

Yakın Bir Tehlike: İnvaziv *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Çoklu Karbapenemaz Varlığı

An Imminent Threat: The Presence of Multiple Carbapenemases in Invasive *Klebsiella pneumoniae* Isolates

Süleyman Yalçın*, Gökçe Çiçek Karaman**, Ayşe Hande Türk*, Sinem Kaya**,
Hakan Farzin Mehmetzade*, Ramazan Gümrall***, Tuğrul Hoşbul***

* T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı, Ankara

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

*** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Atf/Cite as: Yalçın S, Karaman GÇ, Türk AH, et al. Yakın bir tehlike: İnvaziv *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında çoklu karbapenemaz varlığı. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2025;55(4):269-277.

Öz

Amaç: Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae* tedavi seçeneklerini kısıtlar, mortalite ve morbiditeyi ciddi etkiler niteliktedir. Birden fazla karbapenemaz içeren suşlar ise buz dağının görünmez kısmında ciddi bir tehlike oluşturan yeni bir olgu olarak karşımıza çıkmıştır. Çalışmamızda, izolatlarımızdaki karbapenemaz direnç genlerinin dağılımının ve klonal ilişkinin değerlendirilmesini amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya, 2024 yılı içerisinde kan kültüründen izole edilmiş, meropeneme dirençli 69 *K. pneumoniae* izolatı dahil edildi. İzolatlar matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile tanımlandı. Bakteri DNA'sı DNeasy kan ve doku kiti (Qiagen, Almanya) ile elde edildi. PCR reaksiyonları DreamTaq Green PCR Master Mix kiti (Thermo Scientific Chemicals, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Klonal ilişki "Pulsed field jel elektroforez" yöntemiyle değerlendirildi.

Bulgular: İzolatların 46'sı (%66.7) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan, 23'ü (%33.3) klinikte yatan hastalardan soyutlanmıştır. Tüm izolatlar ertapenem, meropenem, amoksisilin-klavulanat, piperasilin-tazobaktam, sefuroksim ve siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Seftazidim-avibaktam ve kolistine ise %43.5 (n=30) ve %34.8 (n=24) oranlarında duyarlı bulunmuştur. İzolatların tamamında en az bir karbapenemaz geni pozitif saptanmıştır. İzolatlarda tek başına blaOXA-48, blaKPC ve blaNDM-1 sırasıyla, %23.2, %23.2 ve %7.2 oranında saptanmıştır. İzolatların 32'sinde (%46.4) blaOXA-48 ve blaNDM-1 genleri birlikte bulunmuştur. Pulsed Field Jel Elektroforez analizinde 46 farklı genotip ve dokuz farklı küme belirlenmiştir.

Sonuç: Birden fazla karbapenemaz geni içeren *K. pneumoniae* suşlarının mevcut tedavi seçeneklerini daha da kısıtlamakta ve toplum sağlığı için önemli bir tehlike oluşturmaktadır. Bu suşların yayılımının önlenmesi için ortaya çıkış mekanizmalarının aydınlatılması ve aktif izlem çalışmalarının titizlikle sürdürülmesi gereklidir.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, karbapenemaz, Pulsed-Field Gel Electrophoresis

ABSTRACT

Objective: Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* restricts treatment options and increases mortality and morbidity. Strains harboring multiple carbapenemases have emerged as a new phenomenon posing a serious threat, like the hidden part of an iceberg. We aimed to evaluate the carbapenemase resistance genes distribution and clonal relationships in our isolates.

Methods: The study included 69 meropenem-resistant *K. pneumoniae* isolates obtained from blood cultures in 2024. The isolates were identified using matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Bacterial DNA was obtained using the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Germany). PCR reactions were performed using the DreamTaq Green PCR Master Mix kit (Thermo Scientific Chemicals, USA). Clonality was determined by pulsed-field gel electrophoresis.

Results: Of the isolates, 46 (66.7%) were from intensive care units and 23 (33.3%) from the clinical wards. All isolates were resistant to ertapenem, meropenem, amoxicillin clavulanate, piperacillin tazobactam, cefuroxime, and ciprofloxacin. Susceptibility of ceftazidime-avibactam and colistin were 43.5% (n=30) and 34.8% (n=24). At least one carbapenemase gene was detected in all isolates. In the isolates, blaOXA-48, blaKPC, and blaNDM-1 were detected at the rates of 23.2%, 23.2%, and 7.2%, respectively. blaOXA-48 and blaNDM-1 were coexisted in 32 (46.4%) isolates. In pulsed-field gel electrophoresis analysis, 46 different genotypes and nine different clusters were identified.

Conclusion: *K. pneumoniae* strains harboring multiple carbapenemase genes severely limit current treatment options and pose a significant threat to public health. To prevent the spread of these strains, it is necessary to shed light on the mechanisms and to sustain active surveillance efforts with rigorously.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, karbapenemaz, Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Alındığı tarih / Received:
03.09.2025 / 03.September.2025

Kabul tarihi / Accepted:
20.10.2025 / 20.October.2025

Yayın tarihi / Publication date:
24.12.2025 / 24.December.2025

ORCID Kayıtları

S. Yalçın 0000-0003-1434-2717
G. Ç. Karaman 0009-0001-9510-0244
A. H. Türk 0000-0003-1196-6161
S. Kaya 0000-0003-3911-5342
H. F. Mehmetzade 0000-0001-6787-0834
R. Gümrall 0000-0002-2303-8234
T. Hoşbul 0000-0002-0150-4417

✉ tugrulhosbul@gmail.com

GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç (AMD) gelir dağılım farkı gözetmeksizin küresel olarak halk sağlığını tehdit edici en önemli sorunlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotiklerin tıbbi, beşerî veya zirai alanda uygunsuz ve aşırı kullanımı bu sorunun gelişmesinde birincil nedenlerdendir⁽¹⁾. Bakteriye AMD'nin 2019 yılında dünya genelinde 1,27 milyon ölüme doğrudan neden olduğu ve 4,95 milyon ölüme etkili olduğu tahmin edilmektedir. AMD'nin küresel yükü incelendiğinde, 1990'dan 2021'e kadar 25.000'den fazla atfedilebilir yıllık ölüm artışına sahip dört patojen ve ilaç kombinasyonunun olduğu görülmüştür: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, çokilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis*, karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (CR-Kp)⁽²⁾. *Enterobacterales* takımının bir üyesi olan *K. pneumoniae*, sıklıkla gastrointestinal sistem ve daha az olmak üzere solunum yollarında bulunan, başlıca kan ve dolaşım sistemi, idrar ve solunum yollarında, ayaktan ve yatan hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olan bir patojendir^(3,4). Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* hareketli genetik elemanlar aracılığıyla karbapenem ve farklı gruptan çok sayıda antibiyotiğe direnç geliştirmesi, türler arası direncin hızla yayılabilmesi, tedavi seçeneklerinin son derece kısıtlı olması, yüksek morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerine yol açan ciddi sistemik enfeksiyonların en sık sebeplerinden biri olması nedeniyle, Avrupa dahil tüm dünyada en dikkat çekici gram negatif bakteriler arasındadır^(5,6).

Karbapenemler genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacterales* üyelerine etkili son seçenek antibiyotikler olarak kabul edilmektedir⁽³⁾. Bu bakteri grubunda karbapenem direnci, başlıca karbapenemaz enzim üretiminden ve ikincil olarak sefalosporinaz gibi diğer beta-laktamazların üretiminin yanı sıra karbapenemlerin bakteriyel hücre içi geçirgenliğinin azalması ile gelişmektedir⁽¹⁾. Son yıllarda *K. pneumoniae* izolatlarının karbapenemlere direncinde artan bir eğilim görülmekle birlikte, direnç oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Orta Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (CAESAR) 2023 yılı raporunda, ülkemizin de aralarında bulunduğu 15 ülke (%33) invaziv *K. pneumoniae*

izolatlarında karbapenem direncini ≥ 25 ; sekiz ülke de (%18) (Belarus, Gürcistan, Yunanistan, Moldova, Romanya, Rusya, Sırbistan ve Ukrayna) ≥ 50 direnç oranları bildirilmekte ve ülkemizin belirtilen rapordaki 2021 yılı verisi ise endişe verici bir seviyeye ulaşmış ve %49.1 olarak ifade edilmektedir⁽⁷⁾. Antimikrobiyal direnç sorununun giderilmesi maksadıyla özellikle DSÖ tarafından yaklaşık 10 yıl kadar önce küresel eylem planı adı altında bir faaliyetler dizisi planlanmıştır. Bu eylem planının bir parçası yeni antimikrobiyallerin geliştirilmesi amacıyla araştırmaların teşvik edilmesidir⁽⁸⁾. Gram negatif bakterilere yönelik yeni antibiyotiklerin geliştirilmesinin temel nedeni artan karbapenem direncidir ve bu antibiyotikler karbapenemlerin yerini almaktan ziyade, karbapenemleri koruyucu nitelikte kullanılmaktadır⁽⁹⁾. Yakın dönemde tedavi seçenekleri arasına giren seftazidim-avibaktam (CAZ-AVI) bu antibiyotiklerden birisidir.

Karbapenemaz üretimi *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç gelişiminden sorumlu birincil mekanizmadır. Özellikle KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz), IMP (imipenemaz), VIM (Verona-integron mediated metallo-beta-laktamaz), NDM (New Delhi metallo-beta-laktamaz) ve OXA-48 (oksasilinaz-48)'den oluşan karbapenemaz direnç genlerinin bölgesel ve küresel dağılımının araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. KPC karbapenemaz küresel olarak en yaygın karbapenemaz olarak değerlendirilirken, ülkemiz geçmiş verilerine göre OXA-48 hakimiyeti söz konusudur^(8,10). Ancak ülkemizde yakın zamanlarda KPC ve NDM yüzdeleri ile birden fazla karbapenemaz geni taşıyan izolat oranlarının belirgin artış gösterdiği yönünde çalışmalar mevcuttur^(11,12). Birden fazla karbapenemaz genine sahip bakteriler yeni bir olgu olarak dikkate değer öneme sahiptir. Yataklı tedavi merkezlerinin fiziki imkanları, sahip olduğu birimler, hizmet ettiği popülasyon ve hatta hasta tedavi seçeneği antibiyotikler ve kullanım tercihleri gibi çok çeşitli faktörler direncin ve direnç genlerinin dağılımı ve değişkenliği üzerinde etkilidir. İlaç direnç oranlarının ve dirence neden olabilecek genetik mekanizmalarının takibi süreyansın vazgeçilmez unsurlarıdır. Tüm endişe uyandıran ve kritik önemi olan istatistiklere rağmen süreyans çalışmaları yetersiz kalabilmektedir. Bu çalışmada, karbapenem dirençli invaziv *K. pneumoniae* izolatlarında birden fazla

karbapenemaz direnç geninin varlığının araştırılması, izolatların klonal ilişkilerinin değerlendirilmesi ve ayrıca antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma SBÜ Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Müdahale olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.06.2025 tarih ve 2025/93 sayı) onaylanmıştır.

Bakteriyel İzolatlar ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri: SBÜ Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği'nde Nisan–Eylül 2024 tarihleri içerisinde farklı hastalara ait kan kültürü örneklerinden izole edilen meropenem dirençli toplamda 69 *K. pneumoniae* izolatı dahil edildi. İzolatların tanımlamaları matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ile gerçekleştirildi. İzolatlar %15 gliserol takviye edilmiş beyin-kalp infüzyon sıvısında -80°C'de saklandı. Stok haldeki izolatlar 10 mg/ml meropenem içeren triptik soy agara (TSA) pasajlandı ve besiyerinde üreme gösteren izolatlar çalışmaya alındı. İzolatların karbapenemlere duyarlılıkları VITEK[®]2 sistemiyle (bioMérieux, Fransa) belirlendi. Seftazidim-avibaktam ve kolistin duyarlılığı sırasıyla Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon (Sensititre, Thermo Scientific Chemicals, ABD) yöntemi ile değerlendirildi.

Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 27853, *Escherichia coli* ATCC[®] 25922, *K. pneumoniae* ATCC[®] 700603 ve *E. coli* NCTC 13846 kontrol suşları kullanıldı. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi sonuçları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST, European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing) kriterlerine göre yorumlandı⁽¹³⁾.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR): Triptik soya agarda üreyen bakteri kolonileri fosfat tamponlu salin içerisinde süspansiyon edildi ve DNeasy kan ve doku kiti (Qiagen, Almanya) ile üreticinin önerileri doğrultusunda bakteriyel DNA eldesi yapıldı. Bakteriyel DNA'lar Invitrogen Qubit RNA HS Assay kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile Qubit flex cihazında ölçüldü ve PCR reaksiyonlarında kullanılmak üzere -20°C'de saklandı. Karbapenemaz direnç genleri için PCR reaksiyonları DreamTaq Green PCR Master Mix (2X, Thermo Scientific Chemicals, ABD) kullanılarak multipleks olacak şekilde; 12.5 µl karışım, 10 µl her bir primerler (Tablo 1); 2.5 µl DNA olacak şekilde toplam 25 µl'lik hacimde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonları, 95°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonu ve 95°C'de 1 dakika, 60°C'de 30 saniye ve 72°C'de 1.5 dakikadan oluşan 35 döngü ve 72°C'de 10 dakika son uzama olacak şekilde uygulandı⁽¹⁴⁻¹⁸⁾. PCR reaksiyonlarında *blaIMP* için *E. coli* NCTC 13476, *blaKPC* için *K. pneumoniae* NCTC 13438, *blaOXA-48* için *K. pneumoniae* NCTC 13442, *blaNDM* için *K. pneumoniae* NCTC 13443, *blaVIM* için *K. pneumoniae* NCTC 13440 pozitif kontrol suşları kullanıldı.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler ve dizilimleri

Direnç geni	Primer dizilimi (5'-3')	PCR ürünü (Baz çifti)	Kaynak
<i>bla_{OXA-48}</i>	TTGGTGGCATCGATTATCGG	733	(14)
	GAGCACTTCTTTGTGATGGC		
<i>bla_{NDM-1}</i>	GTAGTGCTCAGTGC GG CAT	476	(15)
	GGGCAGTCGCTTCCAACGGT		
<i>bla_{VIM}</i>	GTGTTTGGTCGCATATCGC	380	(16)
	CGCAGCACCAGGATAGAAG		
<i>bla_{IMP}</i>	CTACCGCAGCAGAGTCTTTGC	591	(17)
	GAACAACCAGTTTGCCTTACC		
<i>bla_{KPC}</i>	ATGTCAGTATCGCCGTC	893	(18)
	TTTTCAGAGCCTTACTGCC		

Pulsed Field Jel Elektroforez (PFGE) ve Analizi: İzolatların klonal ilişkisini analiz etmek için PFGE, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi⁽¹⁹⁾. Bakteriyel DNA *Xba*I enzimi (Takara, Japonya) ile kesildi ve CHEF-DR III sistemi (Bio-Rad Lab, Nazareth, Belçika) kullanılarak, %1 SeeKem Gold agarozda (Lonza, İsviçre), 200 V (6 V/ cm), 14°C'de, 120° vuruş açısında, atım zamanı 5-40 sn olacak şekilde 22 saatlik sürede elektroforez gerçekleştirildi. Süre sonunda jel etidyum bromür ile boyandı, ultraviyole ışığı altında görüntüleme cihazı ile görüntülendi ve fotoğraflandı. Jel görüntüleri için dendrogram ve küme analizi, Unweighted Pair Group Method with the Mathematical Average (UPGMA) yöntemi ve Dice benzerlik katsayısı ile Bionumerics 7.5 (Applied Maths, Belçika) programı kullanılarak oluşturuldu. Dice metodu için tolerans %5 ve benzerlik sınırı %90 olarak belirlendi. İzolatların benzerlik katsayıları karşılaştırıldı ve birbirleriyle %90'ın üzerinde benzerlik gösteren suşların aynı klona ait olduğu kabul edildi. Benzerlik oranları %90'ın altında olan suşlar ise farklı klonlar olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz: Sürekli değişkenler ortalama, standart sapma (SD), medyan, minimum ve maksimum değerlerle; kategorik değişkenler ise frekans (n) ve yüzde (%) ile tanımlandı. Kategorik veriler ki-kare testi veya Fisher'in kesin olasılık testi kullanılarak değerlendirildi ve <0.05 olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İzolatların %52.2 (n=36)'si kadın, %47.8 (n=33)'ü erkek hastalara ait kan kültür örneklerinden elde edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 65.6 yıl (SD: 20.4; min-maks: 10-93; medyan: 71) olarak bulunmuştur. Erkek hastalarda bu değer 61.4 yıl (SD: 22.3; min-maks: 10-93; medyan: 71), kadın hastalarda ise 69.4 yıl (SD: 18.0; min-maks: 10-91; medyan: 73.5) olarak hesaplanmıştır. İzolatların 46'sı (%66.7) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan [(anesteziyoloji ve reanimasyon (n=11, %14.5), iç hastalıkları (n=11, %14.5), cerrahi (n=10, %14.5), nöroloji (n=9, %13.0), göğüs hastalıkları (n=2, %2.9),

pediatri (n=2, %2.9), beyin ve sinir cerrahisi (n=1, %1.4) yoğun bakım üniteleri], 23'ü (%33.3) klinik yatan hastalarından [(onkoloji (n=4, %5.8), genel cerrahi (n=3, %4.3), gastroenteroloji (n=3, %4.3), iç hastalıkları (n=3, %4.3), hematoloji (n=2, %2.9), plastik ve rekonstrüktif cerrahi (n=2, %2.9), nefroloji, nöroloji, yanık, palyatif, üroloji ve ortopedi servisleri (n=6, %8.4)] soyutlanmıştır.

Yalnızca imipeneme yüksek dozda duyarlı saptanan üç (%4.3) izolat haricinde kalan tüm izolatlar karbapenemlere dirençli bulunmuştur. İzolatların tümü amoksisilin klavunat, piperasilin tazobaktam, sefuroksim ve siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Seftriakson ve sefepime %92.8; seftazidim, amikasin, trimetoprim sülfametoksazole sırasıyla %91.3; %72.5; %73.9 direnç oranları belirlenmiştir. İzolatlar alternatif tedavi seçenekleri olan seftazidim avibaktam ve kolistine sırasıyla %43.5 (n=30) ve %34.8 (n=24) oranlarında duyarlı bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. İzolatların antibiyotiklere olan duyarlılıkları (n = 69)

Antibiyotikler	SDD* Sayı (%)	YDD** Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)
AMC			69 (100.0)
TPZ			69 (100.0)
CXM			69 (100.0)
FOX			69 (100.0)
CAZ	6 (8.7)		63 (91.3)
CRO	2 (2.9)	3 (4.3)	64 (92.8)
FEP		5 (7.2)	64 (92.8)
CIP			69 (100.0)
AK	19 (27.5)		50 (72.5)
SXT	17 (24.6)	1 (1.4)	51 (73.9)
ERT			69 (100.0)
IMP		3 (4.3)	66 (95.7)
MEM			69 (100.0)
CAZ-AVI+	30 (43.5)		39 (56.5)
CL++	24 (34.8)		45 (65.2)

*SDD: Standart dozda duyarlı; **YDD: Yüksek dozda duyarlı; MEM: Meropenem; CAZ: Seftazidim; CAZ-AVI: Seftazidim-avibaktam; CL: Kolistin; MK: Minimum inhibitör konsantrasyon; + Disk difüzyon; ++ Sıvı mikrodilüsyon

Tablo 3. İzolatlarda saptanan karbapenemaz genlerinin dağılımı

Karbapenemaz Geni	Klebsiella pneumoniae (n=69)
	Sayı (%)
<i>bla_{OXA-48}</i>	16 (23.2)
<i>bla_{KPC}</i>	16 (23.2)
<i>bla_{NDM-1}</i>	5 (7.2)
<i>bla_{OXA-48}+bla_{NDM-1}</i>	32 (46.4)
<i>bla_{VIM}</i>	-
<i>bla_{IMP}</i>	-
Toplam	69 (100.0)

Çalışmamızda incelenen izolatların tamamında en az bir karbapenemaz geninin pozitif olduğu saptanmıştır. İzolatların 16'sında (%23.2) yalnızca *bla_{OXA-48}*, yine 16'sında (%23.2) yalnızca *bla_{KPC}* ve beşinde (%7.2) sadece *bla_{NDM-1}* geni tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 32 izolatta (%46.4) *bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM-1}* genlerinin birlikte bulunduğu belirlenmiştir. Toplamda en sık saptanan genler *bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM-1}* olup, sırasıyla izolatların 48'inde (%69.6) ve 37'sinde (%53.6) tespit edilmiştir. İzolatlarda *bla_{VIM}* ve *bla_{IMP}* genleri ise saptanmamıştır (Tablo 3).

Pulsed Field Jel Elektroforez dendogram benzerlik eşiği %90 (tolerans 5.0) şeklinde dikkate alınarak yapılan analizde, 46 farklı genotip ve dokuz farklı küme belirlenmiştir. En büyük iki klonal grup, 15 izolat içeren küme-A ve 15 izolat içeren küme-B olarak tanımlanmıştır. Diğer kümeler ise şu şekilde sıralanmıştır: Küme-C (dokuz izolat), küme-D (dört izolat), küme-E (dört izolat), küme-F (üç izolat), küme-G (üç izolat), küme-H (iki izolat) ve küme-I (iki izolat). İzolatların 12'si ise herhangi bir küme içerisinde yer almamıştır (Şekil 1).

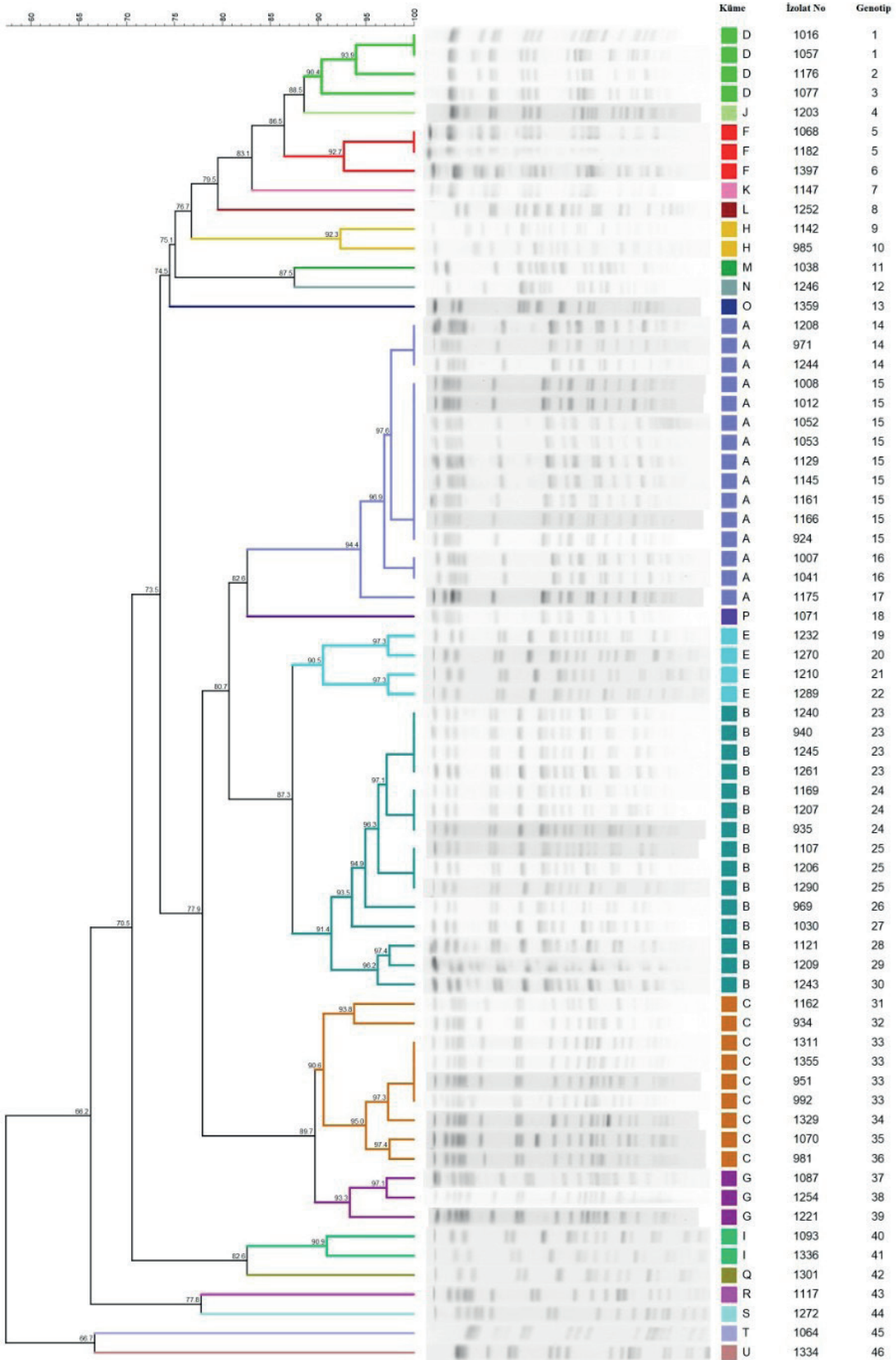
TARTIŞMA

Karbapenemlerin yaygın kullanımı nedeniyle *Enterobacterales* üyelerinde bu antibiyotik grubuna artan direnç eğilimi, yeni tedavi seçeneklerini zorunlu kılan, morbidite ve mortalite oranlarını artıran ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu bakteri takımının hem ülkemiz ve hem de diğer ülkeler için en önemli sorun teşkil eden türü ise *K. pneumoniae*'dir⁽²⁰⁾.

K. pneumoniae'da karbapenem direnç gelişiminin başlıca sorumlu mekanizması özellikle OXA, KPC ve NDM olmak üzere karbapenemazların üretimidir. Karbapenemazları kodlayan genler çoğunlukla horizontal olarak aktarılabilen hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunurlar ve son dekada kadar sıklıkla tek bir geni taşıyan bakteriler bildirilmiştir. Bakteriyel enfeksiyonlara karşı yaklaşık bir asırdır sürdürülen antibiyotikler ile mücadele, son çare olarak kullanılan antibiyotiklerde dahi endişe verici direnç oranlarının ortaya çıkması nedeniyle, yeni veya yeniden önem kazanan tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve uygulanmasını kaçınılmaz hale getirmiştir. Bunlar arasında, kolistin gibi geçmişte kullanılan antibiyotiklerin yeniden klinik kullanımı, bakteriyofajlar gibi geçmiş alternatif tedavi ajanların yeniden önem kazanması, antisense oligonükleotid, RNA interferans, CRISPR-Cas teknolojisi gibi RNA temelli terapötik uygulamaların yanı sıra antimikrobiyal peptid ve antikorların kullanımı sayılabilir^(21,22).

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), dirençli gram negatif enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere son yıllarda 10 yeni antibiyotiğin kullanımına onay vermiştir⁽¹⁾. Bu antibiyotikler arasında yer alan seftazidim-avibaktam, ülkemizde 2019 yılı sonlarına doğru klinik kullanım onayı almış olup, özellikle OXA ve KPC karbapenemazlara karşı in vitro ve in vivo etkinliği gösterilmiş bir ajandır^(11,23,24). Ne var ki, birden fazla karbapenemaz genini taşıyan *K. pneumoniae* izolatlarının saptanması ve bu durumun farklı coğrafyalarda artış göstermesi, söz konusu izolatlarda daha yüksek litik aktiviteye ve daha fazla virülans faktörünün eşlik etmesini beraberinde getirmekte; daha geniş bir antibiyotik direnç spektrumu kazanmalarına ve geliştirilen alternatif tedavi seçenekleri de dahil olmak üzere mevcut tedavi olanaklarının daha da kısıtlanmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada, merkezimizde karbapenem dirençli *K. pneumoniae* kan izolatlarında karbapenemaz genlerinin dağılımı ve klonal ilişkilerinin araştırılmasına ek olarak, karbapenem koruyucu antibiyotikler başta olmak üzere antibiyotik duyarlılık profilleri değerlendirilmiştir.

Birden fazla karbapenemaz taşıyan bakteriler ve son yıllardaki dünya genelinde artış gösteren oranları



Şekil 1. Araştırmada çalışılan izolatların pulsed field jel elektroforez dendrogramı

dikkat çekici bir olgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Toplamda 277 makalenin derlendiği bir çalışmada, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* çoklu karbapenemaz bildirilen en sık bakteriler olarak ifade edilmekte ve birden fazla karbapenem direnç geni taşıyan 100'den fazla izolatın rapor edildiği ülkeler sırasıyla Çin, Hindistan, İran, Tayland, Türkiye ve Güney Kore olarak bildirilmektedir. Üstelik, *bla*_{NDM} ile *bla*_{OXA} (%56.76) ve *bla*_{KPC} ile *bla*_{VIM} (%50.0) gibi bazı karbapenemaz geni birlikteliklerinin daha yüksek yüksek mortalite oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur⁽⁵⁾. Niu ve ark. nın⁽²⁵⁾ 13'ü iki karbapenemaz taşıyan toplam 68 metallo-beta-laktamaz (MBL) pozitif *K. pneumoniae* izolatında aztreonam-avibaktam (ATM-AVI) ve CAZ-AVI etkinliğini değerlendirmiş; beş izolat (üçü yalnız MBL, ikisi çift karbapenemaz) ATM-AVI dirençli mutant suşların varlığını incelemişlerdir. İki karbapenemaz geni taşıyan bir izolatta mutantların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ≥ 128 µg/ml'ye, CAZ-AVI değerleri ise >8 kat artış göstermiştir. Guo ve ark. nın⁽²⁶⁾ iki karbapenemaz genini taşıyan toplam 832 CR-Kp suşunun genom dizilerini National Center for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanından elde ettikleri çalışmada, izolatların %79.9'unun (n=665) *bla*_{NDM} ve *bla*_{OXA-48}, %12.4'ünün (n=103) *bla*_{KPC} ve *bla*_{NDM} birlikteliğine sahip olduğu; bu suşlarının prevalansının ise 2010'da %0.4 iken, 2021'de %9.67'ye yükseldiği bildirilmektedir.

Ülkemizde *bla*_{OXA-48} karbapenemaz geni, ilk olarak 2001 yılında bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda tanımlanmış olup, halen *K. pneumoniae* izolatları için en sık bildirilen direnç genini oluşturmaktadır⁽²⁷⁻²⁹⁾. Yaklaşık olarak 10 yıl ve öncesine göre, yakın zamanlarda yürütülmüş olan çalışmalarda tek başına *bla*_{KPC} (%4.8–16.7) ve *bla*_{NDM} (%4.7–20.6) oranları da dikkate değer şekilde artış göstermektedir^(11,30-32). Benzer şekilde, çalışmalarda birden fazla karbapenemaz geni taşıyan izolatların sayısında belirgin bir artış söz konusudur. Özellikle *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM} birlikteliğini (%6.9–12.6) raporlayan çalışmalar dikkat çekicidir⁽³⁰⁻³²⁾. Çalışmamızda 32 izolat (%46.4) *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte bulunmuş, genel olarak en sık saptanan genler *bla*_{OXA-48} (n=48, %69.6) ve *bla*_{NDM-1} (n=37, %53.6) olmuştur. Özellikle MBL genleri gibi, *bla*_{OXA-48} dışındaki karbapenemaz

genlerini taşıyan izolatların artan sıklıkta bildirilmesi son yıllarda klinik kullanıma giren CAZ-AVI başta olmak üzere, karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerinin tedavisinde mevcut seçeneklerin daha da kısıtlanmasına yol açmaktadır.

Çalışmamız izolatlarında karbapenem direncinden sorumlu başlıca mekanizmalar PCR yöntemiyle, klonal ilişki ise PFGE ile değerlendirilmiştir. Özellikle antimikrobiyal duyarlılık ve direnç mekanizmaları gibi epidemiyolojik verileri inceleyen çalışmalarda, izolatlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmemiş olması önemli bir eksiklik olarak değerlendirilebilir. Çalışmamız bu eksiklikleri içermese de bazı kısıtlılıklara sahiptir. Çalışmanın tek merkezli olarak yürütülmesi ve belirli sayıda izolatı kapsaması başlıca kısıtlılıklarımızdır. Bir diğer kısıtlılık da çalışmada birden fazla karbapenemaz geni taşıyan izolatların virülans özelliklerinin değerlendirilmemesi olarak belirtilebilir.

Ancak daha önce ifade edilen olumlu özellikleri ve elde edilen bulgular ışığında, çalışmamızın özellikle merkezimizde *K. pneumoniae* nedenli enfeksiyonların tedavi seçeneklerini yönlendirici, ayrıca surveys, enfeksiyon önleme ve kontrol programları için önemli katkılarının olacağı değerlendirilmektedir. Patojenlerin zaman içerisindeki direnç durumlarının fenotipik ve genotipik dağılımı ile eğilimlerinin merkezler bünyesinde, aynı coğrafya ve farklı coğrafi bölgelerde izlenmesi, özellikle dirençli türlerin tedavisinde alternatif olarak geliştirilen yeni antibiyotik seçeneklerinin etkinliğinin değerlendirilmesi, bu seçeneklerin klinik yansımalarının ortaya konulması ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma SBÜ Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Müdahale Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (12.06.2025 tarih ve 2025/93 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of SBU Gülhane Training and Research Hospital, Non-Invasive Scientific Research Ethics Committee (06.12.2025; 2025/93).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

- Aslan AT, Paterson DL. Epidemiology and clinical significance of carbapenemases in Australia: a narrative review. *Intern Med J*. 2024;54(4):535-44. <https://doi.org/10.1111/imj.16374>
- GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990-2021: GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. *Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990-2021: A systematic analysis with forecasts to 2050*. *Lancet*. 2024;404(10459):1199-226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)
- Chatzidimitriou M, Kavvada A, Kavvadas D, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the Balkans: Clonal distribution and associated resistance determinants. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2024;71(1):10-24. <https://doi.org/10.1556/030.2024.02230>
- Karampatakis T, Tsergouli K, Behzadi P. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(2):234. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020234>
- Yuan PB, Dai LT, Zhang QK, et al. Global emergence of double and multi-carbapenemase producing organisms: Epidemiology, clinical significance, and evolutionary benefits on antimicrobial resistance and virulence. *Microbiol Spectr*. 2024;12(7):e0000824. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00008-24>
- Maraki S, Mavromanolaki VE, Magkafouraki E, et al. Epidemiology and in vitro activity of ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relebactam, eravacycline, plazomicin, and comparators against Greek carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Infection*. 2022;50(2):467-74. <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01735-1>
- European Centre for Disease Prevention and Control & World Health Organization. Regional Office for Europe. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023-2021 data. Regional Office for Europe. 2023. [<https://iris.who.int/handle/10665/366822>] (Accessed on: September.2025).
- Brkic S, Cirkovic I. Carbapenem-resistant *Enterobacterales* in the Western Balkans: Addressing gaps in European AMR Surveillance Map. *Antibiotics (Basel)*. 2024;13(9):895. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090895>
- Sheu CC, Chang YT, Lin SY, Chen YH, Hsueh PR. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: An update on therapeutic options. *Front Microbiol*. 2019;10:80. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00080>
- Hansen GT. Continuous evolution: Perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among *Enterobacterales* and other Gram-negative bacteria. *Infect Dis Ther*. 2021;10(1):75-92. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00395-2>
- Hoşbul T, Aydoğan CN, Kaya S, Bedir O, Gümral R, Albay A. In vitro activity of ceftazidime-avibactam and colistin against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Mikrobiyol Bul*. 2022;56(2):218-29. <https://doi.org/10.5578/mb.20229803>
- Eren-Kutsoylu ÖÖ, Ceylan-Çimendağ H, Sari-Kaygisiz AN, et al. Ceftazidime-avibactam resistance determination in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections before its use in practice. *J Infect Dev Ctries*. 2024;18(7):1020-5. <https://doi.org/10.3855/jidc.18371>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, valid from 2025-01-01, 2025.
- Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(1):559-62. <https://doi.org/10.1128/AAC.05289-11>
- Mushtaq S, Irfan S, Sarma JB, et al. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(9):2002-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr226>
- Garza-Ramos U, Morfin-Otero R, Sader HS, et al. Metallo- β -lactamase gene bla(IMP-15) in a class 1 integron, In95, from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital in Mexico. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(8):2943-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.00679-07>
- Zowawi HM, Sartor AL, Balkhy HH, et al. Molecular characterization of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the countries of the Gulf Cooperation Council: Dominance of OXA-48 and NDM producers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(6):3085-90. <https://doi.org/10.1128/AAC.02050-13>

18. Gómez-Gil MR, Paño-Pardo JR, Romero-Gómez MP, et al. Detection of KPC-2-producing *Citrobacter freundii* isolates in Spain. J Antimicrob Chemother. 2010;65(12):2695-7. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq352>
19. CDC. Modified Pulse-Net procedure for Pulsed-field Gel Electrophoresis of select Gram negative bacilli. Document no: CEM.TE.C.0002. CDC, 2014. [<https://www.cdc.gov/gram-negative-bacteria/media/pdfs/Modified-PulsedNet-Procedure-GNB-P.pdf>] (Accessed on: September.2025).
20. Jean SS, Ko WC, Liu IM, Hsieh PC, Hsueh PR. Geographic differences in susceptibility profiles of potential non-class B carbapenemase-producing *Enterobacterales* isolates against ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, colistin, amikacin, gentamicin, and tigecycline: Data from the Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance, 2018–2022. Int J Antimicrob Agents. 2024;64(6):107363. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2024.107363>
21. Zhu Y, Zhu L, Wang X, Jin H. RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. Cell Death Dis. 2022;13(7):644. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05075-2>
22. Hu H, Shi Q, Zhang P, et al. Prevalence and molecular characteristics of colistin-resistant isolates among clinically isolated carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China. Int J Antimicrob Agents. 2023;62(2):106873. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.106873>
23. Lee YL, Ko WC, Hsueh PR. Geographic patterns of global isolates of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and the activity of ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, and comparators against these isolates: Results from the Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance (ATLAS) program, 2020. Int J Antimicrob Agents. 2022;60(5-6):106679. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106679>
24. Luterbach CL, Qiu H, Hanafin PO, et al. A systems-based analysis of mono- and combination therapy for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother. 2022;66(10):e0059122. <https://doi.org/10.1128/aac.00591-22>
25. Niu S, Wei J, Zou C, et al. In vitro selection of aztreonam/avibactam resistance in dual-carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2020;75(3):559-65. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz468>
26. Guo H, Wu Y, Li L, Wang J, Xu J, He F. Global emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* co-carrying multiple carbapenemases. Comput Struct Biotechnol J. 2023;21:3557-63. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.07.013>
27. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(1):15-22. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>
28. Isler B, Özer B, Çınar G, et al. Characteristics and outcomes of carbapenemase harbouring carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. bloodstream infections: a multicentre prospective cohort study in an OXA-48 endemic setting. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2022;41(5):841-7. <https://doi.org/10.1007/s10096-022-04425-4>
29. Hazirolan G, Karagöz A. Emergence of carbapenemase-producing and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST101 high-risk clone in Turkey. Acta Microbiol Immunol Hung. 2020;67(4):216-21. <https://doi.org/10.1556/030.2020.01275>
30. Süzük Yıldız S, Şimşek H, Bakkaloğlu Z, et al. Türkiye’de 2019 yılı içinde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz epidemiyolojisi. Mikrobiyol Bul. 2021;55(1):1-16. <https://doi.org/10.5578/mb.20124>
31. Zarakolu P, Eser ÖK, Otlı B, et al. In-vitro activity of fosfomycin against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates and frequency of OXA-48, NDM, KPC, VIM, IMP types of carbapenemases in the carbapenem-resistant groups. J Chemother. 2022;34(4):235-40. <https://doi.org/10.1080/1120009X.2021.1963618>
32. Kurt AF, Tanrıverdi ES, Yalçın M, et al. Resistance genes and mortality in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias: Effects of the COVID-19 pandemic. Balkan Med J. 2024;41(5):357-68. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2024.2024-5-99>