

***Klebsiella pneumoniae* Klinik Suşlarında, 2012-2020 Yılları Arasında Karbapenem Direnç Oranlarındaki Değişimin ve Direnç Genlerinin Araştırılması**

*Investigation of Carbapenem Resistance Ratio Changes and Resistance Genes in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* Between 2012 to 2020*

Murat Telli*[✉]

* Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Atf/Cite as: Telli M. *Klebsiella pneumoniae* klinik suşlarında, 2012-2020 yılları arasında karbapenem direnç oranlarındaki değişimin ve direnç genlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2022;52(2):95-102.

Öz

Amaç: Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi ülkemizde ve dünyada çok ciddi sorundur. Karbapenem direnci bakteride çeşitli mekanizmalar ile oluşmakta ve bunun en sık nedeni karbapenemaz enzim üretimidir. Çalışmamızın amacı; hastanemizde 2012-2020 yılları arasında direnç oranlarındaki değişimin ve dirence neden olan karbapenemaz enzim tiplerinin araştırılmasıdır.

Yöntem: 2012-2020 yılları arasında laboratuvarımıza gönderilmiş çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş *K. pneumoniae* suşlarından, karbapenemlere dirençli olarak bulunmuş olanlar çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu suşlarda KPC, OXA-48, NDM, IMP ve VIM direnç genleri polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır.

Bulgular: 2012-2020 yılları arasında toplam 291 (%7.5) adet karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşu bulunmuştur. Suşların sahip olduğu direnç genlerinin dağılımı; tek bir direnç genine sahip suşların sayısı OXA-48, NDM-1, KPC ve VIM sırasıyla, 113 (%38.8), 32 (%11.0), 7 (%2.4), 5 (%1.7). Birden fazla direnç genine sahip suşların dağılımı ise şöyleydi: OXA-48+NDM 123 (%42.3), OXA-48+KPC iki adet, OXA-48+VIM iki adet, NDM+KPC bir adet ve NDM+IMP bir adet olarak bulunmuştur.

Sonuç: Hastanemizde, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşları yıllar içinde giderek artan oranda bulunmuştur. OXA-48 direnç geni en sık (%38.8) tekil gen olarak bulunmuştur. NDM direnç geni ise ikinci sıklıkta bulunmuştur. Bunun yanında ise OXA-48+NDM ikili gen varlığı hastanemiz en sık (%42.3) direnç mekanizması olarak bulunmuştur. Bu nedenlerle, KDKp suşlarında düzenli epidemiyolojik taramalarının ve direnç mekanizmalarının bölgesel ve ulusal olarak araştırmalarının yapılmasının bu bakteriye bağlı enfeksiyonların tedavisinde ve direncin kontrolünde çok önemli olduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, karbapenemlere direnç, karbapenemazlar

ABSTRACT

Objective: Infections due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* has been a serious problem in our country and the world. Carbapenem resistance occurs in several mechanism, where the most common one is the production of carbapenemase enzyme. The aim of this study is to investigate the changes in resistance ratio and resistance mechanism in our hospital between 2012 to 2020.

Methods: Carbapenem resistant strains that has been detected in *K. pneumoniae* strains isolated from several clinical samples were included in this study. KPC, OXA-48, NDM, IMP and VIM resistance genes were investigated by polymerase chain reaction.

Results: A total of 291 (7.5%) carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates were identified between 2012 and 2020. The distribution of the resistant genes of strains was as follows: strains with single genes: OXA-48, NDM-1, KPC and VIM were 113 (38.8%), 32 (11.0%), 7 (2.4%) and 5 (1.7%), respectively. Strains with multiple genes were identified as follows: OXA-48+NDM was 123 (42.3%), OXA-48+KPC was 2 and one strain of each for OXA-48+VIM, NDM+KPC, NDM+IMP.

Conclusion: The ratio of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains was found to be elevated in our hospital. OXA-48 resistance gene was the most prevalent (38.8%) single gene, followed by NDM resistance genes. In addition, coexistence of OXA-48+NDM (42.3%) genes was the most prevalent resistance mechanism in our hospital. Therefore, continuous screening of resistance in KDKp strains, and investigation of resistance mechanisms in local and national studies are highly important in the treatment of infections due to these bacteria and control of resistance.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, resistance of carbapenems, carbapenemase

Alındığı tarih / Received:
19.11.2021 / 19.November.2021

Kabul tarihi / Accepted:
14.02.2022 / 14.February.2022

Erken çevrimiçi / First Published:
10.06.2022 / 10.June.2022

ORCID Kayıtları

M. Telli 0000-0003-2648-881X

✉ mutelli@hotmail.com

GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan *Klebsiella* spp., saprofit bir cinstir. *Klebsiella pneumoniae* ise bu cinsin insanda oluşturduğu enfeksiyonların %70'inden sorumlu olan türdür. *Klebsiella pneumoniae*, gastrointestinal sistemde, deride, nazofarenkste, kolonize hâlde bulunabilir. Nekrotizan pnömoni, piyojenik karaciğer absesi, endoftalmi gibi ciddi toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilir. 1970'den sonra ise önemli bir nozokomiyal enfeksiyon etkeni olmuştur. Özellikle ciddi idrar yolu enfeksiyonu, solunum yolu enfeksiyonu ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olmaktadır⁽¹⁾.

Özellikle 1980'lerden sonra artmaya başlayan antibiyotiklere direnci nedeniyle *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisi, büyük sorun hâline gelmeye başlamıştır. Sefalosporinler, aminoglikozidler ve kinolonlar *K. pneumoniae*'nin tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotiklerdir. Bunlara karşı gelişen direnç ampirik tedavide yetersizliklere ve hasta mortalite ve morbiditesinde artışa neden olmaktadır. Bunun yanında, nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde de önemli ölçüde tedavi sorunları oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün global düzeyde, antibiyotiklere dirençli bakteriler listesinde, en başta yer alan öncelikli bakterilerinden biridir. Bu çok ilaca dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında etkili, son tedavi seçeneklerinin en önemlisi karbapenem grubu antibiyotikleridir. Ancak, bunlara karşı oluşan direnç de artmakta, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) suşları tüm dünyada endişe verici bir durum oluşturmaktadır^(1,2).

Ülkemizde 2010 yılından sonra görülmeye başlayan karbapenem dirençli enterik bakteriler, 2013 yılına kadar sporadik hastane salgınları şeklindeyken, 2014-2015 yıllarından sonra tüm ülkede endemik hâlde gelmiştir⁽³⁾. Ülkemizin de yer aldığı Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR) çalışmasının 2020 raporuna göre ülkemizde *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnç oranı %39'dur⁽⁴⁾.

Karbapenemlere direnç mekanizmalarından olan enzimatik direnç, iki mekanizma ile meydana gelir;

(1) yapısal mutasyonlarla kombine beta-laktamaz aktivitesi, (2) karbapenem antibiyotikleri hidrolize eden karbapenemaz enzimlerinin üretimidir. Karbapenemazlar, Ambler sınıflandırmasında moleküler yapılarına göre; A, B ve D olarak sınıflandırılırlar. Sınıf A ve D karbapenemazlar aktif bölgelerinde serin gereksinimi olan enzimlerdir. Sınıf B ise beta-laktamaz aktivitesi için çinko gereksinimi olan, metallo beta-laktamazlardır (MBL). Sınıf A'da *KPC*, *GES*, *IMI*, *NMC-A*, *SME*, *SFC* karbapenemaz genleri yer alır. Bunlar içinde tüm dünyada yaygın olarak bulunan gen, transfer edilebilir *KPC* genidir. *KPC* tüm beta-laktam antibiyotikleri hidrolize edebilir. Bunun yanında, *blaKPC* taşıyan suşlar fluorokinolon, aminoglikozid, trimethoprim-sülfametaksazol'e de dirençli olan çoklu ilaca dirençli suşlardır. Sınıf D enzimler oksasilini hidrolize edebilmeleri nedeniyle OXA tipi beta-laktamazlar olarak isimlendirilir. *K. pneumoniae*'de özellikle OXA-48 tip enzim en sıktır. Sınıf B metallo beta-laktamazlar kompleks bir grup enzimdir. Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilemezler. Beta-laktam hidrolizi için çinkoya gereksinimleri olmaları nedeniyle metal bağlayan EDTA gibi şelatörler ile inhibe olurlar. *Enterobacteriaceae*'ler içinde transfer edilebilen MBL genleri *IMP*, *VIM* ve *NDM*'dir⁽⁵⁾.

Günümüzde *Enterobacteriaceae* ailesinde, en çok aktarılabılır karbapenemaz enzimlerine sahip tür *K. pneumoniae*'dir.

Bu direnç genleri içerisinde en yaygın olarak *KPC*, *IMP*, *NDM*, *VIM*, *OXA-48* direnç genleri farklı ülkelerde endemik olarak saptanabilir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *OXA-48* geni endemik olması nedeniyle en sık saptanan karbapenemaz genidir. Ancak, bunun yanında birbirine yakın sıklıkta *KPC* ve *NDM* direnç genleri de görülmektedir^(3,6-8).

Hastanemizde de ilk olarak 2012 yılında görülmeye başlayan KDKp suşları, ilerleyen yıllarda giderek artan oranlarda görülmeye başlamıştır. Çalışmamızın amacı, hastanemizde izole edilmiş KDKp suşların sıklığını ve yıllara göre değişimini ve dirence en sık neden olan *OXA-48*, *KPC*, *NDM-1*, *VIM* ve *IMP* direnç genlerinin varlığını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (08.04.2021 tarih ve 2021/75-6 karar No.) onaylanmıştır.

Bakteri Suşları: Hastanemiz, Tıbbi Mikrobiyoloji, Bakterioloji Laboratuvarı'na 2012-2020 yılları arasında gönderilen klinik örneklerden izole edilmiş, karbapenemlere dirençli bulunmuş *K. pneumoniae* suşları çalışmaya dâhil edilmiştir. Her hastaya ait izole edilmiş ilk ve tek suş çalışmaya alınmıştır. Bu çalışma için hastalardan örnek alımı veya hastalara herhangi bir girişim de bulunulmamıştır. İzole edilen suşlar çalışma zamanına kadar -20 derece saklanmıştır. Bu suşların canlandırma işlemleri, üç defa tekrarlanacak pasajlar olacak şekilde, koyun kanlı agar besiyeri kullanılarak yapılmıştır.

Bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları: suşların tür düzeyinde tanımlanmaları, tam otomatik bakteri tanımlama sistemi (Phoenix, BD, ABD) ve geleneksel biyoşimik testler kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları, disk difüzyon yöntemi ve tam otomatik antibiyotik duyarlılık test yöntemi (Phoenix, BD, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Karbapenem dirençli suşların, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, gradient difüzyon yöntemi (MTS, Liofilchem, İtalya)

ile belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık sonuçları "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" kılavuzu 2021 yılı sınır değerlerine göre yorumlanmıştır. Kalite kontrol suşu olarak ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

Karbapenem direnç genlerinin araştırılması: suşlardan DNA eldesi, kaynatma yöntemi ile şu şekilde yapılmıştır; koyun kanlı besiyerindeki bir gecelik taze kolonilerden birkaç tanesi (koloni büyüklüğüne göre 2 ila 4 koloni), 400 µl distile su çözdürüldükten sonra 98°C'da 10 dk. bekletilmiştir. Daha sonra bu çözelti 14.000 rpm de 5 dk. santrifüj edildikten sonra üstteki sıvı ayrılıp, hedef DNA araştırmalarında kullanılmıştır. Karbapenem grubu antibiyotiklere dirence neden olan *OXA-48*, *KPC*, *NDM*, *VIM* ve *IMP* genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırılmıştır⁽⁹⁻¹²⁾. Direnç genlerinin araştırılmasında kullanılan primerler Tablo 1'de gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak daha önceden direnç geni saptanmış ve sekansla doğrulanmış izolatların DNA'ları kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda, 2012-2020 yılları arasında toplam 3.899 *K. pneumoniae* suşu taranmıştır. İki yüz doksan bir (%7.5) adet karbapenem dirençli suş bulunmuş ve çalışmaya dâhil edilmiştir. Karbapenem dirençli bulunan *K. pneumoniae* suşlarının yıllar içinde, 2012'den 2020 yılları arasında dağılımı sırasıyla, 2

Tablo 1. Karbapenem direnç genlerini belirlemede kullanılan primer dizinleri

Primer İsmi	Primer dizini	Ürün büyüklüğü	Kaynak
IMP F	5'-GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC-3'	188	9
IMP-R	5'-CCAAACYACTASGTTATCT-3'		
VIM-F	5'-GATGGTGTGGTGCAGCATA-3'	390	9
VIM-R	5'-CGAATGCGCAGCACCAG-3'		
NDM F	5'-CCAATATTATGCACCCGGTCG-3'	812	10
NDM R	5'-ATGCGGGCCGTATGAGTGATTG-3'		
KPC F	5'-TGCTACTGTATCGCCGTC-3'	900	11
KPC R	5'-CTCAGTGCTCTACAGAAAACC-3'		
OXA-48 F	5'-TTGGTGGCATCGATTATCGG-3'	743	12
OXA-48 R	5'-GAGCACTTCTTTGTGATGGC-3'		

(%0.6), 2 (%0.6), 3 (%1.0), 18 (%4.8), 39 (%7.5), 33 (%8.6), 64 (%11.4), 58 (%9.4) ve 72 (%14.2) olmuştur (Tablo 2).

Karbapenem dirençli bulunan *K. pneumoniae* suşlarının örnek dağılımı; idrar 157 (%57), kan 77 (%27), solunum yolu 30 (%10), yara 20 (%7) ve diğer 7 (%2) idi (Tablo 3).

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşların kliniklere göre dağılımı; dâhili servisler (%40), yoğun bakımlar (%36), cerrahi servisleri (%15), pediatri servisleri (%9) olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Suşların 46 (%16) tanesi poliklinik hastalarına ait örneklerdi.

Tablo 2. Karbapenem dirençli suşların yıllara göre dağılımı

Yıllar	KDKp Suş sayıları	Toplam suş	Yüzde (%)
2012	2	313	0.6
2013	2	309	0.6
2014	3	305	1
2015	18	375	4.8
2016	39	522	7.5
2017	33	386	8.6
2018	64	563	11.4
2019	58	617	9.4
2020	72	509	14.2
Toplam	291	3899	7.5

Tablo 3. Suşların izole edildikleri örneklerle göre dağılımı

Örnek türü	Sayı	%
İdrar	157	54
Kan	77	27
Solunum yolu	30	10
Yara	20	7
Diğer	7	2

Tablo 4. Suşların kliniklere göre dağılımı

Klinikler	Sayı	%
Dahiliye kliniği	118	40
Yoğun bakımlar	104	36
Cerrahi kliniği	43	15
Pediatri kliniği	26	9

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının, imipenem $MiK_{50/90}$ değeri $>32/>32$, MiK aralığı $2->32$, meropenem $MiK_{50/90}$ değeri $>32/>32$ ve MiK aralığı $0.5->32$ olarak bulunmuştur. KDKp suşlarında direnç genlerine göre $MiK_{50/90}$ dağılımı ise; imipenem için, *OXA-48* $8/>32$, *NDM*, *KPC*, *VIM* ve *OXA-48+NDM* için $>32/>32$, meropenem için $MiK_{50/90}$ dağılımı, *OXA-48*, *NDM*, *KPC*, *VIM* ve *OXA-48+NDM* için $>32/>32$ olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Suşların sahip olduğu direnç genlerinin dağılımı; tek bir direnç genine sahip suşların sayısı *OXA-48*, *NDM*, *KPC* ve *VIM* sırasıyla, 113 (%38.8), 32 (%11.0), 7 (%2.4) ve 5 (%1.7) olarak bulunmuştur (Tablo 6). Birden fazla direnç genine sahip suşların dağılımı; *OXA-48+NDM* 123 (%42.3), *OXA-48+KPC* iki adet, *OXA-48+VIM* bir adet, *NDM+KPC* bir adet, *NDM+IMP* bir adet olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Antibiyotiklere karşı artan direnç, enfeksiyon hastalıklarının tedavisini gittikçe zor hale getirmektedir. Karbapenemler, *K. pneumoniae* gibi çok ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak, son 10 ila 20 yılda *K. pneumoniae*'da artan oranlarda karbapenem direnci bildirilmeye başlamıştır. *K. pneumoniae* nozokomiyal olarak, sıklıkla, idrar yolu enfeksiyonu ve kan dolaşım enfeksiyonu gibi hastalar arasında kolay bulaşan enfeksiyonlara neden olmaktadır. Karbapenem direnci de bu tip enfeksiyonların tedavisinde sorun oluşturmaktadır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'ye bağlı kan dolaşım enfeksiyonlarında, hassas suşlarla karşılaştırıldığında daha yüksek mortalite oranları bildirilmiştir^(13,14). Bizim hastanemizde de 2012 itibaren giderek artan sıklıkta KDKp suşları izole edilmeye başlanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün CAESAR 2020 raporuna göre ülkemizde *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnç oranı %25–50 arasındadır. Avrupa genelinde ise direnç sıklığı, %10'dan az (İskandinav ülkeleri, Hollanda) veya %50'den fazla (Ukrayna, Yunanistan) oranlarda değişiklik göstermektedir^(4,15). Ülkemizde 2013 yılına kadar tekli hastane olguları şeklinde

Tablo 5. Suşların MiK_{50}/MiK_{90} dağılımları

	İmipenem $MiK_{50}/_{90}$ (sayı)	İmipenem MiK dağılım aralığı	Meropenem $MiK_{50}/_{90}$ (sayı)	Meropenem MiK dağılım aralığı
Tüm suşlar	>32/>32 (268)	2->32	>32/>32 (269)	0.5->32
<i>OXA-48</i>	8/>32 (101)	2->32	32/>32 (101)	0.5->32
<i>NDM</i>	>32/>32 (32)	8->32	>32/>32(32)	8->32
<i>KPC</i>	>32/>32 (7)	16->32	>32/>32 (7)	32->32
<i>VIM</i>	>32/>32(5)	4->32	>32/>32(5)	2->32
<i>OXA-48 +NDM</i>	>32/>32(113)	4->32	>32/>32(114)	4->32

Tablo 6. Direnç genleri ve yıllara göre dağılımı

Yıllar	<i>OXA-48</i>	<i>NDM</i>	<i>KPC</i>	<i>VIM</i>	<i>OXA48+NDM</i>	<i>OXA-48+KPC</i>	<i>OXA-48+VIM</i>	<i>NDM+KPC</i>	<i>NDM+IMP</i>	Direnç geni tespit edilemeyen
2012	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
2013	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
2014	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
2015	13	0	0	0	5	0	0	0	0	0
2016	13	5	0	0	17	0	1	0	0	3
2017	7	1	0	1	24	0	0	0	0	0
2018	25	6	1	1	28	0	0	0	1	2
2019	17	4	5	1	27	2	0	1	0	1
2020	35	16	1	2	18	0	0	0	0	0
Toplam (%)	113 (38.8)	32 (11.0)	7 (2.4)	5 (1.7)	123 (42.3)	2 (0.7)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	6 (2.0)

görülen *Enterobacteriaceae*'da karbapenem direnci, 2014 yılından sonra endemik duruma geçmeye başlamıştır⁽³⁾. Hastanemiz verilerinin de bulunduğu çok merkezli HİTİT-2 çalışmasında 2007 yılında *K. pneumoniae* suşlarında imipeneme direnç oranı %3.8 olarak bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Son yıllarda ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, KDKp oranları %20-51 arasında bildirilmektedir^(14,17-21). Bizim çalışmamızda da, *K. pneumoniae* suşlarımızda 2012 yılından sonra görülmeye başlayan karbapenem direnci, 2020 yılı sonunda, tüm izole edilen *K. pneumoniae* suşları içinde KDKp oranımız %7.5 olarak bulunmuştur. Yıllar içinde de direnç oranlarında artış (%0.6'dan %14.2) olduğu görülmüştür. Ancak, hastanemizdeki KDKp oranları ülkemizde geneli ile karşılaştırıldığında daha düşük oranda bulunmuştur.

Karbapenem direncine neden olan çeşitli enzimler tüm dünyada yayılmıştır. Bu enzimlerin sıklığı ülkelere değişiklik göstermektedir. KDKp suşlarında ilk olarak izole edilmiş olan KPC enzimi, ABD, İtalya ve Yunanistan, İsrail ve Çin' de endemik iken, *NDM-1* direnç geni Hindistan, Pakistan, Çin ve Balkanlarda ve endemiktir. İlk olarak Türkiye'de izole edilen bir suşta tespit edilmiş olan *OXA-48* direnç geni, ülkemizde endemik olarak bulunmaktadır⁽¹²⁾. Ülkemizde endemik olarak bulunan *OXA-48* geni, Kuzey Afrika ülkelerinde ve bazı Avrupa ülkelerinde de (İspanya ve Belçika) endemiktir. *IMP* direnç geni Japonya ve Tayvan' da endemik iken *VIM* direnç geni ise Yunanistan'da endemiktir^(1,5,13).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, tekli direnç geni *OXA-48* varlığı en sık direnç mekanizması, *OXA-48* ve *NDM-1* direnç geni birlikteliği ise ikinci sıklıkta bildirilmiştir⁽²¹⁻²⁴⁾.

2014 yılında ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada KDKp suşlarında en çok tekli genlerden *OXA-48* bulunmuş, çoklu gen içeren suşlarda ise *NDM-1* ve *OXA-48*, *VIM* ve *OXA-48*, *NDM-1* ve *VIM* birlikteliği gösterilmiştir⁽²⁵⁾. Yine 2019 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada, karbapenem dirençli suşlarda, en çok tekli direnç geni *OXA-48*, ikinci sıklıkta ise *KPC* direnç geni bildirilmiştir. *NDM-1* direnç geni ise üçüncü sıklıktaki direnç geni, *OXA-48* ve *NDM-1* direnç geni birlikteliği ise dördüncü sıklıkta bildirilmiştir⁽⁸⁾. Genç ve ark.⁽²⁶⁾ yaptıkları çalışmada tekil olarak, en sık *OXA-48* (%81.05), ikinci sıklıkta *NDM* (%38.9) direnç genini bulmuşlar, çoklu direnç geni birlikteliği ise *OXA-48+KPC* ve *KPC+NDM* birlikteliğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da ülkemizde endemik olarak görülen *OXA-48* direnç geni, KDKp suşlarında, en sık tekli gen (%38.8) olarak bulunmuştur. Ülkemizde sıklığı giderek artmakta olan *NDM-1* direnç geni ise bizim bölgemizde ikinci sıklıkta (%11.0) tekli gen olarak bulunmuştur. *OXA-48* ile *NDM-1* direnç geni birlikteliği (%42.3) ise çalışmamızda *K. pneumoniae* suşlarında karbapenemlere dirence neden olan en sık direnç mekanizması olarak bulunmuştur. Bu oran bizim araştırmalarımıza göre Türkiye’de bu kombinasyonun en yüksek olduğu bölgedir. Ülkemizde daha az sıklıkta bildirilen *KPC* ve *VIM* direnç genleri ise hastanemizde, son yıllarda giderek artan oranda görülmeye başlanmıştır. Ayrıca bir suşta *IMP+NDM-1* direnç geni birlikteliği bulunmuştur. Literatür taramasına göre, bu direnç geni birlikteliği Türkiye’de ilkdir.

İlk kez 2007 yılında ülkemizde *VIM* direnç geni bildirilmiştir⁽²⁷⁾. Sunulan çalışmada da *VIM* direnç genine sahip beş suşun dört tanesi poliklinik hastalarına ait örneklerden izole edilmiştir. Bu durum hastanemizin bir turizm bölgesinde olması nedeniyle, ülkemize dışarıdan yeni dirençli klonların girmeye başlaması ve bunları tespitimiz olarak yorumlanabilir.

Çalışmamızda test ettiğimiz direnç genleri (*KPC*, *OXA-48*, *NDM-1*, *VIM*, *IMP*) içermeyen altı KDKp suşu bulunmuştur. Bu suşlarda, test edilmeyen farklı direnç genleri (*SIM*, *GIM*, *SME*, *IMI* vb.) veya porin kaybı gibi farklı direnç mekanizmaları olabileceği düşünülmüştür⁽²⁸⁾. Bu suşlar için araştırmalarımız devam etmektedir.

Çalışmanın eksik yönü, KDKp suşlarında klonal ilişkiyi gösteren bir veri olmamasıdır. Bu nedenle hastanemizde dirençli bir klona bağlı salgından bahsedilememektedir. Ayrıca poliklinik hastalarının daha önceki hastane yatışlarının kontrol edilememesi nedeniyle, polikliniklere ait örneklerden elde edilen KDKp suşları olmasına rağmen toplum kaynaklı KDKp varlığını tam olarak açıklığa kavuşmamaktadır.

Sonuç olarak çalışmada, hastanemizde yıllar içinde giderek artan oranda KDKp suşlarının varlığı gösterilmiştir. Ayrıca ülkemizde endemik olarak bulunan *OXA-48* direnç geni en sık (%38.8) tekil gen olarak bulunmuştur. *NDM-1* direnç geni ise artık ülkemizde endemik olmaya başladığı görülmektedir. Bunun yanında ise *OXA-48+NDM-1* ikili gen varlığı hastanemiz KDKp izolatlarında en sık (%42.3) direnç mekanizması olarak bulunmuştur. Bu direnç profilinin yayılması, karbapenem dirençli bakterilerin tedavisi için yeni geliştirilen seftazidim/avibaktam gibi yeni antibiyotiklerin, tedavide kullanımında ciddi bir engel olarak karşımıza çıkacaktır. Ayrıca *IMP+NDM-1* gibi direnç birlikteliği ise yeni direnç gelişim mekanizmalarının oluşmaya başladığını göstermiştir. Bu sebeplerle, KDKp suşlarında düzenli epidemiyolojik taramalarının ve direnç mekanizmalarının bölgesel ve ulusal olarak araştırmalarının yapılmasının bu bakteriye bağlı enfeksiyonların tedavisinde ve direncin kontrolünde çok önemli olduğu düşünülmüştür.

Etik kurul onayı: Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (08.04.2021 tarih ve 2021/75-6 karar numarası) onaylanmıştır.

Çıkar çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Aydın Adnan Menderes University, Non-invasive Research Ethics Committee (04.08.2021; 2021/75-6).

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

KAYNAKLAR

1. Pitout JDD, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):5873-84. <https://doi.org/10.1128/AAC.01019-15>
2. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(3):318-27. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
3. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL; European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(45):pii=30062. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062>
4. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2020. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2020/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2020> (Erişim tarihi: 04.11.2021)
5. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: The impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl_1):S28-36. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw282>
6. 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>
7. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(2):153-63. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30257-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30257-2)
8. 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>
9. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(2):321-2. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl481>
10. Solé M, Pitart C, Roca I, et al. First description of an *Escherichia coli* strain producing NDM-1 carbapenemase in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(9):4402-4. <https://doi.org/10.1128/AAC.00642-11>
11. Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. Laboratory detection of *Enterobacteriaceae* that produce carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2012;50(12):3877-80. <https://doi.org/10.1128/JCM.02117-12>
12. 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>
13. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front Microbiol.* 2016;7:895. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00895>
14. Büyüktuna SA, Hasbek M, Çelik C, et al. Yoğun bakım ünitesinde gelişen *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonları: Karbapenem direnci ve hasta mortalitesi ile ilgili risk faktörleri. *Mikrobiyol Bul.* 2020;54(3):378-91. <https://doi.org/10.5578/mb.69679>
15. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019. Stockholm: ECDC; 2020.

16. Gur D, Hascelik G, Aydin N, et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother*. 2009;21(4):383-9.
<https://doi.org/10.1179/joc.2009.21.4.383>
17. Yürüyen C, Daldaban Dinçer Ş, Yanılmaz Ö, Boz ES, Aksaray S. Yoğun bakım ünitelerinde kümülatif antibiyogram ile antibiyotik direncinin izlenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2018;52(4):329-39.
<https://doi.org/10.5578/mb.67408>
18. Candevir Ulu A, Güven Gökmen T, Kibar F, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* at a Turkish centre: Is the increase of resistance a threat for Europe?. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017;11:10-6.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.06.012>
19. Duran H, Çeken N, Kula Atik T. İdrar kültüründen izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranları: Dört yıllık analiz. *ANKEM Derg*. 2020;34(2):41-7
<https://doi.org/10.5222/ankem.2020.041>
20. Temiz H, Özbek E, Vural DG, Özekinci T. *Klebsiella* izolatlarının antimikrobiyal direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2015;45(2):68-74.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2015.068>
21. Uyanık Parlak A, Gündüoğlu H, Parlak M, Bayram Y, Otlu B. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında OXA-48 ve alt türevlerinin araştırılması ve fenotipik yansıma. *ANKEM Derg*. 2021;35(1):1-8.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2021.001>
22. Okalin ŞŞ, Sarı Kaygısız AN, Ergon MC, Öktem İMA. Karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatlarında karbapenemaz genlerinin araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nden ilk KPC bildiri. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*. 2021;51(4):375-81.
<https://doi.org/10.5222/TMCD.2021.94899>
23. Tekintaş Y, Çilli F, Eraç B, Yaşar M, Aydemir SŞ, Hoşgör Limoncu M. Klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz üretiminin saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu ve fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2017;51(3):269-76.
<https://doi.org/10.5578/mb.57333>
24. Ciftci E, Sesli Cetin E, Us E, Haydar Kutlu H, Cicioğlu Arıdoğan B. Investigation of carbapenem resistance mechanisms in *Klebsiella pneumoniae* by using phenotypic tests and a molecular assay. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(11):992-1000.
<https://doi.org/10.3855/jidc.10783>
25. Çakar A, Akyön Y, Gür D, et al. Türkiye'de 2014 yılı içinde izole edilen karbapenem dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(1):21-33.
<https://doi.org/10.5578/mb.10695>
26. Genç S, Kolaylı F, Özçelik EY. Molecular characterization of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains by multiplex PCR and PFGE methods: The first *K. pneumoniae* isolates co-producing OXA-48/KPC and KPC/NDM in Turkey. *J Infect Chemother*. 2022;28(2):192-198.
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.10.009>
27. Yildirim I, Ceyhan M, Gur D, Mugnaioli C, Rossolini GM. First detection of VIM-1 type metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate from Turkey also producing the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase. *J Chemother*. 2007;19(4):467-8.
<https://doi.org/10.1179/joc.2007.19.4.467>
28. Brink AJ. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally. *Curr Opin Infect Dis*. 2019;32(6):609-16.
<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000608>