

# Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında CTX-M Tipi Beta-Laktamaz Sıklığı ve Antibiyotik Ko-rezistansı

## CTX-M Type Beta-Lactamase Frequency and Antibiotic Co-resistance in Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains

Dr. Hasan NAZİK,<sup>a</sup>  
Dr. Betiğül ÖNGEN,<sup>a</sup>  
Aysel SARIKAYA,<sup>a</sup>  
Dr. Nuray KUVAT,<sup>a</sup>  
Mehmet İLKTAÇ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD,  
İstanbul Üniversitesi  
İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 03.06.2010  
Kabul Tarihi/Accepted: 17.12.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. Hasan NAZİK  
İstanbul Üniversitesi  
İstanbul Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD,  
İstanbul,  
TÜRKİYE/TURKEY  
hasannazik01@gmail.com

**ÖZET Amaç:** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* infeksiyonları, tedavide kullanılan antibiyotiklerin seçiminde zorluklara neden olmaktadır. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilen ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *K. pneumoniae* suşlarında CTX-M tipi beta-laktamaz sıklığı, antibiyotik direnç ve ko-rezistans oranları araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** 2007 yılında çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 107 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'nin önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. GSBL üretiminin saptanmasında çift disk sinerji testi kullanılmıştır. Karbapenemaz üretimi Modifiye Hodge testi ile belirlenmiştir. CTX-M tipi beta-laktamazlara ait genin varlığı bu bölgelere özgül primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırılmıştır. **Bulgular:** CTX-M tipi beta-laktamaz sıklığı %85 oranında saptanmıştır. Suşların genel olarak ko-trimoksazole (SXT) %79, ampisilin-sulbaktama (SAM) %77, amoksisilin-klavulanik asite (AMC) %68 ve nitrofurantoin (NIT) %52 gibi oldukça yüksek oranlarda, amikasin (AK) %19, siprofloksasin (CIP) %21, norfloksasin (NOR) %24, gentamisin (GN) %31, sefoperazon-sulbaktama (SCF) %32 ve piperasilin-tazobaktama (TZP) %37 gibi daha düşük oranlarda direnç gösterdikleri belirlenmiştir. Suşlara en etkili antibiyotiklerden meropenem (MEM) ve fosfomisin (FOS) sırasıyla %2 ve %3 oranında direnç saptanmış, imipenem direncine rastlanmamıştır. Suşların %90'ında ko-rezistans saptanmış, en yaygın iki ko-rezistans fenotipinin AMC/SAM/SXT/NIT (%69) ve AMC/SAM/SXT (%6.5) olduğu belirlenmiştir. **Sonuç:** CTX-M tipi beta-laktamazların *K. pneumoniae* suşlarında oldukça yüksek oranlarda bulunduğu saptanmıştır. GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarında SXT, SAM, AMC ve NIT direncinin yüksek bulunduğu bölgemizde bu antibiyotiklerle başlanan ampirik tedavinin yetersiz kalabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** İlaç direnci, bakteriyel; *Klebsiella pnömonisi*

**ABSTRACT Objective:** Extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections cause difficulties in antibiotic choice for treatment. In this study, the frequency of CTX-M type beta-lactamase, antibiotic resistance rates and co-resistance rates in extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *K. pneumoniae* strains isolated in our hospital were investigated. **Material and Methods:** A total of 107 *K. pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens in 2007 were included in the study. Antibiotic susceptibility test was performed using disc diffusion method through the recommendations of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Double disk synergy test was used for detection of ESBL production. Carbapenemase production was determined with Modified Hodge test. Presence of the gene belonging to CTX-M type beta-lactamases was investigated with polymerase chain reaction method using primers specific to these sites. **Results:** Frequency of CTX-M type beta-lactamase was detected as 85%. In general, the isolates were found to be highly resistant to co-trimoxazole (SXT) (79%), ampicillin-sulbactam (SAM) (77%), amoxicillin-clavulanic acid (AMC) (68%) and nitrofurantoin (NIT) (52%), and they were found to be less resistant against amikacin (AK) (19%), ciprofloxacin (CIP) (21%), norfloxacin (NOR) (24%), gentamicin (GN) (31%), cefoperazone-sulbactam (SCF) (32%) and piperacillin-tazobactam (TZP) (37%). While the resistance against meropenem (MEM) and fosfomycin (FOS) which are among the most effective antibiotics was determined as 2% and 3% respectively, no resistance was found against imipenem. Co-resistance was detected in 90% of the strains and the most common two co-resistance phenotypes were found as AMC/SAM/SXT/NIT (9%) ve AMC/SAM/SXT (6.5%). **Conclusion:** CTX-M type beta-lactamases were found to be considerably high in *K. pneumoniae* strains. It was concluded that empirical treatments with these antibiotics could be insufficient in our region since resistance against SXT, SAM, AMC and NIT is high in ESBL producing *K. pneumoniae* strains.

**Key Words:** Drug resistance, bacterial; *Klebsiella pneumoniae*

doi:10.5336/medsci.2010-19642

Copyright © 2011 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(2):300-6

G ünümüzde toplum ve hastane kaynaklı bakterilerdeki antibiyotik direncindeki artış, dünya genelinde tedavide önemli bir sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten suşların yüksek oranlara ulaşması, karbapenem-dışı beta-laktam antibiyotiklerin kullanımını büyük oranda sınırlamış olup, karbapenemler ve beta-laktam-dışı antibiyotiklerin tedavideki önemini arttırmıştır. GSBL'lerden TEM ve SHV tipi beta-laktamazların sık görüldüğü, CTX-M tipi beta-laktamazların ise son yıllarda oldukça yaygınlaştığı bildirilmektedir.<sup>1</sup> Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflamasının 2be grubunda yer alan CTX-M tipi beta-laktamazlar sefotaksimi seftazidime göre daha iyi hidrolize edebildiklerinden, sefotaksimaz olarak da isimlendirilmektedirler. Genel olarak CTX-M tipi beta-laktamazlar aminoasit sekans benzerliklerine göre CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25 olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. İlk olarak 1989 yılında Almanya'da bir *Escherichia coli* klinik izolatında bildirilen CTX-M tipi beta-laktamazlar daha sonra Rusya, Belarus gibi bazı ülkelerde salgınlara neden olan *Salmonella* suşlarında saptanmasının ardından dikkatleri üzerine çekmiştir.<sup>2,3</sup> Ülkemizde ise bu konuda sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte elde olan veriler göz önüne alındığında, bu tip beta-laktamazların ilerleyen yıllarda ülkemiz için de tedavi seçeneği antibiyotikler için tehdit oluşturabileceğini göstermektedir.<sup>4,6</sup> Ayrıca GSBL genlerinin plazmidler üzerinde çok sayıda antibiyotik direnç genleri ile birlikte taşınması, direnç spektrumunu oldukça genişletmekte, birbirinden bağımsız birçok antibiyotiğin tedavide etkisiz kalmasına neden olmaktadır. Artan antibiyotik direnci klinikte mortalite ve morbidite artışına yol açmakta, ayrıca hastanede kalış süresinin ve ekonomik maliyetin artmasına neden olmaktadır.<sup>7</sup>

Klinikte infeksiyonların tedavisinde antibiyotikler sıklıkla ampirik olarak başlanmakta, üreyen bakterinin antibiyotik duyarlılık sonucuna göre tedavi değiştirilebilmektedir. Dolayısıyla gerek toplum gerekse hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen suşlarda antibiyotiklere direnç bağlamında GSBL oranları yanında ko-rezistans oranlarının bilinmesi, klinikte özellikle ampirik tedavide

yol gösterici olması açısından önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında CTX-M tipi beta-laktamaz sıklığı, bu suşların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ve ko-rezistans oranları incelenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### BAKTERİ SUŞLARI

Çalışmaya Ocak-Aralık 2007 tarihleri arasında İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde ayakta ve yatarak tedavi edilen hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen ve GSBL oluşturan *K. pneumoniae* suşları (n= 107) dâhil edilmiştir. Çalışma retrospektif olarak planlanmıştır.

### BAKTERİ İDENTİFİKASYONU

Bakteri suşlarının identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve API ID 32 GN (BioMerieux, France) kiti ile yapılmıştır.

### ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ

Suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile amoksisilin-klavulanik asit (AMC, 20/10 mg), ampisilin-sulbaktam (SAM, 10/10 mg), sefoperazon-sulbaktam (SCF, 75/30 mg), piperasilin-tazobaktam (TZP, 100/10 mg), imipenem (IMP, 10 mg), meropenem (MEM, 10 mg), gentamisin (GN, 10 mg), amikasin (AK, 30 mg) norfloksasin (NOR, 10 mg), siprofloksasin (CIP, 5 mg) ko-trimoksazol (SXT, 1.25/23.75 mg), nitrofurantoin (NIT, 300 mg), fosfomisin (FOS, 200 mg) diskleri kullanılarak yapılmış ve CLSI kriterlerine göre yorumlanmıştır.<sup>8</sup> *K. pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı çift disk sinerji testi ile araştırılmıştır. İki veya daha fazla antibiyotiğe dirençli suşlar ko-rezistan fenotipler olarak belirlenmiştir. *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* ATCC 35218 kalite kontrol suşları olarak kullanılmıştır.

### MODİFİYE HODGE TESTİ

*E. coli* ATCC 25922 suşunun 0.5 McFarland standart süspansiyonu hazırlandıktan sonra 1/10 oranında sulandırılmıştır. Süspansiyon Mueller

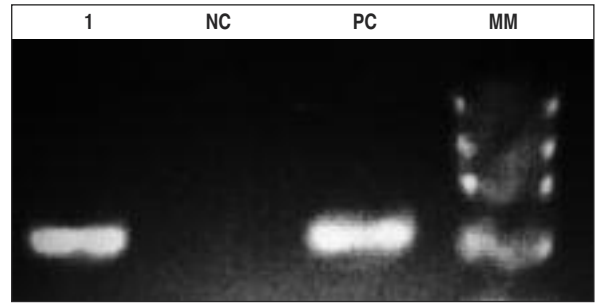
Hinton Agar besisi yerine yayıldıktan sonra besinin orta kısmına meropenem diski konulmuştur. Öze ile test ve kontrol bakterisinden 3-5 koloni alınarak diskin kenarından dışa doğru düz bir çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonrası test edilen bakterinin ekim çizgisi ile inhibisyon zonuunun kesişme noktasındaki üreme artışı pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 1).<sup>8</sup>

### GENOMİK DNA'NIN EKTRAKSİYONU

İki mililitrelik santrifüj tüplerinde bakteri kolonisi süspansiyon edildikten sonra, 12000 g'de çevrilerak bakteri peleti elde edilmiştir. Pelet 750 ml TE tamponu (10 mM Tris HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA) ile yıkanmış, ardından 500 ml TE tamponu içerisinde 10 dakika kaynatılmış, sonrasında santrifüj edilmiş ve üst kısımda kalan sıvı DNA amplifikasyonuna da kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.<sup>9</sup>

### DNA AMPLİFİKASYONU

CTX-M tipi beta-laktamazlara ait genin varlığı, bu bölgelere özgül primerler (CTX-M-F 5'-ATGTGCAGYACCAGTAARGT-3', CTX-M-R 5'-TGGGTRAARTARGTSACCAGA-3') kullanılarak araştırılmıştır.<sup>10</sup> Amplifikasyon programı, 94 °C'de beş dakika bir döngü denatürasyonun ardından 35 döngü 94 °C'de bir dakika denatürasyon, 56 °C'de 1 dakika primer bağlanması, 72 °C'de 1.5 dakika primer uzaması, son olarak da bir döngü 72 °C'de 10 dakika primer uzaması olarak uygulanmıştır.



**RESİM 1:** CTX-M negatif ve pozitif şuşların sonuçlarının jel elektroforez görüntüsü.

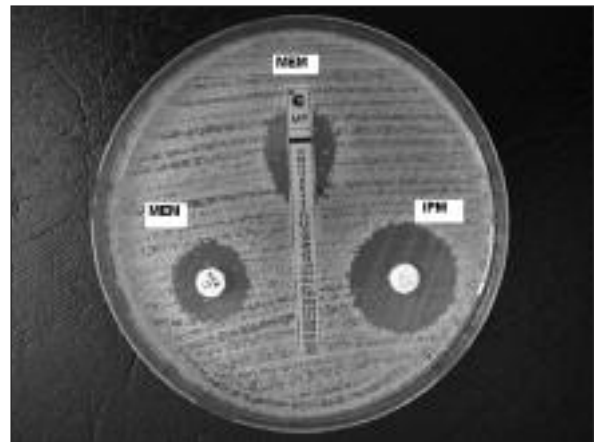
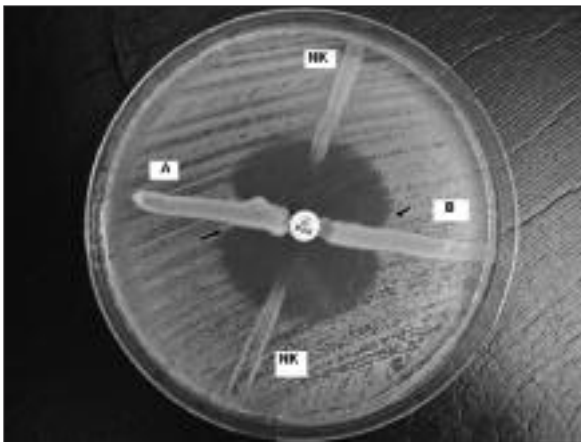
1= bakteriyel şuş, PK= pozitif kontrol, NK= negatif kontrol, MM= moleküler marker ( $\Phi$ 174).

### PCR ÜRÜNÜNÜN GÖRÜNTÜLENMESİ

On mililitre amplifikasyon ürünü yaklaşık 2 ml yükleme tamponu ile karıştırılmış, 1 x TAE tamponu içerisinde etidyum bromür ile boyanmış %1.5'lük agaroz jelde, 90 V'da 30 dakika yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonrasında jel, transilluminatör üzerine alınarak UV ışığı (304 nm) altında görüntülenmiştir (Resim 2).

### İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 11.5-Windows (SPSS Inc., Chicago, ABD) paket programı ile değerlendirilmiştir. Direnç oranlarının karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  kabul edilmiştir.



**RESİM 2:** Modifiye Hodge testi ile şuşlarda karbapenamaz üretiminin araştırılması (Sol). Karbapenamaz üreten şuşlardan birine ait disk difüzyonu ve E-test yöntemi ile yapılmış antibiyotik duyarlılık testi (Sağ).

A ve B= Karbapenamaz oluşturan klinik şuşlar, NK= Negatif kontrol şuşu, ok= Pozitif Modifiye Hodge testi, MEM= Meropenem, IPM= İmipenem.

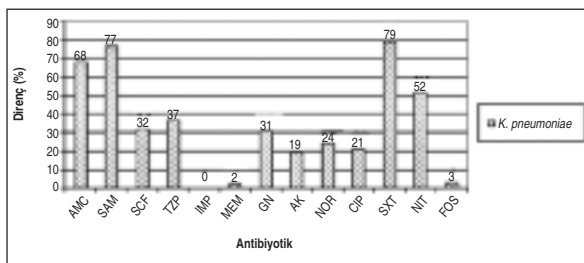
## BULGULAR

Suşların 49'u erkek, 58'i kadın hastalardan olmak üzere %69'u idrar, %13'ü kan, %10'u trakeal aspirat, kalan kısmı ise beyin omurilik sıvısı ve cerahat gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilmiştir.

Çalışmada incelenen *K. pneumoniae* suşlarının %85'inde CTX-M tipi beta-laktamaz pozitifliği saptanmıştır.

*K. pneumoniae* suşlarında SXT'ye %79, SAM'a %77, AMC'ye %68, NIT'e %52 oranlarında direnç saptanmıştır. Çalışmamızda IMP'ye direnç saptanmazken, MEM'e %2 ve FOS'a %3 oranlarında direnç gözlenmiştir (Şekil 1). Disk duyarlılık testi ile imipeneme duyarlı, meropeneme dirençli iki suşun E-test ile yapılan incelemelerinde, meropenem için minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK)'lerinin 3 µg/ml ve 8 µg/ml olduğu saptanmıştır. Suşların %90'unda ko-rezistans belirlenmiş, en sık iki ko-rezistans fenotipinin AMC/SAM/SXT/NIT (%9) ve AMC/SAM/SXT (%6.5) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Tek antibiyotiğe duyarlı veya dirençli suşların diğer antibiyotiklere direnç birlikteliklerinin incelenmesiyle elde edilen sonuçlar Tablo 2'de görülmektedir. Denenen antibiyotiklerin her birine ayrı ayrı dirençli *K. pneumoniae* suşları ele alınıp bu suşların diğer antibiyotiklere direnç oranları araştırıldığında SXT'ye %76'nın, SAM'a %75'in, AMC'ye %69'un, NIT'e %54'ün, TZP'ye %36.5'in, SCF'ye %32'nin, GN'ye %29'un ve NOR'a %24'ün, CIP'e %21'in, AK'ye %20'nin üzerinde direnç olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde SXT'ye %76'nın, SAM'a %75'in, AMC'ye %69'un, NIT'e %54'ün, TZP'ye %36.5'in, SCF'ye %32'nin, GN'ye %29'un ve NOR'a %24'ün, CIP'e %21'in, AK'ye %20'nin üzerinde direnç olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde SXT'ye %76'nın, SAM'a %75'in, AMC'ye %69'un, NIT'e %54'ün, TZP'ye %36.5'in, SCF'ye %32'nin, GN'ye %29'un ve NOR'a %24'ün, CIP'e %21'in, AK'ye %20'nin üzerinde direnç olduğu belirlenmiştir.



ŞEKİL 1: *K. pneumoniae* suşlarının (n=107) antibiyotiklere direnci (%).

AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, SAM: Ampisilin-sulbaktam, SCF: Sefoperazon-sulbaktam, TZP: Piperasilin-tazobaktam, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, NOR: Norfloksasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Ko-trimoksazol, NIT: Nitrofurantoin, FOS: Fosfomisin.

TABLE 1: *K. pneumoniae* suşlarında sık görülen korezistan fenotip oranları (n=96).

| Ko-rezistan fenotipler | (%) |
|------------------------|-----|
| AMCSAMSXTNIT           | 9   |
| AMCSAMSXT              | 6.5 |
| AMCSAMSCFTZP           | 4   |
| AMCSAMTZPSXTNIT        | 4   |
| SAMSXTNIT              | 4   |
| SXTNIT                 | 4   |
| SAMNIT                 | 4   |

AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, SAM: Ampisilin-sulbaktam, SCF: Sefoperazon-sulbaktam, TZP: Piperasilin-tazobaktam, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, NOR: Norfloksasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Ko-trimoksazol, NIT: Nitrofurantoin, FOS: Fosfomisin.

dirildiğinde inhibitörlü beta-laktam antibiyotiklerden AMC, SAM, SCF ve TZP'ye dirençli suşların, bu antibiyotiklere duyarlı suşlara göre GN ve AK'ye de anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) dirençli oldukları saptanmıştır. AMC dışındaki inhibitörlü beta-laktam antibiyotiklerdeki direnç artışı ile NIT direncinin de anlamlı derecede arttığı gözlenmektedir. Ayrıca çalışmamızdaki inhibitörlü beta-laktam antibiyotiklerden herhangi birinin direnç oranındaki yükselmeye, diğerlerindeki direnç artışının da anlamlı derecede eşlik ettiği saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).

## TARTIŞMA

CTX-M tipi beta-laktamazlar dünya genelinde *K. pneumoniae* suşlarında %76'lara varan oranlarda bildirilmektedir.<sup>11-13</sup> Ülkemizde de son yıllarda yapılan çalışmalarda CTX-M tipi beta-laktamazlar *K. pneumoniae* suşlarında yaygın olarak saptanmaktadır. Gür ve ark.nın<sup>4</sup> çalışmasında *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşları arasında CTX-M tipi beta laktamazların (%71.4) TEM ve SHV'ye göre daha sık bulunduğunu belirlenmiştir. Çalışmamızda da *K. pneumoniae* suşlarında CTX-M tipi beta-laktamaz varlığı %85 gibi oldukça yüksek oranda saptanmıştır. Bu bulguların aksine ülkemizde yapılan iki farklı çalışmada GSBL oluşturan *K. pneumoniae* suşlarında bu enzimler %22.1<sup>14</sup> ve %35<sup>5</sup> gibi daha düşük oranlar da bildirilmiştir.

Geçmişte karbapenem direnci, *Enterobacteriaceae* üyelerinde nadir olarak görülmekle birlikte, bu oran günümüzde artmış, önceki yıllara göre daha sık bildirilir olmuştur. Dünya genelinde *Ente-*

TABLO 2: *K. pneumoniae* (n= 107) suşlarında ko-rezistans (%).

| <i>K. pneumoniae</i> | AMC  | SAM  | SCF  | TZP  | IPM | MEM | GN   | AK  | NOR  | CIP  | SXT  | NIT  | FOS |
|----------------------|------|------|------|------|-----|-----|------|-----|------|------|------|------|-----|
| AMC-S (n= 34)        | 0    | 47   | 6    | 9    | 0   | 0   | 15   | 3   | 15   | 6    | 76.5 | 44   | 0   |
| AMC-R(n= 73)         | 100  | 90   | 44   | 51   | 0   | 3   | 38   | 26  | 29   | 27   | 81   | 56   | 4   |
| SAM-S (n= 25)        | 28   | 0    | 4    | 8    | 0   | 0   | 12   | 4   | 20   | 16   | 84   | 28   | 0   |
| SAM-R(n= 82)         | 80.5 | 100  | 40   | 46   | 0   | 2   | 37   | 23  | 24   | 22   | 78   | 60   | 4   |
| SCF-S (n= 73)        | 56   | 67   | 0    | 14   | 0   | 0   | 19   | 7   | 16   | 14   | 79.5 | 45   | 1   |
| SCF-R (n= 34)        | 94   | 97   | 100  | 88   | 0   | 6   | 56   | 44  | 41   | 35   | 79   | 68   | 6   |
| TZP-S (n= 67)        | 54   | 66   | 6    | 0    | 0   | 0   | 21   | 6   | 18   | 15   | 81   | 40   | 1.5 |
| TZP-R (n= 40)        | 92.5 | 95   | 75   | 100  | 0   | 5   | 47.5 | 40  | 35   | 30   | 77.5 | 72.5 | 5   |
| IPM-S (n= 107)       | 68   | 77   | 32   | 37   | 0   | 2   | 31   | 19  | 24   | 21   | 79   | 52   | 3   |
| IPM-R (n= 0)         | -    | -    | -    | -    | 100 | -   | -    | -   | -    | -    | -    | -    | -   |
| MEM-S (n= 105)       | 68   | 76   | 30.5 | 36   | 0   | 0   | 30.5 | 18  | 24   | 20   | 79   | 52   | 3   |
| MEM-R (n= 2)*        | 100  | 100  | 100  | 100  | 0   | 100 | 50   | 50  | 50   | 50   | 100  | 50   | 0   |
| GN-S (n= 74)         | 61   | 70   | 20   | 28   | 0   | 1   | 0    | 0   | 12   | 11   | 81   | 51   | 1   |
| GN-R (n= 33)         | 85   | 91   | 58   | 58   | 0   | 3   | 100  | 61  | 51.5 | 42   | 76   | 54.5 | 6   |
| AK-S (n= 87)         | 62   | 72   | 22   | 28   | 0   | 1   | 15   | 0   | 17   | 15   | 78   | 49   | 1   |
| AK-R (n= 20)         | 95   | 95   | 75   | 80   | 0   | 5   | 100  | 100 | 55   | 45   | 85   | 65   | 10  |
| NOR-S (n= 81)        | 64   | 75   | 32   | 33   | 0   | 1   | 20   | 11  | 0    | 0    | 76.5 | 52   | 1   |
| NOR-R(n= 26)         | 81   | 81   | 54   | 52   | 0   | 4   | 65   | 42  | 100  | 85   | 88.5 | 54   | 8   |
| CIP-S (n= 85)        | 62   | 75   | 26   | 33   | 0   | 1   | 22   | 13  | 5    | 0    | 76.5 | 52   | 1   |
| CIP-R (n= 22)        | 91   | 82   | 54.5 | 54.5 | 0   | 4.5 | 64   | 41  | 100  | 100  | 91   | 54.5 | 9   |
| SXT-S (n= 22)        | 64   | 82   | 32   | 41   | 0   | 0   | 36   | 14  | 14   | 9    | 0    | 45.5 | 4.5 |
| SXT-R (n= 85)        | 69   | 75   | 32   | 36.5 | 0   | 2   | 29   | 20  | 27   | 23.5 | 100  | 54   | 2   |
| NIT-S (n= 51)        | 63   | 65   | 22   | 22   | 0   | 2   | 29   | 14  | 23.5 | 20   | 76.5 | 0    | 2   |
| NIT-R (n= 56)        | 73   | 87.5 | 41   | 52   | 0   | 2   | 32   | 23  | 25   | 21   | 82   | 100  | 4   |
| FOS-S (n= 104)       | 67   | 76   | 31   | 36.5 | 0   | 2   | 30   | 17  | 23   | 19   | 80   | 52   | 0   |
| FOS-R (n= 3)*        | 100  | 100  | 67   | 67   | 0   | 0   | 67   | 67  | 67   | 67   | 67   | 67   | 100 |

\*IPM'e, MEM'e ve FOS'a dirençli suş oranları ko-rezistansın değerlendirilmesinde dikkate alınmamıştır.

AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, SAM: Ampisilin-sulbaktam, SCF: Sefoperazon-sulbaktam, TZP: Piperasilin-tazobaktam, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, GN: Gentamisin, AK: Amikasin, NOR: Norfloksasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Ko-trimoksazol, NIT: Nitrofurantoin, FOS: Fosfomisin.

*robacteriaceae* üyelerinde karbapenem direncinin %2 civarında olduğu bilinmektedir.<sup>15</sup> Ülkemiz verileri göz önüne alındığında ise *Klebsiella* cinsi bakterilerin incelendiği çeşitli çalışmalarda karbapenem direnci genel olarak %0-11 gibi değişen oranlarda bildirilmektedir.<sup>16-18</sup> Çalışmamızda tüm suşlar IPM'ye duyarlı bulunurken, MEM direnci %2 oranında saptanmıştır. GSBL üreten *K. pneumoniae* infeksiyonlarında karbapenemler, ilk tercih tedavi seçeneği olarak günümüzde de büyük oranda yerini korumaktadır. Rutin uygulamada MİK'lerinde artış olmasına rağmen in-vitro deneylerde karbapenemler duyarlı görülebilmekte, klinik uygulamada ise tedavi başarısız olabilmektedir. Çalışmamızda iki suşun CLSI kriterlerine göre

IMP'ye duyarlı, MEM'e dirençli olduğu belirlenmiştir. Suşların Modifiye Hodge testi ile incelenmeleri sonucu her ikisinin de karbapenemaz ürettiği saptanmıştır (Resim 1).

Ülkemizde AMC, SAM, SCF TZP, GN, NOR, SXT ve NIT toplum ve hastane kaynaklı *K. pneumoniae* infeksiyonlarında geçmişten günümüze sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak yaygın ve bazen de endikasyon-dışı kullanıma bağlı olarak direnç oranlarındaki artış da beraberinde gelmiştir. Ülkemizde son on yılda yapılan çeşitli çalışmalarda *Klebsiella* suşlarında genel olarak AMC'ye %31-87.5, SAM'a %38.5-66, SCF'ye %17.7, TZP'ye %22.3-79.8, GN'ye %15-81.8, AK'ye %12.4-55.2, CIP'e %2.4-46.6, SXT'ye %23-48.8 oranlarında direnç bildiril-



mektedir.<sup>4,16-23</sup> Dünya genelinde yapılmış ve benzer antibiyotiklerin denendiği çalışmalarda ise TZP'ye %8.9, GN'ye %18.8, CIP'e %2.2, SXT'ye %18.5 gibi ülkemiz verilerine göre daha düşük direnç oranları bildirilmektedir.<sup>24</sup> Bununla birlikte sadece GSBL üreten suşlar göz önüne alındığında bu oranların genellikle daha yükseldiği gözlenmektedir.<sup>25,26</sup> Çalışmamızda bir yıllık süre içerisinde izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında SXT'ye (%79), SAM'a (%77), AMC'ye (%68) yüksek oranda, FOS'a düşük oranda (%3) direnç saptanmıştır (Şekil 1). Denenen antibiyotiklerin her birine ayrı ayrı dirençli *K. pneumoniae* suşları ele alınıp bu suşların diğer antibiyotiklere direnç oranları araştırıldığında, denenen antibiyotiklerden herhangi birine direnç gelişmesi GSBL oluşturan *K. pneumoniae* suşlarında SAM, AMC, SXT ve NIT'e en az %54, TZP ve SCF'ye en az %32, GN ve NOR'a en az %24 oranında direnç gelişmiş olabileceğini göstermektedir (Tablo 2).

GSBL'leri kodlayan genler, genellikle plazmidler üzerinde bulunmakta ve bakteriler arasında taşınarak antibiyotik direnç artışına neden olmaktadır. Plazmidler üzerinde beta-laktamlar, makrolidler, aminoglikozidler, trimetoprim gibi birçok antibiyotiğe karşı direnç geninin taşındığı bilinmektedir. Son yıllarda kinolon direnç genlerinin de plazmidlerle aktarıldığı gösterilmiştir.<sup>27</sup> Ayrıca plazmid kaynaklı kinolon direnç genlerinin (*qnr*) GSBL üreten suşlar arasında daha sık olduğu saptanmıştır.<sup>28,29</sup> Daha önce yaptığımız ve plazmid kaynaklı kinolon direnç genlerini araştırdığımız çalışmamızda *qnr* pozitif 20 *Enterobacteriaceae* üyesi suşun 15'inin (%75) CTX-M tipi beta-laktamaz ürettiği saptanmış, CTX-M tipi beta-laktamazların TEM ve SHV tipi beta-laktamazlara göre daha sık olduğu belirlenmiştir.<sup>9</sup> Aynı çalışmada *qnr* geni saptanan tüm suşlarda nalidiksik asit direnci de belirlenmiştir. Çalışmamızda NOR direnci % 24, CIP direnci %21 oranında saptanmıştır (Şekil 1). Suşların %92'sinde ko-rezistans saptanmış, en yaygın iki ko-rezistans fenotipinin AMC/SAM/SXT/NIT (%9) ve AMC/SAM/SXT (%6.5) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Birçok antibiyotığın yüksek direnç oranlarından dolayı kullanılmadığı ve tedavi seçeneklerinin oldukça kısıtlandığı günümüzde, yeni antibiyotik arayışları da devam etmektedir. Bir fosforik asit derivativesi olan FOS ilk olarak 1969 yılında İspanya'da keşfedilmiş, Avrupa ülkelerinde birçok farklı enfeksiyonun tedavisinde uzun süreden beri kullanılmış, ülkemizde ise son yıllarda kullanıma girmiştir. Komplike olmayan alt üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde direnç oranlarının düşük olması nedeniyle önemli bir tedavi seçeneği olan FOS, son yıllarda çoklu ilaç direnci gösteren bakteri enfeksiyonlarında da kullanılabilmesiyle dikkatleri üzerine çekmiştir.<sup>30</sup> Ülkemizde GSBL üreten *K. pneumoniae* suşları ile yapılan çalışmalarda FOS direncinin özellikle idrar yolu enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılan NOR, NIT, SXT ile karşılaştırıldığında oldukça düşük oranlarda seyrettiği bildirilmektedir. Akyar'ın<sup>26</sup> yaptığı bir çalışmada üriner sistem enfeksiyonlu hastalardan izole edilen ve GSBL üreten 41 *K. pneumoniae* suşunda GN'ye %41.5, SXT'ye %58, NIT'e %85.4, NOR'a %21.9, FOS'a %4.9 oranında direnç saptanmıştır. Göker ve ark.<sup>31</sup> yaptıkları çalışmada %39'u GSBL üreten *Klebsiella* suşlarının (n=100) %1'inde fosfomisin direnci saptanmıştır. Çalışmamızda da benzer şekilde NOR, SXT ve NIT ile karşılaştırıldığında FOS direncinin düşük oranda (%3) olduğu belirlenmiştir.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, CTX-M tipi beta-laktamazların *K. pneumoniae* suşlarında oldukça yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarında SXT, SAM ve AMC'ye yüksek düzeylerde, SCF ve TZP'ye daha düşük oranlarda direncin gözleendiği çalışmamızda, bu suşlara IPM, MEM ve FOS'un etkili antibiyotikler olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca GSBL oluşturan suşlarda beta-laktamlar yanında farklı gruptan antibiyotiklere de (SXT, NIT, GN, NOR vb.) ko-rezistans gelişebildiği gözlenmiştir. Dolayısıyla GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarında özellikle SXT, SAM ve AMC ile başlanan ampirik tedavinin yetersiz kalabileceği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Istariz R. Global resistance trends and the potential impact on empirical therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2008;32(Suppl 4):S201-6.
2. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007;59(2):165-74.
3. Cantón R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9(5):466-75.
4. Gür D, Gülay Z, Akan OA, Aktaş Z, Kayacan CB, Cakici O, et al. [Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre H-TIT study]. *Mikrobiyol Bul* 2008;42(4):537-44.
5. Aktaş Z, Gönüllü N, Kayacan ÇB, Özdem A, Carattoli A, Yong DE, et al. [CTX-M-15 carried on Incn-type plasmids in Klebsiella pneumoniae]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(6):1355-64.
6. Yumuk Z, Afacan G, Nicolas-Chanoine MH, Sotto A, Lavigne JP. Turkey: a further country concerned by community-acquired Escherichia coli clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 2008;62(2):284-8.
7. Mulvey MR, Simor AE. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? *CMAJ* 2009;180(4):408-15.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Nineteenth Informational Supplement. Document M100-S19. Vol 29 No 3, Wayne, PA: CLSI; 2009. p.1-153.
9. Nazik H, Ilktaş M, Ongen B. Prevalence of qnrA, qnrB, qnrS and aac(6)-Ib-cr (in qnr-positive isolates) among ESBL-positive and/or ciprofloxacin-resistant isolates in Turkey. *J Chemother* 2009;21(2):219-21.
10. Pallechi L, Bartoloni A, Fiorelli C, Mantella A, Di Maggio T, Gamboa H, et al. Rapid dissemination and diversity of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase genes in commensal Escherichia coli isolates from healthy children from low-resource settings in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(8):2720-5.
11. Lartigue MF, Zinsius C, Wenger A, Bille J, Poirel L, Nordmann P. Extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M type now in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(8):2855-60.
12. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, et al. Extended-spectrum beta-lactamases in Klebsiella pneumoniae bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(11):3554-60.
13. Morosini MI, García-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E, et al. Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(8):2695-9.
14. Tikveşli S, Cevahir N, Kaleli I. [Investigation of CTX-M type beta-lactamases in K. pneumoniae clinical isolates by phenotypic and molecular methods]. *Mikrobiyol Bul* 2009;43(4):553-62.
15. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20(3):440-58.
16. Delialioğlu N, Öcal ND, Emektaş G. [Rates of extended-spectrum beta-lactamase in Escherichia coli and Klebsiella species isolated from various clinical specimens]. *Ankem Derg* 2005;19(2):84-7.
17. Köseoğlu O, Kocagöz S, Gür D, Akova M. Nosocomial bloodstream infections in a Turkish university hospital: study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17(6):477-81.
18. Kucukates E. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacteria isolated from intensive care units in a Cardiology Institute in Istanbul, Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005;58(4):228-31.
19. Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberöglü K, Yuluğ N, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999;43(3):373-8.
20. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B; Turkish MYSTIC Study Group. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(4):453-7.
21. Kacmaz B, Sultan N. In vitro susceptibilities of Escherichia coli and Klebsiella spp. to ampicillin-sulbactam and amoxicillin-clavulanic acid. *Jpn J Infect Dis* 2007;60(4):227-9.
22. Çetinkaya Z, Çiftçi İH, Aktepe OC, Şafak B, Altındiş M. [Antibiotic susceptibility of Klebsiella strains isolated from clinical specimens]. *Ankem Derg* 2005;19(1):1-4.
23. Yıldırım M, Şahin İ, Gülcan A, Özdemir D, Küçükbayrak A, Uzun H, et al. [Antimicrobial susceptibility and uropathogens isolated from children and adults with community-acquired urinary tract infections]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010;30(2):533-8.
24. Fedler KA, Biedenbach DJ, Jones RN. Assessment of pathogen frequency and resistance patterns among pediatric patient isolates: report from the 2004 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program on 3 continents. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;56(4):427-36.
25. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Carmeli Y. High levels of antimicrobial coresistance among extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(5):2137-9.
26. Akyar I. [Antibiotic resistance rates of extended spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella spp. strains isolated from urinary tract infections in a private hospital]. *Mikrobiyol Bul* 2008;42(4):713-5.
27. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351(9105):797-9.
28. Nazik H, Ongen B, Kuvat N. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance among isolates obtained in a Turkish intensive care unit. *Jpn J Infect Dis* 2008;61(4):310-2.
29. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):463-9.
30. Schito GC. Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI? *Int J Antimicrob Agents* 2003;22(Suppl 2):79-83.
31. Göker G, Kaya I, Aydın D, Gürler N. [Investigation of Escherichia coli, Klebsiella and Enterococcus spp. susceptibilities to fosfomycine trometamol in urinary tract infections]. *Ankem Derg* 2007;21(4):219-22.