oluşan toplum kaynaklı enfeksiyonlara da rastlanmaktadır [5]. Dirençli fenotipte mikroorganizma sayısının artması nedeniyle ÜSİ tedavisinde etkili, kullanımı kolay ve direnç oranı düşük antimikrobiyaller konusunda çalışmalar yapılmaktadır [6]. Karbapenem grubu bir antibiyotik olan ertapenem, proteinlere yüksek oranda bağlanması ile yarı ömrü imipenem ve meropenemden daha uzundur. Bu farmakokinetik özelliği ile günde tek doz kullanım kolaylığına sahip olan ertapenem, intravenöz veya anestetik madde ilavesi ile intramüsküler olarak uygulanabilmektedir [7].

Çalışmada, idrar kültürlerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* türlerinin GSBL üretimi ve başta ertapenem olmak üzere çeşitli antibiyotiklere direnç durumları araştırılmıştır.

YÖNTEMLER

İzolatlar

Çalışmaya Ocak 2012 - Mart 2012 tarihleri arasında hastanemiz poliklinik ve servislerinde ÜSİ tanısı ile takip edilen hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi mikroorganizmalar dâhil edilmiştir. İdrar örneklerinden steril öze yardımı ile 10µl alınarak koyun kanlı agar ve EMB

ağara ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda $\geq 10^5$ CFU/ml üreme saptanan mikroorganizmalar koloni morfolojileri ve Gram boyanma özelliklerine göre klasik yöntemlerle (indol, metil red, Voges-Proskauer (VP), sitrat, üre, TSI, oksidaz) tanımlanmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri

Antibiyotik duyarlılığı, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır [8]. Duyarlılık testlerinde ertapenem (200 µg, Oxoid, İngiltere) ile birlikte amikasin, amoksisilin/klavulanik asit, sefazolin, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, sefoksitin, siprofloksasin, gentamisin, piperasilin/tazobaktam, trimetoprim/sulfametoksazol, aztreonam ve meropenem diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır.

GSBL üretiminin araştırılması

Enterobacteriaceae türlerinde GSBL enziminin varlığı çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır. Çift disk sinerji testinde, Mueller-Hinton agarın merkezine amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg) diski ve bu diskin etrafına merkezden merkeze uzaklıkları 20 mm olacak şekilde seftriakson (30 µg), sefotaksim (30µg), seftazidim (30 µg) ve aztreonam (30 µg) diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 18-20 saat süreyle 37°C'de inkübe edilmiştir. Disklerden herhangi birinin inhibisyon zonunun amoksisilin/klavulanik asit diskinin bakan kısmında genişleme olması GSBL pozitifliği olarak değerlendirilmiştir [9].

BULGULAR

Çalışmada 117'si *E.coli*, 23'ü *Klebsiella* spp. ve 4'er *Proteus* spp. ile *Enterobacter* spp. olmak üzere toplam 148 suş izole edilmiştir. *E.coli* suşlarının 26'sı (% 22), *Klebsiella* spp. suşlarının 8'i (% 35) GSBL pozitif olarak değerlendirilmiş, diğer suşlarda ise GSBL üretimi saptanmamıştır. İzole edilen tüm suşlar ertapenem ve meropeneme duyarlı bulunmuştur.

Karbapenemler dışında, *E.coli* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotikler; piperasilin-tazobaktam, amikasin ve sefoksitin şeklinde sıralanmıştır. *Klebsiella* spp. suşlarının tümü karbapenemlere ve amikaseine duyarlı bulunmuştur. Piperasilin-tazobaktam ve sefoksitin bu suşlara en etkili diğer antibiyotikler

olarak bulunmuştur. Çalışmada *E.coli* suşlarında en fazla direnç trimetoprim/sulfametoksazole karşı saptanırken *Klebsiella* spp. suşlarında ise en fazla

direnç sefazoline karşı saptanmıştır. Enterobacteriaceae türlerinde antibiyotiklere dirençli suşların sayısı ve yüzdesi Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Enterobacteriaceae türlerinin çeşitli antibiyotiklere direnci

Antibiyotik	<i>Escherichia coli</i> (n=117)		<i>Klebsiella</i> spp. (n=23)		<i>Proteus</i> spp. (n=4)		<i>Enterobacter</i> spp. (n=4)		Tüm Suşlar (n=148)	
	(R)*	(%)**	(R)	(%)	(R)	(%)	(R)	(%)	(R)	(%)
Ertapenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Meropenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amikasin	6	5	0	0	0	0	0	0	6	4
TPZ	5	4	3	13	0	0	0	0	8	5
Sefoksitin	15	13	3	13	0	0	0	0	18	12
Gentamisin	20	17	7	30	0	0	1	25	28	19
Siprofloksasin	29	25	6	26	0	0	0	0	35	24
Aztreonam	28	24	8	35	0	0	1	25	37	25
Sefuroksim	30	26	8	35	0	0	1	25	39	26
Seftazidim	31	26	8	35	0	0	1	25	40	27
Seftriakson	31	26	8	35	0	0	1	25	40	27
Sefotaksim	31	26	8	35	1	25	1	25	41	28
Sefazolin	32	27	9	39	0	0	1	25	42	28
AMC	36	31	13	57	1	25	1	25	51	34
SXT	54	46	7	30	1	25	2	50	64	43

*R: Dirençli suş sayısı, **: Direnç yüzdesi, TPZ: Piperasilin/tazobaktam, AMC: Amoksisilin/klavulanik asit SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol

TARTIŞMA

Son yıllarda *Enterobacteriaceae* türleri arasında giderek artan antimikrobiyal direnç nedeniyle tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Özellikle *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesinin arttığı gözlenmektedir [10]. Sık tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının varlığı, daha önce hastaneye yatış öyküsünün bulunması, gereksiz antibiyotik kullanımı direnç gelişmesinde etkili faktörler arasında yer almaktadır. Dirençli suşlarla meydana gelen enfeksiyonlar klinikte tedavi seçeneklerini azaltarak mortalite ve morbiditede artışa neden olmaktadır. Buna paralel olarak hastanede yatış süresini uzamakta ve bu durum maliyet artışını da beraberinde getirmektedir [11].

Geniş spektrumlu beta laktamaz üretimi yurt dışında yapılan bir çalışmada *E.coli* ve *Klebsiella* suşları için sırasıyla; %11 ve %13 olarak bildirilmiştir [12]. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise bu

oranların daha yüksek olduğu bilinmektedir. Tunçhan ve ark. *E.coli* suşlarının %38’inde, *Klebsiella* suşlarının ise % 32’sinde GSBL pozitifliği saptamışlardır. Aynı çalışmada, *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında karbapenemlere direnç saptanmamıştır. Ayrıca, meropenem ve ertapenemin MİK düzeylerini birbirleriyle karşılaştırılabilir düzeylerde bulunurken, imipenem için MİK düzeyleri daha yüksek belirlenmiştir [11]. İraz M. çalışmasında GSBL, *E.coli* suşlarının %27’sinde, *Klebsiella* spp.’nin % 23’ünde pozitif olarak saptanmıştır. *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının her ikisinde de en etkili antibiyotikler imipenem, sefotetan, seftazidim, nitrofurantoin ve piperasilin/tazobaktam olarak tespit edilmiştir [13]. Başka bir çalışmada ise Kuzucu ve ark. GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* spp. klinik izolatlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılığını araştırmıştır. Çalışılan tüm suşlar amikasinle duyarlı bulunmuş; imipenem/meropenem duyarlılığı %99.3, ertapenem duyarlılığı ise

%98.6 olarak saptanmıştır [5]. Çalışmamızda *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşları için GSBL oranları % 22 ve %35 oranında saptanmış, suşların tümü ertapenem ve meropenem duyarlı bulunmuştur.

Karbapenemler, *Enterobacteriaceae* grubu bakterilere karşı en etkili antimikrobiyal ajanlar olarak bildirilmektedir [14]. *Enterobacteriaceae* dâhil olmak üzere birçok Gram-negatif bakteri ile Gram-pozitif aerobik ve anaerobik bakterilere karşı etkili bulunan ertapenem, günde tek doz uygulamanın yeterli olması ile tedavi maliyetini azaltmaktadır [15,16]. Bu özelliği sayesinde ayaktan tedavi edilen birçok enfeksiyonda da uygulama kolaylığı sağlamanın yanında intravenöz/intramüsküler uygulama ile *Enterobacteriaceae*'ya bağlı ÜSİ'lerin ayaktan tedavisinde uygun bir seçenek olarak görülmektedir [3]. Temiz ve ark. ayaktan ve yatan hastaların üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri *E.coli* suşlarında meropenem ve amikasinine karşı direnç saptamazlarken, *Klebsiella* suşlarında amikasin ve meropeneme karşı sırasıyla %0.8 ve %7.6 oranında direnç saptamışlardır [17]. Hastane kökenli üriner sistem enfeksiyonuna yol açan *E.coli* ve *Klebsiella* suşları üzerine yapılan bir çalışmada imipenem ve amikasin en etkili antibiyotikler olarak saptanmıştır [18]. Çalışmamızda ertapenem ve meropeneme karşı hiçbir suşta dirence rastlanmamıştır. Bu durum karbapenemlerin direnç suşlarla oluşan tedavide en iyi alternatif olduklarını göstermiştir.

Aminoglikozidler, Başta ÜSİ olmak üzere Gram negatif bakteriler ile oluşan birçok enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın kullanım alanına sahiptir. Karbapenemler ile birlikte aminoglikozidler de *Enterobacteriaceae* türlerine en etkili antimikrobiyaller olarak karşımıza çıkmaktadır. Amikasin, *Enterobacteriaceae* türlerine en etkili aminoglikozid ajandır [4,19-21]. Çalışmamızda *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. ve *Enterobacter* spp. suşlarının tümü ile *E.coli* suşlarının %95'i amikasinine duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak, *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerle oluşan üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemler başta olmak üzere amikasin, piperasilin/tazobaktam ve sefoksitin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. Ertapenem tek doz kullanım avantajı ile idrar kültürlerinden izole edilen GSBL pozitif suşlar dâhil olmak üzere, *Enterobacteriaceae* türlerine son derece etkili bulunmuş ve

bu bakteriler ile oluşan üriner sistem enfeksiyonların tedavisinde iyi bir alternatif olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Khanna N, Boyes J, Lansdell PM, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance pattern of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Glasgow, Scotland. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:573-577.
2. Cullen IM, Manecksha RP, McCullagh E, et al. The changing pattern of antimicrobial resistance within 42,033 *Escherichia coli* isolates from nosocomial, community and urology patient-specific urinary tract infections, Dublin, 1999-2009. *BJU Int* 2012;109:1198-1206.
3. Karaoğlan İ, Zer Y, Süner A, Namıdur M. Bazı *Enterobacteriaceae* türlerine ertapenemin in-vitro etkinliği. *ANKEM Derg* 2008;22:183-187.
4. Parlak M, Çıkman A, Bektaş A, Bektaş M. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere direnç: beş yıllık izlem. *Sakaryamj* 2012;2:11-15.
5. Kuzucu C, Yetkin F, Görgeç S, Ersoy Y. Investigation of the susceptibilities of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. strains to ertapenem and other carbapenems. *Mikrobiyol Bul* 2011;45:28-35.
6. Mengeloğlu FZ, Demircan F, Oduncu MK. İdrar kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* izolatlarının fosfomisine karşı in-vitro duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* 2011;25:99-102.
7. Mülazımoğlu L. 1986'dan günümüze karbapenemler. *ANKEM Derg* 2010;24:33-35.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement, M100-S20, CLSI, Wayne PA (2010).
9. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended spectrum beta-lactamases in members of family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1877-1882.
10. Tenover FC, Emery SL, Spiegel CA, et al. Identification of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus* species can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. *J Clin Microbiol* 2009;47:294-299.
11. Güzel Tunçcan Ö, Tozlu Keten D, Dizbay M, Hızal K. Hastane kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı. *ANKEM Derg* 2008;22:188-192.
12. Ho PI, Tsang DN, Que TL, et al. Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among *E.coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. *APMIS* 2000;108:237-240.

13. Iraz M. Malatya Devlet Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitifliği ile antibiyotik duyarlılığı. ANKEM Derg 2009;23:161-165.
14. Kiremitçi A, Dinleyici EC, Erben N, et al. In vitro activity of ertapenem and other carbapenems against extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in a tertiary care center in Turkey. Expert Opin Pharmacother. 2008;9:1441-1449.
15. Yılmaz N, Ağuş N, Köse Ş, et al. Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2009;39:80-84.
16. Curran M, Simpson D, Perry C. Ertapenem: A review of its use in the management of bacterial infections. Drugs. 2003;63:1855-1878.
17. Temiz H, Akkoç H, Gül K. Laboratuvarımızda İdrar Kültürlerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç. Dicle Tıp Derg 2008;35:234-239.
18. Naz H, Çevik FÇ, Aykın N. Hastane kökenli üriner sistem infeksiyonları ve antibiyotik direnç profili. Dicle Tıp Derg 2009;36:85-90.
19. Gündüz T, Mumcuoğlu İ. İdrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2004;34:157-161.
20. Kibar F, Yaman A, Dündar İH. İdrar örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2004;4:162-170.
21. Manoharan A, Sugumar M, Kumar A, et al. Phenotypic & molecular characterization of AmpC β -lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. & *Enterobacter* spp. from five Indian Medical Centers. Indian J Med Res 2012;135:359-364.