

# Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinde Yıllar İçerisinde Kolistin MİK Değerindeki Artışın *In Vitro* Değerlendirilmesi

## *In Vitro* Evaluation of the Increase in MIC Value of Colistin in the Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains Over the Years

İsmail Selçuk Aygar

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

### Öz

**Amaç:** *Klebsiella pneumoniae* insanda deride, gastrointestinal florada ve nazofarinkste kolonize olarak bulunabilen bakteriler arasındadır. Çalışmada, karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında alternatif tedavi olan kolistin minimal, inhibitör konsantrasyon değerlerinin yıllar içerisindeki artış düzeyinin irdelenmesi ve kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılarak elde edilen sonuçların, otomatize sistemle bulunan sonuçlarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ocak 2015-Temmuz 2017 tarihleri arasındaki klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşu çalışmaya dâhil edildi. Otomatize sistemle çalışılan suşların karbapenem duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle de test edildi. Kolistin duyarlılıklarını ölçmek için sıvı mikrodilüsyon testi EUCAST önerileri doğrultusunda kolistin sülfat etken maddesi kullanılarak çalışıldı. Kolistin için MİK aralığı 0.125-64 µg/ml değerleri arasında olacak çalışıldı. Verilerin analizde ki-kare testi kullanıldı.

**Bulgular:** 2015 yılında altı (%37.5), 2016 yılında sekiz (%35.8), 2017 yılında 10 (%41.7) olmak üzere toplam 24 (%36.4) suş kolistine dirençli olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede yıllar içerisinde kolistin MİK değerlerinde anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). İki farklı yöntemle bulunan sonuçlar arasında uyumsuzluk görüldü. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptandı.

**Sonuç:** Çalışmadaki karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının yaklaşık 1/3'ünde kolistin direncinin belirlenmiş olması kaygı vericidir. Ayrıca kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışıp direnç oranını belirlemek büyük önem taşımaktadır. Bu durum tek başına veya kombine tedavi seçeneklerini azaltmakta bu izolatların ileriki yıllarda tedavisinin daha da zorlaşacağını ve yeni tedavi stratejileri üzerinde çalışılması gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*, kolistin direnci, kolistin MİK düzeyi

### ABSTRACT

**Objective:** *Klebsiella pneumoniae* can be found colonized on human skin, gastrointestinal flora and nasopharynx. We aimed to examine the increase level of minimal inhibitory concentration values of colistin is alternative treatment in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* and to compare the results of automated system with gold standard fluid microdilution method of colistin sensitivity.

**Method:** Sixty-six carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from clinical samples between January 2015-July 2017 were included in the study. Carbapenem susceptibilities of strains studied with automated system were also tested by disk diffusion method. To measure colistin sensitivities, liquid microdilution test was studied using colistin sulfate active substance in accordance with EUCAST recommendations. The MIC range for colistin was studied with values between 0.125-64 µg/ml. Chi-square test was used to analyze the data.

**Results:** A total of 24 (36.4%) isolates, 6 (37.5%) in 2015, 8 (35.8%) in 2016 and 10 (41.7%) in 2017, were found to be resistant to colistin. No statistically significant difference was found in the MIC values of colistin over the years ( $p>0.05$ ). There was discrepancy between the results found by two different methods. Very major errors were detected in two isolates and major errors were detected in two isolates.

**Conclusion:** It is worrisome that carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates were detected in about one-third of colistin resistance. Also, it's important to determine the resistance rates with gold standard fluid microdilution method. This reduces the treatment options alone or in combination, suggesting that these isolates will become more difficult to treat in future and new treatment strategies should be studied.

**Keywords:** Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, colistin resistance, colistin MIC level

**Alındığı tarih / Received:**  
05.02.2020 / 05. February.2019

**Kabul tarihi / Accepted:**  
12.03.2020 / 12. March.2020

**Yayın tarihi / Publication date:**  
30.09.2020 / 30. September.2020

### ORCID Kaydı

İ. S. Aygar 0000-0002-3344-3508

✉ drisa1986@hotmail.com

**Atf:** Aygar İS. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin MİK değerindeki artışın *in vitro* değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(3):164-71.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY)

## GİRİŞ

Son yıllarda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranları giderek yükselmektedir<sup>(1)</sup>. Nozokomiyal enfeksiyonlar arasında *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri en sık izole edilen patojenler arasında olup, bu aile içinde *Klebsiella pneumoniae* ile olan enfeksiyonlar öne çıkmaktadır<sup>(2)</sup>. *Enterobacteriaceae* üyesi olan *K. pneumoniae*, fırsatçı bir patojen olup, özellikle hastanede yatan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda septisemi, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve yumuşak doku enfeksiyonlarında rol oynar. *K. pneumoniae*'de çoklu ilaç direnci, genellikle geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (ESBL) ve karbapenemazların üretilmesinden kaynaklanır. Çok ilaca dirençli izolatların yaygınlaşması genellikle bu enfeksiyonlar için verilen antibiyotik tedavisinin başarısızlığına yol açar<sup>(3)</sup>.

Karbapenemler, hızlı bakterisidal etki gösteren beta-laktam grubu antibiyotikler yer alan ve bu sınıf içerisindeki antibiyotiklere oranla en geniş etki spektrumuna sahip antibiyotiklerdir. Ayrıca aerop ve anaerop birçok farklı etkenin neden olduğu enfeksiyonlarda yaygın kullanım alanına sahiptirler<sup>(4-8)</sup>. *Enterobacteriaceae*'larda karbapenem direnci eflüks pompa sistemi aracılığıyla, antibiyotiğin bakteri dışına atılması, karbapenemlere karşı zayıf etki gösteren  $\beta$ -laktamazların sentezlenmesine ek olarak, porin ekspresyonunda kalitatif veya kantitatif eksiklik meydana gelmesi sonrasında karbapenemlerin hücre içine girişinde dirençle karşılaşılması ve karbapenemleri yıkan karbapenemaz enzimlerinin etkisiyle olmak üzere başlıca üç mekanizmayla gelişmektedir<sup>(8)</sup>.

Polipeptid bir antibiyotik yapısı taşıyan polimiksinler ilk kez *Bacillus polymyxa* isimli bakteriden 1947 yılında üretilmiştir<sup>(10-12)</sup>. Kolistin yapı olarak katyonik formda bir peptiddir ve etki gösterdiği yer ise Gram-negatif bakterilerin anyonik yapıdaki dış membran lipopolisakaritleridir. Buraya bağlanarak bu moleküllerin stabilitesini arttırır. Böylece divalen katyonların ( $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ) yer değiştirmesi sonucunda membran

geçirgenliği artar ve bakteri ölür<sup>(10-12)</sup>. *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi çoklu ilaç tedavilerine direnç gösteren Gram-negatif bakterileri sayılarının son yıllarda artış göstermesi nedeniyle, kolistin kullanımı günden güne artış göstermektedir. Kolistin kullanımının artması nedeniyle de dünya çapında kolistin direncini rastlanılan sorunlardan biri hâline gelmiştir<sup>(12)</sup>. Kolistin direnç oranları genel olarak %10'un altında olsa da son yıllarda bir artış eğilimi gözlenmektedir<sup>(10,13,14)</sup>.

Karbapenem dirençli enterik bakterilerle enfekte hastaların tedavisinde öne çıkan kolistindeki direnç günümüzdeki önemli klinik sorunlardan biri hâline gelmiştir. Etkenlerin geliştirdiği kolistin direnci çoğunlukla kromozomal mutasyonlar veya plazmidle aracılığıyla ortaya çıkabilmektedir<sup>(15)</sup>. Direnç oranları genellikle %10'un altında olsa da artış eğilimindedir<sup>(10)</sup>. Bu dirençle mücadele edebilmek ve klinisyenlere verecekleri tedavilerde yol göstermek için kolistin duyarlılığın araştırılmasında doğru ve güncel bir yöntem seçmek büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında alternatif tedavi olan kolistinin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin yıllar içerisindeki artış düzeyinin irdelenmesi ayrıca kolistin duyarlılığının altın standart olan mikro sıvı dilüsyon yöntemiyle de çalışılarak elde edilen sonuçların, otomatize sistemle (Phoenix 100, Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) bulunan sonuçlarla karşılaştırması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli klinik ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalara ait klinik örneklerden tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen karbapenem dirençli 66 *K. pneumoniae* türü dâhil edildi. İdentifikasyon ve duyarlılık testleri Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemde çalışılan bu izolatların karbapenem direnci EUCAST önerileri doğrultusunda imipenem, merope-

nem ve ertapenem diskleri kullanılarak disk diffüzyon yöntemiyle yine çalışıldı.

Sıvı mikrodilüsyon testi EUCAST önerileri doğrultusunda kolistin sülfat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) etken maddesi kullanılarak çalışıldı. Kolistin için MİK aralığı 0.125-64 µg/ml değerleri arasında olacak şekilde dokuz ayrı konsantrasyonda çalışıldı. Testin kalite kontrolü *P. aeruginosa* ATCC® 27853 kullanılarak yapıldı. Kolistin MİK değeri ≤2 µg/ml olan izolatlar kolistine duyarlı, >2 µg/ml olanlar ise kolistine dirençli olarak kabul edildi.

Çalışmada elde edilen veriler, bilgisayar ortamına aktararak IBM SPSS (versiyon 15.0) paket programında değerlendirildi. Verilerin analizde ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri olarak p<0.05 kullanıldı. Bir antibiyotik duyarlılık testinde orta duyarlıyken, referans testinde duyarlı veya dirençli sonuç vermesi küçük hata (KH); bir antibiyotik duyarlılık testinde dirençliyken, referans testinin duyarlı sonuç vermesi büyük hata (BH); bir antibiyotik duyarlılık testinde duyarlı iken, referans testinin dirençli sonuç vermesi çok büyük hata (ÇBH) olarak tanımlandı<sup>(16)</sup>.

Araştırmaya ait etik görüş ve çalışma izni, SBÜ Ankara Sağlık Araştırma Uygulama Merkezi tarafından (No: 10.05.2017/006) verilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatu dâhil edildi.

Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının izole edildiği örnek türlerine ve servislere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen izolatların test edilen mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK aralıkları, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2. Çalışmada <0.125 - >64 µg/ml MİK aralığında test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri.**

Yıllar	Duyarlı (%)	Dirençli (%)	MİK <sub>50</sub> (µg/ml)	MİK <sub>90</sub> (µg/ml)
2015 (n=16)	10 (%62.5)	6 (%37.5)	1	32
2016 (n=26)	18 (%69.2)	8 (%30.8)	1	>64
2017 (n=24)	14 (%58.3)	10 (%41.7)	1	>64
Toplam	42 (%63.6)	24 (%36.4)	1	>64

Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının mikrodilüsyon yöntemiyle ölçülen kolistin MİK değerlerinde yıllar içinde bir artış belirlenmekle birlikte, istatistiksel olarak anlam-

**Tablo 1. Çalışmada test edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının izole edildiği örnek türlerine ve servislere göre dağılımı.**

	Örnek tipi n (%)				Toplam
	Trekeal aspirat	Kan	İdrar	Damar içi kateter	
Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım	6	6	5	1	18 (27.3)
Acil Dahiliye Yoğun Bakım	2	6	4	-	12 (18.2)
Acil Ameliyat Odası ve Cerrahi Yoğun Bakım	5	1	4	-	10 (15.2)
Nöroloji Yoğun Bakım	-	4	3	2	9 (13.6)
Yenidoğan Yoğun Bakım	-	3	2	-	5 (7.6)
Beyin Cerrahi Yoğun Bakım	-	2	2	-	4 (6.1)
Genel Dâhiliye Yoğun Bakım	-	1	2	-	3 (4.5)
Nöroloji Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Üroloji Servis	-	-	1	-	1 (1.5)
Beyin Cerrahisi Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Gastroenteroloji Servis	-	1	-	-	1 (1.5)
Genel Cerrahi Servisi	-	-	1	-	1 (1.5)
Toplam	13 (19)	26 (38)	24 (36)	3 (7)	66 (100)

**Tablo 3. Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata belirlenen izolatlar.**

Yıllar	İzolat numarası	Mikrodilüsyon (MİK değeri µg/ml)	Otomatize sistem (MİK değeri µg/ml)
2015	5*	4 (R)	1 (S)
2016	42**	2 (S)	8 (R)
2017	47*	16 (R)	1 (S)
2017	53**	0.25 (S)	8 (R)

\*Çok büyük hata belirlenen izolatlar; \*\*Büyük hata belirlenen izolatlar; R: Dirençli; S: Duyarlı.

lı bir artış belirlenememiştir (p>0.05).

Çalışmada, 2015 yılına ait bir, 2016 yılına ait bir ve 2017 yılına ait iki izolatta sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptanmıştır.

Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata tespit edilen izolatlar Tablo 3'te verilmiştir.

## TARTIŞMA

Karbapenemlere dirençli *K. pneumoniae* izolatları son günlerin önemli sorunu olup, bu direnç oranı giderek artmaktadır. Karbapenem dirençli türler ile mücadelede kolistin, tigesiklin, aminoglikozid grubu antibiyotikler monoterapi veya kombine tedaviler şeklinde öne çıkmaktadır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları alternatif tedavi olan kolistinin MİK değerleri giderek direnç kazanmaya başlamıştır<sup>(17)</sup>.

Son zamanlarda karbapenemaz üreten dirençli izolatların tedavisindeki en büyük endişe özellikle kolistin dirençli türlerin ortaya çıkmasıdır<sup>(18)</sup>. Kolistin dirençli bu türlerin ortaya çıkışı yoğun ve artmış şekilde karbapenem grubu antibiyotiklerin kullanımının bir sonucu olduğu belirtilmektedir<sup>(17)</sup>. Ayrıca literatürde kolistin direnç gelişimi için en önemli risk faktörünün uzun süre kolistin kullanımı olduğu bildirilmiştir<sup>(19)</sup>. Geçtiğimiz yıllarda sporadik olarak kolistin ve karbapenem dirençli *Klebsiella* izolatları raporlanmıştır ve zaman ilerledikçe başka olgular da çıkmaktadır<sup>(20,21)</sup>. Amerika'da ilk kolistin dirençli

*Klebsiella* spp. izolatları 2009 yılında raporlanmış olup Yunanistan, Güney Kore ve Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok ülkedeki hastanelerde kolistin dirençli karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'lara bağlı salgınlar tanımlanmıştır<sup>(17,22)</sup>. Kolistin direncini belirlemek için günümüzde yapılan çalışmalar gradyan difüzyon yöntemi (GDY) veya otomatize sistemlerin kullanılmamasını bunların yerine sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılması gerektiğini vurgulamaktadır. EUCAST'in de bu yönde uyarıları bulunmaktadır<sup>(23)</sup>.

Çalışmamızda, kolistin dirençli izolatların %100'ü yoğun bakım hastalarından izole edilmiştir. Saygılı Pekintürk ve ark.'nın<sup>(24)</sup> yaptıkları çalışmadaki izolatların 10 (%67)'u idrar, dördü (%27) endotrakeal aspirat, biri (%6) ise kan kültüründen; %73'ü yoğun bakımlardan izole edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, izolatlar sırasıyla en çok kan kültürü (%38) sonra idrar (%36), trakeal aspirat (%19) izole edilmişken, en az damar içi kateterden (%7) izole edilmiştir.

Saygılı Pekintürk ve ark.<sup>(24)</sup> 2011-2015 yıllarını kapsayan çalışmada, yatan hastalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve yıllar içerisindeki antibiyotik direnç oranlarının değişimini irdelenmiştir. Bu çalışmaya 315 *Klebsiella* izolatı dâhil edilmiş olup, bunlardan 293'ü *K. pneumoniae*, 21'i *Klebsiella oxytoca* ve biri *Klebsiella ozanea* olarak belirlenmiştir. Yıllara göre kolistin direnç oranları değerlendirildiğinde, 2012 yılında kolistine 23 izolatın yalnızca bir tanesinde (%4) dirençli belirlenmişken, sonraki yıllarda direnç oranı hızla artmış, 2014'de bu oran %6'ya, 2015'de ise %35'e ulaşmıştır. İtalya'dan bildirilen bir çalışmada, karbapenemaz

üreten *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direncinin 2010-2013 yılları arasında %11'den %27'ye yükseldiği belirtilmiştir<sup>(25)</sup>. 2008 yılında ABD'de yapılan çalışmada, 60 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatından yalnızca beşinde kolistin direncine rastlanılmıştır<sup>(26)</sup>. Bizim çalışmamızda ise, 2015 yılında 16 izolattan altısı (%37.5) kolistin dirençli bulunurken, 2016 yılında 26 izolattan sekizi (%30.8), 2017 yılında ise 24 izolattan 10 (%41.7)'u; çalışmamıza dâhil edilen yıllara ait tüm izolatlar beraber değerlendirildiğinde, 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatından 24'ü kolistine dirençli olarak bulunmuştur.

Liste ve ark.<sup>(27)</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Ocak 2016 ve Temmuz 2017 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 151 *Klebsiella* spp. izolatında mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin direnci oranlarını araştırdıkları bir çalışmada, 20 izolatta (%13.2) kolistin direnci saptamışlardır. İzolatların kolistin  $MİK_{50}$  ve  $MİK_{90}$  değerlerini 0.125 µg/ml ve 8 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise, 2015 yılında  $MİK_{50}$  ve  $MİK_{90}$  oranları sırasıyla 1 µg/ml ve 32 µg/ml; 2016 yılında 1 µg/ml ve >64 µg/ml; 2017 yılında ise 1 µg/ml ve >64 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bütün yıllar beraber değerlendirildiğinde bu değerler  $MİK_{50}$  1 µg/ml ve  $MİK_{90}$  64 µg/ml olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda, otomatize sistem olarak kullandığımız Phoenix™ 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) ile yapılan çalışmalar VITEK® 2 (bioMérieux, Hazelwood, MO, Fransa) ile yapılan çalışmalara göre sayıca daha azdır. Yapılan bir çalışmada, *K. pneumoniae*'nin kategorik uyum (KU) oranı %100, ÇBH oranı %0 ve BH oranı %0 olarak saptanmıştır<sup>(14)</sup>. VITEK® 2 ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri kıyaslanan çalışmalardan birinde, KU oranı %94.1, ÇBH oranı %0.7 ve BH oranı %0 olarak saptanmıştır<sup>(28,29)</sup>. Türkiye'de sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix™ 100 otomatize sisteminin *K. pneumoniae*, *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatları için yapılan çalışmada, *K. pneumoniae* için ÇBH ve BH oranı %0 olarak bulunmuştur<sup>(12)</sup>. Bizim çalışmamızda ise, *K. pneumoniae* izolatlarında 2015 yılına ait bir, 2016 yılına ait bir ve

2017 yılına ait iki izolatta sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. İki izolatta çok büyük hata, iki izolatta büyük hata saptanmıştır. Çalışmamızda, sıvı mikrodilüsyon yönteminden elde edilen kolistine direnç oranlarıyla karşılaştırıldığında, Phoenix™ 100 otomatize sisteminin KU oranı %93, ÇBH oranı %8, BH oranı için %4 olarak saptanmıştır. ISO 20766 standardı tarafından belirtilen kurallar çerçevesinde Phoenix™ 100 otomatize sisteminin bu sonuçlar dikkate alındığında KU oranına göre kabul edilebilir sınırlarda olduğu ÇBH ve BH oranına göre kabul edilebilir sınırlarda olmadığı görülmektedir.

Altın standart yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak ülkemizde yapılan başka çalışmalarda, kolistin direnci, izolatların %90.7'sinin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu 2018 yılında Yiş'in<sup>(30)</sup> yaptığı çalışmada, %43.8, izolatların %91.16'nın karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu Yıldız ve ark.'nın<sup>(31)</sup> yaptıkları çalışmada %76.2, izolatların %86.1'inin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olduğu Tanrıverdi Çaycı ve ark.'nın<sup>(32)</sup> yaptıkları başka bir çalışmada ise %29.7 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Kahraman ve ark.'nın<sup>(33)</sup> retrospektif olarak yaptıkları çalışmada, kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sırasında gelişen enfeksiyonlardan 2012-2018 yılları arasında izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının %20'sinin kolistin dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalar göz önüne alındığında kolistin direnç sıklıklarının yakın tarihlerde izole edilen izolatlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 2012-2018 yılları arasındaki izolatlardan yapılan Kahraman ve ark.'na<sup>(33)</sup> ait çalışmada, diğer çalışmalara göre daha düşük bulunan kolistin direnci daha eski yıllarda izole edilen örneklerinde çalışmaya dâhil edilmiş olması ile açıklanabilir. Yalnızca yakın tarihli izolatlarla yapılan çalışmalarda ise, direnç daha yüksek oranlarda bulunmuştur<sup>(31,32,34)</sup>. Bu durum kolistin direncinin yıllar içerisinde arttığını ve yüksek yayılım gösterdiğini göstermektedir. Çalışmamızda ise, 2015 yılında 16 izolattan altısı (%37.5), kolistin dirençli bulunurken, 2016 yılında bu oran düşerek 26 izolat-

tan sekizi (%30.8), 2017 yılında ise bu oran hızla artarak 24 izolattan 10 (%41.7)'u kolistin dirençli bulunmuştur. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da ( $p>0.05$ ) çalışmamızda belirlenen ve diğer yapılan çalışmalarda önceki yıllarla kıyaslandığında, daha yakın tarihlerdeki izolatlarda direnç oranının artmış bulunması önümüzdeki yıllar için bu sorunun giderek artacağını ve gerekli önlemlerin alınmasının önemini göstermektedir.

Rojas ve ark.'nın<sup>(35)</sup> 2011-2014 yılları arasındaki karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında yaptıkları kolistin duyarlılığı için sıvı mikrodilüsyon ve E-test yöntemini kıyasladıkları çalışmada kolistin direnci %13 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise, 2015-2017 arasındaki karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnç oranı %36.4 olarak bulunmuştur. Bu bulgular da yine yıllar geçtikçe kolistin direnç oranlarının arttığını gösterir yöndedir.

Bu durumda kolistin duyarlılığının altın standart olan sıvı mikrodilüsyon ile çalışıp direnç oranını belirlemek büyük önem taşımaktadır. Kolistin duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmasının rutin laboratuvar uygulamalarında kullanılmasıyla elde edilecek sonuçlar klinisyenlerin doğru tedaviyi vermesinde ve direnç oranlarının takip edilerek gerekli önlemlerin alınmasında daha etkili olacaktır. Tek ajan olarak kolistinin yüksek oranlarda kullanılması yerine başka antibiyotiklerle kombine edilerek sinerjik etkilerinin kullanılması hızla artan kolistin direnciyle mücadelede etkili bir yol olarak değerlendirilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kotapati S, Kuti J L, Nightingale C H, Nicolau D P. Clinical implications of extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* on cefepime effectiveness. *J Infect.* 2005;51(3):211-7. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.01.005>
2. Segatore B, Setacci D, Perilli M, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* producing complex  $\beta$ -lactamase patterns including extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob.* 2004;23(5):480-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.10.011>
3. Eftekhari F, Naseh Z. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and carbapenemase production among burn and non-burn clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Iran J Microbiol.* 2015;7(3):144-9. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767070-00006>
4. Deshpande LM, Rhomberg PR, Sader HS, Jones RN. Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of *Enterobacteriaceae* isolated in the United States Medical Centers: report from the MYSTIC Program (1999-2005). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;56(4):367-72. <https://doi.org/10.1128/AAC.02708-15>
5. Zhanel G G, Wiebe R, Dilay L, et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs.* 2007;67(7):1027-52. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
6. Parra Millán R, Jiménez Mejías ME, Sánchez Encinales V, et al. Efficacy of lysophosphatidylcholine in combination with antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii* in experimental murine peritoneal sepsis and pneumonia models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(8):4464-70. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
7. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(2):102-11. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03115.x>
8. Budak S, Aktaş Z, Erdem H. Enterik gram negatif bakterilerde laboratuvaradan kliniğe karbapenemazlar. *Mediterr J Infect Microbes Antimicrob* 2012;(1):1-11.
9. Queenan A M, Bush K. Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-58. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2441-7>
10. Matzneller P, Strommer S, Österreicher Z, Mitteregger D, Zeitlinger M. Target site antimicrobial activity of colistin might be misestimated if tested in conventional growth media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(10):1989-94. <https://doi.org/10.1111/jam.13169>
11. Osei Sekyere J, Govinden U, Bester LA, Essack SY. Colistin and tigecycline resistance in carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: emerging resistance mechanisms and detection methods. *J Appl Microbiol.* 2016;121(3):601-17. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.13>
12. Tüzemen NÜ, Efe K, Akalın H, Özkan C. Otomatize sistemde kolistin direnci saptanan izolatların gradyan difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Klinik Journal.* 2019;32(1):57-61. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.13>
13. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical pharmacokinetics and

- pharmacodynamics of colistin. Clin Pharmacokinet. 2017;56(12):1441-60.  
<https://doi.org/10.1007/s40262-017-0561-1>
14. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4625-30.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00868-15>
  15. Özkul-Koçak C, Hazirolan G. Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarında kolistin direnci. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2019;49(1):17-23.  
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2019.017>
  16. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Development of in-vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters. Approved Guideline. 3rd ed. CLSI Document M23-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
  17. Munoz-Price L S, Poirel L, Bonomo R A, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. Lancet Infect Dis. 2013;13(9):785-96.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70190-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7)
  18. Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. New Microbes New Infect. 2014;2(2):50-1.  
<https://doi.org/10.1002/nmi2.42>
  19. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(1):351-2.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00766-07>
  20. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. J Antimicrob Chemother. 2007;59(4):786-90.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkl562>
  21. Suh JY, Son JS, Chung DR, Peck KR, Ko KS, Song JH. Nonclonal emergence of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from blood samples in South Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):560-2.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.00762-09>
  22. Marchaim D, Chopra T, Pogue JM, et al. Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in metropolitan Detroit, Michigan. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(2):593-9.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.01020-10>
  23. Giske CG, Kahlmeter G. Colistin antimicrobial susceptibility testing-can the slow and challenging be replaced by the rapid and convenient?. Clin Microbiol Infect. 2018;24(2):93-4.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.10.007>
  24. Saygılı-Pekintürk N, Akgüneş A. Yatan hastalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotik direnç oranları: 2011-2015 verileri. Turk Hij Den Biyol Derg. 2017;74(3):221-8.  
<https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2017.66933>
  25. Candevir Ulu A, Kurtaran B, Inal AS, et al. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: a serious threat in ICUs. Med Sci Monit. 2015;21:219-24.  
<https://doi.org/10.12659/MSM.892516>
  26. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29(11):996-1011.  
<https://doi.org/10.1086/591861>
  27. Liste Ü, Nigiz Ş, Çakar A, Altun B, Sancak B, Gür D. Kan kültürlerinden izole edilen 151 *Klebsiella* izolatında mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen antibiyotiklere direnç oranları (2016-2017). 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 8-12 Kasım 2017, Antalya, PS:117.
  28. Piewngam P, Kiratisin P. Comparative assessment of antimicrobial susceptibility testing for tigecycline and colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, including multidrug-resistant isolates. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(5):396-401.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.014>
  29. Chew KL, La MV, Lin RTP, Teo JWP. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr-positive *Enterobacteriaceae*: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. J Clin Microbiol. 2017;55(9):2609-16.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.00268-17>
  30. Yiş R. Karbapenem dirençli Enterobacterales (KDE) izolatlarında kolistin duyarlılığını ne kadar doğru saptıyoruz? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-039.
  31. Yıldız SS, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgüzel FM. Fosfomisin çok ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinde çare mi, çaresiz mi? XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, 2018:SS-085.
  32. Tanrıverdi Çaycı Y, Hacıeminoğlu K, Birinci A. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının tedavisinde tigesiklin, kolistin, fosfomisin ve gentamisin antibiyotiklerinin etkinliğinin araştırılması. XXXVIII Türk

- Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-109.
33. Kahraman S, Ece G, Ocakçı S, Çağırğan S. Hastanemize başvuran hematolojik maligniteli hastalarda allogeneik hematopoetik kök hücre nakli esnasında gelişen enfeksiyonların değerlendirilmesi. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-040.
34. Arabacı Ç, Dal T, Başyığıt T, Genişel N, Durmaz R. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç mekanizmalarının değerlendirilmesi ve mcr-1 geninin araştırılması. XXXVIII Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4-8 Kasım 2018, Antalya; 2018:SS-084.
35. Rojas LJ, Salim M, Cober E, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory detection and impact on mortality. Clin Infect Dis. 2017;64(6):711-8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw805>