

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında CTX-M Enzimlerinin Belirlenmesi

Esra DENİZ ÖGEDEY*, Füsün CÖMERT*, Füzüzan KÖKTÜRK**, Canan KÜLAH*, Elif AKTAŞ*

*Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, hastanemize başvuran hastalardan etken olarak izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının, GSBL üretiminin ve CTX-M enzim tiplerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Haziran-Aralık 2009 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden toplam 593 izolat çalışmaya dâhil edildi. Antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. GSBL üretimi çift disk sinerji ve E test ile doğrulandı. GSBL üreten izolatlar için sefotaksim minimal inhibitör konsantrasyonları agar dilüsyon ile belirlendi. İzolatlarda polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle CTX-M enzim grupları (CTX-M grup, CTX-M-1 grubu, CTX-M-2 grubu, CTX-M-8 grubu, CTX-M-9 grubu, CTX-M-25 grubu) araştırıldı.

Bulgular: İzolatların %33.7'sinin (200/593) GSBL ürettiği (*E. coli* %34.3, *K. pneumoniae* %31.3) belirlendi. Yatan hastalardan izole edilen izolatlarda GSBL üretimi anlamlı olarak yüksek bulundu. GSBL üreten izolatlar diğer izolatlara göre, siprofloksasin, levofloksasin, amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin/tazobaktam, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfometoksazol ve nitrofurantoinne anlamlı olarak dirençli bulundu. GSBL üreten izolatların 192'sinde (%96) CTX-M enzimi belirlendi. CTX-M ürettiği saptanan izolatların %96.8'inde (186/192) CTX-M-1 grubu %5.2'sinde (10/192) CTX-M-2 grubu, %1'inde (2/192) CTX-M-8 grubu ve %1.5'unda (3/192) CTX-M-9 grubu saptandı. CTX-M-1 grubu GSBL ürettiği belirlenen 186 izolatın 165'inde (%88.7) CTX-M-15 enzim tipi saptandı.

Sonuç: Hastanemizden elde edilen izolatlarda GSBL oranları oldukça yüksek bulunmuş olup, en sık enzim grubu CTX-M-1 grubu ve en sık enzim tipi CTX-M-15 enzimi olarak saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: CTX-M, *Escherichia coli*, GSBL, *Klebsiella* spp.

SUMMARY

Detection of CTX-M Enzymes in ESBL (Extended-Spectrum Beta-Lactamases) Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp Isolates

Objective: The aim of this study is to evaluate ESBL production and CTX-M enzyme types in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp isolates obtained from patients admitted to our hospital.

Material and Method: A total of 593 isolates from various clinical specimens of patients between June 2009 and December 2009 were included in the study. Antibiotic susceptibility test was performed by Kirby-Bauer disk diffusion method. ESBL production was confirmed by double-disc synergy and E tests. The minimal inhibitory concentrations of cefotaxim for the isolates with ESBL were detected by agar dilution method. Polymerase chain reaction was used to determine the CTX-M enzyme types including CTX-M group, CTX-M-1 group, CTX-M-2 group, CTX-M-8 group, CTX-M-9 group, CTX-M-25 group, CTX-M-15, CTX-M-3, and CTX-M-10 types.

Results: ESBL production was found in 33.7% (200/593) of the isolates (34.3% for *E. coli* and 31.3% for *Klebsiella* isolates). ESBL production was significantly high in isolates from inpatients. Resistance to ciprofloxacin, levofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid, piperacillin/tazobactam, gentamicin, amikacin, tobramycin, trimetoprim-sulphamethoxazole and nitrofurantoin was significantly higher in ESBL producing isolates. CTX-M enzymes were found in 192 (96%) of the 200 ESBL producing isolates. Of the CTX-M producing isolates, CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8 and CTX-M-9 groups were found in 96.8% (186/192), 5.2% (10/192), 1% (2/192) and 1.5% (3/192), respectively. CTX-M-15 was found in 165 of the 186 (88.7%) CTX-M-1 group ESBL producing isolates.

Conclusions: High rates of ESBL production was found among the isolates in our hospital. The most common enzyme type was CTX-M-1 group, CTX-M-15 being the most common enzyme type.

Key words: CTX-M, *Escherichia coli*, ESBL, *Klebsiella* spp.

Alındığı tarih: 22.06.2016

Kabul tarihi: 26.08.2016

Yazışma adresi: Füsün Cömert, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak

Tel: (0372) 261 24 32

e-posta: fusbeg@yahoo.com

GİRİŞ

CTX-M enzimleri günümüzde dünya çapında en yaygın geniş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) hâline gelmişlerdir. CTX-M grubu beta-laktamazlar, substrat olarak sefotaksimi tercih eden enzimlerdir. Bu enzimler seftazidimi de bir miktar hidroliz etmekle birlikte, bu etki klinikte dirence yol açacak kadar önemli değildir. Ayrıca CTX-M enzimlerinin önemli bir özelliği de bunlara karşı tazobaktamın inhibitör etkisinin klavulanik asit ve sulbaktama göre fazla olmasıdır. Günümüzde CTX-M ailesinde beş farklı grup ve 40 farklı enzim bulunmaktadır. CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25 olarak isimlendirilen bu beş grup, aminoasit dizileri esas alınarak tanımlanmıştır. CTX-M-15, CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-2 bu grupların içinde yer alan en yaygın enzimlerdir. CTX-M-9 ve CTX-M-14 İspanya'da, CTX-M-1 İtalya'da, CTX-M-2 pek çok Güney Amerika ülkesinde, Japonya'da ve İsrail'de, CTX-M-15 ise dünya çapında saptanmıştır^(1,2). Ülkemizde bu konuda çok az sayıda çalışma mevcut olup, yapılan çalışmalarda en sık saptanan CTX-M enzimleri; CTX-M-15, CTX-M-3 ve CTX-M-1 olmuştur⁽³⁻⁶⁾.

Bu çalışmada, hastanemize başvuran hastalardan etken olarak izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık durumlarının belirlenmesi, GSBL üretiminin ve CTX-M enzim tiplerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar ve antibiyotik duyarlılık testleri

Haziran-Aralık 2009 tarihleri arasında, çeşitli klinik örneklerden elde edilen 593 izolat çalışmaya dâhil edildi. Bakteri tanımlaması geleneksel yöntemlerle yapıldı⁽⁷⁾. Geleneksel yöntemlerle tanımlanamayan bakteriler BBL Crystal Identification Systems E/NF (Becton Dickinson, ABD) tanımlama kiti ile tanımlandı.

Antibiyotik duyarlılık testleri, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı. GSBL üretimini doğrulaması çift disk sinerji yöntemi ve gerektiğinde E test ile yapıldı⁽⁸⁾. GSBL ürettiği belirlenen izolatların sefotaksim için minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) CLSI önerileri doğrultusunda agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi⁽⁹⁾.

Moleküler yöntemler

GSBL üreten izolatlardan DNA eldesi kaynatma yöntemi ile yapıldı⁽¹⁰⁾. CTX-M enzim tiplerinin varlığı daha önce belirtilmiş olan primer çiftleriyle araştırıldı⁽¹¹⁻¹⁴⁾ (Tablo 1). Amplifikasyon için Gene Amp PCR System 9700 Thermal Cycler (Applied Biosystems, Singapur) cihazı kullanıldı. Amplifikasyon ürünlerinin görüntülemesi,

Tablo 1. CTX-M enzimlerinin çoğaltılması için kullanılan primerler dizileri.

Enzim tipi	Forward Primer	Reverse Primer	Bant Büyüklüğü (bp)	Kaynak
CTX-M Grubu	5'-tttgcgatgtgcagtagcagtaa-3'	5'-cgatatcggttggtggtccata-3'	544	(11)
CTX-M Grup 1	5'-aaaaatcactgcgcagttc-3'	5'-agcttatcatcgccagtt-3'	415	(12)
CTX-M Grup 2	5'-cgacgctacccctgctatt-3'	5'-ccagcgtcagattttcagg-3'	552	(12)
CTX-M Grup 8	5'-tcgcgttaagcggatgatgc-3'	5'-aacccacgatgtgggtagc-3'	666	(12)
CTX-M Grup 9	5'-caaagagagtgcaacggatg-3'	5'-attggaaagcgttcacacc-3'	205	(12)
CTX-M Grup 25	5'-gcacgatgacattcggg-3'	5'-aacccacgatgtgggtagc-3'	327	(12)
CTX-M-3	5'-cgtcacgctgtttaggaa-3'	5'-acggcttctgccttaggt-3'	780	(13)
CTX-M-15	5'-cacacgtggaatttaggact-3'	5'-gccgtctaaggcgataaaca-3'	996	(11)
CTX-M-10	5'-ccgcgtacactttgtgg-3'	5'-ttacaacccgttggtgacg-3'	962	(14)

Tablo 2. GSBL üreten izolatların antibiyotik direnç durumları.

Antibiyotik	<i>E. coli</i> (n%)		<i>K. pneumoniae</i> (n %)	
	DİR (plk)	DİR (yatan)	DİR (plk)	DİR (yatan)
Siprofloksasin	45 (84.9)	96 (82.8)	7 (77.8)	15 (71.4)
Levofloksasin	44 (83.0)	94 (81.0)	6 (66.7)	14 (66.7)
Ampisilin	53 (100)	116 (100)	9 (100)	21 (100)
Amoksisilin klavulonat	27 (50.9)	85 (73.3)	5 (55.6)	10 (47.6)
Piperasilin tazobaktam	1 (16.7)	22 (43.1)	0 (0)	3 (33.3)
Sefalotin	53 (100)	116 (100)	0 (0)	21 (100)
Sefepim	45 (84.9)	98 (84.5)	8 (88.9)	16 (76.2)
Sefuroksim	53 (100)	116 (100)	8 (88.9)	21 (100)
İmipenem	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Gentamisin	32 (60.4)	60 (51.7)	4 (44.4)	10 (47.6)
Amikasin	3 (5.7)	5 (4.3)	1 (11.1)	0 (0)
Tobramisin	41 (77.4)	96 (82.8)	6 (66.7)	13 (61.9)
Trimetoprim sülfometoksazol	38 (71.7)	67 (57.8)	9 (100)	19 (90.5)
Nitrofurantoin	10 (23.1)	10 (15.4)	4 (50.0)	6 (50.0)
Sefoksitin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Sefotaksim	52 (98.1)	112 (96.6)	9 (100)	20 (95.2)
Seftriakson	52 (98.1)	112 (96.6)	9 (100)	20 (95.2)
Seftazidim	40 (75.5)	88 (75.9)	8 (88.9)	18 (85.7)
Aztreonam	45 (84.9)	106 (91.4)	9 (100)	20 (95.2)

DİR; Dirençli; plk: Poliklinik hastası

1X TBE tamponu içindeki %2'lik agaroz jelde (Sigma, Almanya) 120 V akımla 60 dakika elektroforez sonrası Gel Doc UV görüntüleme sistemi (BioRad, İtalya) ile yapıldı. Belirleyici (marker) olarak ise, 100-bç'lik DNA ladder (Bioron, Almanya) kullanıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Versiyon 13.0) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sayı ve yüzde olarak belirtildi. Kategorik yapıdaki değişkenler bakımından gruplar arası farklılıklar ki-kare ve Fisher Kesin ki-kare testi ile incelendi. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İzolatlar ve antibiyotik duyarlılıkları

İzolatların 492'si *Escherichia coli* ve 101'i *Klebsiella* spp. (96 *K. pneumoniae*, 5 *K. oxytoca*) olarak tiplendirildi. İzolatların elde edildiği has-

taların 370'inin (%62.4) kadın, 223'ünün (%37.6) erkek ve yaş ortalamasının 53.0 (± 24.6) olduğu bulundu. Klinik örneklerin 316'sının (%53.3) yatan hastalara, 277'sinin (%46.7) poliklinik hastalarına ait olduğu belirlendi.

Çalışmaya dâhil edilen izolatların 200'ünün (%33.7) GSBL ürettiği tespit edildi. GSBL üretiminin *E. coli* için %34.3 (169/492), *K. pneumoniae* için %31.3 (30/96) olduğu belirlendi. Yalnızca bir *K. oxytoca* (1/5) izolatında GSBL belirlendi. İzolatların %73.7'sinin idrar örneklerinden elde edildiği gözlemlendi. İzolatların hiçbirinde sefoksitin ve karbapenem direncine rastlanmadı. GSBL üreten izolatların antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 2'de gösterilmiştir. GSBL üreten bakterilerin %66.5'i (133/200) idrar örneklerinden elde edildi. GSBL ürettiği saptanan 200 izolatın 137'si (%68.5) yatan hastalardan ve 63'ü (%31.5) polikliniğe başvuran hastalardan izole edildi. Yatan hastalardan izole edilen bakterilerde GSBL üretimi anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$). GSBL üreten izolatların, diğer izolatlara göre, siprofloksasin, levofloksasin, amoksisilin/klavulanik asit, piperasi-

Tablo 3. GSBL üreten izolatların sefotaksim MİK değerleri.

	>512		512		256		128		64		32		16		8		<8		Toplam
Bakteri	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N
<i>E. coli</i>	45	26.6	57	33.7	33	19.5	12	7.1	14	8.3	3	1.8	5	3.0	0	0.0	0	0.0	169
<i>K. pneumoniae</i>	4	13.3	4	13.3	11	36.7	5	16.7	3	10.0	1	3.3	2	6.7	0	0.0	0	0.0	30
<i>K. oxytoca</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.0	1
Toplam	49		61		44		17		17		4		7		0		1		200

Tablo 4. CTX-M enzim tipleri ve bunların saptandığı bakterilerin dağılımı (n; %).

	CTX-M-1 grup								Toplam
	CTX-M	CTX-M-15	CTX-M-3	CTX-M-10	CTX-M-2	CTX-M-8	CTX-M-9	CTX-M-25	
<i>E. coli</i>	164 (97.3)	139 (82.2)	10	0	10 (5.9)	2 (1.2)	3 (1.8)	0	169
<i>K. pneumoniae</i>	28 (93.3)	26 (86.7)	1	0	0	0	0	0	30
<i>K. oxytoca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Toplam	192	165	11	0	10	2	3	0	200

Tablo 5. İzolatların CTX-M enzim tiplerine göre sefotaksim MİK değerleri.

	>512		512		256		128		64		32		16		8		<8		Toplam
Enzim tipi	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N
CTX-M	49	25.5	61	31.8	44	22.9	17	8.9	15	7.8	1	0.5	5	2.6	0	0.0	0	0.0	192
CTX-M-1	48	25.8	61	32.8	39	21.0	17	9.1	15	8.1	1	0.5	5	2.7	0	0.0	0	0.0	186
CTX-M-2	1	10.0	3	30.0	6	60.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	10
CTX-M-8	2	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2
CTX-M-9	0	0.0	0	0.0	1	33.3	1	33.3	1	33.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3

lin/tazobaktam, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfometoksazol ve nitrofurantoina anlamlı olarak daha dirençli oldukları saptandı (p<0.001).

GSBL ürettiği belirlenen 200 izolatın, sefotaksim için MİK sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında MİK₉₀ değeri >512 µg/ml olarak belirlendi.

GSBL üreten izolatlarda saptanan CTX-M enzimleri

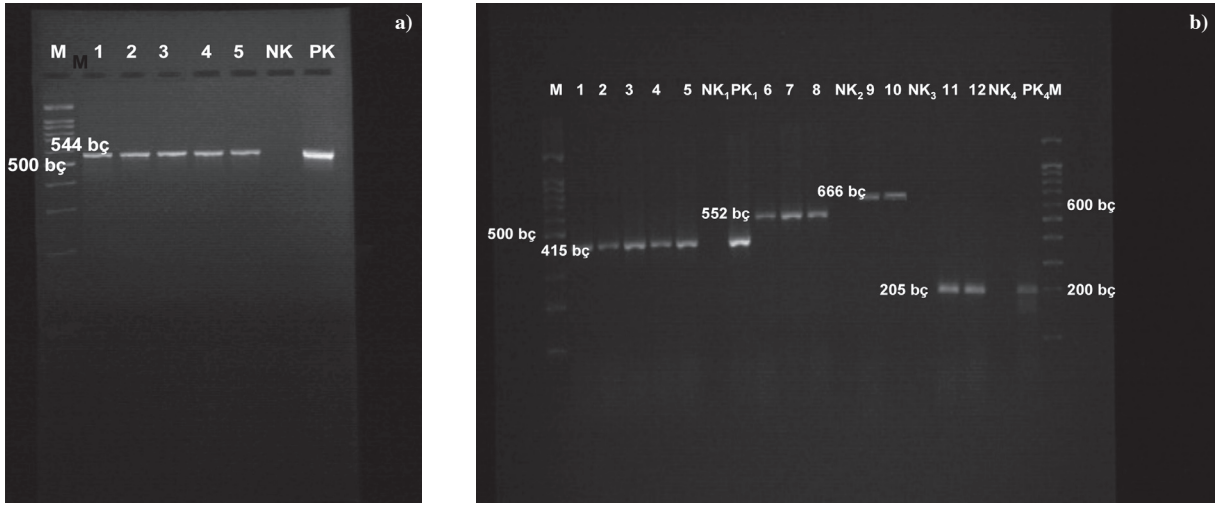
GSBL üreten 200 izolatın 192'sinde (%96) CTX-M enzimi bulunduğu belirlendi (Şekil 1a). CTX-M enzimi belirlenen izolatların %96.8'inde (186/192) CTX-M-1 grubu, %5.2'sinde (10/192)

CTX-M-2 grubu, %1'inde (2/192) CTX-M-8 grubu ve %1.5'inde (3/192) CTX-M-9 grubu saptandı (Şekil 1b).

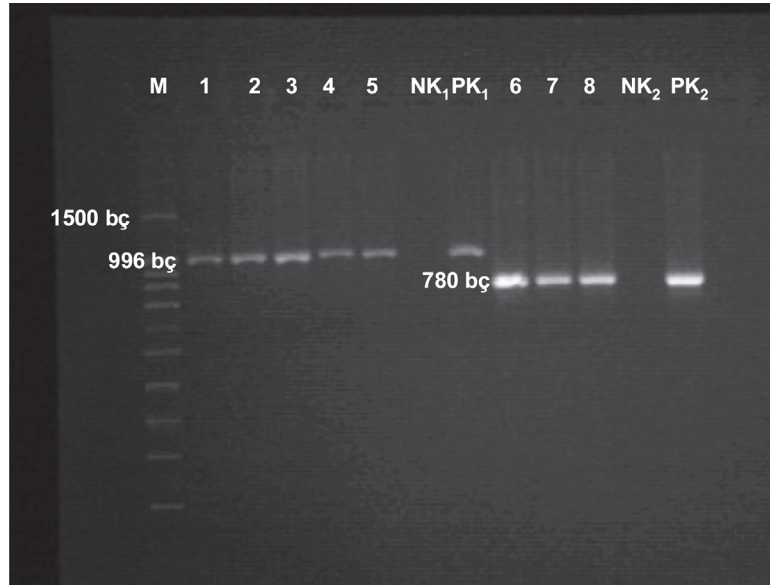
CTX-M-1 grubu GSBL ürettiği belirlenen 186 izolatın 165'inde (%88.7)

CTX-M-15, 11'inde CTX-M-3 varlığı belirlendi (Şekil 2). Mevcut primerle CTX-M-1 grubu bulunan izolatlardan onunda enzim alt grubu belirlenemedi (Tablo 4).

Sefotaksim direnci ve enzim tipleri ilişkisine bakıldığında, CTX-M-2 grubu enzim üreten izolatlarında sefotaksim MİK düzeyleri diğer enzim üreten bakterilere göre anlamlı olarak düşük bulundu (p<0.001) (Tablo 5).



Şekil 1. PCR sonrası CTX-M enzimlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. (a) 1-5: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M (544 bç), NK: CTX-M negatif kontrol, PK: CTX-M pozitif kontrol, M: Marker (belirleyici) 100 bç+1.5kb DNA ladder. (b) 1-5: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-1 grubu (415 bç), NK1: CTX-M-1 grubu negatif kontrol, PK1: CTX-M-1 grubu pozitif kontrol, 6-8: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-2 grubu (552 bç), NK2: CTX-M-2 grubu negatif kontrol, 9,10: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-8 grubu (666 bç), NK3: CTX-M-8 grubu negatif kontrol, 11,12: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-9 grubu (205 bç), NK4: CTX-M-9 grubu negatif kontrol, PK4: CTX-M-9 grubu pozitif kontrol, M: Marker (belirleyici) 100 bç+1.5kb DNA ladder.



Şekil 2. PCR sonrası CTX-M-15 ve -3 enzimlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. 1-5: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-15 (996 bç), NK1: CTX-M-15 negatif kontrol, PK1: CTX-M-15 pozitif kontrol, 6-8: İzolatlarda çoğaltılan CTX-M-3 (780 bç), NK2: CTX-M-3 negatif kontrol, PK2: CTX-M-3 pozitif kontrol, M: Marker (belirleyici) 100 bç+1.5kb DNA ladder.

TARTIŞMA

Tüm dünyada, TEM ve SHV GSBL'ler, 1990'lı yıllar boyunca en yaygın enzim tipi olmuştur. İlk CTX-M enzimleri 1989'da izole edilen suşlarda belirlenmiş olmasına rağmen, bu enzimlerin yayılımı 1995'te başlamıştır⁽¹⁾. CTX-M-15 enzimi,

Fransa, İspanya, İngiltere gibi pek çok Avrupa ülkesinde sıklıkla saptanmıştır⁽¹⁵⁻¹⁸⁾ ve doğusunda daha da fazla olmak üzere Avrupa'da en yaygın enzimdir. CTX-M-3 enzimi genellikle Doğu Avrupa ülkelerinde yaygındır^(19,20). Diğer CTX-M enzimleri bölgesel olarak gösterilmiş olup, CTX-M-9 ve 10 İspanya'da^(21,22), CTX-M-14 Portekiz

ve İspanya'da⁽²²⁻²⁴⁾, CTX-M-5 Beyaz Rusya ve Rusya'da⁽²⁵⁾, CTX-M-1 ise İtalya'da⁽²⁶⁾ yaygın olarak saptanmıştır. Amerika'da ise CTX-M enzimlerinin sporadik bildirimleri söz konusu olup, CTX-M-2'nin pek çok Güney Amerika ülkesinde yaygın olduğu gösterilmiştir⁽²⁷⁻³⁰⁾.

Ülkemizde ilk CTX-M enzimi 1996-1997 yılları arasında ülkemizin de içinde bulunduğu yedi ülkenin (Amerika, Türkiye, Belçika, Avustralya, Güney Afrika, Tayvan, Arjantin) katıldığı bir çalışmada, kan kültürlerinden izole edilmiş *K. pneumoniae* izolatında bildirilmiştir. CTX-M-2, Türkiye'de belirlenen ilk CTX-M enzimi olmuştur⁽³¹⁾. Orta ve Doğu Avrupa'da sık görülen CTX-M enzimlerinin başında gelen CTX-M-15 enzimi ülkemizde ilk olarak 2001 yılında, yatan bir hastanın idrar örneğinden izole edilen bir *K. pneumoniae* suşunda bildirilmiştir⁽³²⁾. 2000-2003 yıllarında Türkiye, Fransa, Hindistan ve Polonya'nın katıldığı bir çalışmada, ülkemizden gönderilen izolatlarda (*K. pneumoniae*) CTX-M-15 saptanmıştır⁽³³⁾. Ülkemizde ilk CTX-M-3 bildirimi 2003 yılında bir *Shigella sonnei* suşunda yapılmıştır⁽³⁴⁾. Bu tarihten sonra ülkemizden yapılan bildirimlere bakıldığında, CTX-M-15'nin yanı sıra CTX-M-3, CTX-M-1 bildirimleri gözlenmesine rağmen, ülkemizde CTX-M-15 baskın enzim tipidir^(3,4,31-48). Çalışmamızda, GSBL üreten izolatlarda CTX-M enziminin oranı, %96 (192/200) olarak saptanmıştır. İzolatlarımızdaki enzim dağılımına bakıldığında ülkemizdeki diğer çalışmalarla uyumlu şekilde, CTX-M-1 grubu enzimin en sık saptandığı (%96.8, 186/192) ve CTX-M-15'in dominant enzim (%88.7, 165/186) olduğu görülmektedir. Saptadığımız diğer CTX-M enzimleri CTX-M-2 grubu (%5.2, 10/192), CTX-M-8 grubu (%1, 2/192) ve CTX-M-9 grubu (%1.5, 3/192) olmuştur. Çalışmamıza göre CTX-M'e sahip izolatların %85.4'ünün (164/192) *E. coli*, %14.6'sının (28/192) ise *K. pneumoniae* olduğu saptanmıştır. Yumuk ve ark.⁽⁴²⁾ 3108 üriner sistem enfeksiyonlu hastadan izole ettikleri *E. coli* izolatlarının

70'inde (%21) GSBL saptamış olup, GSBL üreten *E. coli*'lerin %76.5'inde CTX-M enziminin bulunduğunu belirlemişler ve CTX-M-15 (%53) enziminin baskınlığını vurgulamışlardır. Aynı çalışmada CTX-M enzimini üreten izolatların %69'u, TEM ve SHV üreten izolatların ise %50'si siprofloksasine dirençli bulunmuştur⁽⁴²⁾. Çelik ve ark.⁽⁴³⁾ tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmaya dâhil edilen toplumdan edinilmiş üst üriner sistem enfeksiyonu olan hastalardan elde edilmiş 30 izolatın 11'inde (%36.7) GSBL saptanmış, bu izolatların yedisinde CTX-M-15, üçünde CTX-M-3 ve birinde ise CTX-M-1 belirlenmiştir. Bu konuda yapılan diğer bildirimlerde de idrar yolundan elde edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında CTX-M-1 grup ve bu grup içinde de CTX-M-15'in baskın olduğu gözlenmektedir^(47,48). Çalışmamızda değerlendirilen bakterilerin %73.7'sini (437/593) idrar izolatları (%87.2 *E. coli* ve %12.8 *Klebsiella* spp.) oluşturmaktadır. GSBL ürettiği belirlenen izolatların %66.5'i (112 *E. coli*, 20 *K. pneumoniae* ve bir *K. oxytoca*) de idrar örneklerinden elde edilmiştir. Bu izolatların %82.7'sinde CTX-M-15 bulunduğu belirlenmiştir. İdrar örneklerinden elde edilen ve GSBL ürettiği belirlenen *E. coli* izolatlarımızın %83'ünde CTX-M-15 enzimi bulunmaktadır. Çalışmamızda, GSBL üreten izolatlar daha fazla oranda (%57.9) yatan hastalardan izole edilmiş olmasına rağmen, bu enfeksiyonlarda kaynağın genellikle endojen olduğu düşünüldüğünde, karşılaşılan oranın toplumda CTX-M-15 enziminin sıklığı hakkında kısmen fikir verici olduğu gözlenmektedir. Çalışmamızda GSBL üreten izolatların, diğer izolatlara göre, amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin/tazobaktam, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfometoksazol, nitrofurantoin ve yanı sıra siprofloksasin ve levofloksasine anlamlı olarak daha dirençli oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak, son birkaç yılda CTX-M üreten izolatların hastane ve toplum ortamında yaygın-

laştığı gözlenmektedir. CTX-M enzimini üreten *E. coli*'nin neden olduğu toplumdan edinilmiş üriner sistem enfeksiyonları önemli bir sorun niteliğindedir. İzolatlarımızda GSBL oranı yüksek olup, dominant enzim tipi CTX-M-15 olarak bulunmuştur.

Teşekkür

Bu çalışma B.E.Ü. Bilimsel Araştırma Projelerini Destekleme Koordinatörlüğü tarafımdan (Proje No:2010-20-01-07) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum- β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents Chemother* 2004; 48:1-14.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.1.1-14.2004>
2. Cantón R, Coque TM. The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9:466-75.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>
3. Aktaş Z, Gönüllü N, Schneider I, Bal C, Bauernfeind A. Hastanede yatan bir hastanın idrar örneğinden izole edilen *Escherichia coli* suşunda CTX-M-15 tipi geniş-lemiş spektrumlu beta-laktamazın tanımlanması. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39:421-9.
4. Gönüllü N, Aktaş Z, Bal Kayacan Ç, et al. Dissemination of CTX-M-15 β -lactamase genes carried on Inc FI and FII plasmids among clinical isolates of *E. coli* in a university hospital in İstanbul, Turkey. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1110-2.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01974-07>
5. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae*. In Europe. *Euro Surveill* 2008; 13:19044.
6. Harada, S, Ishii Y, Yamaguchi K. Extended-spectrum β -lactamases: Implications for the clinical laboratory and therapy. *Korean J Lab Med* 2008; 28:401-12.
<http://dx.doi.org/10.3343/kjlm.2008.28.6.401>
7. Murray PR. Manual of Clin Microbiol. Vol. 1, 8th ed. ASM Press, Washington, DC, 2003.
8. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Inf Dis* 1988; 10:867-78.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>
9. CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; Approved Standard, 7th ed. Document M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
10. Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L, de Champs C. First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in B'ejaja, Algeria. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27:397-402.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.12.007>
11. Muzaheed YD, Adams-Haduch JM, Shivannavar CT, Paterson DL, Gaddad SM. Faecal carriage of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with acute gastroenteritis. *Indian J Med Res* 2009; 129:599-602.
12. Woodford N, Fagan EJ, Ellington MJ. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:154-5.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki412>
13. Kim J, Lim YM, Rheem I, et al. CTX-M and SHV-12 β -lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* collected from 3 university hospitals within Korea. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 245:93-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.02.029>
14. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum beta-lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:500-10.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.2.500-510.2002>
15. Oteo J, Navarro C, Cercenado E, et al. Spread of *Escherichia coli* strains with high-level cefotaxime and ceftazidime resistance between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2359-66.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00447-06>
16. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:165-74.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkl483>
17. Galas M, Decousser JW, Breton N, et al. Nationwide study of the prevalence, characteristics, and molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:786-89.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00906-07>
18. Cagnacci S, Gualco L, Debbia E, Schito GC, Marchese A. European emergence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* clonal groups O25:H4-ST 131 and O15:K52:H1 causing community-acquired uncomplicated cystitis. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2605-12.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00640-08>
19. Empel J, Baraniak A, Literacka E, et al. Molecular survey of beta-lactamases conferring resistance to newer β -Lactams in *Enterobacteriaceae* isolates from Polish hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2449-54.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00043-08>
20. Markovska R, Schneider I, Keuleyan E, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Bulgarian hospitals. *Microb Drug Resist* 2008; 14:119-28.
<http://dx.doi.org/10.1089/mdr.2008.0814>
21. Romero L, López L, Rodríguez-Ba-o J, Ramón Hernández J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2005;

- 11:625-31.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01194.x>
22. **Hernández JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Coque TM, Pascual A, and the Spanish Group for Nosocomial Infections (GEIH).** Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -Lactamases in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:2122-5.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.49.5.2122-2125.2005>
23. **Machado E, Coque TM, Cantón R, et al.** High diversity of extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:1370-4.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm381>
24. **Valverde A, Cantón R, Garcillán-Barcia MP, et al.** Spread of bla(CTX-M-14) is driven mainly by IncK Plasmids disseminated among *Escherichia coli* phylogroups A, B1, and D in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:5204-12.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01706-08>
25. **Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Strachounski L.** Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3724-32.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.47.12.3724-3732.2003>
26. **Brigante G, Luzzaro F, Perilli M, et al.** Evolution of CTX-M-type beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25:157-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.09.013>
27. **Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM.** Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:509-13.
28. **Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M, et al.** A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. *Infection* 1992; 20:158-63.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01704610>
29. **Petroni A, Corso A, Melano R, et al.** Plasmidic extended-spectrum β -lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1462-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.5.1462-1468.2002>
30. **Radice M, Power P, Conza JD, Gutkind G.** Early dissemination of CTX-M-derived enzymes in South America. *Antimicrob Agents Chemother* 20; 602-4.
<http://dx.doi.org/10.1128/aac.46.2.602-604.2002>
31. **Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, et al, International Klebsiella Study Group.** Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3554-60.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.47.11.3554-3560.2003>
32. **Lartigue MF, Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P.** First description of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52:315-6.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg335>
33. **Lartigue MF, Poirel L, Nordmann P.** Diversity of genetic environment of bla(CTX-M) genes. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 234:201-7.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09534.x>
34. **Açıkgöz ZC, Gülay Z, Biçmen M, Göçer S, Gamberzade S.** CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase in a *Shigella sonnei* clinical isolate: first report from Turkey. *Scand J Infect Dis* 2003; 35:503-5.
<http://dx.doi.org/10.1080/00365540310013270>
35. **Nazik H, Öngen B, Kuvat N.** Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among isolates obtained in a Turkish intensive care unit. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61:310-2.
36. **Bahar G, Mert A, Catania MR, Koncan R, Benvenuti C, Mazzariol A.** A strain of *Salmonella enterica* serovar Virchow isolated in Turkey and carrying a CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase. *J Chemother* 2006; 18:307-10.
<http://dx.doi.org/10.1179/joc.2006.18.3.307>
37. **Öksüz L, Gürler N.** *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tiplendirilmesi ev plazmid profil analizi. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43:183-94.
38. **Açıkgöz ZC, Eser ÖK, Kocagöz S.** CTX-M-3 type beta-lactamase producing *Shigella sonnei* isolates from pediatric bacillary dysentery cases. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61:135-7.
39. **Öktem İM, Gülay Z, Biçmen M, Gür D; HITIT Project Study Group.** qnrA prevalence in extended-spectrum beta-lactamase-positive *Enterobacteriaceae* isolates from Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61:13-7.
40. **Aktaş Z, Kayacan CB, Schneider I, Can B, Midilli K, Bauernfeind A.** Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48, persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *Chemother* 2008; 54:101-6.
<http://dx.doi.org/10.1159/000118661>
41. **Gür D, Gülay Z, Akan OA, ve ark.** Türkiye’de hastane izolatu Gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: Çok merkezli Hitit sürveyansının sonuçları. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42:537-44.
42. **Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine MH, Sotto A, Lavigne JP.** Turkey: a further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:284-8.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkn181>
43. **Çelik DA, Yuluğkural Z, Kuloğlu F, et al.** CTX-M type extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolates from community acquired upper urinary tract infections at a university in the European part of Turkey. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; 43:163-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1684-1182\(10\)60026-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1684-1182(10)60026-6)
44. **Gülmez D, Woodford N, Palepou MF, et al.** Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31:523-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.01.017>
45. **Metan G, Gülmez D, Eser ÖK, Kocagöz S, Sardan YÇ, Haşcelik G.** CTX-M-3-type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Morganella morganii*: first

description of an isolate from Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:368-70.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.05.018>

46. Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Çağatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2950-54.

<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01672-07>

47. Tikveşli S, Cevahir N, Kaleli İ. *Klebsiella pneumoniae*

klinik izolatlarında CTX-M tipi beta-laktamazların fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43:553-62.

48. Azap ÖK, Arslan H, Şerefhanoglu K, et al. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:147-51.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02941.x>