

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Serratia marcescens*
SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-
LAKTAMAZ VE KİNOLON DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi
Dr. Serranur ALTUN SARP

TRABZON-2024

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Serratia marcescens*
SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-
LAKTAMAZ VE KİNOLON DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzmanlık Tezi

Dr. Serranur ALTUN SARP

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

TRABZON-2024

ÖNSÖZ

Öncelikle tez sürecinde ve uzmanlık eğitiminde desteğini eksik etmeyen, bilgisiyle bana ışık tutan değerli tez hocam Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ'a;

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki hocalarıma uzmanlık eğitimime ve her türlü problemime her zaman destek verdikleri için, Prof. Dr. Faruk AYDIN'a, Prof. Dr. Neşe KAKLIKKAYA'ya, Prof. Dr. İlknur TOSUN'a, Prof. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU'na, Prof. Dr. C. Kurtuluş BURUK'a, Doç. Dr. Esra ÖZKAYA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Metin SANCAKTAR'a;

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda görev yapan asistan hekim arkadaşlarım ve tüm personel ekibimize;

Tez çalışmamda projemde bulunan yardımlarını hiç eksik etmeyen Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ'e ve Dr. Ahu REİS'e;

Tez çalışmamı Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ yönetiminde TTU-2023-10602 proje kodlu çalışmamı destekleyen KTÜ Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne;

Birbirinden değerli hayatımdaki tüm dostlarıma ve çok sevdiğim aileme;

Bugün burada olmamı sağlayan sevgili annem Ayşe ALTUN'a, babam Op. Dr. Muammer ALTUN'a, abime ve eşimle beraber hayatıma giren aileme;

Sevgili eşim, hayat ortağım, yol arkadaşım Uzm. Dr. Mustafa Erdem SARP'a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi), Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2018- Aralık 2022 tarihlerinde klinik örneklerden izole edilmiş *Serratia marcescens* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretiminin, kinolon direnç mekanizmalarının araştırılması ve plazmit aracılı direnç yayılım mekanizmasının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmadaki *S. marcescens* suşlarının tür düzeyinde tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF) (Bruker, Almanya) ile yapılmıştır. Bu yöntemlere ilave olarak S-adenosylhomocysteine nucleosidase (*pfs*) ve S-ribosylhomocysteinase (*luxS*) genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile bakılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri otomatize sistem ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Seftazidim ve/veya sefotaksim duyarlı bulunmayan suşlara GSBL üretimi sefepim/sefepim-klavulanat strip testi saptanmış ve beta-laktamaz genlerinden *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}* ve *bla_{OXA}*'nın varlığı PZR yöntemi ile araştırılmıştır. GSBL genleri içeren suşlara konjugasyon deneyleri yapılmıştır. Siprofloksasin ve/veya levofloksasin duyarlı bulunmayan suşlarda plazmit aracılı kinolon direnci PZR yöntemi ile *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac(6')-Ib* genlerinin taranması ile gösterilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen tüm *S. marcescens* suşlarının *pfs* ve *luxS* genleri pozitif bulunmuştur. Seftazidim ve/veya sefotaksim duyarlı bulunmayan suşlarda, gradiyent strip test ile GSBL üretimi bir suшта saptanmışken suşların %9,3'ünde (n=4) *bla_{TEM}*, %4,7'ünde (n=2) *bla_{SHV}*, %2,3'ünde (n=1) *bla_{CTX-M}* bulunmuştur. Hiçbir suшта *bla_{OXA}* geni saptanmamıştır. Hiçbir suшта konjugatif plazmit belirlenememiştir. Kinolona duyarlı olmayan suşların %2,3'ünde (n=1) *qnrA*, %7'sinde (n=3) *qnrS* ve %4,7'sinde (n=2) *aac(6')-Ib* genleri bulunmuştur. *qnrB* ve *qepA* genleri hiçbir suшта saptanmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak çalışmamız bölgemizdeki *S. marcescens*'lerin GSBL üretimini, kinolon direnç mekanizmalarına dair epidemiyolojik veri sunarak hem ulusal antimikrobiyal direnç araştırmalarına hem de ampirik tedavi protokollerinin belirlenmesine ışık tutmaktadır.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate the ESBL production and sensitivity to quinolone group antibiotics and to demonstrate the mechanism of plasmid-mediated resistance spread of *Serratia marcescens* strains isolated from clinical samples at Karadeniz Technical University Medical Microbiology Laboratory between January 2018 and December 2022.

Materials and Methods: In this study *S. marcescens* isolates were identified by conventional methods and matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) (Bruker, Germany). In addition to these methods, S-adenosylhomocysteine nucleosidase (*pfs*) and S-ribosylhomocysteinase (*luxS*) genes were screened by the polymerase chain reaction (PCR). Antimicrobial susceptibility testing was determined using an automated system and disc diffusion method. ESBL production in isolates that were not sensitive to ceftazidime and/or cefotaxime was determined by cefepime/cefepime + clavulanate strip test and *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} and *bla*_{OXA} genes were screened by PCR. Conjugation experiments were performed ESBL positive strains. Plasmid-mediated quinolone resistance genes, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac*-(6')-Ib and *qepA* were screened by PCR in strains that were not sensitive to ciprofloxacin and/or levofloxacin.

Results: *pfs* and *luxS* genes were positive in all *S. marcescens*. In strains that were not sensitive to ceftazidime and/or cefotaxime, ESBL production was detected in one strain by gradient strip test and 9.3% (n=4) *bla*_{TEM}, 4.7% (n=2) *bla*_{SHV}, 2.3% (n=1) *bla*_{CTX-M}. No *bla*_{OXA} positive strains were found. No conjugative plasmid was detected in any ESBL producer strains. 2.3% (n=1) *qnrA*, 7% (n=3) *qnrS* and 4.7% (n=2) *aac*-(6')-Ib genes were found in not sensitive to ciprofloxacin and/or levofloxacin strains. No *qnrB* and *qepA* positive strains were found.

Conclusion: As a result, this study provides epidemiological data on ESBL production of *S. marcescens* in our region and quinolone resistance mechanisms, leading to both national antimicrobial resistance research and the determination of empirical treatment protocols.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Serratia marcescens</i>	2
2.2. <i>Serratia marcescens</i> Özellikleri ve Tanımlanması	2
2.3. <i>Serratia marcescens</i> Enfeksiyonları	3
2.4. <i>Serratia marcescens</i> 'te Antimikrobiyal Direnç	4
2.5. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	5
2.5.1. Beta Laktam Grubu Antibiyotik Direnci	5
2.5.2. Kinolon Direnci	8
2.6. Yatay Gen Transferi	11
2.6.1. Plazmit Aracılı Yatay Gen Transferi (Konjugasyon)	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1. Etik Kurul Onayı	14
3.2. Çalışmanın Özellikleri	14
3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar	14
3.2.2. Çalışmaya Dahil Edilme/Edilmeme Ölçütleri	14
3.3. <i>Serratia marcescens</i> Suşlarının İdentifikasyonu, Üretimi ve Saklanması	15

3.4. Suşların Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması	15
3.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi	15
3.4.2. GSBL Üretiminin Gradient Strip Test ile Gösterilmesi	16
3.5. Kromozomal DNA İzolasyonu	16
3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	17
3.6.1. Kullanılan Primerler	17
3.6.2. PZR Yöntemi ile <i>Serratia marcescens</i> Tür Tanısının ve Direnç Genlerinin Gösterilmesi	18
3.7. Agaroz Jel Elektroforezi	20
3.8. Konjugasyon ile Plazmit DNA Transferi	20
3.8.1. Alkali Lizis Yöntemiyle Plazmit İzolasyonu	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	45
7. KAYNAKÇA	47
8. EKLER	54

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AK: Amikasin

CAZ: Seftazidim

CIP: Siprofloksasin

CRO: Seftriakson

CTX: Sefotaksim

DNA: Deoksiribonükleik asit

DNaz: Deoksiribonükleaz

DPA: Dipikolinik asit

dsDNA: Çift iplikli DNA

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

EMB: Eozin metilen blue

ERT: Ertapenem

EUCAST: Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testleri Komitesi

FBA: Fenilboronik asit

GN: Gentamisin

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz

IMP: İmipenem

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu

KTÜ: Karadeniz Teknik Üniversitesi

KV: Klavulanat

LB: Luria Bertani

LEV: Levofloksasin

MALDI-TOF: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu

MP: Meropenem

ND: Tanımlanamadı

PBP: Penisilin bağlayıcı protein

PTZ: Piperasilin/tazobaktam

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RCR: Dönen daireye replikasyon, ssDNA'nın dsDNA'ya replikasyonu

S. marcescens: *Serratia marcescens*

SDS: Sodyum dodesil sülfat

ssDNA: Tek iplikli DNA

SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol

TAE: Tris-asetik asit-EDTA

TZ: Tazobaktam

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

YGT: Yatay gen transferi

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Bush-Jacoby-Medeiros'un fonksiyonel sınıflandırması ile Ambler moleküler sınıflandırmasının karşılaştırılması	6
Tablo 2. PZR deneylerinde kullanılacak oligonükleotit primerleri	17
Tablo 3. <i>pfs</i> ve <i>luxS</i> genleri PZR reaksiyon şartları	19
Tablo 4. <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{OXA} , <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> , <i>qepA</i> ve <i>aac</i> -(6')-Ib genleri PZR reaksiyon şartları	19
Tablo 5. Master mix hazırlanması	20
Tablo 6. <i>S. marcescens</i> izole edilen hastaların cinsiyete göre dağılımı	22
Tablo 7. <i>S. marcescens</i> izole edilen hastaların klinik birimlere göre dağılımı	23
Tablo 8. <i>S. marcescens</i> izole edilen klinik örneklerin dağılımı	23
Tablo 9. Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarından alınan <i>S. marcescens</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları	25
Tablo 10. <i>S. marcescens</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının oranları	28
Tablo 11. <i>S. marcescens</i> izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonucu	28
Tablo 12. <i>S. marcescens</i> izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının oranları	31
Tablo 13. GSBL gradiyent strip test ve PZR sonuçları	32
Tablo 14. Beta-laktamaz genlerinin direnç geni oranları	33
Tablo 15. Kinolon dirençli suşların PZR sonuçları	35
Tablo 16. Kinolon dirençli suşların direnç geni oranları	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. <i>S. marcescens</i> 'in polentaya (mısır unu lapası) etkisi	2
Şekil 2. <i>S. marcescens</i> yararlı ve patolojik etkileri	3
Şekil 3. <i>S. marcescens</i> 'te antibiyotik direncinin mekanizmaları intrinsik, kazanılmış ve adaptif direnç olarak ayrılabilir	4
Şekil 4. Gram-negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamazlarla etkileşimi	7
Şekil 5. Kinolonların etki mekanizması	9
Şekil 6. Kinolon direnç mekanizması	10
Şekil 7. Yatay gen transferinin değişik mekanizmaları	12
Şekil 8. Donörden alıcı hücreye konjugal tranferi sırasında F plazmitinin yaşam döngüsü	13
Şekil 9. <i>luxS</i> ve <i>pfs</i> genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü	24
Şekil 10. Beta-laktamaz genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü	34
Şekil 11. Kinolon direnç genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü	34

1. GİRİŞ

Serratia marcescens doğada her yerde bulunabilen, gram negatif, oksidaz negatif, *Enterobacterales* takımı, *Yersiniaceae* ailesine ait bir basil olup, *Serratia* spp. cinsi içinde hastalık yapıcı en önemli türdür (1, 2, 3). Çeşitli insan enfeksiyonlarıyla (pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, keratit, sepsis vb.) ilişkili bulunmuştur (1, 4, 5). *S. marcescens* özellikle immünsupresif hastalarda ve pediatrik yaş grubunda enfeksiyon ve salgınlara yol açmaktadır (6). Uzun süreli hastane yatışları ve girişimsel işlemler uygulanması *S. marcescens* bakteriyemisi için risk faktörü oluşturmaktadır (5, 7).

S. marcescens uzun yıllar zararsız bir bakteri olarak biliniyordu ancak 1950’li yıllarda antibiyotik direnci geliştirebilen, salgınlar yapabilen bir bakteri olduğu kanıtlanmıştır (8). *S. marcescens*’in genetik yatkınlığı zorlu şartlara (örneğin: antimikrobiyal ve dezenfektanlara maruziyet) uyum sağlamasına yardımcı olacak genetik plastisiteyi göstermektedir (2).

Beta-laktam grubu ve kinolon grubu antibiyotikler tedavide sıklıkla kullanılmaktadır. Bu gruplara direnç gelişmesi tedavide elimizde kalan seçenekleri kısıtlamaktadır. Özellikle hareketli genetik elemanların (plazmit) kolay aktarımı bakteriler arası direnç yayılımına neden olmaktadır. Aynı plazmit üzerinde birden fazla direnç geni taşınabileceği de bilinmektedir. Bu mekanizmaların takibi ve gösterilmesi tedavi protokollerinin belirlenmesinde önemlidir (9, 10, 11).

S. marcescens’e bağlı enfeksiyonların tedavisinde yaşanan zorluklar, antimikrobiyallere karşı yaygın doğal ve kazanılmış direncinden kaynaklanmaktadır (8). Bundan dolayı, kazanılmış direnç mekanizmalarının gösterilmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi, Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi), Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda Ocak 2018 - Aralık 2022 tarihlerinde klinik örneklerden izole edilmiş *S. marcescens* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretiminin ve kinolon grubu antibiyotiklere karşı duyarlılığının araştırılması ve plazmit aracılı direnç yayılım mekanizmasının gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Serratia marcescens*

İtalyan bir eczacı olan Bartolomeo Bizio 1819 yılında pirinç ve mısır lapalarında kırmızı kan benzeri pigmentasyon oluşumunu fark etmesiyle kırmızı pigment üreten *Serratia marcescens*'i keşfetmiştir. İtalyan bir fizikçinin adı olan Serrati'yi anmak için ve marcescens ise Latince çürümek kelimesinden geldiği için bu mikroorganizmaya *S. marcescens* adını koymuştur (12). Şekil 1'de *S. marcescens*'in polentaya (mısır unu lapası) etkisi gösterilmiştir (12).

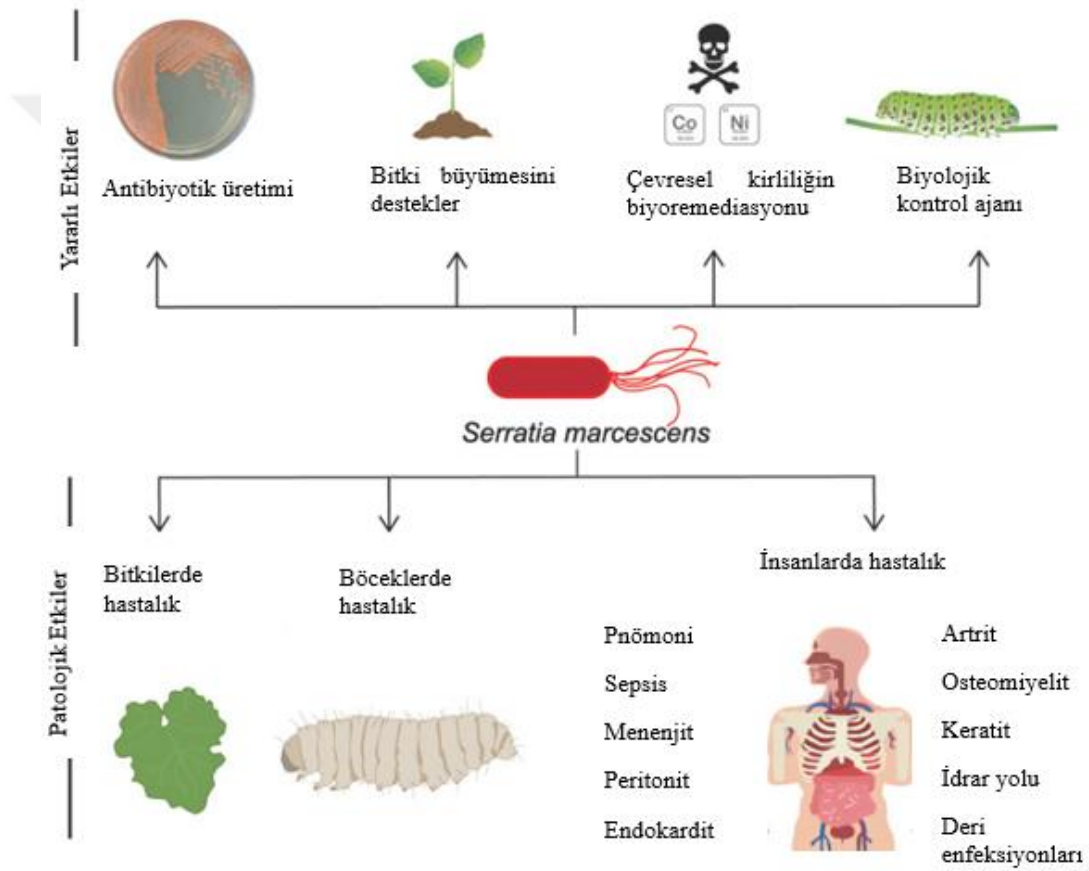


Şekil 1. *S. marcescens*'in polentaya (mısır unu lapası) etkisi (12)

2.2. *Serratia marcescens* Özellikleri ve Tanımlanması

Serratia cinsi kendi içinde yaklaşık 30 farklı tür içerir. Bunlardan altı tanesi insan enfeksiyonlarıyla ilişkili bulunmuştur: *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. plymuthica*, *S. rubidaea*, *S. fonticola* ve *S. odorifera*. Bunlardan *S. marcescens* en sık insan enfeksiyonlarıyla ilişkili olan türdür (2). *Serratia marcescens* oksidaz negatif, gram negatif, *Enterobacterales* takımı, *Yersiniaceae* ailesine ait bir basildir (1, 3). Rutin mikrobiyolojik kültürde ürer. Otomatize sistem ve MALDI-TOF (Bruker, Almanya) ile tanımlanabilir. Zhu ve arkadaşları (13) *Serratia* spp. tanımlanması için ayrıca S-adenosylhomocysteine nucleosidase (*pfs*) ve S-ribosylhomocysteinase (*luxS*) genlerinin kullanılabileceğini belirtmiştir. *S. marcescens* deoksiribonükleaz (DNaz), lipaz ve jelatinaz üretir (3). Ayrıca, *S. marcescens* kendisine kırmızı pigment veren ve sekonder bir metabolit olarak prodigiosin üretir (14, 15). Ekim zamanına göre yaklaşık 6-7. günlerde en iyi prodigiosin pigmenti üretir (16). Prodigiosin, prodiginin ailesinin en önemli üyesidir. Prodigiosin günümüzde olası antikanser, antimikrobiyal etkilerinden dolayı önemli bir çalışma konusu olmuştur (15).

S. marcescens doğada her yerde bulunabilen bir bakteridir. Bitkilerde ve böceklerde patojen olabilir, bazı zararlı bileşikler ağır metaller olarak parçalayabilir, bu nedenle biyolojik kontrol ajanı olarak kabul edilir. Ayrıca antibiyotik direnci için sadece hastanedeki bakterileri değil; çevredeki ve hastanedeki tüm *S. marcescens* türleri antibiyotik direncine neden olmaktadır. *S. marcescens* türleri hem antibiyotik direnciyle hem de olumsuz şartlara uyum sağlayabilme (dezenfektanlara direnç) özellikleriyle tedavide ciddi sıkıntılara yol açabilir (2). Şekil 2’de *S. marcescens* yararlı ve patolojik etkileri gösterilmiştir (2).



Şekil 2. *S. marcescens* yararlı ve patolojik etkileri (2)

2.3. *Serratia marcescens* Enfeksiyonları

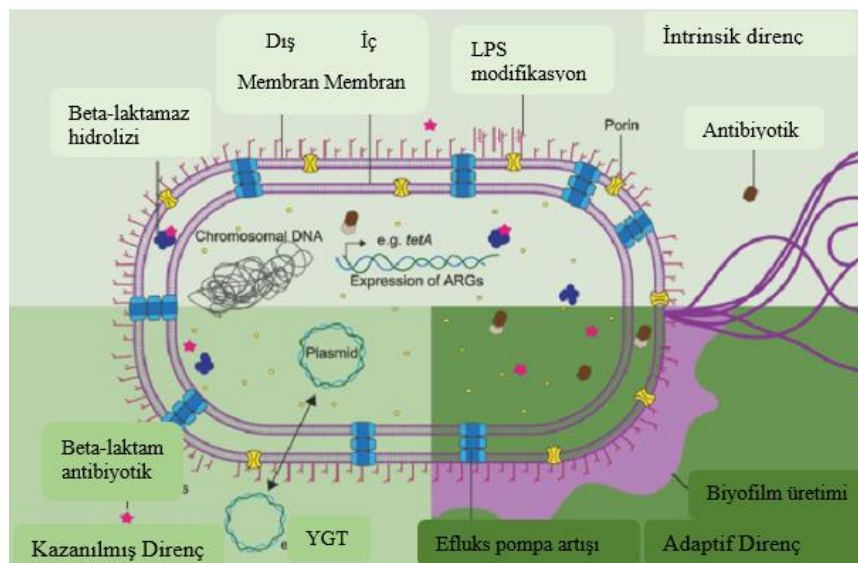
S. marcescens özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ve pediatrik yaş grubunda (en sık yenidoğan) enfeksiyona neden olur (6). Çeşitli insan enfeksiyonlarıyla (örneğin: idrar yolu enfeksiyonu (İYE), menenjit, artrit, sepsis, pnömoni, keratit gibi) ilişkili nozokomiyal ve fırsatçı bir etkindir (1, 4, 5). Yenidoğan

yoğun bakımlarda çoklu ilaca dirençli *S. marcescens* enfeksiyonlarından salgınlar ve kolonizasyonlar görülebilir. Hareketli genetik elementler (plazmit) ile yayılım olabileceğinden bu salgınlarda enfeksiyon kontrol önlemleri (örneğin: el hijyeni, malzemelerin dezenfeksiyonu) çok önemlidir. Ayrıca yenidoğan yoğun bakımda *S. marcescens* enfeksiyonları için iyi gelişmemiş bağışıklık sisteminin olması, antibiyotik kullanımı, düşük doğum ağırlığı (<1500 g), prematürite (<37 hafta) gibi sebepler risk faktörlerindendir (17).

S. marcescens bakteriyemisi için önemli risk faktörlerinden biri hastanede uzun süreli yatış olmasıdır; bir diğeri ise girişimsel bir kateter (yabancı cisim) uygulanmasıdır (5, 7). Kateter kolonizasyonu özellikle biyofilmde bakteri hücresinin hayatta kalmasına yardım eder. Ayrıca biyo-filmde antibiyotik geçişini engellediği için antibiyotik direncine de katkıda bulunur (3). *S. marcescens* sağlık hizmetleri ilişkin enfeksiyonların %1-2'sini oluşturur. Yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla kolonizasyonlara ve salgınlara rastlanmıştır (5, 7).

2.4. *Serratia marcescens*'te Antimikrobiyal Direnç

S. marcescens hem intrinsik hem de kazanılmış direnç mekanizmalarına sahiptir. Şekil 3'te *S. marcescens*'te antibiyotik direncinin mekanizmaları intrinsik, kazanılmış ve adaptif direnç olarak ayrılması gösterilmiştir (2). Antimikrobiyal direnç mekanizmaları bir sonraki bölümde detaylı anlatılmıştır.



Şekil 3. *S. marcescens*'te antibiyotik direncinin mekanizmaları intrinsik, kazanılmış ve adaptif direnç olarak ayrılabilir (2) *YGT: Yatay gen transferi.

S. marcescens'e bağlı enfeksiyonların tedavisinin zor olması, büyük ölçüde organizmanın antimikrobiyallere karşı yaygın doğal ve kazanılmış direncinden kaynaklanmaktadır. GSBL üretimi ve aminoglikozitlere, florokinolonlara ve/veya ko-trimoksazole karşı çoklu dirençli *S. marcescens* suşları dünya çapında birçok hastanede tanımlanmıştır (8). *S. marcescens* izolatlarındaki çoklu ilaç direnci nedeniyle, bu organizmaların yayılmasını önlemek için doğru antimikrobiyal seçimi oldukça önemlidir (9).

2.5. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

2.5.1 Beta Laktam Grubu Anitbiyotik Direnci

Beta-laktamlar çok yaygın reçete edilen bir antibiyotik sınıfıdır. Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, karbapenemler, monobaktamlar ve beta-laktamaz inhibitörlerinden oluşmaktadır. Beta-laktam antibiyotikler hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde peptidoglikan çapraz bağlanmasında yer alan enzimler olan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) kovalent bağlanmanın bir sonucu olarak bakteriyel hücre duvarı oluşumunu engelleyen bakterisidal maddelerdir. Beta-laktamlara direnç, öncelikle beta-laktam halkasını hidrolize eden ve böylece ilacı inaktive eden bakteriyel olarak üretilen beta-laktamaz enzimlerinden kaynaklanır (18). Beta-laktam hidrolizi, beta-laktamaz enzimlerinin bu antibiyotiklerin kimyasal bağlarını hedef alması ve parçalamasıyla bu bileşiklerin yapısal ve kimyasal olarak parçalanmasıdır (19).

Beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamazlarla hidrolizi, en yaygın direnç mekanizmalarından biridir. Ambler sınıflandırmasında beta-laktamazlar, moleküler yapılarına göre A, B, C ve D olmak üzere dört sınıfa ayrılır. A, C ve D sınıflarının beta-laktamazları, enzim aktif merkezi olarak bir serini kullanırken, B sınıfının beta-laktamazları (metallo-beta-laktamaz) metal çinkoyu kullanır (20). Bush-Jacoby-Medeiros'un fonksiyonel sınıflandırmasında 1'den 3'e kadar gruplara ayrılır. Bush-Jacoby-Medeiros işlevsel ve moleküler özellikleri birleştiren bir beta-laktamaz sınıflandırma şeması geliştirmiştir (21). Tablo 1'de Bush-Jacoby-Medeiros'un fonksiyonel sınıflandırması ile Ambler moleküler sınıflandırmasının karşılaştırılması gösterilmiştir (20, 21, 22).

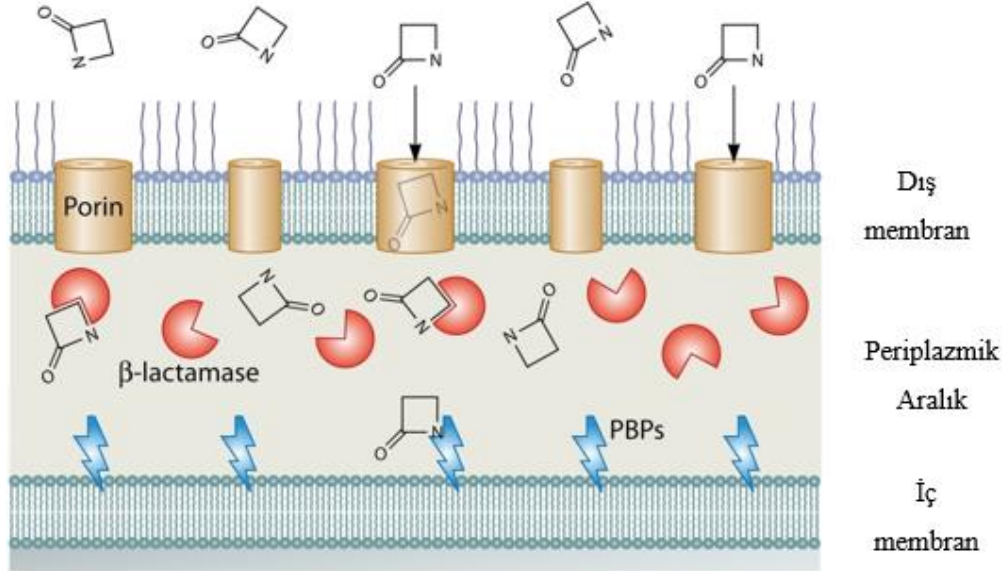
Tablo 1. Bush-Jacoby-Medeiros'un fonksiyonel sınıflandırması ile Ambler moleküler sınıflandırmasının karşılaştırılması (20, 21, 22)

Bush-Jacoby-Mederios Sınıflaması	Ambler Moleküler Sınıf	Enzimler	Aktif Bölge	Özellikleri
Grup 1 Sefalosporinaz	C	AmpC	Serin	Sefalosporinleri hidrolize eder FBA, DPA, kloksasilin ile inhibe olur
Grup 1e Sefalosporinaz	C	GC-1, CMY-37	Serin	Oksimino-sefalosporinleri hidrolize eder KV veya TZ ile inhibe olmaz
Grup 2a Penisilinaz	A	PC1	Serin	Penisilinleri hidrolize eder KV veya TZ ile inhibe olur
Grup 2b Penisilinaz	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1	Serin	Penisilin, birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize eder KV veya TZ ile inhibe olur
Grup 2be GSBL'ler	A	TEM-3, SHV-2, CTX-M, PER-2, VEB-1	Serin	Oksimino-beta-laktamları hidrolize eder KV veya TZ ile inhibe olur
Grup 2ber GSBL'ler	A	TEM-50	Serin	Oksimino-beta-laktamları hidrolize eder KV veya TZ ile inhibe olmaz
Grup 2d	D	OXA-01, OXA-10	Serin	Kloksasilin veya oksasilini hidrolize eder
Grup 2de GSBL'ler	D	OXA-11, OXA-15	Serin	Kloksasilin veya oksasilin ve oksimino-beta-laktamları hidrolize eder
Grup 2df Karbapenemaz	D	OXA-23, OXA-48	Serin	Karbapenemleri hidrolize eder
Grup 2e GSBL'ler	A	CepA	Serin	Sefalosporinleri hidrolize eder KV ile inhibe olur
Grup 2f Karbapenemaz	A	KPC-2, SME-1, IMI-1	Serin	Karbapenem, oksimino sefalosporinler ve

					sefamisinleri hidrolize eder
Grup	3	B	IMP-1, VIM-2, IND-1, L1	Çinko	Karbapenemleri hidrolize eder, monobaktamları etmez EDTA ile inhibe olur
Grup 4		Dahil değil	Bilinmiyor		

*Dipikolinik asit (DPA), Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), Fenilboronik asit (FBA), Klavulanat (KV), Tazobaktam (TZ), Sefamisinler (sefoksitin ve sefotetan), Oksimino-sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim ve aztreonam).

Sınıf 1 Sefalosporinazlar, Ambler sınıf C grubundadır. Genelde kromozomal kodlanır. KV dirençlidir, FBA, DPA, kloksasilin ile inhibe olur. Penisilinlere göre sefamisin sefalosporinleri daha iyi hidrolize eder. *S. marcescens* gibi bazı bakteriler düşük düzey indüklenebilir AmpC üreticisidirler (19).



Şekil 4. Gram-negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamazlarla etkileşimi (23)

*PBP: Penislin bağlayıcı protein.

Şekil 4'te Gram-negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktamazlarla etkileşimi gösterilmiştir (23). Şekil 4'te beta-laktamaz enzimi beta-laktam antibiyotiği hidrolize ederse PBPlere bağlanıp etki edemez (23).

GSBL'ler birinci, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler, penisilinler ve aztreonam gibi monobaktamlara karşı direnç oluşturabilen beta-laktamazlar olarak tanımlanır. Ancak GSBL'ler sefamisinler (sefoksitin ve sefotetan) ve karbapenemlere karşı direnç oluşturmazlar ve klavulanik asit tarafından inhibe edilirler (19).

GSBL üreticisi gram negatif bakteriler küresel bir halk sağlığı sorunudur. Endişe verici yayılımlarından dolayı izlenmesi çok önemlidir. Özellikle hastanelerde salgınlar oluşturabileceği için enfeksiyon kontrol önlemlerine uyulması hayati önem taşır. Sağlık çalışanlarının ellerini yıkaması, hastanede kullanılan aletlerin (tansiyon aleti gibi) düzenli dezenfekte edilmesi bunlara örnek gösterilebilir. Yalnızca bunlarla kalmaz bu bakterilerin laboratuvarlarda hızlı ve doğru tespiti de yayılmasının engellenmesi için alınması gereken önlemlerden biridir (19).

GSBL'ler genelde plazmit tarafından kodlanır. Bu plazmitler hem GSBL üretiminden sorumlu bölgeyi hem de başka antibiyotik direnç genlerini birlikte taşıyabilir. Bu nedenle GSBL üreten organizmaların tedavisinde antibiyotik seçenekleri son derece sınırlıdır (24). GSBL üreten gram negatif bakteriler enfeksiyonu yayma açısından ciddi klinik sıkıntılar oluşturur. Hareketli genetik elementler (örneğin: plazmit, integron gibi) yatay gen transferi yoluyla direnç genleri hızla yayılır. Ayrıca, bu plazmitler diğer antibiyotiklere direnç genlerini taşıma kapasitesinden dolayı çoklu ilaç direncine neden olur. Bu tür dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar son yıllarda hızla artış göstermektedir (11).

2.5.2. Kinolon Direnci

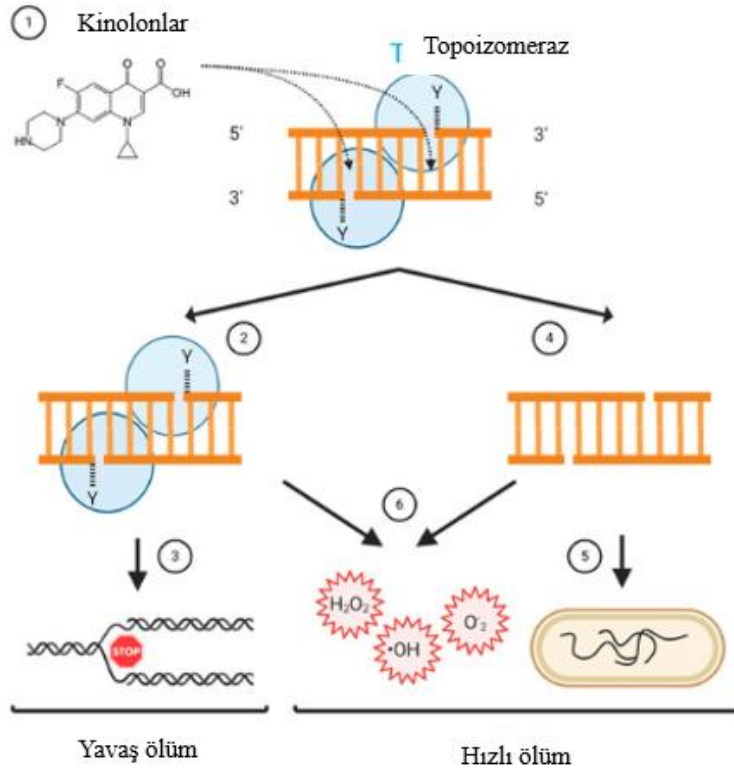
Kinolon grubu 1960'lı yıllarda bulunan sentetik, bakterisidal etkili bir antibiyotik grubudur. O yıllarda ilk olarak idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır. Başlarda gram negatif bakterilere karşı aktivite gösteriyordu ancak farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerinin geliştirilmesiyle etki spektrumu arttırıldı. Böylece, gram negatif ve pozitif bakterilere karşı etkinliği oluşturuldu (25, 26). Zaman içinde artan kullanımıyla bu antibiyotik grubuna direnç gelişmesiyle monoterapiden ziyade kombine tedavide kullanılmaya başlandı (27).

Hücrelerde DNA sentezi sırasında DNA giraz ve topoizomeraz IV kromozomal süpersarmal oluşumunu düzenler. Kinolonlar DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB* kodlar) ve topoizomeraz IV (*parC* ve *parE* kodlar)'ü inhibe ederek DNA sentezini bozarak etki gösterir (26, 28).

Tip II topoizomeraz olan DNA giraz kapalı çembersel DNA'yı negatif süpersarmal hale getirir. A ve B iki alt birimden oluşur. A alt birimini *gyrA* kodlar,

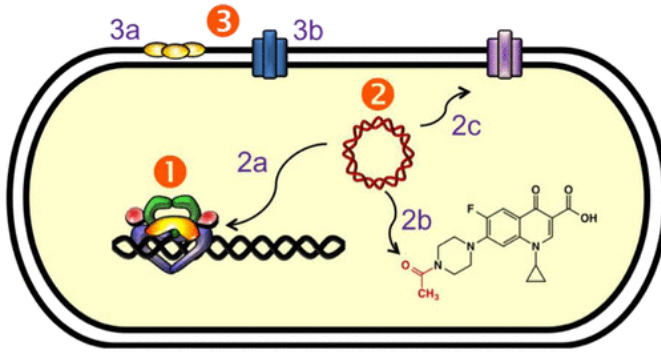
DNA çift sarmal kırılma eklenme ve yeniden birleştirme işlemlerini yapar. B alt birimini *gyrB* kodlar, DNA topolojik dönüşümü sırasında enerji tüketimini kontrol eder (29).

Topoizomeraz IV'ün görevlerinden biri kromozomal süper sarmal yoğunluğun korunmasıdır (26).



Şekil 5. Kinolonların etki mekanizması (30)

Şekil 5'te kinolonların etki mekanizması gösterilmiştir. Birinci aşamada kinolonlar topoizomeraz-DNA kompleksine bağlanır. İkinci ve üçüncü aşamada bu kompleksi uzaklaştırmadan replikasyonu inhibe eder ve bakteriyi yavaş öldürür. Dördüncü ve beşinci aşamada ise bu kompleksi uzaklaştırır ve kromozomun parçalanmasına yol açarak bakteriyi hızlı öldürür. Altıncı aşamada ise bu kompleksin sağlam kalması veya uzaklaştırılması serbest oksijen radikallerinin oluşmasına yol açarak bakteriyi hızlı öldürür (30).



Şekil 6. Kinolon direnç mekanizması (31)

Kinolon direnç mekanizmaları Şekil 6’da gösterilmiştir. Turuncu 1 ile gösterilen hedef gen değişiklikleridir (kromozomal *gyrA*, *gyrB*, *parC* ve *parE* gibi). Turuncu 2 ile gösterilen plazmit aracılı kinolon direncidir. Şekil 2a qnr proteinleridir. Şekil 2b aac(6’)-Ib-cr enzimidir. Şekil 2c ise eflüks pompasını gösterir. Turuncu 3 ile gösterilen hücre içi ilaç konsantrasyonunun azaltılmasıyla oluşan kromozomal mutasyonlardır. Şekil 3a porin mutasyonu, Şekil 3b ise eflüks pompası aşırı artışıdır (31).

Kinolon direnci daha önceki yıllarda yalnızca kromozomal *gyrA*, *gyrB*, *parC* ve *parE* gibi mutasyonlardan kaynaklandığı sanılıyordu. Ancak hem kromozomal hem de plazmit aracılı direnç gösterdiği anlaşılmıştır (25).

Kromozomal hedef gen mutasyonlarıyla oluşan direnç kinolon direncinin temelini oluşturmaktadır. Özellikle DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) ve topoizomerez IV (*parC* ve *parE*) mutasyonu kinolon minimum inhibitör konsantrasyonunda (MİK) ciddi artışa yol açmaktadır (26). Kromozomal mutasyonlar kinolon direncinin asıl sebebi olsa da plazmit aracılı kinolon direnci genelde MİK’lerde hafif artışa yol açmaktadır. Bu mekanizmaların hepsi birikerek yüksek MİK artışlarına sebep olabilmektedir (28).

Plazmit aracılı kinolon direncinin üç belirleyicisi vardır: qnr proteinleri, aac(6’)-Ib ve qepA. Qnr proteinleri kinolonların DNA giraza bağlanmasını engelleyen pentapeptit tekrarlarıdır. Bazı alt grupları vardır, qnrA, qnrB ve qnrS gibi. Aac(6’)-Ib bir asetilasyon enzimidir, aynı zamanda bazı çeşitleri aminoglikozid direncine de sebep olur. Antibiyotiği enzimatik olarak inhibe ederek etki gösterir. qepA ise eflüks

pompasının artışıyla etki eder. Hücre içi kinolon konsantrasyonunu azaltır. Plazmit aracılı kinolon direnç genleri genelde sınırda bir direnç oluşturur. Daha çok diğer mutasyonlarla birikerek MİK artışına yol açar. Ayrıca bu genlerin bulundukları plazmitlerde başka antibiyotik direnç genleri (GSBL gibi) bulunabilir. Plazmitlerle kodlandıkları için hem yayılmaları kolaydır hem de başka direnç genleriyle birlikte taşınabilir. Bu durum da ciddi tedavi sorunlarına yol açmaktadır (26, 32).

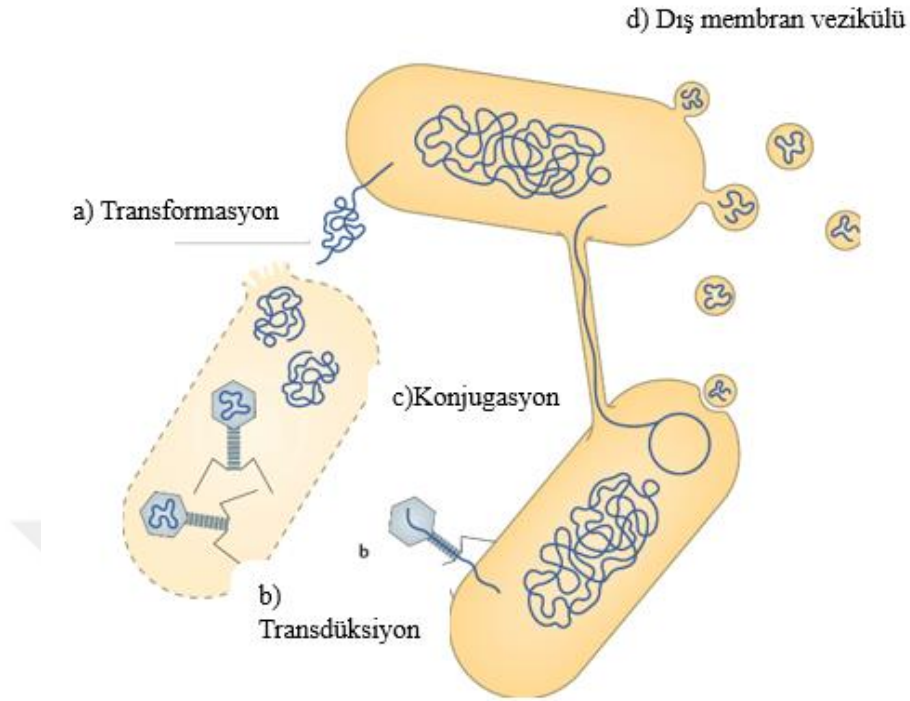
qnrA ilk olarak 1998 yılında bir *Klebsiella pneumoniae* izolatında tanımlandı. Ardından *qnrS* (2005) ve *qnrB* (2006) proteinleri tanımlandı (32, 33, 34, 35).

2.6. Yatay Gen Transferi

Yatay gen transferi bakterilerde ebeveyn-yavru ilişkisi içinde olmadan (36); bir donör (verici) hücreden, başka bir alıcı hücreye gen aktarılmasıdır (37).

Kazanılmış direnç kromozomal mutasyonlarla veya yatay gen transferi (plazmit, integron gibi hareketli gen elemanlarının aktarılması) yoluyla oluşur. *S. marcescens* de yatay gen transferi yoluyla birçok çeşitli antimikrobiyale direnç geliştirebilen bir bakteridir. Yatay gen transferi de bu direnç mekanizmaları tür içi veya türler arası aktarımına yol açar (38).

Şekil 7’de yatay gen transferinin değişik mekanizmaları gösterilmiştir. A ile gösterilen transformasyon çıplak DNA’nın hücrenin genomuna girmesidir. B ile gösterilen transdüksiyon bakteriyofajlar tarafından DNA’nın hücrenin genomuna verilmesidir. C ile gösterilen konjugasyon en sık görülen mekanizmalardan biridir. Bir pilus tarafından bir hücreden diğer hücreye genetik materyalin aktarımıdır. D ile gösterilen tam katkısı bilinmeyen diğer mekanizmalardır. Veziküller aracılığıyla genetik materyalin transferidir (39).

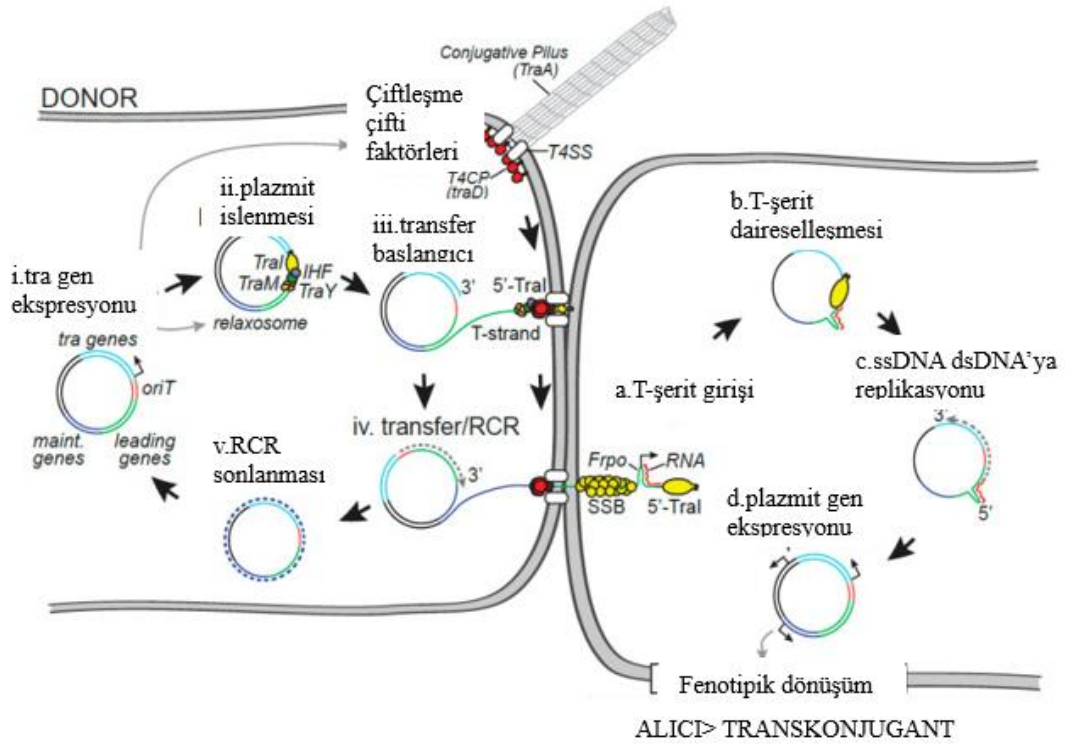


Şekil 7. Yatay gen transferinin değişik mekanizmaları (39)

2.6.1. Plazmit Aracılı Yatay Gen Transferi (Konjugasyon)

Konjugasyon, 1946 yılında Edward Tatum ve Joshua Lederberg tarafından keşfedildi. Bakterilerin F (doğurganlık) faktörü sayesinde genetik elemanlarını aktarabileceği gösterildi (40).

Plazmitler hücre içinde bulunan ekstrakromozomal yapılardır. Plazmitlerin aktarımı konjugasyon yoluyla gerçekleşir (41, 42). Konjugasyon değişen ortam şartlarına bakterinin uyumunu sağlar. Virülans faktörleri, ağır metallere direnç veya antibiyotik direnci gibi metabolik özelliklerin aktarılmasını sağladığı için bakterilerin evrimsel adaptasyonunu sağlar. Bu yüzden de bakteriler için hayati önem taşır (37, 39).



Şekil 8. Donörden alıcı hücreye konjugal tranferi sırasında F plazmitinin yaşam döngüsü (37) *RCR (Rolling circle replication): Dönen daireye replikasyonu, ssDNA'nın dsDNA'ya replikasyonu *ssDNA: Tek iplikli deoksiribonükleik asit *dsDNA: Çift iplikli deoksiribonükleik asit.

Şekil 8'da konjugasyonda F plazmitinin yaşam döngüsü özetlenmiştir. Konjugasyonun başlatılması (i) için tra genlerinin ekspresyonuyla tra proteinleri üretilir. Üretilen tra proteinleri çiftleşme çiftini stabilize edilmesine aracılık eder. Daha sonra da T4SS ve konjugatif pilusu oluşturur. Diğer tra proteinler plazmitin işlenmesi (ii) için çeşitli reaksiyonlar yapar ve plazmitin transferi için relaksomu hazırlar. Relaksom ve T4CP etkileşimiyle T-şeridi T4SS tarafından (konjugatif pilus) transferi başlatır (iii). T- şeridinin alıcıya transferi ve RCR (iv,v) donörde ssDNA (Tek iplikli deoksiribonükleik asit)'nın dsDNA (Çift iplikli deoksiribonükleik asit)'ya replikasyonu gerçekleşir. Alıcıya T-şeridi girer (a) ve T-şerit daireselleştirilir (b). ssDNA dsDNA'ya çevrilir (c). Daha sonra plazmit genlerinin eksprese olmasıyla, alıcı hücrenin transkonjugant hücreye fenotipik dönüşümü tamamlanır (d) (37). Transfer genlerinin ekspresyonunun düzenlenmesi konjugatif plazmitlerin transferini kontrol eder. Çevresel faktörler veya popülasyon etkileşimiyle düzenlenebilir (37).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik kurul onayı

Tez çalışmasının etik kurul onayı, KTÜ Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 05.01.2023 tarihli 2022/253 protokol numaralı çalışma olarak verilmiştir. Etik kurul onayı EK-1’de verilmiştir.

3.2. Çalışmanın Özellikleri

KTÜ Tıp Fakültesi, Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi), Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2018 - Aralık 2022 tarihlerinde klinik örneklerden izole edilmiş *S. marcescens* suşlarının GSBL üretiminin ve kinolon grubu antibiyotiklere duyarlılığının fenotipik ve genotipik olarak araştırılması amaçlandı.

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre suşlar iki gruba ayrıldı. Bazı suşlar iki grubun içine de dahil edildi. Birinci grup seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli suşlar, ikinci grup siprofloksasin ve/veya levofloksasin orta duyarlı ve/veya dirençli suşlardan oluşturuldu. Birinci grup suşlara GSBL üretimi ile ilgili direnç genleri tarandı ve plazmit aracılı direnç aktarımı olup olmadığına bakıldı, ikinci grup suşlarda ise kinolon direnç genleri varlığı araştırıldı.

3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilen Gruplar

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. marcescens* suşları bu çalışmaya dahil edildi.

3.2.2. Çalışmaya Dahil Edilme/Edilmeme Ölçütleri

Araştırmaya kabul edilme kriterleri:

- Ocak 2018 - Aralık 2022 tarihlerinde klinik örneklerden izole edilen *S. marcescens* suşları
- Aynı hastadan tekrarlayan üremelerinde tespit edilen ilk izolat

Araştırmaya kabul edilmeme kriterleri:

- Ocak 2018'den önce ve Aralık 2022'den sonra izole edilen *S. marcescens* suşları
- Aynı hastadan tekrarlayan üremeler olduğunda ilk suştan sonraki *S. marcescens* izolatları

3.3. *Serratia marcescens* Suşlarının İdentifikasyonu, Üretimi ve Saklanması

KTÜ Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi), Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2018 - Aralık 2022 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örnekler uygun besiyerine inoküle edildi ve uygun koşullarda inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında *Serratia* türlerine benzeyen Gram boyama işlemi ile gram negatif basil morfolojisinde olan, oksidaz negatif, koloniler MALDI-TOF (Bruker, Almanya) ile tür düzeyinde tanımlama yapıldı. İzolatların antimikrobiyal duyarlılıkları BD Phoenix M50™ (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md, ABD) sisteminde BD Phoenix™ NMIC-433 panel (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Md, ABD) kullanılarak test edildi. Test sonuçları EUCAST standartlarına göre duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak kategorize edildi (43). *S. marcescens* olarak tiplendirilen ve antimikrobiyal testleri çalışılan suşların tek koloni pasajları gliserollü sıvı besiyerinde -80 °C'de stoklandı.

3.4. Suşların Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması

3.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Suşların her birinden taze kültür pasajlarından %0,9 NaCl izotonik solüsyon içeren tüplere 0,5 McFarland bulanıklığına eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan steril bir eküvyonla Mueller Hinton agar (Becton-Dickinson, Heidelberg, Almanya) besiyeri üzerine yayma ekim yapıldı. EUCAST (Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testleri Komitesi) önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle, siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), sefotaksim (5µg) ve seftazidim (10 µg) diski yerleştirildikten sonra plak 35°C'de 18 saat inkübe edildi. EUCAST 2022 sınır değerler tablosuna göre duyarlılıkları belirlendi (43).

3.4.2. GSBL Üretiminin Gradient Strip Test ile Gösterilmesi

Suşlar yukarıda izah edildiği gibi Mueller Hinton agar (Becton-Dickinson, Heidelberg, Almanya) besiyeri üzerine yayma ekim yapıldı. Ardından gradiyent strip test yerleştirildi. Sefepim, klavulanat ile kombine edildiğinde MİK değerinde 8 kattan daha fazla düşüş gözleniyorsa veya bir hayalet zon ya da elips şeklinde bir bozulma varsa test pozitif değerlendirildi.

3.5. Kromozomal DNA İzolasyonu

Sıvı besiyerinde üretilen suşlardan kromozomal DNA izolasyonu için Chen ve arkadaşları (44) tarafından tarif edilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. Bunun için; bir gecelik LB sıvı besiyerindeki kültürlerden 1,5 mL mikrotüplere alınarak 12000 rpm'de 1 dak santrifüj edildi. Pellet 200 µl lizis tamponu (40 mM Tris pH:7,5, 20 mM sodyum asetat, 1 mM EDTA ve %1 sodyum dodesil sülfat (SDS)) ile resüspanse edildi. Lizis tamponu eklendikten sonra tüpler 1-2 dak süre ile vorteks ile karıştırıldı. Lizat üzerine 10 µl RNaz A (10 mg/mL) ilave edilerek 56°C'de 25-30 dak inkübe edildi. Lizat üzerine 70 µl 5 M NaCl konuldu, tüpler el ile dikkatlice yaklaşık 10 defa karıştırıldı ve 10000-12000 rpm'de 10 dak santrifüj edildi. Temiz lizattan, 320 µl steril başka bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve üzerine eşit miktarda fenol/kloroform/izoamil alkol (25:24:1)'den ilave edildikten sonra tüp dikkatlice ve yaklaşık 50-60 kez alt üst edilerek karıştırıldı. 12000 rpm'de 10 dak santrifüj edildi ve üst fazdan 130 µl başka bir steril mikrosantrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra lizat hacminin iki katı kadar yani 260 µl %96'lık soğuk etanol ilave edilerek tüpler -20°C'de 30 dak boyunca tutuldu. Sonra tüpler 12000 rpm'de 5 dak santrifüj edilerek DNA presipite edildi. Süpernatant kısım atıldıktan sonra presipitat 100 µL %70'lik soğuk etanol ile peş peşe iki defa yıkandı. İlk yıkamadan sonra 12000 rpm'de 1 dak santrifüj işlemi gerçekleştirildi ve süpernatant atıldı. Etanol kalmaması için pellet kurutulduktan sonra 70 µl TE (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA, pH 8.0) tamponu ile çözüldü ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Hazırlanan kromozomal DNA'lar %0,8'lik agaroz jelde tek bant olarak görüntülendi.

3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

3.6.1. Kullanılan Primerler

S. marcescens tanımlanması için *pfs* ve *luxS* genlerinin primerleri, beta-laktamaz genleri için *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{OXA} primerleri ve plazmit aracılı kinolon genleri için *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac*-(6')-Ib primerleri kullanıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda liyofilize primerlerin sulandırılması yapıldı. Stok solüsyonları 100 pmol/μl ve çalışma solüsyonları 10 pmol/μl olarak hazırlandı ve -20°C'de saklandı. Çalışmada kullanılacak primerler ve referansları Tablo 2'de verildi.

Tablo 2. PZR deneylerinde kullanılacak oligonükleotit primerleri

Primer	Nükleotid dizisi (5'→3')	Hedef Gen Bölgesi	Ürün uzunluğu (bp*)	Referans
Fpfs1 Rpfs2	CCGGCATCGGCAAAGTCT ATCTGGCCCGGCTCGTAGCC	<i>pfs</i>	193	(13)
FluxS1 RluxS2	GCTGGAACACCTGTTCGC ATGTAGAAACCGGTGCGG	<i>luxS</i>	102	(13)
TEM-F TEM-R	ATGAGTATTCAACATTTCCG CTGACAGTTACCAATGCTTA	<i>bla</i> _{TEM}	867	(45)
SHV-F SHV-R	TCGGGCCGCGTAGGCATGAT AGCAGGGCGACAATCCCGCG	<i>bla</i> _{SHV}	626	(46)
CTX-M-F CTX-M-R	CGCTTTGCGATGTGCAG ACCGCGATATCGTTGGT	<i>bla</i> _{CTX-M}	550	(47)
OXA-F OXA-R	ACACAATACATATCAACTTCGC AGTGTGTTTAGAATGGTGATC	<i>bla</i> _{OXA}	885	(45)
qnrA1 qnrA2	ATTTCTCACGCCAGGATTTG GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	<i>qnrA</i>	516	(48)
qnrB1 qnrB2	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	<i>qnrB</i>	469	(48)
qnrS1 qnrS2	GCAAGTTCATTGAACAGGGT TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	<i>qnrS</i>	428	(49)

aac6IbF	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	<i>aac-(6')-Ib</i>	482	(50)
aac6IbR	CTCGAATGCCTGGCGTGTTC			
qepAF	AACTGCTTGAGCCCGTAGAT	<i>qepA</i>	596	(49)
qepAR	GTCTACGCCATGGACCTCAC			

3.6.2. PZR Yöntemi ile *Serratia marcescens* Tür Tanısının ve Direnç Genlerinin Gösterilmesi

S. marcescens tür tanılarının doğrulanması için *pfs* ve *luxS* gen bölgelerine özgül primerler ve antibiyotik direnç genlerinin gösterilmesi için Tablo 2’de gösterilmiş primerler kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirildi. PZR reaksiyon koşulları Tablo 3 ve Tablo 4’te belirtildi. *pfs*, *luxS*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{OXA}*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac-(6')-Ib* genleri için PZR reaksiyon koşulları referanslarda belirtilen yöntemler modifiye edilerek uygulandı. Pozitif kontrol olarak kullanılan suşlar Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ (Recep Tayyip Erdogan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı) ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji koleksiyonundan temin edilmiştir. *pfs* ve *luxS* geni için *S. marcescens* ATCC 8100, *qnrA* için *Escherichia coli* pmG 252, *qnrB* için *E. coli* pmG 298, *qnrS* için pmG 306, *qepA* için HEC-15, *aac-(6')-Ib* için HKP-7, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{OXA}* için HKP-7 pozitif kontrol olarak kullanıldı. Mastermix olarak 2X HS Mastermix Gold (Medgenetics, İzmir) kullanıldı. Tablo 5’te PCR master mix hazırlanması gösterildi. Amplifikasyon işlemi termal döngü cihazı (Techne Thermal Cycler TC-512, Fisher Scientific, Birleşik Krallık) kullanılarak yapıldı.

Tablo 3. *pfs* ve *luxS* genleri PZR reaksiyon şartları

	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika/saniye)	Siklus Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5 dak	1
Denatürasyon	94	45 s	30
Bağlanma	55	30 s	
Uzama	72	15 s	
Son Uzama	72	10 dak	1
Bekleme	4	∞	

Tablo 4’te ise *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{OXA}, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac*-(6’)-*Ib* genleri PZR reaksiyon şartları verildi.

Tablo 4. *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{OXA}, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* ve *aac*-(6’)-*Ib* genleri PZR reaksiyon şartları

	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Siklus Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5	1
Denatürasyon	94	1	30
Bağlanma	55	1	
Uzama	72	1	
Son Uzama	72	10	1
Bekleme	4	∞	

Tablo 5’te mastermix hazırlanması gösterildi.

Tablo 5. Master mix hazırlanması

	1x
MasterMix	25 µl
Foward Primer	1 µl
Reverse Primer	1 µl
DNA	1 µl
Distile su	22 µl
Total	50 µl

3.7. Agaroz Jel Elektroforezi

PZR reaksiyonu sonrasında ürünlerin görüntülenmesi için %2'lik agaroz jel hazırlandı. 100 ml Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE) çözeltisine 2 gr agaroz (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Almanya) eklendi. Mikrodalga fırında agaroz jel eriyene kadar ısıtıldı. Daha sonra içine 5 µl (1 mg/ml) etidyum bromür (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Almanya) konuldu. Elektroforez tablasının içine yükleme kuyucukları oluşması için tarak yerleştirildi ve jel tablaya dikkatlice döküldü. Jelin katılaşması için 30-40 dak beklendikten sonra taraklar jele zarar vermeden çıkartıldı. İçinde TAE tamponu olan elektroforez tankına jel yerleştirildi. PZR ürününden 5-10 µl yükleme kuyucuklarına yüklendi. Elektroforez tankı güç kaynağına bağlandıktan sonra 70 V akımda 50-60 dak yürütüldü. Oluşan bantlar ultraviyole transillüminatörde (UVP Vilber Lourmat, Almanya) ve dijital görüntüleme cihazı ile (Kodak Gel Logic Imaging System, Kaliforniya, ABD) görüntülendi.

3.8. Konjugasyon ile Plazmit DNA Transferi

Konjugasyon deneyi sıvı besiyerinde birleştirilmesiyle gerçekleştirildi (51, 52). Verici hücre *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} pozitif *S. marcescens*, alıcı hücre olarak *E. coli* j53-2 (met pro Rif^R) kullanıldı. Verici hücreler seftazidime dirençli olduğundan 2 µg/ml seftazidimli LB agar, alıcı hücre rifampisine dirençli olduğundan rifampisinli 150 µg/ml ve primer seleksiyon plağı olarak da rifampisin 150 µg/ml ve seftazidim 2 µg/ml içeren LB agar kullanıldı. Öncelikle bakteriler LB agarda ekim yapıp bir gecelik inkübasyon sonucu üretildi. Daha sonra agarlardan tek koloni seçilip LB sıvı besiyerinde bir gece boyunca çalkalayıcı etüvde üretildi. Alıcı ve verici hücrelerden

eşit miktarda (1'er ml) alınarak yavaşça bir tüpte karıştırıldı ve bir gece boyunca statik inkübasyona bırakıldı. Bu karışımdan 100 µl önce primer seleksiyon plağına ekim yapıldı. Üreyen kolonilerden transkonjugant olarak değerlendirilenleri seftazidim ve rifampisinli plağı, sadece rifampisinli plağı ve sadece seftazidimli plağı replika ekim yapıldı. Bunlardan transkonjugant olarak değerlendirilen kolonilerden plazmit DNA izolasyonu ve PZR yapıldı.

3.8.1. Alkali Lizis Yöntemi ile Plazmit İzolasyonu

Plazmit izolasyonu alkali lizis yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirildi (53). Bakteri antibiyotikli 5 ml sıvı besiyerinde bir gece inkübasyonla kültür hazırlandı. Bu sıvı kültür 1,5 ml mikrotüplere konuldu ve 12000 rpm'de 5 dak santrifüj edildi ve üstte kalan süpernatant atıldı. Hazırlanan pellet üzerine 200 µl solüsyon I [50 mM glukoz / 25 mM Tris-HCl/ 10 mM EDTA / RNAaz (100 µg/ml)] konuldu ve karışması için vortekslendi. 10-15 dak kadar oda sıcaklığında bekletildi. Sonra da 400 µl solüsyon II (0,2 N NaOH / %1 SDS) eklendi ve 3-5 defa alt üst edildi. Bundan sonra, en fazla 5 dak olacak şekilde buzda bekletildi. Üzerine 300 µl solüsyon III (7,5 M amonyum asetat pH:7,2) eklendi ve pellet dağılıncaya kadar alt üst edildi ve peşine 10 dak kadar buzda bekletildi. Daha sonra 12000 rpm'de 15 dak santrifüj edildi. Süpernatant ayrıldı ve yeni temiz bir mikrotüpe konuldu. Üzerine 600 µl izopropanolol konuldu ve alt üst edildi. Yaklaşık 10 dak kadar oda sıcaklığında beklendi ve peşine 12000 rpm'de 10 dak santrifüj edildi. Pellet ayrıldı ve üzerine 500 µl soğuk %70'lik etanol eklendi. 12000 rpm'de 3-5 dak santrifüj edildi ve sıvı kısmı atıldı. Etanol kalıntısı kalmaması için pellet 37°C'de iyice kurutuldu. Kuruduktan sonra da 40 µl TE (10 mM Tris pH:8, 1 mM EDTA pH:8) solüsyonunda çözüldü.

4. BULGULAR

KTÜ Tıp Fakültesi, Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi), 831 yataklı, 83 YBÜ yataklı olan bir üniversite hastanesidir. Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2018 – Aralık 2022 tarihleri arasında 184240 aerop kültür ve 63371 aerop kan kültürü gönderilmiştir. Bunlardan 1377 adet *S. marcescens* izole edilmiştir. Tekrarlayan üremeler çıkartıldığında KTÜ Tıbbi Mikrobiyoloji suş koleksiyonundan yeniden canlandırılabilen seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli ve/veya siprofloksasin ve/veya levofloksasin orta duyarlı ve/veya dirençli izolatlardan 70 tanesi çalışmaya dahil edilmiştir.

S. marcescens izole edilen hastaların cinsiyete göre dağılımları Tablo 6’da gösterildi. Hastaların ortalama yaşı 55,3±31,1 (0-98)’di.

Tablo 6. *S. marcescens* izole edilen hastaların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	n	%
Kadın	19	27,1
Erkek	51	72,9
Toplam	70	100

S. marcescens izole edilen hastaların %27,1’i (n=19) kadın, %72,9’u (n=51) erkekti. Hastaların klinik birimlere göre dağılımı Tablo 7’de gösterildi. Pediatri servislerinden gelen 4 izolat (%5,7), pediatri polikliniklerinden 5 izolat (%7,1), pediatri YBÜden 2 izolat (%2,9) ve yenidoğan YBÜden 2 izolat (%2,9) vardı. *S. marcescens* izole edilen klinik örneklerin dağılımı Tablo 8’de gösterildi.

Tablo 7. *S. marcescens* izole edilen hastaların klinik birimlere göre dağılımı

Örnek Alınan Klinik Birimler	n	%
Dahili Bilimler Servisleri	14	20
Dahili Bilimler Poliklinikleri	19	27,1
Cerrahi Bilimler Servisleri	13	18,6
Cerrahi Bilimler Poliklinikleri	8	11,4
YBÜ	16	22,9
Toplam	70	100

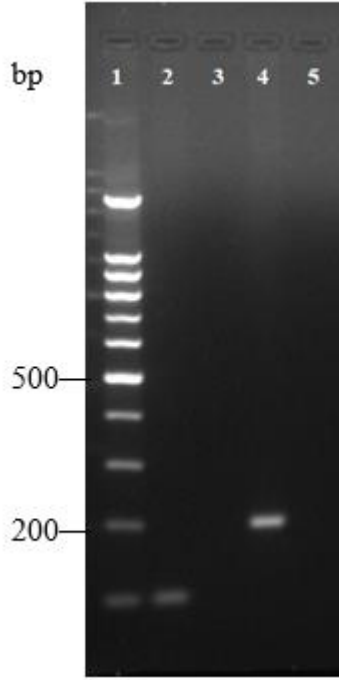
*YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

Tablo 8. *S. marcescens* izole edilen klinik örneklerin dağılımı

Klinik Örnekler	n	%
Periferik venöz kan	4	5,7
Direnden gelen mayi	1	1,4
Yaradan sürüntü	7	10
Balgam	12	17,1
Endotrakeal tüpten aspirat	15	21,4
İdrar	22	31,4
Bronkoalveolar lavaj	3	4,3
Doku biopsileri	3	4,3
Eklem sıvısı	1	1,4
Plevral mayi	1	1,4
Arterial kataterleri	1	1,4
Toplam	70	100

Daha önce tanımlanan tüm bakterilere tür tanımlaması için *pfs* ve *luxS* genleri PZR yöntemi ile bakıldı. Çalışmaya dahil edilen bütün *S. marcescens* suşlarının hepsinde *pfs* ve *luxS* geni pozitif bulundu.

Şekil 9'da *luxS* ve *pfs* genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 9. *luxS* ve *pfs* genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü

1; molekül ağırlık standardı, 2; *luxS* pozitif kontrol, 3; *luxS* negatif kontrol, 4; *pfs* pozitif kontrol, 5; *pfs* negatif kontrol

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarından alınan antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları Tablo 9'da gösterildi.

Tablo 9. Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarından alınan *S. marcescens* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları

Suş No	AK	GN	CIP	LEV	CAZ	CRO	PTZ	SXT	IMP	MP	ERT
TRSM 1	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.125)	S (≤0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	I (4)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 2	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.125)	S (≤0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	I (4)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 3	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 5	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>2)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 13	S (≤8)	R (>4)	R (>1)	R (>2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 23	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 25	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 31	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	S (≤0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 32	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 33	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	S (≤0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 34	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 36	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 41	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	I (4)	R (>4)	R (>16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 43	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 44	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.125)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 47	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)		I (4)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 50	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	S	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 52	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	S (≤1)	R (>4)	I (16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 55	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>16)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 57	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (2)	R (>16)	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 58	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 61	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.125)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 66	S (≤8)	R (>8)	R (>1)	R (4)	I (4)	R (>4)	R (>32/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	R (1)
TRSM 67	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 68	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)

TRSM 73	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	I (4)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 74	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 77	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 78	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>4)	S (≤1)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 80	S (≤8)	R (8)	R (1)	R (1)	S (≤1)	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 83	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	R (>1)
TRSM 85	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 86	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>4)	R >16)	R (>4)	R (>32/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 87	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 88	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	S (≤1)	I (2)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 89	R (32)	R (>8)	I (0.5)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	R (>16/4)	S (≤2/38)	R (>8)	R (>8)	R (>1)
TRSM 90	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>4)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 91	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	S (≤0.5)	S (≤1)	I (2)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 92	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	S (≤0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 93	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 94	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 95	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 96	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 97	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 98	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>16)	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	R (>8)	R (>8)	R (>2)
TRSM 100	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 102	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 103	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	I (4)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 104	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 105	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (>2)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 106	S (≤8)	R (>8)	R (>1)	R (2)	S (≤1)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 107	S (≤8)	R (>8)	R (>1)	R (1)	R (>8)	R (>4)	R (>16/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 110	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	I (4)	R (>4)	S (≤ 4/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 111	S (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (4)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)

TRSM 112	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 114	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	I (4)	R (>4)	I (16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 115	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 116	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	R (>16/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 117	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	R (>16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 118	I (≤8)	S (≤2)	R (>1)	R (2)	S (≤1)	I (2)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 119	S (≤8)	R (>8)	R (1)	R (1)	I (4)	R (>4)	R (>32/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 120	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (>4)	S (≤1)	R (>4)	S (≤ 4/4)	R (>8/152)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 121	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (>8)	R (>4)	R (>16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	R (>1)
TRSM 122	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	S (≤1)	I (2)	I (16/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 123	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	R (16)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 125	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	S (≤1)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 126	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	I (2)	R (>4)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	R (>1)
TRSM 128	S (≤8)	S (≤2)	I (0.5)	I (0.5)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 129	S (≤8)	S (≤2)	S (≤0.25)	S (≤0.5)	I (2)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)
TRSM 130	S (≤8)	S (≤2)	R (1)	R (1)	S (≤1)	S (≤1)	S (≤ 4/4)	S (≤2/38)	S (1)	S (≤0.125)	S (≤0.25)

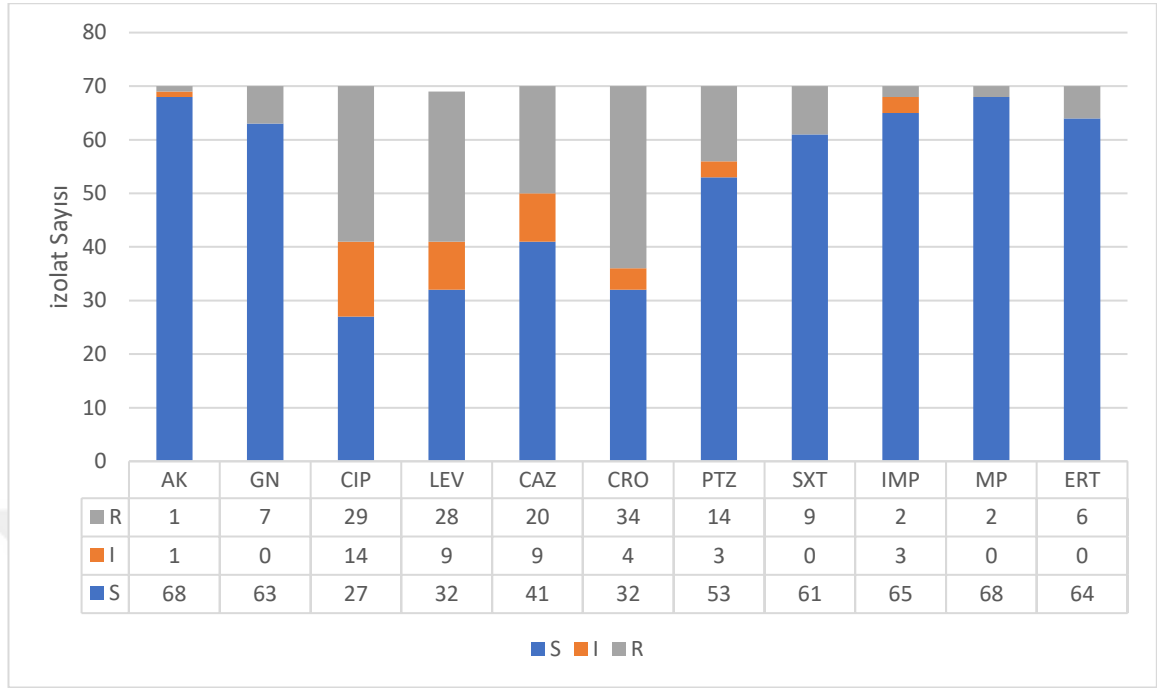
*AK: Amikasin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, CAZ: Seftazidim, CRO:

Seftriakson, PTZ: Piperasilin/Tazobaktam, SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol, IMP: İmipenem,

MP:Meropenem, ERT: Ertapenem. *(S-I-R/Cihaz sonucu)

S. marcescens izolatlarının direnç oranları Tablo 10'da gösterildi.

Tablo 10. *S. marcescens* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının oranları



*AK: Amikasin, GN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, PTZ: Piperasilin/Tazobaktam, SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol, IMP: İmipenem, MP:Meropenem, ERT: Ertapenem

S. marcescens izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonucu Tablo 11’de gösterildi.

Tablo 11. *S. marcescens* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonucu

Suş No	CAZ (zon çapı mm/ S-I- R)	CTX (zon çapı mm/ S-I-R)	CIP (zon çapı mm/ S-I-R)	LEV (zon çapı mm/ S-I-R)
TRSM 1	20 (I)	19 (I)	28 (S)	28 (S)
TRSM 2	19 (I)	19 (I)	28 (S)	28 (S)
TRSM 3	28 (S)	21 (S)	19 (R)	18 (R)
TRSM 5	9 (R)	6 (R)	10 (R)	10 (R)
TRSM 13	24 (S)	23 (S)	19 (R)	18 (R)
TRSM 23	17 (R)	6 (R)	27 (S)	27 (S)
TRSM 25	25 (S)	25 (S)	24 (I)	22 (I)
TRSM 31	23 (S)	22 (S)	21 (I)	21 (I)

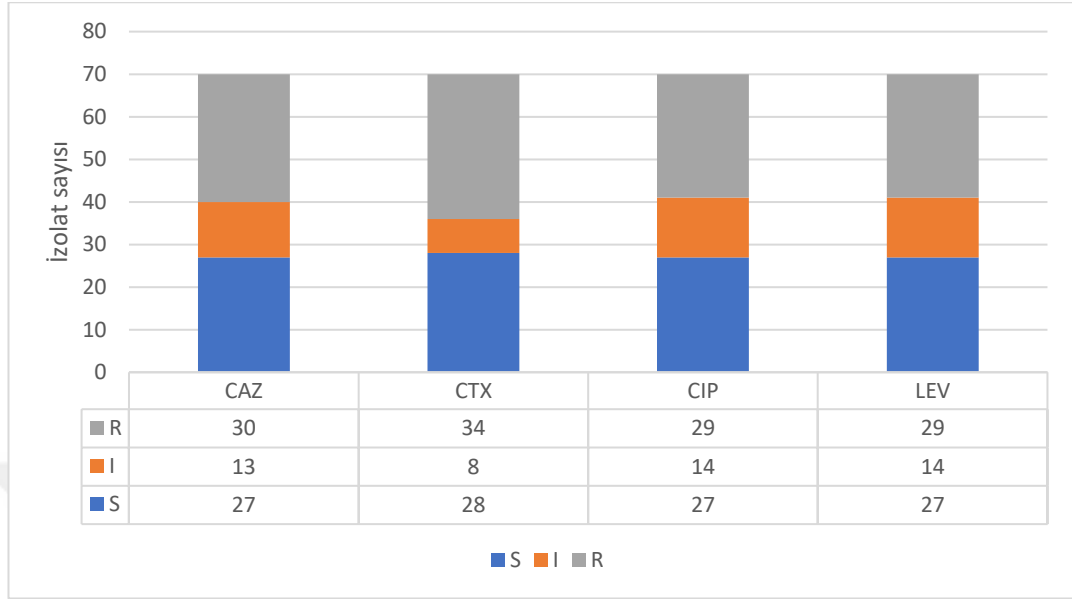
TRSM 32	23 (S)	21 (S)	19 (R)	18 (R)
TRSM 33	23 (S)	22 (S)	23 (I)	22 (I)
TRSM 34	23 (S)	21 (S)	21 (I)	19 (I)
TRSM 36	23 (S)	21 (S)	22 (I)	22 (I)
TRSM 41	18 (R)	6 (R)	19 (R)	18 (R)
TRSM 43	23 (S)	23 (S)	19 (R)	18 (R)
TRSM 44	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 47	19 (I)	18 (R)	19 (R)	18 (R)
TRSM 50	18 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 52	18 (R)	10 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 55	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 57	17 (R)	6 (R)	15 (R)	15 (R)
TRSM 58	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 61	21 (I)	19 (I)	26 (S)	26 (S)
TRSM 66	10 (R)	6 (R)	10 (R)	10 (R)
TRSM 67	10 (R)	6 (R)	18 (R)	18 (R)
TRSM 68	18 (R)	23 (S)	26 (S)	26 (S)
TRSM 73	21 (I)	19 (I)	26 (S)	26 (S)
TRSM 74	25 (S)	23 (S)	23 (I)	19 (I)
TRSM 77	25 (S)	23 (S)	18 (R)	18 (R)
TRSM 78	19 (I)	6 (R)	6 (R)	6 (R)
TRSM 80	19 (I)	6 (R)	18 (R)	18 (R)
TRSM 83	6 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 85	23 (S)	21 (S)	20 (R)	17 (R)
TRSM 86	18 (R)	18 (R)	18 (R)	18 (R)
TRSM 87	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 88	21 (I)	10 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 89	18 (R)	18 (R)	23 (I)	22 (I)
TRSM 90	23 (S)	22 (S)	18 (R)	18 (R)
TRSM 91	10 (R)	19 (I)	23 (I)	20 (I)
TRSM 92	23 (S)	21 (S)	22 (I)	22 (I)
TRSM 93	23 (S)	21 (S)	18 (R)	18 (R)
TRSM 94	25 (S)	25 (S)	23 (I)	22 (I)
TRSM 95	25 (S)	25 (S)	18 (R)	18 (R)
TRSM 96	24 (S)	22 (S)	18 (R)	18 (R)
TRSM 97	25 (S)	22 (S)	23 (I)	22 (I)
TRSM 98	6 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 100	25 (S)	22 (S)	20 (R)	18 (R)
TRSM 102	25 (S)	22 (S)	23 (I)	20 (I)
TRSM 103	21 (I)	19 (I)	26 (S)	26 (S)
TRSM 104	24 (S)	21 (S)	21 (R)	18 (R)
TRSM 105	25 (S)	25 (S)	19 (R)	18 (R)

TRSM 106	18 (R)	18 (R)	19 (R)	18 (R)
TRSM 107	6 (R)	6 (R)	6 (R)	6 (R)
TRSM 110	20 (I)	18 (I)	26 (S)	26 (S)
TRSM 111	23 (S)	23 (S)	16 (R)	16 (R)
TRSM 112	24 (S)	23 (S)	23 (I)	21 (I)
TRSM 114	18 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 115	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 116	18 (R)	18 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 117	15 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 118	21 (I)	15 (R)	18 (R)	18 (R)
TRSM 119	10 (R)	6 (R)	20 (R)	18 (R)
TRSM 120	19 (I)	6 (R)	21 (R)	18 (R)
TRSM 121	10 (R)	6 (R)	26 (S)	26 (S)
TRSM 122	15 (R)	6 (R)	27 (S)	26 (S)
TRSM 123	18 (R)	18 (R)	26 (S)	28 (S)
TRSM 125	18 (R)	6 (R)	28 (S)	26 (S)
TRSM 126	18 (R)	10 (R)	27 (S)	26 (S)
TRSM 128	23 (S)	22 (S)	23 (I)	20 (I)
TRSM 129	20 (I)	18 (I)	26 (S)	26 (S)
TRSM 130	25 (S)	25 (S)	20 (R)	18 (R)

CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, CAZ: Seftazidim, *CTX: Sefotaksim

S. marcescens izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının oranları Tablo 12’de gösterildi.

Tablo 12. *S. marcescens* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının oranları



* CAZ: Seftazidim, CTX: Sefotaksim, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre suşlar iki gruba ayrıldı. İlk grup seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli olan *S. marcescens* suşları, diğer grup siprofloksasin ve/veya levofloksasin orta duyarlı ve/veya dirençli olan *S. marcescens* suşlarıdır. Aynı anda birinci ve ikinci gruba dahil olan 16 adet suş vardı.

İlk gruptaki seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli olan *S. marcescens* suşlarından GSBL gradiyent strip test sonucu 43 suştan sadece birinde pozitif bulundu. TRSM-5 suşu hem GSBL gradiyent strip testi pozitif hem de *bla*_{CTX-M} geni pozitif. Bu suşların GSBL gradiyent strip test ve PZR sonucu Tablo 13’de gösterildi.

Tablo 13. GSBL gradiyent strip test ve PZR sonuçları

Suş No	GSBL Gradiyent Strip Test	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTXM}	<i>bla</i> _{OXA}
TRSM 1	-	+	-	-	-
TRSM 2	-	-	-	-	-
TRSM 5	+	-	-	+	-
TRSM 23	-	-	-	-	-
TRSM 41	-	-	-	-	-
TRSM 44	-	-	-	-	-
TRSM 47	-	-	-	-	-
TRSM 50	-	-	-	-	-
TRSM 52	-	-	-	-	-
TRSM 55	-	-	-	-	-
TRSM 57	-	-	-	-	-
TRSM 58	-	-	+	-	-
TRSM 61	-	-	-	-	-
TRSM 66	-	+	-	-	-
TRSM 67	-	-	-	-	-
TRSM 68	-	-	-	-	-
TRSM 73	-	-	-	-	-
TRSM 78	-	-	-	-	-
TRSM 80	-	-	-	-	-
TRSM 83	-	-	-	-	-
TRSM 86	-	-	-	-	-
TRSM 87	-	-	-	-	-
TRSM 88	-	-	-	-	-
TRSM 89	-	-	-	-	-
TRSM 91	-	-	-	-	-
TRSM 98	ND	-	-	-	-
TRSM 103	-	-	-	-	-
TRSM 106	-	+	-	-	-
TRSM 107	ND	+	-	-	-
TRSM 110	-	-	-	-	-
TRSM 114	-	-	-	-	-
TRSM 115	-	-	-	-	-
TRSM 116	-	-	-	-	-
TRSM 117	-	-	-	-	-
TRSM 118	-	-	-	-	-
TRSM 119	-	-	-	-	-
TRSM 120	-	-	+	-	-

TRSM 121	-	-	-	-	-
TRSM 122	-	-	-	-	-
TRSM 123	-	-	-	-	-
TRSM 125	-	-	-	-	-
TRSM 126	-	-	-	-	-
TRSM 129	-	-	-	-	-

*ND: Tanımlanamadı

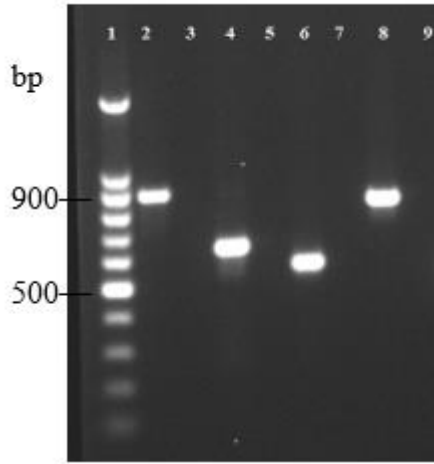
Beta-laktamaz genlerinin direnç geni oranları Tablo 14'te gösterildi.

Tablo 14. Beta-laktamaz genlerinin direnç geni oranları

Direnç Geni	Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%
<i>bla_{TEM}</i>	4	9,3	39	90,7
<i>bla_{SHV}</i>	2	4,7	41	95,3
<i>bla_{CTX-M}</i>	1	2,3	42	97,7
<i>bla_{OXA}</i>	0	0	43	100

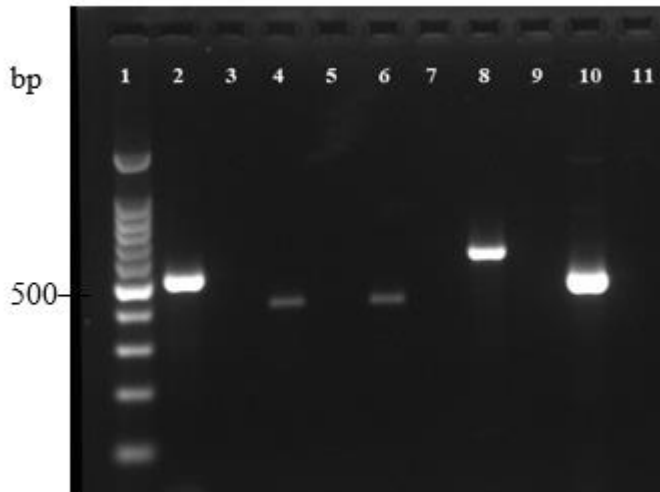
Direnç genlerinden *bla_{TEM}* genini taşıyan dört suş (n=4), *bla_{SHV}* genini taşıyan iki suş (n=2), *bla_{CTX-M}* genini taşıyan bir suş (n=1) saptandı. *bla_{OXA}* genini taşıyan hiçbir suş (n=0) saptanmadı. Sıvıda konjugasyon deneyi ile GSBL üreticisi genleri taşıyan hiçbir plazmitte konjugasyon ile aktarım tespit edilemedi.

Şekil 10'da GSBL genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü, şekil 11'de ise kinolon direnç genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 10. Beta-laktamaz genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü

1; moleküler ağırlık standardı, 2; *bla*_{TEM} pozitif kontrol, 3; *bla*_{TEM} negatif kontrol, 4; *bla*_{SHV} pozitif kontrol, 5; *bla*_{SHV} negatif kontrol, 6; *bla*_{CTX-M} pozitif kontrol, 7; *bla*_{CTX-M} negatif kontrol, 8; *bla*_{OXA} pozitif kontrol, 9; *bla*_{OXA} negatif kontrol.



Şekil 11. Kinolon direnç genlerinin pozitif kontrollerinin PZR görüntüsü

1; moleküler ağırlık standardı, 2; *qnrA* pozitif kontrol, 3; *qnrA* negatif kontrol, 4; *qnrB* pozitif kontrol, 5; *qnrB* negatif kontrol, 6; *qnrS* pozitif kontrol, 7; *qnrS* negatif kontrol, 8; *qepA* pozitif kontrol, 9; *qepA* negatif kontrol, 10; *aac(6')-Ib* pozitif kontrol, 11; *aac(6')-Ib* negatif kontrol.

Kinolon dirençli bakterilerin PZR sonucu Tablo 15'te gösterildi.

Tablo 15. Kinolon dirençli suşların PZR sonuçları

Suş No	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrS</i>	<i>qepA</i>	<i>aac(6')-Ib</i>
TRSM 3	+	-	-	-	-
TRSM 5	-	-	-	-	-
TRSM 13	-	-	-	-	-
TRSM 25	-	-	-	-	-
TRSM 31	-	-	+	-	-
TRSM 32	-	-	+	-	-
TRSM 33	-	-	+	-	-
TRSM 34	-	-	-	-	-
TRSM 36	-	-	-	-	-
TRSM 41	-	-	-	-	-
TRSM 43	-	-	-	-	-
TRSM 47	-	-	-	-	-
TRSM 57	-	-	-	-	-
TRSM 66	-	-	-	-	+
TRSM 67	-	-	-	-	-
TRSM 74	-	-	-	-	-
TRSM 77	-	-	-	-	-
TRSM 78	-	-	-	-	-
TRSM 80	-	-	-	-	-
TRSM 85	-	-	-	-	-
TRSM 86	-	-	-	-	-
TRSM 89	-	-	-	-	-
TRSM 90	-	-	-	-	-
TRSM 91	-	-	-	-	-
TRSM 92	-	-	-	-	-
TRSM 93	-	-	-	-	-
TRSM 94	-	-	-	-	-
TRSM 95	-	-	-	-	-
TRSM 96	-	-	-	-	-
TRSM 97	-	-	-	-	-
TRSM 100	-	-	-	-	-
TRSM 102	-	-	-	-	-
TRSM 104	-	-	-	-	-
TRSM 105	-	-	-	-	-
TRSM 106	-	-	-	-	-
TRSM 107	-	-	-	-	-
TRSM 111	-	-	-	-	-

TRSM 112	-	-	-	-	-
TRSM 118	-	-	-	-	-
TRSM 119	-	-	-	-	+
TRSM 120	-	-	-	-	-
TRSM 128	-	-	-	-	-
TRSM 130	-	-	-	-	-

Kinolon dirençli suşların direnç geni oranları Tablo 16’da gösterildi.

Tablo 16. Kinolon dirençli suşların direnç geni oranları

Direnç Geni	Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%
<i>qnrA</i>	1	2,3	42	97,7
<i>qnrB</i>	0	0	43	100
<i>qnrS</i>	3	7	40	93
<i>qepA</i>	0	0	43	100
<i>aac(6')-Ib</i>	2	4,7	41	95,3

Kinolon dirençli grupta 43 adet suş bulunmaktadır. Direnç genlerinden *qnrA*’yı taşıyan bir suş (n=1), *qnrS*’yi taşıyan üç suş (n=3), *aac(6')-Ib*’yi taşıyan ise iki suş (n=2) yer aldı. *qnrB* ve *qepA* genleri hiçbir suşta (n=0) saptanamadı.

Tüm suşlardan sadece TRSM-66 suşunun *bla_{TEM}* ve *aac(6')-Ib* genini birlikte taşıdığı saptandı.

5. TARTIŞMA

Serratia spp. doğada her yerde bulunan bir bakteridir. İnsanlarda en sık enfeksiyonlara yol açan türü *S. marcescens*'tir. *S. marcescens* 1950'li yıllara kadar doğada bulunan zararsız bir bakteri olarak biliniyordu. Bu yıllardan sonra hastanelerde (özellikle yoğun bakım ünitelerinde) salgınlar yapabilen, çoklu ilaç direnci oluşturabilen bir bakteri olduğu anlaşıldı. Her yaş grubundan insanda enfeksiyon yapabilir ancak özellikle pediatrik yaş grubunda ve bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda sıklıkla görülen enfeksiyon etkenidir (1, 2, 4, 5, 6, 54).

Gram negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde beta laktamlar ve kinolon grubu sıklıkla kullanılmaktadır. *S. marcescens* zaman içinde hızlıca birçok antimikrobiyale direnç kazanmaya devam etmektedir. Bu durum tedavide zorluklara yol açmaktadır. Antimikrobiyal direnç gelişiminde önemli faktörler arasında GSBL enzimlerin üretimi ve kinolon direnci yer almaktadır (3, 55).

Antimikrobiyal dirençlere neden olan genlerin plazmitler aracılığıyla bakteriler arasında yayılması hastanelerde morbidite ve mortalite oranlarının artmasına neden olmaktadır (11). Ayrıca, *S. marcescens* kromozomal AmpC üreticisi olduğundan birçok beta-laktam grubuna da doğal dirençlidir (ampisilin, amoksisilin/klavulanat gibi). Bu da tedavide kullanılabilen antibiyotikleri sınırlandırmaktadır (9, 55).

Antimikrobiyal direnç mekanizmasının epidemiyolojik verilerle takibi çok önemlidir. Hem ampirik tedavi protokollerinin düzenlenmesinde hem de bölgesel veya ulusal antibiyotik direnç profilinin belirlenmesinde katkı sağlamaktadır. Ayrıca, dirençli bakterilerin laboratuvarında iyi tanımlanması tedavinin doğru yönlendirilmesi bakımından önem taşımaktadır (56).

McCann ve arkadaşları (57) Ohio, ABD'de 2014 - 2018 arası kan kültüründe *Serratia* pozitifliği olan 103 hasta ile yaptığı çok merkezli bir çalışmada hastaların ortalama yaşı 57 (41-72) bulunmuştur. Hastaların %39'u (n=40) kadın, %61'i (n=63) erkek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise, *S. marcescens* izole edilen hastaların ortalama yaşı 55,3±31,1 (0-98)'di. Yenidoğandan 98 yaşa kadar geniş bir aralıktadır. Hastaların %27,1'ü (n=19) kadın, %72,9'sı (n=51) erkektir. Bizim çalışmamızda

antibiyotik dirençli bir grup *S. marcescens* çalışmaya dahil edildiğinden McCann ve arkadaşlarının (57) çalışmasıyla eşit şartlarda olmamaktadır.

Gonzalez ve arkadaşları (56) çalışmasında 2016-2017 yılları arasında Meksika'nın iki farklı bölgesinden çok merkezli yaptıkları çalışmaya 193 adet *S. marcescens* dahil edilmiştir. Bunların, %24,3 (n=47) ile idrar, ardından %19,6 (n=38) ile solunum yolu örnekleri, %19,6 (n=38) ile kan kültürü, %19,1 (n=37) ile yara/apse ve %12,9 (n=25) ile biyopsi örnekleridir. Simsek ve arkadaşları (58) 2014 – 2018 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversite Hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen 158 *S. marcescens* ile yaptığı çalışmasında en sık %35,4 (n=56) ile kan kültürü, sonra %24,6 (n=39) ile balgam, %15,8 (n=25) ile yara kültürü ve %9,4 ile idrar kültürü ve diğerleri olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise *S. marcescens* izole edilen klinik örneklerden en sık %42,9 (n=30) ile solunum yolu örnekleri, %31,4 (n=22) ile idrar, %10 (n=7) ile yara, %5,7 (n=4) ile kan kültürü ve diğerleri olarak bulunmuştur.

Simsek ve arkadaşları (58) 2014 – 2018 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversite Hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen 158 *S. marcescens* ile yaptığı çalışmasında hastaların servislere göre dağılımına bakıldığında en sık %25,9 (n=41) ile anestezi YBÜ'den, %19,6 (n=31) ile göğüs hastalıklarından, %6,9 (n=11) pediatri bölümünden izole edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise en sık %18,6 (n=13) ile cerrahi bilimler servislerinden, %18,6 (n=13) çocuk sağlığı ve hastalıkları biriminden, %17,1 (n=12) ile YBÜ'den ve diğer birimlerden izole edilmiştir.

Zhu ve arkadaşları (13) *Serratia* spp. tanımlanması için bakterinin çekirdek algılama sisteminde bulunan *pfs* ve *luxS* genlerinin varlığının kullanılabileceğini literatüre tanımlamıştır. *Serratia* spp'nin tanımlanması için PZR alternatif bir yöntem olarak kullanılabilmektedir. Bizim çalışmamızda da konvansiyonel yöntemler ve MALDI-TOF (Bruker, Almanya) ile tanımlanmış 70 adet *S. marcescens* suşlarının hepsinde *pfs* ve *luxS* genleri PZR ile pozitif bulunmuştur.

Gonzalez ve arkadaşları (56) çalışmasında 2016-2017 yılları arasında Meksika'nın iki farklı bölgesinden çok merkezli yaptıkları çalışmaya 193 adet *S. marcescens* dahil edilmiştir. 193 *S. marcescens* ile yaptığı çalışmasında en az direnç oranı yaklaşık %8 ile ertapenem ve meropenem, sonra %21,3 ile siprofloksasin, %22,8

ile gentamisin, %24,4 ile amikasin ve %29,6 ile seftriakson bulunmuştur. Yang ve arkadaşları (59) 2015 yılında 81 tane *S. marcescens* ile yaptığı çalışmada direnç oranı %2,5 amikasin, % 2,5 levofloksasin ve %25,9 seftriakson bulunmuştur. Simsek ve arkadaşları (58) 2014 – 2018 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversite Hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen 158 *S. marcescens* ile yaptığı çalışmada en az direnç oranı %0,6 (n=1) ile gentamisin, %1,2 (n=2) ile levofloksasin, %2,5 (n=4) trimetoprim/sulfometoksazol, %4,4 (n=7) siprofloksasin, %6,3 (n=10) amikasin, %12 (n=19) ertapenem, %13,2 (n=21) imipenem ve meropenem, %19,6 (n=31) piperasilin/tazobaktam, %19,6 (n=31) seftazidim ve %22,7 (n=36) seftriakson bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise otomatize sistem antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına bakıldığında, direnç oranları en az %1,4 direnç ile amikasin, sonra %2,8 ile imipenem ve meropenem, %8,6 ertapenem, %10 gentamisin, %12,9 trimetoprim/sulfometoksazol, %20 piperasilin/tazobaktam, %28,6 seftazidim, %41,4 siprofloksasin ve levofloksasin %48,6 seftriakson bulunmuştur. Ayrıca; ampisilin, amoksisilin klavulanat ve kolistine doğal dirençlidir. Çalışmamıza dahil edilecek bakteriler seftazidim ve/veya sefotaksim veya siprofloksasin ve/veya levofloksasin orta duyarlı ve/veya dirençli olanlar olduğundan, buradaki direnç oranı literatürden farklı çıkmıştır.

EUCAST standartlarına göre (60) *Enterobacterales* takımında EUCAST sınır değerlerine göre seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli (veya sefpodoksim dirençli) olması GSBL taramasının pozitif olduğunu göstermektedir. *S. marcescens* gibi indüklenebilir kromozomal AmpC üreticisi bir bakteri ise sefepim/sefepim-klavulanat ile GSBL doğrulanması yapılmaktadır. Bunlar GSBL tespiti için kullanılan fenotipik testlerdir. Ayrıca GSBL tespiti için genotipik testler (PZR, genom sekanslama vb.) kullanılabilir. Başka kullanılan fenotipik ve genotipik testler de literatürde mevcuttur (61).

McCann ve arkadaşları (57) Ohio, ABD’de 2014 - 2018 arası kan kültüründe *Serratia* pozitifliği olan hastalar ile yaptığı çok merkezli bir çalışmada 103 tane *Serratia* spp içinden 11 tanesinde GSBL doğrulamıştır (%11). McCann ve arkadaşlarının (57) çalışmada antibiyotik direncine bakılmaksızın tüm *Serratia* suşları çalışmaya dahil edilmiştir. Bizim çalışmamızda, *S. marcescens* GSBL doğrulanması için sefepim/sefepim-klavulanat içeren gradiyent strip test

kullanılmıştır. Seftazidim ve/veya sefotaksim duyarlı bulunmayan 43 bakteriden bir tanesinde GSBL gradiyent strip test pozitif bulunmuştur ve GSBL doğrulanmıştır (%2,3). Aynı bakteride *bla*_{CTX-M} geni de pozitif bulunmuştur. Böylece, TRSM-5 suşunda hem fenotipik hem de genotipik GSBL üreticisi olduğunu göstermektedir.

Gonzalez ve arkadaşları (56) seftazidim dirençli 22 *S. marcescens* izolatında *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} ve *bla*_{CTX-M} genlerini taramıştır. En sık %90,9 (n=20) ile *bla*_{TEM}, sonra %4,5 (n=1) ile *bla*_{SHV} tespit edilmiştir. Hiçbir suşta *bla*_{CTX-M} bulunmamıştır.

Wu ve arkadaşları (55) Tayvan’da bir tıp merkezinde sefotaksim dirençli 34 *S. marcescens* izolatında GSBL genlerini taramıştır ve konjugasyon deneyi yapmıştır. Bunlardan %65 (n=22)’inde GSBL üretimi genotipik olarak *bla*_{CTX-M-3} pozitifliğiyle doğrulanmıştır. Bu suşlardan bir tanesinde ek olarak *bla*_{SHV-5} bulunmuştur. Yirmi iki suşun 6 tanesi konjugasyon yapmıştır. Transkonjugantlar incelendiğinde çoğu GSBL’yi fenotipik olarak göstermiştir, ancak; bazılarında MİK düşüşleri olmuştur ve bu durum kromozomal AmpC olmamasına bağlanmıştır. *S. marcescens*’te sefotaksim direnci plazmit aracılı CTX-M-3 ile olabileceği gibi kromozomal SRT-2 AmpC beta laktamaz ile de olabilmektedir. Bu durumda plazmit aracılı GSBL AmpC derepresyonu kadar önemlidir. Sefotaksim direncinde mutlaka erken doğru direnç mekanizmasının tanısı ve uygun tedavisi çok önem taşımaktadır.

Samonis ve arkadaşları (62) 2010- 2015 yılları arasında Yunanistan’da 700 yataklı bir üçüncü basamak hastanesinde 378 kopya olmayan *Serratia* suşları ile yaptığı çalışmada 336 *S. marcescens* (%88,3) bulmuştur. Bu suşların yıllar içindeki antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarındaki değişiklikleri raporlamıştır. GSBL üreticisi %7,9 *S. marcescens* (n=30) bulmuştur. En yaygın beta-laktam direnci GSBL üretimi, CTX-M ise en sık görülen olarak tanımlamıştır. Karbapenem dışı beta-laktamlar ve aminoglikozit duyarlılığında yıllar içinde azalma görülmüştür.

Elsherbiny ve arkadaşları (63) Mısır’da 22 *S. marcescens* izolatında GSBL genlerine bakmıştır ve %45 (n=10) GSBL üreticisi olduğu doğrulamıştır. Bunlardan %40,9 (n=9) *bla*_{CTX-M}, %31,8 (n=7) *bla*_{TEM} ve %31,6 (n=3) *bla*_{SHV} bulunmuştur. Bir izolatta bir tane GSBL geni, 9 izolatta ikiden fazla GSBL geni bulunmuştur.

Jean ve arkadaşları (64) Eylül 2005 – Kasım 2005 arasında Tayvan’da on büyük eğitim merkezindeki YBÜ’den izole edilen 574 *Enterobacterales* takımından bakterilerle yaptığı çalışmada, 68 *S. marcescens* izolatında fenotipik GSBL üretiminin %16 olduğunu göstermiştir.

Tamma ve arkadaşlarının (65) ABD’de Nisan 2019 - Temmuz 2020 arasında çok merkezli yaptığı prevalans çalışmasında, 167 *S. marcescens* izolatında <%1 (n=1) *bla*_{CTX-M} pozitif bulunmuştur.

Ivanova ve arkadaşları (66) Bulgaristan’da Mayıs - Haziran 2003'te Sofya'daki 450 yataklı bir hastanede *bla*_{CTX-M-3} tipi GSBL üreten *S. marcescens* ‘in yaptığı bir salgını göstermiştir. İzolatların analizi sonucu salgın kaynağının tek bir klon olduğunu göstermiştir. *S. marcescens*’te GSBL üreticisi izolatların salgını AmpC derepresyonu ile birlikte tedavide ciddi sıkıntılara yol açmaktadır. Ivanova ve arkadaşlarının gösterdiği salgını yoğun el yıkama gibi enfeksiyon kontrol önlemleriyle kontrol altına almışlardır.

GSBL enzimleri plazmit üzerinde kodlanır ve yatay gen transferiyle yayılmaktadır. Bu plazmitler üzerinde başka antimikrobiyallere direnç genleri de bulunabilir. Böylece, GSBL ile birlikte başka antimikrobiyallere direnç de gelişebilir. Bu durum tedavi başarısızlığına ve mortalite artışlarına yol açmaktadır. Ayrıca, kolay yayılımından dolayı salgınlara da sebep olmaktadır. GSBL üreticisi bakteriler erken tanımlanması ve uygun tedavi protokolleri uygulanması bundan dolayı hayati önem taşımaktadır. Her hastane kendi enfeksiyon kontrol önlemlerinin takibini iyi yapmalıdır (67).

Bizim çalışmamızda ise, *bla*_{TEM} pozitif %9,3 (n=4), *bla*_{SHV} pozitif %4,7 (n=2) ve *bla*_{CTX-M} pozitif %2,3 (n=1) bulunmuştur. *bla*_{OXA} pozitif suş bulunmamıştır. GSBL üreticisi bir suş olduğu gradiyent strip test ve PZR ile doğrulanmıştır (% 2,3). Bizim hastanemizdeki *S. marcescens* suşlarının GSBL üretiminin literatürdeki çalışmalara yakın veya daha az olduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamızda sıvıda konjugasyon deneyi ile hiçbir plazmitte aktarım tespit edilemedi. Çok düşük etkinlikte (<10⁻⁷) olduğu için de sıvıda konjugasyon deneyi ile tespit edilememiş olabilir. Literatürde bu genlerin çoğunlukla plazmit

üzerinde taşındığı ve belirli oranlarda konjugasyon yaptığı bilinmektedir. Konjugasyon bakterinin çevre koşulları, plazmit veya konak faktörlerinin etkisiyle düzenlenir (37). Bu sebeplerin etkisiyle konjugasyon yapmamış olabilir. Genlerin bulunduğu plazmit konjugatif olmayabilir (37, 68). GSBL genleri plazmit üzerinde değil, kromozomda olabilir (67). Karadeniz bölgesinde, AmpC üreticisi diğer bakteriler de dahil edilerek yapılacak daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yang ve arkadaşları (69) 2005'ten 2011'e kadar Çin'in Anhui kentindeki 34 hastaneden toplanan 146 *S. marcescens* suşunda plazmit aracılı kinolon direnç genlerine ve *gyrA* ve *parC* mutasyonuna bakmıştır. Suşların %4,8 (n=7)'inde plazmit aracılı kinolon direnç geni bulunmuştur. Çalışmada, %3,4 (n=5) *aac(6')-Ib-cr*, %1,3 (n=2) *qnrS2* ve %1,3 (n=2) *qnrB6* bulunmuştur. Bunlardan *aac(6')-Ib-cr*'yi taşıyan iki suş aynı anda sırasıyla *qnrS2* ve *qnrB6* taşıdığı da bulunmuştur. Yedi plazmit aracılı kinolon direnç geni taşıyan plazmitin 6 tanesi konjugasyon yapmıştır. *aac(6')-Ib-cr*, *qnrS2* ve *qnrB6* gibi plazmit aracılı genler taşıyan suşlarda aynı zamanda *gyrA* ve *parC* mutasyonu da bulunmuştur. Burada kinolon direncine kromozomal mutasyonların ve plazmit aracılı kinolon direncinin birlikte sebep olduğu düşünülmüştür.

Park ve arkadaşları (70) Mart ve Temmuz 2005 arasında Kore'de 12 klinik laboratuvarından izole edilen 166 *S. marcescens* ile yaptıkları çalışmada %66,3 (n=110) siprofloksasin MİK $\geq 0,25$ mg/L, nalidiksik asit MİK ≥ 16 mg/L bulunmuştur. Bu 166 *S. marcescens* %2,4 (n=4)'sinde *qnr* geni bulunmuştur. Bunların %0,6 (n=1) *qnrA1*, %1,2 (n=2) *qnrB1* ve %0,6 (n=1) *qnrB4* olarak bulunmuştur. Yirmi bir tanesinde (%12,7) GSBL doğrulanmıştır ve bir tanesinde (%4,8) *qnrB* pozitif olduğunu bulunmuştur.

Yang ve arkadaşları (9) 2005'ten 2011'e kadar Çin'in Anhui kentindeki 34 hastaneden toplanan 146 *S. marcescens* ile yaptığı çalışmada %17,1 (n=25) sefotaksim dirençli, %21,9 (n=32) seftazidim dirençli bulunmuştur. Bunlardan, %7,5 (n=11)'i fenotipik GSBL üreticisi olduğu doğrulanmıştır. Bu 11 GSBL üreticisine genotipik ile bakıldığında 5 tane *bla_{CTX-M-14}*, 3 tane *bla_{SHV-5}* toplam 7 tane suş içinde tek veya kombine olarak bulunmuştur. Ayrıca, 6 tane *bla_{TEM-1}* ve 4 tane *bla_{OXA-1}* bulunmuştur. Yedi genotipik GSBL üreticisi suş içinde plazmit aracılı kinolon direnci varlığı bakılmıştır. Bunlardan, 4 tane *aac(6')-Ib* bulunmuştur, bir tanesi *qnrS2*'yi de taşıdığı ve bir tanesi de tek başına *qnrB6*'yı taşıdığı gösterilmiştir. Hiçbir suşta *qnrA*, *qnrC*,

qnrD ve *qepA* bulunmamıştır. Yang ve arkadaşlarının çalışmasında (9), 7 GSBL üreticisi suştan 5 tanesi (%71,4) plazmit aracılı kinolon direnç geni yüksek oranda taşıdığı gösterilmiştir. Bu genlerin birlikte taşınması GSBL üreticisi suşlarda kinolon kullanımının dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Bundan dolayı GSBL üreticisi olduğunda kullanacağımız antibiyotikler kısıtlanmaktadır.

Yang ve arkadaşları (71) 2005 ile 2010 yılları arasında Çin'in Anhui kentindeki 34 hastanede toplam 104 *S. marcescens*'te 16S rRNA metilaz genlerinin (*armA*) varlığını ayrıca GSBL ve plazmit aracılı kinolon direnci ile birlikteliğini araştırmıştır. 16S rRNA metilaz genleri aminoglikozit direnciyle ilgilidir. Aminoglikozitler beta-laktamlarla sinerjistik etkilerinden dolayı gram negatif bakterilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Toplam 104 *S. marcescens* izolatından 2 *armA* pozitif izolat tanımlanmıştır. Konjugasyon deneyleri ile, *aac(6')-Ib-cr*, *qnrS2*, *bla_{TEM-1}*, *bla_{CTX-M-14}*, *bla_{SHV-5}*, *bla_{OXA-1}* ve DHA-1'in *armA* ile alıcıya birlikte transfer edildiği gösterilmiştir. Böylece aminoglikozit direnci de GSBL ve plazmit aracılı kinolon direnci gibi plazmit üzerinde taşınabilir ve aktarılabilir olduğu gösterilmiştir.

Plazmit üzerinde taşınan antimikrobiyal direnç genleri yatay gen transferiyle birlikte taşınabilir. Bu durum dirençli bakterilerin yayılımını kolaylaştırmaktadır (11, 37). Burada bu direnç profilinin doğru tanınması tedavi açısından ciddi önem taşımaktadır (56).

Bizim çalışmamızda, kinolon direnç genleri oranları *qnrA* %2,3 (n=1), *qnrS* %7 (n=3), *aac(6')-Ib* %4,7 (n=2)'dir . *qnrB* ve *qepA* hiçbir suşta (n=0) saptanamadı.

Çalışmamızdaki plazmit aracılı kinolon genleri literatürle uyumlu bulunmuştur. Yalnızca plazmit aracılı kinolon genleri kinolon direnci oluşturmamaktadır. Kromozomal mutasyonlar (*gyrA*, *gyrB*, *parC* ve *parE* gibi) asıl kinolon direncini oluşturan mekanizmalardır. Ancak, plazmit üzerinde taşınan genlerin kolay yayılması, salgın oluşturma kapasitesi daha fazla olduğundan tedavi yanıtında ciddi sorun oluşturmaktadır (25, 26, 28, 32). Kinolon direncinin tam olarak anlaşılması için bu iki mekanizmanın birlikte değerlendirildiği sonraki çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde belirtildiği gibi birçok direnç geni aynı genomik yapı üzerinde taşınabilir (26, 32). Özellikle birçok çalışmada *Enterobacterales*'te GSBL ile plazmit aracılı kinolon direncinin birlikte taşındığı gösterilmiştir (9, 70, 71). Çalışmamızda, aynı anda iki gruba dahil olan 16 tane bakteri vardı. Sadece bir suş *bla*_{TEM} ve *aac*(6')-*Ib* genini birlikte taşımıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen, 70 tane *S. marcescens* dahil edildi. Tanımlama için *pfs* ve *luxS* geni bakıldı ve bütün bakteriler pozitif bulundu.

Hastaların %72 (n=51)'si erkekti ve ortalama yaşı 55,3±31,1 (0-98)'di. Geniş bir yaş dağılımı vardı. Kliniklere göre dağılımında en sık %18,6 (n=13) ile cerrahi bilimler servislerinden, %18,6 (n=13) çocuk sağlığı ve hastalıkları biriminden, %17,1 (n=12) ile YBÜ'den ve diğer birimlerden izole edildi. Klinik örneklerle göre dağılımında ise en sık %42,9 (n=30) ile solunum yolu örnekleri, %31,4 (n=22) ile idrar, %10 (n=7) ile yara, %5,7 (n=4) ile kan kültürü ve diğerleri olarak bulundu.

İzole edilen 70 tane *S. marcescens*'ten antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre iki gruba ayrıldı. İlk grup seftazidim ve/veya sefotaksim orta duyarlı ve/veya dirençli 43 bakteri, diğer grup siprofloksasin ve/veya levofloksasin orta duyarlı ve/veya dirençli 43 bakteri içeriyordu. On altı tane bakteri her iki gruba da dahil edildi.

Seftazidim ve/veya sefotaksim duyarlı olmayan grupta, sefepim/sefepim-klavulanat ile bir tane bakteri fenotipik GSBL üreticisi olduğu gösterildi. Aynı suş *bla_{CTX-M}* genini de taşıyordu. Beta-laktamaz genlerinden, *bla_{TEM}* pozitif %9,3 (n=4), *bla_{SHV}* pozitif %4,7 (n=2) ve *bla_{CTX-M}* pozitif %2,3 (n=1) bulundu. *bla_{OXA}* pozitif suş bulunmadı. Ayrıca, GSBL geni pozitif suşlardan hiçbiri konjugasyon yapmadı.

Kinolon dirençli grupta, *qnrA* %2,3 (n=1), *qnrS* %7 (n=3), *aac(6')-Ib* %4,7 (n=2)'dir . *qnrB* ve *qepA* hiçbir suшта saptanamadı.

GSBL üreticisi genlerin ve plazmit aracılı konjugasyon sıklığı literatürden daha az bulunmuştur. Bunun birden çok faktörlü sebepleri olabilir. Genlerin bulunduğu plazmit konjugatif olmayabilir, genler plazmit üzerinde değil kromozomal kodlanıyor olabilir. Bakteriyel ortam ve çevresel faktör konjugasyon için uygun olmamış olabilir. Bu faktörler kesin kanıtlanmamakla birlikte sebep olabilir.

Öneriler:

Antimikrobiyal direnç profili sürekli izlenmelidir. Epidemiyolojik veri takibi bölgesel ve uluslararası direnç profilinin belirlenmesinde yardımcı olacaktır.

Antimikrobiyal direnç profiline göre tedavi protokolleri düzenlenmesi önemlidir.

Her hastane kendi direnç profilini iyi takip etmelidir.

Her hastane enfeksiyon kontrol önlemlerini uygulamalıdır.

Özellikle AmpC (kromozomal sefalosporinaz) üreticisi bakterilerde direnç mekanizmalarının gösterilmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. Hejazi A, Falkiner FR. *Serratia marcescens*. J Med Microbiol. 1997;46(11):903-12.
2. Tavares-Carreón F, De Anda-Mora K, Rojas-Barrera IC, Andrade A. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. PeerJ. 2023;11:e14399.
3. Zivkovic Z, Zaric R, Zaric M, Sekulic M, Zornic N, Nesic J, Rosic V, et al. Antimicrobial Treatment of *Serratia marcescens* Invasive Infections: Systematic Review. Antibiotics (Basel). 2023;12(2).
4. Atmaca S ÖT, Yakut S, Akpolat N, Gül K. *Serratia* türlerinin identifikasyonu, klinik dağılımı, antibiyotik duyarlılığı. ANKEM Derg. 2018;32(2):62-71.
5. Cristina ML, Sartini M, Spagnolo AM. *Serratia marcescens* Infections in Neonatal Intensive Care Units (NICUs). Int J Environ Res Public Health. 2019;16(4).
6. Celejewski-Marciniak P, Wolinowska R, Wróblewska M. Molecular Characterization of Class 1, 2 and 3 Integrons in *Serratia* spp. Clinical Isolates in Poland - Isolation of a New Plasmid and Identification of a Gene for a Novel Fusion Protein. Infect Drug Resist. 2021;14:4601-10.
7. Khanna A, Khanna M, Aggarwal A. *Serratia marcescens*- a rare opportunistic nosocomial pathogen and measures to limit its spread in hospitalized patients. J Clin Diagn Res. 2013;7(2):243-6.
8. Naumiuk L, Baraniak A, Gniadkowski M, Krawczyk B, Rybak B, Sadowy E, et al. Molecular epidemiology of *Serratia marcescens* in two hospitals in Gdańsk, Poland, over a 5-year period. J Clin Microbiol. 2004;42(7):3108-16.
9. Yang HF, Cheng J, Hu LF, Ye Y, Li JB. Plasmid-mediated quinolone resistance in extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC β -lactamase-producing *Serratia marcescens* in China. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(8):4529-31.
10. Herra C, Falkiner. FR. *Serratia marcescens*. [(accessed on 1 September 2022)]. Available online: <http://www.antimicrobe.org/b26.asp>.
11. Nachimuthu R, Kannan VR, Bozdoğan B, Krishnakumar V, S KP, Manohar P. CTX-M-type ESBL-mediated resistance to third-generation cephalosporins and conjugative transfer of resistance in Gram-negative bacteria isolated from hospitals in Tamil Nadu, India. Access Microbiol. 2021;3(3):000142.

12. Nazzaro G, Veraldi S. *Serratia marcescens*: an Italian story. *Int J Dermatol*. 2017;56(7):795-6.
13. Zhu H, Sun SJ, Dang HY. PCR detection of *Serratia* spp. using primers targeting *pfs* and *luxS* genes involved in AI-2-dependent quorum sensing. *Curr Microbiol*. 2008;57(4):326-30.
14. Haddix PL, Shanks RMQ. Prodigiosin pigment of *Serratia marcescens* is associated with increased biomass production. *Arch Microbiol*. 2018;200(7):989-99.
15. Yip CH, Yarkoni O, Ajioka J, Wan KL, Nathan S. Recent advancements in high-level synthesis of the promising clinical drug, prodigiosin. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019;103(4):1667-80.
16. Tunca Koyun M, Sirin S, Aslim B, Taner G, Nigdelioglu Dolanbay S. Characterization of prodigiosin pigment by *Serratia marcescens* and the evaluation of its bioactivities. *Toxicol In Vitro*. 2022;82:105368.
17. Muyldermans A, Crombé F, Bosmans P, Cools F, Piérard D, Wybo I. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit and the potential of whole-genome sequencing. *J Hosp Infect*. 2021;111:148-54.
18. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(8).
19. Akpaka PE, Vaillant A, Wilson C, Jayaratne P. Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Produced by Gram-Negative Bacteria in Trinidad and Tobago. *Int J Microbiol*. 2021;2021:5582755.
20. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980;289(1036):321-31.
21. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39(6):1211-33.
22. Gary W. Procop M, MS at al. *Konemann's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Hipokrat yayinevi Ankara. 2017:1075-96 ve 138-146.
23. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(2).
24. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):657-86.

25. Yassine I, Rafei R, Osman M, Mallat H, Dabboussi F, Hamze M. Plasmid-mediated quinolone resistance: Mechanisms, detection, and epidemiology in the Arab countries. *Infect Genet Evol.* 2019;76:104020.
26. Correia S, Poeta P, Hébraud M, Capelo JL, Igrejas G. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *J Med Microbiol.* 2017;66(5):551-9.
27. Osei Sekyere J, Amoako DG. Genomic and phenotypic characterisation of fluoroquinolone resistance mechanisms in Enterobacteriaceae in Durban, South Africa. *PLoS One.* 2017;12(6):e0178888.
28. Yang H, Chen G, Cheng J, Liu Y, Hu L, Ye Y, et al. Discovery of a fluoroquinolone-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate without quinolone resistance-determining region mutations. *Ann Lab Med.* 2014;34(6):487-8.
29. Kim JH, Cho EH, Kim KS, Kim HY, Kim YM. Cloning and nucleotide sequence of the DNA gyrase *gyrA* gene from *Serratia marcescens* and characterization of mutations in *gyrA* of quinolone-resistant clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(1):190-3.
30. Bush NG, Diez-Santos I, Abbott LR, Maxwell A. Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules.* 2020;25(23).
31. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry.* 2014;53(10):1565-74.
32. Kraychete GB, Botelho LA, Campana EH, Picão RC, Bonelli RR. Updated Multiplex PCR for Detection of All Six Plasmid-Mediated *qnr* Gene Families. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(12):7524-6.
33. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet.* 1998;351(9105):797-9.
34. Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, et al. *qnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(4):1178-82.
35. Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Sato K, Ibe S, et al. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(2):801-3.
36. Soucy SM, Huang J, Gogarten JP. Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet.* 2015;16(8):472-82.

37. Virolle C, Goldlust K, Djermoun S, Bigot S, Lesterlin C. Plasmid Transfer by Conjugation in Gram-Negative Bacteria: From the Cellular to the Community Level. *Genes* (Basel). 2020;11(11).
38. Sandner-Miranda L, Vinuesa P, Cravioto A, Morales-Espinosa R. The Genomic Basis of Intrinsic and Acquired Antibiotic Resistance in the Genus *Serratia*. *Front Microbiol*. 2018;9:828.
39. Brito IL. Examining horizontal gene transfer in microbial communities. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(7):442-53.
40. Lederberg J, Tatum EL. Gene recombination in *Escherichia coli*. *Nature*. 1946;158(4016):558.
41. San Millan A, MacLean RC. Fitness Costs of Plasmids: a Limit to Plasmid Transmission. *Microbiol Spectr*. 2017;5(5).
42. Smalla K, Jechalke S, Top EM. Plasmid Detection, Characterization, and Ecology. *Microbiol Spectr*. 2015;3(1):Plas-0038-2014.
43. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. EUCAST. 2022;Version 12.0.
44. Chen WP, Kuo TT. A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. *Nucleic Acids Res*. 1993;21(9):2260.
45. Lim KT, Yasin R, Yeo CC, Puthucheary S, Thong KL. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals in Malaysia. *J Biomed Biotechnol*. 2009;2009:165637.
46. Moosavian M, Ahmadvosravy N. Survey of CTX-M Gene Frequency in Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolates Using the Combination Disk and PCR Methods in Ahvaz, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(11):e40423.
47. Poirel L, Naas T, Le Thomas I, Karim A, Bingen E, Nordmann P. CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase that hydrolyzes ceftazidime through a single amino acid substitution in the omega loop. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(12):3355-61.

48. Robicsek A, Strahilevitz J, Sahm DF, Jacoby GA, Hooper DC. qnr prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(8):2872-4.
49. El-Badawy MF, Tawakol WM, El-Far SW, Maghrabi IA, Al-Ghamdi SA, Mansy MS, et al. Molecular Identification of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates Recovered from Egyptian Patients. *Int J Microbiol.* 2017;2017:8050432.
50. Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, Sahm D, Hooper DC. Prevalence in the United States of aac(6')-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(11):3953-5.
51. Ozgumus OB, Sandalli C, Sevim A, Celik-Sevim E, Sivri N. Class 1 and class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in northern Turkey. *J Microbiol.* 2009;47(1):19-27.
52. Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA, Medeiros AA, Eliopoulos GM, Moellering RC, Jr., et al. Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum beta-lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34(11):2193-9.
53. Birnboim HC, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 1979;7(6):1513-23.
54. W L. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Lange Tıp Kitapları Güneş Tıp Kitabevleri Ankara. 2018.
55. Wu LT, Tsou MF, Wu HJ, Chen HE, Chuang YC, Yu WL. Survey of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) among cefotaxime-resistant *Serratia marcescens* at a medical center in middle Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;49(2):125-9.
56. González GM, de JT-RR, Campos CL, Villanueva-Lozano H, Bonifaz A, Franco-Cendejas R, et al. Surveillance of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens* in Mexico. *New Microbiol.* 2020;43(1):34-7.
57. McCann T, Elabd H, Blatt SP, Brandt DM. Intravenous Drug Use: a Significant Risk Factor for *Serratia* Bacteremia. *Ther Adv Infect Dis.* 2022;9:20499361221078116.

58. Simsek M. Determination of the antibiotic resistance rates of *Serratia marcescens* isolates obtained from various clinical specimens. *Niger J Clin Pract.* 2019;22(1):125-30.
59. Yang Q, Xu YC, Kiratisin P, Dowzicky MJ. Antimicrobial activity among gram-positive and gram-negative organisms collected from the Asia-Pacific region as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial: Comparison of 2015 results with previous years. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;89(4):314-23.
60. EUCAST. Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu. Versiyon 2.0 Temmuz 2017.
61. Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of Multidrug-Resistant Enterobacterales-From ESBLs to Carbapenemases. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(9).
62. Samonis G, Vardakas KZ, Maraki S, Stamouli P, Mavromanolaki VE, Kofteridis DP, et al. Resistance phenotypes and susceptibility of contemporary *Serratia* isolates in the university hospital of Crete, Greece. *Infect Dis (Lond).* 2017;49(11-12):847-53.
63. Elsherbiny NM, Ali IM, Hassanein KM, Ahmed MT. Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Serratia marcescens* causing healthcare-associated infections in Assiut University Hospitals, Egypt. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;13:96-7.
64. Jean SS, Hsueh PR, Lee WS, Chang HT, Chou MY, Chen IS, et al. Nationwide surveillance of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae in intensive care units in Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28(2):215-20.
65. Tamma PD, Smith TT, Adebayo A, Karaba SM, Jacobs E, Wakefield T, et al. Prevalence of bla(CTX-M) Genes in Gram-Negative Bloodstream Isolates across 66 Hospitals in the United States. *J Clin Microbiol.* 2021;59(6).
66. Ivanova D, Markovska R, Hadjieva N, Schneider I, Mitov I, Bauernfeind A. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Serratia marcescens* outbreak in a Bulgarian hospital. *J Hosp Infect.* 2008;70(1):60-5.
67. Dağlar D ÖG. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2012;1:1-9.
68. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(4).

69. Yang HF, Cheng J, Hu LF, Ye Y, Li JB. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinants in clinical isolates of *Serratia marcescens* in China. *J Antibiot (Tokyo)*. 2012;65(10):531-3.
70. Park YJ, Yu JK, Lee S, Oh EJ, Woo GJ. Prevalence and diversity of qnr alleles in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens*: a multicentre study from Korea. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(4):868-71.
71. Yang HF, Cheng J, Zhou X, Zhu YL, Liu YY, Hu LF, et al. 16S rRNA methylase gene, together with quinolone resistance determinant aac(6')-Ib-cr, in a *Serratia marcescens* isolate from China. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;76(1):123-4.

