

Yenidoğan Servisinde Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz Yapan ve Gentamisin Dışı Aminoglikozidlere Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Salgını

Metin Otkun¹, Filiz Akata¹, Serap Karasalihoğlu², Müşerref Tatman-Otkun³, Betül Orhaner², Murat Tuğrul¹, Volkan Dündar¹

Özet: Haziran-Ağustos 1994 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Servisi'nde *Klebsiella pneumoniae*'ye bağlı bir salgın saptanmıştır. Bu salgının epidemiyolojisini incelemek amacıyla izole edilen kökenler plazmid profili ile tiplendirilmiş, transformasyon yöntemi ile plazmidlerin direnç ilişkisi araştırılmış ve bu verilerin değerlendirilmesi ile salgınla mücadele yönlendirilmiştir. Salgın sırasında sepsis gelişen yedi yenidoğanın hemokültürlerinde *K.pneumoniae* ürettirmiş, bu yenidoğanların ikisi kaybedilmiştir. Enfeksiyon kontrol çalışmaları sırasında iki kuvözün iç duvarlarında, sepsisli bir yenidoğanın annesinin ellerinde ve altı yenidoğanın boğaz kültürlerinde *K.pneumoniae* kolonizasyonu saptanmıştır. Çift diskli sinerji testi yöntemiyle, izole edilen toplam 17 kökenden 16'sının genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yaptığı ve benzer antibiyotik direnç modelleri bulunduğu gösterilmiştir. Plazmid incelemeleri 13 kökenin aynı plazmid profiline sahip olduğunu ve transformasyon ile çeşitli antibiyotiklere karşı direnci aktarabildiklerini göstermiştir. Bu bulgularla izole edilen 17 *K.pneumoniae* kökeninden 13'ünün tek kökenden kaynaklandığı ve salgından bu kökenin sorumlu olduğu düşünülmüştür. El yıkama dahil enfeksiyon kontrol önlemleri yanında uygun antibiyotik kullanımı ile başarılı bir salgın mücadelesi yapılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Klebsiella*, yenidoğan, plazmid, genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, aminoglikozid direnci.

Summary: Extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* resistant to aminoglycosides other than gentamicin in a newborn unit. We report a nosocomial outbreak of infection caused by *Klebsiella pneumoniae* in the newborn unit of an university hospital in Edirne, Turkey. Between June and August 1994 seven cases of sepsis were diagnosed due to *K.pneumoniae* and two of them were died. During a 1-day microbiological survey of the ward *K.pneumoniae* was isolated from the inner walls of two incubators and from the hands of a mother of an infected baby as well as from the throat cultures of six newborns in the unit. All strains except one from an infected baby were producing extended-spectrum β -lactamase as shown by double disk synergy test, and were resistant to aminoglycosides except gentamicin. The epidemiology of the outbreak was studied by plasmid profiles. The finding that 13 of 17 isolates carried the same four plasmids as judged by co-electrophoresis on agarose gels and transfer of same antibiotic resistance profile by transformation provides evidence to suggest that this outbreak was due to spread of a resistant clone of *K.pneumoniae*. Infection control measures including hand washing, as well as appropriate antibiotic use resulted in quenching of the outbreak successfully.

Key Words: *Klebsiella*, newborn, extended-spectrum β -lactamase, aminoglycoside resistance.

Giriş

Yenidoğanlar ve özellikle miadından önce doğanlar Gram-negatif bakterilerle gelişen enfeksiyonlar için yüksek risk altındadır. Miadından önce doğan bebeklerde yüksek enfeksiyon riski düşüncesiyle profilaktik olarak geniş spektrumlu antibiyotikler sıklıkla kullanılır. Ancak bu yaklaşım antibiyotiğe dirençli mikro-organizmaların seçilmesine yol açar (1). Ek olarak Gram-negatif direnç plazmidlerinin kazanılmasına bağlı olarak çeşitli antibiyotiklere direnç geliştirmeye eğilimlidir (1,2). *Klebsiella pneumoniae* yenidoğan servislerinde ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir nozokomiyal patojendir ve bu servislerde ilk üç patojen arasında sayılır (3,4). Geniş spektrumlu sefalosporinlere, aminoglikozidlere ve diğer antibiyotiklere birlikte dirençli *K.pneumoniae* kökenleriyle oluşan salgınları bildiren birçok yayın bulunmaktadır (1,3,5-7).

Salgınlara karşı etkin önlemlerin alınabilmesi o salgının kaynak ve bulaşma yollarının saptanmasına bağlıdır. Bu amaçla yapılacak çalışmalarda bağımsız ve epidemik kökenleri birbirinden etkili bir şekilde ayıracak testlere gerek vardır. *K.pneumoniae*'de bu amaçla serotipleme biyokimyasal tiplendirme, faj tiplendirme, bakteriyosin tiplendirme ve antimikrobiyal duyarlılık testleri ile tiplendirmeler

denenmiş, ancak son zamanlarda genetik tiplendirme yöntemleri ön plana çıkmıştır. Bunlar arasında plazmid profili analizi sıklıkla kullanılmaktadır (3).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Servisi'nde (TÜHY) genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yapan ve gentamisin dışı aminoglikozidlere dirençli *K.pneumoniae* kökenine bağlı bir salgın saptanmıştır. Bu salgında izole edilen kökenler plazmid profili ile tiplendirilmiş, transformasyon yöntemi ile plazmidlerin direnç ilişkisi araştırılmış ve verilerin epidemiyolojik değerlendirilmesi ile salgınla mücadele yönlendirilmiştir.

Yöntemler

Laboratuvar incelemeleri, klinik izolatların ilk identifikasyonu ve antimikrobik duyarlılık testlerinin yapılmasıyla başlamış, daha sonra referans laboratuvarında doğrulayıcı tanı, plazmid analizi ve plazmid transferi ile sonuçlandırılmıştır.

Kan kültürleri: Venöz yolla alınan kan laboratuvarında hazırlanan bifazik Castaneda besiyerine konmuştur (8).

Çevre ve el kültürlerinin alınması: Çevre ve el kültürleri eküvyonlu çubuklar steril buyyonda ısıtıldıktan sonra yüzeye sürülme suretiyle alınmıştır.

İlk identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri: Hasta ve çevreden izole edilen bakteriler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda standard yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır (8). Antibiyotik duyarlılık testleri NCCLS M2-A4 önerilerine uyularak Mueller-Hinton agarda "Difco" mar-

(1) Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne

(2) Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne

(3) Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne

Tablo 1. Kan Kültürlerinde *Klebsiella pneumoniae* Üreyen Yenidoğanların Özellikleri

Olgu No	Doğum tarihi (1994)	Doğum kilosu	Yatış tarihi	Yatış nedeni	Bakteri ilk ayırım tarihi ve yeri	Kullandığı antibiyotikler ve sonuç
1	30.6	2550 gr	30.6	Prematürite	Hemokültür, 5.gün	5 gün ampisilin+netilmisin
2	08.6	3450 gr	06.7	Meningit, Edirne SSK Hastanesinden sevk	Hemokültür, 8.gün	9 gün sefolaksim, 20.gün şifa ile taburcu 9 gün sefolaksim+netilmisin 10 gün sefoperazon/sulbaktam, 20. gün şifa ile taburcu
3	18.8	1300 gr	18.8	Prematürite, ikiz eşi	Hemokültür, 5.gün	4 gün ampisilin+netilmisin, 6 gün seftriakson 15 gün sefoperazon/sulbaktam, 25.gün şifa ile taburcu
4	16.8	1600 gr	18.8	Prematürite, erken membran rüptürü	Hemokültür, 3.gün	3 gün ampisilin+ amikasin 1 gün sefoperazon/sulbaktam, 4.gün eksitus
5	14.7	1900 gr	14.7	Prematürite	Hemokültür, 5.gün	5 gün ampisilin+amikasin 10 gün netilmisin+sefoperazon/sulbaktam, 19.gün şifa ile taburcu
6	22.6	2400 gr	22.6	Prematürite, hiperbilirubinemi	Hemokültür, 12. gün	12 gün netilmisin+seftriakson, 10 gün sefoperazon/sulbaktam, 22. gün şifa ile taburcu
7	16.8	3800 gr	16.8	Mekonyum aspirasyonu	Hemokültür, 4.gün	3 gün ampisilin+amikasin 1 gün sefoperazon/sulbaktam, 4. gün eksitus

ka diskler kullanılarak modifiye Kirby-Bauer yöntemine uygun olarak yapılmış, ancak ek olarak genişlemiş spektrumlu β -laktamaz varlığını araştırmak amacıyla çift diskli sinerji double disk synergy) testi uygulanmıştır (9). Ayrıca üçüncü kuşak sefalosporinlere ya da aztreonama direnç gösterme, klavulanik asidden etkilenme, sefoksitine duyarlı olma genişlemiş spektrumlu β -laktamaz varlığının göstergesi olarak kabul edilmiştir (10).

Doğrulayıcı tanı: Bakteriler ileri inceleme için Justus-Liebig Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Enstitüsü, İnfeksiyon İmmünitesi Bölümü, Giessen-Almanya'ya götürülmüş, burada analitik profil indeksi ile (API 20E System; Analytical Products. La Baime les Grottes, France) bakteriyolojik tanı doğrulanmıştır.

Plazmid analizi: Plazmid DNA'sının izole edilmesi için LB besiyerinde üretilen bakteriler alkalen lizis yöntemiyle eritilmiş, kloroform/fenol karışımı (1/1) ile karıştırıldıktan sonra yüksek hızlı santrifüjasyon (13500 rpm) ile DNA ayrıştırılmıştır. Agaroz jelde (% 0.8) 250 mA'de 5 saat elektroforez uygulanmıştır. Jel etidyum bromür ile boyanmış ve bir UV transillüminatör kullanılarak görünür hale getirilmiştir. Plazmid moleküller ağırlıkları bilinen plazmidlerle kıyaslanarak hesaplanmıştır (11).

Plazmid aktarılması: Jel içinde ayrılan plazmidlerin agaroz jelden uzaklaştırılması için elektroelüzyon yöntemi uygulanmıştır. Plazmidlerin kantitatif çaprazlama yöntemiyle konjugasyonu için alıcı köken olarak *Escherichia coli* DH10b (Nal^R, SM^R) ve transkonjugantları seçmek için ampisilin (10 μ g/ml), amikasin (10 μ g/ml) veya tetrasiklin (15 μ g/ml) içeren LB besiyerleri kullanılmıştır (11).

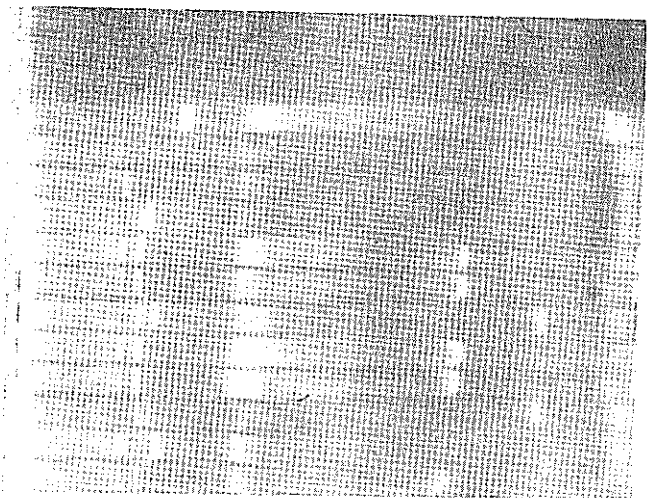
Plazmidlerin transformasyon yöntemi ile aktarılması için yine aynı köken kullanılmıştır. Yüksek voltaj elektroporasyon yöntemi ile elektrokompatan hale getirilen alıcı bakteri, yukarıda tanımlandığı şekilde izole edilen yaklaşık 1 μ g plazmid DNA'sı ekstresi ile karıştırılmış, daha sonra bu karışıma Gene pulser (Biorad)'da puls uygulanmıştır. SOC besiyerinde 37°C'de 1 saat inkübe edilip yukarıda tanımlanan antibiyotikli besiyerlerine öze ile ekim yapılmıştır. Ayrıca iki kökene ampisilin direncini indüklemek için 10 μ g/ml ampisilin eklenmiştir (11).

Servis tanımlanması: TÜHYS yılda yaklaşık 300 yenidoğanın kabul edildiği dokuz yataklı ve dört kuvüzlü bir birimdir. Bunların yaklaşık dörtte biri prematüredir. Serviste dört doktor, biri daimi olmak üzere iki hemşire bulunmaktadır. Servisin kendi özel personeli yoktur. Riskli hastalarda ve işlemlerde el yıkamada antiseptik olarak % 20 klorheksidin glukonat (Hibiscrub) kullanılmaktadır.

Salgının tanımlanması: Haziran-Temmuz 1994 tarihlerinde septisemi tanısı konan dört yenidoğanın kan kültürlerinde *K.pneumoniae* üretilmiştir. Bunun üzerine serviste hasta kabulü durdurulmuş, personel ve cihazlar infeksiyon kaynağı açısından taranmıştır, ancak epidemik köken saptanamamıştır. Uygun önlemlerin alınması ve dezenfeksiyon işlemlerinden sonra servis yeniden hizmete açılmış, ancak üç hafta sonra üç bebekte daha septisemi gelişmiş ve kan kültürlerinde *K.pneumoniae* üretilmiştir. Tekrar yapılan tarama sonucunda etken bakteri iki kuvüzlün iç duvarlarından soyulanmış, bu iki kuvöz dezenfekte edilmiştir. Salgının ikinci atağından 20 gün sonra serviste yatan hastalar, anneleri ve servis personeli ile cihazlarda yapılan kontrol taraması sonucu biri daha önceden *K.pneumoniae* sepsisi geçirmiş toplam dokuz yenidoğanın altısının boğaz kültüründe *K.pneumoniae* kolonizasyonu saptanmıştır.

Sonuçlar

Kan kültürlerinde *K.pneumoniae* soyulanan yenidoğanların özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Bu yenidoğanlarda en sık ya-



Resim 1. Kuvöz iç duvarından ve kan kültürlerinden izole edilen kökenlerin plazmidleri. Aşağıdan yukarıya 1-8. sıralar: 1-8. kökenler; 9-12. sıralar: ağırlıkları bilinen standartlar.

Tablo 2. 8.9.1994 Tarihinde Yapılan Taramada *Klebsiella pneumoniae* Kolonizasyonu Saptanan Yenidoğanların Özellikleri

Olgu No	Doğum tarihi (1994)	Doğum kilosı	Yatış tarihi	Yatış nedeni	Bakteri ilk ayırım tarihi ve yeri	Kullandığı antibiyotikler ve sonuç
8	22.8	980 gr	22.8	Prematürite	Kulak lezyonu ve boğaz kültürü, sepsis kliniği, kan kültüründe üreme yok	3 gün ampisilin+amikasin, 8 gün 11.günseftriakson+amikasin, 11 gün sefoperazon/sulbaktam (klinik iyi yanıt verdi), 24. gün maddi sorun nedeniyle devlet hastanesine sevk
9	24.8	2500 gr	02.9	Prematürite, hiperbilirubinemi	Boğaz kültürü, 6.gün hemokültürde 1.gün <i>Citrobacter</i> sp. üredi	Boğaz kültürü, 20.gün
10	19.8	1600 gr	19.8	Prematürite		Boğaz kültürü, 19.gün ikiz eşi
11	18.8	1800 gr	18.8	Prematürite,		Boğaz kültürü, 19.gün ikiz eşi
12*	18.8	1300 gr	18.8	Prematürite,		Boğaz kültürü, 14.gün
13	25.8	1270 gr	25.8	Prematürite		

*: Tablo 1'de 3 no'lu olgudur.

tiş nedeni prematüritedir. TÜHYS'ye yatan yenidoğanların hepsi-ne yatış gününden itibaren ampisilinle birlikte bir aminoglikozid (netilmisin veya amikasin) profilaktik olarak başlanmıştır. *K.pneumoniae* infekte yenidoğanlarda yatışlarının 3-14 günlerinde alınan hemokültürlerinde üretilmiştir. Üremenin saptanmasıyla birlikte tedavi sefoperazon/sulbaktama değiştirilmiştir. Ancak yenidoğanların ikisi hemokültürde üreme saptandıktan bir gün sonra kaybedilmiştir.

8.9.1994 tarihinde yapılan taramada o anda birimde bulunan dokuz yenidoğandan altısının boğaz kültürlerinde *K.pneumoniae* üretilmiş olup bu olguların özellikleri Tablo 2'de sunulmuştur. Bunlardan 12 no'lu olgu Tablo 1'deki 3 no'lu olgu olup aynı zamanda 11 no'lu olgunun ikiz eşidir. Başlangıçta aynı kuvöze alınan bu ikizlerden olgu 3'ün sepsis kliniği göstermesi üzerine ikiz eşi ayrı kuvöze alınmış ve bu yenidoğanın tarama sırasında boğaz kültüründe *K.pneumoniae* üretilmiştir. Olgu 8'de yatışının 11. gününde sepsis kliniği gelişmiş, alınan hemokültürlerinde bir üreme olmamasına karşın sefoperazon/sulbaktam tedavisine iyi yanıt vermiş olup bu tedavinin 7. gününde yapılan tarama sırasında boğazda ve kulak lezyonunda *K.pneumoniae* üretilmiştir. 9 no'lu olgu doğumunun 9. günü birime yatırılmış ve yatışının ilk gününde alınan hemokültürde *Citrobacter* sp. üremiş olup yapılan tarama sırasında da boğaz kültüründe *K.pneumoniae* üretilmiştir.

Serviste 8.9.1994 tarihinde yapılan son tarama sırasında alınan kültürler ve üreme saptanan yerler Tablo 3'te sunulmuştur. *K.pneumoniae* servis personelinde saptanamazken 23.8.1994 tari-

hinde yapılan ikinci tarama sırasında bir kuvözün iç duvarında ve son tarama sırasında ikiz olan olgu 11 ve 12'nin annelerinin elinde, ayrıca olgu 8 ve olgu 13'ün nazogastrik sondalarında üretilmiştir. Serviste kullanılan bir kalsiyum laktat şişesinde *K.pneumoniae* üretilmezken *Enterobacter cloacae* saptanmıştır.

Üretilen *K.pneumoniae* kökenlerinde elektroforezle ayrılan plazmidler Şekil 1 ve 2'de, bu plazmidlerin büyüklükleri ve bakterilerin üçüncü kuşak sefalosporinlerle aztreonama duyarlılıkları Tablo 4'te gösterilmiştir. Çift diskli difüzyon testinde köken 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 14, 16 ve 17'nin genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yaptıkları saptanmıştır. 9, 10, 11 ve 15 no'lu kökenlerde ise üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç, aztreonama orta duyarlılık, klavulanik asidden etkilenme ve sefoksitin duyarlılığı saptanmış ve bu kriterlerle genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yaptıkları kabul edilmiştir. Sadece ampisiline dirençli olan 2 no'lu köken hariç kökenlerin hepsi sefazolin, trimetoprim/sülfametoksazol, amikasin ve tobramisine dirençli, sefoperazon/sulbaktam, imipenem, siprofloksasin ve gentamisine duyarlı bulunmuştur.

E.coli'ye plazmidlerin konjugasyon yoluyla aktarılma girişimleri başarısız olmuştur. Ancak elektrokompentan hücrelerin hazırlanmasından sonra transformasyonla plazmid aktarımı başarılımış ve köken 3, 4 ve 6 ile transforme edilen *E.coli* kökenleri ampisilin, amikasin ve tetrasiklin içeren besiyerlerinde üretilmiştir. Bu *E.coli* kökenlerinde plazmid incelemeleri her üç kökenin plazmidlerinin tam olarak aktarılabildiğini göstermiştir.

İrdeleme

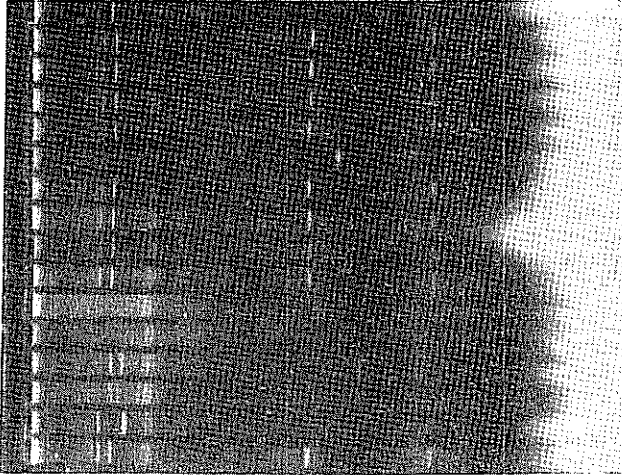
Yenidoğan, özellikle prematüre yenidoğan bağışıklık sorunu olan bir konak olup, normal florası olmaksızın doğar. Bu flora ilk birkaç haftada kazanılır ve anne sütü emen bebekler hızla koruyucu bir normal barsak florası edinirler. Buna karşın prematüre yenidoğanlarda ve özellikle yenidoğan servislerinde kalanlarda *Klebsiella*'ların baskın olduğu bir barsak florası gelişimine eğilim vardır (12,14). Ayrıca ampisilin kullanımı da plazmide bağlı β -laktamaz taşıyan hastane kökenli *Klebsiella* ve *Enterobacter* spp. kökenlerinin kolonizasyonuna katkıda bulunmaktadır (13,14).

Yenidoğan servislerinde *Klebsiella* infeksiyonlarının yüksek bir mortalitesi vardır. Bu kökenler genellikle çoğul dirençlidir ve direnç plazmidleri taşırlar (4). 1994 yılının Haziran-Ağustos ayları arasında TÜHYS'de genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yapan *K.pneumoniae*'ye bağlı bir sepsis salgını izlenmiştir. Yedi olgu-

Tablo 3. 8.9.1994 Tarihindeki Taramada Alınan Çevresel Örnekler ve Sonuçları

Çevresel örnekler	Örnek sayısı	<i>K.pneumoniae</i> üreyen örnek sayısı
Servis personeli el sürüntüsü	11	-
Refakatçi anne el sürüntüsü	5	1
Nazogastrik sonda	2	2
Kuvöz	2	-
Stetoskop	1	-
Ambu cihazı	1	-
Kalsiyum laktat şişesi	1	*

*: *Enterobacter cloacae* üremiştir



Resim 2. 8.9.1994 tarihinde yapılan taramada izole edilen kökenlerin plazmidleri. Aşağıdan yukarıya 1-4. sıralar: 1., 2., 3., 6. kökenler. 7-15. sıralar: 9-17. kökenler, 16. sıra: Kalsiyum laktat şişesinde izole edilen *Enterobacter cloacae*.

nun etkilendiği bu salgın sırasında iki yenidoğan kaybedilmiştir. Art arda gelen bu olguların bir salgın olduğunun düşünülmesinin nedeni bu serviste daha önce görülmemiş bir sıklıkta sepsis olgularının görülmesi, kan kültürlerinde bu dönemde sürekli *K.pneumoniae* üretilmesi ve bunların olgu 2 dışında benzer antibiyotik direnç modelleri göstermeleridir. Ayrıca yenidoğan servisi dışındaki diğer servislerde hastane infeksiyonu olarak izole edilen toplam 11 *Klebsiella pneumoniae* kökeninin hepsinin amikasinine duyarlı bulunması ve hiçbirinde genişlemiş spektrumlu β -laktamaz saptanmaması da özel bir klondan kaynaklanan salgın olduğu düşüncesini desteklemiştir. Ancak bu düşüncenin yalnız fenotipe ait bulgularla kanıtlanması güçtür. Genetik tiplendirme

yöntemleri parmak izinin takibinde çok daha etkin bulunmuştur (15). Yine *K.pneumoniae* salgınlarını önlemenin ilk koşulu salgının mekanizmasını ve kontaminasyon kaynağını (ya da kaynaklarını) tam olarak tanımlayabilecek tiplendirme yöntemlerini kullanmaktır (16). Her ne kadar plazmid tiplendirmesi, plazmidlerin stabil bir yapı olmaması nedeni ile ideal bir tiplendirme sayılmadığıdır (17). Genişlemiş spektrumlu β -laktamazların plazmid kaynaklı olmaları da plazmid tiplendirmesi yönteminin bu çalışmada seçimine katkıda bulunmuştur (18).

Çalışmaya alınan 17 *K.pneumoniae* kökeninde beş farklı plazmid profili saptanmasına karşın 200, 115, 8 ve 2.6 kbp'lik dört adet plazmid içeren profil tipi 13 kökende bulunmuştur. Köken 13'teki 5.5 kbp'lik plazmid bir yana bırakılacak olursa dirençli kökenlerde 115 kbp'lik plazmidin ortak olması antibiyotik direncinin büyük ölçüde bu plazmidde kodlanmış olabileceğini düşündürür. Ancak plazmid kopya sayılarının düşük olması bunların tek tek elde ayrıştırılarak duyarlı bir bakteriye aktarılması yoluyla hangi plazmidin hangi direnci kodladığının incelenemesine engel olmuştur. Yine de 3,4 ve 6 no'lu kökenlerin tüm plazmidlerinin aktarılması duyarlı *E.coli*'de ampisilin, amikasin ve tetrasikline direncin ortaya çıkmasını sağlayabilmiştir ve bu üç kökende ortak olan plazmid 115 kbp'lik olmaktadır. Bu düşüncenin kanıtlanması restriksiyon endonükleazları ile plazmidlerin parçalanarak benzerliklerinin gösterilmesi yoluyla sağlanabilir.

Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yapan *K.pneumoniae* kökenleriyle gelişen salgınlar 1984'ten beri görülmektedir (19). *K.pneumoniae* en yaygın β -laktamaz üreten mikroorganizmadır. Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar esas olarak yoğun bakım servislerinde görülmektedir (20). Bu enzimlerin plazmid gibi mobil genetik elemanlar üzerinde kodlanması yayılmalarını kolaylaştırır. Ayrıca bu servislerde yoğun antibiyotik kullanımı direnci kodlayan genlerin seçilmesini sağlamaktadır. Bu genlerin yer aldığı plazmidler β -laktamlara dirençle birlikte genellikle aminoglikozidlere de direnç genlerini taşımaktadır (18). TÜHYS'de profilaktik veya ampirik olarak ampisilin+amikasin

Tablo 4. Üretilen *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinin Özellikleri

Köken No	Üretildiği yer	Plazmid Sayısı	Plazmidlerin büyüklüğü (kilo baz çifti)	3. kuşak sefalosporinlerle aztreonama duyarlılık sonuçları ve genişlemiş spektrumlu β -laktamaz varlığı								
				Z	C	C	C	C	CFP	A	GS	
				O	A	R	T	F	/	T	B	
				X	Z	O	X	P	SUL	M	L	
1	Küvöz iç duvarı	4	200, 115, 8, 2,6	H	H	O	D	O	H	H	+	
2	Olgu 1 HK ¹	2	200, 85	H	H	H	H	H	H	H	-	
3	Olgu 2 HK	3	115, 100, 5	H	H	D	D	D	H	H	+	
4	Olgu 3 HK	4	200, 115, 8, 2,6	H	H	O	O	D	H	H	+	
5	Olgu 4 HK	4	200, 115, 8, 2,6	H	H	D	D	O	H	H	+	
6	Olgu 5 HK	3	115, 90, 5	H	H	D	O	O	H	H	+	
7	Olgu 6 HK	4	200, 115, 8, 2,6	H	H	O	O	O	H	H	+	
8	Olgu 7 HK	4	200, 115, 8, 2,6	O	H	O	D	D	H	H	+	
9	Olgu 8 BK ²	4	200, 115, 8, 2,6	D	D	D	D	D	H	O	+	
10	Olgu 8 KL ³	4	200, 115, 8, 2,6	D	D	D	D	D	H	O	+	
11	Olgu 8 NGS ⁴	4	200, 115, 8, 2,6	D	H	D	D	D	H	O	+	
12	Olgu 9 BK	4	200, 115, 8, 2,6	H	H	O	O	D	H	H	+	
13	Olgu 10 BK	1	5.5	H	H	O	D	D	H	H	+	
14	Olgu 11 BK	4	200, 115, 8, 2,6	D	H	D	D	D	H	H	+	
15	Olgu 12 BK	4	200, 115, 8, 2,6	D	D	D	D	D	H	O	+	
16	Olgu 13 BK	4	200, 115, 8, 2,6	D	H	O	D	D	H	H	+	
17	Olgu 13 NGS	4	200, 115, 8, 2,6	D	D	D	D	D	H	O	+	

Kısaltmalar: 1: Kan kültürü, 2: Boğaz kültürü, 3: Kulak lezyonu, 4: Nazogastrik sonda
 ZO: Seltizoksım, CAZ: Seltazidim, CRO: Seltriakson, CTX: Seltotaksim, CFP: Seltoperazon, CFP/SUL: Seltoperazon/sulbaktam,
 ATM: Aztreonam, GS-BL: Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, H: Duyarlı, D: Dirençli, O: Orta duyarlı.

veya netilmisinin uygulanması bu serviste gentamisine duyarlı özel bir *K.pneumoniae* kökeninin kolonizasyonuna yol açmıştır. Epidemik *K.pneumoniae* kökeninin sefoperazon/sulbaktama duyarlı olması genişlemiş spektrumlu β -laktamazın büyük olasılıkla TEM kaynaklı olduğunu göstermektedir (21).

Bu çalışmada servis personelinde epidemik köken saptanmıştır. Bunun nedeni muhtemelen salgın nedeniyle personelin el yıkama uygulamasına daha dikkatle uyması olabilir. Ancak bir bebeği infekte ve diğer bebeği kolonize olan bir annenin ellerinde bu kökenin saptanması el taşıyıcılığının zincirin devamındaki önemini göstermektedir. Kuvözlerin infekte olması ise bakterinin yayılımını kolaylaştıran en önemli noktalardan biridir. Ancak salgının ilk kaynağını saptamak mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak bu salgın çeşitli faktörlerin bir araya gelmesi sonucu ortaya çıkmıştır: prematüritenin baskın olduğu bir yenidoğan servisi, barsak kolonizasyonunu kolaylaştıran bir antibiyotik politikası, hasta/personel oranının yüksekliği nedeniyle el yıkama uygulamalarının aksaması. Bu durumda direnç gelişiminin ve dirençli mikroorganizmalarla oluşan salgınların önlenmesi yalnızca hijyenik kuralların uygulanmasıyla değil, aynı zamanda uygun antibiyotik politikalarının yerleşmesiyle mümkün olacaktır.

Kaynaklar

1. Coovadia YM, Johnson AP, Bhana RH, Hutchinson GR, George RC, Hafferjee JE. Multiresistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal nursery: the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks. *J Hosp Infect* 1992; 22: 197-205
2. Morgan MEL, Hart CA, Cooke RWI. *Klebsiella* infection in a neonatal intensive care unit. Role of bacteriological surveillance. *J Hosp Infect* 1984; 5: 377-85
3. Bingen EH, Desjardins P, Arlet G, et al. Molecular epidemiology of plasmid spread among extended broad-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a pediatric hospital. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 179-84
4. Hart CA. *Klebsiellae* and neonates. *J Hosp Infect* 1993; 23: 83-6
5. Cookson B, Johnson AP, Azadian B, et al. International inter- and intrahospital patient spread of a multiple antibiotic-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *J Infect Dis* 1995; 171: 511-3
6. Nouvellon M, Pons JL, Sirot D, Combe ML, Lemeland JF. Clonal outbreaks of extended spectrum β -lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* demonstrated by antibiotic susceptibility testing, β -lactamase typing, and multilocus enzyme electrophoresis. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2625-7
7. Arlet G, Sanson-Le Pors MJ, Rouveau M, et al. Outbreak of nosocomial infections due to *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-4 beta lactamase. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 797-803
8. Farmer JJ III, Kelly MT. Enterobacteriaceae. In: Balows A, Hausler WJ Jr, Herrman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991: 360-83
9. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of β -lactam resistance among nonfastidious Gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin North Am* 1993; 7: 411-24
10. Vahaboğlu H, Mülazımoğlu L, Erdem İ, Yıldırım İ, Taşer B, Arkan V. Taksim Hastanesinde β -laktam antibiyotiklere karşı gelişen dirençin sürveyansı. *Klimik Derg* 1993; 6: 79-82
11. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; 1. 3-110
12. Goldmann AD. The bacterial flora of neonates in intensive care monitoring and manipulation. *J Hosp Infect* 1988; 11: 340-51
13. Fryklund B, Tullus K, Burman LG. Relation between nursing procedures, other local characteristics and transmission of enteric bacteria in neonatal wards. *J Hosp Infect* 1993; 23: 199-210
14. Burman LG, Haeggman S, Kuistila M, Tullus K, Huovinen P. Epidemiology of plasmid mediated beta-lactamases in enterobacteria in Swedish neonatal wards and relation to antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 989-92
15. Hawkey PM. Molecular methods for the investigation of bacterial cross-infection. *J Hosp Infect* 1987; 9: 211-8
16. Bingen E. Applications of molecular methods to epidemiologic investigations of nosocomial infections in a pediatric hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15: 488-93
17. Falkiner FR. Epidemiological typing a user's view. *J Hosp Infect* 1988; 11: 303-9
18. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 17-29
19. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorf-Neutzling RM, Wedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 302-7
20. Sirot J, Chanal C, Petit A, et al. *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae producing novel plasmid-mediated beta-lactamases markedly active against third-generation cephalosporins: epidemiologic studies. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 850-9
21. Jacoby GA, Carreras I. Activities of β -lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 858-62