T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBAPENEME FENOTİPİK OLARAK DİRENÇLİ SAPTANAN *KLEBSİELLA SPP.* SUŞLARINDA MULTİPLEKS PCR ILE KARBAPENEM DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HATİCE KÜBRA DEMİR

DANIŞMAN
DOÇ. DR. YAŞAR NAKİPOĞLU

TIBBI MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBI MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesini bana aktaran, bana güvenen, bu zorlu süreçte sabır ve anlayışla beni yetiştiren değerli danışmanım Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU'na,

Sağladığı imkanlar ve desteğiyle saygıdeğer Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Dilek ŞATANA, Prof. Dr. Gülseren AKTAŞ, Doç. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ, ve Doç. Dr. Sevim MEŞE'ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gonca ERKÖSE GENÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖNEL'e, bu yolculukta destek veren bütün laboratuvar çalışanlarına ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım boyunca beni hep daha ilerisi için cesaretlendiren annem, babam, kardeşlerim ve her zaman bana yoldaş olan sevgili eşime gönülden teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36909

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....İİİ
İÇİNDEKİLER.....İV
TABLOLAR LİSTESİ.....Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....İX
ÖZET.....Xİ
ABSTRACT.....Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....1
2. GENEL BİLGİLER.....4
2.1.1. Tarihçe.....4
2.1.2. Morfoloji, Kimyasal, Üreme ve Kültür Özellikleri.....4
2.1.3. Virülans Faktörleri.....5
2.2. Hastane Enfeksiyonları.....6
2.2.1. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Hastane Enfeksiyonları.....7
2.2.2. Hastane Enfeksiyonunda Karbapeneme Dirençli *K. pneumoniae*.....9
2.3. Beta-Laktam Antibiyotikler.....10
2.3.1. Karbapenemler.....12
2.3.1.1. Karbapenemlerin Keşfi.....12
2.3.2. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması.....13
2.3.3. Karbapenem Direnci ve Karbapenemazların Sınıflandırılması.....14
2.3.4. Karbapenemazlar.....16
2.3.4.1. Sınıf A Karbapenemazlar.....17
2.3.4.2. Sınıf B Karbapenemazlar.....18
2.3.4.3. Sınıf D Karbapenemazlar.....18
2.3.5. Beş Büyükler (IMP, VIM, NDM, KPC ve OXA-48)'in Epidemiyolojisi 19
2.3.5.1. KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz).....20
2.3.5.2. IMP (Imipenem-resistant Pseudomonas –type carbapenemase).....20
2.3.5.3. VIM (Verona integron-encoded metallo-β-lactamase).....21
2.3.5.4. NDM (New Delhi metallo-β-laktamaz).....21
2.3.5.5. OXA-48 (Oksasilinaz).....21

2.4. Karbapenem Direncinin Laboratuvar Tanısı....24
2.4.1. Fenotipik Metodlar....24
2.4.1.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri....24
2.4.1.2. Kombine Disk Sinerji Testleri....25
2.4.1.3. Kromojenik Testler....26
2.4.1.4. Modifiye Hodge Test (MHT)....26
2.4.1.5. CarbaNP....27
2.4.1.6. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (CİM)....27
2.4.1.7. İmmünokromatografik testler....27
2.4.2. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)....27
2.4.3. Genotipik Metodlar....28
2.4.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)....28
2.4.3.2. Mikroarray....29
2.4.3.3. Whole Genome Sequencing (WGS)....29
3. GEREÇ VE YÖNTEM....31
3.1. Gereç....31
3.1.1. Örnekler....31
3.1.2. Besiyerler....32
3.1.2.1. Gliserinli Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon (BKİB)....32
3.1.2.2. Triptik Soy Agar (TSA)....32
3.1.2.3. Katyon-Ayarlı Mueller Hinton Buyyon (KAMHB)....32
3.1.3. Antibiyotik toz maddeler....33
3.1.4. Diğer kimyasal maddeler....33
3.1.5. Kitler....33
3.1.6. Cihazlar....33
3.1.7. Kullanılan sarf maddeler....34
3.2. Yöntemler....34
3.2.1. Bakteri izolasyonu....34
3.2.2. API 20E ile identifikasyon....35
3.2.2.1. Testin hazırlanması....35
3.2.2.2. Sonuçların okunması....36
3.2.3. Sıvı mikrodilüsyon....36

3.2.3.1. Antibiyotik stok solüsyonların hazırlanması 37
3.2.3.2. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması 38
3.2.3.3. Sıvı Mikrodilüsyon ile MİK belirlenmesi.....38
3.2.3.4. Deneyin değerlendirilmesi 39
3.2.4. Multipleks PCR ile direnç genlerinin belirlenmesi.....39
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme 41
4. BULGULAR.....42
4.1. Örnekler ve Bakteri Suşlarının Tanımlanması.....42
4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları ve Gen Analizi 43
5. TARTIŞMA 50
KAYNAKLAR 57
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....85

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: *Klebsielleae* içerisindeki bazı türlerin ayrımı 5
Tablo 2-2: Karbapenemaz genlerini üreten *Enterobacteriacea*'de karbapenemlerin MİK değer aralığı 16
Tablo 2-3: En sık görülen karbapenemazlar 19
Tablo 3-1: CLSI'a göre *Enterobacteriaceae* için karbapenem MİK değerleri..... 36
Tablo 3-2: Karbapenemlerin çözücü ve sulandırıcı maddeleri 38
Tablo 4-1: İzolatların sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre karbapeneme duyarlılıkları 43
Tablo 4-2: İzolatların doripeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki .. 46
Tablo 4-3: İzolatların meropeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki. 46
Tablo 4-4: İzolatların ertapeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki... 47
Tablo 4-5: İzolatların imipeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki ... 47
Tablo 4-6: Tüm izolatların tür, karbapenem direnç profilleri ve gen analizleri 48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Karbapenemazların endemik, bölgesel ve sporadik olarak bulundukları ülke sayısı. 22
Şekil 2-2: KPC, OXA-48 ve NDM'nin dünyada yayılımı. 23
Şekil 2-3: *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem MİK dağılımlarına göre karbapenemaz enzim tipinin dağılımı. 23
Şekil 2-4: Karbapenem direncinin laboratuvar tanısı. 30
Şekil 3-1 ve **Şekil 3-2:** *K. pneumoniae* izolatlarının MacConkey agar ve TSA'da ekim görüntüsü. 35
Şekil 3-3: API 20E testinin pozitif ve negatif sonuçları. 36
Şekil 3-4: Sıvı mikrodilüsyon deneyinin şematik gösterimi. 39
Şekil 3-5: Gene Expert Multipleks Real Time PCR cihazı, kartuşlar ve reaktifler. 40
Şekil 4-1 ve **Şekil 4-2:** İzolatların tür düzeyinde ve cinsiyete göre dağılımı. 42
Şekil 4-3: API20E stripinde *K. pneumoniae* renk sonucu. 42
Şekil 4-4: Sıvı mikrodilüsyon deneyine ait örnek mikroplak. 43
Şekil 4-5: Multipleks Real Time PCR cihazında NDM genine ait görüntü. 44
Şekil 4-6: Multipleks Real Time PCR cihazında VIM genine ait görüntü. 44
Şekil 4-7: Multipleks Real Time PCR cihazında OXA-48 genine ait görüntü. 44
Şekil 4-8: Multipleks Real Time PCR cihazında NDM + OXA-48 genlerine ait görüntü. 45
Şekil 4-9: Multipleks Real Time PCR cihazında karbapenem genleri içermeyen suşlara ait görüntü. 45
Şekil 4-10: Karbapenemazların izolatlar içerisindeki dağılımı. 46

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KDGNÇ: Karbapeneme dirençli Gram negatif çomak

MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

PBP: Penisilin Bağlayıcı Protein

CLSI: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

EUCAST: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

DHP-1: Dehidropeptidaz 1

KPC: *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz

SME: *Serratia marcescens* enzim

IMI: Imipenem-hydrolysing β-lactamase

SFC-1: *Serratia fonticola* carbapenemase-1

GES: Guiana extended spectrum

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

NDM: New Delhi metallo-β-laktamaz

VIM: Verona integron-encoded metallo-β-lactamase

IMP: Imipenem-resistant Pseudomonas -type carbapenemases

GIM: German imipenemase

SIM: Seoul imipenemase

KPKP: KPC- üreten *K. pneumoniae*

VPKP: VIM üreten *K. pneumoniae*

MHT: Modifiye Hodge Test

CİM: Karbapenem İnaktivasyon Metodu

MALDI-TOF MS: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

WGS: Whole Genome Sequencing (Tüm Genom Dizileme)

PFGE: Pulsed Field Gel Electrophoresis

MLST: Multilocus Sequence Typing

BKİB: Gliserinli Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon

TSA: Triptik Soy Agar

KAMHB: Katyon-Ayarlı Mueller Hinton Buyyon

ÖZET

Demir, H. K. (2022). Karbapeneme fenotipik olarak dirençli saptanan *Klebsiella spp.* suşlarında Multipleks PCR ile karbapenem direnç genlerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Son yıllarda hastane enfeksiyonu etkeni olan *Klebsiella spp*. suşlarında karbapenem direncinin artması yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Yenidoğan yoğun bakım üniteleri, bu bakterilerin yayılımı için uygun ortamlardır. *Klebsiella spp.* bakterilerinde karbapeneme karşı en önemli direnç mekanizması, ilacı inaktive eden karbapenemaz enzimlerinin üretimidir. Bu enzimleri üreten genler bakteriler arasında aktarılarak direncin yayılmasından sorumludurlar. Genlerin prevalansı, ülkeler hatta bölgeler arasında bile farklılıklar göstermektedir. Bu sebeple, direnç profillerinin ortaya konup gen analizlerinin yapılması, hem bölgesel hem de dünya çapında yayılımın önlenmesi için büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda, hastane enfeksiyonu kontrolü kapsamında alınan rektal sürüntü örneklerinden izole edilen ve karbapeneme fenotipik olarak dirençli saptanan 50 *Klebsiella spp.* suşunda karbapenem direnç genlerinin araştırılması amaçlanmıştır. *Klebsiella spp.* suşlarının tür tanımlanması API20E stripleri ile yapılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak karbapenemlerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ve Multipleks Real Time PCR ile beş büyük karbapenem direnç geni (OXA-48, NDM, VIM, KPC, IMP) analiz edilmiştir. Yapılan tür tanımlanmasında 50 *Klebsiella spp.* suşun 44'ü *Klebsiella pneumoniae* ve 6'sı *Klebsiella oxytoca* olarak belirlenmiştir. İzole edilen suşların 49 (%98)'unun imipeneme ve ertapeneme, 47 (%94)'sinin ise doripeneme ve meropeneme dirençli olduğu görülmüştür. Gen analizi sonucuna göre, izolatların %42'sinde NDM, %16'sında OXA-48, %36'sında NDM + OXA-48 genleri birlikte bulunmuştur. Ayrıca, bir (%2) *K. oxytoca* suşunda VIM tespit edilmiştir. KPC ve IMP genlerine rastlanmamıştır.

Çalışmamızın sonucu, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hastalıkları Yenidoğan ve Yoğun Bakım Servisi'nde NDM'nin çok yaygın ve epidemik olduğunu göstermektedir. Buna ek olarak, NDM + OXA-48 prevalansının yüksek olması endişe vericidir. Bu durum ülkemizde NDM'nin endemik seviyelere gelebileceğini işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karbapenem direnci, *Klebsiella spp.*, hastane enfeksiyonu, karbapenemaz, multipleks PCR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36909

ABSTRACT

Demir, H. K. (2022). Investigation of carbapenem resistance genes by Multiplex PCR in phenotypically determined carbapenem-resistant *Klebsiella spp.* strains. Istanbul University Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology. Master Thesis. Istanbul.

The increase in carbapenem resistance in *Klebsiella spp.* strains causes high morbidity and mortality in recent years. Neonatal Intensive Care are suitable environments for the spread of these bacteria. The most important mechanism of resistance to carbapenem in *Klebsiella spp.* strains is the production of carbapenemase enzymes that inactivate the drug. The genes producing these enzymes are transferrable between bacteria and are responsible for the spread of resistance. The prevalence of genes varies between countries and even between regions. For this reason, it is of great importance to reveal resistance profiles and perform gene analyzes in order to prevent both regional and worldwide spread.

In our study, we aimed to investigate carbapenem resistance genes in 50 *Klebsiella spp.* strains which phenotypically displayed resistance to carbapenem, and isolated from rectal swabs. *Klebsiella spp.* strains were identified with API20E strips. Minimal Inhibition Concentration (MIC) values of carbapenems were determined by broth microdilution and major five carbapenem genes (OXA-48, NDM, VIM, KPC, IMP) were detected by Multiplex Real Time PCR. Accordingly, among 50 *Klebsiella spp*., 44 were *Klebsiella pneumoniae* and 6 were *Klebsiella oxytoca.* As a consequence, it was found that 49 (98%) of the strains were resistant to ertapenem and imipenem, and 47 (94%) to doripenem and meropenem. As a result of gene analysis, NDM was found in 42% of isolates, OXA-48 was in 16%, NDM + OXA-48 was co-existed in 36% of isolates. Moreover, VIM was detected in one (2%) *K. oxytoca* strain. KPC and IMP genes were not detected.

In conclusion, it was found that NDM is the most prevalent type of carbapenemase and epidemic in Istanbul Medical Faculty Hospital, Pediatrics and Neonatal Intensive Care Service. At the same time, the high prevalence of NDM + OXA-48 is of concern. This indicates that NDM may reach endemic levels in our country.

Key Words: carbapenem resistance, *Klebsiella spp.,* hospital-acquired infections, carbapenemase, multiplex PCR

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 36909

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klebsiella spp. bakterileri insan ve hayvan bağırsak ve üst solunum yollarında bulunan ve *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer alan Gram negatif çomaklardır. *Klebsiella spp.* bakterilerinin tıbbi olarak üç önemli türü bulunmaktadır. Bunlar *Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca* ve *Klebsiella granulomatis*'tir. Bu türler çeşitli fırsatçı enfeksiyonlar oluştururlar. Bunun yanı sıra, özellikle *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* hastane enfeksiyonu etkenidirler (Neog N ve ark. 2021).

Hastane enfeksiyonu, hastaneye yatış sırasında inkübasyon süresi içinde olmayıp hastanede kazanılan enfeksiyonlar olarak tanımlanır. Bu enfeksiyonların büyük bölümünü bakteriler oluşturmaktadır. Bu bakteriler hastane içerisinde solunum cihazları, kataterler gibi çeşitli araç gereçler, sağlık çalışanları ve ortak kullanım alanları üzerinden diğer hastalara yayılım özelliği gösterirler ve sepsitesimi gibi ciddi sonuçlar doğurabilirler (Peter ve Cashore 1995; Gaynes ve ark. 1996). Bu bakterilerin en önemli özelliği ise çoğul antibiyotiklere direnç kazanmalarıdır (Nordmann ve ark. 2011). Son yıllarda özellikle hastanede yatan çocukların bağırsağında karbapeneme dirençli Gram negatif çomakların (KDGNÇ) bulunması büyük tehlike oluşturmaktadır. Tedavide kullanılacak antibiyotik sayısının git gide azaldığı günümüzde, karbapenemlerin klinik açıdan önemi büyüktür. Beta-laktam antibiyotik grubuna ait olan karbapenemler şuan tedavide son seçenek olarak kullanılmasına rağmen karbapenemlere karşı çeşitli direnç yolları oluşmuştur. Hücredeki Penisilin Bağlayıcı Proteinler (PBP)'deki değişiklikler, hücre zarındaki porin değişiklikleri ve karbapenemleri parçalayan beta-laktamaz enzimlerin salgılanması bu direnci oluşturan ana sebeplerdir (Mayer ve ark. 2000). Buna ek olarak, kromozomal ya da plazmid ile kazanılma sonucu karbapenemleri parçalayan beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesi karbapenem direncinin yayılmasına ortam hazırlamaktadır. 'Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical & Laboratory Standards Institute - CLSI)'ne göre *Enterobacteriaceae* için karbapeneme dirençli suşların identifikasyonuna yönelik olarak doripenem, ertapenem, imipenem ve meropenem için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir. Buna göre, doripenem, imipenem ve meropenem için MİK değeri ≥ 4 μg/ml; ertapenem için ise MİK değeri ≥ 2 μg/ml olan izolatlar dirençli kabul edilmiştir (CLSI 2021). Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi'ne (EUCAST) göre direnç sınır değerleri

ertapenem için >0.5 μg/ml, doripenem > 2 μg/ml, imipenem >4 μg/ml ve meropenem >8 μg/ml olarak kabul edilmiştir (EUCAST 2021)

Son yıllarda *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Klebsiella spp*. bakterilerinde çoklu ilaç direncinin çarpıcı şekilde artması çok dikkat çekmiştir. Karbapenemler, özellikle genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *K. pneumoniae*'ye karşı en iyi *in vitro* aktiviteye sahip olmasına rağmen; bu antibiyotiklere karşı direnç artmış ve çoklu ilaç direncine sahip izolatların kontrolünde önemli bir tehdit oluşturmuştur (Cuzon ve ark. 2011). Karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* izolatları hemen hemen çoğu antimikrobiyal sınıflara karşı dirençlidir ve enfeksiyonlar son derece yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkilidir (Marchaim ve ark. 2011; Schwaber ve ark. 2008). Bunlar arasında ABD'deki *K. pneumoniae* suşları, tüm karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae*'nin %92'sini oluşturmaktadır (Lledo ve ark. 2009).

Klebsiella spp. bakterileri, bir direnç mekanizması olarak karbapenemaz üreterek karbapenemi inaktive ederler. Bu enzim üretimi ise plazmid üzerinde taşınan çeşitli genler tarafından sentezlenmektedir. Karbapenem direnci fenotipik olarak disk difüzyon testi ve MİK değerleri ile saptanabilmesine rağmen, bu dirençten hangi genlerin (IMP, VIM, NDM, KPC ve OXA-48) sorumlu olduğunun bilinmesi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi genotipik yöntemler ile mümkündür (CLSI 2018). 'Beş Büyük (big five)' adı verilen bu genlerin varlığı ve yayılımı, ülkeler arasında hatta bölgeden bölgeye dahi farklılık göstermektedir (Carrer ve ark. 2010; Al-Zahrani 2018). Bu genler arasında OXA-48, *K. pneumoniae* izolatlarında ilk olarak Türkiye'de 2003 yılında tanımlanmıştır (Poirel ve ark. 2004). Daha sonra yine Türkiye'de, OXA-48 *Escherichia* coli ve *Citrobacter freundii*'de bildirilmiştir (Carrër ve ark. 2010). Birkaç yıl boyunca, OXA-48 sadece Türkiye'de tanımlanmış ve neredeyse tüm OXA-48 beta-laktamaz üreticilerinin Türkiye'de hastaneye yatırılan hastalarla veya Türkiye ile bağlantısı olduğu bildirilmiş (Carrër ve ark. 2008; 2010) daha sonra Orta Doğu ve Avrupa'ya yayılmıştır (Potron ve ark. 2013).

NDM-1 üreten suşlar ise Birleşik Krallık, Hindistan ve Pakistan'da daha sık görülmesine rağmen, Türkiye'de bu gen ilk kez kök hücre nakli için hastaneye yatırılan Iraklı bir hastadaki *K. pneumoniae* suşundan 2012 yılında izole edilmiştir (Poirel ve ark. 2012). Türkiye öncelikli olarak OXA-48 için endemik bölge halindedir; bununla birlikte son yıllarda NDM, KPC ve IMP üreten suşların izole edilmesi önem arz etmektedir.

Hastane enfeksiyonu etkeni *Klebsiella spp.* bakterilerindeki karbapenem direncinin yüksek morbidite ve mortalite oranıyla seyretmesinin sonucu olarak, CLSI'a göre *Klebsiella spp*. karbapenem direncinin araştırılması gereken öncelikli bakterilerdendir. Bilhassa yenidoğanlar için yoğun bakım ortamları bu bakterilerin direkt temas, enjektörler vb. gereçler, kontamine olmuş anne sütü vb. kullanımı ile, sağlık çalışanları ve ortak kullanım alanları üzerinden yayılmasına uygun ortamlardır. Buna ek olarak, önceden antibiyotik kullanımı dirençli bakterilerin seçilmesine ve kolonizasyonuna sebep olmaktadır (Akalın 1999). Hastane enfeksiyonu kapsamında *Klebsiella spp.* bakterilerindeki karbapenem direncinin takip edilmesi, salgınların önlenmesi, hastaneye yatış süresinin kısalması ve antibiyotik kullanımının azalmasını sağlar (Çalangu 1997). *Klebsiella spp*. bakterilerinin plazmid üzerinde aktarılan ve karbapenemaz üretimi ile sonuçlanan direnç genlerinin varlığı ve yayılımı, ülkeden ülkeye hatta bölgeden bölgeye dahi farklılık göstermekle beraber; güncel araştırmalarla bu genlerin dağılım haritası yenilenmektedir. Genlerin endemik olarak bulunduğu bölgelerin dışında turizm, göç olayları vb. gibi sebeplerle farklı ülkelere transfer olarak sporadik varlık göstermesi karbapeneme dirençli *Klebsiella spp*. suşlarının genotipik olarak incelenmesini gerektirmektedir. Hastane enfeksiyonlarının yayılım dinamiklerinden biri olan toplum-hastane ilişkisi karbapenem direnç genlerinin prevalansı ve transferinin ortaya konulup gerekli önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Tez çalışmasında amaç, hastanemizde Çocuk Hastalıkları Yenidoğan ve Yoğun Bakım ünitesinde yatan çocukların bağırsağında yer alan karbapeneme dirençli *Klebsiella spp.* suşlarını identifiye etmek ve bu suşlardaki dirence sebep olan karbapenemaz üreten genleri araştırmaktır. Bunun yanı sıra, karbapenem direnç geni taşıyan *Klebsiella spp*. suşlarında karbapenem MİK değerlerini belirlemek hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Klebsiella spp*.

2.1.1. Tarihçe

Klebsiella cinsi ismi 19. yüzyılın sonlarında yaşamış olan mikrobiyolog Edwin Kelbs'ten gelmektedir. Carl Friedlander' in 1882'de *K. penumoniae* ile ilgili çalışmalarından dolayı bu bakteriye Friedlander basili de denmektedir (Erdem B 1999)

2.1.2. Morfoloji, Kimyasal, Üreme ve Kültür Özellikleri

İnsan ve hayvan bağırsak ve üst solunum yollarında, ayrıca toprak ve sularda bulunan *Klebsiella* cinsi bakteriler spor oluşturmayan, hareketsiz, kapsüllü, 0.7 - 1.5 x 2.0 – 5.0 µm boyutlarında Gram negatif çomaklardır.

Klebsielleae ailesi Enterobacteriaceae'de yer alan ve şiddetli pnömoniye sebep olmasıyla bilinmektedir. *Klebsiella* cinsi bakteriler temelde altı türü içerir: *K. pneumoniae, K. oxytoca, K. granulomatis, Klebsiella variicola, Klebsiella singaporensis* ve *Klebsiella alba*'dır.

2001 yılında *Klebsiella* cinsi bakteriler 16S rRNA ve bakteriyel RNA polimeraz β- subuniti kodlayan rpoB geni analizlerine dayanarak üç ana kümeye; *K. pneumoniae* ise *pneumoniae, ozaenae* ve *rhinoscleromatis* olarak alt türlere ayrılmıştır (Drancourt ve ark. 2001).

Klebsiella cinsi bakteriler MacConkey agarda genellikle pembe-mor, mukoid ve geniş koloniler oluştururlar. 35±2 °C'de 18-24 saatte üreyen, hareketsiz, laktozu fermante eden, üreyi hidroliz ederek Christensen üre agarda pembe renk oluşturan, Voges-Proskauer testi pozitif ve DNAaz negatif bakterilerdir.

Klebsiella spp. içerisinde *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* hastane enfeksiyonu etkenidirler (Neog N ve ark. 2021). İki türün ayrımı için triptofandan indol üretimine bakılabilir. Buna göre; *K. pneumoniae* indol negatif ve *K. oxytoca* ise indol pozitiftir.

Klebsielleae içerisinde yer alan bazı türlerin ayrımı Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2-1: *Klebsielleae* içerisindeki bazı türlerin ayrımı

Biyokimyasal test	*Klebsiella*		*Enterobacter*		*Serratia*	
	K. pneumoniae	*K. oxytoca*	*E. aerogenes*	*E. cloacae*	*S. marcescens*	*S. liquefaciens*
İndol	-	+	-	-	-	-
Hareket	-	-	+		+	+
Lizin	+	+	+	-	+	+
Arginin	-	-	-	+	-	-
Ornitin	-	-	+	+	+	+
DNAaz (25 ºC)	-	-	-	-	+	D (85)
Jelatinaz (22 ºC)	-	-	-	-	+	+
Laktoz fermantasyonu	+	+	+	+	-	-
Sükroz fermantasyonu	+	+	+	+	+	+
Sorbitol fermantasyonu	+	+	+	+	+	+
Adonitol fermantasyonu	+	+	+	D (25)	D (40)	-
Arabinoz fermantasyonu	+	+	+	+	-	+

(+): %90 ya da daha fazla suş için pozitif; (-): %90 ya da daha fazla suş için nefatif; (D): pozitiflik oranı %11-%89 arasında değişmektedir. Koneman's Diagnostic Microbiology'den revize edilmiştir.

2.1.3. Virülans Faktörleri

Virülans, mikroorganizmaların patojenitesi diğer bir ifade ile hastalık yapma yeteneğidir. *Klebsiella* cinsi bakterilerin hastalık yapabilme yeteneklerini artıran çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır. *K. pneumoniae*, nozokomiyal enfeksiyonlarda çoğunlukla solunum ve üriner sistemi etkilediği için; bu iki ayrı bölgedeki enfeksiyonlarda farklı virülans faktörleri devreye girmektedir. *Klebsiella spp*.'deki virülans faktörleri kapsül, pili ve siderofor olmak üzere üç ana başlıkta incelenebilir.

Kapsül, *Klebsiella spp.* bakterilerinde kompleks asidik polisakkaritlerden oluşan ana virülans yapılarından biridir (Cryz SJ ve ark. 1984). Kapsül materyali, bakteri yüzeyini büyük katmanlar halinde kaplayarak bakteriyi polimorfonükleer gronülositler tarafından fagosite edilmekten korur (Amako K ve ark. 1988). Buna ek olarak, bakterisidal serum faktörlerinden bakteriyi korur (Williams P ve ark. 1983). *Klebsiella spp*.'deki kapsüler polisakkaritler (özellikle K antijeni), antifagositik özelliklerinin yanı sıra makrofajların farklılaşmasını önleyerek kapasitelerini düşürmektedir (Yokochi T ve

ark. 1977; 1979). K1 ve K2 antijenlerinin daha virülant olduğu bildirilmiştir (Kauffmann F 1949; Mizuta K ve ark. 1983). K antijenlerinin virülansını, yapıdaki mannoz içeriğinin etkilediği düşünülmektedir.

Pili (Fimbria): Bir mikroorganizmanın enfeksiyon oluşturma sürecinde, mukozal yüzeye yakınlık ve tutunma önemlidir. *Enterobacteriaceae* üyelerinde genellikle farklı tip pililer ile yüzeye tutunma gerçekleşir. Pili, bakteri yüzeyinden çıkan ve uzunlukları 10 μm'ye varan, protein yapılı ipliksi uzantılardır (Ofek ve Doyle 1994). Tip 1 ve Tip 3 pili, *Klebsiella spp*.'de en sık görülen uzantı tipleridir. Özellikle üriner sistem enfeksiyonlarında biyofilm oluşumunda görev aldıkları gösterilmiştir (Paczosa ve Mecsas 2016).

Siderofor: Bakterilerin konaktaki üremesi yalnızca konağın savunma mekanizmalarına bağlı değildir. Demir, bakterinin oksijen ve elektron taşıma süreçlerindeki proteinlerde redoks katalizörü olarak işlev gören ve bakteriyel büyümeyi etkileyen bir faktördür (Griffiths 1987). Demir elementi hemoglobin, hemosiderin, ferritin, miyoglobin, laktoferrin, transferrin gibi proteinlere bağlı olduğundan; bakteriye konak ortamında sağlanan serbest demir temini son derece düşüktür. Bir hayvan deneyinde, parenteral demir uygulanmasının *K. pneumoniae* enfeksiyonlarına karşı hassasiyeti önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (Khimji ve Miles 1978). Çoğu bakteri, konaktan gelen demir teminini korumak için siderofor denilen ve konak proteinlere bağlı demiri rekabetçi bir şekilde alma yeteneğine sahip demir şelatörlerini salgılarlar (Griffiths ve ark. 1988). Enterobakteriler fenolat tipi ve hidroksamat tipi olmak üzere iki farklı siderofor sentezlerler. Daha yaygın olan grup, fenolat tipi sideroforlardan oluşur. En iyi bilinen temsilcileri enterobaktindir. Hidroksamat tipi sideroforlar arasında ise aerobaktin en önemlilerinden biridir (Podschun ve Ullmann 1998).

2.2. Hastane Enfeksiyonları

Hastane enfeksiyonu, hastaneye yatış sırasında inkübasyon süresi içinde olmayıp hastanede kazanılan enfeksiyonlar olarak tanımlanır. Nozokomiyal enfeksiyonlar olarak da bilinen hastane enfeksiyonlarına çoğunlukla bakteriler etken olmakla birlikte; mantarlar, virüsler ve parazitler de bu enfeksiyonların sebebi olabilir (Eickhoff TC 1994).

Hastane enfeksiyonları, hastaneye yatıştan en az 48 saat sonra ve alınan sağlık hizmetinden sonra 30 gün içerisinde meydana gelir (Revelas A 2012). Amerika

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, yaklaşık 1.7 milyon hastanın hastane enfeksiyonu geçirdiğini ve bunların 98.000'den fazlasının hastane enfeksiyonu sebebiyle öldüğünü bildirmiştir (Klevens RM ve ark. 2007). Amerika'da hastane enfeksiyonları, ölüme sebep olan ilk on etken arasındadır (Agency for Healthcare Research and Quality 2012).

Staphylcoccus aureus, Enterococcus spp., Escherichia coli, Candida albicans, Candida glabrata, K. pneumoniae ve *K. oxytoca, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Enterobacter spp.* gibi patojenler başlıca hastane enfeksiyonu etkeni olan mikroorganizmalardır (Hidron AI ve ark. 2008; Sievert DM ve ark. 2013; Weiner LM ve ark. 2016). Bu patojenler içerisinde Gram negatif bakteriler tüm hastane enfeksiyonlarının %20 - %40'ından sorumlu olmaktadır (Boucher HW ve ark. 2009). Hastane enfeksiyonlarının artırdığı morbidite ve mortalite oranları; buna ek olarak hastaneye ve ülkeye getirdiği finansal yük göz önüne alındığında, Gram negatif bakterileri hedef alan yeni antibiyotiklerin üretimi daha da önem kazanmaktadır (Amin AN ve Deruelle D 2015). Hastane enfeksiyonu etkeni olan bakteriler hastane içerisinde solunum cihazları, kataterler gibi çeşitli araç gereçler, hemşire bankoları, kapı kolları, hastane zemini hatta tıbbi atıklarda bulunabilir ve sağlık personeli ile diğer hastalara yayılım özelliği göstererek pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları gibi ciddi sonuçlar doğurabilirler (Peter ve Cashore 1995; Gaynes ve ark. 1996; Bagheri Nejad S ve ark. 2011; Askarian M ve ark. 2012; Khan HA ve ark. 2017). Bu bakterilerin en önemli özelliği ise çoklu ilaç direnci kazanmalarıdır (Nordmann ve ark. 2011).

Hastane enfeksiyonundan korunmak için günümüzde bile, su ve sabun ile el yıkamak veya alkol ile el hijyeni sağlamak en önemli basamak olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.2.1. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Hastane Enfeksiyonları

Yoğun bakım üniteleri, hastaların daha önceden antibiyotik kullanımı, immun baskılanmış durumda oluş, sahip olunan diğer hastalıklar ve invaziv girişimler sebebiyle hastane enfeksiyonu açısından risk altında olunan ortamlardır (Chernow B 1999; McDermid RC ve ark. 2011). Hastanede yatış süresi ve önceden antibiyotik kullanımı en önemli etkenlerden olmakla birlikte, kullanılan antibiyotiklerin dirençli mikroorganizmaların kolonizasyonuna olanak sağlaması, çoklu ilaç direncine sahip

bakterilerin çoğalmasına sebep olmaktadır (Jacobson KL ve ark. 1995). Buna ek olak, bu bakterilerin hepsi dış ortamdan bulaşmayıp endojen kaynaklı da olabilir (Olson B ve ark. 1984). Son yıllarda özellikle hastanede yatan çocukların bağırsağında tedavide son basamak olarak kullanılan karbapeneme dirençli Gram negatif çomakların bulunması büyük tehlike oluşturmaktadır.

Yenidoğan yoğun bakım birimlerinde hastane enfeksiyonları diğer kliniklerden farklı dinamiklere sahiptir. Yenidoğan yoğun bakımda nozokomiyal enfeksiyonları etkileyen birkaç risk faktöründen söz etmek mümkündür. İlk olarak, yenidoğanlarda endojen flora bulunmaz; bununla birlikte, doğumdan sonra hastane florası ve maternal genital sistemde karşılaşılan mikroorganizmalar yenidoğanın mukoza ve deri florasını oluşturarak bakteriyel kolonizasyon meydana gelir. Karşılaşılan mikroorganizmalar burun delikleri, göbek güdüğü, deri, gastrointestinal sistem ve farinkste kolonize olur. Bununla birlikte virülan suşlar da çoğalarak enfeksiyon riskini artırabilir. İkincil olarak, özellikle preterm yenidoğanlarda immun sistemin gelişmemiş olması, yapılan invaziv işlemler de göz önüne alındığında yenidoğanları enfeksiyonlar açısından riskli duruma sokar (Goldman DA 1989; Moro ML ve ark. 1996; Çoban AÇ 2000). Buna göre, yenidoğanlarda hastane enfeksiyonları 'doğum kanalından edinilen veya hastanede yattığı sürede ya da taburcu olduktan sonraki 48 saat içinde gelişen enfeksiyonlar' olarak tanımlanır (Gaynes RP ve ark. 1991). Etken mikroorganizmalar direkt temas, kontamine olmuş cisimler (enjektörler, rektal termometre, sıcak hava nemlendiricileri), damlacık teması veya kontamine olmuş anne sütü kaynaklı olabilmektedir (Donowitz LG ve ark. 1981, Çoban AÇ 2000).

Yenidoğanlarda karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonları yüksek morbidite ve mortalite oranına sahiptir. Mısır'da yapılan bir çalışmada, yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki geç başlangıçlı septisemi vakalarından alınan örneklerde *K. pnemoniae* en çok izole edilen bakteri olmuş (%26.1); yenidoğan sepsisinde %56.5 oran ile yüksek mortalite göstermiştir. İzole edilen *K. pneumoniae* bakterilerinde ağırlıklı olarak OXA-48 (%60.8) ve NDM (%52.2) genleri tespit edilmiştir. KPC, IMP ve VIM genleri bulunmamıştır (Ghaith DM ve ark. 2020). Özellikle doğumdan 72 saat sonra ortaya çıkan geç başlangıçlı sepsiste, bakterilerin kaynağının toplum veya hastane kökenli olduğu göz önüne alındığında, hastane içerisinde bu patojenlerin transferinin

yayılımının önlenmesi hem sağlık çalışanlarının hem de hastane enfeksiyonu kontrol komitesi işbirliğini gerektirmektedir.

2.2.2. Hastane Enfeksiyonunda Karbapeneme Dirençli *K. pneumoniae*

Dünya çapında karbapeneme dirençli K. *pneumoniae* ve özellikle karbapenemaz üreten suşlar önemli bir sorun haline gelmiştir. Özellikle sağlık hizmetleri için yeterli kaynak ve bütçe ayıramayan ülkeler için karbapenem direnci olan *K. pneumoniae*'den kaynaklanan hastane enfeksiyonları daha da önem arz etmektedir. Hoxha ve ark. (2016), karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*'nin 30 günde mortalitesini %41 olarak bulmuş ve bu hastaların 30 gün içinde ölme olasılığının üç kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

K. pneumoniae'nin idrar yolu enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, pnömoni, septisemi, endokardit ve sistit gibi Gram negatif enfeksiyonlarının yaklaşık üçte birinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Shiri ve ark. 2017).

Hem toplum hem de hastane ortamında *Klebsiella spp*. ile kolonizyonu etkileyen bir çok faktör olduğu bilinmektedir. *K. pneumoniae* ile vaka bildirimleri ülkeden ülkeye değişmekte (Ling ve ark. 2015); hastanın sosyo-demografik özellikleri, daha önceden antibiyotik kullanımı, hastanede kalış veya yoğun bakıma alınış gibi faktörler etkili olmaktadır. Özellikle yoğun bakım ortamında tedavi olmuş immun yetmezliği olan hastalar için daha önceden antibiyotik kullanımı, *K. penumoniae* kolonizasyonu ve enfeksiyonu için risk faktörüdür. Hastaneye yatışı olan hastalarda kolonizasyon oranları dışkıda %77, farenkste %19 ve ellerde %42 ile seyretmektedir. Kolonizayson oranı artan antibiyotik kullanımı ile ilişkilendirilmiştir (Podschun ve Ullmann 1998). *Klebsiella spp*. kaynaklı hastane enfeksiyonlarına bakıldığında, dışkıda kolonizasyona sahip hastaların yakalanma oranı taşıyıcı olmayanlara göre dört kat daha fazladır (Selden ve ark. 1971). Ruiz ve ark. (2019) çalışmasına göre üç haftadan fazla yoğun bakım ünitesinde kalan hastaların %50'sinden fazlasında çok ilaca dirençli *K. pneumoniae* suşlarıyla kolonizasyon meydana gelmektedir.

Klebsiella spp. dünyada karbapenem direncinin yayılmasında kaynak konumundadır. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve karbapenemaz direnç genlerini taşıyan plazmid gibi genetik elemanlarını diğer bakteri türlerine aktararak direncin yayılmasına sebep olmakta, bu durumun sonucunda bakteriler çok ilaca dirençli suşlar haline gelmektedir.

Covid-19 ile başlayan pandemi sürecinde, yoğun bakıma yatan hasta sayısındaki artış, ikincil bakteriyel enfeksiyonlara da davetiye çıkarmıştır. Langford ve ark. (2020)'nın raporuna göre, Covid-19 sebebiyle hastaneye yatışı yapılan 3338 hastanın %6.9'unda ikincil bakteriyal enfeksiyon gelişmiştir. En sık izole edilen bakteriler arasında karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* ve genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *K. pneumoniae* de bulunmaktadır (Lansbury ve ark. 2020). Covid-19 vakalarında, karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonları artarak %30-%70 arasında mortaliteye sebep olduğu bulunmuştur. Covid-19 sebebiyle hastaneye yatan hastaların yaklaşık %70'ine, ikincil bakteriyel enfeksiyon olup olmamasına bakılmaksızın tedavide antibiyotik uygulanıldığı bildirilmiştir (Arteaga-Livias ve ark. 2021). Özellikle Covid-19 gibi solunum sistemine etki eden virüslerle birlikte yaşanacak bakteriyel enfeksiyonların mortaliteyi yüksek oranda artırması kaçınılmazdır.

2.3. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktamlar hücre duvar sentezini engelleyerek antibakteriyal etki gösteren antibiyotik grubudur (Jawetz E 1987). Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta laktamaz inhibitörleri olmak üzere beş ana grupta incelenen beta-laktamlar, yapılarında ortak bir beta-laktam halkasına sahiptir ve buna bağlı yan zincirler ve diğer halkalara göre sınıflandırılırlar (Chambers HF 2000; Lee NLS ve ark. 2001). Beta-laktam antibiyotikler, hücre duvar sentezi süresince transpeptidasyon basamağında PBP denilen transpeptidaz ve karboksipeptidazlara bağlanarak hücre duvar sentezini inhibe ederler (Ghuysen JM 1994; Chambers HF 1999). Bunu gerçekleştirmek için Gram negatif bakterilerdeki dış zardan ve periplazmik aralıktan geçmesi, hücre zarında yer alan PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşıp bağlanması gerekmektedir (Gülay Z 1999). Beta-laktam ajanlar için bu aşamların her birinde farklı bir direnç mekanizması gelişebilmektedir. Günümüzde beta-laktamlara karşı oluşan yüksek dirence karşı özellikle çoğul dirençli suşların tedavisinde son seçenek olarak kullanılan karbapenemlere karşı da direnç yollarının oluşması önemli bir sorun haline gelmiştir. Beta-laktamlara karşı oluşan direnç mekanizmaları üç ana başlık altında toplanabilir:

1. İlacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşmasının engellenmesi:

Hücrenin dış membranındaki porin değişiklikleri/porin kaybı veya aktif pompa (efluks) sistemleri ile beta-laktam ajanın hücre dışına atılması ile mümkün olmaktadır (Nikaido H 2000).

2. Penisilin bağlayan proteinler (PBP)'deki değişimler:

PBP'ler aktif bölgelerinde serin aminoasiti içerdikleri için serin proteazlar olarak da bilinirler. PBP'ler yapısal olarak beta-laktamazlara çok benzerler. Birbirinden farklı PBP'lerin farklı beta-laktamlara karşı bağlanma afinitelerinin ve etkilendikleri ilaç düzeylerinin farklı olması; farklı beta-laktam ajanların antibakteriyel özelliklerinin birbirinden farklı olmasını açıklayabilir. Bir beta-laktam antibiyotiğin etkinlik gösterebilmesi için hücredeki hedef PBP'ye bağlanması gerekmektedir. Dolayısıyla PBP'lerde oluşacak değişiklikler sonucu antibiyotiğin bağlanamaması bir direnç mekanizması olarak karşımıza çıkar (Ghuysen JM 1994; Chambers HF 1999; Gülay Z 1999).

3. İlacı inaktive eden enzimlerin üretimi:

Beta-laktam halkasındaki siklikamid bağlarını parçalayarak beta-laktam ajanların etkinliğini inaktive eden enzimlere beta-laktamazlar denir (Gülay Z 1999). Beta-laktamaz üretimi tüm bakterilerde ortak olarak görülmesine karşın, özellikle *Enterobacteriaceae* ailesi başta olmak üzere Gram negatif bakterilerdeki beta-laktam direncinden sorumlu en önemli mekanizmadır. Beta-laktamaz üretiminden sorumlu olan genler bakteri kromozomunda veya bakterinin plazmid, integron, transpozon gibi hareketli genetik elemanlarında bulunabilir. Abraham ve Chain, 1940 yılında penisilinin klinik olarak kullanımından önce ilk beta laktamaz enzimi (penisilinaz) *Bacillus (Escherichia) coli* bakterisinden izole etmiştir (Abraham E ve Chain E 1940). Günümüzde, Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde beta laktamaz enzimlerini kodlayan 2000'den fazla protein dizilimi olduğu bilinmektedir (Bush K ve Fisher JF 2010).

Gram pozitiflerde direkt olarak dış ortama salınan beta-laktamazlar, Gram negatiflerde periplazmik aralıkta bulunurlar (Livermore DM 1997). Bu durum, beta-laktamazların dahil olduğu dirençte hücredeki ilaç geçirgenliğinin de önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Cornaglia G ve ark. 2000).

2.3.1. Karbapenemler

Yaklaşık 70 yıllık bir tarihi olan antimikrobiyal devirde, teknolojiyle birlikte yeni antibiyotiklerin keşfi, antibiyotik direncini de beraberinde getirmiştir. Antibiyotiklere olan direncin dünya çapında 105 milyar $'dan fazla olduğu tahmin edilmektedir (Klynveld Peat Marwick Goerdeler LLP 2014). Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi dünya çapında yılda 25.000 kişinin antibiyotik direncine bağlı olarak gelişen enfeksiyonlardan ölebileceğini düşünmektedir (Carlet J ve ark. 2012; Moyane JN ve ark. 2013).

1940'lı yıllarda penisilinin keşfinden sonra beta-laktam ajanlar tedavide sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Zaman geçmeden beta-laktamlara karşı direnç yollarının gelişmesi, yeni antibiyotiklerin keşfini zorunlu kılmıştır. Karbapenemler, beta-laktamlar içerisinde en geniş spektruma sahip olan ve tedavide 'son seçenek' olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Beta laktam sınıfına ait olan karbapenemler, sahip oldukları özgün beta laktam halkaları sayesinde, çoğu beta laktamaz enzimin etkinliğine karşı koyarak penisilin ve sefalosporin direncinin olduğu yerlerde dayanıklılıklarını korurlar. Gram pozitif, Gram negatif ve anaeroplara karşı yüksek bakterisit aktivite göstermesi, beta-laktamazlara karşı kararlı yapıları karbapenemlerin tedavideki önemini artırmıştır (Norrby SR 1995; Shah PM ve Isaacs RD 2003; Zhanel GG ve ark. 2005). Ne yazık ki, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteri enfeksiyonlarına karşı kullanılan karbapenemlere karşı da direnç hızla artmakta ve çoklu ilaç direncine sahip suşların tedavisini zorlaştırmaktadır (Queenan AM ve K Bush 2007; Gaibani P ve ark. 2011; Livermore DM 2011; Hawkey PM ve Livermore DM 2012).

2.3.1.1. Karbapenemlerin Keşfi

1960'ların sonlarında, bakteri hücrelerinde beta laktamazların ortaya çıkışının penisilinlerin kullanımını sınırlandırması, beta laktamaz inhibitörlerinin keşfini beraberinde getirmiştir (Cole M 1980; Rolinson GN 1991). 1976'da, olivanik asit olarak bilinen tarihteki ilk beta laktamaz inhibitörü *Streptomyces clavuligerus* bakterisinde keşfedilmiştir. Olivanik asit, geniş spektrumlu beta laktam özelliği olan ve 'karbapenem omurgası'na sahip bir bileşikti; bununla birlikte, bakteri hücresine nüfuz etme etkisinin zayıf olması sebebiyle yeni beta laktamaz inhibitörleri aranmaya başlanmıştır (Brown AG ve ark. 1976; Butterworth DM ve ark. 1979; Reading C ve T Farmer 1984). *S.*

clavuligerus'dan izole edilen klavulanik asit klinik olarak kullanılan ilk beta laktamaz inhibitörü olarak, *Streptomyces cattleya*'dan izole edilen tienamisin ise ilk 'karbapenem' olarak servis edilip, diğer tüm karbapenemler için bir model bileşik olarak gösterilmiştir (Brown AG ve ark. 1976; Albers-Schonberg G ve ark. 1976; 1978). Daha sonra, tienamisinin sentetik bir türevi olan imipenem üretilmiştir. Sefalosporine dirençli Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin gelişmesi üzerine, tienamisin benzeri karbapenemlerin üretimi daha da önem kazanmıştır (Basker MJ 1982). Bu bağlamda, imipenem ve diğer bir tienamisin türevi panipenemin daha kararlı bir yapıya sahip olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, 1985 yılında imipenem nozokomiyal enfeksiyonlar dahil olmak üzere tedavisi zor enfeksiyonlar için kullanılan ilk karbapenem olmuştur. İmipenem, tienamisin gibi PBP'lere sıkı bağlanma özelliği gösteriyordu; buna karşın, memelilerin proksimal renal tübüllerinde bulunan dehidropeptidaz 1 (DHP-1) tarafından hidroliz edildiği gözlenmiştir (Hashizume T ve ark. 1984; Graham DW ve ark. 1987; Hikida M ve ark. 1992). Bu durum, silastatin gibi DHP-1'i inhibe eden bir molekülle birlikte kullanılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur (Norrby SR ve ark. 1983). Bileşik yapısındaki 1-β pozisyonuna metil grubu eklenerek zamanla daha geniş spektrumlu ve kararlı karbapenemler olan meropenem, ertapenem, biapenem ve doripenem piyasaya sürülmüştür (Sunagawa M ve ark. 1994; Shin KJ ve ark. 1998; Branch CL ve ark. 1998; Hashihayata T ve ark. 2001; 2002; Kang YK 2003). Bileşiklerdeki bu modifikasyonun, dehidropeptidaz 1 tarafından parçalanmaya karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir (Fukasawa M 1992). Ertapenemin yarı ömrünün diğer karbapenemlere kıyasla daha uzun olduğu, yapısındaki negatif yük sebebiyle Gram negatif bakterilerin hücre duvarına meropeneme kıyasla daha yavaş nüfuz ettiği vurgulanmıştır (Livermore DM ve ark. 2003; Zhanel GG ve ark. 2005).

2.3.2. Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

Karbapenemler, penisilinlerdeki 4:5 laktam halkasının C2 ve C3 arasında çift bağ içeren; buna ilave olarak, C1 atomundaki sülfürün yerine karbon bulunduran moleküllerdir. Bu nedenle 'karbapenem' olarak isimlendirilirler. Karbapenemleri penisilinler ve sefalosporinlerden ayıran ve onlardan farklı aktiviteye sahip olmasındaki temel özellik, asilamino yan zinciri yerine hidroksietil bulundurmasıdır. *S. cattleya*'dan izole edilen ve ilk karbapenem olarak sunulan tienamisin, geniş etki spektrum ve beta

laktamazları inhibe edici özellik göstermiş; diğer tüm karbapenemler için model bileşik olmuştur (Kropp H ve ark. 1976; 1979; Kahan JS ve ark. 1979).

Karbapenemlerin etki mekanizması, hücre duvarındaki PBP'lere bağlanmasıyla başlar (Mouton JW ve ark. 2000; Zhanel GG ve ark. 2007). Bu süreçte inhibe edilen PBP'ler 1a, 1b, 2 ve 3'tür. Hücre duvarı sentezinin transpeptidaz basamağında karboksipeptidaz ve transpeptidaz enzimlerini içeren PBP'lerin kovalent bağ oluşturmasını engelleyerek peptidoglikan sentezini durdurmuş olur (Van Dam V ve ark. 2009). Hücre duvarındaki otolitik enzimlerin inhibisyonunu da durdurarak bakteri hücresinin ölümünü gerçekleştirirler (Sumita Y ve Fukasawa M 1995; Bonfiglio G ve ark. 2002).

Karbapenemler, Gram negatif, Gram pozitif ve anaeroplara karşı etkili; geniş spektrumlu beta laktam ajanlardır (Zhanel GG ve ark. 2007). Günümüzde, ABD'de kullanımda olan dört karbapenem mevcuttur. Bunlar ertapenem, meropenem, imipenem ve doripenemdir. Buna ek olarak, Kanada'da biapenem, faropenem ve panipenem de klinik kullanım için onay almıştır (Kumar P 2017). İmipenem/silastatin kombinasyonu ve meropenemin karın içi enfeksiyonlar, deri enfeksiyonları, toplum ve hastane kökenli pnömoni, nötropeni ve komplike idrar yolu enfeksiyonlarında etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Zhanel GG ve ark. 2007). Meropenem ve imipeneme kıyasla, ertapenemin *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi düşüktür (Oliver A ve ark. 2004). Doripenem, beta laktamazlara karşı yüksek etkinlik gösterir; aynı zamanda *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'da meropenem ve imipeneme kıyasla daha düşük MİK değerine sahiptir (Mandell L 2009; Bassetti M ve ark. 2011). Buna ek olarak, imipenemle karşılaştırıldığında karbapenemazlar tarafından hidrolize karşı daha dirençli olduğu ve parçalanmanın 2-150 kat arasında daha yavaş gerçekleştiği gösterilmiştir (Queenan AM ve ark. 2010). *P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. coli* ve *E. cloacae* kaynaklı tedavisi zor olan enfeksiyonlarda doripenem kullanımına dair çalışmalar literatürde mevcuttur (Restrepo MI 2009).

2.3.3. Karbapenem Direnci ve Karbapenemazların Sınıflandırılması

Karbapenem direnci, bakterinin karbapeneme doğal olarak dirençli olması, sonradan kazanılmış direnç göstermesi veya bu mekanizmaların her ikisinden de kaynaklanabilir. Doğal direnç, bakterinin kendiliğinden belirli antibiyotik gruplarına

dirençli olması ile tanımlanırken; kazanılmış direnç ise efluks pompalarıyla ilacın dışarı atılması, bakterinin hedef bölgede değişiklikler yaparak antibiyotiğin etkisini değiştirmesi veya çeşitli enzimlerle antibiyotikleri parçalaması ile mümkün olmaktadır. Beta laktamaz adı verilen bu enzimler zamanla penisilinazlar, sefalosporinazlar, genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ve son olarak da karbapenemazlar olarak etki spektrumlarını genişletmişlerdir.

Karbapenemlerdeki kazanılmış direnci oluşturan karbapenemazlar çoğunlukla plazmidler aracılığıyla aktarılır. Bu dirence ek olarak karbapenem direncine yol açan farklı mekanizmalar da mevcuttur. Birinci olarak, enzimatik inaktivasyona dirençli karbapenemler GSBL enzimleri ile plazmid AmpCs kombinasyonuyla yıkılarak gram negatif çomakları karbapenemlere dirençli konuma getirebilir (Bedeni´c B ve ark. 2014). GSBL'ların önemli bir bölümü bakteriler arasında aktarılma yeteneğine sahip olmasına rağmen; bu suşlarda porin yapısında değişiklikler veya transfer potansiyelinin olmayışı GSBL'ların aktarılmasına izin vermeyebilir. Buna karşın, *Klebsiella spp.*'de de görülen bu mekanizmada suşlar özellikle hastane ortamında çoğalarak dirençli bakterilerin sayısını artırırlar. Karbapenemler içerisinde ertapenem bu duruma en duyarlı antibiyotiktir. Bakteri diğer karbapenemlere duyarlı olmasına rağmen GSBL/AmpC kombinasyonu ve porin değişiklikleriyle ertapeneme direnç geliştirebilir.

İkinci olarak, çeşitli pompalarla ilaç dışarı atılabilir. Bu mekanizma *Klebsiella spp.*'de imipenem için görülmektedir (Walsh C 2000). İlaç pompalama sistemlerinden MexAB-OprM; taşıyıcı pompa MexB, dış membran porini OprM ve beta laktamaz/beta laktamaz inhibitörleri üzerine etki eden çözünebilir periplazmik MexA'dan meydana gelmektedir (Poole K 2005).

Üçüncü olarak ise, porin kaybıyla birlikte efluks pompa kombinasyonuyla gerçekleşen karbapenemaza spesifik olmayan mekanizmalardır.

Enterobacteriaceae'deki karbapenem direncini oluşturan ana sebep karbapenemaz üretimidir. Karbapenemazlar, karbapenemleri hidrolize eden özel beta laktamazlardır. Beş ana karbapenemazı üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenemlerin MİK değer aralıkları Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2-2: Karbapenemaz genlerini üreten *Enterobacteriacea*'de karbapenemlerin MİK değer aralığı

	İmipenem MİK (mg/l)	Meropenem MİK (mg/l)	Ertapenem MİK (mg/l)
KPC	0.5 'ten başlayıp > 32'ye kadar	0.5 'ten başlayıp > 32'ye kadar	0.5 'ten başlayıp > 32'ye kadar
IMP/VIM/NDM	0.5 'ten başlayıp > 32'ye kadar	0.5 'ten başlayıp > 64'e kadar	0.38 'ten başlayıp > 32'ye kadar
OXA-48	0.25 'ten başlayıp 64'e kadar	0.38 'den başlayıp 64'e kadar	0.38 'ten başlayıp > 32'ye kadar

Nordmann ve ark. 2012'den revize edilmiştir.

2.3.4. Karbapenemazlar

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan bakteriler için karbapenemaz üretimi en önemli direnç mekanizması olarak kabul edilir. Bunun sebebi, karbapenemaz genlerinin çoğunlukla plazmid üzerinde yer alan genlerden oluşması; dolayısıyla diğer bakteriler arasında transfer olma yeteneğinin yüksek olması ve çoklu ilaç direncine de sebebiyet vererek salgınları oluşturmasıdır (Pitout JD 2008; Nordmann P ve ark. 2011; Nordmann P 2014). Karbapenemazlar, serin veya çinko kullanarak karbapenemleri hidroliz ederler; böylece karbapenem direnci ortaya çıkar (Cheng Z ve ark. 2018).

Karbapenemaz üretimi dışındaki mekanizmalar bakteriler arasında transfer edilmezler (Pitout JD 2008; Nordmann P ve ark. 2011; Nordmann P 2014). Buna ilave olarak, porin kaybına bağlı olarak gelişen direnç profilleri, tranfer yeteneğini daha da azaltır. Bu durum, karbapenemaz üretimi dışında gelişen direnç mekanizmalarının karbapenemaz üretimine kıyasla halk sağlığı çerçevesinde daha az tehdit oluşturduğunu açıklamaktadır (Nordmann P 2014). Günümüzde, özellikle *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakteriler için karbapenemaz üretimi antibiyotik direncinin yayılması için en önemli klinik sorun olarak kabul edilmektedir (Temkin E ve ark. 2014).

Beta laktamazlar, bakterilerin periplazmik aralığında bulunan ve beta laktam antibiyotikleri hidroliz eden enzimlerdir. Beta laktamazların aktivitesi sonucu, beta

laktam ajan bakteri hücre duvarındaki PBP'lere bağlanamaz, böylece antibiyotiğe karşı direnç mekanizması gerçekleşmiş olur.

Beta laktamazlar, moleküler ve yapısal benzerliklerine göre aktif bölgelerinde serin aminoasiti ya da çinko (Zn+2) atomu bulundurmalarına göre 4 ana gruba ayrılırlar (Sınıf A, B, C ve D). Buna Ambler sınıflandırması denir. Sınıf A, C ve D beta laktamazlar aktif bölgelerindeki serin aminoasiti içerirken; metallo beta laktamazlar olarak da adlandırılan Sınıf B çinko (Zn+2) atomu bulundurur (Ambler RP ve ark. 1991).

Beta laktamazlar için 1995 yılında Bush, Jacoby ve Mederios tarafından yeni bir sınıflandırma geliştirilmiştir. Bu sınıflandırmada yeniden 4 gruba ayrılan (1-4) beta laktamazların hidrolitik ve inhibitörlere duyarlılık özellikleri göz önüne alınmıştır (Bush K ve GA Jacoby 2010).

Karbapenemazlar, karbapenemleri hidroliz eden özel beta laktamazlardır. Karbapenemazlar, Ambler sınıflandırmasına göre beta laktamazların Sınıf A (serin bazlı penisilinazlar), Sınıf B (metallo beta laktamazlar) ve Sınıf D (oksasilinazlar) grubuna ait enzimler içermektedir (Bush K 1998; Nordmann P ve ark. 2011). Sınıf C beta laktamazların karbapenemaz olarak kabul görmemelerinin sebebi, bu gruptaki enzimlerin karbapeneme karşı çok zayıf aktivitelerinin olmasıdır (Mammeri H ve ark. 2010). Bu durumda, AmpC enzimi başka bir direnç mekanizması ile birlikte bulunduğunda karbapeneme karşı direnç gelişebilir (Mammeri H ve ark. 2008). *Stenotrophomonas maltophilia, Chryseobacterium spp.* ve *Flavobacterium* gibi bakteriler intrinsik karbapenemazları barındırırken; *Enterobacteriaceae* üyeleri, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi bakteriler plazmid üzerinde taşınan genlerle karbapenemaz üretirler (Poirel L ve ark. 2007).

Karbapenemazların moleküler yapıları ve substrat profillerine göre sınıflandırılması Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

2.3.4.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Penisilinazlar olarak da bilinen Ambler Sınıf A beta laktamazlar KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz), SME (*Serratia marcescens* enzim), IMI (Imipenem-hydrolysing β-lactamase), SFC-1 (*Serratia fonticola* carbapenemase-1) ve GES (Guiana extended spectrum) enzimlerini içerir (Nordmann P ve ark. 2011; Bedenic

B ve ark. 2014). Sınıf A beta laktamazların bazıları kromozomal olarak kodlanırken, bazıları plazmidler üzerinde şifrelenir. GSBL'lara benzer bir etki spektrumları vardır. Karbapenemleri hidrolize ederler. Klavulanik asit gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olabilirler. KPC, dünyada görülme sıklığı bakımından en yaygın olandır, bu durum dünyanın çeşitli bölgelerinde salgınların oluşmasına neden olmuştur (Cuzon G ve ark. 2010; Munoz-Price LS ve ark. 2013).

2.3.4.2. Sınıf B Karbapenemazlar

Metallo beta laktamazlar olarak bilinen Ambler Sınıf B beta laktamazlar, aztreonam dışında tüm beta laktamları hidroliz edebilirler. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ile inhibe olurlar. Aktif bölgelerinde çinko (Zn+2) atomu bulundururlar. En yaygın olanları NDM (New Delhi metallo-β-lactamase), VIM (Verona integron-encoded metallo-β-lactamase), IMP (Imipenem-resistant Pseudomonas -type carbapenemases, GIM (German imipenemase) ve SIM (Seoul imipenemase)'dir Cornaglia G ve ark. 2011).

2.3.4.3. Sınıf D Karbapenemazlar

Oksasilinazlar olarak bilinen grup genellikle OXA-48 türevlerini içerir (Poirel L ve ark 2010; 2012). Penisilinleri ve birinci kuşak sefalosporinler'i hidrolize ederler. Karbapenemlere karşı aktiviteleri düşüktür. İlk olarak *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'dan izola edilen, daha sonra *Enterobacteriaceae* üyelerinde ortaya çıkan oksasilinazların hızlı mutasyon yeteneği ve etki spektrumlarını genişletmeleri dünya çapında önemli bir sorun olmaktadır (Moquet O ve ark. 2011; Poirel L ve ark. 2011). Özellikle *Enterobacteriaceae* üyelerinde tespit edilen oksasilinazlar halk sağlığını tehtid etmektedir.

Tablo 2-3: En sık görülen karbapenemazlar

Karbapenemaz	Ambler Sınıfı	Bush-Jacoby Grubu	Direnç profili	En yaygın bulunduğu bölge
KPC	A	2f	Karbapenemler, sefalosporinler, aztreonam	Amerika, Yunanistan, İtalya, Çin, İsrail
NDM	B	3a	Aztreonam dışında tüm beta-laktamlar	Hindistan, Balkanlar, Orta Doğu
VIM	B	3a	Aztreonam dışında tüm beta-laktamlar	Yunanistan, İtalya
IMP	B	3a	Aztreonam dışında tüm beta-laktamlar	Japonya, Güney ve Doğu Asya
OXA-48	D	2df	Penisilinler	Orta Doğu, Kuzey Afrika, İspanya

2.3.5. Beş Büyükler (IMP, VIM, NDM, KPC ve OXA-48)'in Epidemiyolojisi

Karbapenem direncinin dünya çapındaki epidemiyolojisine bakıldığında, bla_{KPC}, bla_{VIM}, bla_{IMP}, bla_{NDM} ve bla_{OXA-48} genlerinin yayılımının hem toplum hem de hastane kökenli enfeksiyonlardaki salgınlarda etkili olduğu görülmektedir. 'Beş Büyük (big five)' adı verilen bu genlerin varlığı ve yayılımı, ülkeler arasında hatta bölgeden bölgeye dahi farklılık göstermektedir. Literatürde ülke veya bölge çapında karbapenemaz genlerinin yayılımını gösteren derlemeler mevcuttur (Carrer ve ark. 2010; Al-Zahrani 2018).

1993 yılında, *Enterobacteriaceae*'de ilk karbapenemaz tanımlanmıştır: *E. cloacae*'de kromozomal olarak kodlanan Nmc-A (non-metallo-carbapenemase-A) klinik izolatta bulunmuştur (Naas T ve Nordmann P 1994). Ambler'in sınıflandırılması baz alındığında, *Enterobacteriaceae* için epidemiyolojik olarak önemli üç grup Sınıf A penisilinazlar, Sınıf B metallo beta laktamazlar ve Sınıf D oksasilinazlardır. KPC (Sınıf A) ve NDM (Sınıf B) üreten suşlar çoğu beta laktama, aminoglikozitlere ve florokinolonlara direnç gösterirken (Souli M ve ark. 2008); OXA türü beta laktamazlar karbapenemlere karşı daha az etkili bulunmuş, ancak GSBL ile birlikte bulunduğunda yüksek direnç geliştirdiği gözlenmiştir (Evans BA ve Amyes S 2014; Codjoe FS ve Donkor ES 2017).

2.3.5.1. KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz)

Sınıf A'da yer alan en önemli enzim KPC'dir. KPC ilk kez karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* klinik izolatında Amerika, Kuzey Carolina'da 1996 yılında ortaya çıkmıştır (Yigit H ve ark. 2001). Daha sonra tüm dünyaya yayılıp önemli bir klinik sorun haline dönüşmüştür. ABD dışındaki ilk KPC- üreten *K. pneumoniae* (KPKP) salgını 2006 yılında İsrail'de gerçekleşmiştir (Samra ve ark. 2007). 2008 yılının sonuna doğru İtalya'da ülke çapında hızlı bir şekilde yayılan KPKP salgınları oluşmuştur (Giani ve ark. 2009). Muhtemel kaynağın İsrail'den gelen bir tıbbi stajyer olduğu bu salgınlar için birçok rapor bildirilmiştir (Ambretti S ve ark. 2010; Fontana C ve ark. 2010; Agodi A ve ark. 2011; Di CP ve ark. 2011). Yunanistan'da ilk KPKP olgusu 2007'de Girit'te gerçekleşen bir epidemiden bildirilmiştir (Maltezou HC ve ark. 2009).

Fransa'da ilk KPC üreten izolat 2005 yılında New York'tan gelen bir hastada tespit edilmiştir (Naas T ve ark. 2005). Ülkede KPKP insidansı yüksek olmasa da, izole edilen suşlar genellikle KPC'nin endemik olarak bulunduğu ülkelerden (ABD, İsrail, İtalya, Yunanistan) nakledilen hastalardan kaynaklandığı bildirilmiştir (Cuzon G ve ark. 2012). Daha çok hastane kökenli *K. pneumoniae* izolatlarında bulunan KPC'nin en yaygın görülen varyantları KPC-2 ve KPC-3'tür (Nordmann P ve ark. 2009; Pfeifer Y ve ark. 2010). KPC üreten suşlardan kaynaklı mortalite oranlarının yüksek seyretmesi, genellikle bu suşların çoklu ilaç direncine sahip olmasından ve tedavi için kısıtlı seçenek bırakmasından kaynaklanmaktadır (Nordmann P ve ark. 2009).

2.3.5.2. IMP (Imipenem-resistant Pseudomonas –type carbapenemase)

IMP ilk kez 1991 yılında Japonya'da, idrar yolu enfeksiyonu geçiren bir hastadan izole edilen *S. marcescens*'te tanımlanmıştır (Osano E ve ark. 1994). Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*'de ise IMP ilk kez yine Japonya'da 1994 yılında bildirilmiştir (Senda K ve ark. 1996). Japonya'dan sonra, 1996 yılında Singapur'da *K. pneumoniae*'de IMP izole edilmiştir (Koh TH ve ark. 2001). *K. pneumoniae*'den kaynaklanan ilk IMP epidemisi ise 1999 yılında Tayvan'da gerçekleşmiştir (Yan JJ ve ark. 2001). Daha sonra, Güney ve Doğu Asya başta olmak üzere IMP üreten *K. pneumoniae* tüm dünyaya yayılmıştır (Limbago BM ve ark. 2011; Nordmann P ve ark. 2011; Li B ve ark. 2014).

2.3.5.3. VIM (Verona integron-encoded metallo-β-lactamase)

VIM ilk kez 1996 yılında Fransa'da ve 1997 yılında İtalya'da *P. aeruginosa* suşundan izole edilmiştir (Lauretti L ve ark. 1999; Poirel L ve ark. 2000). VIM üreten *K. pneumoniae* suşu (VPKP) ise ilk kez 2002 yılında Yunanistan'dan bildirilmiştir (Giakkoupi P ve ark. 2003). Akdeniz havzası çerçevesinde bakıldığında Yunanistan, VIM üreten *Enterobacteriaceae*'nin (özellikle *K. pneumoniae*) diğer ülkelere yayılımı için merkez üssü konumundadır (Cuzon G ve ark. 2008; Kassis-Chikhani N ve ark. 2006). 2004 yılında Fransa'da, VPKP kaynaklı hastane enfeksiyonu salgını bildirilmiştir (Lartigue MF ve ark. 2004; Kassis-Chikhani N ve ark. 2006).

2.3.5.4. NDM (New Delhi metallo-β-laktamaz)

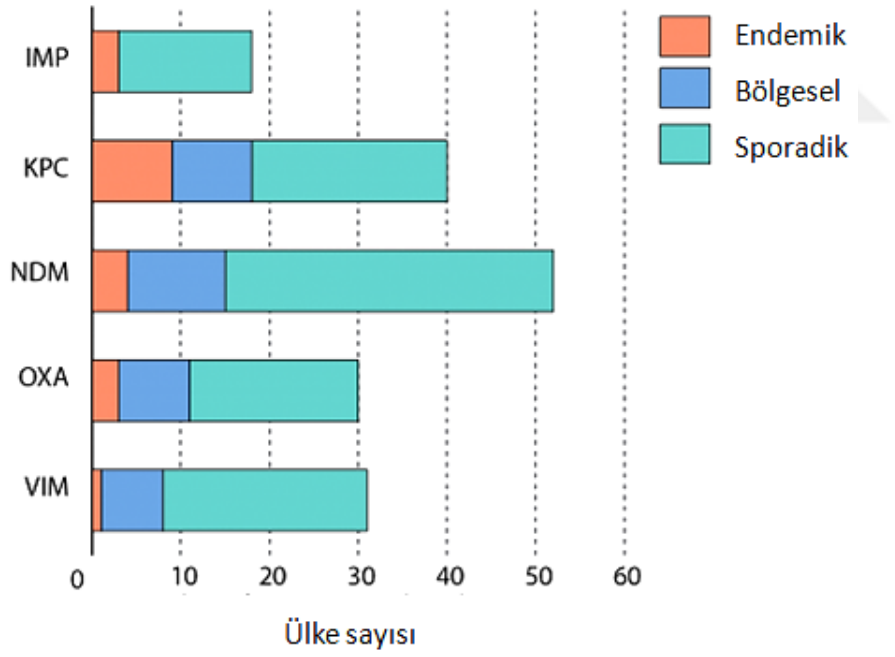
NDM ilk olarak 2008 yılında Hindistan'da ortaya çıkıp, birkaç yıl içinde ülke çapında yayılım göstermiştir. NDM'nin dünya çapında yayılımında ise uluslararası turizm/seyahatler etkili olmuştur (Kumarasamy KK ve ark. 2010; Nordmann P ve ark. 2011). 2008 yılında, İsveç'te yaşayan Hindistan kökenli bir hastadan NDM üreten *K. pneumoniae* izole edilmiştir (Yong D ve ark. 2009). Daha sonra Fransa, Fas, İtalya, İspanya ve Mısır gibi birçok Akdeniz ülkesi sporadik NDM üreten *K. pneumoniae* vakaları bildirmiştir (Birgy A ve ark. 2011; Poirel L ve ark. 2011; Oteo J ve ark. 2012; Abdelaziz MO ve ark. 2013; Giani T ve ark. 2013; Gil-Romero Y ve ark. 2013).

2.3.5.5. OXA-48 (Oksasilinaz)

OXA-48 ilk kez 2003 yılında *K. pneumoniae* suşundan İstanbul, Türkiye'de izole edilmiştir (Poirel L ve ark. 2004). Daha sonra, blaOXA-48 *E. coli* ve *Citrobacter freundii*'de yine Türkiye'de bulunmuştur (Carrër A ve ark. 2010). OXA-48 hızlıca ülke çapında yayılım göstermiş ve ülkenin merkezi şehirlerinde salgınlara neden olmuştur (Carrer A ve ark. 2008). 2015 yılında OXA-48'in Türkiye'de endemik seviyede bulunduğu bildirilmiştir (Albiger B ve ark. 2015). OXA-48 bir süre boyunca Türkiye sınırları içerisinde kalmış, bildirilen OXA-48 olguları ya Türkiye'de tedavi olan hastalarla veya Türkiye ile bağlantılı çıkmış (Carrër A ve ark. 2008; 2010), Türkiye dışında ilk OXA-48 üreten *K. pneumoniae* ise idrar yolu enfeksiyonu geçiren bir hastada 2007 yılında Belçika'dan bildirilmiştir. Belçika'da izole edilen suşun, Türkiye'dekiyle aynı karakteristik özelliklere sahip olduğu görülmüştür (Cuzon G ve ark. 2008). OXA-48 daha sonra Orta Doğu, Avrupa ve Kuzey Afrika'ya yayılmıştır. Buna ek olarak, Fransa, İspanya, Tunus, Lübnan, Fas ve İsrail gibi birçok Akdeniz

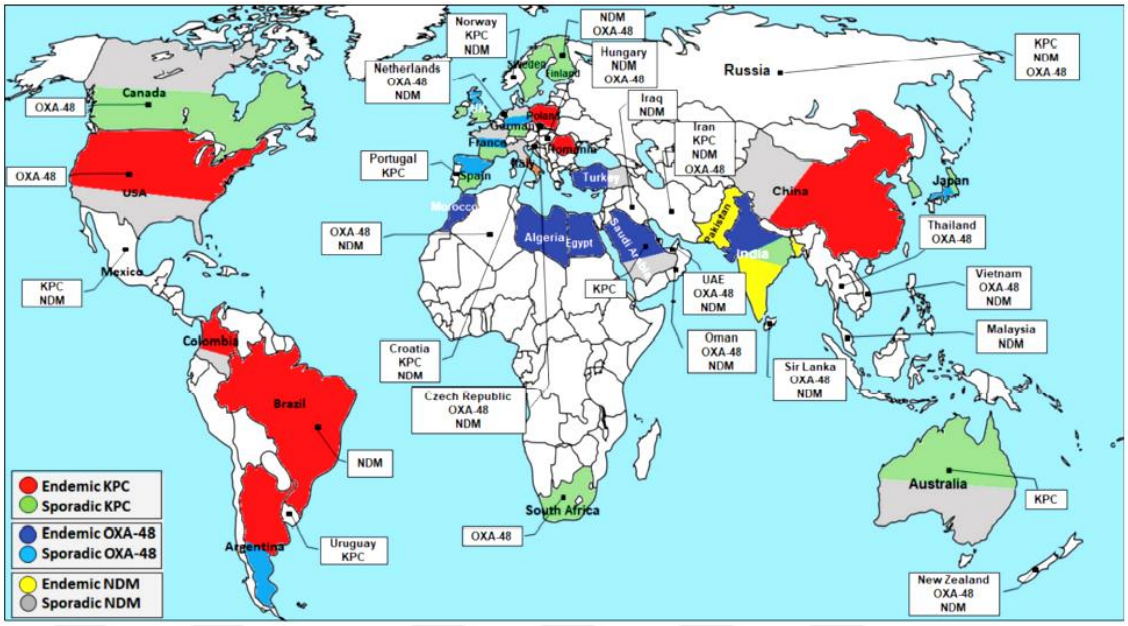
ülkesinden hastane enfeksiyonu salgınları bildirilmiştir (Matar GM ve ark. 2008; Benouda A ve ark. 2010; Matar GM ve ark. 2010; Adler A ve ark. 2011; Pirs M ve ark. 2011; Ktari S ve ark. 2011; Cuzon G ve ark. 2011; Hays C ve ark. 2012; Barguigua A ve ark. 2012; Potron E ve ark. 2013; Oteo J ve ark. 2013; Voulgari E ve ark. 2013). Malta, OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* prevelansının 2010 yılı öncesinden 2013'e kadar sporadik seviyeden endemik duruma geldiğini belirtmiştir (Albiger B ve ark. 2015; Spyropoulou A ve ark. 2016). 2001-2011 yılları arasında Avrupa ve Kuzey Afrika ülkelerinden edinilen 107 OXA-48 üreten enterobakteriyel suşun (%63'ü *K. pneumoniae*) %91.6'sının ertapeneme dirençli veya orta duyarlı, %66'sının ise imipeneme duyarlı bulunmuştur (Potron A ve ark. 2013).

Karbapenemazların endemik, bölgesel ve sporadik olarak bulundukları ülke sayısı Şekil 2.1'de (Logan ve ark. 2017**)**; dünya çapında OXA-48, NDM, KPC'nin prevalansları Şekil 2.2'de gösterilmiştir (Al Zahrani 2018).



Şekil 2-1: Karbapenemazların endemik, bölgesel ve sporadik olarak bulundukları ülke sayısı.

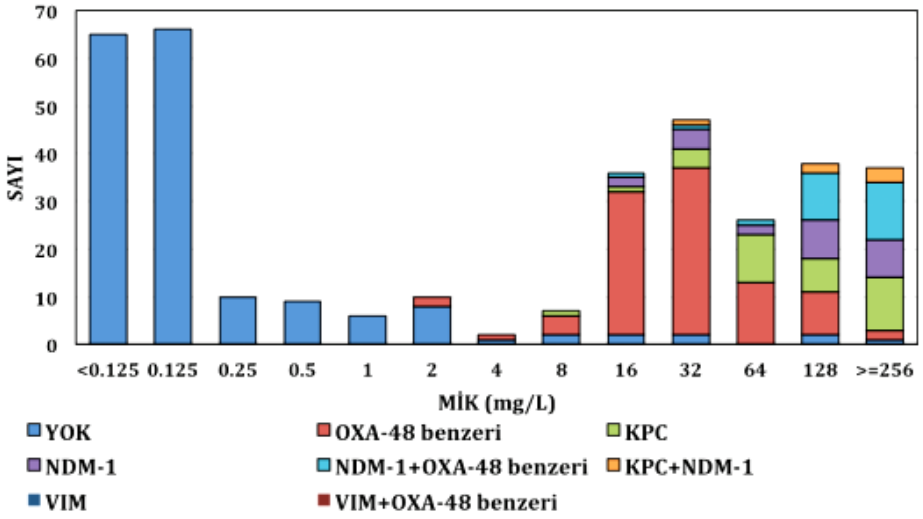
Logan ve ark. (2017)'den revize edilmiştir.



Şekil 2-2: KPC, OXA-48 ve NDM'nin dünyada yayılımı.

Al- Zahrani 2018'den düzenlenmiştir.

Süzük Yıldız ve ark. (2021)'nın Türkiye'nin farklı bölgelerinde 26 hastanedeki çeşitli kliniklerden edinilen 366 *K. pneumoniae* izolatının meropenem MİK dağılımlarına göre karbapenemaz enzim türünün dağılımı Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2-3: *K.pneumoniae* izolatlarının meropenem MİK dağılımlarına göre karbapenemaz enzim tipinin dağılımı.

(Süzük Yıldız ve ark. 2021).

2.4. Karbapenem Direncinin Laboratuvar Tanısı

Son yıllarda, Gram negatif çomaklardaki karbapenem direncini saptamak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Karbapenem direncinin laboratıvar tanısı temelde fenotipik metodlar ve moleküler teknikleri içeren genotipik metodlar olarak ayrılabilir. Bu yöntemlerin kullanımı, laboratuvarın imkanları, testlerin maaliyeti, kullanım kolaylığı ve amaca hizmet etme derecesine göre seçilmelidir. Klinik örneklerde karbapenem direncinin yanında hastane enfeksiyonu kontrolü kapsamında tarama amaçlı yapılacak olan karbapenem direnci tanısında farklı yöntemler ve numuneler kullanılmalıdır. Özellikle, yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar, transplantasyon ve onkoloji servisinde bulunan 'yüksek risk' altındaki hastalar için tarama gereklidir. Buna ilave olarak, başka hastaneden nakil olan hastalar da karbapenem direnci için taranmalıdır. *Enterobacteriaceae* üyeleri çoğunlukla bağırsak florasında yer aldıkları için, dışkı ve rektal sürüntü örnekleri tarama amacıyla kullanılacak en uygun örneklerdir. *Enterobacteriaceae, Pseudomonas* ve *Acinetobacter* için karbapenem direncinin laboratuvar tanısına ait özet şema Şekil 2.4'te gösterilmiştir.

2.4.1. Fenotipik Metodlar

Antibiyotik duyarlılık testleri, kromojenik testler, Modifiye Hodge Testi ve CarbaNP gibi testler fenotipik yöntemlere örnek gösterilebilir. Fenotipik metodları uygularken karşılaşılacak problemlere sınır değerlerin (breakpoints) güncellenmesi, otomatize sistemlere değişen değerleri gecikmeli olarak tanımlamak ve farklı ülkelerde referans olarak CLSI veya EUCAST'i baz almak gösterilebilir. ABD'de çoğu laboratıvar CLSI standartlarını uygularken; çoğu Avrupa, Asya ve Afrika ülkesi CLSI veya EUCAST standartlarına uymaktadır. Türkiye daha önce CLSI standartlarını referans alırken; CLSI standartlarının yüksek maaliyetinin olması ve birçok laboratuvarın yenilenen güncel standartlara ulaşamaması sonucunda, Türkiye için EUCAST standartlarına geçiş süreci başlamıştır.

2.4.1.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Disk difüzyon testi, karbapenem direncini saptamak için ilk olarak kullanılan, maliyeti düşük ve kullanımı kolay olan bir yöntemdir. Ertapenemin karbapenemaz

tayini için iyi bir indikatör olduğu gösterilmiştir (Kruse EB ve ark. 2013). Ayrıca, E-test, sıvı mikrodilüsyon, agar dilüsyon ve Vitek 2, Phoenix, MicroScan gibi otomatize antimikrobiyal duyarlılık testleri de kullanılabilir. Karbapenem direncini saptamada sıvı mikrodilüsyon ve agar dilüsyonun; E-test, disk difüzyon ve bazı otomatize sistemlere kıyasla referans MİK değerlerine daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Patel JB ve ark. 2009). Yapılan bir çalışmada, kullanılan otomatize sistemin KPC üreten *K. pneuomiane* suşlarının yaklaşık %87'sinin imipenem ya da meropeneme duyarlı bulduğu bildirilmiştir (Queenan AM ve Bush K 2007).

2010 yılında CLSI, üçüncü kuşak sefalosporin direnci gösteren ve karbapenem MİK değeri 2 ya da 4 μg/ml olan *Enterobacteriaceae* üyeleri için Modifiye Hodge Testi yapılmasını önermiştir (Richter SS ve Marchaim D 2017). KPC tanısı için kullanışlı, fakat NDM ve IMP'ye karşı düşük duyarlılık gösteren bu yaklaşımın diğer bir dezavantajı da, OXA-48 üreten suşların üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı duyarlılık gösterebilmeleridir (Vading M 2011; Richter SS ve Marchaim D 2017). 2016 yılında, güncellenen MİK sınır değerlerine göre karbapenemaz üretimi şüpheli olan *Enterobacteriaceae* üyeleri için Carba NP, Modifiye Hodge Test veya ilave moleküler tekniklerin yapılması önerilmiştir (CLSI 2016; 2018). Özetlemek gerekirse, antimikrobiyal duyarlılık testleri tedavi amacıyla klinik örneklerde kullanılabilir. Buna karşın, tarama ve epidemiyolojik araştırmalarda kullanımı uygun görülmemektedir.

2.4.1.2. Kombine Disk Sinerji Testleri

Kombine disk sinerji testleri, beta laktamaz inhibitörleri ve karbapenemler arasındaki etkileşime bakılarak karbapenemleri birbirinden ayırt etmeye yaran testlerdir. KPC tanısı için boronik asit, metallo beta laktamazlar için EDTA, OXA-48 için ise avibaktam, kloksasilin (bir AmpC inhibitörü) ve klavulanat (GSBL inhibitörü) kullanılır (Tsakris A ve ark. 2010; Miriagou V ve ark. 2013; Lutgring JD ve ark. 2016). Kombine disk sinerji testleri, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti açısından tercih edilip sıklıkla kullanılmaktadır. Ticari olarak da satın alınabilen disklerin duyarlılık oranı %90 ile %100 arasında değişmektedir (Tsakris A ve ark. 2010; van Dijk K ve ark. 2014). Yapılan çalışmalarda, kombine disklerin OXA-48 türevi enzimleri tanımada yeterince duyarlı olmadığı gösterilmiştir (Doyle D ve ark. 2012; Al-Zahrani ve Alsiri 2018). Son olarak, piyasaya yeni sürülen OXA-48 disk testi %96,3 duyarlılıkla OXA-48'i diğer karbapenemazlardan ayırmaktadır (Tsakris A ve ark. 2015). Kombine disk

sinerji testleri, moleküler teknikler için yeterli imkan ve finansal gücün bulunmadığı laboratuvarlarda sıklıkla kullanılmaktadır.

2.4.1.3. Kromojenik Testler

Kromojenik besiyerleri, özellikle karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* taşıyıcılarını saptamak için yüksek risk grubundaki hastalar üzerinde çoğunlukla tarama amacıyla kullanılan besiyerlerdir. Dışkı veya rektal sürüntü örnekleri kullanılarak hızlı sonuç alınan kromojenik besiyerlerinin çalışma prensibi, kromojenik enzim substratı ve ve onları belirli bir direnç özelliği için seçici hale getiren belirli antibiyotiklere dayanmaktadır (Hrabak J ve ark. 2014; Viau R ve ark. 2016). CHROMagar KPC (CHROMagar, Fransa), Colorex KPC (Biomed Diagnostics, ABD), chromID OXA-48, chrom ID Carba ticari olarak satılan kromojenik agarlardan bazılarıdır. Yapılan çalışmalarda, bu testlerin duyarlılığının %13 ile %100 arasında değiştiği bulunmuş, özellikle OXA-48 tanısı için düşük duyarlılık gözlenmiştir (Wilkinson KM ve ark. 2012; Huang TD ve ark. 2014; Zarakolu P ve ark. 2015; Viau R ve ark. 2016; Richter ve Marchaim 2017). Son olarak, OXA-48 dahil olmak üzere diğer tüm karbapenemazları %96,5 duyarlılıkla ayırt eden Supercarba keşfedilmiştir (Nordmann P ve ark. 2012).

2.4.1.4. Modifiye Hodge Test (MHT)

Enterobacteriaceae üyelerindeki karbapenemaz genleri için kullanılan bir fenotipik test olan Modifiye Hodge Test (MHT)'in çalışma prensibi, karbapenemaz üreten suşun karbapenem konsantrasyonunu değiştirmesi; bunun sonucunda da karbapeneme duyarlı olan *E. coli* suşunun üremesine dayanmaktadır (Gniadek TJ ve ark. 2016). CLSI, 2009 - 2017 yılları arasında MHT uygulanmasını önermiştir. Yalnızca KPC için değil, aynı zamanda OXA-48, VIM ve IMP için de yüksek duyarlılık gösteren test (CLSI 2016; Lutgring ve Limbago 2016); NDM, bazı OXA-48 varyantları ve SME için düşük duyarlılığa sahiptir (Gniadek TJ ve ark. 2016). Bunlara ek olarak, porin mutasyonu + AmpC üreten izolatlarda yalancı pozitif gösterebildiği bulunmuştur (Lutgring ve Limbago 2016). Tüm bunlardan hareketle, MHT CLSI 2018 standardından çıkarılmıştır (CLSI 2018).

2.4.1.5. CarbaNP

Carba NP, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için 2012 yılında geliştirilen bir kolorimetrik yöntemdir. Test, imipenem hidrolizi sonucu değişen pH ve buna bağlı olarak kolorimetrik pH indikatöründe (fenol kırmızısı) renk değişimi prensibine dayanmaktadır (Lutgring ve Limbago 2016). CLSI ve EUCAST tarafından kullanımı önerilen Carba NP, OXA-48 gibi düşük imipenem hidrolizine sahip karbapenemazlar ve sınıf A'da yer alan SME-1 ve GES-5 gibi enzimler için düşük duyarlılığa sahiptir (Papagiannitsis CC ve ark. 2015; Banerjee ve Humphries 2017).

2.4.1.6. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (CİM)

Karbapenem inaktivasyon metodu, 2015 yılında sunulan yeni bir metottur (van der Zwaluw ve ark. 2015). Testte, bakteri kolonileri karbapenem diskleri (genellikle meropenem) içeren sıvıya alınarak 2 saat boyunca inkübe edilir. Daha sonra, meropenem diski karbapeneme duyarlı *E. coli* suşunun ekildiği Müller Hinton agara alınır. İnhibisyon bölgesinin gözükmemesi, meropenemin antimikrobiyal aktivitesinin kaybolduğunu; bu da, bakteri suşunun karbapenemaz ürettiğini göstermektedir. CIM'in Carba NP ve MHT'e kıyasla daha doğru sonuçlar gösterdiği, buna ek olarak OXA-48 tayininde eşit veya daha yüksek duyarlılığa sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Tijet N ve ark. 2016; Yamada K ve ark. 2016; Aktas E ve ark. 2017). Düşük maliyeti, basit oluşu, ek cihaza gerek duyulmaması ve kullanım kolaylılığı açısından mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından sıklıkla kullanılmaktadır (van der Zwaluw K ve ark. 2015). CLSI, 2018 standardında modifiye mCIM olarak kullanımını önermektedir (CLSI 2018).

2.4.1.7. İmmünokromatografik testler

Özellikle belirli karbapenemazların endemik olarak bulunduğu bölgelerde hızlı tanı için kullanılan immünokromatografik testler, karbapenemaz antijenlerini tanımlamak için antijen-antikor eşleşmesini kullanır.

2.4.2. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi, mikroorganizmaları yapılarındaki çeşitli bileşiklerin moleküler ağırlığına dayanarak tanımlamaya yarayan bir cihazdır. Son yıllarda, beta laktamaz aktivitesi gibi antimikrobiyal direnci ölçmede de kullanılmaktadır (Hrabak J ve ark.

2011; 2012; Hoyos-Mallecot Y ve ark. 2014). Bakterideki protein yapılar karbapenemlerle (ertapenem ya da meropenem) inkübe edilerek beta laktam ajanlardaki bozulma ölçülür. Böylece beta laktamaz aktivitesi tayin edilir (Lutgring ve Limbago 2016). Rutin çalışmalarda MALDI-TOF sıklıkla kullanılmasına rağmen; gelişmekte olan ülkeler için cihaz temini zor olabilmektedir. Ayrıca, diğer fenotipik metodlarda olduğu gibi OXA-48 tanısında da MALDI-TOF'un kullanımında çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır.

2.4.3. Genotipik Metodlar

Karbapenemaz üreten bakteri suşları için moleküler teknikler altın standart olarak kabul edilmektedir (Hrabak J ve ark. 2014). Bu teknikler PCR, mikroarray ve Tüm Genom Dizileme (WGS) olarak ayrılmaktadır.

2.4.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR teknikleri, DNA üzerindeki hedef bölgenin çoğaltılmasına dayanmaktadır. Tek ya da multipleks PCR olarak kullanılan tekniklerde, bakteri kolonileri kullanılarak veya direkt klinik örneğin kendisi üzerinde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-Time PCR) ile de işlem yapılabilir. Real- time PCR ile bir saat içerisinde analiz sonucu alınabilmektedir (Hrabak J ve ark. 2014). 2007 yılında Ellington ve ark. 5 farklı metallo beta laktamaz geni için (IMP, GIM, SIM, VIM ve SPM) multipleks PCR tekniğini önermiştir (Ellington MJ ve ark. 2007). Poirel ve ark. 2011 yılında 'beş büyükler'in de dahil olduğu 11 farklı karbapenemaz genin tayini için bir multipleks PCR tekniği geliştirmiştir. 2014 yılında van der Zee ve ark. tarafından beş ana karbapenemaz geni için başka bir Real-Time PCR tekniği geliştirilmiş olup, metodlarının %100 özgüllük ve duyarlılık gösterdiği yedi farklı laboratuvar tarafından doğrulanmıştır (van der Zee A ve ark. 2014).

Son yıllarda multipleks Real-Time PCR tekniğinin, hem farklı karbapenemazları ayırt etmesi hem de kısa zamanda eşzamanlı sonuç vermesi itibariyle kullanımı yaygınlaşmıştır. Ticari olarak satılan multipleks PCR tekniklerinin duyarlılığı %97 ile %100 arasında değişmektedir (Kaase M ve ark. 2012; Nijhuis R ve ark. 2013; Lutgring ve Limbago 2016). Bunlara SuperBug ID, Xpert Carba-R ve Check Direct CPE örnek olarak gösterilebilir (Kaase M ve ark. 2012; Nijhuis R ve ark. 2013). Özellikle sürveyans kapsamında kullanılan ve hızlı sonuç alınan PCR bazlı tekniklerin bazı zorlukları da olabilmektedir. Gerçekleştirmek için cihaza ihtiyaç duyulması, maliyetinin

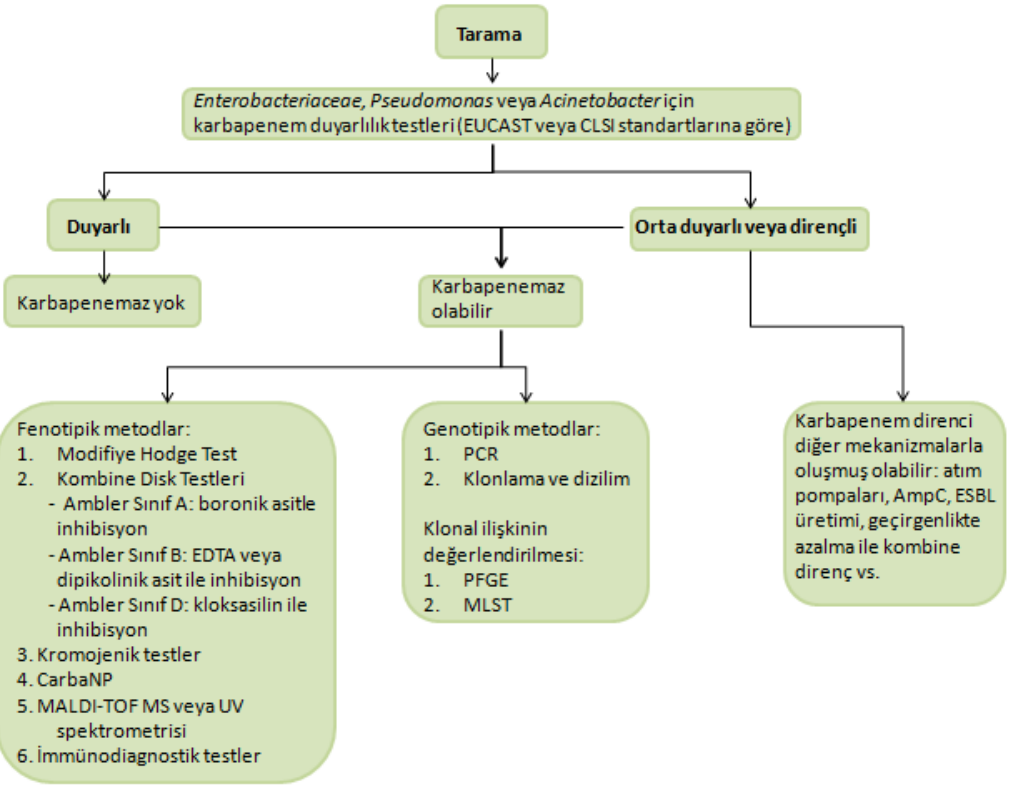
yüksek olması, yeni enzim tipleri ya da yeni varyantları tanımlayamaması bu sorunlara örnektir.

2.4.3.2. Mikroarray

Mikroarray teknolojisi olarak bilinen hibridizasyon tekniği çok sayıda genin tek bir reaksiyon içerisinde tanımlanmasına dayanmaktadır. Mikroarray, 'prob' olarak da bilinen DNA dizilimlerini içeren mikroskobik DNA spotlarıdır. Bakteri DNA'sı ile tamamlayıcı problar arasında hibridizasyon gerçekleşir ve analiz yapılır. Mikroarray teknolojisi karbapenemaz genlerini tanımlamada da kullanılmaktadır. PCR tekniklerinde 4-5 DNA dizilimi aynı anda çalışılırken, mikroarray teknolojisinde yüzlerce hatta binlerce hedef gen bakılabilir (Lutgring ve Limbago 2016). Buna karşın, kullanımının kolay olmaması ve yüksek maliyeti sebebiyle laboratuvarlarda rutin olarak kullanılmamaktadır (Hrabak J ve ark. 2014).

2.4.3.3. Whole Genome Sequencing (WGS)

Tüm Genom Dizileme hedef organizmadaki tüm genetik bilginin incelenmesini sağlayan en ayrıntılı moleküler tekniktir. WGS, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* gibi bakterilerin oluşturduğu salgınlarda kullanılmıştır (Koser CU ve ark. 2012; Snitkin ES ve ark. 2012). Porin yapısındaki mutasyonları ve plazmid üzerinde taşınan genleri de analiz edebilen WGS'nin dezavantajı, yüksek maliyetli olmasıdır (Koser CU ve ark. 2014).



Şekil 2-4: Karbapenem direncinin laboratuvar tanısı.

Hammoidi ve ark. 2014'ten revize edilmiştir. PFGE: pulsed field gel electrophoresis; MLST: multilocus sequence typing.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hastalıkları Yenidoğan ve Yoğun Bakım Servisi'nde yatan hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen ve karbapeneme fenotipik olarak dirençli saptanan 50 *Klebsiella spp.* suşunda karbapenem direnç genlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Genel Mikrobiyoloji Bilim Dalı'na bağlı hastane enfeksiyonu araştırma laboratuvarına Ağustos 2018 – Ağustos 2021 tarihleri arasında gönderilen rektal sürüntü örneklerinden izole edilen 50 karbapeneme dirençli *Klebsiella spp. (K. pneumoniae* ve *K. oxytoca)* çalışmaya dahil edilmiştir.

Örneklerin çalışmaya dahil edilmesi ve suşların toplanması sırasında bazı kriterler göz önüne alınmıştır:

- Her hastadan yalnızca bir örnek çalışmaya alınmıştır.
- Yalnızca Yenidoğan ve Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım kliniklerinden gelen örnekler kabul edilmiştir.
- Gelen örneklerin rutin olarak uygulanan konvansiyonel yöntemlerle tanımlanması sonucu, yalnızca *K. pneumoniae* veya *K. oxytoca* olduğu belirlenen suşlar çalışmaya dahil edilmiştir. Bu amaçla:
    1. Gelen rektal sürüntü örnekleri önce meropenem ilaveli MacConkey agara ekilmiştir. Üreyen Gram negatif çomaklar sırasıyla üç şekerli (Triple Sugar Iron Agar) besiyer, üre agar, sitrat agar, Voges Proskauer ve MIO (motility-Indol-Ornitin dekarboksilaz) besiyerine ekilmiştir. Bunun sonucunda yalnızca laktoz pozitif (+), üreaz pozitif (+), sitrat pozitif (+), Voges Proskauer testi olumlu ve hareketsiz suşlar çalışmaya dahil edilmiştir.
    2. Konvansiyonel yöntemlerle *Klebsiella spp.* olarak tanımlanan suşlar disk difüzyon yöntemiyle karbapenem grubuna ait imipenem,

meropenem ve ertapenem antibiyotik disklerine karşı duyarlılığa tabi tutulmuş olup; en az bir antibiyotiğe dirençli kabul edilen suşlar çalışmaya dahil edilmiştir.

- Konvansiyonel yöntemlerle *Klebsilla spp.* olarak tanımlanmayan veya rutin olarak uygulanan disk difüzyon yönteminde duyarlı kabul edilen suşlar çalışma dışında tutulmuştur.

3.1.2. Besiyerler

3.1.2.1. Gliserinli Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon (BKİB)

Bakterileri saklamak amacıyla 37 g BKİB toz maddesinden (Becton Dickinson, ABD) tartılıp, 800 ml distile suda çözünmesi sağlanmıştır. Üzerine 200 ml gliserin (Sigma – Aldrich) ilave edilmiştir. pH 7,2 – 7,4 arasına ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyeri sterli koşullarda steril eppendorf tüplere paylaştırılarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.2. Triptik Soy Agar (TSA)

Triptik Soy Agar (Becton Dickinson, ABD) toz besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile suda çözünmesi sağlanmıştır. pH 7,2 – 7,4 arasına ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyeri sıcaklığı 45-50°C'ye indikten sonra 90 mm'lik steril petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.3. Katyon-Ayarlı Mueller Hinton Buyyon (KAMHB)

KAMHB (Becton Dickinson, ABD), toz besiyerinden 11 g tartılıp, 500 ml distile suda çözünmesi sağlanmıştır. pH 7,2 – 7,4 arasına ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyeri, oda sıcaklığına gelince +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3. Antibiyotik toz maddeler

- Doripenem (potens: 980, Glentham Life Science, Birleşik Krallık)
- Ertapenem sodyum tuzu (potens: 900, Glentham Life Science, Birleşik Krallık)
- Meropenem –trihidrat (potens: 980, Glentham Life Science, Birleşik Krallık)
- İmipenem (potens: 975, Glentham Life Science, Birleşik Krallık)

3.1.4. Diğer kimyasal maddeler

- Di-Sodyum hidrojen fosfat heptahidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, Merck)
- Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, Merck)
- Steril serum fizyolojik (%0.85 NaCl)
- Brain Heart Infusion Broth (Becton Dickinson, ABD)
- Katyon Ayarlı Müller Hinton Broth (Becton Dickinson, ABD)
- Triptik Soy Agar (Becton Dickinson, ABD)
- Gliserin (yakl. %87, Sigma – Aldrich, ABD)

3.1.5. Kitler

- API20E Bakteri Tanı Kitleri (Biomerieux)
- Xpert Carba-R Multipleks PCR kartuşları (Cepheid)

3.1.6. Cihazlar

Çalışmada İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan cihazlardan yaralanılmışır:

- Vorteks cihazı (IKA, Almanya)
- Gene Expert (Cepheid, ABD)
- Otoklav
- pH metre (WTW, Birleşik Krallık)
- Terazi (Normal ve hassas terazi)

- Buzdolabı (+4 °C, Siemens, Almanya)
- Etüv (Memmert)
- McFarland Densitometer (Biosan)
- Tekli mikropipet (10'luk, 100'lük ve 1000'lik)
- Çoklu mikropipet (10'luk ve 100'lük)
- Öze

3.1.7. Kullanılan sarf maddeler

- Cam tüpler
- 96-kuyucuklu mikroplak
- Steril petri kutuları
- Steril pipet ucu (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Steril idrar numune kabı

3.2. Yöntemler

3.2.1. Bakteri izolasyonu

İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na hastane enfeksiyonu kontrolü amaçlı Yenidoğan ve Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım kliniklerinden gelen rektal sürüntü örneklerinde meropenem (1 mg/l) ilaveli MacConkey agar besiyerinde karbapeneme dirençli *Klebsiella spp.* üremesi durumunda saf koloniden triptik soy agar (TSA)'a pasaj alınmıştır (Kumar ve ark. 2015). Kültürler 37°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra daha önce eppendorf tüplere dökülmüş olan saklama besiyerine alınarak -20°C'de saklanmıştır. Örnek pasaj çalışması Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

Şekil 3-1 ve Şekil 3-2: *K. pneumoniae* izolatlarının MacConkey agar ve TSA'da ekim görüntüsü.

3.2.2. API 20E ile identifikasyon

API 20E tanı kitleri *Enterobacteriaceae* ve diğer zor üremeyen Gram negatif (-) çomaklar için kullanılan identifikasyon kitleridir. Testin yapılışı üretici firmanın önerdiği şekilde yapılmıştır.

3.2.2.1. Testin hazırlanması

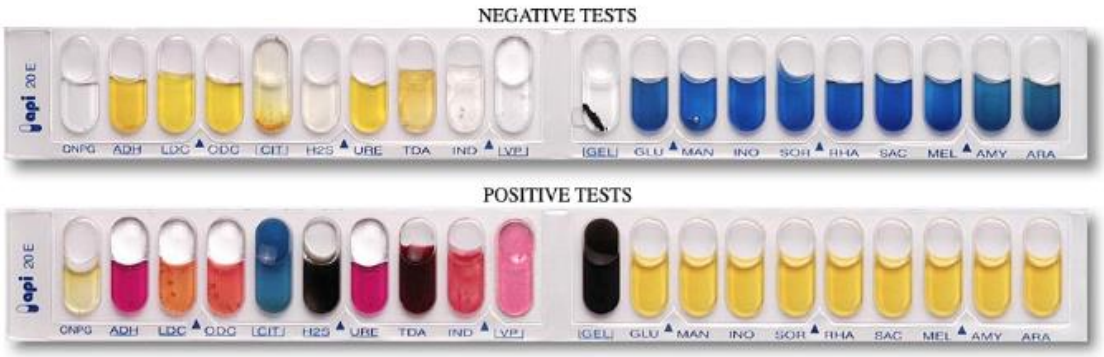
Çalışmamızda saklanan suşlar -20°C'den çıkarılarak 10 sn boyunca vortekslenmiş ve triptik soy agara (TSA) pasaj alınarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edilip üremesi sağlanmıştır. Daha sonra tek bir koloni alınarak 5 ml steril salin içerisine 0.5 McFarland bulanıklığında homojen bir bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır.

Kit içerisinde stripin koyulacağı bir tepsi ve kapak bulunmaktadır. Tepsinin kuyularına 5 ml distile su rastgele dağıtılarak inkübasyon için nemli bir ortam oluşturulması sağlanmıştır. Daha sonra strip, tepsinin üzerine alınarak örnek numarası işaretlenmiştir. Bakteri süspansiyonu mikropipet kullanılarak stripin tüplerine dağıtılmıştır. CIT, GEL ve VP testleri için hem tüp hem de küpüller doldurulmuştur. ADH, LDC, ODC, H2S ve URE testleri için küpüller mineral yağ ile doldurulmuş, böylece oksijensiz ortam sağlanmıştır.

Son olarak stripin kapağı kapatılıp 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2.2. Sonuçların okunması

Etüvden çıkarılan kitlerde TDA testi için 1 damla TDA reaktifi; IND testi için 1 damla James reaktifi; VP testi için ise 1'er damla VP 1 ve VP 2 reaktifleri eklenmiştir. VP testinin yorumlanması için 10 dakika beklenmiştir. Testlerin pozitif ve negatif durumları aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3-3: API 20E testinin pozitif ve negatif sonuçları.

3.2.3. Sıvı mikrodilüsyon

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, bakterinin üremesini durduran en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonunu (Minimal inhibitör konsantrasyonu: MİK) bulmak üzere kullanılan bir yöntemdir (Wiegand 2008).

CLSI (2021)'a göre karbapenem grubuna ait ajanların MİK değerleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3-1: CLSI'a göre *Enterobacteriaceae* için karbapenem MİK değerleri

Antibiyotik	MİK değerleri (µg/mL)			Zon çap değerleri (mm)		
	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Ertapenem	≤ 0.5	1	≥ 2	≥ 22	19–21	≤ 18
Doripenem	≤ 1	2	≥ 4	≥ 23	20-22	≤ 19
İmipenem	≤ 1	2	≥ 4	≥ 23	20–22	≤ 19
Meropenem	≤ 1	2	≥ 4	≥ 23	20–22	≤ 19

3.2.3.1. Antibiyotik stok solüsyonların hazırlanması

Stok solüsyonlarda kullanılacak olan fosfat tampon çözeltisi (pH: 7,2 (0,01 mol/l) hazırlamak için 800 ml distile suyun içerisine 1,785 g $Na_2HPO_4•7H_2O$ ve 0,461 g $NaH_2PO_4•H_2O$ eklenmiştir. Distile su kullanarak toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmış ve son olarak pH 7,2'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan fosfat tampon çözeltisi 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkan çözelti, oda sıcaklığına gelince +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Sıvı mikrodilüsyonda kullanılmak üzere hazırlanacak stok solüsyondaki antibiyotik miktarı ise Formül 3-1'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \quad x \quad \text{Konsantrasyon (µg/ml)}}{\text{Potens (µg/mg)}} \qquad (3\text{-}1)$$

Buna göre; test edilecek antibiyotik miktarının on katı (10x) konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlanmıştır. Doripenemin 160 µg/ml konsantrasyonda stok solüsyonunu hazırlamak için tartılacak antibiyotik madde miktarı,

$$\frac{10 \text{ (ml)} \times 160 \text{ (µg/ml)}}{980} = 1{,}63 \text{ mg}$$ şeklinde hesaplanmıştır.

Her bir antibiyotik hassas terazide tartılarak steril idrar numune kaplarına konulmuş ve 10 ml çözücüde çözülerek vortekslenmiştir. Hazırlanan stok solüsyonlardan 100'er µl steril eppendorf tüplere bölünmüştür. 1:10 oranında dilüe etmek için üzerine 900 µl seyreltici eklenerek sulandırılmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar ve eppendorflar -20°C 'de saklanmıştır. Karbapenem grubuna ait antibiyotiklerin çözücüleri ve seyrelticileri Tablo 3.2'de gösterilmiştir (CLSI 2021).

Tablo 3-2: Karbapenemlerin çözücü ve sulandırıcı maddeleri

	Çözücü (Solvent)	Seyreltici (Diluent)
Doripenem	Salin	Salin
Ertapenem sodyum tuzu	Fosfat tampon çözeltisi pH: 7,2 (0,01 mol/l)	Fosfat tampon çözeltisi pH: 7,2 (0,01 mol/l)
Meropenem –trihidrat	Distile su	Distile su
İmipenem	Fosfat tampon çözeltisi pH: 7,2 (0,01 mol/l)	Fosfat tampon çözeltisi pH: 7,2 (0,01 mol/l)

3.2.3.2. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması

E. coli ATCC 25922 ve test edilecek *Klebseilla spp.* suşlarının TSA besiyerinde yapılan bir gecelik kültüründen steril serum fizyolojik içeren cam tüplere 0.5 McFarland bulanıklığında çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan çözeltiler başka steril cam tüplere aktarılarak 1:10 oranında sulandırılmıştır (0,5 ml bakteri çözeltisi 4,5 ml serum fizyolojik ile sulandırılmıştır).

3.2.3.3. Sıvı Mikrodilüsyon ile MİK belirlenmesi

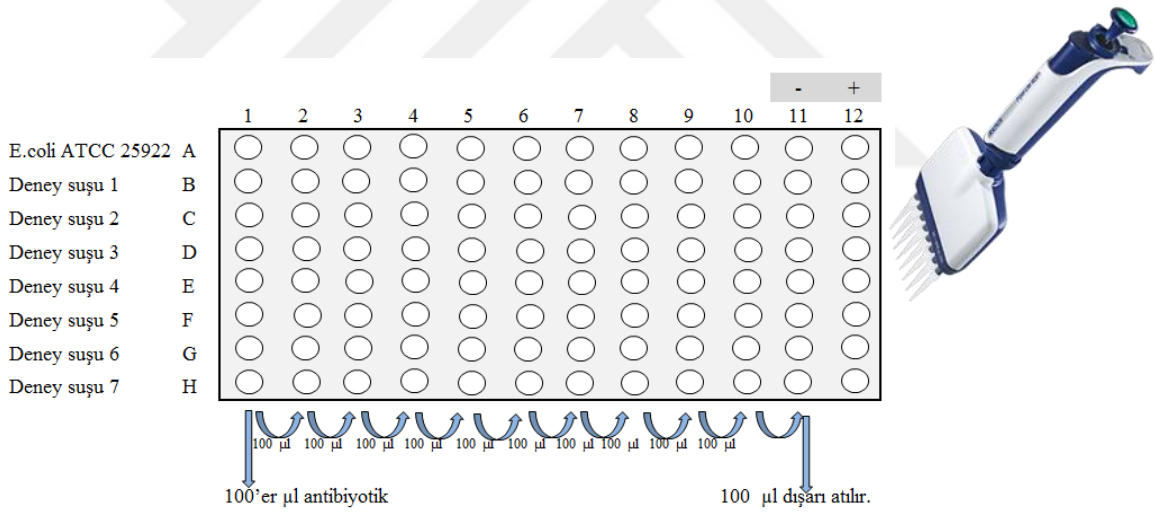
Sıvı mikrodilüsyon deneyi için steril tek kullanımlı U tabanlı 96 kuyucuklu mikroplaklar kullanılmıştır. +4°C'de muhafaza edilen steril KAMHB steril petrilere dökülerek çoklu mikropipetlerin çalışılacağı ortam elde edilmiştir. Mikroplakların herbir kuyucuğuna çoklu mikropipet kullanılarak 100'er µl KAMHB konulmuştur. Daha sonra mikroplakların ilk sütununa 100 µl'şer test edilecek stok antibiyotik solüsyonu konulmuştur. Çoklu mikropipet vasıtasıyla ilk sütundan başlanarak pipetaj yapılmış, her bir sütundan 100 µl alınarak bir sonraki sütuna eklenmiş ve bu pipetaj –iki kat sulandırma- işlemi 10. sütuna kadar devam etmiştir.

Hazırlanan antibiyotiklerin başlangıç konsantrasyonları CLSI'a göre *Klebsiella spp.* ve *E. coli* ATCC 25922 kontrol suşunun duyarlılık-direnç aralıklarına göre belirlenmiştir. CLSI'a göre kullanılan kontrol suşunun duyarlılık – direnç seviyeleri doripenem için 0.016–0.06 µg/ml; ertapenem için 0.004–0.016 µg/ml; meropenem için 0.008–0.06 µg/ml ve imipenem için 0.06–0.25 µg/ml'dir. Buna göre; doripenem için ölçülen konsantrasyon aralığı 16 – 0.03 µg/ml, ertapenem için 8 – 0,015 µg/ml, meropenem için 8 – 0,015 µg/ml ve imipenem için 16 – 0.03 µg/ml'dir.

Antibiyotik solüsyonu ilave edilen kuyucuklara (1-10 kuyucuklar) bakteri süspansiyonu eklenmiştir. Bu son işlem için mikroplakların ilk yatay kuyucuklarına *E. coli* ATCC 25922 ve diğer yatay kuyucuklara test edilecek bakteri süspansiyonundan 5 µl'şer ilave şeklinde gerçekleşmiştir. 11. sütuna 100'er µl KAMHB ve antibiyotik solüsyonu (negatif kontrol) ve 12. sütuna ise 100'er µl KAMHB ve bakteri süspansiyonları (pozitif kontrol) ilave edilmiştir. Mikroplaklar 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmek üzere etüve kaldırılmıştır.

3.2.3.4. Deneyin değerlendirilmesi

Pozitif kontrolde üremenin olması ve negatif kontrol kuyucuklarında da üremenin olmaması değerlendirildikten sonra, *E. coli* ATCC 25922 suşunun MİK değerinin CLSI'ın her karbapenem için belirlediği aralıkta olup olmadığı test edilmiştir. Daha sonra, diğer suşların MİK değerleri değerlendirilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon deneyinin şematik gösterimi Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3-4 : Sıvı mikrodilüsyon deneyinin şematik gösterimi.

3.2.4. Multipleks PCR ile direnç genlerinin belirlenmesi

Klebsiella spp. cinsi bakterilerde karbapenem dirence sebep olan genleri ortaya koymak için GeneXpert cihazı (Şekil 3.5) ve içerisine konulan Carba-R kartuşlardan kullanılmıştır. Cihaz, karbapenem direnciyle ilişkili olan KPC, NDM, VIM, OXA-48 ve IMP genlerini Real-Time PCR ile saptar. Özellikle, hastane enfeksiyonu kontrolü kapsamında rutin olarak alınan rektal sürüntü örneklerinin direkt olarak çalışılabilmesi,

hastane enfeksinonunun hızlı tespitinde büyük kolaylık sağlamaktadır. Çalışmamızda, hastane enfeksiyonu etkeni olan *Klebsiella spp*. cinsi olarak belirlenen bakterilerin sıvı mikrodilüsyon deneyi ile karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli olması durumunda Multipleks PCR ile direnç genlerine bakılmıştır. Bunun için, dirençli olan bakterilerden TSA'ya pasaj alınmıştır. 37°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra saf koloniden serum fizyolojik içerisine 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon 10 saniye boyunca vortekslenmiştir. Mikropipet kullanılarak 10 µl bakteri süspansiyonu Örnek Reaktifi şişesine eklenmiştir. Hazırlanan Örnek Reaktifi şişesi 10 saniye boyunca vorteks ile karıştırılmış ve steril pipet ile 1,7 ml karışım Carba-R kartuşun içerisine konulmuştur. Kartuşa örneği yüklerken içerisinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmiştir. Kullanılan kartuş, Örnek Reaktifi ve pipetler örneğe özeldir, tek kullanımdan sonra atılmıştır. Bilgisayarda GeneXpert Programı açılıp sırasıyla 'Create Test' e tıklanıp, hasta ve örnek numaraları girilmiş; daha sonra barkod okuyucuyla ilgili kartuşun barkodu okutulup cihaz modülüne yerleştirilmiştir. 'Start Test'e tıklanıldıktan sonra kartuş cihazın modülüne yerleştirilmiş ve cihaz kapağı kapatılmıştır. Yaklaşık 50 dakika sonra cihaz gen analizleri sonuçlarını vermiştir.

Şekil 3-5: Gene Expert Multipleks Real Time PCR cihazı, kartuşlar ve reaktifler.

3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

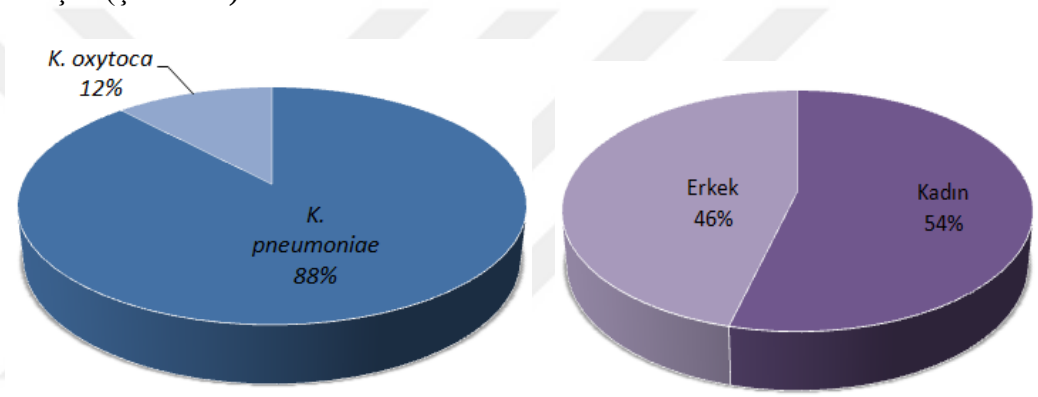
Çalışmadaki istatistiksel analizde IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılmış, Fisher's Exact Ki-kare testi ile değişkenler arasındaki ilişki incelenmiştir. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Örnekler ve Bakteri Suşlarının Tanımlanması

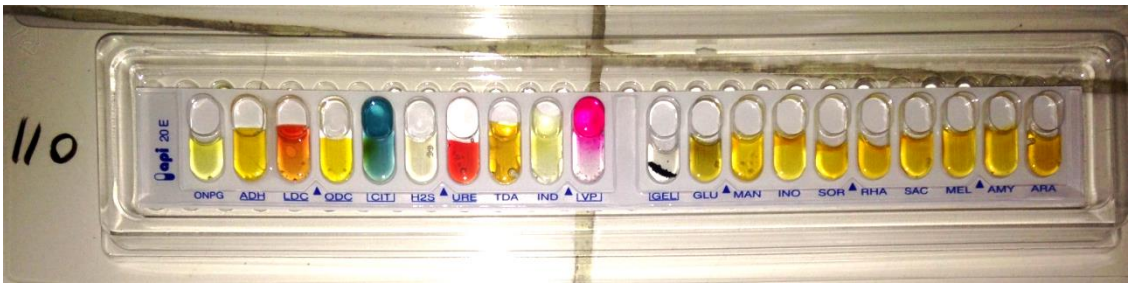
Çalışmaya, Çocuk Hastalıkları Yenidoğan ve Yoğun Bakım Ünitesi'nden gelen 50 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir. Gelen örneklerin cinsiyete göre dağılımı Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Buna göre, kadın hasta sayısı (n=27) ve erkek hasta sayısının (n=23) tüm hastalara oranı sırasıyla %54'e %46 bulunmuştur.

Çalışmaya dahil edilen suşların API20E tanı kitleriyle identifikasyonu sonucu, suşların %88'i *K. pneumoniae* (n=44/50) ve %12'si ise *K. oxytoca* (n=6/50) olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4-1 ve Şekil 4-2: İzolatların tür düzeyinde ve cinsiyete göre dağılımı.

Klebsiella spp. cinsi bakteriler için API20E tanımlama sonucu aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.3).



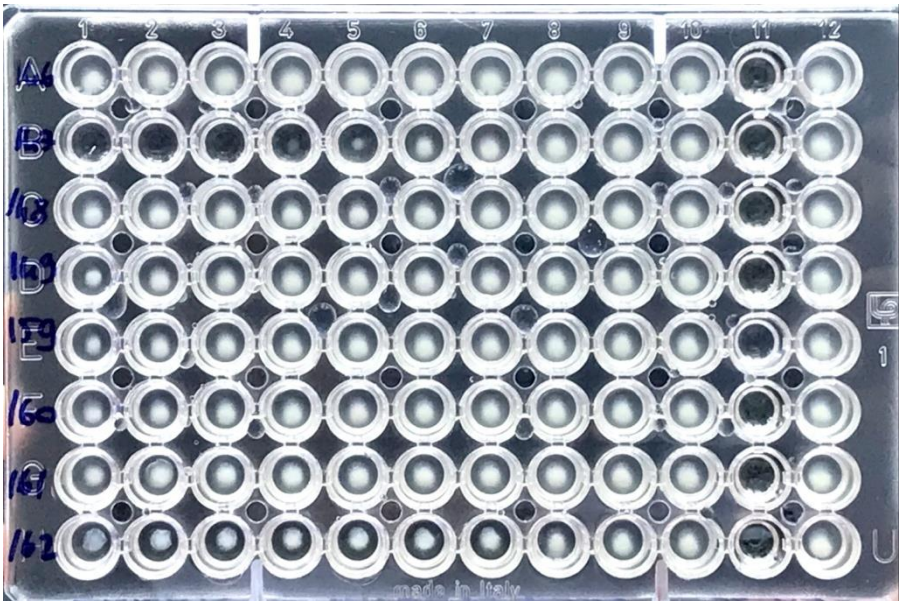
Şekil 4-3: API20E stripinde *K. pneumoniae* renk sonucu.

4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Sonuçları ve Gen Analizi

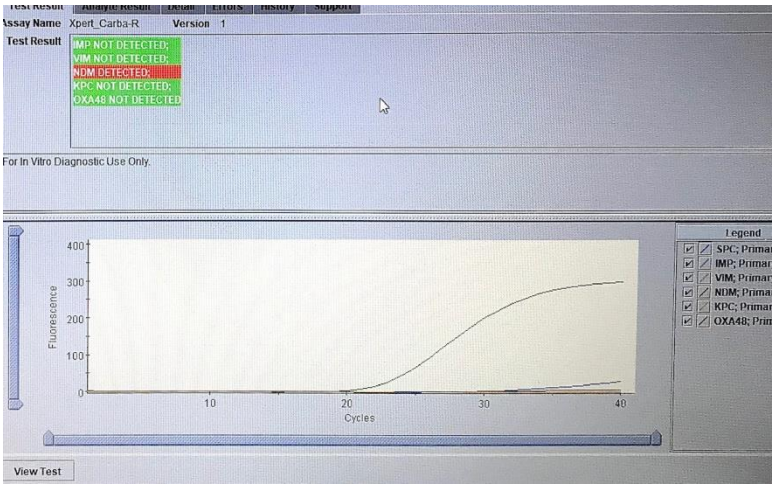
Sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına göre izolatların %94'ünün doripeneme ve meropeneme, %98'inin ise ertapenem ve imipeneme dirençli olduğu bulunmuştur (Tablo 4.1). Çalışmaya ait örnek mikroplak Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Multipleks PCR cihazında örnek gen analizi sonuçları Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-1: İzolatların sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre karbapeneme duyarlılıkları

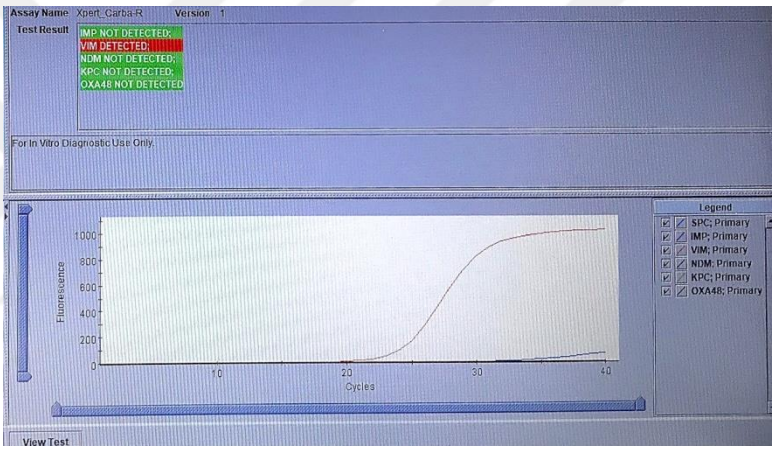
		İzolatlar (n, %)
Doripenem	Duyarlı	2 (%4)
	Orta duyarlı	1 (%2)
	Dirençli	47 (%94)
Meropenem	Duyarlı	1 (%2)
	Orta duyarlı	2 (%4)
	Dirençli	47 (%94)
Ertapenem	Duyarlı	1 (%2)
	Orta duyarlı	0
	Dirençli	49 (%98)
İmipenem	Duyarlı	0
	Orta duyarlı	1 (%2)
	Dirençli	49 (%98)



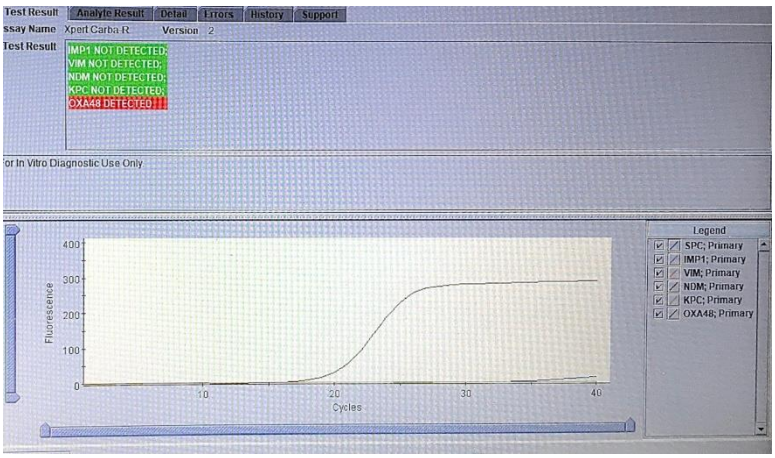
Şekil 4-4: Sıvı mikrodilüsyon deneyine ait örnek mikroplak.



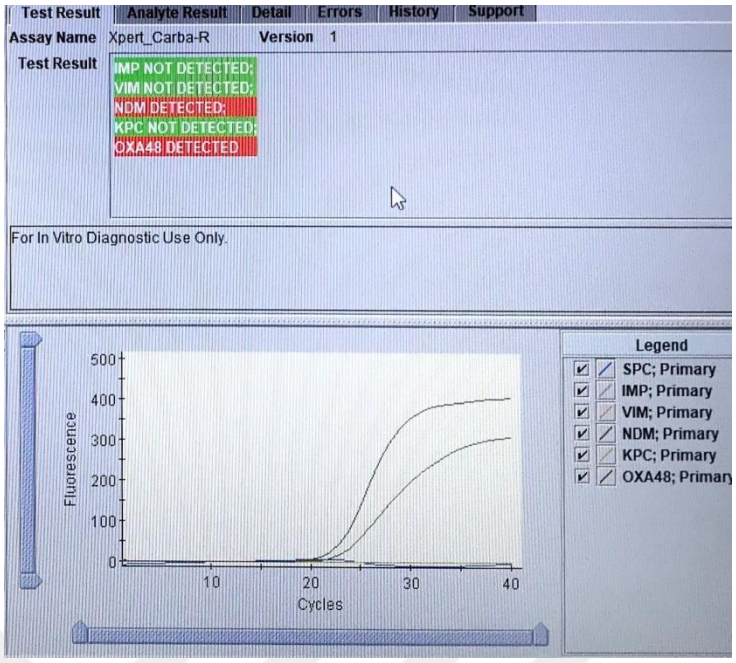
Şekil 4-5: Multipleks Real Time PCR cihazında NDM genine ait görüntü.



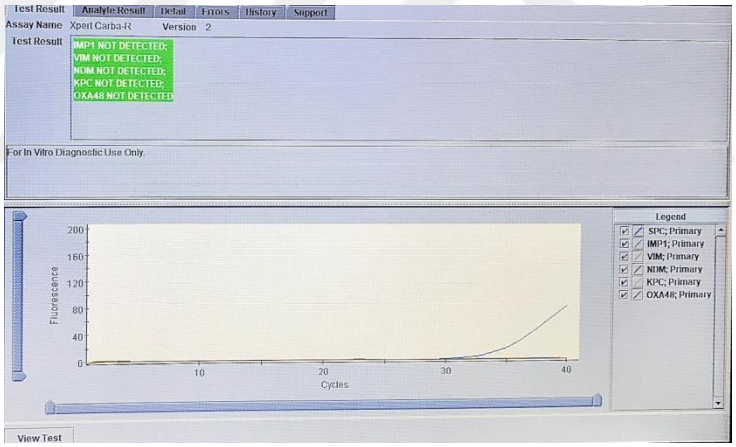
Şekil 4-6: Multipleks Real Time PCR cihazında VIM genine ait görüntü.



Şekil 4-7: Multipleks Real Time PCR cihazında OXA-48 genine ait görüntü.

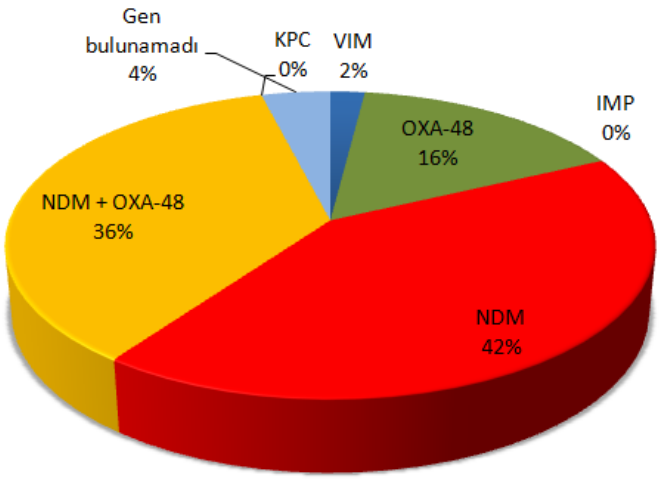


Şekil 4-8: Multipleks Real Time PCR cihazında NDM + OXA-48 genlerine ait görüntü.



Şekil 4-9: Multipleks Real Time PCR cihazında karbapenem genleri içermeyen suşlara ait görüntü.

Yapılan gen analizi sonuçlarına göre, suşların %42'sinde yalnız NDM (n=21/50), %16'sında yalnız OXA-48 (n=8/50), %36'sında NDM + OXA-48 birlikte (n=18/50) ve %2'sinde VIM (n=1/50) karbapenemaz geni tespit edilmiştir. KPC ve IMP üreten suş bulunmamıştır. Suşların 2'sinde (%4) herhangi bir karbapenemaz genine rastlanmamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4-10: Karbapenemazların izolatlar içerisindeki dağılımı.

Tüm suşların karbapenemlere duyarlık sonuçları ve gen analizleri Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Suşların karbapenem direnci ve sahip oldukları karbapenemaz arasındaki ilişkiler Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'te gösterilmiştir. Fisher's Exact Ki-kare testi ile değişkenler arasındaki ilişkiler incelenmiş, izolatlardaki karbapenem direnci ve taşıdıkları karbapenamaz genleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4-2: İzolatların doripeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki

Doripenem MİK sonucu (n=suş sayısı)		Karbapenemaz Türü				
		OXA-48	NDM	NDM + OXA-48	VIM	gen (-)
Dirençli	(n=47)	8	19	18	1	1
Duyarlı + Orta duyarlı	(n= 3)	0	2	0	0	1
Toplam	(n=50)	8	21	18	1	2

p=0.137

Tablo 4-3: İzolatların meropeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki

Meropenem MİK sonucu (n= suş sayısı)		Karbapenemaz Türü				
		OXA-48	NDM	NDM + OXA-48	VIM	gen (-)
Dirençli	(n=47)	8	19	18	1	1
Duyarlı + Orta duyarlı	(n=3)	0	2	0	0	1
Toplam	(n=50)	8	21	18	1	2

p= 0.137

Tablo 4-4: İzolatların ertapeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki

Ertapenem MİK sonucu (n= suş sayısı)		Karbapenemaz Türü				
		OXA-48	NDM	NDM + OXA-48	VIM	gen (-)
Dirençli	(n=49)	8	20	18	1	2
Duyarlı + Orta duyarlı	(n=1)	0	1	0	0	0
Toplam	(n=50)	8	21	18	1	2

p=1.0

Tablo 4-5: İzolatların imipeneme duyarlıkları ve karbapenamazlar arasındaki ilişki

İmipenem MİK sonucu (n= suş sayısı)		Karbapenemaz Türü				
		OXA-48	NDM	NDM + OXA-48	VIM	gen (-)
Dirençli	(n=49)	8	21	18	1	1
Duyarlı + Orta duyarlı	(n=1)	0	0	0	0	1
Toplam	(n=50)	8	21	18	1	2

p= 0.06

Tablo 4-6: Tüm izolatların tür, karbapenem direnç profilleri ve gen analizleri

No	Mikroorganizma	Doripenem MİK (µg/ml)	Meropenem MİK (µg/ml)	Ertapenem MİK (µg/ml)	İmipenem MİK (µg/ml)	Karbapenemaz Türü
1	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA- 48
2	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
3	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
4	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
5	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
6	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
7	*K. oxytoca*	16	≥8	≥8	≥16	VIM
8	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
9	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
10	*K. oxytoca*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
11	*K. oxytoca*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
12	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
13	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
14	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
15	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
16	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
17	*K. pneumoniae*	4	8	≥8	≥16	Gen bulunamadı
18	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
19	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
20	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
21	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
22	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
23	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
24	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
25	*K. pneumoniae*	16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
26	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
27	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
28	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
29	*K. pneumoniae*	2 (I)	2 (I)	8	≥16	NDM
30	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
31	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
32	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
33	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
34	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
35	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
36	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
37	*K. oxytoca*	1 (S)	2 (I)	2	2 (I)	Gen bulunamadı

No	Mikroorganizma	Doripenem MİK (µg/ml)	Meropenem MİK (µg/ml)	Ertapenem MİK (µg/ml)	İmipenem MİK (µg/ml)	Karbapenemaz Türü
38	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
39	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
40	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
41	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
42	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
43	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
44	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
45	*K. oxytoca*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM + OXA-48
46	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
47	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
48	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	OXA-48
49	*K. pneumoniae*	≥16	≥8	≥8	≥16	NDM
50	*K. oxytoca*	0.125 (S)	0.5 (S)	0.062 (S)	8	NDM

5. TARTIŞMA

Son yıllarda *Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenem direnci, hem toplum hem de hastane kökenli enfeksiyonların tedavisini güçleştiren önemli bir sorun haline gelmiştir. Özellikle yenidoğan yoğun bakım ortamları; yapılan invaziv girişimler, antibiyotik kullanımı ve hastanede yatış süresi yönüyle hastane enfeksiyonuna oldukça elverişli ortamlardır. Çok ilaca dirençli suşlar için tedavide son seçenek olarak kullanılan karbapenem direncinin artması ve karbapenemazlarla bu direncin yayılması, yüksek mortalite ve morbidite oranlarıyla ilişkilidir. Buna ek olarak, hastanede yatış süresi uzamakta ve hem hastane hem de ülke çapında finansal yük getirmektedir. CLSI'a göre *Klebsiella spp*. karbapenem direncinin araştırılması gereken öncelikli bakterilerdendir.

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Yenidoğan ve Yoğun Bakım Ünitesi'nden hastane enfeksiyonu kontrolü kapsamında tarama amaçlı alınan rektal sürüntü örneklerinde konvansiyonel yöntemlerle *Klebsiella spp.* olarak tanımlanan ve en az bir karbapeneme dirençli suşlar kullanılmıştır. Bu suşlardan 50 *Klebsiella spp.* suşun tür tanısı API20E ile doğrulanmıştır. Bununla birlikte dirençten sorumlu olan karbapenemazları kodlayan beş büyük gen (KPC, NDM, VIM, OXA-48 ve IMP) Real-Time PCR ile araştırılmıştır. Ayrıca dört karbapenem antibiyotiğin (imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem) bu suşlara karşı MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon ile saptanmıştır. Yaptığımız çalışmanın sonucuna göre, 50 *Klebsiella spp.* suşun 44'ü (%88) *K. pneumoniae* ve 6'sı (%12) *K. oxytoca* olarak tanımlanmıştır. Karbapenem gen dağılımı ise 44 *K. pneumoniae* suşun 43 (%97.8)'ünde ve 6 *K. oxytoca* suşun 5 (%83.3)'inde saptanmıştır. Karbapenem direnci olan her iki türden birer suşun karbapenem direnç geni taşımadıkları belirlenmiştir. Böylece suşların tamamında toplam 66 karbapenem direnç geni görülmüştür. Bu genler 30 suşta tek gen (21 NDM, 8 OXA-48, 1 VIM) ve 18 suşta çift gen (OXA-48 + NDM) şeklinde saptanmıştır. Toplam 50 *Klebsiella spp*. suşun 21'(%42) inde NDM, 8 (%16)'inde OXA-48, 18 (%36)'inde NDM + OXA-48 ve birinde VIM (%2) tespit edilmiştir. Çalışmamızda karbapeneme dirençli olan iki suşta aranan beş büyük karbapenem genlerinden hiçbiri saptanmamıştır. *Klebsiella spp.* suşlarının 47'si tüm karbapenemlere direnç göstermiştir. Bunlar arasında 44 (%88)'ünün benzer MİK değerlerine sahip

olduğu anlaşılmıştır. Bu MİK değerler; doripenem ≥16 (μg/ml), meropenem ≥8 (μg/ml), ertapenem ≥8 (μg/ml), imipenem ≥16 (μg/ml) olarak bulunmuştur. Ancak 6 suş karbapenemin tipine göre ve içerdiği gene göre farklı düzeyde MİK değerleri göstermiştir. Örneğin VIM geni taşıyan 7 no'lu *K. oxytoca* ve OXA-48 üreten 25 no'lu *K. pneumoniae* suşu için doripenemin MİK değeri 16 μg/ml (dirençli) bulunmuştur. NDM geni taşıyan 29 no'lu *K. pneumoniae* suşuna karşı doripenem ve meropenem MİK değeri 2 μg/ml (orta duyarlı) ve 50 no'lu *K. oxytoca* suşuna karşı aynı antibiyotiklerin ve ertapenemin MİK değerleri ise sırasıyla 0.125 μg/ml, 0.5 μg/ml ve 0.062 μg/ml (duyarlı) görülmüştür. Her iki suş da imipeneme dirençli bulunmuştur. Beş büyük geni taşımayan 17 no'lu *K. pneumoniae* ve 37 no'lu *K. oxytoca* suşuna karşı doripenem için MİK değeri sırasıyla 4 μg/ml (dirençli) ve 1 μg/ml (duyarlı); meropenem için MİK değeri sırasıyla 8 μg/ml (dirençli) ve 2 μg/ml (orta duyarlı) olarak saptanmıştır. İmipenemin, 37 no'lu suşa karşı MİK değeri orta duyarlı (2 μg/ml) bulunmuştur. Karbapenem direnç geni taşımayan *K. oxytoca* suşuna karşı (37 nolu suş); ertapenem dışında diğer antibiyotiklerin (doripenem, meropenem ve imipenem) MİK değerleri orta duyarlı-duyarlı sınırında olduğu için uyumlu bulunmuştur. Ancak 17 no'lu *K. pneumoniae* suşunun karbapenem direnç geni taşımamasına rağmen test edilen dört karbapeneme karşı dirençli olması, çalışmamızda aranan beş büyük karbapenem geninin dışında başka genlerin varlığını düşündürmüştür. Karbapenem direnç genlerinin sayısının dirençteki rolüne bakıldığında, çalışmamızda dört karbapeneme karşı 47 suşta tam direnç saptanmıştır. İzolatlardaki karbapenem MİK değerleri ve içerdikleri karbapenemazlar arasında istatiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). Genel sonuç itibariyle, izolatların 49 (%98)'unun imipeneme ve ertapeneme, 47 (%94)'sinin ise doripeneme ve meropeneme dirençli olduğu saptanmıştır.

Beş ana karbapenemazdan biri olan OXA-48, ilk kez 2003 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nde *K. pneumoniae* suşundan izole edilmiştir (Poirel L ve ark. 2004). OXA-48 hızlıca ülke çapında yayılım göstermiş ve ülkenin merkezi şehirlerinde salgınlara neden olmuştur (Carrer A ve ark. 2008). 2012-2016 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi'nde yapılan araştırmaya göre, karbapeneme dirençli 50 *K. pneumoniae* suşunun %86'sında (n=43/50) OXA-48 tipi karbapenemaz geni, %14'ünde (n=7/50) NDM tipi karbapenemaz geni saptanmıştır (Erdem ve ark. 2019).

Türkiye'de NDM karbapenemazı oluşturan *K. pneumoniae* suşu ilk defa bir hastanın kan kültüründen 2011 yılında tanımlanmıştır (Poirel L ve ark. 2012). Daha sonra yapılan çalışmalarda, OXA-48'den sonra Türkiye'de en çok izole edilen ikinci karbapenemaz geni olmuştur (Alp ve ark. 2013; Baran ve Aksu 2016; Tekintaş ve ark. 2017; Davarcı ve ark. 2019). Çalışmamızda, NDM geni 21 suşta tek ve 18 suşta OXA-48 ile birlikte toplam 39 suşta (%78) ilk sırada, OXA-48 ise 8 suşta tek ve 18 suşta NDM ile birlikte toplam 26 suşta (%52) ikinci sırada, ve VIM tek suşta (%2) bulunarak en az izole edilen karbapenemaz geni olmuştur. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından 2012 yılında kurulan, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için Avrupa kriterine (EuSCAPE) göre vakaların yayılması bağlamında ülkeler 5 faza ayrılmıştır; Faz 0'da sıfır vaka, Faz 1 sporadik, faz 2 bir hastane salgını, faz 3 bölgesel yayılım, faz 4 bölgeler arası yayılım ve son olarak faz 5 ise endemik seviyeyi göstermektedir. Bu araştırmaya göre, Türkiye, OXA-48 üreten *K. pneumoniae* kapsamında faz 5 ülkelerden biridir. NDM için ise Türkiye 2013 yılında faz 1 ülkeler arasındayken; 2015 yılında faz 3 ülkeler sınıfına dahil edilmiştir. Rapora göre, NDM üreten *Enterobacteriaceae* suşlarının 2013 yılından itibaren özellikle Suriye sınırına yakın bölgelerde arttığı vurgulanmıştır (Albiger ve ark. 2015).

Kılıç ve Baysallar (2015)'ın 2015 yılında Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde 887 *Enterobacteriaceae* üyesi üzerinde yaptığı çalışmada, izolatların %5,52'sinin en az bir karbapeneme dirençli olduğu, 48 izolatın OXA-48 içerdiği ve 1 *K. pneumoniae* izolatının ise OXA-48 ile NDM'yi birlikte taşıdığını bulmuşlardır. İzole edilen suş, Türkiye'de OXA-48 ve NDM'yi birlikte üreten ilk *K. pneumoniae*'dir. Dünyada ise NDM + OXA-48'i birlikte üreten *K. pneumoniae* ilk kez Fas'ta (Barguigua A ve ark. 2013), ikinci olarak Tunus'ta (Ben Nasr ve ark. 2013), üçüncü olarak da Sırbistan'dan İsviçre'ye nakil olan bir hastanın rektal sürüntü örneğinden izole edilmiştir (Seiffert SN ve ark. 2014). Kılıç ve Baysallar'ın çalışması dünyadaki dördüncü izolat olma özelliğini taşımaktadır. İzole edilen suş, Şanlıurfa'dan nakil olan bir hastadan alınmıştır. Suriye İç Savaşı sırasında 600.000'den fazla mültecinin Türkiye'ye göç etmesi, daha önce Suriye kökenli hastalarda NDM üreten suşların izole edilmesi ve savaşta yaralanan hastaların Şanlurfa gibi sınır şehirlerde tedavi edilmesi gibi sebepler göz önüne alındığında; Suriye'nin, Türkiye'de NDM üreten suşlar için kaynak olabileceği çıkarımında bulunmuşlardır.

Iraz ve ark. (2015) Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hastanesi'nde yaptıkları çalışmada, hastane kökenli enfeksiyonlardan izole edilen 37 *K. pneumoniae* suşunun tümünün imipenem ve meropeneme dirençli olduğunu bulmuştur. İzolatların 32'sinde (%86) OXA-48 ve 7'sinde (%19) NDM-1 bulunmuştur. KPC, IMP ve VIM tespit edilmemiştir. Çalışmamızda ise izolatların 49 (%98)'unun imipeneme ve 47 (%94)'sinin meropeneme dirençli olduğu saptanmıştır. Dolaysıyla, suşlarımız Iraz ve ark. (2015)'a kıyaslandığında nispeten daha duyarlı saptanmıştır.

2017 yılında, NDM üreten *K. pneumoniae* salgını ilk kez bildirilmiştir (Guducuoglu ve ark. 2018). Tekintaş ve ark. (2017)'nın 54 karbapeneme *dirençli K. pneumoniae* suşu üzerinde yaptığı çalışmada, izolatların 33'ünde (%61) yalnızca OXA-48, 2'sinde (%4) yalnızca NDM saptanırken; 19'unda (%35) OXA-48 ve NDM karbapenemazları birlikte bulunmuştur. Duman ve ark. (2020)'nın yaptığı çalışmada, yoğun bakım ünitesinden edinilen 21 karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* 9'unun (%43) NDM-1 ve OXA-48'I, 11'inin (%52) OXA-48'i ve 1'inin (%5) NDM-1'i ürettiği bulunmuştur. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan araştırma, NDM ve OXA-48'in birlikte üretildiği *K. pneumoniae*'yi salgın olarak bildirmiştir. Zarakolu ve ark. (2021)'nın yaptığı çalışmada, 144 karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşunun 131'inin karbapenemaz ürettiği bulunmuştur. Karbapenemazlar arasında OXA-48'in %70,9 ile baskın olduğu bildirilmiştir.

Yaşar-Duman ve Çilli'nin 2021'de yaptığı çalışmaya göre, 74 *K. pneumoniae* izolatının 65'i karbapeneme dirençli bulunmuş, dirençli suşlar arasında 57 (%88)'si OXA-48, 15(%23)'i NDM ve 4 (%6)'ü KPC genlerini içermektedir. Suşların 11'inde (%17) OXA-48 ve NDM genleri birlikte bulunmuştur. Çalışmamızda, 44 *K.pneumoniae* suşun 43'ü (%86) tüm test edilen karbapenemlere dirençli saptanmış ve bu dirençli suşların 18'inde (%41.9) NDM, 8'inde (%18.6) OXA-48 ve 16'sında (%37.2) NDM+OXA-48 bulunmuştur. Çalışmamız, Yaşar-Duman ve Çilli çalışmasıyla karşılaştırıldığında OXA-48 ve NDM prevalansının sıralamasının farklı olduğu ve iki genin birlikte bulunma yüzdesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayırca bizim çalışmamızda KPC geni bulunmamıştır. KPC üreten *K. pneumoniae* ülkemizde ilk olarak Romanya'dan nakledilen bir hastada 2012 yılında bildirilmiştir. Bildirilen izolat, karbapeneme dirençli izolatlarda tedavi amacıyla kullanılan kolistine karşı dirençli bulunmuştur (Labarca J ve ark. 2014). Ülkemizde Genç ve ark. (2022)'nın 100 *K.*

pneumoniae izolatı üzerinde yaptığı çalışmaya göre; suşların %81,05'i OXA-48, %38,9'u NDM, %9,47'si KPC ve %1,05'i VIM karbapenemaz genlerini taşımaktadır. Bir izolat, OXA-48 ve KPC genlerini birlikte taşırken, iki izolatın ise KPC ve NDM genlerini birlikte taşıdığı bildirilmiştir. Literatüre göre, yapılan çalışmada Türkiye'de ilk kez karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında KPC+NDM ve OXA+KPC gösterilmiştir. NDM karbapenemazın yüksek prevalansı, Türkiye'de OXA-48'den sonra NDM'nin de endemik seviyelere geldiğini göstermektedir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, hastane enfeksiyonu kontrolü kapsamında alınan rektal sürüntü örneklerinden izole edilen 50 karbapeneme dirençli *Klebsiella spp.* suşunun 48 (%96)'inde yüksek karbapenemaz genin varlığı (66 gen) ve bu genlerin 39 (%59.1)'unun NDM olması, hastanemizde NDM prevalansının OXA-48'i geçtiğini göstermektedir. Hastanemizde NDM ve NDM+OXA-48 salgınından söz etmek mümkündür. Son yıllarda yapılan çalışmalar da göz önüne alındığında, ülkemizde NDM'nin hızla yayılım gösterip endemik seviyelere gelebileceği göz önüne alınmalıdır.

Tüm dünyada en sık tespit edilen KPC karbapenemazı için ülkemizde bildirilen vaka sayısı çok azdır. Metallo beta laktamazlardan VIM ve IMP tipi karbapenemazlar da az sayıda bildirilmiştir. Çalışmamız, 50 dirençli suşun hiçbirisinde KPC ve IMP geni bulunmayarak ve yalnızca bir suşta VIM tespit edilerek bu durumu destekler nitelikte olmuştur.

ABD'deki *K. pneumoniae* suşları, tüm karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae*'nin %92'sini oluşturmaktadır (Lledo ve ark. 2009). Tayland'da yapılan bir çalışmada, 2016-2018 yılları arasında antimikrobiyal direnç sürveyansı kapsamında toplanan 3946 karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* suşunun %73'ü (n=2888) *K. pneumoniae* olarak bulunmuştur. Karbapeneme dirençli *Enterobacteriacea*e'nin %97'si (n=3844) en az bir karbapenemaz üreten gene sahiptir. *K. pneumoniae* izolatlarında blaNDM, blaOXA-48 ve blaIMP genleri sırasıyla %55, %59 ve %2 oranında bulunmuştur. (Paveenkittiporn W ve ark. 2021). İtalya'da yapılan bir çalışmaya göre, karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* ile rektal kolonizasyonu olan 677 hastanın %56.4'ü NDM, %36.5'i KPC, %5.8'i VIM ve %1.3'ünde OXA-48 taşıyıcılığı saptanmıştır (Falcone ve ark. 2021). Yunanistan'a bakıldığında ise, VIM üreten *Enterobacteriaceae*'nin (özellikle *K. pneumoniae*) diğer ülkelere yayılımı için

merkez üssü konumunda olmakla birlikte (Cuzon G ve ark. 2008; Kassis-Chikhani N ve ark. 2006); KPC üreten *K. pneumoniae* suşları da endemik hale gelmiştir (Nordmann ve ark. 2011).

İran'dan bildirilen rapora göre, klinik örneklerden izole edilen 100 karbapeneme dirençli *K. pneumonia*e suşunun %72'sinde OXA-48, %31'inde ise NDM tespit edilmiştir. Hiçbir izolatta KPC ve VIM geni bulunmamıştır (Jafari ve ark. 2018). Yine İran'da yapılan bir çalışmada 74 karbapeneme dirençli *K. pneumonia*e suşunun %90.5'inde OXA-48, %24.3'ünde ise NDM-1 bulunmuştur (Solgi ve ark. 2020). Suudi Arabistan'da 2018 yılında yayınlanan çalışmaya göre, 71 karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşunda en yaygın bulunan karbapenemaz OXA-48 (n=48/71), ikinci olarak NDM-1 (n=9/71); her iki karbapenemazı içeren suşların sayısı ise 6 bulunmuştur (Zaman ve ark. 2018). Şimdiye kadar birçok yayında Türkiye ve Orta Doğu ülkelerinde OXA-48'in yüksek prevalansı bildirilmesine rağmen; çalışmamızda bunun tersine en yaygın bulunan karbapenemazın NDM olması, OXA-48'den sonra NDM'nin de Türkiye'de endemik seviyeye gelebileceğini işaret etmektedir.

Karbapenem direncinin olduğu durumlarda, yüksek doz karbapenem kullanımının önerildiği çalışmalar literatürde mevcuttur (Tumbarello M ve ark. 2012; Tzouvelekis LS ve ark. 2014; Tumbarello M ve ark. 2015). Buna ek olarak, hücre duvarına etki eden fosfomisin gibi antibiyotikler, hücre zarına etki eden polimiksinler veya protein sentezini inhibe eden aminoglikozit ya da tigesiklin gibi ajanlar karbapenemlerle birlikte kullanıldığında MİK değerini düşürebilirler. Bu sebeple, kombine terapi de mutlaka göz önüne alınmalıdır (Doi Y ve Paterson DL 2015; Perez F ve ark. 2016). Nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi sebeplerle geçmişte kullanımı kısıtlı olan polimiksinler, karbapenem direncinin artışı sebebiyle artık sıklıkla kullanılmaya başlanmış; fakat son zamanlarda polimiksinlerdeki artan MİK değerleri de endişe verici boyuta ulaşmıştır. İki farklı karbapenem terapisinin de (ertapenem + yüksek doz meropenem ya da doripenem) yüksek MİK değerine sahip veya kolistine dirençli KPC üreten *K. pneumoniae* suşlarında etkili olduğunu gösteren *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu durumun gerekçesi olarak da, ertapenemin KPC için yüksek afiniteye sahip olması; böylece kendini feda ederek diğer karbapenemi KPC enziminden koruması gösterilmektedir (Oliva A ve ark. 2015; Cprek JB ve Gallagher JC 2015; Poirel L ve ark. 2016).

Sonuç olarak, hastanemizin Çocuk Hastalıkları Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan hastalardan alınan rektal sürüntü örneklerinde NDM ve NDM + OXA-48 üreten K. *pneumoniae* suşlarının prevalansının artması endişe vericidir. Daha önce hastanemizde Erdem ve ark. (2019)'nın yaptıkları çalışmayla kıyaslanınca, NDM prevalansının son yıllarda arttığı görülmektedir. Bu salgının önüne geçmek için, sağlık çalışanları, Hastane Enfeksiyonu Laboratuvarı ve Hastane Enfeksiyonu Kontrol Komitesi işbirliği gerekmektedir. El hijyenini koruma nozokomiyal enfeksiyonlardan korunma açısından en önemli aşamadır. Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* taşıyıcısı olan hastaların izolasyonu, salgının yayılmasını önlemede önemlidir. Yenidoğan Yoğun Bakım'da yapılan invaziv girişimlerde sterilizasyon kurallarına uyulması, kullanılan cihazların düzenli dezenfeksiyonunun sağlanması, akılıcı antibiyotik kullanımı, sağlık çalışanın sayısının artırılması ve periyodik olarak eğitimin verilmesi hastane enfeksiyonundan sorumlu olan karbapeneme dirençli *Klebseilla spp.* salgınını büyük ölçüde önleyecek ve hastane enfeksiyonunun artırdığı morbidite ve mortalite oranını düşürerek, hastane ve ülke çapında getirdiği finansal yükün önüne geçilmiş olacaktır.

KAYNAKLAR

Abdelaziz, M.O., Bonura, C., Aleo, A., Fasciana, T., Mammina, C. (2013). NDM-1-and OXA-163-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Cairo, Egypt, 2012. *Journal of Global Antimicrob Resistance,* 1, 213-215.

Abraham, E. ve Chain, E. (1940). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, 46, 837.

Adler, A., Shklyar, M., Schwaber, M.J., Navon-Venezia, S., Dhaher, Y., Edgar, R. ve ark. (2011). Introduction of OXA-48- producing *Enterobacteriaceae* to Israeli hospitals by medical tourism. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 2763-2766.

Agency for Healthcare Research and Quality (2012). *Patient safety primers: healthcare-associated infections; 2012*. Erişim 8.12.2021, https://www.ahrq.gov/professionals/quality-patient-safety/patientsafety resources/resources/hais/index.html.

Agodi, A., Voulgari, E., Barchitta, M., Politi, L., Koumaki, V., Spanakis, N. ve ark. (2011). Containment of an outbreak of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. *Journal of Clinical Microbiology*, *49*(11), 3986–3989.

Aktas, E., Malkocoglu, G., Otlu, B., Copur Cicek, A., Kulah, C., Comert, F. ve ark. (2017). Evaluation of the Carbapenem Inactivation Method for Detection of Carbapenemase-Producing GramNegative Bacteria in Comparison with the RAPIDEC CARBA NP. *Microbial Drug Resistance*, 23, 457-461.

Albers-Schonberg, G., Arison, B. H., Hcnsens, D. D., Hirschfield, J., Hoogsteen, K., Kaczka, E. A. ve ark. (1978). Structure and absolute configuration of thienamycin. *Journal of the American Chemical Society,* 100, 6491-6499.

Albers-Schonberg, G., ve ark. 1976. Abstr. 16th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., abstr. 229. American Society for Microbiology, Washington, DC.

Albiger, B., Glasner, C., Struelens, M. J., Grundmann, H., Monnet, D. L. (2015). European Survey of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe:

assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Eurosurveillance*, 20(45).

Alp, E., Perçin, D., Colakoğlu, S., Durmaz, S., Kürkcü, C., Ekincioğlu, P. ve ark. (2013). Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary university hospital in Turkey. *Journal Of Hospital Infection*, *84*(2), 178-180.

Al-Zahrani, I. (2018). Routine detection of carbapenem-resistant gram-negative bacilli in clinical laboratories. A review of current challenges. *Saudi Medical Journal*, 39(9), 861–872.

Al-Zahrani, I. A. ve Alsiri, B. A. (2018). The emergence of carbapenemresistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 and NDM in the Southern (Asir) province, Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 39, 23-30.

Amako, K., Meno, Y. ve Takade, A. (1988). Fine structures of the capsules of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* K1. *Journal Of Bacteriology*, *170*(10), 4960-4962.

Ambler, R., Coulson, A., Frère, J., Ghuysen, J., Joris, B., Forsman, M. ve ark. (1991). A standard numbering scheme for the class A β-lactamases. *Biochemical Journal*, *276*(1), 269-270.

Ambretti, S., Gaibani, P., Caroli, F., Miragliotta, L. ve Sambri, V. (2010). A carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate harboring KPC-1 from Italy. *New Microbiologica*, 33, 281–2.

Amin, A. N. ve Deruelle, D. (2015). Healthcare-associated infections, infection control and the potential of new antibiotics in development in the USA. *Future Microbiology*, 10(6), 1049–1062.

Arteaga-Livias, K., Pinzas-Acosta, K., Perez-Abad, L., Panduro-Correa, V., Rabaan, A. A., Pecho-Silva, S. ve ark. (2021). A multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a Peruvian hospital: Another threat from the COVID-19 pandemic. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 1–2.

Askarian, M., Yadollahi, M. ve Assadian, O. (2012). Point prevalence and risk factors of hospital acquired infections in a cluster of university-affiliated hospitals in Shiraz, Iran. *Journal of Infection and Public Health*, 5(2), 169–176.

Bagheri Nejad, S., Allegranzi, B., Syed, S. B., Ellis, B. ve Pittet, D. (2011). Health-careassociated infection in Africa: a systematic review. Bulletin *of the World Health Organization*, 89(10), 757–765.

Banerjee, R. ve Humphries, R. (2017). Clinical and laboratory considerations for the rapid detection of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Virulence,* 8, 427-439.

Baran, I. ve Aksu, N. (2016). Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a tertiary-level reference hospital in Turkey. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials,* 15, 20.

Barguigua, A., El Otmani, E., Talmi, M., Zerouali, K. ve Timinouni, M. (2012). Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates in the Moroccan community. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease,* 73, 290-291.

Barguigua, A., El Otmani, F., Lakbakbi EI Yaagoubi, F., Talmi, M., Zerouali, K. ve Timinouni, M. (2013). First report of a *Klebsiella pneumoniae* strain coproducing NDM-1, VIM-1 and OXA-48 carbapenemases isolated in Morocco. *Acta Pathologica, Microbiologica ve Immunologica Scandinavica,* 121, 675-7.

Basker, M. J. (1982). The carbapenem family. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 10, 4–7.

Bassetti, M., Ginocchio, F. ve Mikulska, M. (2011). New treatment options against Gram-negative organisms. *Critical Care*, 15, 215.

Bedeni´c, B., Pleˇcko, V., Sardeli´c, S., Uzunovi´c, S. ve Torkar, K.G. (2014). Carbapenemases in Gram-negative bacteria: Laboratory detection and clinical significance. *BioMed Research International*, 841951.

Ben Nasr, A., Decré, D., Compain, F., Genel, N., Barguellil, F. ve Arlet, G. (2013). Emergence of NDM-1 in association with OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* from Tunisia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 57, 4089-90.

Benouda, A., Touzani, O., Khairallah, M. T., Araj, G. F. ve Matar, G. M. (2010). First detection of oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella*

pneumoniae from Morocco. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 104, 327-330.

Birgy, A., Doit, C., Mariani-Kurkdjian, P., Genel, N., Faye, A., Arlet, G. ve ark. (2011). Early detection of colonization by VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* and NDM-1-producing *Escherichia coli* in two children returning to France. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 3085-3087.

Bonfiglio, G., Russo, G. ve Nicoletti, G. (2002). Recent developments in carbapenems. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 11, 529–544.

Branch, C. L. ve ark. (1998). Novel C-2 substituted carbapenem derivatives. Part IV. Synthesis and biological activity of five membered heteroaromatic derivatives. *Journal of Antibiotics (Tokyo),* 51, 210–220.

Brown, A. G., ve ark. (1976). Naturally-occurring -lactamase inhibitors with antibacterial activity. *Journal of Antibiotics (Tokyo),* 29, 668–669.

Bush, K. (1998). Metallo-b-lactamases: a class apart. *Clinical Infectious Diseasees,* 27 Suppl 1, 48–53.

Bush, K. ve Fisher, J. F. (2010). Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new b-lactamases from gram-negative bacteria. *Annual Review of Microbiology,* 65, 455–478.

Bush, K. ve Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of b-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 969–976.

Butterworth, D., Cole, M., Hanscomb, G. ve Rolınson, G. (1979). Olivanic acids, a family of beta-lactam antibiotics with beta-lactamase inhibitory properties produced by Streptomyces species. I. Detection, properties and fermentation studies. *The Journal Of Antibiotics,* 32(4), 287-294.

Carlet, J., Jarlier, V., Harbarth, S., Voss, A., Goossens, H. ve Pittet, D. (2012). Participants of the 3rd World Healthcare-Associated Infections Forum. Ready for a world without antibiotics? The Pensières Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrobial Resistance & Infection Control,* 1, 11.

Carrer, A., Poirel, L., Eraksoy, H., Cagatay, A. A., Badur, S. ve Nordmann, P. (2008). Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, 2950-4.

Carrër, A., Poirel, L., Yilmaz, M., Akan, Ö. A., Feriha, C., Cuzon, G. ve ark. (2010). Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54: 1369–1373.

Chambers, H. F. (1999). Penicillin-binding protein mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *Journal of Infectious Diseases*, 179(Suppl 2), 353-9.

Chambers, H. F. (2000). *Penicillins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed.* Philadelphia: Churchill Livingstone, 261-74.

Cheng, Z., Thomas, P. W., Ju, L., Bergstrom, A., Mason, K., Clayton, D., ve ark. (2018). Evolution of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) in the clinic: Effects of NDM mutations on stability, zinc affinity, and mono-zinc activity. *Journal of Biological Chemistry*, 293, 12606–12618.

Chernow, B. (1999). Variables affecting outcome in critically ill patients. *Chest,* 115(5 Suppl), 71–76.

CLSI. (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th Edition. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th Edition. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI. (2021). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.* 31st Edition. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Codjoe, F. S. ve Donkor, E. S. (2017). Carbapenem resistance: A review. *Medical Sciences,* 6, 1.

Cole, M. (1980). 'Beta-Lactams' as beta-lactamase inhibitors. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289, 207–223.

Cornaglia, G., Giamarellou, H. ve Rossolini, G. M. (2011). Metallo-ß-lactamases: a last frontier for ß-lactams. *Lancet Infectious Diseases*, 11, 381-393.

Cornaglia, G., Mazzariol, A. ve Fontana, R. (2000). The astonishing complexity of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 6(3), 93-94.

Cprek, J. B. ve Gallagher, J. C. (2015). Ertapenem-containing double-carbapenem therapy for treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 60, 669–673.

Cryz, S. J., Fu¨rer, E., ve Germanier, R. (1984). Experimental *Klebsiella pneumoniae* burn wound sepsis: role of capsular polysaccharide. *Infection and Immunity,* 43, 440–441.

Cuzon, G., Naas, T., Bogaerts, P., Glupczynski, Y., Huang, T. D. ve Nordmann, P. (2008). Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(9), 3463–3464.

Cuzon, G., Naas, T., Demachy, M. C. ve Nordmann, P. (2008). Plasmid mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolate from Greece. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52, 796–7.

Cuzon, G., Naas, T., Demachy, M. C. ve Nordmann, P. (2012). Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* harbouring Bla(KPC-3) in France subsequent to a patient transfer from Italy. *International Journal of Antimicrobial Agents,* 39, 448–449.

Cuzon, G., Naas, T., Truong, H., Villegas, M. V., Wisell, K. T., Carmeli, Y. ve ark. (2010). Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce beta-lactamase blaKPC-2 gene. *Emerging İnfectious Diseases,* 16(9), 1349–1356.

Cuzon, G., Ouanich, J., Gondret, R., Naas, T. ve Nordmann, P. (2011). Outbreak of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 55, 2420- 2423.

Çoban, A. Ç. (2000). Yenidoğan Birimlerinde Nozokomiyal İnfeksiyonlar. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi,* 4, 5-15.

Dautzenberg, M. J., Ossewaarde, J. M., de Kraker, M. E., Vander Zee, A., van Burgh, S., de Greeff, S. C. ve ark. (2014) Successful control of a hospital-wide outbreak of

OXA-48 producing *Enterobacteriaceae* in the Netherlands, 2009 to 2011. *Eurosurveillance,* 19(9), 20723.

Davarci, I., Senbayrak, S., Aksaray, S., Kocoglu, M. E., Kuskucu, M. A. ve Samasti, M. (2019). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi*, 24(1), 1-7.

Di Carlo, P., Pantuso, G., Cusimano, A., D'Arpa, F., Giammanco, A., Gulotta, G. ve ark. (2011). Two cases of monomicrobial intraabdominal abscesses due to KPC--3 *Klebsiella pneumoniae* ST258 clone. *BMC Gastroenterology,* 11, 103.

Doi, Y. ve Paterson, D. L. (2015). Carbapenemase-producing E*nterobacteriaceae*. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine,* 36, 74–84.

Donowitz, L. G., Marsik, F. J., Fisher, K. A. ve Wenzel, R. P. (1981). Contaminated breast milk: A source of Klebsiella bacteremia in a newborn intensive care unit. *Reviews of Infectious Diseases,* 3(4), 716-20.

Doyle, D., Peirano, G., Lascols, C., Lloyd, T., Church, D. L. ve Pitout, J. D. (2012). Laboratory detection of *Enterobacteriaceae* that produce carbapenemases. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 3877-3880.

Drancourt, M., Bollet, C., Carta, A. ve Rousselier, P. (2001). Phylogenetic analyses of Klebsiella species delineate Klebsiella and Raoultella gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), 925-932.

Duman, Y., Ersoy, Y., Gursoy, N. C., Altunisik Toplu, S. ve Otlu, B. (2020). A silent outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* that co-produced NDM-1 and OXA-48 carbapenemases, and infection control measures. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences,* 23, 46-50.

Eickhoff, T. C. (1994). Airborne nosocomial infection: A contemporary perspective. *Infection Control & Hospital Epidemiology,* 15, 663-672.

Ellington, M. J., Kistler, J., Livermore, D.M. ve Woodford, N. (2007). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 59, 321-322.

Erdem, B. (1999). *"Enterobacteriaceae" Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Türkiye:* Güneş Kitabevi: 1. baskı, 471-515.

Erdem, F., Oncul, O. ve Aktas, Z. (2019). Characterization of Resistance Genes and Polymerase Chain Reaction-Based Replicon Typing in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial Drug Resistance,* 25(4), 551-557.

Evans, B. A. ve Amyes, S. OXA-Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews,* 27, 241–263.

Falcone, M., Tiseo, G., Galfo, V., Giordano, C., Leonildi, A., Marciano, E. ve ark.; Italian Group of Antimicrobial Stewardship (the GISA study group). (2022). Bloodstream infections in patients with rectal colonization by *Klebsiella pneumoniae* producing different type of carbapenemases: a prospective, cohort study (CHIMERA study). *Clinical Microbiology and Infection,* 28(2), 298.e1-298.e7.

Fontana, C., Favaro, M., Sarmati, L., Natoli, S., Altieri, A., Bossa, M. C. ve ark. (2010). Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. *BMC Research Notes,* 3, 40.

Fukasawa, M. ve ark. (1992). Stability of meropenem and effect of 1 -methyl substitution on its stability in the presence of renal dehydropeptidase I. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 36,* 1577–1579.

Gaibani, P., Ambretti, S., Berlingeri, A., Gelsomino, F., Bielli, A., Landini, M. P. ve ark. (2011). Rapid increase of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in a large Italian hospital: surveillance period 1 March - 30 September 2010. *Eurosurveillance,* 16(8), 19800.

Gaynes, R. P., Martone, W. J., Culver, D. H., Emori, T. G., Horan, T. C., Banerjee, S. N., ve ark. (1991). Comparison of rates of nosocomial infections in neonatal intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *The American Journal of Medicine,* 91, 3, 192-196.

Genç, S., Kolaylı, F. ve Özçelik, E. Y. (2022). 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. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 28(2), 192-198.

Ghaith, D. M., Zafer, M. M., Said, H. M., Elanwary, S., Elsaban, S., Al-Agamy, M. H. ve ark. (2020). Genetic diversity of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing neonatal sepsis in intensive care unit, Cairo, Egypt. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases,* 39(3), 583-591.

Ghuysen, J. M. (1994). Molecular structures of penicillinbinding proteins and beta-lactamases. *Trends in Microbiology,* 2, 372-80.

Giakkoupi, P., Xanthaki, A., Kanelopoulou, M., Vlahaki, A., Miriagou, V., Kontou, S. ve ark. (2003). VIM-1 Metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greek hospitals. *Journal of Clinical Microbiology,* 41(8), 3893–3896.

Giani, T., D'Andrea, M. M., Pecile, P., Borgianni, L., Nicoletti, P., Tonelli, F ve ark. (2009). Emergence in Italy of *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 producing KPC-3 carbapenemase. *Journal of Clinical Microbiology,* 47, 3793–4.

Giani, T., Pini, B., Arena, F., Conte, V., Bracco, S., Migliavacca, R. ve ark. (2013). Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: results of the first countrywide survey. *Eurosurveillance,* 18, 22.

Gil-Romero, Y., Sanz-Rodriguez, N., Almagro-Molto, M. ve GomezGarces, G. M. (2013). New description of a NDM-1 carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* carrier in Spain. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,* 31, 418-419.

Gniadek, T. J., Carroll, K. C. ve Simner, P. J. (2016). Carbapenem-Resistant Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Bacilli: the Missing Piece to the Puzzle. *Journal of Clinical Microbiology,* 54, 1700-1710.

Goldman, D. A. (1989). Prevention and management of neonatal infections. *Infectious Disease Clinics of North America,* 3, 779-813.

Graham, D. W. ve ark. (1987). Inhibition of the mammalian -lactamase renal dipeptidase (dehydropeptidase-I) by (Z)-2-(acylamino)-3-substituted-propenoic acids. *Journal of Medicinal Chemistry,* 30, 1074–1090.

Griffiths, E. (1987). *The iron-uptake systems of pathogenic bacteria, p. 69– 137. In J. J. Bullen and E. Griffiths (ed.), Iron and infection.* New York: John Wiley & Sons, Inc.

Griffiths, E., Chart, H. ve Stevenson, P. (1988). *High-affinity iron uptake systems and bacterial virulence, p. 121–137. In J. A. Roth (ed.), Virulence mechanisms of bacterial pathogens.* Washington, DC: American Society for Microbiology.

Guducuoglu, H., Gursoy, N. C., Yakupogullari, Y., Parlak, M., Karasin, G., Sunnetcioglu, M., ve ark. (2018). Hospital Outbreak of a Colistin-Resistant, NDM-1- and OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae*: High Mortality from Pandrug Resistance. *Microbial Drug Resistance,* 24, 966-972.

Gülay, Z. (1999). *Antimikrobiyal ilaçlara direnç. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.* Ankara: Günefl Kitabevi, 91-108.

Hammoudi, D., Moubareck, C. A. ve Sarkis, D. K. (2014). How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *Journal of Microbiological Methods,* 107, 106-18.

Hashihayata, T., Sakoh, H., Goto, Y., Hirose, M., Sakuraba, S., Imamura, H. ve ark. (2001). Diastereoselective synthesis of (2R,4R)-2-aryl4-hydroxypyrrolidine: preparation of the side chain of novel carbapenem. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, 49, 1500–1502.

Hashihayata, T., Sakoh, H., Goto, Y., Yamada, K. ve Morishima, H. (2002). Synthesis of the side chain of a novel carbapenem via iodine-mediated oxidative cyclization of (1R)-N-(1-aryl-3-butenyl)acetamide. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, 50, 423–425.

Hashizume, T., Ishino, F., Nakagawa, J., Tamaki, S. ve Matsuhashi, M. (1984). Studies on the mechanism of action of imipenem (N-formimidoylthienamycin) in vitro: binding to the penicillin-binding proteins (PBPs) in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and inhibition of enzyme activities due to the PBPs in E. coli. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 37, 394–400.

Hawkey, P. M. ve Livermore, D. M. (2012). Carbapenem antibiotics for serious infections. *British Medical Journal*, 344, e3236.

Hays, C., Benouda, A., Poirel, L., Elouennass, M. ve Nordmann, P. (2012). Nosocomial occurrence of OXA-48-producing enterobacterial isolates in a Moroccan hospital. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39, 545-547.

Hidron, A. I., Edwards, J. R., Patel, J., Horan, T. C., Sievert, D. M., Pollock, D. A. ve ark. (2008). NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology,* 29(11), 996–1011.

Hikida, M., Kawashima, K., Yoshida, M. ve Mitsuhashi, S. (1992). Inactivation of new carbapenem antibiotics by dehydropeptidase-I from porcine and human renal cortex. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 30, 129–134.

Hoxha, A., Kärki, T., Giambi, C., Montano, C., Sisto, A., Bella, A. ve ark. (2016). Attributable mortality of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in a prospective matched cohort study in Italy, 2012-2013. *Journal of Hospital Infection,* 92(1), 61-6.

Hoyos-Mallecot, Y., Riazzo, C., Miranda-Casas, C., Rojo-Martin, M. D., Gutierrez-Fernandez, J. ve Navarro-Mari, J. M. (2014). Rapid detection and identification of strains carrying carbapenemases directly from positive blood cultures using MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods,* 105, 98-101.

Hrabak, J., Chudackova, E. ve Papagiannitsis, C. C. (2014). Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clinical Microbiology and Infection,* 20, 839-853.

Hrabak, J., Studentova, V., Walkova, R., Zemlickova, H., Jakubu, V., Chudackova, E. ve ark. (2012). Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 2441-2443.

Hrabak, J., Walkova, R., Studentova, V., Chudackova, E. ve Bergerova, T. (2011). Carbapenemase activity detection by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 3222-3227.

Huang, T. D., Berhin, C., Bogaerts, P. ve Glupczynski, Y. (2014). Comparative evaluation of two chromogenic tests for rapid detection of carbapenemase in *Enterobacteriaceae* and in *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 52, 3060-3063.

Iraz, M., Özad Düzgün, A., Sandallı, C., Doymaz, M. Z., Akkoyunlu, Y., Saral, A. ve ark. (2015). Distribution of β-lactamase genes among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients in Turkey. *Annals of Laboratory Medicine*, *35*(6), 595–601.

Jacobson, K. L., Cohen, S. H., Inciardi, J. F., King, J. H., Lippert, W. E., Iglesias, T. ve ark. (1995). The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I beta-lactamase producing microorganisms. Clinical *Infectious Diseases,* 21, 1107-13.

Jafari, Z., Harati, A. A., Haeili, M., Kardan-Yamchi, J., Jafari, S., Jabalameli, F. ve ark. (2019). Molecular Epidemiology and Drug Resistance Pattern of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Iran. *Microbial Drug Resistance,* 25(3), 336-343.

Jawetz, E. (1987). *Penicillins and cehalosporins. In: Katzung BG (ed). Basic and Clinical Pharmacology. 3rd ed.* California: Appleton and Lange, 516-26.

Kaase, M., Szabados, F., Wassill, L. ve Gatermann, S. G. (2012). Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae* by a commercial multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 3115-3118.

Kahan, J. S. ve ark. (1979). Thienamycin, a new -lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 32, 1–12.

Kang, Y. K. ve ark. (2003). Synthesis and biological evaluation of novel 1 -methylcarbapenems with isothiazoloethenyl side chains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 463–466.

Kassis-Chikhani, N., Decré, D., Gautier, V., Burghoffer, B., Saliba, F., Mathieu, D. ve ark. (2006). First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 57(1), 142-5.

Kauffmann, F. (1949). On the serology of the Klebsiella group. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica,* 26, 381–406.

Khan, H. A., Baig, F. K. ve Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* 7(5), 478–482.

Khimji, P. L. ve Miles, A. A. (1978). Microbial iron-chelators and their action on Klebsiella infections in the skin of guinea-pigs. *British Journal of Experimental Pathology,* 59, 137–147.

Kilic, A. ve Baysallar, M. (2015). The First *Klebsiella pneumoniae* Isolate Co-Producing OXA-48 and NDM-1 in Turkey. *Annals of Laboratory Medicine*, 35(3), 382-3.

Klevens, R. M., Edwards, J. R. ve Richards, C. L. (2007). Estimating health careassociated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Reports,* 122(2), 160–166.

Klynveld Peat Marwick Goerdeler (KPMG) LLP. (2014). *The Global Economic Impact of Anti-Microbial Resistance. L*ondon, UK. Erişim: 12.12.2017, https://home.kpmg.com/content/dam/kpmg/pdf/2014/ 12/amr-report-final.pdf

Koh, T. H., Sng, L. H., Babini, G. S., Woodford, N., Livermore, D. M. ve Hall, L. M. (2001). Carbapenemresistant *Klebsiella pnuemoniae* in Singapore producing IMP-1 beta-lactamase and lacking an outer membrane protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 45(6), 1939–1940.

Koneman, E. W ve Procop, G. W. (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th Edition. Tablo 6-16.* Wolters Kluwer.

Koser, C. U., Ellington, M. J. ve Peacock, S. J. (2014). Whole-genome sequencing to control antimicrobial resistance. *Trends in Genetics*, 30, 401-407.

Koser, C. U., Holden, M. T., Ellington, M. J., Cartwright, E. J., Brown, N. M., Ogilvy-Stuart, A. L. ve ark. (2012). Rapid whole-genome sequencing for investigation of a neonatal MRSA outbreak. *New England Journal of Medicine,* 366, 2267-2275.

Kropp, H. ve ark. (1976). *Abstr. 16th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., abstr. 228.* American Society for Microbiology, Washington, DC.

Kropp, H., Sundelof, J. G., Kahan, J. S., Kahan, F. M. ve Birnbaum, J. (1979). *Abstr. 19th Intersci. Conf Antimicrob. Agents Chemother., abstr. 231*. American Society for Microbiology, Washington, DC.

Kruse, E. B., Aurbach, U. ve Wisplinghoff, H. (2013). Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: Laboratory Detection and Infection Control Practices. *Current Infectious Disease Reports* 2013.

Ktari, S., Mnif, B., Louati, F., Rekik, S., Mezghani, S., Mahjoubi, F. ve ark. (2011). Spread of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 beta-lactamase in a Tunisian university hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 1644-1646.

Kumar, P. (2017). *Pharmacology of specific drug groups. In Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*; Dowd, F.J., Johnson, B.S., Mariotti, A.J., Eds. Elsevier Canada: Milton, ON Canada, 457–487.

Kumar, S., Vyas, A. ve Mehra, S. K. (2015). Utilization of MacConkey-Meropenem screening Agar for the Detection of Carbapenem Resistanant Enterobacteriaceae in a Tertiary Care Hospital. *SSRG International Journal of Medical Science*, 2(4), 1-5.

Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R. ve ark. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infectious Diseases*, 10, 597-602.

Labarca, J., Poirel, L., Ozdamar, M., Turkoglü, S., Hakko, E. ve Nordmann, P. (2014). KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes and New Infections*, 2(2), 50-51.

Langford, B. J., So, M., Raybardhan, S., Leung, V., Westwood, D., MacFadden, D. R. ve ark. (2020). Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: A living rapid review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, 26, 1622–1629.

Lansbury, L., Lim, B., Baskaran, V. ve Lim, S. W. (2020). Co-infections in people with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection*, 81, 266–275.

Lartigue, M. F., Poirel, L. ve Nordmann, P. (2004). First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in an Enterobacteriaceae isolate in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 4929–4930.

Lauretti, L., Riccio, M. L., Mazzariol, A., Cornaglia, G., Amicosante, G., Fontana, R. ve ark. (1999). Cloning and characterization of BlaVIM, a new integron-borne metallobeta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, 1584–1590.

Lee, N. L. S., Yuen, K. Y. ve Kumana, C. R. (2001). ß-lactam antibiotic and ß-lactamase inhibitor combinations. *JAMA*, 285, 386-388.

Li, B., Xu, X. H., Zhao, Z. C., Wang, M. H. ve Cao, Y. P. (2014). High prevalence of metallo-beta-lactamase among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in China. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(10), 691–695.

Limbago, B. M., Rasheed, J. K., Anderson, K. F., Zhu, W., Kitchel, B., Watz, N. ve ark. (2011). IMP-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States. Journal of Clinical Microbiology, 49(12), 4239–4245.

Ling, M. L., Tee, Y. M., Tan, S. G., Amin, I. M., How, K. B., Tan, K. Y. ve ark. (2015). Risk factors for acquisition of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* in an acute tertiary care hospital in Singapore. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 4(1), 26.

Livermore, D. M. (1997). ß-lactamases: Quantitiy and resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 3(4), 10-19.

Livermore, D. M., Sefton, A. M. ve Scott, G. M. (2003). Properties and potential of ertapenem. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(3), 331-344.

Livermore, D. M., Warner, M., Mushtaq, S., Doumith, M., Zhang, J. ve Woodford, N. (2011). What remains against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(5), 415-9.

Lledo, W., Hernandez, M., Lopez, E. ve ark. (2009). Guidance for control of infections with carbapenemresistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. *Morbidity Mortal Weekly Reports*, 58, 256-258.

Logan, L. K., ve Weinstein, R. A. (2017). The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae:* The Impact and Evolution of a Global Menace. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(1), 28–36.

Lutgring, J. D. ve Limbago, B. M. (2016). The Problem of Carbapenemase Producing-Carbapenem-Resistant-*Enterobacteriaceae* Detection. *Journal of Clinical Microbiology*, 54, 529-534.

Maltezou, H. C., Giakkoupi, P., Maragos, A., Bolikas, M., Raftopoulos, V., Papahatzaki, H. ve ark. (2009). Outbreak of infections due to KPC-2- producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Crete (Greece). *Journal of Infection*, 58(3), 213–219.

Mammeri, H., Guillon, H., Eb, F. ve Nordmann, P. (2010). Phenotypic and biochemical comparison of the carbapenem hydrolyzing activity of five plasmid-borne AmpC -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 54, 4556–4560.

Mammeri, H., Nordmann, P., Berkani, A. ve Eb, F. (2008). Contribution of extended-spectrum AmpC (ESAC) -lactamases to carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters,* 282, 238–240.

Mandell, L. (2009). Doripenem: A new carbapenem in the treatment of nosocomial infection. *Clinical Infectious Diseases,* 49, 1–3.

Matar, G. M., Cuzon, G., Araj, G. F., Naas, T., Corkill, J., Kattar, M. M. ve ark. Oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* from Lebanon. *Clinical Microbiology and Infection,* 14(9), 887-888.

Matar, G. M., Dandache, I., Carrër, A., Khairallah, M. T., Nordmann, P., Sabra, A. ve ark. (2010). Spread of OXA-48-mediated resistance to carbapenems in Lebanese *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* that produce extended spectrum beta-lactamase. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology,* 104(3), 271-4.

McDermid, R. C., Stelfox, H. T. ve Bagshaw, S. M. (2011). Frailty in the critically ill: a novel concept. *Critical Care,* 15(1), 301.

Miriagou, V., Tzelepi, E., Kotsakis, S. D., Daikos, G. L., Bou Casals, J. ve Tzouvelekis, L. S. (2013). Combined disc methods for the detection of KPC- and/or VIM-positive Klebsiella *pneumoniae*: improving reliability for the double carbapenemase producers. *Clinical Microbiology and Infection,* 19, 412-415.

Mizuta, K., Ohta, M., Mori, M., Hasegawa, T., Nakashima, I. ve Kato, N. (1983). Virulence for mice of Klebsiella strains belonging to the O1 group: relationship to their capsule (K) types. *Infection and Immunity,* 40, 56–61.

Moquet, O., Bouchiat, C., Kinana, A., Seck, A., Arouna, O., Bercion, R. ve ark. (2011). Class D OXA-48 carbapenemase in multidrug-resistant enterobacteria, Senegal. *Emerging Infectious Diseases,* 17(1), 143–144.

Moro, M. L., De Toni, A., Stolfi, I., Carrieri, M. P., Braga, M. ve Zunin, C. (1996). Risk factors for nosocomial sepsis in newborn intensive and intermediate care units. *European Journal of Pediatrics,* 155, 315-22.

Mouton, J. W., Touzw, D. J., Horrevorts, A. M. ve Vinks, A. A. (2000). Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: Clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics,* 39, 185–201.

Moyane, J. N., Jideani, A. I. O. ve Aiyegoro, O. A. (2013). Antibiotics usage in food-producing animals in South Africa and impact on human: Antibiotic resistance. *African Journal of Microbiology Research,* 7, 2990–2997.

Munoz-Price, L. S., Poirel, L., Bonomo, R. A., Schwaber, M. J., Daikos, G. L., Cormican, M. ve ark. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infectious Diseases,* 13, 785-796.

Naas, T. ve Nordmann, P. (1994). Analysis of a Carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from Enterobacter cloacae and of its LysR-type regulatory protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 91, 7693–7697.

Naas, T., Nordmann, P., Vedel, G. ve Poyart, C. (2005). Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 49, 4423–4424.

Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K. ve Carattoli, A. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3), 252–75.

Neog, N., Phukan, U., Puzari, M., Sharma, M. ve Chetia, P. (2021). *Klebsiella oxytoca* and Emerging Nosocomial Infections. *Current Microbiology*, 78(4), 1115-1123.

Nijhuis, R., Samuelsen, O., Savelkoul, P. ve van Zwet, A. (2013). Evaluation of a new real-time PCR assay (Check-Direct CPE) for rapid detection of KPC, OXA-48, VIM, and NDM carbapenemases using spiked rectal swabs. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease,* 77, 316-320.

Nikaido H. (2000). Crossing the envelope; how cephalosporins reach their targets. *Clinical Microbiology and Infection,* 6(3), 22-26.

Nordmann P. (2014). Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: overview of a major public health challenge. *Med Mal Infect*, 44, 51-56.

Nordmann, P., Cuzon, G. ve Naas, T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infectious Diseases*, 9, 228–236.

Nordmann, P., Girlich, D. ve Poirel, L. (2012). Detection of carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae* by use of a novel screening medium. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 2761-2766.

Nordmann, P., Gniadkowski, M., Giske, C. G., Poirel, L., Woodford, N. ve Miriagou, V., European Network on Carbapenemases. (2012). Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(5), 432-438.

Nordmann, P., Naas, T. ve Poirel, L. (2011). Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae. Emerging Infectious Diseases*, 17, 1791-1798.

Norrby, S. R. (1995). Carbapenems. *Medical Clinics of North America*, 79(4), 745-59.

Norrby, S. R., Alestig, K., Björnegård, B., Burman, L. A., Ferber, F., Huber, J. L. ve ark. (1983). Urinary recovery of N-formimidoyl thienamycin (MK0787) as affected by coadministration of N-formimidoyl thienamycin dehydropeptidase inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 23(2), 300-307.

Ofek, I. ve Doyle, R. J. (1994). *Bacterial adhesion to cells and tissues.* Chapman & Hall, Ltd., London, United Kingdom.

Oliva, A., Gizzi, F., Mascellino, M. T., Cipolla, A., D'Abramo, A., D'Agostino, C. ve ark. (2016). Bactericidal and synergistic activity of double-carbapenem regimen for infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 147-153.

Oliver, A., Levin, B. R., Juan, C., Baquero, F. ve Blazquez, J. (2004). Hypermutation and the preexistence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants: Implications for susceptibility testing and treatment of chronic infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 48, 4226–4233.

Olson, B., Weinstein, R. A., Nathan, C., Chamberlin, W. ve Kabins, S. A. (1984). Epidemiology of endemic *Pseudomonas aeruginosa*: Why infection control efforts have failed. *Journal of Infectious Diseases,* 150, 808-16.

Osano, E., Arakawa, Y., Wacharotayankun, R., Ohta, M., Horii, T., Ito, H. ve ark. (1994). Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 38(1), 71–78.

Oteo, J., Domingo-García, D., Fernández-Romero, S., Saez, D., Guiu, A., Cuevas, O. ve ark. (2012). Abdominal abscess due to NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Journal of Medical Microbiology,* 61(6), 864-867.

Oteo, J., Hernández, J. M., Espasa, M., Fleites, A., Sáez, D., Bautista, V. ve ark. (2013). Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(2), 317-21.

Paczosa, M. K ve Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–61.

Papagiannitsis, C. C., Studentova, V., Izdebski, R., Oikonomou, O., Pfeifer, Y., Petinaki, E. ve ark. (2015). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry meropenem hydrolysis assay with NH4HCO3, a reliable tool for direct detection of carbapenemase activity. *Journal of Clinical Microbiology,* 53, 1731-1735.

Patel, J. B., Rasheed, J. K. ve Kitchel, B. (2009). Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Activity, epidemiology and laboratory detection. *Clinical Microbiology Newsletter,* 31, 55–62.

Paveenkittiporn, W., Lyman, M., Biedron, C., Chea, N., Bunthi, C., Kolwaite, A. ve ark. (2021). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacterales in Thailand, 2016-2018. *Antimicrobial Resistance & Infection Control,* 10(1), 88.

Perez, F., El Chakhtoura, N. G., Papp-Wallace, K. M., Wilson, B. M. ve Bonomo, R. A. (2016). Treatment options for infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: can we apply "precision medicine" to antimicrobial chemotherapy?. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(6), 761–781.

Pfeifer, Y., Cullik, A. ve Witte, W. (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *International Journal of Medical Microbiology,* 300, 371–379.

Pirš, M., Andlovic, A., Cerar, T., Žohar-Čretnik, T., Kobola, L., Kolman, J. ve ark. (2011). A case of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a patient transferred to Slovenia from Libya, November 2011. *Eurosurveillance,* 16(50), 20042.

Pitout, J. D. (2008). Multiresistant *Enterobacteriaceae*: a new threat of an old problem. *Expert Review of Anti-infective Therapy,* 6, 657-669.

Podschun, R. ve Ullmann, U. (1998). *Klebsiella spp*. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews,* 11(4), 589-603.

Poirel, L., Benouda, A., Hays, C. ve Nordmann, P. (2011). Emergence of NDM1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Morocco. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 2781-2783.

Poirel, L., Heritier, C., Tolun, V. ve Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 48, 15–22.

Poirel, L., Kieffer, N. ve Nordmann, P. (2016). In vitro evaluation of dual carbapenem combinations against carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 71, 156–161.

Poirel, L., Naas, T. ve Nordmann, P. (2010). Diversity, epidemiology, and genetics of class D ß-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 54, 24-38.

Poirel, L., Naas, T., Nicolas, D., Collet, L., Bellais, S., Cavallo, J. D. ve ark. (2000). Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 44(4), 891-897.

Poirel, L., Özdamar, M., Ocampo-Sosa, A. A., Türkoglu, S., Ozer, U. G. ve Nordmann, P. (2012). NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 56(5), 2784-2785.

Poirel, L., Pitout, J. D. ve Nordmann, P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiology,* 2, 501–12.

Poirel, L., Potron, A. ve Nordmann, P. (2012). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67, 1597-1606.

Poirel, L., Ros, A., Carrër, A., Fortineau, N., Carricajo, A., Berthelot, P. ve ark. (2011). Cross-border transmission of OXA-48-producing Enterobacter cloacae from Morocco to France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 1181–1182.

Poirel, L., Walsh, T. R., Cuvillier, V. ve Nordmann, P. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70, 119-123.

Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 20–51.

Potron, A., Poirel, L., Rondinaud, E. ve Nordmann, P. (2013). Intercontinental spread ofOXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance,* 18, 31.

Queenan, A. M. ve Bush, K. (2007). Carbapenemases: The versatile β-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews,* 20, 440–458.

Queenan, A. M., Shang, W., Flamm, R. ve Bush, K. (2010). Hydrolysis and inhibition profiles of β-lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 54, 565–569.

Reading, C. ve Farmer, T. (1984). The inhibition of periplasmic beta-lactamase in *Escherichia coli* by clavulanic acid and other beta-lactamase inhibitors. McGraw-Hill: New York, NY.

Restrepo, M. I. (2009). Efficacy of intravenous infusion of doripenem. *Clinical Infectious Diseases,* 49(1), 17-27.

Revelas, A. (2012). Healthcare - associated infections: A public health problem. *Nigerian Medical Journal,* 53(2), 59–64.

Richter, S. S. ve Marchaim, D. (2017). Screening for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae:* Who, When, and How? *Virulence,* 8, 417-426.

Rolinson, G. N. (1991). Evolution of beta-lactamase inhibitors. *Reviews of Infectious Diseases,* 13(9), 727–732.

Ruiz, J., Gordon, M., Villarreal, E., Frasquet, J., Sánchez, M. Á., Martín, M. ve ark. (2019). Influence of antibiotic pressure on multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* colonisation in critically ill patients. *Antimicrobial Resistance & Infection Control,* 8, 38.

Samra, Z., Ofir, O., Lishtzinsky, Y., Madar-Shapiro, L. ve Bishara, J. (2007). Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel. *International Journal of Antimicrobial Agents,* 30(6), 525-529.

Seiffert, S. N., Marschall, J., Perreten, V., Carattoli, A., Furrer, H. ve Endimiani, A. (2014). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-1, OXA-48, CTX-M-15, CMY-16, QnrA and ArmA in Switzerland. *International Journal of Antimicrobial Agents,* 44, 260-262.

Selden, R., Lee, S., Wang, W. L., Bennett, J. V. ve Eickhof, T. C. (1971). Nosocomial Klebsiella infections: intestinal colonization as a reservoir. *Annals of Internal Medicine,* 74(5), 657–664.

Senda, K., Arakawa, Y., Ichiyama, S., Nakashima, K., Ito, H., Ohsuka, S. ve ark. (1996). PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (blaIMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. *Journal of Clinical Microbiology,* 34(12), 2909-2913.

Shah, P. M. ve Isaacs, R. D. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. (2003). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 52(4), 538-542.

Shin, K. J. ve ark. (1998). Synthesis and biological properties of new 1 - methylcarbapenems. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 8, 1607–1612.

Sievert, D. M., Ricks, P., Edwards, J. R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A. ve ark. National Healthcare Safety Network (NHSN) Team and Participating NHSN Facilities. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infection Control & Hospital Epidemiology,* 34(1), 1-14.

Snitkin, E. S., Zelazny, A. M., Thomas, P. J., Stock, F., Group NCSP, Henderson, D. K. ve ark. (2012). Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with wholegenome sequencing. *Science Translational Medicine,* 4, 148ra116.

Solgi, H., Shahcheraghi, F., Bolourchi, N. ve Ahmadi, A. (2020). Molecular characterization of carbapenem-resistant serotype K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST11 harbouring blaNDM-1 and blaOXA-48 carbapenemases in Iran. *Microbial Pathogenesis,* 149, 104507.

Souli, M., Galani, I. ve Giamarellou, H. (2008). Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram- negative bacilli in Europe. *Eurosurveill,* 13, 19045.

Spyropoulou, A., Papadimitriou-Olivgeris, M., Bartzavali, C., Vamvakopoulou, S., Marangos, M., Spiliopoulou, I. ve ark. (2016). A ten-year surveillance study of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in a tertiary care Greek university hospital: predominance of KPC- over VIM- or NDM-producing isolates. *Journal of Medical Microbiology,* 65(3), 240-246.

Sumita, Y. ve Fukasawa, M. (1995). Potent activity of meropenem against *Escherichia coli* arising from its simultaneous binding to penicillin-binding proteins 2 and 3. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 36, 53–64.

Sunagawa, M. ve ark. (1994). Novel quaternary ammonium carbapenems: 1 -methyl-2-(5 -substituted pyrrolidinylthio) carbapenems. *Journal of Antibiotics (Tokyo),* 47, 1337–1340.

Süzük Yıldız, S., Şimşek, H., Bakkaloğlu, Z., Numanoğlu Çevik, Y., Hekimoğlu, C. H., Kılıç, S. ve ark. (2021). Türkiye'de 2019 yılı içinde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz epidemiyolojisi. *Mikrobiyoloji Bülteni,* 55(1), 1-16.

Tekintaş, Y., Çilli, F., Eraç, B., Yaşar, M., Aydemir, S. Ş. ve Hoşgör Limoncu, M. (2017). Klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında Karbapenemaz üretiminin Saptanmasında polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Fenotipik Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bulteni,* 51(3), 269–276.

Temkin, E., Adler, A., Lerner, A. ve Carmeli, Y. (2014). Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae:* biology, epidemiology and management. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 1323, 22-42.

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2022). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 12.0, 2022 EUCAST.*

Tijet, N., Patel, S. N. ve Melano, R. G. (2016). Detection of carbapenemase activity in *Enterobacteriaceae*: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 71, 74-276.

Tsakris, A., Poulou, A., Bogaerts, P., Dimitroulia, E., Pournaras, S. ve Glupczynski, Y. (2015). Evaluation of a new phenotypic OXA-48 disk test for differentiation of OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology,* 53, 1245-1251.

Tsakris, A., Poulou, A., Pournaras, S., Voulgari, E., Vrioni, G., Themeli-Digalaki, K. ve ark. (2010). A simple phenotypic method for the differentiation of metallo-beta-lactamases and class A KPC carbapenemases in *Enterobacteriaceae* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 65, 1664-1671.

Tumbarello, M., Trecarichi, E. M., De Rosa, F. G., Giannella, M., Giacobbe, D. R., Bassetti, M. ve ark. (2015). Infections caused by KPCproducing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,* 70, 2133–2143.

Tumbarello, M., Viale, P., Viscoli, C., Trecarichi, E. M., Tumietto, F., Marchese, A. ve ark. (2012). Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing K. pneumoniae: importance of combination therapy. *Clinical Infectious Diseases,* 55(7), 943-50.

Tzouvelekis, L. S., Markogiannakis, A., Piperaki, E., Souli, M. ve Daikos, G. L. (2014). Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae. Clinical Microbiology and Infection,* 20(9), 862-872.

Vading, M., Samuelsen, Ø., Haldorsen, B., Sundsfjord, A. S. ve Giske, C. G. (2011). Comparison of disk diffusion, Etest and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. *Clinical Microbiology and Infection,* 17, 668-674.

Van Dam, V., Olrichs, N. ve Breukink, E. (2009). Specific labeling of peptidoglycan precursors as a tool for bacterial cell wall studies. *Chembiochem,* 10, 617–624.

van der Zee, A., Roorda, L., Bosman, G., Fluit, A. C., Hermans, M., Smits, P. H. ve ark. Multi-centre evaluation of real-time multiplex PCR for detection of carbapenemase genes OXA-48, VIM, IMP, NDM and KPC. (2014). *BMC Infectious Diseases,* 14, 27.

van der Zwaluw, K., de Haan, A., Pluister, G. N., Bootsma, H. J., de Neeling, A. J. ve Schouls, L. M. (2015). The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PloS one,* 10: e0123690.

van Dijk, K., Voets, G. M., Scharringa, J., Voskuil, S., Fluit, A. C., Rottier, W. C. ve ark. (2014). A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in *Enterobacteriaceae* using phenyl boronic acid, dipicolinic acid and temocillin. *Clinical Microbiology and Infection,* 20, 345-349.

Viau, R., Frank, K. M., Jacobs, M. R., Wilson, B., Kaye, K., Donskey, C. J. ve ark. (2016). Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. *Clinical Microbiology Reviews*, 29, 1-27.

Voulgari, E., Zarkotou, O., Ranellou, K., Karageorgopoulos, D. E., Vrioni, G., Mamali, V. ve ark. (2013). Outbreak of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece involving an ST11 clone. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68, 84- 88.

Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 406, 775–781.

Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J. ve ark. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 37(11), 1288–1301.

Wiegand, I., Hilpert, K. ve Hancock, R. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3, 163–175.

Wilkinson, K. M., Winstanley, T. G., Lanyon, C., Cummings, S. P., Raza, M. W. ve Perry, J.D. (2012). Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae. Journal of Clinical Microbiology*, 50, 3102-3104.

Williams, P., Lambert, P. A., Brown, M. R. W. ve Jones, R. J. (1983). The role of the O and K antigens in determining the resistance of *Klebsiella aerogenes* to serum killing and phagocytosis. *Journal of General Microbiology*, 129, 2181– 2191.

Yamada, K., Kashiwa, M., Arai, K., Nagano, N. ve Saito, R. (2016). Comparison of the Modified-Hodge test, Carba NP test, and carbapenem inactivation method as screening methods for carbapenemaseproducing *Enterobacteriaceae. Journal of Microbiological Methods*, 128, 48-51.

Yan, J. J., Ko, W. C., Tsai, S. H., Wu, H. M. ve Wu, J. J. (2001). Outbreak of infection with multidrugresistant *Klebsiella pneumoniae* carrying bla(IMP-8) in a University Medical Center in Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(12), 4433–4439.

Yaşar-Duman, M. ve Çilli, F. F. (2021). Investigation of the presence of carbapenemases in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains by MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) and comparison with real-time PCR method. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 39(3), 300-305.

Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J. W. ve Steward, C. D. ve ark. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 1151–1161.

Yokochi, T., Nakashima, I. ve Kato, N. (1977). Effect of capsular polysaccharide of Klebsiella pneumoniae on the differentiation and functional capacity of macrophages cultured in vitro. *Microbiology and Immunology*, 21, 601–610.

Yokochi, T., Nakashima, I. ve Kato, N. (1979). Further studies on generation of macrophages in in vitro cultures of *mouse spleen cells and its inhibition by the capsular polysaccharide of Klebsiella* pneumoniae. *Microbiology and Immunology*, 23, 487–499.

Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K. ve ark. (2009). Characterization of a new metallo-betalactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(12), 5046–5054.

Zaman, T. U., Alrodayyan, M., Albladi, M., Aldrees, M., Siddique, M. I., Aljohani, S. ve ark. (2018). Clonal diversity and genetic profiling of antibiotic resistance among multidrug/carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 205.

Zarakolu, P., Day, K. M., Sidjabat, H. E., Kamolvit, W., Lanyon, C. V., Cummings, S. P. ve ark. (2015). Evaluation of a new chromogenic medium, chromID OXA-48, for recovery of carbapenemaseproducing *Enterobacteriaceae* from patients at a university hospital in Turkey. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34, 519-525.

Zarakolu, P., Eser, Ö. K., Otlu, B., Gürpınar, Ö., Özakın, C., Akalın, H. ve ark. (2021). 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. *Journal of Chemotherapy*, 8, 1-6.

Zhanel, G. G., Johanson, C., Embil, J. M., Noreddin, A., Gin, A., Vercaigne, L. ve ark. (2005). Ertapenem: review of a new carbapenem. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 3(1), 23-39.

Zhanel, G. G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D.J. ve ark. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67, 1027–1052.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KARBAPENEME FENOTİPİK OLARAK DİRENÇLİ SAPTANAN KLEBSİELLA SPP. SUŞLARINDA MULTİPLEKS PCR ILE KARBAPENEM DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yazar Hati□ce Kübra Demi□r

Gönderim Tarihi: 04-Mar-2022 01:46PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1776302733
Dosya adı: ltipleks_PCR_ile_karbapenem_direnc_genlerinin_aras_t_r_lmas.pdf (1.93M)
Kelime sayısı: 23139
Karakter sayısı: 152171

KARBAPENEMEME FENOTİPİK OLARAK DİRENÇLİ SAPTANAN KLEBSİELLA SPP. SUŞLARINDA MULTİPLEKS PCR ILE KARBAPENEM DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%12	%11	%5	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%3
2	klimud2015.org İnternet Kaynağı	%1
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<%1
4	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	jag.journalagent.com İnternet Kaynağı	<%1
6	www.mikrobiyolbul.org İnternet Kaynağı	<%1
7	abis-files.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	d-nb.info İnternet Kaynağı	<%1
	hdl.handle.net	