

Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Seftazidim-Avibaktam, Fosfomisin ve Meropenem'in In Vitro Sinerjistik Etkinliğinin Araştırılması

Investigation of the In Vitro Synergistic Effect of Ceftazidime-Avibactam, Fosfomycin and Meropenem in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates

Büşra GÜNEYSU YARAR¹(ID), Mücahide Esra KOÇOĞLU²(ID), Tuncer ÖZEKİNCİ²(ID)

¹ Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

¹ Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın City Hospital, Medical Microbiology Laboratory, İstanbul, Türkiye.

² İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

² İstanbul Medeniyet University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

* Bu çalışma, XLI. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi (13-17 Kasım 2024, Antalya)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Güneysu Yazar B, Koçoğlu ME, Özekinci T. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında seftazidim-avibaktam, fosfomisin ve meropenem'in in vitro sinerjistik etkinliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2025;59(2):121-131.

ÖZ

Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (KDKp) izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan zorluklardan dolayı antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanılması tercih edilmektedir. Kombinasyon tedavileri, daha geniş bir antibakteriyel spektrum, sinerjistik etki ve tedavi sırasında antibiyotik direncinin ortaya çıkma riskinin azalmasını sağlamaktadır. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden elde edilen KDKp izolatlarında seftazidim-avibaktam (CZA) ve fosfomisin (FOS)'e direnç oranlarının belirlenmesi, karbapenem direncinin moleküler paterninin araştırılması ve CZA dirençli izolatlarda CZA'nın FOS ve meropenem (MEM) ile kombinasyonunun sinerjistik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 2019-2023 tarihleri arasında gönderilen, çeşitli klinik örneklerden elde edilen ve karbapeneme dirençli bulunan 100 *K.pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların karbapenem direnç genleri (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}/*bla*_{OXA-58}) multipleks polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır. FOS duyarlılığının belirlenmesi için agar dilüsyon, MEM ve CZA duyarlılığının belirlenmesi için ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. CZA'ya dirençli bulunan 15 KDKp izolatında CZA ile MEM ve CZA ile FOS kombinasyonları dama tahtası yöntemiyle çalışılmıştır. Hesaplanan fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (ΣFİK) sonucuna göre kombinasyonların in vitro sinerjistik etkisi analiz edilmiştir. İzolatların %49'u yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Karbapenem dirençli 100 *K.pneumoniae* izolatının %15'i CZA'ya, %38'i de FOS'a dirençli bulunmuştur. Direnç paternlerine göre izolatların 85'inde karbapenem direnç genlerinden en az biri saptanmıştır. Çalışılan izolatların %39'unun *bla*_{OXA-48}, %10'unun *bla*_{KPC}, %2'sinin *bla*_{NDM} ve %1'inin *bla*_{OXA-51} olmak üzere 52 izolatın direnç genlerinden sadece birini taşıdıkları, %17'sinin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{KPC}, %9'unun *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}, %3'ünün *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}+*bla*_{KPC}, %2'sinin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}, %1'inin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-23/58} ve %1'inin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}+*bla*_{KPC} olmak

üzere 33 izolatın birden fazla direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. İzolatların hiçbirinde IMP ve VIM enzimi saptanmamıştır. On beş CZA dirençli izolatın dama tahtası yöntemiyle yapılan CZA ile MEM kombinasyonunun tümünde kısmi sinerjistik etki, CZA ile FOS kombinasyonunda %33 oranında kısmi sinerjistik etki bulunmuştur. Hastanemizde KDKp izolatlarında OXA-48 geni yaygın olmakla birlikte %33 oranında birden fazla direnç genine sahip izolat saptanması ve %14 izolatın metallo-beta-laktamaz üretmesi dirençli izolatlarda direnç paterninin belirlenmesinin önem taşıdığını göstermektedir. KDKp izolatlarının tedavisinde sıklıkla tercih edilen bir antibiyotik olan CZA metallo-beta-laktamaz üreten izolatlarda etkili olmamaktadır. Bu çalışma sonucunda, seftazidim-avibaktamın FOS ile kombinasyonundan ziyade MEM ile kombinasyonunun ciddi KDKp enfeksiyonlarında bir tedavi seçeneği olarak önerilebileceği kanaati oluşmuştur.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*; seftazidim-avibaktam; meropenem; fosfomisin; dama tahtası yöntemi.

ABSTRACT

It is preferred to use antibiotics in combination because of the difficulties encountered in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKp) isolates. Combination therapies result in a broader antibacterial spectrum, synergistic effects and a reduced risk of resistance during treatment. This study aimed to determine the resistance rates of ceftazidime-avibactam (CZA) and fosfomycin (FOS) in CRKp strains isolated from various clinical samples, to investigate the molecular patterns of carbapenem resistance and to explore the synergistic effect of CZA combined with FOS and meropenem (MEM) in CZA resistant isolates. One hundred carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates from various clinical samples sent to Medical Microbiology Laboratory of İstanbul Medeniyet University Göztepe Training and Research Hospital between 2019 and 2023 were included in the study. The carbapenem resistance genes (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}/*bla*_{OXA-58}) of the isolates were investigated by multiplex polymerase chain reaction. The agar dilution method was used to determine fosfomycin susceptibility and the broth microdilution method was used for MEM and CZA susceptibility. The checkerboard method was used to study the combinations of CZA with MEM and CZA with FOS in 15 CRKp isolates resistant to CZA. The in vitro synergistic effect of the combinations was analyzed based on the calculated fractional inhibitory concentration index (ΣFIC). Forty-nine percent of our strains were isolated from patients in the intensive care unit. Fifteen percent of the 100 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates were resistant to CZA and 38% to FOS. According to the resistance patterns, at least one of the carbapenem resistance genes was detected in 85 isolates. Thirty-nine percent of the isolates produced *bla*_{OXA-48}, 10% *bla*_{KPC}, 2% *bla*_{NDM} and 1% *bla*_{OXA-51}, indicating that 52 isolates carried only one resistance gene. Thirty three isolates carried more than one resistance gene which were detected as follows: 17% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{KPC}, 9% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}, 3% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}+*bla*_{KPC}, 2% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}, 1% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-23/58}, and 1% *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}+*bla*_{KPC}. No *bla*_{IMP} or *bla*_{VIM} enzymes were detected in any of the isolates. A partial synergistic effect was found in 100% of the CZA and MEM combinations by the checkerboard method in the fifteen CZA resistant isolates, while a partial synergistic effect was found in 33% of the CZA and FOS combinations. The presence of the OXA-48 gene in CRKp isolates in our hospital, the detection of multiple resistance genes in 33% of the isolates and the production of metallo-beta-lactamase (NDM) in 14% of the isolates highlight the importance of determining resistance patterns in resistant strains. CZA, which is a frequently preferred antibiotic in the treatment of CRKp isolates, is not effective against isolates that produce metallo-beta-lactamases. It was concluded that the combination of CZA with MEM, rather than with FOS, may be considered a potential treatment option for serious CRKp infections.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; ceftazidime avibactam; meropenem; fosfomycin; checkerboard method.

GİRİŞ

Enterobacterales üyesi olan mikroorganizmalar, insanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilen ve yaygın bulunan patojen mikroorganizmalardır. *Klebsiella pneumoniae* diğer aile üyeleri gibi genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretebilmekte ve

özellikle hastanede yatan hastalarda ciddi morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. AmpC beta-laktamaz ve GSBL üreten *Enterobacterales*'in neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde karbapenem grubu antibiyotikler tercih edilmektedir. Ancak karbapenemlerin yaygın ve yanlış kullanımı, karbapenemlere dirençli izolatların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Karbapenem dirençli *K.pneumoniae* (KDKp) izolatları, hastane ortamlarında artan prevalansları ve antibiyotik direnci nedeniyle ciddi tehdit oluşturmaktadır¹. Etken mikroorganizmaların karbapenemaz direnç paterninin bilinmesi hastaların da en doğru ve en uygun tedaviyi almasına, böylece akılcı antibiyotik tedavi uygulamalarına hizmet ederek, direnç yayılımının önlenmesine katkı sağlamaktadır. Karbapenemaz genlerinin hızlı ve kesin bir şekilde tanımlanması için duyarlı ve doğru bir yöntem olan moleküler teknikler kullanılmaktadır².

Seftazidim-avibaktam, Ambler sınıf A (KPC, GSBL), sınıf C (AmpC), sınıf D (OXA) beta-laktamazlara sahip izolatlara karşı in vitro ve in vivo aktivite gösteren ve karbapeneme dirençli *Enterobacterales* (CRE) enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir ajandır³. Ancak karbapenemaz üreten izolatların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde bu ilaçların zorunlu olarak kullanılmasından dolayı bunlara da direnç gelişebilmektedir. Karbapenem dirençli *K.pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisindeki zorluklardan dolayı antibiyotikler kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Kombinasyon tedavileri, daha geniş bir antibakteriyel spektrum, sinerjistik etki ve tedavi sırasında direnç ortaya çıkma riskinin azalmasını sağlamaktadır⁴.

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden elde edilen KDKp izolatlarında referans yöntemlerle CZA ve FOS'a direnç oranlarının belirlenmesi, karbapenem direncinin moleküler paterni, CZA dirençli izolatlarda CZA'nın FOS ve MEM ile kombinasyonunun sinerjistik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 11.10.2023 ve Karar no: 2023/0677).

Klinik İzolatlar ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Çalışmaya, 2019-2023 yılları arasında Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) (bioMérieux, Fransa) ile tanımlanmış ve antibiyotik duyarlılıkları otomatize (VITEK® 2, bioMérieux, Fransa) sistemle çalışılmış ve etken kabul edilmiş olan, karbapenem grubu antibiyotiklerden (MEM, ertapenem, imipenem) en az birine dirençli olan 100 adet *K.pneumoniae* izolatu dahil edildi. Aynı hastadan izole edilen izolatlardan sadece biri çalışmaya alındı. Otomatize sistem ile karbapenem direnci saptanan izolatların duyarlılık sonuçları gradiyent test yöntemiyle doğrulandı. Seftazidim-avibaktam duyarlılığının belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yön-

temi kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen izolatların FOS minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri agar dilüsyon yöntemiyle, MEM ve CZA'nın MİK değerleri ise sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Sıvı mikrodilüsyon yönteminde tüm antibiyotikler 0.125-128 mg/L konsantrasyon aralığında çalışıldı. Çalışmaya dahil edilen izolatların FOS MİK değerleri 0.125-128 mg/L konsantrasyon aralığında, glukoz-6-fosfat (25 µg/mL) eklenmiş Mueller-Hinton agarda agar dilüsyon yöntemi çalışıldı. MEM ve CZA'nın MİK değerleri de 0.125-128 mg/L konsantrasyon aralığında sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak değerlendirildi. Duyarlılık testleri "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" kriterlerine göre yorumlandı⁵. Antibiyotik duyarlılık testlerinin çalışılmasında kalite kontrolü amacıyla *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *K.pneumoniae* ATCC 700603 izolatları kullanıldı.

Dama Tahtası Testi

Seftazidim-avibaktama dirençli bulunan bakteriler için CZA+MEM ve CZA+FOS antibiyotik kombinasyonlarının sinerjistik etkisinin belirlenmesi adına dama tahtası yöntemi kullanıldı. CZA+MEM kombinasyonunda seftazidim 0.5-256/4 µg/mL aralığında, MEM 2-128 µg/mL aralığında çalışıldı. Avibaktam son konsantrasyonu 4 µg/mL olacak şekilde tüm kuyucuklara eklendi. CZA+FOS kombinasyonunda seftazidim 0.5-256/4 µg/mL aralığında, FOS 1-64 µg/mL aralığında glukoz-6-fosfat (25 µg/mL) eklenmiş Mueller-Hinton sıvı besiyerinde çalışıldı. Avibaktam son konsantrasyonu 4 µg/mL olacak şekilde eklendi. Kombinasyondaki ilaçların etkileşimini incelemek için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (ΣFİK) ve fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (FİKİ) hesaplandı. $\Sigma FİK \leq 0.5$ ise sinerjistik etki, $0.5 < \Sigma FİK < 1$ ise additif etki (kısmi sinerjistik etki), $1 \leq \Sigma FİK \leq 4$ ise indifrens (tanımlanamayan etki), $\Sigma FİK > 4$ ise antagonistik etki olarak yorumlandı⁶.

Karbapenamaz Genlerinin Tespit Edilmesi

Moleküler testler için izolatların 24 saatlik taze kültürleri hazırlandı. Bakteri DNA'sının izolasyonu manyetik boncuk bazlı nükleik asit izolasyon kiti (Bio-Speedy, BS-NA-IS01, İstanbul) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. İzolatların karbapenamaz genleri (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23/58}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}) multipleks gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu [quantitative real-time polymerase chain reaction (qRt-PCR)] yöntemi (karbapenem direnci qPCR kiti, Bioeksen, Türkiye) kullanılarak araştırıldı. Her çalışmada pozitif ve negatif kontrol kullanıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra döngü eşik (cycle threshold) değeri ve oluşan eğrilerin sigmoidal olup olmadığı değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen klinik izolatların %49'u yoğun bakım ünitesinden, %31'i dahili kliniklerden, %17'si cerrahi kliniklerden, %3'ü acil servisten izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen KDKp izolatlarının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan CZA duyarlılık testinde %15 oranında direnç tespit edilmiştir. Agar dilüsyon yöntemiyle çalışılan FOS duyarlılık testinde %38 oranında direnç saptanmıştır. Rt-PCR yöntemiyle

Tablo I. *K.pneumoniae* İzolatlarının Karbapenem Direnç Genlerinin Dağılımı

Karbapenemaz Geni	n	%
<i>bla</i> _{OXA-48}	39	39
<i>bla</i> _{KPC}	10	10
<i>bla</i> _{NDM}	2	2
<i>bla</i> _{OXA-51}	1	1
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{KPC}	17	17
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	9	9
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{OXA-51}	2	2
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{OXA-23/58}	1	1
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	3	3
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{OXA-51} + <i>bla</i> _{KPC}	1	1
Karbapenemaz geni saptanmayan	15	15

izolatların %39'unda *bla*_{OXA-48}, %10'unda *bla*_{KPC}, %2'sinde *bla*_{NDM}, %1'inde *bla*_{OXA-51} tespit edilmiştir. İzolatların %17'sinde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{KPC}, %9'unda *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}, %2'sinde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}, %1'inde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-23/58}, %1'inde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}+*bla*_{KPC}, %3'ünde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}+*bla*_{KPC} olmak üzere birden fazla karbapenemaz geni saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatların hiçbirinde VIM ve IMP tespit edilememiştir. Ayrıca izolatların %15'inde araştırılan genlerin hiçbirisi saptanamamıştır (Tablo I). CZA-FOS kombinasyon testiyle, izolatların %66 (n= 10)'sında indiferans etki, %33 (n= 5)'ünde additif (kısmi sinerjistik etki) etki bulunurken, CZA-MEM kombinasyonunda ise çalışılan 15 izolatın tamamında additif (kısmi sinerjistik etki) etki bulunmuştur (Tablo II, III). İzolatlarda test edilen kombinasyonların hiçbirinde antagonistik etki gözlenmemiştir.

TARTIŞMA

K.pneumoniae hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biridir. Karbapenemazlar genellikle plazmit veya transpozon gibi çok çeşitli direnç genleri içeren aktarılabılır genetik yapılar tarafından eksprese edilir ve bakteriler arasında serbestçe aktarılıp tüm dünyaya yayılabilir. Bu nedenle, karbapenemaz kodlayan genler, *K.pneumoniae*'daki antimikrobiyal dirençte önemli bir rol oynamaktadır. Karbapenemaz üreten *K.pneumoniae* izolatlarında birçok antibiyotiğin MİK değerleri yükselmeye devam etmektedir. Son yıllarda tedavide tercih edilen kolistine karşı direnç oranlarının artma eğiliminde olduğu bildirilmektedir. Artan direnç oranları KDKp'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisini giderek zorlaştırmakta ve klinisyenleri kombinasyon tedavisine yönlendirmektedir⁷.

Seftazidim-avibaktam 2015 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration) tarafından klinik kullanım için onaylanan yeni bir antibiyotik olmasına rağmen direnç oranları yıllar içinde artış göstermektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilen 37 *K.pneumoniae* izolatının %16.3 (n= 6)'ünde CZA'ya direnç saptanmıştır⁸. Başka bir çalışmada ventilatör ilişkili

Tablo II. CZA ve FOS için MİK, FİK, ΣFİK Sonuçları ve Kombinasyonun Yorumu

İzolat no.	Direnç Geni	MİK Değerleri		FİK Değerleri		Yorum
		CZA FOS	Kombinasyon	FİK	ΣFİK	
KDKp-2	<i>bla</i> _{NDM}	256 4	32 2	0.125 0.5	0.625	Additif
KDKp-8	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 16	8 16	0.031 1	1.031	İndiferans
KDKp-9	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 8	32 8	0.125 1	1.125	İndiferans
KDKp-22	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 32	1 32	0.003 1	1.003	İndiferans
KDKp-33	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 4	8 4	0.031 1	1.031	İndiferans
KDKp-35	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 4	32 4	0.125 1	1.125	İndiferans
KDKp-38	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 16	16 8	0.0625 0.5	0.562	Additif
KDKp-45	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 2	4 2	0.015 1	1.015	İndiferans
KDKp-71	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 8	1 4	0.0039 0.5	0.5003	Additif
KDKp-74	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 8	8 8	0.125 1	1.125	İndiferans
KDKp-86	Saptanmadı	256 8	32 4	0.125 0.5	0.625	Additif
KDKp-89	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	32 16	0.125 0.5	0.625	Additif
KDKp-94	<i>bla</i> _{NDM}	256 8	32 8	0.125 1	1.125	İndiferans
KDKp-99	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 8	32 8	0.125 1	1.125	İndiferans
KDKp-100	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 8	16 8	0.062 1	1.062	İndiferans
<i>E.coli</i> ATCC 25922		0.25 1	0.031 0.0625	0.124 0.0625	0.186	Sinerji

pnömoni tanısı almış hastalardan izole edilen KDKp izolatlarında %22.2 oranında CZA direnci saptanmıştır⁹. Çin'de yapılan çok merkezli bir çalışmada 458 *Enterobacterales* klinik izolatının %17.2'sinde CZA direnci bildirilmiştir¹⁰. Bu çalışmaya dahil edilen izolatların %15'inde ise disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleriyle CZA direnci saptanmıştır.

Fosfomisin çok ilaca dirençli (ÇİD) *Enterobacterales* enfeksiyonlarında tek başına veya kombinasyon tedavilerinde kullanılabilen geniş spektrumlu aktiviteye sahip bakterisidal bir ilaçtır¹¹. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 147 ÇİD veya yaygın ilaca dirençli (XDR) karba-

Tablo III. CZA ve MEM için MİK, FİK, ΣFİK Sonuçları ve Kombinasyonun Yorumu

İzolat no.	Direnç Geni	MİK Değerleri		FİK Değerleri		Yorum
		CZA MEM	Kombinasyon	FİK	ΣFİK	
KDKp-2	<i>bla</i> _{NDM}	256 16	16 8	0.0625 0.5	0.5625	Additif
KDKp-8	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	4 16	0.156 0.5	0.515	Additif
KDKp-9	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 64	8 32	0.031 0.5	0.531	Additif
KDKp-22	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 64	4 32	0.015 0.5	0.515	Additif
KDKp-33	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 64	16 32	0.0625 0.5	0.562	Additif
KDKp-35	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	16 16	0.0625 0.5	0.562	Additif
KDKp-38	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	16 16	0.0625 0.5	0.562	Additif
KDKp-45	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 64	2 32	0.007 0.5	0.507	Additif
KDKp-71	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	16 16	0.0625 0.5	0.5625	Additif
KDKp-74	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 64	2 32	0.078 0.5	0.507	Additif
KDKp-86	Saptanmadı	256 64	2 32	0.078 0.5	0.507	Additif
KDKp-89	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	32 16	0.125 0.5	0.625	Additif
KDKp-94	<i>bla</i> _{NDM}	256 16	32 8	0.125 0.5	0.625	Additif
KDKp-99	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{KPC}	256 32	8 16	0.031 0.5	0.531	Additif
KDKp-100	<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM}	256 32	64 16	0.25 0.5	0.75	Additif
<i>E. coli</i> ATCC 25922		0.25 0.0156	0.0625 0.0078	0.25 0.5	0.75	Additif

peneme dirençli *Enterobacterales* izolatında FOS direnci %67.35 olarak tespit edilmiştir¹². Zarakolu ve arkadaşları 2022 yılında nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole ettikleri 220 adet *K. pneumoniae* izolatında FOS duyarlılığını karbapenem duyarlı izolatlarda %90.7 ve KDKp'de ise %69.4 olarak tespit etmişlerdir¹³. Diğer bir çalışmada da 155 KDKp izolatında FOS duyarlılığı %65.1 ve MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri ise sırasıyla 32 ve 256 mg/L olarak raporlanmıştır¹⁴. Bu çalışmaya dahil edilen izolatlarda %38 oranında FOS direnci bulunmuştur.

Moleküler teknikler, karbapenemaz genlerinin hızlı ve kesin bir şekilde tanımlanması için duyarlı ve doğru bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Kutlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada¹⁵ 112 adet CRE izolatının %74.1'inin OXA-48, %1.8'inin NDM, %6.3'ünün hem OXA-48 hem de VIM, %8'inin de VIM taşıdığı bildirilmiştir. Ülkemizde 2014 yılında yapılan ve 18 merkezin katıldığı bir çalışmada *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz tipleri multipleks PCR yöntemiyle araştırılmıştır. İzolatların %84.6'sında *bla*_{OXA-48} geni, %6.3'ünde *bla*_{NDM} geni, %2.8'inde *bla*_{VIM} geni, %1.4'ünde *bla*_{IMP} geni tespit edilmiştir¹⁶. Ülkemizde Budak ve arkadaşlarının¹⁷ sunduğu bir olguda yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastanın trakeal aspirat kültüründen *bla*_{OXA-51} geni taşıyan *K.pneumoniae* suşu izole edildiği bildirilmiştir. Çalışmadaki KDKp izolatlarının %39'unun *bla*_{OXA-48}, %10'unun *bla*_{KPC}, %2'sinin *bla*_{NDM} ve %1'inin *bla*_{OXA-51} tek direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. Çalışmada ülkemizde halen en yaygın karbapenemaz direnç geni olan *bla*_{OXA-48} en sık gen olarak saptanmıştır. Tek direnç geni bulunan izolatlarda ikinci sıklıkta *bla*_{KPC} geni tespit edilmiştir. Ülkemizde nadiren saptanan *bla*_{IMP} ve *bla*_{VIM} genleri çalışmada tespit edilmemiştir.

Ülkemizde 2012-2020 yılları arasını kapsayan bir çalışmada 291 adet KDKp izolatının 123'ünde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM} ikisinde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{KPC} ikisinde *bla*_{OXA-48}+*bla*_{VIM} birinde *bla*_{NDM}+*bla*_{IMP} olmak üzere birden fazla direnç geni tespit etmişlerdir¹⁸. Tekintaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada¹⁹, 54 adet KDKp izolatının 19 (%35.2)'unda *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM} genleri birlikte bulunmuştur. Ülkenin Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada 74 adet *K.pneumoniae* ve 15 adet *E.coli* izolatında karbapenemaz genleri araştırılmıştır. Altı izolatta (%6.7) *bla*_{OXA-48} ile *bla*_{NDM} bir izolatta ise (%1.2) *bla*_{OXA-48}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{IMP-1} gen birlikteliği tespit edilmiştir²⁰. Çalışmaya dahil edilen KDKp izolatlarının %17'sinin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{KPC}, %9'unun *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}, %3'ünün *bla*_{OXA-48}+*bla*_{NDM}+*bla*_{KPC}, %2'sinin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}, %1'inin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-23/58}, %1'inin *bla*_{OXA-48}+*bla*_{OXA-51}+*bla*_{KPC} olmak üzere 33'ünün birden fazla direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. Birden fazla karbapenemaz geni taşıyan izolatların oranının (%33) fazla olması dikkat çekicidir.

Çalışmada test edilen KDKp izolatlarının 15'inde, test edilen direnç genleri (*bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23/58}) saptanamamıştır. Bu izolatlardaki karbapenem direncinin, test edilemeyen direnç genleri (*bla*_{GES}, *bla*_{NMC}, *bla*_{SME}, *bla*_{IMI} vb.) veya porin kaybı gibi farklı direnç mekanizmalarından kaynaklanması mümkündür.

Dirençli *K.pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonlarda FOS, bazı aminoglikozidler, rifampin ve karbapenemler kombinasyon tedavilerinin bir parçası olarak kullanılmaktadır. Gaibani ve arkadaşları²¹, 13 KPC üreten *K.pneumoniae* izolatında CZA ile altı antimikrobiyal ilacın (ertapenem, imipenem, MEM, gentamisin, tigesiklin ve siprofloksasin) in vitro etkileşimlerini test etmişler ve tüm KPC-Kp izolatlarında CZA ile imipenem ve MEM arasında sinerjistik etki olduğunu bulmuşlardır. Köle ve arkadaşları²² 42 KDKp izolatında CZA, MEM ve kolistin antibiyotiklerinin in vitro etkileşimlerini değerlendirmiş ve izolatların CZA ve MEM kombinasyonlarında %97.6'sında sinerjik etki tespit etmişlerdir. Nath ve arkadaşları²³ dört adet KPC üreten *K.pneumoniae* izolatına karşı polimiksin B, CZA, MEM, rifampisin

ve amikasinin tek başına ve kombinasyon halinde aktivitesini inceledikleri çalışmada, CZA MİK değerleri sınır değerlere yakın izolatlarda CZA'nın amikasin veya MEM ile kombine edildiğinde in vitro olarak sinerjik etki saptamışlardır. Çalışmada CZA'ya dirençli olan 15 izolatın tamamında dama tahtası yöntemiyle CZA ve MEM kombinasyonunun kısmi sinerjistik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Literatürdeki çoğu çalışmanın CZA duyarlı olan izolatlarda yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmada bla_{NDM} geni (14/15) taşıyan izolatların tamamında CZA ve MEM kombinasyonu ile kısmi sinerjik etki saptanmış ve CZA'nın dirençli bulunduğu ciddi KDKp enfeksiyonlarında bir tedavi seçeneği olarak akılda tutulabileceği kanaati oluşmuştur.

Fosfomisin, ÇİD bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kombinasyon tedavisi seçenekleri arasında bulunan eski bir antibiyotiktir²⁴. Romanelli ve arkadaşları²⁵ 10 adet KPC üreten *K.pneumoniae* klinik izolatında CZA'nın tek başına ve FOS ve karbapenemlerle (imipenem, MEM, ertapenem) kombinasyonunun in vitro etkileşimini değerlendirmiş; seftazidim-avibaktam ve karbapenemler arasında sinerjistik etki (FİKİ < 0.5) saptanırken, CZA'nın FOS ile kombinasyonunda additif etki (FİKİ= 0.58-1.17) tespit etmişlerdir. Önal ve arkadaşları²⁶ üçüncü basamak bir merkezde KDKp'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonu veya ventilatör ilişkili pnömoni enfeksiyonlarında FOS (IV) kombinasyon tedavilerini retrospektif olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada 62 hastada FOS'un bir veya iki antibiyotikle kombinasyonunun hastaların 14 ve 30 günlük hayatta kalım süresi açısından anlamlı fark oluşturmadığı raporlanmıştır. Çalışmada CZA dirençli izolatlar üzerine CZA ile FOS kombinasyonunun %33 oranında additif etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, KDKp izolatlarının neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda FOS'un CZA ile kombine edilerek sınırlı tedavi seçenekleri arasında kullanılabileceği kanaati oluşturmuştur.

Çalışmaya dahil edilen izolatların birbirleriyle olan klonal ilişkisi araştırılamamıştır. Test edilen 15 izolatın dokuzunun taşıdıkları genler ve MİK değerleri açısından birbirine çok benzer olduğu gözlemlenmiştir. Bu izolatların aynı klona ait olması muhtemeldir. Aynı klonlarla çalışmak, %100 sinerji sonuçlarına ulaşılmasına neden olabilir ve bu durum sonuçların genellenebilirliği açısından bias oluşturabilir. Daha sonraki araştırmalarda bu ilişkinin de belirlenmesi hastane enfeksiyonlarını kontrol altında tutmaya ve bu tip hastaların tedavisinin etkin bir şekilde yapılmasına olanak sağlayacaktır.

Sonuç olarak, çalışmaya dahil edilen 100 KDKp izolatının %49'u yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan elde edilmiştir. Bu izolatların %15'i CZA'ya, %38'i FOS'a dirençli bulunmuştur. Hastanemizde KDKp izolatlarında en yaygın karbapenemaz tipinin OXA-48 (%39), ikinci sıklıkta OXA-48+KPC (%17) ve üçüncü sıklıkla KPC (%10) olduğu bulunmuştur. Araştırılan metallo-beta-laktamazlardan IMP ve VIM tipi enzim taşıyan izolat tespit edilmemekle birlikte izolatların ikisinin sadece NDM ürettiği, dokuz suşun OXA-48 ve NDM'yi birlikte ürettiği, üç suşun ise OXA-48, NDM ve KPC'yi birlikte ürettiği görülmüştür. Dolayısıyla izolatların %14'ünde NDM pozitifliği bulunmaktadır. Seftazidim-avibaktama dirençli olarak saptanan 15 izolatın tamamında CZA ile MEM

kombinasyonunun; %33'ünde CZA ile FOS kombinasyonunun kısmi sinerjistik etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, KDKp'yi tedavi etmek için en uygun kombinasyon tedavisinin CZA ile MEM olabileceğini düşündürmektedir. ÇİD'e sahip *K.pneumoniae* enfeksiyonlarında son tedavi seçenekleri olan antibiyotiklere dahi direnç gelişmektedir. Direnç gelişiminin önüne geçmek için akılcı antibiyotik kullanımına dikkat edilmeli ve enfeksiyon kontrol önlemlerine sıkı bir şekilde uyulmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 11.10.2023 ve Karar no: 2023/0677).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Reyes J, Aguilar AC, Caicedo A. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Microbiology key points for clinical practice. Int J Gen Med 2019; 12: 437-46. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S214305>
2. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and diagnostics of carbapenem resistance in gram-negative bacteria. Clin Infect Dis 2019; 69(Suppl 7): 521-8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz824>
3. İşler B, Vatansever C, Özer B, Çınar G, Aslan AT, Stewart A, et al. Comparison of ceftazidime-avibactam susceptibility testing methods against OXA-48-like carrying *Klebsiella* bloodstream isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2022; 104(1): 115745. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2022.115745>
4. Savoldi A, Carrara E, Piddock LJV, Franceschi F, Ellis S, Chiamanti M, et al. The role of combination therapy in the treatment of severe infections caused by carbapenem resistant gram-negatives: A systematic review of clinical studies. BMC Infect Dis 2021; 21(1): 545. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06253-x>
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0.2019.
6. Moody J. Synergism testing: Broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press; 2007. s. pp: 5.12.1-5.12.23.
7. Jacobs DM, Safir MC, Huang D, Minhaj F, Parker A, Rao GG. Triple combination antibiotic therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: A systematic review. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2017; 16(1): 76. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0249-2>
8. Şenol G, Demirel M, Gündüz A, Atay T, Biçmen C, Yıldırım S. Ceftazidime-avibactam susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from intensive care patients. J İzmir Chest Hosp 2023; 37(2): 84-8.
9. Hoşbul T, Aydoğan CN, Kaya S, Bedir O, Gümrall R, Albay A. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam ve kolistin in vitro etkinliği. Mikrobiyol Bul 2022; 56(2): 218-29. <https://doi.org/10.5578/mb.20229803>
10. Han R, Yang X, Yang Y, Guo Y, Yin D, Ding L, et al. Assessment of ceftazidime-avibactam 30/20-µg disk, estest versus broth microdilution results when tested against *Enterobacterales* clinical isolates. Microbiol Spectr 2022; 10(1): e0109221. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01092-21>
11. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. Clin Microbiol Rev 2016; 29(2): 321-47. <https://doi.org/10.1128/CMR.00068-15>
12. Süzük Yıldız S, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgül FM. High rate of colistin and fosfomycin resistance among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Turkey. Acta Microbiol Immunol Hung 2019; 66(1): 103-12. <https://doi.org/10.1556/030.65.2018.042>

13. Zarakolu P, Eser ÖK, Otlı B, Gürpınar Ö, Özakin C, Akalın H, 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>
14. Altınkanat Gelmez G, Can B, Ertürk Şengel B, Korten V, Söyletir G. Determination of fosfomycin susceptibility in carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strains isolated prior to clinical use of the intravenous formulation in Turkey. Marmara Med J 2021; 34(2): 127-31. <https://doi.org/10.5472/marmuj.942784>
15. Kutlu HH, Us E, Tekeli A. Bir üniversite hastanesinde 2010-2014 yılları arasında izole edilen Enterobacteriaceae türlerinin karbapenemaz genlerinin araştırılması ve moleküler epidemiyolojisinin belirlenmesi. Mikrobiyol Bul 2018; 52(1): 1-12. <https://doi.org/10.5578/mb.66156>
16. Çakar A, Akyön Y, Gür D, Karatuna O, Ögünç D, Özhan Baysan B, et al. Investigation of carbapenemases in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2014 in Turkey. Mikrobiyol Bul 2016; 50(1): 21-33. <https://doi.org/10.5578/mb.10695>
17. Budak S, Aktaş Z, Öncül O, Acar A, Özyurt M, Turhan V, et al. Detection of OXA-51 carbapenemase gene in *Klebsiella pneumoniae*: A case report and a new dimension on carbapenemase resistance. J Mol Genet Med 2013; 7: 2.
18. 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. <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.05025>
19. Tekintaş Y, Çilli F, Eraz B, Yaşar M, Aydemir SŞ, Hoşgör Limoncu M. Comparison of phenotypic methods and polymerase chain reaction for the detection of carbapenemase production in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates. Mikrobiyol Bul 2017; 51(3): 269-76. <https://doi.org/10.5578/mb.57333>
20. Alkan Bilik Ö, Bayraktar M, Özcan N, Gül K, Akpolat N. Dissemination of *bla*_{OXA-48} like, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM} genes among carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains in Southeastern Turkey: First report of *Klebsiella pneumoniae* co-producing *bla*_{OXA-48-like}, *bla*_{VIM} and *bla*_{IMP-1} genes. Rev Res Med Microbiol 2021; 32(4): 205. <https://doi.org/10.1097/RRM.0000000000000287>
21. Gaibani P, Lewis RE, Volpe SL, Giannella M, Campoli C, Landini MP, et al. In vitro interaction of ceftazidime-avibactam in combination with different antimicrobials against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. Int J Infect Dis 2017; 65: 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.09.017>
22. Köle M, Sesli Çetin E, Şirin MC, Cicioğlu Arıdoğan B. Seftazidim-avibaktam, meropenem ve kolistin tek başına ve ikili kombinasyonlarının çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı in vitro etkinliğinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2022; 56(2): 230-50. <https://doi.org/10.5578/mb.20229804>
23. Nath S, Moussavi F, Abraham D, Landman D, Quale J. In vitro and in vivo activity of single and dual antimicrobial agents against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 2018; 73(2): 431-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx419>
24. Ramos JR, Lieti MS. Fosfomycin in infections caused by multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Revista Española de Quimioterapia 2019; 32(Suppl 1): 45.
25. Romanelli F, De Robertis A, Carone G, Dalfino L, Stufano M, Del Prete R, et al. In vitro activity of ceftazidime/avibactam alone and in combination with fosfomycin and carbapenems against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. New Microbiol 2020; 43(3): 136-8.
26. Önal U, Tüzemen NÜ, Kaya PK, İşçimen R, Girgin NK, Özakin C, et al. Evaluation of the combination treatments with intravenous fosfomycin for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Rev Assoc Med Bras 2023; 69: e20230727. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20230727>



Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

©Telif Hakkı 2025 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.