

Yenidoğan Yoğun Bakım Biriminde *Klebsiella pneumoniae* Kolonizasyonunun Araştırılması

Nilüfer Benal Yücel¹, Mehmet Vural², Gökhan Aygün¹, Barbaros Ilıkkın², Mustafa Samastı¹, Sibel Altun¹, Yıldız Perk²

Özet: *Klebsiella pneumoniae* yenidoğan yoğun bakım birimlerinde (YYBB) sıkça salgınlar yapan bakteridir. Sahip olduğu direnç mekanizmaları sağaltımını oldukça güçleştirmektedir. Bu çalışmada YYBB'de takip ve tedavi edilen 53 yenidoğanın kolonizasyon durumu, infeksiyonlarla ilişkileri, biyotip ve direnç profilleri incelenmiştir. Çalışmamızda izlediğimiz 53 bebekten 48'i bu bakteri ile en azından bir defa kolonize olmuştur. Kolonizasyonun ortalama başlangıç süresinin 5.3 ± 3.2 gün olduğu ve kolonizasyonun günler içinde artarak devam ettiği saptanmıştır. Kolonizasyonun yoğun bakımda kalış süresi ve orogastrik sonda kullanımı ile paralellik gösterdiği saptanmıştır. *K. pneumoniae* ile 6 bebekte (%11.3) hastane infeksiyonu gelişmiştir. Tüm kökenlerin genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) oluşturduğu saptanmış, çift disk sinerji testi ile E-test® ESBL kitleri arasında GSBL saptamada farklılık bulunmamıştır. Kökenlerin %86.8'inin gentamisin, tobramisin, netilmisin ve amikasin aynı anda dirençli olduğu saptanmıştır. Direnç profilleri, biyotipler arasındaki yüksek benzerlik ve tüm kökenlerde GSBL yapımının olması, muhtemelen dirençli birkaç klonun servis içinde yayılmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Yenidoğan, *Klebsiella pneumoniae*, kolonizasyon, infeksiyon.

Summary: An investigation on colonization of *Klebsiella pneumoniae* in a newborn intensive care unit. *K. pneumoniae* is responsible of nosocomial infections in intensive care units (NICU). Treatment of such infections is difficult because of the resistance against antimicrobials. In this study the profiles of colonization, relationship with infections, biotypes and antimicrobial resistance are evaluated for 53 newborns who followed up and treated in a NICU. Colonization has been observed at least one time during the study for forty-eight babies out of fifty-three. The mean colonization beginning time is found to be 5.3 ± 3.2 days. This ratio is increased with follow-up days and usage of orogastric tubes in NICU. Nosocomial infection with *K. pneumoniae* is detected in six babies (11.3%). Production of extended-spectrum β -lactamases (ESBL) is observed in all strains and no difference is found between double disk synergy tests and E-test® (ESBL) method for detecting ESBL. The 86.6% of the strains found to be resistant to gentamicin, tobramycin, netilmicin and amikacin at the same time. As a conclusion some resistant bacteria can spread out within the NICU because of the *K. pneumoniae* strains produce of ESBL and there are high similarities and resistance profiles between biotypes.

Key Words: Newborn, *Klebsiella pneumoniae*, colonization, infection.

Giriş

Klebsiella cinsi bakteriler, cansız çevrede uzun süre barınabilmeleri ve antibiyotiklere yüksek seviyede direnç göstermeleriyle, hastane infeksiyonlarının önde gelen etkenleri arasında yer almaktadır (1,2). Hastane ortamlarında kolayca kolonize olan bu bakteriler özellikle yenidoğanlar, nötropenik hastalar, yaşlılar, kanser hastaları, yanıklı hastalar gibi savunma sistemleri zayıf kişilerde ciddi infeksiyonlara neden olurlar (3,4).

K. pneumoniae yenidoğan yoğun bakım birimlerinde (YYBB) en çok salgınlar yapan Gram-negatif çomaktır (3-8). YYBB'de bu bakteriyle kolonize olan yenidoğanlarda

zaten yetersiz olan doğal savunma sistemlerinin invazif girişimlerle zedelenmesi infeksiyonların gelişmesini kolaylaştırmaktadır (9-11).

Klebsiella türleri, bakterilerin ve özellikle Gram-negatif çomakların antibiyotiklere karşı yürüttüğü direnç savaşının öncüsü sayılmaktadır. *K. pneumoniae* direnç plazmidlerini barındırma ve diğer bakterilere aktarma açısından üstünlüğe sahiptir. Plazmidik özellikteki genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL), penisilinlere ve oksimino- β -laktamlara (sefotaksim, seftazidim, aztreonam) direnç gösterir (12-15). GSBL'ler hem kökenlerin kendileri ile, hem plazmidlerle, hem de transpozonlarla yayılmaktadır. Plazmidlerle yayılan GSBL'ler aynı zamanda aminoglikozidler, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazol gibi β -laktam dışı, farklı sınıflardan antimikrobiklere de direnç gelişimine neden olur (16).

Bu çalışmada *K. pneumoniae* infeksiyonlarına neden olan faktörlerin belirlenip değerlendirilmesi amacıyla Cerrahpaşa Tıp Fakültesi YYBB'de kolonizasyon durumu, in-

(1) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa-İstanbul

(2) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Cerrahpaşa-İstanbul

XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (30 Mart-3 Nisan 2003, İstanbul)'nde bildirilmiştir.

Tablo 1. Çalışma Grubunun Özellikleri

Cinsiyet (E/K)	26/27
Doğum yeri (Diğer/CTF)	19/34
Doğum şekli (NSD/Sezaryen)	17/36
Gestasyon yaşı±2SD (hafta)	32.3±4.2
Doğum ağırlığı±SD	1870±890
Prenatal komplikasyonlar	
annede infeksiyon	6/53
erken membran ruptürü	6/53
preeklampsi-eklampsi	6/53
diyabet	4/53
oligo ve polihidramniyos	4/53
placenta previa	1/53
koryoamniyonit	1/53
Neonatal komplikasyonlar	
respiratuar distress sendromu	29/53
prematürite	16/53
konjenital pnömoni	9/53
nekrozitan enterokolit	3/53
intraventriküler kanama	3/53
pnömotoraks	3/53
mekonyum aspirasyonu	3/53
yenidoğanın geçici takipnesi	2/53
İnvazif girişimler	
umbilikal kateter	47/53
orogastrik sonda	45/53
mekanik ventilasyon	30/53
toraks tüpü	3/53
periton diyalizi	1/53
Yoğun bakım biriminde yatış ± SD (gün)	21±15.0
Yenidoğan biriminde toplam yatış ± SD (gün)	23.6±20.7

CTF: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
NSD: Normal spontan doğum

feksiyonlarla ilişkileri, biyotip ve direnç profilleri araştırılmıştır. GSBL yapımının belirlenmesinde çift disk sinerji yöntemi ile E-test® ESBL (AB BIODISK Solna, Sweeden) CT/CTL, TZ/TZL kitleri karşılaştırılmıştır.

Yöntemler

Araştırma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yenidoğan Yoğun Bakım ve Özel Bakım Servislerinde 4 Nisan-31 Aralık 2001 tarihleri arasında yatan yenidoğan grubunda yapıldı. YYBB'ye kabul edilen 0-3 günlük 53 yenidoğan çalışma grubuna alındı. Serviste 4 günden az kalan olgular, sürveyans için yeterli süre olmadığı düşünülerek çalışma dışı bırakıldı. Kolonizasyon kültürleri doğum sonrası ilk 24 saat, 4. gün, 1. hafta ve yoğun bakımda kaldıkları süre boyunca haftada bir gün çalışıldı.

Kolonizasyonu saptamak için eküvyon ile burun, ağız, kasık, dışkı ve mekanik ventilasyon altındaki hastalardan endotrakeal aspirasyon (ETA) örnekleri incelendi.

Oral kavite kültürleri eküvyonun yanak mukozasında, damakta ve dil üzerinde hafifçe gezdirilmesiyle, koltuk altı ve burun sürüntüleri eküvyon steril serum fizyolojik solü-

Tablo 2. Kültür Örneklerinin Dağılımı

Alındığı Yer	Örnek Sayısı	<i>K.pneumoniae</i> Üreyenler (%)
Ağız	218	104 (47.7)
Dışkı	219	92 (42.0)
Burun	218	38 (17.4)
ETA	91	11 (12.0)
Endotrakeal kateter	55	6 (10.9)
Umbilikal kateter	56	4 (7.1)
Kasık	218	4
Hemokültür	128	1
Yara	1	1
İdrar	1	0
Periton sıvısı	1	1
Göz	4	2
Toplam	1210	264 (21.8)

Tablo 3. *K. pneumoniae* Kolonizasyonunun Günlere Göre Dağılımı

Günler	Kolonize Olan Bebek Sayısı	Oran (%)
0. gün	2/47	(4)
4. gün	14/53	(30)
7. gün	28/47	(53)
14. gün	20/35	(57)
21. gün	18/24	(75)
28. gün	12/14	(86)
35. gün	10/11	(91)

yonuna daldırıldıktan sonra kültür alınan bölgede dairesel hareketlerle gezdirilerek alındı; taşıyıcı besiyeri (Venturi Transystem, Copan) ile laboratuvara ulaştırıldı. Dışkı örnekleri Cary-Blair Transport Medium (Oxoid) ile laboratuvara taşındı. Örnekler %5 koyun kanlı Columbia agarı ve MacConkey agarına ekildi.

ETA örnekleri kolonizasyon kültürleri ile aynı günlerde ve hastada pnömoniden şüphelenildiği durumlarda alındı. Aspirasyon sıvıları steril tüplere alınıp laboratuvarında vortekslelendikten sonra semikantitatif yöntem ile çikolata agarına, azaltma yöntemi ile %5 koyun kanlı Columbia agarı ve MacConkey agarına ekildi (17,18). Kan örnekleri, BACTEC Peditplus 9247 (Becton Dickinson) şişelerine inoküle edildi. Klinik kriterlerle birlikte kan kültürlerinde üreme olması durumunda "sepsis" tanısı konuldu. Bunların dışında hastadan çıkarılan tüm endotrakeal ve umbilikal kateter örnekleri, beyin-omurilik sıvısı (BOS), idrar, lokal apse ve yara yeri, göz sürüntüsü örnekleri, klinikten gelen istekler doğrultusunda standartlara uygun olarak çalışıldı.

Klebsiella türlerinin hastalara yayılmasındaki kaynakları göstermek için 358 tıbbi ekipman ve çevre sürüntü örnekleri (kuvözler, respiratörler, bakım tepsileri, tedavi ekipmanları, mobilya ve aksesuarlar) ile yoğun bakım birimi çalışanlarının 30 el kültürü çalışıldı. Steril serum fizyolojik içine daldırılan eküvyonlar, çevre yüzeyleri üzerinde daire-

Tablo 4. *K. pneumoniae* Kökenlerinin Biyotip Dağılımı

Deneyle	Substratlar	Reaksiyon/Enzimler	Biyotip 1 n=202	Biyotip 2 n=19	Biyotip 3 n=15	Biyotip 4 n=14	Biyotip 5 n=14
CİT	Sitrat	Sitrat utilizasyonu	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
ADH	Arginin	Arginin dehidrolaz	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
LDC	Lizin	Lizin dekarboksilaz	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
ONPG	Orto-nitro- fenil- -D-galaktopirandaz	Beta-galaktozidaz	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
H ₂ S	Sodyum tiyosülfat	H ₂ S yapımı	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
İND	Triptofan	İndol yapımı	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
ÜRE	Üre	Üreaz	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
VP	Sodyum pirüvat	Asetoin yapımı	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
ESC	Eskülin	Eskülin hidrolizi	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
MAL	Malonat	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
GLU	Glukoz	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
SOR	Sorbitol	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
RHA	Ramnoz	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
SUK	Sukroz	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
ARA	Arabinoz	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
MAN	Mannitol	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
MEL	Melobiyoz	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
İNO	İnozitol	Fermentasyon	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
NO ₃ -NO ₂	NO ₂ yapımı	N ₂ gazı oluşması	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

sel hareketlerle döndürüldükten sonra taşıyıcı besiyeri (Venturi Transystem, Copan) ile laboratuvara ulaştırıldı. El kültürleri için, 50 ml %0.1 Tween 80'li 0.075 fosfat tampo- nu solüsyonu konulmuş steril idrar torbalarının ağızları kişi başında kesildikten sonra, kişinin eli bileğe kadar torba içi- ne sokulup, el parmakları ve el içi ovuşturularak örnek alınması sağlandı. Torbadaki sıvı, torbanın ağızı kapatılıp bir dakika çalkalandıktan sonra steril kapaklı tüplere aktarı- larak 15 saniye vortekslendi. Çevre örnekleri ve 50'şer ml hacminde el kültürü örnekleri kanlı agar, çikolata agarı ve MacConkey agarına ekildi.

Saf kültürü elde edilen Gram-negatif çomakların biyo- kimyasal özelliklerine dayanarak biyotiplendirmeleri yapıldı. Konvansiyonel yöntemlerle çalışılan tüm bakterilerin tür tanımı Sceptor System Enteric MIC/ID Panel (Becton Dic- kinson Microbiology Systems, Maryland, USA) ile doğru- landı.

Antibiyotik duyarlılık testleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine göre uygulandı (19). Duyarlılık testleri için ampisilin (AMP) 10 mg, amoksisilin-klavulanik asid (AMC) 20/10 mg, siprof- loksasin (CIP) 30 mg, amikasin (AK) 30 mg, gentamisin (CN) 30 mg, tobramisin (TOB) 10 mg, netilmisin (NET) 30 mg, sefepim (FEP) 30 mg, sefotaksim (CTX) 30 mg, sefta- zidim (CAZ) 30 mg, sefoperazon-sulbaktam (SCF) 75 mg sefoperazon ve imipenem (IMP) 10 mg, meropenem (MEM) 10 mg, aztreonam (ATM) 30 mg diskleri kullanıldı.

NCCLS önerilerince 30 µg CAZ zonunun ≤22 mm, 30 µg CTX zonunun ≤27mm, 30 µg ATM zonunun ≤27 mm ol- ması şüpheli GSBL yapımı olarak değerlendirildi ve çift disk sinerji testi ile GSBL yapımı araştırıldı. Bunun için AMC diskinin etrafına merkezden merkeze 2-3 cm olacak şekilde CAZ, CTX, ATM diskleri yerleştirildi. Bu üç an-

tibiyotik diskinin inhibisyon zonunun AMC'ye bakan yüzü- nün genişlemesi ya da bu disklerle AMC arasında inhibis- yon zonu olmaması, GSBL yapımı olarak değerlendirildi. Zon çaplarının diskler arasında sinerji belirlenemeyecek ka- dar dar olduğu durumlarda (≤15 mm) diskler arasındaki uzaklık 2 cm olacak şekilde test tekrarlandı (20,21).

Çift disk sinerji testi ile tespit edilen GSBL yapımı E-test® ESBL (AB BIODISK, Solna, Sweden) kitleri ile karşılaştırıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda E-test® ESBL TZ/TZL (seftazidim/seftazidim+klavulanik asid) ve CT/CTL (seftaksim/seftaksim+klavulanik asid) duyarlılık oranlarının ≥8 oluşu, yanı sıra fantom zon oluş- ması, elips yapısının bozulması GSBL pozitifliği olarak kabul edildi.

İstatiksel hesaplar, Statview II programı ile ², Student t, regresyon, multipl lojistik regresyon testleri kullanılarak yapıldı. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

YYBB'de çalışmaya dahil edilen 53 bebeğin 42'si doğ- dukları gün, bir bebek doğum ertesi birinci gün, iki bebek ikinci gün ve sekiz bebek üçüncü gün izlenmeye alınmıştır. Hasta grubuna ait özellikler Tablo 1'de görülmektedir.

Orogastrik sonda kullanılarak 45 bebek beslenmiştir. Bunların 42'si anne sütü, üçü mama ile beslenmiştir. Üç be- bek biberonla anne sütü almış, üç bebek ise sindirim yolu- la hiç beslenememiştir. Beslenme başlangıcı ortalama 3.1± 2.9 (1-18) gündür.

Çalışma süresince yenidoğan bebeklere ait toplam 1210 kültür örneği değerlendirilmiş, bunların 264'ünde *K. pne- umoniae* üretilmiştir (Tablo 2). Bu bakteri dört bebekte no- zokomiyal pnömoni, bir bebekte sepsis ve nozokomiyal

Tablo 5. *K. pneumoniae* Kökenlerinde Saptanan Direnç Profilleri

Direnç profilleri (%)	AMP	CAZ	CTX	NET	TOB	CN	AK	CIP	SCF	FEP	ATM	IPM
Direnç profili 1 (58.3)	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S
Direnç profili 2 (12.9)	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S
Direnç profili 3 (4.8)	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S
Direnç profil 4 (8.0)	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
Direnç profili 5 (9.6)	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Direnç profili 6 (2.4)	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S
Direnç profili 7 (2.4)	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S
Direnç profili 8 (1.6)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S

pnömoni, bir bebekte kateter giriş yeri infeksiyonu ve peritonit olmak üzere toplam 6 bebekte (%11.3) nozokomiyal infeksiyona yol açmıştır. Lojistik regresyon yöntemi ile yapılan istatistiksel analizlerde, beslenmeye geç başlanması, mekanik ventilasyon varlığı ve bunun süresi ile nozokomiyal infeksiyon riskinin arttığı saptanmıştır.

Çalışmamıza dahil olan 53 bebekten 48'inin en azından bir defa *K. pneumoniae* ile kolonize olduğu tespit edilmiş ve kolonizasyonun günler içinde arttığı saptanmıştır (Tablo 3). Kolonizasyon başlangıcı ortalama 5.3 ± 3.2 gün bulunmuştur. Normal spontan yolla doğma ve yoğun bakım biriminde kısa süreli kalış ile *K. pneumoniae* kolonizasyonu gelişmeden taburcu olma arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Düşük doğum ağırlığı, prematürite, antibiyotik kullanımı, invazif işlemlerin uygulanışı ile kolonizasyon gelişimi arasında istatistiksel ilişki kurulamamıştır.

K. pneumoniae kökenlerinin biyokimyasal karakterlerine göre beş biyotipinin olduğu saptanmıştır. Biyotip 1 %77, biyotip 2 %7, biyotip 3 %6, biyotip 4 ve 5 %5 oranında belirlenmiştir (Tablo 4).

Disk difüzyon yöntemiyle yapılan antibiyogramlara göre *K. pneumoniae* kökenlerinde sekiz adet direnç tipi görülmüştür (Tablo 5).

İzole ettiğimiz tüm kökenlerin AMP, CAZ ve ATM'ye direnç oldukları ve GSBL yaptıkları saptanmıştır. CAZ ve CTX'e aynı anda dirençli %39.3 oranında köken bulunmuştur. Çift disk sinerji yöntemi ile E-test® ESBL TZ/TZL ve CT/CTL stripleri arasında GSBL varlığını saptamada herhangi bir fark saptanmamıştır. Bu kökenlerin %86.8'i CN, TOB ve NET'e aynı anda direnç göstermiştir (direnç profili 1, 2, 8). CN, TOB, NET ve AK'ye aynı anda dirençli kökenlerin oranı oranı %8.1'dir (direnç profili 4,6). Sadece CN ve TOB'a dirençli kökenlerin oranı %4.9 (direnç profili 3), hiçbir aminoglikozide direnç saptanmayan köken oranı ise %9.8'dir (direnç profili 7).

Çevre örneklerinden ortak kullanılan 1 stetoskopta, ayrıca 2 hemşirenin elinde *K. pneumoniae* üretilmiştir. Stetoskoptan ve bir hemşireden izole ettiğimiz 2 köken direnç profil 2'ye, diğer köken direnç profil 5'e aittir.

Çalışmanın yapıldığı YYBB'de respiratuar distress sendromu, konjenital pnömoni gibi infeksiyon gelişme riski yüksek olan 23 bebekte AMP-NET kombinasyonu birinci basamak tedavi olarak kullanılmıştır. Dört hastada birinci basamak antibiyotik olarak CTX seçilmiştir. Bu hastalar diğer merkezlerden sevk edilen ve tedavilerine servise kabul edildikleri sırada başlanmış olan olgulardır. AK-SCF kombinasyonu ikinci basamak tedavisi olarak nozokomiyal

pnömoni, sepsis ya da indüklenebilir -laktamaz klinik sepsis tanısı konulmuş 12 hastada kullanılmıştır. Ancak GSBL ya da indüklenebilir -laktamaz (İBL) yapan bakterilerle infeksiyon olduğu kanıtlandığında iki hastada IPM tedavisine geçilmiştir. Ayrıca bir bebekte flukonazol tedavisi gerekmiştir.

İrdeleme

Yenidoğan ve özellikle prematüre bebekler, immün sistem matürasyonlarının tam olmayışına bağlı olarak infeksiyonlara daha duyarlıdır. YYBB'de bakım ve tedavilerdeki gelişmelere bağlı olarak, çok düşük doğum ağırlıklı bebekler ve ağır hasta bebekler yaşam şansına kavuşmuştur. Ancak hastanede kalış sürelerinin uzaması, invazif girişimlerin çoğalmasa gibi nedenlerle infeksiyona maruz kalma riskleri artmıştır. YYBB'de bakılan bebeklerde antibiyotik tedavileri, anneyle sınırlı iletişim, beslenmenin gecikmesi gibi nedenlerle normal flora gelişimi de gecikmekte, bunun yerini yoğun bakım servisinin dirençli bakterileri almaktadır. Her YYBB kendine özgü bir endemik floraya sahiptir. Bu florayla kolonize bebekler ve sağlık çalışanları daha sonra gelenlere kaynaklık ederler (22).

YYBB'de *Klebsiella* kökenleri ile gelişen salgınlar oldukça sık görülmektedir (3-8). Bu salgınların tanımlanmasında moleküler yöntemlerin kullanımı giderek çoğalmaktadır. Otkun ve arkadaşları (7), bir ay içerisinde görülen yedi septisemi olgusunun aynı klonla yayılan *K. pneumoniae* kökenleri ile oluştuğunu saptamıştır.

Venezia ve arkadaşları (23), 1995 yılında *K. oxytoca* ile kolonize olan 63 bebeğin 48'inde CAZ'e dirençli aynı klonun yayıldığını saptamış ve GSBL direncinin SHV-5 geniyile yayıldığını belirlemişlerdir.

Çalışmamız sırasında herhangi bir salgın verisi olmadığı halde 53 bebeğin 48'inin *K. pneumoniae* ile kolonize bulunması oldukça dikkat çekicidir. YYBB'de yapılan çalışmalarda dirençli Gram-negatif çomaklarla gelişen kolonizasyonların ağır hastalığı olan, prematüre ve antibiyotik tedavisi alan bebeklerde daha yüksek oranda olduğu bildirilmektedir (24,25). Bertholot ve arkadaşları (4), *K. oxytoca* salgını sebebiyle yaptıkları bir kolonizasyon çalışmasında, tüm bebeklerin çoğul dirençli Gram-negatif çomaklarla kolonize olduklarını saptamışlar, kolonize olmak ya da olmamakla ilgili istatistiksel veri elde edemediklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda yoğun bakımda yalnızca kısa süre kalan 5 bebeğin kültür örneklerinden *K. pneumoniae* üretilmemiştir. Ortalama kolonizasyon gününün 5.3 ± 3.2 olması yoğun bakımda kalış süresinin kolonizasyonu belir-

lemede en önemli faktör olduğunu ortaya koymaktadır. Gram-negatif çomakların orogastrik sonda, endotrakeal tüp gibi kaygan yüzeylerde glikokaliks tabakası oluşturarak yerleşmeleri ve bu tabaka nedeniyle antibiyotiklerden etkilenmemeleri, kolonizasyonlarını kolaylaştırmaktadır (17). Çalışmamıza dahil olan bebeklerde ortalama beslenmeye başlama gününün 3.1 ± 2.9 ve ortalama kolonizasyon gününün 5.3 ± 3.2 olması, bu bebeklerin %88.6'sının orogastrik sonda ile beslenmeleri orogastrik sonda kullanımıyla kolonizasyon ilişkisini ortaya koymaktadır. Buna karşılık neredeyse tüm bebeklerde *K. pneumoniae* kolonizasyonu geliştiği halde, ancak ağır hastalığı olan ve bu sebeple yoğun bakım biriminde uzun süre kalarak invazif girişimlere maruz kalan bebeklerde infeksiyon gelişmiştir.

Çalışmamız sırasında çevre ve el kültürü örneklerinden saptadığımız *K. pneumoniae* türlerinin direnç profillerinin kolonize olan kökenlerle benzerlik göstermesi çapraz kolonizasyonların bu birimde önemli olduğunu düşündürmektedir.

Çalıştığımız birimde hiçbir bebeğin tedavisinde seftazidim kullanılmadığı halde tüm *K. pneumoniae* kökenleri, ampicilin, seftazidim ve aztreonama dirençli olup, tümü GSBL oluşturmuştur. Literatürü taradığımızda bizim verilerimizde olduğu gibi %100 oranında GSBL yapımına rastlanmamıştır. Kökenler arasında saptadığımız biyotip ve direnç benzerliği, olasılıkla bir ya da iki klonun, hastadan hastaya yayılım sonucu çalıştığımız birimin florası haline geldiklerini düşündürmektedir. Ancak moleküler biyolojik çalışmalarla bu verilerin doğrulanması gerekmektedir. Bu tür araştırmalarda kökenlerin klonal özelliklerini tanımlamakta son derece yararlı olan "pulsed field gel electrophoresis" yöntemine, kurumumuzda uygulanmadığından ve yüksek maliyetinden dolayı başvurulamamıştır.

Çoğu kez TEM ve SHV enzimlerinin mutasyonu sonucu oluşan GSBL enzimleri türedikleri enzimlerin etkilemediği seftazidim, seftotaksim, seftriakson, gibi antibiyotiklere farklı düzeyde direnç oluştururlar. Ancak TEM-7, TEM-10, TEM-26 gibi bazı enzim tiplerini salgılayan kökenler üçüncü kuşak sefalosporinlere in vitro duyarlı olarak bulunabilirler (15). Çeşitli merkezlerden edinilen seftazidime dirençli *K. pneumoniae* kökenleriyle 1999 yılında yapılan bir çalışmada, Türkiye'de bu türün GSBL yapımından SHV-5 enzimlerinin sorumlu olduğu tespit edilmiştir (26). Bizim kökenlerimizde GSBL yapımından SHV-5 enziminin sorumlu olması, %39.3 oranında seftotaksime direnç gösteren kökenlerin ise TEM-26 enzimini içermeleri olasıdır.

Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda hastane infeksiyonu etkeni olan *K. pneumoniae* kökenlerinde %61-89 arasında GSBL pozitifliği belirlenmiştir (7,12,20,27).

Aminoglikozidlere direnç geliştiren enzimlerin ilaç spesifikitesi değişkendir ve bakteriler birçok aminoglikozid modifiye edici enzim oluşturabilirler. Bu enzimler birden fazla aminoglikozidi inaktive edebilmektedir (14). Över ve arkadaşları (28), ülkemizde *K. pneumoniae* kökenlerinde en sık görülen aminoglikozid direnç profilinin gentamisin, tobramisin, netilmisin ve amikasin aynı anda direnç olduğunu, gentamisin, tobramisin, netilmisine aynı anda dirençli kökenlere ise %4 oranında rastlandığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda %86.8 oranında gentamisin, tobrami-

sin ve netilmisine dirençli kökenlerin görülmesi ampicilin+netilmisin kombinasyonunun çok sık kullanılmasına, amikasin direncinin az görülmesinin ise amikasin+sefoperazon-sulbaktam kombinasyonunun çok sınırlı kullanılmasına bağlanabilir.

Kökenlerimizde diğer çalışmalarla direnç profilleri açısından görülen farklılıklar, bizim tek bir birimde çalışmış olmamıza ve kökenlerimizin aynı klonla ait olmasına bağlanabilir. Çalıştığımız birimde antibiyotik kullanımına gösterilen özene rağmen ampicilin netilmisinin profilaktik olarak sık uygulanması, muhtemelen direnç mekanizmalarının seçilmesine yol açmıştır.

Son yıllarda infeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen antibakteriyel ajanların sayısında görülen hızlı artışa paralel olarak bakterilerde çeşitli yollarla direnç mekanizmalarını çoğaltmaktadır. Bu sebeple infeksiyon sebebi olan bakterilerin duyarlılığının belirlenmesi ve antibiyotik seçimlerinin duyarlılık paternine uygun olarak yapılması gerekmektedir. YYBB'de bakılan bebeklerin infeksiyonlara karşı savunmasız konumları hızla ampirik antibiyotik tedavisine başlanmasını zorunlu kıldığı için yoğun bakım biriminin florasının belirlenmesi ampirik antibiyotik protokolünün seçimi için gereklidir. Ancak tedavi rejimleri vazgeçilmez olmamalı, kültür sonuçlarına göre tedavide gerekli değişiklikler yapılmalıdır. Belli bir antibakteriyel tedavi protokolünün sürekli uygulanması, direnç mekanizmalarının seçilmesine yol açabilmektedir.

Bu denli yoğun *K. pneumoniae* kolonizasyonunun eradikasyonunun nasıl sağlanacağı önemli bir sorundur. *Klebsiella* salgınlarının kontrolünde el temizliğinin, eldiven kullanımının, dezenfeksiyon ve strelizasyon işlemlerinin titizlikle uygulanmasıyla başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (3,4,29). Royle ve arkadaşları (30), el yıkamanın sıklaştırılması ve geç sepsislerde antibiyotik tedavisinin imipenem ve vankomisine değiştirilmesiyle, van der Zwet ve arkadaşları (9) ise gentamisin kullanımını amikasinine değiştirerek *K. pneumoniae* salgınının kısa sürede önüne geçebildiklerini bildirmişlerdir (9). Macrae ve arkadaşları (1), YYBB'yi kapatmadan *K. pneumoniae* salgınını sonlandıramamışlardır.

Çalışmamızın sonuçları yoğun bakım birimi personeline sunulmuş, el yıkama önlemlerinin artırılması, her hasta için eldiven kullanılması ve eldiven çıkarıldıktan sonra el yıkanması gibi önlemler önerilmiştir. Ancak 2002 Mayıs ayında Üniversitemizde yaşanan ödenek sıkıntısı ve personel yetersizliği nedeniyle YYBB yedi ay kadar kapatılmış, Ocak 2002'den itibaren yaptığımız taramalarda bu bakterinin kolonizasyonu saptanmamıştır.

Kaynaklar

1. Macrae MB, Shannon KP, Rayner DM, et al. A simultaneous outbreak on a neonatal unit of two strains of multiply antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* controllable by ward closure. *J Hosp Infect* 2001;49:183-192.
2. Gür D. Gram-negatif bakterilerde yeni genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar. In: Eraksoy H, Yenen OŞ, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji 2000*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2000:265-70
3. Baran M, Soysal HF, Alver A, Dündar V. Yenidoğan ünitesinde *Klebsiella pneumoniae* sepsisi epidemisi. *Klimik Derg* 1994; 7:60-1
4. Jarvis WR, Munn VP, Highsmith AK, et al. The epidemiology of

- nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control* 1985;6:68-74
5. Berthelot P, Grattard F, Patural H, *et al.* Nosocomial colonization of premature babies with *Klebsiella oxytoca*: probable role of enteral feeding procedure in transmission and control of the outbreak with the use of gloves. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22:148-151
 6. Hoşoğlu S, Ayaz C, Devicioğlu C, *et al.* Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde çoklu dirençli *Klebsiella pneumoniae* salgını. *Mikrobiyol Bül* 1997;31:127-33
 7. Otkun M, Akata F, Karasalihoğlu S, *et al.* Yenidoğan servisinde genişlemiş spektrumlu β -laktamaz yapan ve gentamisin dışı aminoglikozidlere dirençli *Klebsiella pneumoniae* salgını. *Klimik Derg* 1995; 8:77-81
 8. Reiss I, Borkhardt A, Fussle R, *et al.* Disinfectant contaminated with *Klebsiella oxytoca* as a source of sepsis in babies. *Lancet* 2000; 356:310
 9. van der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PHM, *et al.* Nosocomial outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit controlled by a change in antibiotic policy. *J Hosp Infect* 1999; 42:295-302
 10. Harris JS, Goldmann DA. *In: Remington JS, Klein JO, eds. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000:1371-418
 11. Moore DL. Nosocomial infections in newborn nurseries and neonatal intensive care units. *In: Mayhall CG, eds. Hospital Epidemiology and Infection Control.* 2nd ed. Philadelphia: Lippincott William&Wilkins, 1990
 12. Akyıldız R, Özsoy MF, Altunay H, *et al.* *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz sıklığı ve β -laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *Klimik Derg* 1998; 11:53-8
 13. Küçüker MA, Topal A, Törümküney D, *et al.* Prematüre yenidoğanlardan alınan klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının özellikleri. *İnfeksi Derg* 1999;13:549-54
 14. Tanır G, Göl N. Antibiyotik direnci. *Klimik Derg* 1999; 12:47-54
 15. Vahaboğlu H. β -laktamazlar ve hastane infeksiyonları açısından önemi. *Hastane İnfeksi Derg* 1999; 3:222-4
 16. Bal Ç. Çoğul dirençli Gram negatif çomaklar. *Aktüel Tıp Derg* 2002; 7:9-12
 17. Cordero L, Sananes M, Ayers LW. Failure of systemic antibiotics to eradicate gram-negative bacilli from the airway of mechanically ventilated very low-birth-weight infants. *Am J Infect Control* 2000; 28:286-90
 18. Hentschel J, de Veer I, Gastmeier P, Rüden H, Obladen M. Neonatal nosocomial infection surveillance: incidences by site and a cluster of necrotizing enterocolitis. *Infection* 1999;27:234-8
 19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically.* 4th ed. Approved standard M7-A4. Wayne, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000
 20. Bal Ç. *-Laktamaz Testleri ve Rutinde Kullanımları.* İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No. 33, 1998
 21. Kocazeybek BS. Antimicrobial resistance surveillance of Gram-negative bacteria isolated from intensive care units of four different hospitals in Turkey. *Chemotherapy* 2001; 47:396-408
 22. Goldman DA. Prevention and management of neonatal infections. *Infect Dis Clin North Am* 1989; 3:779-813
 23. Venezia RA, Scarano FJ, Preston KE, *et al.* Molecular epidemiology of an SHV-5 extended-spectrum β -lactamase in Enterobacteriaceae isolated from infants in a neonatal intensive care unit. *Clin Infect Dis* 1995; 21:915-23
 24. Almuneef MA, Baltimore RS, Farrel PA, Reagen-Cirincione P, Demby LM. Molecular typing demonstrating transmission of Gram-negative rods in a neonatal intensive care unit in the absence of a recognized epidemic. *Clin Infect Dis* 2001; 32:220-7
 25. Toltzis P, Dul MJ, Hoyen C, *et al.* Molecular epidemiology of antibiotic resistant Gram-negative bacilli in a neonatal intensive care unit during a nonoutbreak period. *Pediatrics* 2001; 114:3-8
 26. Coşkun FK. *Seftazidime Dirençli Nozokomiyal Klebsiella pneumoniae İzolatlarının β -Laktam Direnç Mekanizması.* Uzmanlık Tezi. Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1999
 27. Gür D, Pitt TL, Hall LM, Akalın HE, Livermore DM. Diversity of *Klebsiellae* with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect* 1992; 2:63
 28. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH. Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları: son gelişmeler ve Türkiye sonuçları. *Flora* 2000; 5:168-78
 29. Jeong SH, Kim WM, Chang CL, Kim JM, *et al.* Neonatal intensive care unit outbreak caused by a strain of *K. oxytoca* resistant to aztreonam due to overproduction of chromosomal β -lactamase. *J Hosp Infect* 2001;48:281-288.
 30. Royle J, Halasz S, Eagles G, *et al.* Outbreak of extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit. *Arch Dis Child* 1999; 80:64-8