

KISA BİLDİRİ:
KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ
VARLIĞI VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI*

SHORT COMMUNICATION:
 EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCTION IN *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE STRAINS ISOLATED FROM BLOOD CULTURES AND
 THEIR ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES

Ferhat IŞIK¹, Uğur ARSLAN¹, İnci TUNCER¹

ÖZET: Bu çalışmada, hastanede yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sıklığının tespiti ve izolatların antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya çeşitli kliniklerde yatan hastalara ait kan kültürü örneklerinden izole edilen 102 *K.pneumoniae* suşu dahil edilmiş, izolatlarda GSBL varlığı ve antibiyotiklere [amikasin, gentamisin, imipenem, siprofloksasin, amoksisilin/klavulonat (AMX/CA), seftazidim, seftriakson, trimetoprim/sülfametoksazol (TMP-SMX), piperasilin/tazobaktam (PIP/TAZ), kloramfenikol] karşı direnç E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmamızda suşların 65'inin (%63.7) GSBL ürettiği tespit edilmiş, tüm suşlar imipeneme duyarlı bulunmuştur. GSBL pozitif suşlarda amikasine %27.7, kloramfenikole %41.5, TMP-SMX'e %49.2, siprofloksasine %55.4 ve PIP/TAZ'a %60 oranında direnç saptanırken; GSBL negatif suşlar için bu oranlar sırasıyla %2.7, %5.4, %5.4, %2.7 ve %13.5 olarak belirlenmiştir. İmipenem dışındaki antimikrobiyal ajanlara karşı, GSBL üreten izolatların direnç oranları ve MİK değerleri (MİK₅₀ ve MİK₉₀), GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Sonuç olarak çalışmamızda, diğer yurtiçi ve yurtdışı yayınlarda rapor edilen oranlara paralel olarak, GSBL üreten *K.pneumoniae* izolatlarının yüksek oranda bulunması ve bu suşların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranlarının da yüksek olması, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL saptama testlerinin yapılmasını ve her hastanenin kendi verilerini değerlendirerek antibiyotik protokollerini belirlemesini gerektirmektedir.

Anahtar sözcükler: *Klebsiella pneumoniae*, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, antimikrobiyal duyarlılık.

ABSTRACT: This study was carried out to detect the extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from blood cultures of hospitalized patients, and to determine their antimicrobial susceptibilities. A total of 102 *K.pneumoniae* strains isolated from blood samples were taken in the

*Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenen (BAP Proje No: 06102014) proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

¹ Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya. (incituncer@yahoo.com)

study, and ESBL production and susceptibilities to amikacin, gentamicin, imipenem, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulonate (AMX/CA), ceftazidime, ceftriaxone, trimethoprim/sulphamethoxazole (TMP-SMX), piperacilin-tazobactam (PIP/TAZ) and chloramphenicol were investigated by using E-test (AB Biodisk, Sweden). ESBL positivity was observed in 65 (63.7%) of the isolates, and all of the strains were found susceptible to imipenem. The resistance rates of ESBL-producing isolates were detected as 27.7% for amikacin, 41.5% for chloramphenicol, 49.2% for TMP-SMX, 55.4% for ciprofloxacin and 60% for PIP/TAZ; whereas these rates for ESBL non-producers were 2.7%, 5.4%, 5.4%, 2.7%, and 13.5%, respectively. Both the resistance rates and MIC values (MIC₅₀ and MIC₉₀) of the tested antimicrobial agents except imipenem, were found higher in ESBL positive strains than the ESBL negative strains (p<0.05). The results of this study, in accordance with the previous national and international reports, indicated high rate of ESBL positive *K.pneumoniae* and also increased rate of antimicrobial resistance in such strains. Clinical microbiology laboratories should put ESBL detection tests into practice and each hospital should determine their antibiotic treatment policies according to their data.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, extended spectrum beta-lactamase, antimicrobial susceptibility.

GİRİŞ

Günümüzde, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır¹. *Enterobacteriaceae* ailesi içinde GSBL varlığı en fazla *Klebsiella* türlerinde saptanmakta olup, GSBL pozitif suşlar sıklıkla çoklu direnç göstermektedirler²⁻⁴. GSBL üreten suşlarla oluşan yaygın enfeksiyonlarda, karbapenemler dışında kullanılan antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini sürdüremediği veya bakterisidal etkilerinin olmadığı ifade edilmektedir⁵. Dolayısıyla klinik izolatlarda GSBL varlığının saptanması ve antibiyotik direnç paternlerinin izlenmesi, bu suşlarla oluşan hastane ve toplum kökenli enfeksiyonların önlenmesi için uygun antibiyotik tedavi rejimini yönlendirmede büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL varlığının ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Nisan 2005-Ekim 2006 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, çeşitli servislerde yatan (%22'si Reanimasyon ünitesi, %21'i Pediatri, %11'i Dahiliye, %10'u Nöroloji, %10'u Üroloji, %7'si Göğüs Hastalıkları, %19'u diğer) hastaların kan kültürlerinden izole edilen 102 *K.pneumoniae* suşu dahil edildi. Kan kültürleri, otomatize sistem ile (Aerobik BacT/ALERT, bioMerieux, Fransa) takip edildi ve izolatlar API ID 32E (BioMerieux, Fransa) panelleri ile tür düzeyinde tanımlandı. Bir hastadan ikinci kez aynı bakteri üretildiği durumda sadece biri çalışmaya alındı. Suşlarının antibiyotik duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile araştırıldı. GSBL varlığının tespiti için, ticari olarak hazırlanmış olan tek stripin bir tarafında sefotaksim diğer tarafında sefotaksim-klavulanik asit (CT/CTL)

emdirilmiş E-test şeritleri kullanıldı. Sefotaksim MİK değerinin, sefotaksim/klavulanik asit MİK değerinden en az 8 kat fazla olması GSBL pozitif, aksi ise GSBL negatif kabul edildi⁴. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde, “Statistical Package for Social Sciences version 13.0” (SPSS) bilgisayar programında ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmada, *K.pneumoniae* izolatlarının %63.7’sinin (65/102) GSBL ürettiği saptanmıştır. GSBL pozitif suşların en fazla Üroloji (9/10; %90), Reanimasyon (18/23; %78), Dahiliye (Göğüs Hast., Enfeksiyon Hast., Kardiyoloji) (13/22; %59) ve Pediatri (11/21; %52) servislerinde yatan hastalara ait kan kültürlerinden izole edildiği belirlenmiştir. İzolatların MİK değerleri ve antibiyotik direnç oranları Tablo I’de verilmiştir. İmipenem dışındaki antibiyotiklere karşı direnç oranları ile MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri, GSBL üreten izolatlarda üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05). GSBL pozitif ve negatif suşlarda sadece AMX/CA MİK₉₀ değerleri birbirine benzerdir.

Tablo I. *K. pneumoniae* İzolatlarının MİK (µg/mL) Değerleri ve Antibiyotik Direnç Oranları

Antibiyotikler	GSBL Pozitif (n: 65)			GSBL Negatif (n: 37)			Tüm Suşlar(n: 102)		
	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Direnç %	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Direnç %	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Direnç %
Amikasin	12	48	27.7	1.5	2	2.7	3	24	18.6
Gentamisin	64	>256	73.9	0.5	0.75	0	1	>256	47
İmipenem	0.19	0.94	0	0.19	0.25	0	0.19	0.38	0
Siprofloksasin	>32	>32	55.4	0.016	0.032	2.7	0.19	>32	36.3
AMX/CA	16	32	70.8	2	32	32.4	12	32	56.9
Seftazidim	96	>256	93.9	0.125	0.38	0	48	>256	59.8
Seftriakson	>256	>256	89.2	0.047	0.25	0	32	>256	56.9
TMP-SMX	2	>32	49.2	0.064	0.094	5.4	0.25	>32	33.3
PIP/TAZ	32	>256	60	0.064	32	13.5	12	>256	43.1
Kloramfenikol	4	>256	41.5	2	3	5.4	3	>256	28.4

AMX/CA: Amoksisilin/klavulonat; TMP-SMX: Trimetoprim/sülfametoksazol; PIP/TAZ: piperasilin/tazobaktam.

TARTIŞMA

Klebsiella türlerinde GSBL üretimi, penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı en önemli direnç mekanizmalarından biridir^{5,6}. Yoğun beta-laktam antibiyotik kullanımı, invazif girişimler, kateterizasyon, geniş yanıklar ve büyük cerrahi müdahaleler, GSBL pozitif suşlar ile gelişen bakteriyemi ve sepsis olguları için başlıca risk faktörleridir⁷. Nozokomiyal enfeksiyonlarda GSBL üreten *Klebsiella* spp. oranı yıllara, ülkelere, bölgelere ve hastanelere göre farklılık göstermekte ve %28-70 arasında değişen geniş bir aralıkta saptanabilmektedir⁸⁻¹¹. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığının %40-90 arasında değiştiği ifade edilmektedir^{3,6,12-17}. Çalışmamızda, yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında saptanan

%63.7'lik GSBL pozitiflik oranı, ülkemiz verileri ile uyumludur. GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarının yaklaşık %77'si dahili servislerde, %33'ü ise cerrahi bölümlerde yatan hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Oranlar arasındaki bu farkın, kliniklerdeki hasta profili, uygulanan geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ve süresi, kateterizasyon uygulaması ve süresi ve hastane personeli ile hasta ilişkisi gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu bakteriyemi veya sepsis olgularında karbapenemler dışındaki etkin antibiyotiklerle yapılan tedavilere rağmen mortalite oranı yüksek seyretmektedir¹¹. Yoğun bakım ünitelerinde saptanan GSBL pozitif *Klebsiella* suşlarının, dört yıllık süre içinde kinolon, aminoglikozid ve piperasilin/tazobaktam (PIP/TAZ) direnç oranlarında en az iki kat artış olduğu, karbapenem MİK değerlerinin ise üst sınır düzeylerine ulaştığı bildirilmektedir¹⁸. GSBL üreten *Klebsiella* suşlarında PIP/TAZ kombinasyonunun etkinliği ile ilgili çok değişken sonuçlar alınabilmektedir^{19,20}. Bu durum, GSBL üreten suşların neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılabilecek antibiyotiklerin etkinliğinde hızlı bir erozyon olduğunu düşündürmektedir.

Babini ve Livermore¹⁸ *Klebsiella* türlerinde MİK yöntemiyle yaptıkları duyarlılık testlerinde amikasin %61, gentamisin %72 ve PIP/TAZ'a %63 oranında direnç belirlemişler ve GSBL üreten suşlarda direncin, üretmeyenlere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Mumcuoğlu ve arkadaşları²¹ da, tespit ettikleri GSBL pozitif suşların antibiyotiklere karşı dirençlerinin, negatiflere göre daha yüksek oranda olduğunu belirlemişler ve GSBL pozitif suşlara en etkili antibiyotikler olarak amikasin, imipenem ve siprofloksasini bulmuşlardır. Yavuzdemir ve arkadaşları⁸ ise izole ettikleri 50 GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşunun direnç oranlarını disk difüzyon yöntemiyle incelemişler ve en düşük direnç oranlarını siprofloksasin (%28), piperasilin/tazobaktam (%28) ve meropenem (%6) için tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, GSBL üreten suşlarda en yüksek direnç seftazidim (%93.9) ve seftriaksona (%89.2) karşı bulunmuş; bu suşlara karşı en etkili antibiyotik imipenem (%100) olurken, bunu amikasin (%81.4) ve kloramfenikol (%71.6) izlemiştir. GSBL negatif suşlarda ise en yüksek direnç amoksisilin/klavulonat (AMX/CA) için bulunurken (%32.4), imipenem, gentamisin, seftriaksona ve seftazidime direnç görülmemiştir. GSBL üreten izolatlarda, imipenem dışındaki antibiyotiklere direnç oranları ile MİK₉₀ değerleri, üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p<0.05) (Tablo II). Çalışmamızda ayrıca AMX/CA için MİK₉₀ değerinin, GSBL pozitif ve negatif suşlarda aynı (32 µg/ml) olduğu belirlenmiştir. Yakupoğulları ve arkadaşlarının²² çalışmasında ise bu değer daha yüksek (>256 µg/ml) bulunmuştur. GSBL üreten suşlarda siprofloksasine karşı saptadığımız %55.4'lük direnç oranının, ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan yüksek olduğu görülmüş ve bu durumun hastanemizde kinolonların aşırı kullanımından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, nozokomiyal *K.pneumoniae* suşlarının GSBL üretimleri ve antibiyotik duyarlılıklarının düzenli olarak izlenmesinin, dirençli suşların yayılımının önlenmesinde, hastane enfeksiyonlarının kontrolünde ve uygun antibiyotik protokollerinin belirlenmesinde büyük önem taşıdığı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora Derg* 2001; 6: 3-9.
2. Tekerekoğlu MS, Ayan M, Otlı B, Taştekin N, Ağel HE, Durmaz B, Özerol İH. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. *Mikrobiyol Bül* 2001; 35: 225-30.
3. Gültekin M, Öğünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamikoğlu L. Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu β-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 1999; 13: 515-20.
4. Gür D. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Çeviri). Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları. 15. Bilgi Eki. M100-S14, S15, 2006. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
5. Gür D. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, s: 70-88. Ulusoy S (ed), Beta-laktamazlar ve Klinik Önemi. 2005. Bilimsel Tıp Yayınevi, İzmir.
6. Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Güriz H. Hastane kökenli ESBL yapan 50 *Klebsiella pneumoniae* suşunun bazı antibiyotiklere direnç oranları ve ESBL belirlenmesinde diskler arası mesafenin önemi. *Flora Derg* 2001; 6: 196-200.
7. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162-8.
8. Pai H, Lyu S, Lee HJ, et al. Survey of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1758-63.
9. Shehabi AA, Mahafzah A, Baadran I, Qadar FA, Dajani N. High incidence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to extended-spectrum beta-lactam drugs in intensive care units. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36: 53-6.
10. Du B, Long Y, Liu H, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1718-23.
11. Kim YK, Pai H, Lee HJ et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1481-91.
12. Abacıoğlu YH, Aslani MM, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Resistotyping and plasmid profile analysis of multiple resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak. *İnfeksiyon Derg* 1993; 9: 63-8.
13. Gür D. Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ajanlara çoğul dirençli gram-negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyonları Derg* 2000; 4: 218-25.
14. Kaçmaz B, Çakır ÖF, Aksoy A. Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması. *Ankem Derg* 2005; 19: 125-9.
15. Küçükateş E. Antimicrobial resistance among gram-negative bacteria isolated from intensive care units in a cardiology institute in İstanbul, Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 228-31.
16. Işık F, Arslan U, Tuncer İ. Klinik örneklerden soyutlanan *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığı ve antibiyotiklere duyarlılıkları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 12-16 Eylül 2006, Belek, Antalya. Kongre Kitabı, s:439, P140.
17. Yetkin G, Çalışkan A, Özen M. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Klebsiella* suşlarının sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37: 128-30.
18. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 183-9.

19. Lee J, Pai H, Kim YK et al. Control of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a children's hospital by changing antimicrobial agent usage policy. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 629-37.
20. Gioia SB, Yuan M, Hall LMC. Variable susceptibility to piperacillin/tazobactam amongst *Klebsiella* spp. with extended-spectrum beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 605-12.
21. Mumcuoğlu İ, Gündüz T, Baydur H. *Escherichia*, *Klebsiella* ve *Proteus* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu. Ankem Derg 2004; 18: 9-11.
22. Yakupoğulları Y, Aşçıtoraman Z, Kızırgil A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten kan izolatu *Klebsiella* suşlarına karşı beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerin in-vitro etkinliği. Ankem Derg 2004; 18: 109-12.