



Kahramanmaraş'taki Kliniklere Başvuran Hastalardan İzole Edilen *Escherichia coli*'nin Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi

Fadime Topçal^{1*}, Metin Dıġrak²

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Kahramanmaraş

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

Özet

Bu çalışmada Kahramanmaraş'taki hastane ve polikliniklere başvuran hastalardan izole edilen *Escherichia coli*'nin β -Laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi araştırıldı. *E.coli* suşlarının antibiyotik dirençliliğini belirlemek amacıyla antibiyogramları yapıldı. Antibiyogram için Kirby-Bower disk difüzyon yöntemi ile test edildi. Sonuçta, *E.coli*'nin inhibisyonunda Ceftizoxime (%70.58) ve Imipenem (%55.88) en etkili antibiyotikler olarak gözlemlendi ve Ampicilin (%98.52) en az etkili antibiyotik olarak gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, β -Laktam antibiyotikleri, Direnç

Resistance Improvement of *Escherichia coli*, Isolated from Patients Applied to Clinics in Kahramanmaraş, Against Beta-Lactam Groups Antibiotics

Abstract

In this study, resistance improvement of *E.coli*, isolated from patients that applied to clinics in Kahramanmaraş, against β -Lactam antibiotics, was investigated. Antibigrams were carried out to determine the resistance of *E.coli* strains. For antibiyogram, with 'The Kirby-Bower's Disk Diffusion Method' was applied. In result, Ceftizoxime (%70.58) and Imipenem (%55.88) were appeared as the most effective antibiotics about inhibition of *E.coli* growing and Ampicilin (%98.52) was appeared as the least effective antibiotics.

Keywords: *E. coli*, β -Lactam antibiotics, Resistance

1. Giriş

Mikroorganizmalar yeryüzünün en eski canlılarıdır. Bunun en önemli nedeni değişen koşullara hızla uyum sağlayabilme yetenekleridir. Bu yetenekleri sayesinde geliştirilen her yeni antibiyotikten kaçacak bir yol bulmaktadırlar. Sonuçta infeksiyonlarla savaşta en önemli engel olan antibiyotiklerde direnç sorunu ortaya çıkmaktadır (Vahapoğlu 2004).

Antibiyotik direnci; bir mikroorganizma türünün bazı

suşlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanır. Kazanılmış antibiyotik direnci ya mikroorganizmaların kromozomunda oluşan mutasyonlarla ya da dirençli bir mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara aktarması ile ortaya çıkar.

Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin toplumda tüketiminin artması, immün sistemi bozulmuş hastaların sayısında artma olması, yoğun bakım

*Sorumlu yazarın e-mail adresi: ela_asteroidea@hotmail.com

ünitelerinin sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci giderek artmaktadır.

Toplum kaynaklı infeksiyon etkenlerinden *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* en çok direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalardır. Ancak direnç sorununun daha yoğun olarak yaşandığı yerler antibiyotik kullanımının daha yoğun olması nedeni ile hastanelerdir (Töreci 2003, Archibald vd. 1997).

Enterobacteriaceae üyelerinde görülen direncin en önemli kaynağı (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter sp.*) β -laktamaz enzimleridir. Betalaktamazlar en çok gram negatif bakteriler tarafından sentezlenen, dizi analizleri benzediği için penisilin bağlayıcı proteinlerden türediğine inanılan ve β -laktam halkası taşıyan antibiyotiklere karşı dirence neden olan enzimlerdir. Günümüze kadar tanımlanmış 350 kadar β -laktamaz bulunmaktadır. Bazı mikroorganizmalar β -laktamazları doğal kromozomal bir enzim olarak salgılamakta bazıları bakteriler arasında aktarılabilen plazmidler aracılığı ile salgılamaktadır (Kocagöz 2001). *Enterobacter*'ler Amp C tipi (Tip 1) kromozomal β -laktamaz salgılar. *E. coli* ve *K. pneumoniae* ise genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) olan TEM ve SHV grubu enzimleri salgılar ve GSBL salgılayan tüm bakterilerde olduğu gibi penisilinlere, sefamisinler (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol, moksalaktam) dışındaki tüm sefalosporinlere ve aztreonama direnç gösterirler. Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda GSBL pozitiflik oranları *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* için sırası ile %2 - %32, %34 - %48, %14 - %28 arasında bulunmuştur (Büyükbaba vd. 1996, Gülay vd. 1998, Kaleli vd. 1998, Akyıldız vd. 1998, Geyik vd. 2002).

Bu çalışmada Kahramanmaraş'taki kliniklere başvuran hastalardan izole edilen *Escherichia coli*'nin β -laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi incelenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan *E. coli* izolatları Kahramanmaraş'ta bulunan hastane ve polikliniklere çeşitli hastalıklarla başvuran ve kültür örneği alınan hastalardan izole edildi.

Hastalardan alınan örnekler laboratuvara getirilerek Eosin Metilen Blue Agar (EMBA) ve Kanlı Agar içeren ortama ekim yapıldı. Örnekler 37°C'de 24-48 saat süre ile inkübe edildikten sonra, gelişen şüpheli *E. coli* özelliği gösteren koloniler, doğrulama amacıyla API 10 S (Biomerieux, France) sistemi ile teşhis edildi (Robertson ve MacLowry 1975, Arenas vd. 1999). *E.coli* suşlarının antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi amacıyla antibiyogramları Kirby-Bower disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Ekimi yapılan ve antibiyotik diskleri yerleştirilen petri kutuları 4°C 'de 2 saat süre ile ön inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 37 °C'de 24 saat süre ile inkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonu mm olarak değerlendirildi (Collins vd. 1989). 16-18 saat 35-37 °C inkübasyondan sonra BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) kriterlerine göre antibiyogram sonuçları yorumlandı (Anonim 2004). Çalışma 3 paralel olarak yürütüldü ve sonuçlar % ortalama değer olarak Çizelge 1 ve 2'de verildi.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Kahramanmaraş'ta çeşitli polikliniklere başvuran hastaların 68 tanesinden izole edilen *E. coli*'nin β -laktam grubu antibiyotiklere karşı kazanmış olduğu direnç yüzdeleri Tablo 1 de gösterilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan *E. coli* bakterisinin en dirençli olduğu β -laktam grubu antibiyotikler Cefotaxime (%98.52), Cefuroxime (%98.52) ve Ampicilin (%98.52)'dir. Dominguez vd. (2002), İspanya'da çocuklardan izole edilen 24 *E. coli* suşunun %58.5'inde Ampicilline karşı ve 21 örneğin ise %51 oranında Tetrasikline karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca faklı infeksiyonlu hastalardan izole edilen örneklerde *E. coli*'nin Cefoperazone karşı da direnç oluşturduğu tespit edilmiştir (Bao vd. 1999). Çalışmamızda kullanılan diğer antibiyotiklere karşı *E.coli* nin direnç durumu Ceftazidime (% 91.17), Piperacilin (%88.23), Ceftriaxone (%79.41), Ceftizoxime (%70.58) şeklinde belirlenmiştir.

Dandekar vd. (2003), *E. coli*'nin neden olduğu hastalıklarda β -laktamaz enzimleri içeren cephalosporinlerin (Ceftazidime, Ceftriaxone, Cefotaxime) etkisinin olmadığını, Kurokawa vd. (2003), belirtilen bakterinin Ceftazidime'ye karşı dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Dandekar vd.

(2003) ise, cephalosporin grubundan olan Cefotaxime, Ceftriaxone, Cefotaxime antibiyotiklerinin *E. coli*'nin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde başarısız olduklarını göstermişlerdir. Yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlar çalışmalarımıza belirli ölçüde uygunluk göstermektedir. Görülen bazı farklılıklar ise yöresel olarak kullanılan antibiyotiklerin çeşitliliğinden söylenebilir.

Bulgularımızın araştırmacıların bulgularından yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin ise, geçen süre içerisinde *E.coli*'nin İmipeneme karşı direnç oluşturması olarak söyleyebiliriz. Elde edilen sonuçlar Çizelge 2'deki standart zon aralıklarına göre hesaplanmış olup ara değerler dikkate alınmamıştır.

Günümüzde uygulanan en etkin infeksiyon hastalıklarının tedavi yöntemi olan antibiyotik kullanımının dikkatli bir şekilde uygulanması

Çizelge 1. Kahramanmaraş'ta çeşitli polikliniklere başvuran hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarının β-laktam grubu antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç oranları

Antibiyotikler	Disk içeriği µg	Dirençli		Orta Dirençli		Duyarlı	
		n	%	n	%	n	%
Cefotaxime	30	67	9.52	-	-	1	1.48
Ceftazidime	30	68	91.17	-	-	**	8.83
Cefoperazone	75	45	66.17	-	-	13	33.83
Ceftriaxone	30	54	79.41	-	-	14	20.59
Cefuroxime	30	67	98.52	-	-	1	1.48
Piperacilin	100	60	88.23	-	-	8	11.77
Sulbactam-Ampicilin	10+10	38	55.88	-	-	30	44.12
İmipenem	10	38	55.88	-	-	30	44.12
Ceftizoxime	30	48	70.58	-	-	20	29.42
Cefoperazone-Sulbactam	75+30 (105)	45	57.35	-	-	23	42.65
Ampicilin	10	67	98.52	-	-	1	1.48

*n:Örnek sayısı.

Bu çalışmada *E. coli* suşlarının en duyarlı olduğu β-laktam antibiyotikleri % 55.88 ile Sulbactam-Ampicilin ve İmipenem'dir. Bunları % 57.35'le Cefoperazone-Sulbactam ve % 66.17'le Cefoperazone izlemektedir.

Türkmen (2002), çalışmasında *E. coli* suşlarında İmipenem direnci saptamadığını belirtmiştir. Demirtürk vd. (2005), yaptıkları çalışmada, poliklinik ve servis hastalarından izole edilen *E. coli* suşlarında imipenem direncine rastlamamıştır. Gündüz ve Mumcuođlu (2004), yaptıkları çalışmada, izole ettikleri *E. coli* suşlarında İmipenem direnci gözlememiştir. Kibar vd. (2004) ise ürettikleri *E. coli* suşlarında % 8 oranında İmipenem direnci saptamıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada ise *E. coli* izolatlarında İmipenem direnç oranı % 55.88 bulunmuştur.

gerekmektedir. Bunun için hastaya uygun antibiyotik tedavisi uygulanmalı ve normal bakteri florası korunmalıdır. Aksi durumlarda ise, bakterilerin antibiyotiğe dirençlilik kazandıkları gözlenmiştir. Çünkü; yanlış antibiyotik kullanımı normal bakteri florasını yok etmekle beraber, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmalarını sağlamaktadır (Unat 1982). Dünya çapında sık görülen bakterilere karşı direnç olayı hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artmıştır. Bakterilerin hemen hemen tüm türleri antimikrobiyal ajanlara direnç geliştirmektedir. Bu direnç plazmid adı verilen genetik elementler tarafından bakteriler arasında taşınabilmektedir (Domin 1998).

E. coli'nin bu çalışmada kullanılan bütün antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç kazandığı belirlenmiştir. Günümüzde antibiyotik kullanımının artmasına paralel olarak direnç problemi

antibiyotikleri etkisiz kılmaktadır. Bu nedenle antibiyotiklerin bilinçli ve kontrollü kullanılmasının gerekli olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca, bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanmasının azaltılması ve uygulanan tedavinin başarılı olabilmesi için tedavide önerilen doz ve süreye uyularak kesin tedavilerinin yapılması faydalı görölmektedir.

Çizelge 2. Beta-laktam grubu bazı antibiyotiklerin *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin direnç ve duyarlılık sınırları (*).

Antibiyotikler	Disk içeriği (µg)	Zon Aralıkları, mm		
		R<	I	S>
Cefotaxime	30	29	-	30
Ceftazidime	30	27	-	28
Cefoperazone	75	24	-	25
Ceftriaxone	30	27	-	28
Cefuroxime	30	19	-	20
Piperacilin	100	23	-	24
Sulbactam-Ampicilin	10+10	13	-	14
Imipenem	10	22	-	23
Ceftizoxime	30	29	-	30
Cefoperazone-Sulbactam	75+30 (105)	24	-	25
Ampicilin	10	13	-	14

4. Teşekkür

*Bu çalışma TÜBİTAK-BİDEB tarafından desteklenmiştir.

5. Kaynaklar

Akyıldız, R., Özsoy MF., Altunay H., Koçak N., Çavuşlu Ş., Yenen, OŞ. 1998. *Klebsiella pneumonia* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *Klinik Derg.*, 11: 53-58.

Anonim, 2004. BSAC Disc Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 3 January 2004 *All enquiries to Jenny Andrews at : 2004, 0121 507 5693.*

Archibald, L., Phillips, L., Monnet, D., McGowan, JE. Jr., Tenover, F., Gaynes, R. 1997. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit. *Clin. Infect. Dis.*, 24: 211-5.

Arenas, AS., Vicente, S., Luque, S., Gomez-Villamandos, JC., Astorga, R., Maldonado, A., Tarradas, J. 1999. Outbreak of Septicaemic Colibacillosis in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Vet. Med. B*, 46: 399-405.

Bao, Y., Fan, X., Shu, X., Liu, B., Wu, J., Lei, B. 1999. Sub-Cloning And Preliminary Sequence Analysis of The Gene Encoding A Cefoperazone Hydrolyzing Beta Lactamase Isolated from *Escherichia coli*. *J. West China Univ. Med. Sci.*, 30: 245-248.

Büyükbaba, Ö., Aydın D., Anđ, Ö. 1996. İdrar yolu infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi. *Klinik Derg.*, 9: 27-31.

Collins, CH., Lyne, PM., Grange, JM. 1989. *Microbiological Methods. Sixth Edition*, Butterworths & Co. Ltd. London, 1989, 410s.

Demirtürk, N., Demirdal, T., Eldemir, H., İnce, R., Altındış, M., 2005. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 35: 275-278.

Dandekar, PK., Barret, NL., Nightingale, CH., Nicolau, DP. 2003. Utilization Of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Detection Systems in Microbiology Laboratories. *Conn. Med.*, 67: 149-152.

Domin, MA., 1998. Highly Virulent Pathogens-A Post Antibiotic. *Br. J. Theatre. Nurs.*, 8: 14-18.

Dominguez, E., Zarazaga, M., Saenz, Y., Brinas, L., Torres, C. 2002. Mechanisms of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Isolates Obtained From Healty Children in Spain. *Microb. Drug Resist.*, 8: 321-327.

Geyik, MF. Büyükbaba, Ö., Aydın, D., Anđ Kökođlu, ÖF., Uçmak, H., Çelen, MK., Hoşoğlu, S., Ayaz, C. (2002). Hastane kaynaklı gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. *İnfeksiyon Derg.*, 16: 175-178..

- Gülay, Z., Yüce, A., Yukuđ, N. 1998.** *Klebsiella pneumonia* ve *Escherichia coli* suşlarında değişik beta-laktamaz inhibitörleri kullanılarak genişlemiş spektrumlu betalaktamaz üretiminin saptanması. *ANKEM Derg.*, 12: 469-72.
- Gündüz, T., Mumcuođlu, İ. 2004.** İdrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 34: 157-161.
- Kaleli, İ., Özen, N., Şengül, M., Cevahir, N., Akşit, F. 1998.** Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi. *ANKEM Derg.*, 12: 472-75.
- Kibar, F., Yaman, A., Dündar, İH. 2004.** İdrar örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 34: 162-170.
- Kocagöz, S. 2001.** Üriner sistem infeksiyonlarında direnç sorunu. In: Uzun Ö, Ünal S. Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları, Cilt 1, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, s. 373-378.
- Kurokawa, H., Shibata, N., Doi, Y., Shibayama, K., Kamachi, K., Yagi, T., Arakawa, Y. 2003.** A New TEM-Deriver Extened-Spectrum Beta-Lactamase (TEM-91) with an R164C Substitution at The Omega-Loop Confers Ceftazidime Resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47: 2981-2983.
- Robertson, EA., MacLowry, JD. 1975.** Construction of an Interperative Pattern Directory for the API 10S Kit and Analysis of Its Diagnostic Accuracy. *J. Clin. Microbiol.*, 1: 515-520.
- Töreci, K. 2003.** Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. *Flora*, 8: 89-110.
- Türkmen, L. 2002.** İdrar örneklerinden izole edilen gram negatif bakterilerin değişik antibiyotiklere duyarlılığı. *İnönü Ün. Tıp Fak. Derg.*, 9: 185-189.
- Unat, EK. 1982.** Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Birinci Baskı, 59-236s.
- Vahapoğlu, H. 2004.** Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Türk. Klinik. Farmakol. Özel Derg.*, 2: 92-96.