

Yatan Hastalardan İzole Edilen Gram Negatif Basillerde Antibiyotik Direnci⁺

Çiğdem Kuzucu*, Bengül Durmaz*, Melek Ayan*, Latife Abut*, Mehmet Bayraktar*

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, MALATYA.

Hastanelerde antibiyotiklerin aşırı kullanılmasına bağlı olarak bakteriyel direnç artmaktadır. Bu çalışma, Gram negatif basillerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu ajanlara karşı gelişen antimikrobiyal direnci saptamak amacıyla yapıldı. Dört aylık sürede yatan hastalardan izole edilen 152 Gram negatif basilin antibiyotiklere duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Test edilen 152 Gram negatif basilin antibiyotiklere direnç oranları GN için % 53, AK için % 27, ISP için % 23, CTX için % 58, CRO için % 59, CAZ için % 34, CEF için % 27, IMP için % 3, MEM için % 3, PTZ için % 39, AMC % 56, TIM için % 46 ve SAM için % 54 olarak bulundu.

Anahtar kelimeler: Antibiyotiklere direnç, Gram negatif basiller

Antimicrobial Resistance of Gram Negative Bacilli Isolated From Inpatients

Due to overuse of antibiotics in hospitals, there has been increased bacterial resistance to antibiotics. This study was performed to establish the degree of antimicrobial resistance to various broad spectrum agents used to treat infections caused by Gram negative bacilli. During a four month period, the sensitivities to antibiotics of 152 Gram negative bacilli collected from inpatients were detected by disk diffusion method. Among all microorganisms tested, the percentages of resistant strains were 53 for GN, 27 for AK, 23 for ISP, 58 for CTX, 59 for CRO, 34 for CAZ, 27 for CEF, 3 for IMP, 3 for MEM, 39 for PTZ, 56 for AMC, 46 for TIM and 54 for SAM.

Key words: Antimicrobial resistance, Gram negative bacilli.

+Çalışma 1-4 Nisan 2001 tarihinde İstanbul'da yapılan 11. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Özellikle hastanede kazanılmış infeksiyonları kontrol etmek için, o bölgede ya da o hastanedeki antimikrobiklere direnç oranlarının bilinmesi gereklidir. Antimikrobiklere direnç oranlarındaki artışlar infeksiyonların tedavisini zorlaştırmakta, daha pahalı ilaçların kullanılmasına, hastanede kalış süresinin uzamasına, daha yüksek ölüm oranlarına ve yüksek maliyette sağlık harcamalarına neden olmaktadır.¹

Bu çalışma hastanemizde yatan hastalardan izole edilen Gram negatif basillerde çeşitli antimikrobiyal ilaçlara karşı gelişen antibiyotik direncini saptamak amacıyla yapıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Dört aylık sürede Turgut Özal Tıp Merkezinde yatan hastalardan izole edilen 152 Gram negatif basil çalışmaya alındı. Bu mikroorganizmaların %19.7'si yoğun bakım ünitelerinden izole edildi. Antibiyotik duyarlılık testleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemiyle yapıldı.² İzolatların gentamisin (GN 10 µg), amikasin (AK 30 µg), isepamisin (ISP 30 µg), sefotaksim (CTX 30 µg), seftriakson (CRO 30 µg), seftazidim (CAZ 30 µg), sefepim (CEF 30 µg), imipenem (IMP 10 µg), meropenem (MEM 10 µg), piperasilin tazobaktam (PTZ 100/10 µg), amoksasilin klavulanik asit (AMC 20/10 µg), tikarsilin klavulanik

asit (TIM 75/10 µg) ve ampisilin sulbaktam (SAM 10/10 sulbaktam) duyarlılığı araştırıldı. İseпамisin (30µg) kullanıldığında zon çapı ≤ 14 mm dirençli, ≥ 17 mm duyarlı olarak yorumlandı.³ Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz yapımı (GSBL) çift disk sinerji yöntemi ile saptandı.² Standart bakteri suşu olarak E.coli ATCC 25922 ve P.aeruginosa ATCC 27853 kullanıldı.

BULGULAR

İzolatların başlıca kaynağını idrar %32, yara %27, kan %23, solunum yolu örnekleri %17, serebrospinal sıvı (1 örnek) ve kateter (1 örnek) örnekleri oluşturdu. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

En sık izole edilen organizma *Escherichia coli* (*E.coli*), *Acinetobacter* türleri., *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) ve *Klebsiella* türleri olmuştur.

İzole edilen bakterilerin antibiyotik dirençleri Tablo 2'de verilmiştir. Çalışmamızda *Klebsiella*'ları n % 52'sinde GSBL pozitifliği saptanmıştır.

TARTIŞMA

Antibiyotiklere direnç gelişimi dünyada büyük bir problem haline gelmiştir. Antibiyotik direnci morbidi - te ve mortaliteyi artırmakta, sepsis, bakteriyemi, ciddi

otitis media, pnömoni ve menenjit gibi hastalıklarda tedavi rejimlerinin değişmesine neden olmaktadır.⁵⁻⁸

Gentamisin kullanıma girdikten sonra on yıl içinde direnç problemi başlamış, *Enterobacteriaceae* türleri arasında gentamisin ve tobramisin direncinde artış görülmüştür. Bu dirençli türlere karşı etkili bir aminoglikozid olan amikasin de direnç nedeniyle etkisini kaybetmeye başlayınca aminoglikozidlerin dönüşümlü olarak kullanımı gündeme getirilmiştir.⁹ İstanbul Üniversitesinde yoğun bakım ünitesinden izole edilen Gram negatif bakterilerin aminoglikozid duyarlılığının saptandığı bir çalışmada duyarlılık oranları gentamisin için %58, amikasin için %68 ve isepamisin için %66 bulunmuş olup, isepamisin direnci *P.aeruginosa* hariç diğer Gram negatif bakterilerde yüksek oranda saptanmıştır.¹⁰ Dokuz Eylül Üniversitesinde yapılan bir çalışmada gentamisin direnci *K.pneumoniae* 'da % 72, *P.aeruginosa* ' da % 52, *E. coli*'de % 13 ve *Enterobacter* türlerinde % 43 bulunmuştur.¹¹ Hastanemizde 1996 yılında yapılan bir araştırmada poliklinik ve yatan hastalardan izole edilen Gram negatif basillerde gentamisin direnci *Enterobacter* türlerinde % 60, *P.aeruginosa* ' da % 68 ve *K.pneumoniae* 'da % 23, amikasin direnci ise aynı bakterilerde sırasıyla % 10, % 24 ve % 28 olarak bulunmuştur.¹² Çalışmamızda da gentamisin en dirençli (% 53) aminoglikozid olarak bulunmuştur. İseпамisin yeni kullanıma giren bir aminoglikozid olmasına rağmen %23 oranında direnç görülmüştür.

Tablo 1. İzole edilen bakterilerin klinik örneklerle göre dağılımı.

Örnekler(n)	<i>E.coli</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	Diğer* <i>Enterobacteriaceae</i>
İdrar (48)	26	3	4	9	4	2
Yara (41)	5	19	6	5	5	1
Kan (35)	11	4	6	11	1	2
Solunum yolu (26)	-	6	15	5	-	-
Kateter (1)	1	-	-	-	-	-
Serebrospinal Sıvı (1)	-	-	-	1	-	-
Toplam (152)	43	32	31	31	10	5

* *Proteus* türlerini (4 suş) ve *Citrobacter* türünü (1 suş) içermektedir.

Tablo 2. Yatan hastalardan izole edilen 152 Gram negatif basilin antibiyotiklere direnç yüzdeleri.

Mikroorganizma(n)	GN	AK	ISP	CTX	CRO	CAZ	CEF	IMP	MEM	PTZ	AMC	TIM	SAM
<i>E.coli</i> (43)	16	19	2	12	14	12	12	0	0	14	37	35	37
<i>Klebsiella spp</i> (31)	65	32	10	55	61	45	23	0	0	61	77	52	77
<i>P.aeruginosa</i> (31)	68	26	48	94	100	13	23	6	6	23	-	32	-
<i>Acinetobacter spp</i> (32)	87	44	44	100	87	75	69	6	6	69	-	78	62
<i>Enterobacter spp</i> (10)	40	10	20	50	50	40	0	0	0	50	100	40	50
Diğerleri (5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam (152)	53	27	23	58	59	34	27	3	3	39	56	46	54

GN: gentamisin, AK: amikasin, ISP: isepamisin, CTX: seftotaksim, CRO: seftriakson, CAZ: seftazidim, CEF: sefepim, IMP: imipenem, MEM: meropenem, PTZ: piperasilin tazobaktam, AMC: amoksasilin klavulanik asit, TIM: tikarsilin klavulanik asit, SAM: ampisilin sulbaktam

Çoğul dirençli *Klebsiella*'lar nozokomiyal patojenler olarak artan öneme sahiptir. *Klebsiella pneumoniae* Enterobacteriaceae içinde en sık GSBL üreten türdür.⁴ GSBL üretimi veya AmpC tip beta laktamazların salgılanması, beta laktam antibiyotiklerin çoğuna karşı dirence neden olur ve aminoglikozidler, kotrimoksazol ve florokinolon direnciyle sıklıkla bağlantılıdır.¹³ Çalışmamızda *Klebsiella*'ların %52'sinde GSBL pozitifliği görülmüştür. Hastanemizde daha önce yapılan bir çalışmada yatan hastalardan izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının %44'ünde GSBL pozitifliği saptanmıştır.¹⁴ Türk antimikrobiyal direnç çalışma grubunun dokuz laboratuvarı kapsayan çalışmasında *Klebsiella* türlerinin %46'sının seftazidime dirençli olduğu ve 129 izolatinin %61) GSBL ürettiği bulunmuştur.¹⁵

Türkiye'de yoğun bakım ünitelerini kapsayan bir çalışmada sefotaksim, seftriakson ve seftazidim direnci sırasıyla *Klebsiella* türlerinde % 58, % 69, % 73, *P.aeruginosa*' da % 74, % 79, % 48, *Enterobacter* türlerinde % 66, % 70, % 68 ve *E.coli*'de % 20, %25 ve % 27 olarak bulunmuştur.¹⁶ Hastanemizde 1998 yılında yapılan bir çalışmada Gram negatif bakterilerde direnç yüzdesi sefotaksimde % 31, seftriaksonda % 37 ve seftazidimde % 26 olarak bulunmuştur.¹⁷ Çalışmamızda sefotaksime % 58, seftriaksona % 59 ve seftazidime % 34 direnç saptanmış olup, üçüncü kuşak sefalosporin direncinin geçmiş yıllara göre arttığı görülmüştür.

Seftazidime dirençli Enterobacteriaceae türlerinin %75-80'i sefepime duyarlıdır.¹⁸ Sefepim zwitteriyonik yapısı ile Gram negatif bakterilerin dış membranlarını kolayca geçer. Bu özelliği AmpC beta laktamazlar tarafından hidrolize dirençli olması ve penisilin bağlayan proteinlere karşı yüksek affinite göstermesi ile kombine olarak Enterobacteriaceae türleri ve *P.aeruginosa*'ya karşı geniş aktivite göstermesini sağlar.¹⁹ Türkiye'de seftazidime dirençli suşların %93'ünd en fazlası sefepim ve imipenem¹⁵, çalışmamızda ise seftazidim dirençli Enterobacteriaceae türlerinin %73'ü sefepime duyarlı bulunmuştur.

Beta laktamaz inhibitörleri *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Bacteroides* türleri ve bazı Enterobacteriaceae tarafından üretilen beta laktamazlara oldukça etkilidir. *Serratia* türleri, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* türleri, *P.aeruginosa* ve bazı Enterobacteriaceae türlerinin kromozomal beta laktamazları beta laktamaz inhibitörleriyle inhibe edilmez.²⁰ Türkiye'de çok merkezli bir çalışmada tikarsilin klavulanik asit'e *Klebsiella* türlerinde % 53, *Enterobacter* türlerinde %38, *E.coli*'de % 30, *Acinetobacter*'de % 52 ve *P.aeruginosa*'da % 51 direnç

bulunmuştur.¹⁵ Yine Türkiye'de sekiz hastanenin yoğun bakım ünitelerini kapsayan bir çalışmada piperasilin tazobaktam'a % 68, amoksasilin klavulanik asit'e % 89 direnç saptanmıştır.²¹ Çalışmamızda piperasilin tazobaktam'a % 39, amoksasilin klavulanik asit'e % 56, tikarsilin klavulanik asite % 46 ve ampisilin sulbaktam'a % 54 oranında direnç saptanmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *E.coli* beta laktam-beta laktamaz inhibitörleri hariç genellikle antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.^{16,21} Çalışmamızda da benzer şekilde *E.coli* beta laktam-beta laktamaz inhibitörleri hariç diğer antibiyotiklere duyarlılık belirlenmiştir.

Acinetobacter türlerinde karbapenemler en duyarlı antibiyotikler olarak görülmekle birlikte dirençte artış başlamıştır. Çoklu dirençli bu bakterilere karşı sadece polimiksin ve bazı durumlarda sulbaktamin bakterisidal aktivitesinin olduğu gösterilmiştir.²² Avrupa'da beş ülkenin yoğun bakım ünitelerini içeren bir çalışmada *Acinetobacter* türleri en dirençli mikroorganizma olarak bulunmuştur.²³ Çalışmamızda da *Acinetobacter* türlerinde imipenem ve meropenem hariç tüm antibiyotiklere yüksek oranda direnç görülmüştür.

Türkiye'de yoğun bakım ünitelerinden izole edilen Gram negatif bakterilerde yapılan çalışmalarda imipenem ve meropenem en duyarlı antibiyotik olarak bulunmuştur.^{16,21,24} Çalışmamızda da imipenem ve meropenem % 3 dirençle en duyarlı antibiyotikler olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak özellikle 3.kuşak sefalosporinlere direnç yüksek olması nedeniyle, dirençli mikroorganizmaların gelişimini ve yayılımını önlemek için antibiyotiklerin uygun olarak kullanılması ve bu konuda eğitim çalışmalarının yürütülmesi gerekmektedir. Ayrıca bölgesel, ulusal ve global direnci ortaya koyan çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Archibald L, Phillips L, Monnet D, et al. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit. Clin Infect Dis 1997; 24: 211 -5.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Eighth Informational Supplement M2 -A7 Disk Diffusion. 1998; 14-21.
3. Gür D. İsepanisin: Mikrobiyolojik özellikler. Hastane Infek Derg 2001; 5: Ek 1: 3 - 7.
4. Sirot J. Detection of extended spectrum plasmid mediated beta lactamases by disk diffusion. Clin Microbiol Infect 1996; 2: 35 -8.
5. Hughes JM, Tenover FC. Approaches to limiting emergence of antimicrobial resistance in bacteria in human populations. Clin Infect Dis 1997; 24 (Suppl 1):131-5.
6. Hancock REW. The role of fundamental research and biotechnology in finding solutions to the global problem of antibiotic resistance. Clin Infect Dis 1997; 24 (Suppl 1):148-50.
7. Acar JF. Consequences of bacterial resistance to antibiotics in medical practice. Clin Infect Dis 1997; 24 (Suppl 1):17-8.

8. Verbist L. Incidence of multi-resistance in Gram negative bacterial isolates from intensive care units in Belgium a surveillance study. Scand J Infect Dis 1991; Suppl 78: 45-53.
9. Gerding DN. Antimicrobial cycling: Lessons learned from the aminoglycoside experience. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21: 12 -7.
10. Çağatay A, Pinar M, Öncü S, et al. Aminoglycoside susceptibilities of Gram negative bacteria in intensive care units (abstract). Clin Microbiol and Infect 2001;7 (suppl 1): 72.
11. Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N. İnfeksiyon etkeni Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin E testi ile karşılaştırılması. Infeksiyon Derg 1996; 10: 229-33.
12. Sönmez E, Durmaz B, Özbilge H, Şahin K. Gram negatif enterik bakterilerin antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. Yeni Tıp Derg 1996; 13: 164 -5.
13. Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, et al. Association of antibiotic utilization measures and control of multiple drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21: 455-8.
14. Tekerekoglu MS, Ayan M, Odu B, et al. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamazların ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. Mikrobiyol Bül 2001; 35: 225-30.
15. Pfaller MA, Korten V, Jones RN, Doern GV. Multicenter evaluation of the antimicrobial activity for seven broad spectrum beta lactams in Turkey using the E test method. Diagn Microbiol Infect Dis 1999; 35: 65 -73.
16. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E. et. al. Surveillance of antimicrobial resistance among Gram negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 695 -9.
17. Sönmez E, Köroğlu M, Çınar Y, Durmaz B. Sefepim ve bazı üçüncü kuşak sefalosporinlerin Gram negatif bakterilere etkinliği. Ankem Derg 1998; 12: 45-9.
18. Garau J, Wilson W, Wood M, Carlet J. Fourth generation cephalosporins: a review of in vitro activity, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical utility. Clin Micro Infect 1997; 3 (suppl 1): 87 -101.
19. Karchmer AW. Cephalosporins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ed(s). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2000: 287.
20. Chambers HF. Other β lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ed(s). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2000: 295.
21. Günsere F, Mamikoğlu L, Öztürk 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.
22. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents. Infect Dis Clin North Am 2000; 14: 293 -313.
23. Hanberger H, Rodriguez JAG, Gobernado M. et. al. Antibiotic susceptibility among aerobic Gram negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. Jama 1999; 281: 67 -71.
24. Yücesoy M, Yuluğ N, Ünal S. et. al. Antimicrobial resistance of Gram negative isolates from intensive care units in Turkey: comparison to previous three years. J Chemother 2000; 12: 294-8

Yazışma adresi:

Dr. Çiğdem Kuzucu

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, MALATYA

Tel: 422 3410660/4808