

İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli* İZOLATLARINDA ORAL ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENCİN ARAŞTIRILMASI

The Investigation of Resistance to Oral Antibiotics in *Escherichia coli* Isolates Obtained from Urine

Birgül KAÇMAZ¹, Altan AKSOY², Nedim SULTAN³

¹Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Merkez Mikrobiyoloji
Laboratuvarı
Beşevler/ANKARA

²Kırıkkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Abd
KIRIKKALE

³Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Abd
Beşevler/ANKARA

İletişim:

Birgül KAÇMAZ
Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Merkez Mikrobiyoloji Lab.
06500 Beşevler/ANKARA
Tel: 0312 202 54 76
E-posta:
kacmazbirgul@mynet.com

ÖZET

Amaç: Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) toplumda en sık rastlanan bakteri enfeksiyonlarından. Son yıllarda antibiyotiklere karşı direncin giderek artması nedeniyle ÜSE'lerin empirik tedavisinde sorunlar başlamıştır. Bu çalışmada üropatojen *Escherichia coli* izolatlarının tedavi de kullanılan oral antibiyotiklere karşı dirençleri araştırılmıştır.

Yöntem: Orta akım idrar örneklerinden koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özelliği ve biyokimyasal test sonuçlarıyla *E.coli* olarak izole edilen, 10^5 /ml ve üzeri CFU oluşturan izolatlar değerlendirmeye alınmıştır. İzolatların duyarlılıkları NCCLS kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiş ve kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede ki kare testi kullanılmıştır.

Bulgular: İzolatlarda en düşük direnç oranı nitrofurantoin, fosfomisin trometamol ve sefiksime, en yüksek direnç oranı da ampisilin ve amoksisiline karşı saptanmıştır.

Sonuç: Bölgemizde üriner sistem enfeksiyonları empirik tedavisinde ampisilin, amoksisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonik asit ve trimetoprim/ sulfometaksazol kullanımı başarısızlığa neden olabilir. Kinolonların yaygın tüketimini ve direnç gelişimini azaltmak için bu grup ilaçların yerine ikinci veya üçüncü kuşak oral sefalosporinlerin kullanılması düşünülebilir. Komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde nitrofurantoin ve fosfomisin uygun bir seçenek olarak görülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Escherichia coli*, antibiyotik direnci

ABSTRACT

Objective: Urinary tract infection is one of the most common bacterial diseases. As a result of the increasing resistance to antibiotics in recent years, some problems have been encountered in empiric treatment of urinary tract infection. The aim of the present study is to assess the resistance of uropathogen *Escherichia coli* isolates to oral antibiotics.

Method: Samples were taken from middle urine and were counted for *E. coli*. Isolates were then prepared from the ones with an *E. coli* count of 10^5 /ml or more. The isolates were analysed by using colonial morphology, gram staining and biochemical test results. The susceptibility of the isolates was evaluated by disc diffusion method in compliance with NCCLS susceptibility testing guidelines. *E.coli* ATCC 25922 was used as the control strain. Results were evaluated by Chi-square test.

Results: The *E. coli* of the isolates were found to have low resistance rates to nitrofurantoin, fosfomisin, trometamol and cefixime; and high resistance rates to ampicillin and amoxicillin.

Conclusion: Based on the results, ampicillin, amoxicillin, ampicillin/sulbaktam, amoxicillin/clavulonic acid and trimetoprim/sulfometaksazol may prove to be ineffective in the empiric treatment of urinary tract infection in our region. In order to reduce the resistance development and the common use of quinolones, second and third generation oral cefalosporins can be used in place of these medicines. NIT and FMT are thought to be suitable alternatives in the treatment of uncomplicated urinary tract infection.

Key words: *Escherichia coli*, antibiotic resistance

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) en sık rastlanan bakteri enfeksiyonları arasındadır. Enfeksiyonların %75-95'inde etken *Escherichia coli*'dir. Klasik bilgilere göre üriner sistem enfeksiyonlarında ampirik tedavi de ilk tercih olarak geniş spektrumlu antibiyotikler; ampisilin, amoksisilin ve trimetoprim-sulfometoksazol (TMP-SXT) önerilmektedir(1). Ancak yaygın ve uygun olmayan indikasyonlarda bilinçsiz antibiyotik kullanımının direnç gelişmesine yol açmasından dolayı ÜSE'nin ampirik tedavisinde sorunlar başlamıştır(2). Son yıllarda dünyada üropatojen *E.coli* izolatlarında ampisilin ve TMP-SXT'e karşı direncin giderek artmakta olduğu bilinmektedir(3). Infectious Disease Society of America (IDSA) yayınladığı rehberde TMP-SXT direncinin % 20'yi aştığı yerlerde ÜSE'lerinin alternatif tedavisinde ilk seçenek antibiyotikler olarak florokinolonlar, nitrofurantoin ve fosfomisin önermektedir(4). ÜSE'lerin tedavisinde siprofloksasin uzun yıllar başarıyla kullanılmakla birlikte son zamanlarda yüksek oranlarda direnç gelişimi bildirilmektedir(5). Siprofloksasine karşı gelişen direnç aynı zamanda çapraz direnç şeklinde diğer kuşak kinolonlara da aktarılabildiği için önemlidir(6). ÜSE dışında da bu antibiyotik grubunun yaygın kullanımı olduğu için bu grup ilaçların kullanımı izlenmeli, direnç gelişim oranları yakından takip edilmelidir.

Bu çalışma da ÜSE etkeni olarak saptanan *E.coli* izolatlarının oral antibiyotiklere karşı ampisilin, amoksisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonik asit, trimetoprim/sulfometoksazol, sefuroksim, sefiksim, siprofloksasin, nitrofurantoin ve fosfomisin trometamin duyarlılıkları araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli polikliniklerden idrar kültürü için gönderilen orta akım idrar örneklerinden izole edilen bakteriler çalışmaya alınmıştır. Ekimler standart özeyle kanlı agara ve

eozin-metilen mavisi agara ekilmiştir. Koloni morfolojisi, Gram yöntemiyle boyanma özelliği ve biyokimyasal test sonuçlarıyla *E.coli* olarak tanımlanan ve idrarın ml'sinde 10^5 ve daha fazla colony forming unit (CFU) oluşturan izolatlar değerlendirmeye alınmıştır. Bakterilerin ampisilin (AMP), amoksisilin (AMOX), ampisilin-sulbaktam (SAM), amoksisilin-klavulonik asit (AMC), trimetoprim/sulfometoksazol (TMP-SXT), sefuroksim (CFX), sefiksim (CFM), siprofloksasin (CIP), nitrofurantoin (NIT) ve fosfomisin trometamin (FMT) duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI: formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards) kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir(7).

Kontrol suş olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

İstatistiksel değerlendirmede ki kare testi kullanılmış ve $p \leq 0.05$ bulunduğu aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada ÜSE etkeni olarak izole edilen toplam 370 *E.coli* değerlendirilmiştir. Tablo 1'de antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin sayıları ve direnç oranları sunulmuştur.

Bakterilerde en düşük direnç oranı NIT, FMT ve CFM'e, en yüksek direnç oranı da AMP ve AMOX'e karşı saptanmıştır.

SAM ve AMC, NIT ve FMT direnç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0.26$, $p=0.083$). İkinci kuşak oral sefalosporin olan sefuroksim direnci ile üçüncü kuşak oral sefalosporin olan sefiksim direnci arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.001$).

TARTIŞMA

Çalışmada AMP ve AMOX direnci aynı oranda (%72) bulunmuştur. NCCLS'e göre *Enterobacteriaceae* üyelerinde ampisilin veya amoksisilin duyarlılığının saptanmasında bunlardan herhangi birinin test edilmesinin yeterli olduğu belirtilmiştir. Bu iki ilaç

birbirlerini uygun şekilde temsil edebilir(7). Bu çalışmada da *E.coli* izolatlarında hem ampisilin hem de amoksisilin diski kullanılmıştır. Sonuçların birbirleriyle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Yine NCCLS'e göre *Enterobacteriaceae* sınıfında bakterinin SAM ve AMC'ye karşı duyarlılıklarının saptanmasında SAM veya AMC diskinin herhangi birinin kullanılmasının yeterli olduğu belirtilmiştir(7).

E.coli izolatlarında beta-laktam-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına karşı direnç yaygın olarak rapor edilmiştir. Direncin en önemli nedeni TEM-1 beta-laktamaz enziminin aşırı üretilmesi ve dış membran geçirgenliğinde değişikliktir. Diğer nadir görülen nedenler inhibitörlere dirençli TEM (IRT) enzimi ve/veya kromozomal Amp-C beta-laktamaz enziminin üretimidir. Tüm beta-laktam-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları bu mekanizmalardan aynı derecede etkilenmezler. Bu antibiyotiklere karşı değişik oranlarda direnç bildirilmiştir(8). Bu çalışmada SAM ve AMC direnci sırasıyla %58-%62 olarak farklı bulunmuştur. Laboratuvarında duyarlılık testlerinin yapılması sırasında bu iki antibiyotikte ayrı olarak çalışılmalı ve duyarlılıklarının değişebileceği bilinmeli, raporlarda ikisinin de duyarlılıkları belirtilmelidir. Yapılan çalışmalarda SAM direnç oranının AMC'e göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir(9). Bu çalışmadaki izolatların SAM direnç oranı AMC'ye göre daha düşük bulunmuştur ama bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu da dirence neden olan beta-laktamaz enzim tiplerinin bölgesel farklılıklardan ve bakterinin diğer direnç mekanizmalarından farklı oranlarda etkilenmesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada AMP ve AMOX'e, bunlara beta-laktamaz inhibitör eklenmesiyle oluşturulan kombinasyonlarına, TMP-SXT'e karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Avrupa'daki (10) gelişmiş ülkelerden rapor edilen oranlara göre yüksek ama Taiwan (11) ve İsrail'den (12) yayımlanan oranlara göre benzer olarak bulunmuştur. Saptanan yüksek direnç nedeniyle bu ilaçların ÜSE'nde ampirik

Tablo 1. Dirençli bakterilerin sayısı (n) ve oranı (%)

Antibiyotikler*	n	%
AMP	266	72
AMOX	266	72
SAM	215	58
AMC	230	62
TMP-SXT	241	65
CFX	55	15
CFM	22	6
CIP	66	18
NIT	7	2
FMT	15	4

AMP: ampisilin, AMOX: amoksisilin, SAM: ampisilin-sulbaktam, AMC: amoksisilin-klavulonik asit, TMP-SXT: trimetoprim/sulfometaksazol, CFX: sefuroksim, CFM: sefiksime, CIP: siprofloksasin, NIT: nitrofurantoin, FMT: fosfomisin trometamin

tedavi de ilk seçenek olarak kullanılmaması uygun olacaktır.

Günümüzde siprofloksasin özellikle polikliniğe başvuran ve basit sistit tanısı konulan kadın hastalarda yaygın olarak kullanılmaktadır(2). Bu çalışmada CIP'e karşı %18 oranında direnç saptanmıştır. Amerika Birleşik Devletlerinde Sürveyans Ağı Veritabanı (The Surveillance Network Database) sistemine kayıtlı mikrobiyoloji laboratuvarlarının 1995-2001 yılları arasındaki verilerinde, ÜSE tanısı alan kadınların idrar örneklerinden üretilen *E.coli* suşlarında 1995'de % 0.7 olarak bulunan siprofloksasin direncinin 2001'de % 2.5 olması araştırmacılar tarafından dikkat çekici olarak gösterilmiştir (13). Kinolon grubu ilaçlar ÜSE dışında da yaygın kullanım alanına sahiptir. Aynı zamanda bu grup ilaçlara karşı direnç gelişimi çapraz direnç şeklinde tüm kinolonlara aktarılabilmektedir(6). Direnç gelişiminin önüne geçebilmek için kinolon kullanımının mümkün olduğunca kısıtlanması uygun olacaktır(5). Bu

yüzden komplike olmayan ÜSE'lerde kinolonların yerine ikinci veya üçüncü kuşak oral sefalosporinlerin kullanılması düşünülebilir. ÜSE'de oral sefalosporinlerin başarıyla kullanıldığını gösteren çalışmalar vardır(14). Bu çalışmada CFM ve CFX direnci sırasıyla %6 ve %18 olarak saptanmıştır ve üçüncü kuşak oral sefalosporin olan CFM'in daha duyarlı olduğu bulunmuştur.

Nitrofurantoin erişkinlerde ortalama 400 mg/gün dozunda dörde bölünerek verilir ve alınan dozun %40'ı vücutta değişmeden böbreklerden atılır. Bu doz ile idrarda oluşturduğu konsantrasyon 200 g/ml dolayındadır ve bu konsantrasyonda duyarlı bakteriler üzerine bakterisid etki yapar. İdrar ve böbrek dışı dokularda ve vücut sıvılarında antibakteriyel etki oluşturacak bir konsantrasyona ulaşmaz (2). Bu çalışmada NIT direnci %4 olarak bulunmuştur. Karlowsky ve ark.ları (13) 1995-2001 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde *E.coli* suşlarında NIT direncini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda NIT direncinin (%0.4-0.8) anlamlı olarak artmadığını ve düşük oranlarda devam ettiğini rapor etmişlerdir. Yaklaşık 50 yıldır kullanılmasına rağmen onun değişik etki mekanizmalarına sahip olması bu değişmeyen ve düşük oranlarda saptanan direnç yüzdesini açıklayabilir aynı zamanda bu ilacın dar kullanım alanına sahip olması da bunda etkili olan bir faktördür. Nitrofurantoinin diğer oral kullanılan AMP, TMP-SXT, SAM, AMC ve CIP gibi ilaçlarla direnç oranları karşılaştırıldığında en düşük direnç oranının NIT'de olduğu saptanmıştır. Üropatojen *E.coli* izolatları için iyi bir seçenek olduğu düşünülebilir. Ancak IDSA'nın yayınlamış olduğu tedavi kılavuzunda NIT ile yedi günlük tedavi etkinliğinin TMP-SXT ile yapılan tedaviye benzer etkinlikte olabileceği veya olmayabileceği bu nedenle bu antibiyotik için kontrollü çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (4).

Fosfomisin bakteri hücre duvarını inhibe ederek bakterisidal etki yapan fosfonik asit türevi bir antibiyotiktir. Fosfomisin trometamin (FMT) (önceden fosfomisin trometamol olarak adlandırılırdı) oral olarak kullanılan formudur,

ağızdan alındığında iyi tolere edilir, tedavi verilen hastaların idrarında ve serumunda yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Tamamına yakın kısmı glomeruler filtrasyonla atılır, yarılanma ömrü serumda 5-8 saattir. Tek doz 3 gr. ağızdan alımını takiben idrardaki konsantrasyonu 128 mg/l seviyesine ulaşır ve 24-48 saat devam eder. Bu özelliklerinden dolayı FMT Avrupa'da komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. FMT ile TMP-SXT arasındaki karşılaştırmalı çalışmalarda 3 gr tek doz FMT kullanımının komplike olmayan ÜSE'lerde klinik ve bakteriyolojik başarısının TMP-SXT ile benzer olduğu bulunmuş yalnızca küçük bir grupta tedavi başarısızlığı gözlenmiştir. Bunun içinde FMT'nin birden fazla doz şeklinde verilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır (15).

Bu çalışmada *E.coli* izolatlarının NIT ve FMT'e oldukça duyarlı olduğu gözlenmiştir. Muhtemelen bu yüksek duyarlılık bölgemizde bu ilaçların ÜSE'lerde yaygın biçimde kullanılmamasına bağlı olabilir.

NIT, FMT ve CFM dışında test edilen tüm antibiyotiklere karşı saptanan yüksek direnç bu antibiyotiklerin ÜSE ve diğer enfeksiyonlarda, kontrolsüz ve fazla kullanılması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak bölgemizde *E.coli*'nin neden olduğu ÜSE'lerde ampirik tedavide SAM, AMC ve TMP-SXT'nin kullanılmasının uygun olmayacağı saptanmıştır. *E.coli*'lerde SAM ve AMC duyarlılığının farklı olabileceği düşünülmeli, her iki antibiyotikte ayrı ayrı test edilip rapor edilmelidir. Kinolonların kısıtlı ve uygun endikasyonlarda kullanılması ile direnç oranlarının azaltılması hedeflenmelidir. Komplike olmayan ÜSE'lerin tedavisinde NIT ve FMT uygun bir seçenek olarak görülmektedir. Fakat bu konuda yapılacak karşılaştırmalı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR:

1. Sobel JD, Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 773-805.

2. Ertuğrul MB, Atila-Güleç L, Akal D ve ark. Üropatojen *Escherichia coli* suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları. Klimik Derg 2004; 17(2): 132-6.
3. Chomarat M. Resistance of bacteria in urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents 2000; 16(4): 483-7.
4. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm AE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Clin Infect Dis 1999; 29: 745-58.
5. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. J Antimicrob Chemother 2003; 51:69-76.
6. Gales AC, Sader HS, Jones RN, The SENTRY participants group (Latin America). Urinary tract infections trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44:289-99.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard. NCCLS Document M2-A7. Wayne, Pa: NCCLS, 2000.
8. Kaye KS, Gold HS, Schwaber MJ, et al. Variety of β -lactamases produced by amoxicillin-clavulanate-resistant *Escherichia coli* isolated in the Northeastern United States. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 1520-5.
9. Oliver A, Perez-Vazquez M, Martinez-Ferrer M, Baquero F, DE Rafael L, Canton R. Ampicillin- sulbactam and amoxicillin-clavulanate susceptibility testing of *Escherichia coli* isolates with different β -lactam resistance phenotypes. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 862-7.
10. Kahlmeter G. Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO.SENS study. Int J Antimicrob Agents 2003; 22: 49-52.
11. Lau SM, Peng MY, Chang FY. Resistance rates to commonly used antimicrobials among pathogens of both bacteremic and non-bacteremic community-acquired urinary tract infection. J Microbiol Immunol Infect 2004; 37: 185-91.
12. Colodner R, Keness Y, Chazan B, Raz R. Antimicrobial susceptibility of community-acquired uropathogens in northern Israel. Int J Antimicrob Agents 2001; 18: 189-92.
13. Karlowsky JA, Kelly LJ, Thornsberry C, Jones ME, Sahn DF. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2540-5.
14. Mehnert-Kay SA. Diagnosis and management of uncomplicated urinary tract infections. Am Fam Physician 2005; 72: 451-6.
15. Schito GC. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated urinary tract infections? Int J Antimicrob Agents 2003; 22: 79-83. Duckworth GJ, Williams JD. A comparison between single-dose fosfomycin trometamol (Monuril) and a 5-day course of trimethoprim in the treatment of uncomplicated lower urinary tract infection in women. Int J Antimicrob Agents 1998; 10: 39-47.