

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARKLI KLİNİK NUMUNELERDEN İZOLE EDİLEN *E.COLİ* VE
KLEBSİELLA PNEUMONİAE SUŞLARINDA KARBAPENEM,
KİNOLON, KOLİSTİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI VE
KARBAPENEM DİRENÇLİ SUŞLARDA MULTİPLEKS PCR
YÖNTEMİ İLE KPC, NDM, VIM, OXA-48, IMP-1 GENLERİN
TESPİTİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Özge ALKAN BİLİK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

ŞANLIURFA

2017

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARKLI KLİNİK NUMUNELERDEN İZOLE EDİLEN *E.COLİ* VE
KLEBSİELLA PNEUMONİAE SUŞLARINDA KARBAPENEM,
KİNOLON, KOLİSTİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI VE
KARBAPENEM DİRENÇLİ SUŞLARDA MULTİPLEKS PCR
YÖNTEMİ İLE KPC, NDM, VIM, OXA-48, IMP-1 GENLERİN
TESPİTİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Özge ALKAN BİLİK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16194 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2017

TEŞEKKÜR

Gerek tez çalışmamda gerek asistanlık hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım, aynı zamanda Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mehmet BAYRAKTAR'a;

Asistanlığım süresince eğitimime yapmış oldukları katkılardan ve desteklerinden dolayı saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Sami TAŞÇI ve Prof. Dr. Fadile YILDIZ ZEYREK'e; birlikte güzel vakit geçirdiğim asistan arkadaşlarım ve tüm mikrobiyoloji çalışanlarına;

Görevlendirmede olduğum süre boyunca hiçbir desteği esirgemeyen, eğitimime ve tez çalışmama katkılarından ötürü Dicle Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda görevli başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kadri GÜL'e, eğitim danışmanım Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT'a ve diğer öğretim üyelerine; tez çalışmam başta olmak üzere bana her konuda destek olan sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Nida ÖZCAN'a; arkadaşlıklarından ve tezime katkılarından dolayı asistan arkadaşlarım Dr. Neriman SAAT'e, Dr. Salim YAKUT'a ve teknisyen arkadaşlarıma;

Tez için gerekli maddi desteği sağlayan HÜBAK'a; bana her zaman ve her konuda yardımcı olan dekanlık personeline;

Çalışmamın istatistiksel analiz kısmında sağladığı büyük katkılardan ötürü sevgili kardeşim Volkan ALKAN'a;

Beni bu günlere getiren, maddi manevi her zaman desteklerini gördüğüm değerli annem Nurten ALKAN ve babam Mehmet ALKAN'a, sevgili kardeşlerim Muhammed Enes ve Çağla Helen'e;

Ve son olarak da her zaman yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Mehmet Zihni BİLİK'e ve biricik oğlum Ahmet Kerem'e;

Sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum...

Dr. Özge ALKAN BİLİK

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
GRAFİKLER DİZİNİ	IX
KISALTMALAR	X
ÖZET	XII
ABSTRACT	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enterobacteriaceae Familyası	3
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	3
2.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
2.2. Bakterilerde Antibiyotik Direnci	5
2.2.1. Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Direnç Gelişiminin Mekanizmaları	6
2.2.2. Antibiyotik Direncinin Genetik Temelleri	7
2.3. Beta-laktam Antibiyotikler	8
2.4. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları	9
2.4.1. İlacın Hedef Bölgesinde Meydana Gelen Değişiklikler	9
2.4.2. Dış Membran Porin Defektleri	10
2.4.3. Beta-laktamaz Enzimleri ile Antibiyotiğin İnaktive Edilmesi	10
2.5. Karbapenemler	13
2.5.1. Ertapenem	14
2.5.2. İmipenem	15
2.5.3. Meropenem	15
2.5.4. Doripenem	16
2.6. Karbapenemlere Karşı Direnç Gelişim Mekanizmaları	16
2.6.1. Porin Değişimleri	16
2.6.2. Aktif Pompalama Sistemlerinin İndüklenmesi	16
2.6.3. Hedef PBP Değişimleri	17

2.6.4. Karbapenemazlar	17
2.7. Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae'da Antibiyoterapi	18
2.8. Karbapenemazların Sınıflandırılması	18
2.8.1. Sınıf A Karbapenemazlar	20
2.8.2. Sınıf B Karbapenemazlar	21
2.8.3. Sınıf D Karbapenemazlar	23
2.9. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)	24
2.9.1. Yüksek Düzey AmpC ya da Karbapenemaz Varlığında GSBL Saptanması	25
2.10. AmpC tipi beta-laktamazlar(AmpC Sefalosporinazlar)	26
2.10.1. Enterobacteriaceae Türlerinde Kazanılmış AmpC Enzimi Saptanması	27
2.11. Kinolonlar	27
2.12. Polimiksinler	28
2.13. Karbapenemazların Saptanması	29
2.14. Karbapenemaz Taraması	30
2.15. Karbapenemazların Saptanmasında Fenotipik Yöntemler	32
2.15.1. Modifiye Hodge Testi	33
2.15.2. İnhibitör Bazlı Testler	33
2.15.2.1. Kombinasyon Disk Testi	34
2.15.2.2. Çift Disk Sinerji Testi	35
2.15.2.3. Gradyent Difüzyon Testi	35
2.15.3. Karbapenem İçeren Kromojenik Besiyerleri	35
2.15.4. Carba NP testi	36
2.16. Karbapenemaz Genleri Saptanmasında Genotipik Yöntemler	36
2.16.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	36
2.16.1.1. Xpert Carba-R PCR Testi	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Besiyerlerinin Hazırlanması	38
3.1.1. Eozin-Metilen Blue (EMB) Agar	38
3.1.2. %16 Gliserollü Triptik Soy Buyyon (TSB)	38
3.2. Suşların Tanımlanması	38
3.2.1. MALDI-TOF MS Sistemi	39
3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	39
3.3.1. Phoenix 100 (Becton-Dickinson, ABD) Otomatize Sistemi	39
3.3.2. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi	39

3.4. Suşların Saklanması	40
3.5. Karbapenem Direnç Mekanizmasının Fenotipik Yöntemlerle Tayini	40
3.5.1. Modifiye Hodge Testi	40
3.5.2. Kombinasyon Disk Testi	41
3.5.3. GSBL Saptamak İçin Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)	43
3.6. Karbapenem Direnç Mekanizmasının Genotipik Yöntemlerle Tayini	43
3.6.1. Multiplex PCR Çalışması	43
3.7. İstatiksel Analiz	45
3.8. Onay	46
4. BULGULAR	47
4.1. Bakteri İzolatlarının Genel Özelliklerine Ait Bulgular	47
4.2. Fenotipik ve Genotipik Karbapenemaz Tayin Testi Uygulanan KDE İzolatlarına Ait Bulgular	58
4.2.1. Genel Özelliklere Ait Bulgular	58
4.4.3. AmpC ve GSBL Enzimlerinin Fenotipik Olarak Tespit Edilmesine Ait Bulgular	60
4.4.4. MHT Bulguları	62
4.4.5. Kombinasyon Disk Testi Bulguları	66
4.4.6. Temosilin Direnci Bulguları	70
4.4.7. PCR ile Tespit Edilen Karbapenemaz Genlerine Ait Bulgular	73
4.4.8. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Bulguları	75
5. TARTIŞMA	86
6. SONUÇ	99
KAYNAKLAR	104

Tablo-1: Beta-laktamazların Sınıflandırılması	12
Tablo-2: Karbapenemazların Sınıflandırılması ve Başlıca Özelliklerinin Karşılaştırılması	19
Tablo-3: EUCAST'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Kinolon Klinik Sınır Değerleri	28
Tablo-4: EUCAST'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Kolistin Klinik Sınır Değerleri	29
Tablo-5: EUCAST'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Karbapenem Klinik Sınır Değerleri	31
Tablo-6: CLSI'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Karbapenem Klinik Sınır Değerleri	31
Tablo-7: EUCAST Önerilerine göre Karbapenem Üreten Enterobacteriaceae için Klinik Sınır Değerler ve Tarama Eşik Değerleri	31
Tablo-8: Kombinasyon Disk Testinin Yorumlanması	43
Tablo-9: KDE Varlığının Yaşa Göre Karşılaştırılması	52
Tablo-10: Karbapenem Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	52
Tablo-11: Karbapenem Direnci ile Cinsiyet Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	53
Tablo-12: Karbapenem Direnci ile Bakteri Türü Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	53
Tablo-13: Karbapenem Direnci ile Kolistin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	54
Tablo-14: Karbapenem Direnci ile GSBL Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	54
Tablo-15: Karbapenem Direnci ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	55
Tablo-16: GSBL Varlığı ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	55
Tablo-17: GSBL Varlığı ile Kolistin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	56
Tablo-18: GSBL Varlığı ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	56

Tablo-19: Kolistin Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	57
Tablo-20: Kinolon Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları	57
Tablo-21: KDE İzolatlarının Elde Edildiği Materyal ve Kliniklere Ait Bilgiler	59
Tablo-22: En Az Bir Gene Sahip Olma Durumu ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları	62
Tablo-23: OXA-48 Geni Varlığı ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Fisher Exact Test Sonuçları	63
Tablo-24: NDM Geni Varlığı ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Fisher Exact Test Sonuçları	63
Tablo-25: Karbapenemaz Tipi, Kombinasyon Disk Testi, MHT ve Temosilin Direnç Durumları	67
Tablo-26: NDM Varlığı ile 'EDTA ile Sinerji' Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları	67
Tablo-27: NDM Varlığı ile 'Dipikolinik Asit ile Sinerji' Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları	68
Tablo-28: En Az Bir Gene Sahip Olma Durumu ile Temosilin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları	71
Tablo-29: OXA-48 Genine Sahip Olma Durumu ile Temosilin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları	71
Tablo-30: İzolatların Otomatize Sisteme Göre Direnç Durumları	75
Tablo-31: Xpert Carba-R PCR ile Karbapenem Direnç Geni Saptanan ve Saptanmayan İzolatların Antibiyotik Direnç Durumları	77
Tablo-32: OXA-48 Varlığı ile Ertapenem Zon Çapı İlişkisi	79
Tablo-33: PKÜ Olarak Tanımlanma ile En Az Bir Karbapenemaz Geni Varlığı Arasındaki İlişki	83

Şekil-1: İnhibitör Testlerinin Yorumlanması ile İlgili Akış Şeması	34
Şekil-2: NDM Geni Tespit Edilen 20 no'lu <i>K. pneumoniae</i> İzolatına Ait Xpert Carba-R PCR Analiz Sonucu	73
Şekil-3: OXA-48 Geni Tespit Edilen 41 no'lu <i>E. coli</i> İzolatına Ait Xpert Carba-R PCR Analiz Sonucu	73
Şekil-4: OXA-48+NDM Genleri Tespit Edilen 90 no'lu <i>K. pneumoniae</i> İzolatına Ait Xpert Carba-R PCR Analiz Sonucu	74
Şekil-5: OXA-48+VIM+IMP-1 Genleri Tespit Edilen 74 no'lu <i>K. pneumoniae</i> İzolatına Ait Xpert Carba-R PCR Analiz Sonucu	74
Şekil-6: Gen Tespit Edilmeyen 88 no'lu <i>E. coli</i> İzolatına Ait Xpert Carba-R PCR Analiz Sonucu	74

Resim-1: Modifiye Hodge Testi Çalışması	41
Resim-2: Antibiyotik Disklerinin MHA Besiyeri Yüzeyine Yerleştirilmesi	42
Resim-3: Xpert Carba-R PCR Çalışması Sırasında Hazırlanmış 0.5 Mcfarland Bakteri Süspansiyonu	44
Resim-4: Sample Reagent'a Aktarılan Bakteri Süspansiyonunun Kartuşa Aktarılması	45
Resim-5: Kartuşun GeneXpert Cihazına Yüklenmesi	45
Resim-6: GSBL(+) 78 no'lu İzolata Ait ÇDST	61
Resim-7: 65 no'lu GSBL(+) İzolata Ait ÇDST	61
Resim-8: 24, 26, 34 ve 35 no'lu İzolatlara Ait MHT (her 4 izolatta da pozitif)	64
Resim-9: 4, 30, 47 ve 27 no'lu İzolatlara Ait MHT (her 4 izolatta da pozitif)	64
Resim-10: 92, 93 ve 74 no'lu İzolatlara Ait MHT	65
Resim-11: 1, 2, 3 ve 71 no'lu İzolatlara Ait MHT (1 ve 71 pozitif, 2 ve 3 negatif)	65
Resim-12: NDM Geni Tespit Edilen 20 no'lu İzolata Ait KDT (EDTA ile sinerji+)	68
Resim-13: NDM Geni Tespit Edilen 7 no'lu İzolata Ait KDT (EDTA ile sinerji+)	69
Resim-14: NDM Geni Tespit Edilen 73 no'lu İzolata Ait KDT (EDTA ve DP ile sinerji+)	69
Resim-15: Karbapenemaz Geni Tespit Edilmeyen, 'AmpC Aşırı Sentezi+Porin Kaybı' Mekanizması Bulunduğu Düşünülen 88 no'lu İzolata Ait KDT (CL ve BO ile sinerji+)	70
Resim-16: OXA-48 Geni Tespit Edilen Temosilin Dirençli 22 no'lu İzolat	72
Resim-17: Temosilin Duyarlı Olan 65 no'lu İzolat	72

Grafik-1: <i>E. coli</i> 'lerin Ertapenem, İmipenem, Meropenem, Siprofloksasin, Norfloksasin ve Kolistin Direnç Durumları (%)	48
Grafik-2: <i>K. pneumoniae</i> 'lerin Ertapenem, İmipenem, Meropenem, Siprofloksasin, Norfloksasin ve Kolistin Direnç Durumları (%)	49
Grafik-3: <i>E. coli</i> 'lerin Elde Edildiği Materyal Sınıfları Yüzdeleri	50
Grafik-4: <i>K. pneumoniae</i> 'lerin Elde Edildiği Materyal Sınıfları Yüzdeleri	51
Grafik-5: <i>E. coli</i> 'lerin Ertapenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	80
Grafik-6: <i>K. pneumoniae</i> 'lerin Ertapenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	81
Grafik-7: <i>E. coli</i> 'lerin İmipenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	81
Grafik-8: <i>K. pneumoniae</i> 'lerin İmipenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	82
Grafik-9: <i>E. coli</i> 'lerin Meropenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	82
Grafik-10: <i>K. pneumoniae</i> 'lerin Meropenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği	83
Grafik-11: Ertapenem MİK Değerleri Dağılımı (%)	84
Grafik-12: İmipenem MİK Değerleri Dağılımı (%)	84
Grafik-13: Meropenem MİK Değerleri Dağılımı (%)	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
BAL	:Bronkoalveoler Lavaj
BO	:Fenilboronik Asit
BOS	:Beyin Omurilik Sıvısı
CDC	:Center for Disease Control and Prevention
CİP	:Siprofloksasin
CLSI	:Clinical Laboratory Standards Institute
°C	:Santigrad derece
ÇDST	:Çift Disk Sinerji Testi
DHP-I	:Dehidropeptidaz-I
Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
DP	:Dipikolinik Asit
DOR	:Doripenem
ECOFF	:Epidemiyolojik Cut-off
EDTA	:Etilendiamintetraasetik Asit
EMB	:Eosin Methylene Blue
ETA	:Endotrakeal aspirat
ETP	:Ertapenem
EUCAST	:European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing
GES	:Guiana Extended Spectrum β -lactamase
GIM	:German Imipenemase
GSBL	:Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
IMI	:İmipenem-hydrolizing β -lactamase
IMP	:İmipenemase
IPM	:İmipenem
KDT	:Kombinasyon Disk Testi
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
KÜE	:Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae
KDE	:Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae

LEV	:Levofloksasin
µl	:Mikrolitre
µg	:Mikrogram
µg/mL	:Mikrogram/mililitre
M	:Molar
ml	:mililitre
mg/L	:Miligram/Litre
mm	:Milimetre
MALDI-TOF	:Matrix-Assisted Laser Desorption İonization-Time of Flight
MBL	:Metallo-Beta-Laktamaz
MEM / MR	:Meropenem
MHA	:Mueller Hinton Agar
MHT	:Modifiye Hodge Testi
MİK	:Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	:Metisilin-Rezistan <i>S. aureus</i>
NDM	:New Delphi Metallo-β-lactamase
NMC	:Not Metallo-enzyme Carbapenemase
NAGA	:N-Asetilglukozamin
NAMA	:N-Asetilmuramik Asit
OXA	:Oxacillinase
OMP	:Dış membran proteini
PBP	:Penisilin Bağlayıcı Protein
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu(Polymerase Chain Reaction)
PKÜ	:Potansiyel Karbapenemaz Üreticisi
SF	:Serum Fizyolojik
SHV	:Sulfhydryl Variable
SIM	:Seoul İmipenemase
SME	: <i>Serratia marcescens</i> enzyme
SPM	:Sao Paulo metallo-β-lactamase
TAK	: Trakeal aspirat
TEM	:Temoniera
TSI	:Triple Sugar Iron
TSB	:Tryptic Soy Buyyon
VIM	:Verona Integron-Encoded Metallo-beta-lactamase

ÖZET

Farklı Klinik Numunelerden İzole Edilen *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Karbapenem, Kinolon, Kolistin Direncinin Araştırılması ve Karbapenem Dirençli Suşlarda Multipleks PCR Yöntemi ile KPC, NDM, VIM, OXA-48, IMP-1 Genlerin Tespiti

Dr. Özge ALKAN BİLİK

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae (KDE) sınırlı tedavi seçenekleri ile ciddi ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlara neden olur. Karbapenem direncinin en sık nedeni karbapenem hidrolizi yapan karbapenemazlardır. A sınıfı (KPC), B sınıfı (IMP, VIM, NDM) ve D sınıfı (OXA-48) karbapenemazlar en sık saptananlardır. Bu çalışma ile Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında bazı antibiyotik direnç oranlarını belirlemek, fenotipik ve moleküler yöntemlerle karbapenem direnç mekanizmalarını göstermek amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, retrospektif veri analizi ve karbapenem direnç mekanizmalarının gösterilmesi olmak üzere iki aşamada planlandı. Çalışmanın retrospektif ayağında; Temmuz 2016- Temmuz 2017 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi klinik ve yoğun bakımlardan bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 922 *E. coli* ve 564 *K. pneumoniae* izolatu olmak üzere toplam 1486 izolatu antibiyotik duyarlılık profilleri incelendi. İkinci aşamada, Phoenix™ 100 (Becton-Dickinson, ABD) otomatize sistemi ile karbapenemlerden biri veya birkaçına orta dirençli veya dirençli bulunan izolatlardan 15 *E. coli*, 74 *K. pneumoniae* olmak üzere toplam 89 KDE izolatu çalışmaya dahil edildi. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile değerlendirildi. Karbapenemazların fenotipik yolla saptanması için Modifiye Hodge testi, kombinasyon disk testi (KDT) ve çift disk sinerji testi çalışıldı. KPC, NDM, VIM, OXA-48 ve

IMP-1 karbapenemaz genlerini saptamak için Xpert Carba-R (Cepheid, ABD) multiplex PCR sistemi kullanıldı.

Bulgular: Ertapenem, imipenem, meropenem, siprofloksasin ve kolistin direnci *E. coli* suşlarında sırasıyla %20,9, %7,4, %6,7, %52,4 ve %2,7 olarak; *K. pneumoniae* suşlarında ise sırasıyla %52,8, %38,4, %32,8, %63,3 ve %23,2 olarak saptandı. Toplam 193 (% 20,9) *E. coli* ve 298 (% 52,8) *K. pneumoniae* izolatu karbapenemlerden en az birine dirençliydi. KDE görülme oranı erkek hastalarda kadınlara göre; yoğun bakım hastalarında da klinik hastalarına göre ve *K. pneumoniae* izolatlarında *E. coli* izolatlarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). KDE'lerin 65'inde (%73) tek başına OXA-48 geni, 4'ünde (%4,5) tek başına NDM geni, 6'sında (%6,7) OXA-48 ve NDM geni, 1'inde (%1,2) ise OXA-48, VIM ve IMP-1 genleri birlikteliği saptandı. On üç (%14,6) KDE izolatında ise OXA-48, NDM, VIM, IMP-1 ve KPC genlerinden hiçbiri saptanmadı. Karbapenemaz üreticilerini saptamada MHT duyarlılığı %93, özgüllüğü %100 olarak bulundu. OXA-48 üreticilerini saptamada MHT duyarlılığı %94 ve özgüllüğü %82 iken NDM geni için sırasıyla %90, %22 olarak tespit edildi. KDT'nin duyarlılığı %80, özgüllüğü %85 olarak bulundu. İzolatların 74'ünde (% 83,1) KDT'de gözlemlenen sinerji, saptanan direnç mekanizması ile uyumluydu. BD Phoenix sistemi, karbapenemaz üreticilerini tanımlamada Xpert Carba-R PCR ile % 86 uyumlu bulundu.

Sonuç: Moleküler yöntemlerin çalışmadığı durumlarda karbapenemaz varlığını öngörmede MHT; karbapenemaz tipini öngörmede kombinasyon disk testi, otomatize sistem ve antibiyotik direnç profilleri kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, Multiplex PCR, OXA-48, NDM, VIM, IMP-1, MHT, KDT

ABSTRACT

An Investigation of Carbapenem, Quinolone and Colistin Resistance in *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Different Clinical Samples and Detection of KPC, NDM, VIM, OXA-48, IMP-1 Genes by Multiplex PCR in Carbapenem-Resistant Strains.

Özge ALKAN BİLİK, MD

Specialty Thesis, Department of Medical Microbiology

Aim: Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) cause serious and life-threatening infections with limited treatment options. The most common causes of carbapenem resistance are carbapenemases, which hydrolyze carbapenems. Class A (KPC), class B (IMP, VIM, NDM), and class D (OXA-48) carbapenemases are the leading ones. We aimed to determine some antibiotic resistance rates and to show carbapenem resistance mechanisms by phenotypic and molecular methods in *E. coli* and *K. pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens in Dicle University Hospital.

Material and Method: The study was conducted at Dicle University Hospital and scheduled in two stages: retrospective data analysis and demonstration of carbapenem resistance mechanisms. Antibiotic susceptibility profiles of a total of 1486 (922 *E. coli* and 564 *K. pneumoniae*) strains were retrospectively studied during July 2016 and July 2017. The isolates sent to the bacteriology laboratory were from inpatients of various clinical specimens including clinicals and intensive care units. In the second stage, 89 CRE isolates (15 *E. coli*, 74 *K. pneumoniae*) which were resistant or moderately resistant to one or more of the carbapenems with the Phoenix TM 100 (Becton-Dickinson, USA) automated system were included. Antibiotic susceptibilities of isolates were also assessed by Kirby-Bauer Disc Diffusion Method. Modified hodge test (MHT), combination disc test (CDT) and double disc synergy tests were performed to

detect carbapenemase as phenotypically. Xpert Carba-R (Cepheid, USA) multiplex PCR system was used to detect carbapenemase genes, KPC, NDM, VIM, OXA-48 and IMP-1.

Findings: Ertapenem, imipenem, meropenem, ciprofloxacin and colistin resistance were found to be 20.9%, 7.4%, 6.7%, 52.4% and 2.7% respectively in *E. coli* strains, whereas in *K. pneumoniae* strains, 52.8%, 38.4%, 32.8%, 63.3% and 23.2%, respectively. A total of 193 (20.9%) *E. coli* and 298 (52.8%) *K. pneumoniae* were resistant to at least one of the carbapenems. The incidence of CRE was significantly higher in male patients than in women; in the intensive care patients than other inpatients. CRE rates were higher in *K. pneumoniae* isolates compared to *E. coli* isolates ($p < 0.05$). OXA-48 gene alone was found in 65 (73%) isolates, NDM gene alone in 4 (4.5%), OXA-48 and NDM genes altogether in 6 (6.7%), OXA-48, VIM and IMP-1 genes were found together only in one (1.2%) CRE isolate. None of the OXA-48, NDM, VIM, IMP-1 and KPC genes were detected in the rest thirteen (14.6%) CRE isolates. The sensitivity and specificity were calculated for the modified Hodge test. They were found to be respectively 93% and 100% for carbapenemase producing isolates; 94% and 82% for OXA-48 producers; 90% and 22% for NDM producers. The sensitivity and specificity of CDT were determined. They were 80% and 85% respectively. 74 of the isolates (83.1%), the synergy observed in combination disc tests was compatible with the resistance mechanism detected. BD Phoenix system was found as 86% compatible with Xpert Carba-R PCR to identify carbapenemase producers.

Conclusion: MHT can be used to predict the presence of carbapenemase whereas combination disc testing, automated systems and antibiotic resistance profile for carbapenemase typing when molecular methods are not available.

Key words: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Carbapenem resistance Enterobacteriaceae, Multiplex PCR, OXA-48, NDM, VIM, IMP-1, MHT, CDT

1. GİRİŞ

1980'lerde tanımlanan karbapenemler, çok ilaca dirençli gram negatif mikroorganizmalara karşı kullanılabilen en etkili ve son çare antibiyotiklerdir. Son yıllarda, karbapenem dirençli Enterobacteriaceae (KDE) önemli bir halk sağlığı tehdidi olarak ortaya çıkmıştır [1]. KDE'ler büyük oranda karbapenemaz genlerinin edinilmesinin sonucu olarak ortaya çıkmakta olup, artık dünya çapında bildirilmektedirler [2].

Karbapenem dirençli suşların çeşitli salgınlar ve sporadik vakalarla küresel yayılımı, direnç mekanizmalarının araştırılması ve dirençli suşlarla kolonize hastaların izolasyonu gibi çalışmaları gerekli kılmıştır. Direnç mekanizmalarının araştırılması, antibiyotik duyarlılık raporu için gerekli görülmesi de infeksiyonların kontrolü ve halk sağlığı açısından önemlidir [3, 4].

Plazmid aracılı karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae (KÜE) Avrupa'da ilk defa 1990'larda tespit edilmiş, o zamandan sonra giderek artan sıklıkta rapor edilmesi endişe yaratmıştır [5]. Karbapenemaz üretimi sıklıkla *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*'de tanımlanmaktadır. Vakaların çoğu hastane kaynaklı olmakla birlikte nadiren toplum kaynaklı karbapenemaz üreticilerine de rastlanmaktadır [5].

Klinik açıdan en önemli karbapenemazlar Ambler sınıf A karbapenemazlar [*Klebsiella pneumoniae* karbapenemase (KPC)], çinko bağımlı sınıf B metallo beta-laktamazlar (MBL) [Verona integron-encoded metallo- β -laktamase (VIM), İmipenemase (IMP), New Delphi metallo- β -laktamase (NDM)] ve Oxacillinase (OXA)-48 tipi plazmid ile ifade edilen D sınıfı karbapenemazlardır [6].

Başta KPC, VIM, IMP ve NDM karbapenemazlarını üreten *K. pneumoniae* olmak üzere Enterobacteriaceae'ların yayılımı, ciddi bir halk sağlığı krizine neden olmaktadır. KÜE hastaneye yatırılan hastaları enfekte ederken, aynı zamanda uzun süreli bakım tesislerinde de yayılmaktadır. Çok ilaca direnci göz önüne alındığında, terapötik seçenekler sınırlıdır. Kolistin ve tigesiklin sıklıkla KÜE enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan başlıca antimikrobiyal ajanlardır. Bununla birlikte, literatür gözden geçirildiğinde, bu ilaçlarla monoterapi yapılanlarda yüksek başarısızlık oranları ortaya çıkmış; bir karbapenem veya bir aminoglikozid ile kombinasyonun

daha etkili olduğu görülmüştür. Karbapenem içeren kombinasyonlar ile daha yüksek başarı oranları elde edilmiştir [6].

Bu çalışmada amacımız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde son yıllarda artan oranlarda karşılaşılan karbapenem direnci oranlarının ortaya konması, direnç nedenlerinin fenotipik yöntemlerle gösterilmesi, direncin genetik mekanizmalarının araştırılması, dirence neden olan genlerin tespit edilmesidir. Böylelikle karbapenem dirençli suşların hızlı ve doğru bir şekilde tespiti ile başta kolistin ve kinolonlar olmak üzere çeşitli antibiyotiklere olan direnç durumlarına bakılarak uygun antimikrobiyal tedavinin seçilmesinde klinisyenlere yol gösterici olmak hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enterobacteriaceae Familyası

Enterobacteriaceae familyası gram-negatif, spor yapmayan, glikozu ve diğer şekerleri fermente eden fakültatif anaerob basillerdir. Nitratı nitrite indirgerler, Plesiomonas hariç katalaz üretirler. Oksidaz negatiftirler. Çoğu peritriş flagellaları ile hareketlidir (*Shigella*, *Klebsiella* hariç) [7].

Enterobacteriaceae üyeleri bağırsak florasının elemanları olup sistit, piyelonefrit, septisemi, pnömoni, peritonit, menenjit ve katater ilişkili enfeksiyonlar gibi enfeksiyonlara neden olan en yaygın insan patojenlerindedir. Hem toplum hem hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır. İnsanlar arasında temas, kontamine su ve gıda aracılığı ile kolayca yayılma eğilimindedirler. Çoğunlukla plazmidler ve transpozonların aracılık ettiği horizontal gen aktarımı yoluyla genetik materyal kazanabilirler [3].

E. coli ve *K. pneumoniae*, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında en sık izole edilen Enterobacteriaceae türleridir. *E. coli*, hem toplum hem hastane kökenli idrar yolu enfeksiyonlarının ve buna bağlı bakteriyemilerin en sık rastlanan etkeni iken, *K. pneumoniae* özellikle hastane ortamında solunum yolu enfeksiyonları, ventilatörle ilişkili pnömoni ve bakteriyemi etkeni olarak saptanmaktadır. Her iki mikroorganizmanın tür tanımının ve antibiyotik duyarlılıklarının hızlı ve doğru olarak yapılması önemlidir [8].

2.1.1. Escherichia coli

Teodore Escherich tarafından 1885'de tarif edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistemi fakültatif anaerob mikroorganizmaları içerisindeki en yaygın türdür. Enterobacteriaceae familyasının en sık görülen patojenidir. Bu ailenin diğer üyelerinden laktoz ve diğer şekerleri fermente etmesi ve triptofandan indol üretme kabiliyeti ile ayrılır. Çoğu suşlar hareketlidir [7].

Gram negatif, glikozdan fermentasyon ile asit ve gaz üreten, lizin dekarboksilaz ve mannitol fermantasyonu pozitif, üreaz ve oksidaz enzimi negatif, hidrojen sülfür oluşturmayan,

bazı suşları kapsüllü basillerdir. EMB agarda metalik refle verir. Bazı suşlar kanlı agarda beta hemoliz yapabilir [9]. Enterobacteriaceae ailesinin identifikasyonunda kullanılan indol (İ), metil kırmızısı (M), Voges-Prokauer (V) ve sitrat (C) reaksiyonları olmak üzere 4 adet reaksiyondan meydana gelen bir test olan İMVİC testi (++--) tir.

2.1.2. Klebsiella pneumoniae

Klebsiella cinsi 19.yy'ın sonlarında Edwin Klebs tarafından tarif edilmiştir. *K. pneumoniae* bakterileri ilk kez 1885 yılında Ehrlich tarafından dışkıdan izole edilmişlerdir. *Klebsiella pneumoniae*; 1882 yılında Carl Friedlander tarafından bronkopnömonili bir hastanın balgamından izole edilmiş ve pnömoninin Friedlander tarafından tanımlanması nedeniyle *K. pneumoniae* uzun yıllar "Friedlander basili" olarak adlandırılmıştır [10]. Geniş polisakkarit kapsülünden dolayı besiyerinde mukoid koloniler oluşturur, hareketsizdir, laktozu fermente eder [7]. Lizin dekarboksilaz ve üreaz enzimi pozitifdir. İMVİC(--++) tir. Sağlıklı bireylerin yaklaşık %5'inin solunum yolu ve gastrointestinal floralarında bulunur. Bakteriyel pnömonilerin ~%1 gibi küçük bir oranından sorumludur. İmmünitesi zayıf insanlarda idrar yolu enfeksiyonu ve bakteriyemiye neden olabilir. Son zamanlarda, *K. pneumoniae*'nin toplumdan edinilmiş piyojenik karaciğer apsesinin bir nedeni olduğu da ortaya konulmuştur. Hastane kökenli enfeksiyonlardan sorumlu bakteriyel patojenler arasında Klebsiella türlerine sık rastlanmaktadır [9]. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonlarına ek olarak yara enfeksiyonları, intravasküler ve diğer invaziv cihaz enfeksiyonları, safra yolları enfeksiyonları, peritonit ve menenjit sayılabilir. *K. pneumoniae* normal ve anormal idrar yolları olan bireylerde idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir ve gram negatif bakteriyemilerde *E. coli*'den sonra ikinci sırayı alır [7].

K. pneumoniae 'nin küresel olarak 2 önemli klonu tanımlanmıştır. Bunlardan bir tanesi genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar üreterek penisilin ve sefalosporinlerin büyük bir kısmında (karbapenemler hariç) dirence neden olmaktadır. Diğer klon ise "karbapenamaz üreticisi" adı verilen çoklu ilaç dirençli bir suştur ve karbapenemler dahil tüm β -laktam antibiyotiklere dirençlidir. Birden fazla direnç geni taşıyan plazmidlerin edinilmesinin bir sonucu olarak bu suşlar diğer antimikrobik maddelere de dirençlidirler [9].

Penisilin spesifik β -laktamaz kodlayan kromozomal gen varlığına bağlı olarak tüm *K. pneumoniae* suşları ampiciline dirençlidir. Buna ek olarak, çoklu ilaç dirençli plazmidlerin

kazanımının bir sonucu olarak nozokomiyal izolatlar sıklıkla diğer birçok antibiyotiğe dirençlidirler. *K.pneumoniae*, geniş spektrumlu β -laktamazları ve karbapenemazları kodlayan plasmidleri taşıyan en yaygın organizmalardan biridir ve bu suşlarla bakteriemi yüksek tedavi başarısızlığı ve ölüm oranları ile ilişkilendirilmektedir. Çoklu ilaç direnci olmayan suşların neden olduğu enfeksiyonlar için tedavi seçenekleri birinci kuşak sefalosporinler, penisilin / β -laktamaz inhibitörü kombinasyonları, trimetoprim-sulfametoksazol, florokinolonlar ve aminoglikozitlerdir. Çoklu ilaç dirençli suşlar, özellikle genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar üreten suşlar için tedavi seçenekleri dördüncü kuşak sefalosporinler veya karbapenemlerle sınırlıdır. Karbapenamaz üreten suşlar için polimiksinler gibi az sayıda tedavi seçeneği kalmıştır [7].

2.2. Bakterilerde Antibiyotik Direnci

Bir mikroorganizma türünün bazı suşlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli direnç mekanizmaları geliştirerek duyarlılığını kaybetmesi antibiyotik direnci olarak tanımlanır. Antibiyotik direnci, hastaların hastanede yatış süresinin uzamasına neden olmakta, mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır [11].

Bakterinin genetik özelliklerinden dolayı sahip oldukları direnç çeşidi intrinsik dirençtir. Antibiyotik kullanılması ile direnç gelişimi arasında bir bağlantı bulunmamaktadır. Örneğin, vankomisin, molekül büyüklüğünden dolayı porlardan geçemediğinden dolayı gram negatif bakterilere etkisiz bir antibiyotiktir. Yani gram negatif bakteriler vankomisine intrinsik olarak dirençlidirler [12]. Zorunlu anaerob bakteriler aminoglikozidlere, hücre duvarı olmayan mikoplazmalar β -laktam antibiyotiklere intrinsik olarak dirençlidirler [11].

Bakterinin genetik yapısında sonradan bazı değişikliklerin oluşmasıyla ortaya çıkan direnç, kazanılmış dirençtir. Kromozom, transpozon ya da plazmide ait deoksiribonükleik asit (DNA) yapısında mutasyon meydana gelebileceği gibi transformasyon, transdüksiyon, konjugasyon mekanizmalarıyla direnç genleri taşıyan DNA'ların bir bakteriden bir diğerine aktarılmasına bağlı olarak da gelişebilmektedir. Antibiyotik yokluğunda görülmez, farklı mekanizmalar ile antibiyotik baskısı altında gelişmektedir [11, 12].

Antibiyotiklerin çevresel faktörlere bağlı olarak in vitro ve in vivo etkinliklerinin farklılık göstermesini tanımlayan direnç çeşidi çevre ve koşullara bağlı dirençtir. Enfeksiyon bölgesinin pH dengesinin bozulması, kanlanmasının yetersiz olmasına bağlı antibiyotiğin enfeksiyon bölgesine ulaşamaması ve oksijen basıncındaki değişiklikler gibi nedenlerle in vitro

testlerde etkili olabilen bir antibiyotik in vivo koşullarda beklenen etkiyi gösteremeyebilmektedir [12].

2.2.1. Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Direnç Gelişiminin Mekanizmaları

Mikroorganizmaların ilaçlara direnç gösterebilecekleri birçok farklı mekanizma vardır. Antimikrobiyal ajanlara karşı direnç, β -laktamazlar, porin kaybı, atım (eflux) pompaları ve hedef değişiklikleri de dahil olmak üzere birçok faktör aracılığı ile gerçekteşmektedir [13].

- Penisilin G'ye dirençli olan *Staphylococcus*'lar ve birçok gram negatif basilde olduğu gibi mikroorganizmalar, aktif ilacı yok eden enzimler üretebilmektedirler. Aynı şekilde aminoglikozitlere dirençli olan gram negatif bakteriler, plazmid aracılığı ile ilacı yok eden adenilasyon, fosforilasyon veya asetilasyon enzimleri üretebilmektedirler [9].

- Mikroorganizma ilaca olan geçirgenliğini değiştirebilmektedir. Mesela tetrasiklinler duyarlı bakterilerde birikir ancak dirençli bakterilerde birikmemektedir. Polimiksinlere karşı direnç, ilaçlara geçirgenlikte bir değişikliğe de yol açmaktadır. *Streptococcus*'ların aminoglikozidlere karşı doğal geçirgenlik bariyeri mevcuttur. Bu, penisilin gibi hücre duvarına etkili bir ilacın eşzamanlı varlığı ile kısmen aşılabilmektedir. Amikasin ve diğer bazı aminoglikozidlere karşı direnç, hücrelere aktif transportu bozan bir dış zar değişikliğinden kaynaklanabilmektedir [9].

- Mikroorganizmalar ilaç için hedef olan yapıda değişiklik meydana getirebilmektedirler. Eritromisin dirençli organizmalar ribozomun 50S alt-birimi üzerinde, 23S ribozomal RNA'nın metilasyonundan kaynaklanan değiştirilmiş bir reseptöre sahiptir. Bazı penisilinler ve sefalosporinler için direnç PBP'lerin kaybedilmesinin veya değiştirilmesinin bir sonucu olabilmektedir. *Streptococcus pneumoniae* ve enterokoklarda penisilin direnci değişmiş PBP'lere atfedilebilmektedir [9].

- Mikroorganizmalar, ilacın inhibe ettiği reaksiyonu devre dışı bırakan farklı bir metabolik yol izleyebilmektedir. Mesela bazı sulfonamide dayanıklı bakteriler hücre dışı PABA'ya ihtiyaç duymaz, ancak memeli hücreleri gibi folik asit kullanabilirler [9].

- Mikroorganizmalar, metabolik fonksiyonlarını yerine getirebilecek fakat ilaç tarafından daha az etkilenen farklı bir enzim geliştirebilirler. Örneğin, trimetoprim dirençli bakterilerde

dihidrofolat redüktaz enzimi, trimetoprim duyarlı bakterilerden çok daha az etkilenecek şekilde engellenir [9].

- Mikroorganizmalar antibiyotikleri hücre dışına çıkarabilecek efflux pompaları geliştirebilirler. Birçok gram pozitif ve özellikle de gram negatif organizmalar bu mekanizmayı tetrasiklinler, makrolidler, florokinolonlar ve hatta beta-laktam ajanlar için geliştirmişlerdir [9].

2.2.2. Antibiyotik Direncinin Genetik Temelleri

DNA replikasyonu sırasında kromozomal genlerde mutasyon gerçekleşebilmektedir. Bu mutasyonlar çoğunlukla antibiyotiğin bağlandığı hedef proteinleri kodlayan genlerde oluşmaktadır. Enterobacteriaceae ailesinde görülen kromozomal AmpC β -laktamaz üretimi bu dirence örnek verilebilmektedir. Bakteride bu şekilde mutasyon ile gelişen direnç varsa antibiyotik kullanıldığında bir süre sonra direnç gelişimi gözlenecektir [11].

Dışarıdan alınan genlerde oluşan nokta mutasyonlar da hedef bağlanma yerlerini değiştirebilir. Bu mekanizmaya GSBL enzimleri örnek olarak verilebilir. TEM ve SHV tipi β -laktamaz genlerinde nokta mutasyonlar oluşması ile GSBL'ler meydana gelmektedir [14].

Bakterilerde kromozomun veya plazmidin bir bölgesinde inversiyon, duplikasyon, insersiyon, delesyon veya transpozisyon mekanizmalarından herhangi biri ile büyük bir DNA parçasının başka bir yere taşınmasıyla yeniden düzenlenme meydana gelebilmektedir [15].

Bakteriler DNA'yı dışarıdan plazmid, bakteriyofaj, çıplak DNA parçaları ya da bir diğer bakteriden transpoze genetik eleman şeklinde alabilmektedirler. Plazmid aracılı karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*, vankomisin dirençli *S. aureus*, enterobakterlerde iletilebilen kinolon direnci gelişimi bu mekanizmalara örnek olarak verilebilir [11].

Direnç genlerinin duyarlı bakterilere geçişinde en sık gözlenen mekanizma konjugatif plazmidlerin geçişidir. Plazmidler arasında direnç genlerini çoğunlukla transpozonlar taşımaktadır. Transpozonlar direnç genlerini plazmidler arasında taşıyabileceği gibi plazmidten kromozoma ya da kromozomdan plazmide taşıyabilmektedir. Bazı transpozonlar bakteriden bakteriye de geçebilmektedir [14].

2.3. Beta-laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler, en eski ve en popüler antibakteriyel ajan sınıflarından biridir. Alexander Fleming tarafından 1930'lu yıllarda bir küf mantarı olan *Penicillium chrysogenum* ' dan izole edilmiştir [16].

Bakterilerde hücre duvarı, yüksek oranda çapraz bağlantılı, polipeptid ve polisakkaritlerden oluşan mukopeptid (peptidoglikan) adı verilen kompleks bir polimer içermektedir. Polisakkaritler N-asetilglukozamin (NAGA) ve N-asetilmuramik asit (NAMA) amino şekerleri içerirler. Amino şekerler kısa peptid zincirlerine bağlanır. Hücre duvarının sağlamlığı, transpeptidasyon reaksiyonları sonucunda peptid zincirlerinin pentaglisin bağları vasıtasıyla çapraz bağlanması ile gerçekleşir [9].

Tüm β -laktam ilaçlar bakteriyel hücre duvarı sentezinin seçici inhibitörleridir ve bu nedenle büyümekte olan bakterilere etki etmektedirler. Etki etmeleri için ilk olarak penisilin-bağlayıcı proteinler (PBP) diye adlandırılan hücre reseptörlerine bağlanmaları gerekmektedir. Bir kısmı transpeptidasyon enzimleri olan en az altı farklı PBP molekülü bulunmaktadır. Farklı reseptörlerin her ilaç için farklı afiniteleri vardır ve her reseptör aynı ilaç için farklı etki göstermektedir. Örneğin, penisilin bir PBP'ye bağlandığında hücrede uzama gözlenirken bir diğer reseptöre bağlandığında hücre lizisi gerçekleşmektedir. PBP'ler kromozom kontrolü altındadır ve mutasyonlar PBP sayısını veya β -laktam ilaçlara olan afinitesini değiştirebilir [9].

Beta-laktamlar bir veya daha fazla reseptöre bağlanınca transpeptidasyon reaksiyonu engellenir ve peptidoglikan sentezi durur. Daha sonra hücre duvarındaki otolitik enzim inhibitörleri inaktive edilir, litik enzimler aktive olur ve çevre izotonik ise hücre lizisi gerçekleşir. Ortam hipertonic ise mikroorganizmalar protoplast ya da sferoplastlara dönüşür. Bu tür hücrelerde, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezi devam edebilmektedir [9].

Gram negatif bakterilerde bulunan porin proteinleri (Outer Membran Protein, OMP) besinler ve antibiyotikler dahil diğer tüm maddelerin dış membrandan geçişini kontrol eder. Yine sadece gram negatiflerde bulunan dış membran ile iç membran arasında yer alan periplazmik aralık denen alanda, dış membrandan geçen antibiyotikler dahil çevresel çözülmüş maddeleri detoksifiye eden birçok enzim bulunur [17]. Gram negatif bakterilerde, β -laktam antibiyotiklerin

hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için porin kanalcıklarından geçmeleri ve periplazmik aralıkta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir [18].

Beta-laktam antibiyotiklerin ortak bir β -laktam halkası bulunmaktadır. Her grup β -laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan başka halkalar ve yan zincirlerle belirlenir. Beta-laktam antibiyotikler penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanat, sulbaktam, tazobaktam) olmak üzere başlıca 5 grupta toplanabilirler [12].

Beta-laktam antibiyotikler gerek toplum, gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibakteriyel ajanların başında gelmektedir. Yaygın kullanıma bağlı olarak β -laktam antibiyotiklere direnç oranlarında artış gözlenmektedir [12].

2.4. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

2.4.1. İlacın Hedef Bölgesinde Meydana Gelen Değişiklikler

Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) oluşan değişiklikler ile antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesi ile beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişebilmektedir. Gram negatif bakterilerde sitoplazma membranında bulunan PBP'ler beta-laktam antibiyotiklerin hedef bölgesidir. Bu direnç mekanizması, kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'nin beta-laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısının azalması veya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucunda oluşabilmektedir. PBP yapısında değişiklik oluşmasıyla antibiyotiğin bağlanması engellenmekte ya da reseptöre bağlanma gücünde azalma olmaktadır. *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ve *Staphylococcus aureus*' da penisiline karşı gelişen direnç örnek olarak verilebilir [19, 20].

2.4.2. Dış Membran Porin Defektleri

Beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişmesinde bir diğer mekanizma dış membran proteinlerinde oluşan değişiklikler ile ilacın hücre içine girişinin önlenmesi şeklinde olmaktadır. Gram negatif bakterilerde β -laktam antibiyotikler, dış membrandaki OMP adı verilen porlar yolu ile hücreye girerek periplazmik alana taşınmaktadır. OMP porinlerinin yapısında değişiklik meydana gelmesi ile ilacın PBP'lere ulaşması engellenmektedir. β -laktam antibiyotikler dış

membrandan porin F ve porin C adı verilen başlıca iki kanal aracılığıyla geçerler. İmipenem dış membrandan bu iki porin dışında ayrıca D2 porinini kullanarak da geçer. Bir gram negatif bakteri porin F ve porin C proteinlerini mutasyona uğratarak tüm β -laktamlara karşı direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalabilmektedir. Öte yandan, özellikle *P.aeruginosa* ve *Enterobacter* suşlarında dış membrandan D2 proteinin kaybolması bakteriyi imipeneme dirençli hale getirebilir. Ancak bu tipte direnç geliştiren bakteri, diğer β -laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştiremez [21]. Porinlerin özellikleri ve sayıları ile antibiyotiğin büyüklüğü, çözünürlüğü ve yükü gibi özellikler hücre içine giriş hızını etkilemektedir [19]. *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'da imipeneme karşı gelişen direnç dış membran porin defektlerine örnek verilebilir [22]. Günümüzde gram negatif bakterilerde dış membran geçirgenliğinden çok pompa mekanizmaları daha önemli bir direnç mekanizması olarak kabul edilmektedir. Dış membran geçirgenliği bozulması ve pompa mekanizmaları genellikle birlikte çalışmaktadır [23].

2.4.3. Beta-laktamaz Enzimleri ile Antibiyotiğin İnaktive Edilmesi

Beta-laktam antibiyotiklere karşı en sık gözlenen direnç çeşididir. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilmektedir [24]. Beta-laktamazlar gram pozitif bakterilerde doğrudan dış ortama salınırken gram negatif bakterilerde dış membran ile sitoplazmik membran arasında (periplazmik aralıkta) bulunmakta ve β -laktam antibiyotiğin PBP'lere bağlanmadan inaktive olmasına neden olmaktadır. Bu farktan dolayı gram negatif bakterilerde beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla antibiyotik geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar da rol oynamaktadır [25].

Enterobacteriaceae ailesinin birçok üyesinde penisilinlere, sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı gözlenen temel direnç mekanizmasıdır [22].

Beta-laktamazlar β -laktam antibiyotikleri hidrolize eden enzimlerdir. Gram negatif bakterilerde β -laktamlara direncin ana nedenidirler. Bu enzimlerin genleri kromozom ya da plazmid kaynaklı olabilmektedir. Bakteriyel direnci kontrol etme bağlamında önemli bir tehdit oluşturur, çünkü plazmid kaynaklı β -laktamaz genleri, bakteriler arasında kolaylıkla aktarılabilir ve hızlı yayılan bir direnç gelişimine neden olmaktadır [13].

Beta-laktamazlar, hidrolitik etkileri, kromozom veya plazmid aracılı kodlanmaları, inhibitörlere karşı duyarlılıkları, aminoasit ve nükleotid dizilimleri ve biyokimyasal özellikler gibi

çeşitli kriterlere bakılarak 2 farklı şekilde sınıflandırılmışlardır. Bu sınıflandırmalardan ilki Ambler moleküler sınıflamasıdır. Bu sınıflama, enzimleri kodlayan aminoasit ve nükleotid dizilerine dayanan moleküler sınıflandırmadır [26].

Buna göre beta-laktamazlar dört sınıfa ayrılmışlardır:

Sınıf A. Penisilinleri hidrolize eden beta-laktamazlar

Sınıf B. Metallo-beta-laktamazlar

Sınıf C. Sefalosporinazlar

Sınıf D. Oksasilinazlar

İkinci sınıflama ise Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından 1995 yılında geliştirilmiş Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflamasıdır. Substrat profilleri, beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlılık gibi biyokimyasal özelliklere göre yapılmış bir sınıflamadır [26].

Tablo-1: Beta-laktamazların Sınıflandırılması [9]

Bush-Jacoby-Medeiros Sisteminde göre Grup	Enzim tipi	Klavulanat ile inhibisyon	Ambler sistemine göre sınıf	Temel özellikler
1	Sefalosporinaz	-	C	Kromozomal; AmpC tipi enzimler; karbapenemler dışında tüm β -laktamlara dirençli
2a	Penisilinaz	+	A (serin)	Stafilokokkal penisilinaz; <i>Bacillus cereus</i>
2b	Dar spektrum	+	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	Geniş spektrum	+	A (serin)	TEM ve SHV varyantları; CTX-M deriveleri; GES-1,2; VEB-1,2
2br	İnhibitör direnci	Azalmış	A	İnhibitör dirençli TEM-30
2c	Karbenisilinaz	+	A	Karbenisilin hidrolizi
2d	Kloksasilinaz	+	D/A	Oksasilin hidrolizi (OXA)
2e	Sefalosporinaz	+	A	Sefalosporinaz
2f	Karbapenemaz	+	A	Klavulanat ile inhibe olan karbapenemazlar (IMI, KPC, SME-1)
3	Metalloenzimler	-	B (çinko)	Çinko bağımlı karbapenemazlar (IMP, VIM, NDM-1, GIM, SPM, SIM)
4	Penisilinaz	-	Sınıflanmamış	-

Nozokomiyal ortamda en fazla etkiye sahip olan β -laktamazlar esas olarak genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL'ler), AmpC-tipi β -laktamazlar ve karbapenemazlardır [13].

2.5. Karbapenemler

Karbapenemler, β -laktamlar arasında en geniş etki spektrumuna sahip, gram pozitif, gram negatif, aerop ve anaerob bakterilere karşı en etkili antibiyotik grubudur. Dirençli

bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda son çare antibiyotikler olarak kullanılmaktadırlar [27].

Son çare antimikrobik ilaçlar haline gelen karbapenemlerin klinik etkinliğini korumak elzemdir. Bu ajanlar transplantasyon, yoğun bakım ünitelerinde yatış, ileri cerrahi teknikler gibi modern tıpta geliştirilen tekniklerle ilişkili hayatı tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için çok önemlidir [3]. Son zamanlarda yapılan çalışmalar karbapenemlere karşı direncin dünyada arttığını net bir şekilde göstermektedir [27]. Ne yazık ki, çok ilaca dirençli patojenlerin ortaya çıkışı bu hayat kurtaran ilaç sınıfını ciddi şekilde tehdit etmektedir [2].

Gram negatif bakterilerden *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia* ve gram pozitif bakterilerden *Enterococcus faecium* karbapenemlere intrinsik dirençlidir [28].

Karbapenemlerin, bakterilerde enzimatik dirençte rol oynayan AmpC ve GSBL de dahil olmak üzere neredeyse hiçbir beta-laktamazdan etkilenmedikleri bilinmektedir [29]. Karbapenemler, PBP'lere güçlü bir şekilde bağlanırlar, yapıları itibariyle porin kanallarından sızmaları ve bakteri hücrelerine geçişleri oldukça iyidir [30].

Karbapenemleri 3 sınıfa ayırmak mümkündür. Birinci sınıfta ertapenem; ikinci sınıfta imipenem, meropenem ve doripenem yer alırken üçüncü sınıfta PZ-601 yer almaktadır. Ertapenem özellikle toplumdan kazanılmış ciddi enfeksiyonların tedavisinde; imipenem, meropenem, doripenem ise güçlü nonfermentatif etkinlikleri nedeniyle hastane enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. PZ-601 ise ikinci grubun etkinliğine ek olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a da etki etmektedir [13].

1960'ların sonunda β -laktamazların ortaya çıkması ile penisilin kullanımı kısıtlanmış, β -laktamaz inhibitörleri araştırılmaya başlanmıştır [27]. 1976'da, ilk beta-laktamaz inhibitörleri olan olivanik asitler keşfedilmiştir. Olivanik asitler gram pozitif bir bakteri olan *Streptomyces olivaceus*'un doğal ürünüdür [31]. Kısa bir süre sonra *S. clavuligerus*'dan klavulanik asit [31] ve *Streptomyces cattleya*'dan tienamisin olmak üzere iki β -laktamaz inhibitörü daha keşfedilmiştir [32].

Yıllar sonra stabil bir tienamisin türevi olan ve imipenem olarak bilinen N-formimidoyl tienamisin sentezlenmiş ve 1984'te kullanılmaya başlanmıştır [13]. İmipenem ve panipenem,

böbrek fırçamsı kenarının dehidropeptidaz-I (DHP-I) enziminin deaktivasyona duyarlı olmalarından ötürü silastatin veya betamipron gibi bir inhibitör ile birlikte uygulanmaları gerekmektedir [27].

İlerleyen zamanlarda 1. pozisyona metil grubu eklenmesi ile DHP-1 hidrolizine dayanıklı meropenem, biapenem, ertapenem ve doripenem sentezlenmiştir [27].

Daha sonra lenapenem, E-1010, S-4661 ve BMS-181139 gibi diğer parenteral uygulanan karbapenemler geliştirilmiştir [13].

Genel olarak imipenem, panipenem gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Meropenem, biapenem, ertapenem ve doripenem gram negatif organizmalara karşı daha etkilidir. Ertapenem, daha kısıtlı bir spektruma sahiptir [27].

Doripenem karbapenemazlar tarafından hidrolize en az duyarlı olan karbapenemdir, hidrolizi imipeneme göre 2-150 kat daha yavaştır [33].

Bugüne kadar, tiemamisinden daha fazla antimikrobiyal özelliklere sahip olan 80'den fazla bileşik literatürde tanımlanmıştır. Ancak klinik olarak kullanılan karbapenemler imipenem-silastatin, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem-betamipron ve biapenemdir [27].

2.5.1. Ertapenem

Ertapenem, 2001 yılında geliştirilmiş, 1-beta-metil karbapenemdir. Enterobacteriaceae'da ve anaeroblarda etkilidir. İmipenem ve meropeneme kıyasla daha dar spektrumludur. Proteinlere yüksek oranda bağlanır. Yarı ömrü uzun olduğu için günde bir kez uygulanabilmektedir. İntravenöz veya intramusküler uygulanabilir [34].

Ertapenem birçok gram pozitif, gram negatif, aerobik ve anerobik bakterilere karşı etkilidir ve genellikle toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Ertapenemin plazma proteinlerine bağlanma kapasitesi yüksektir [35].

2.5.2. İmipenem

Bilinen en geniş spektrumlu antibiyotiklerden biri olan imipenem gram pozitif, gram negatif, aerop ve anaerop mikroorganizmaları içine alan çok geniş bir etki spektrumuna sahiptir. İmipenem, diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etki eder, bakterisidaldir. Kritik hastalarda özellikle dirençli gram negatif etkenlerle veya polimikrobiyal enfeksiyon düşünüldüğünde ampirik tedavide başlanabilir. Ciddi enfeksiyonu olan immunkompromize hastalarda da güvenle tercih edilebilmektedir [36].

İmipenemin metaboliti nefrotoksik bir ajandır. Bu nedenle tek başına kullanılamamaktadır. Böbrek tübüllerinde bulunan DHP-I enziminin ilacı inaktive etmesi ile idrar imipenem düzeyi azalmakta ve potansiyel nefrotoksik bir metabolitin oluşumuna yol açmaktadır. İmipenem ile 1:1 oranında birlikte uygulanan bir bileşik olan silastatinin geliştirilmesi, imipenemin DHP-I ile hidrolizini önleyip nefrotoksisiteyi azaltmaktadır [13].

2.5.3. Meropenem

Meropenem, imipenemin tersine böbrekte DHP-I enzimine karşı dayanıklıdır. Klinik olarak önemli olan hemen hemen tüm aerob ve anaerob bakterilere karşı son derece etkilidir. İmipenem ve meropenemin en önemli hedefi PBP 2' dir. Ancak meropenem, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'nin PBP 2 ve PBP 3'üne daha yüksek afinite gösterir. Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve gram negatif bakterilerdeki karbapenemazlar dışında diğer tüm β -laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. Karbapenemlerden imipenem gram pozitif bakterilere karşı daha etkili iken, meropenem başta *P. aeruginosa* olmak üzere gram negatif bakterilere karşı daha etkilidir [37, 38].

2.5.4. Doripenem

Doripenem, özellikle dirençli gram negatif bakterilere karşı en etkin antibiyotik grubu olan karbapenemlerin en yeni üyesidir. 2. pozisyonundaki yan zincirindeki sülfamoilamino-metil-pirolidinil-tiyo grubu doripenemin non-fermenter gram negatif basillere karşı aktivitesini arttırmaktadır [9]. Doripenemin etki mekanizması ve spektrumu meropenem ve imipeneme benzemektedir. Diğer tüm β -laktam antibiyotikler gibi PBP'lere bağlanarak bakterinin hücre

duvarı sentezini engellemek yolu ile etki etmektedir [39]. Bu ilacın spesifik olan PBP'lere yüksek afinitesi olduğu bildirilmiştir [9].

2.6. Karbapenemlere Karşı Direnç Gelişim Mekanizmaları

Enterobacteriaceae familyası suşlarında karbapenem direnci çoğunlukla karbapenemaz üretimi ile ilişkilidir. Karbapenem direncinde, karbapenemazlara göre daha ender rastlanan diğer mekanizmalar, efluks, impermeabilite ve buna eşlik eden GSBL veya AmpC üretimidir [3].

2.6.1. Porin Değişimleri

Karbapenemler hücre içerisine dış membranda bulunan porinler aracılığı ile girerler. Porin yapısındaki değişiklik bakterinin karbapeneme direnç kazanmasında rol oynayabilir. *P. aeruginosa*'da ki OprD, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae*'de ki OmpK35 ve OmpK36 porin kayıpları ve GSBL ya da AmpC enzimi varlığına porin kaybı eklenmesi karbapenem direncine neden olmaktadır [40, 41].

2.6.2. Aktif Pompalama Sistemlerinin İndüklenmesi

Aktif pompalama sistemi gram negatif bakterilerde dış membranda bulunan enerji bağımlı kanallarla periplazmik aralığa giren antibiyotiğin dışarı pompalanma mekanizmasıdır. *E. coli*'de AcrA-AcrB-TolC ve *K. pneumoniae*'de Ram A mekanizmaları aktif pompalama ve karbapenem direncinin gelişimine örnektir [41].

2.6.3. Hedef PBP Değişimleri

Karbapenemlerin hücre içine alınmasını sağlayan hedef protein yapılarındaki değişim ile karbapenemlere karşı direnç gelişimi gözlenebilmektedir. *E. coli*'deki PBP2 ve PBP3 değişimi ile karbapenem direnci gelişimi örnek olarak verilebilir [41].

2.6.4. Karbapenemazlar

Karbapenemler, AmpC ve GSBL enzimlerine dayanıklı olmaları nedeniyle özellikle çok ilaca dirençli gram negatif bakteri infeksiyonlarında ilk sırada tercih edilen antibiyotiklerdir. Ancak son yıllarda, gram negatif bakterilerde karbapenem direnci dünya genelinde artmaktadır. Bu direnç non-fermenter gram negatif bakterilerde (*Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa*) görülebildiği gibi fermentatif gram negatiflerde (Enterobacteriaceae) de görülmektedir. Bu direnç paterni farklı tiplerdeki β -laktamazların yaygınlığı ile ilişkilendirilmektedir [42]. Enterobacteriaceae'larda sıklıkla tespit edilen β -laktamazlar KPC, NDM, IMP, VIM ile OXA-48 ve varyantlarıdır [3]. Son yıllarda enterobakterilerde giderek artan oranlarda karbapenemaz üretimi söz konusudur. KPC, ABD ve Yunanistan'da belirgin endemisite ile birlikte önceleri ABD'de daha sonra dünya çapında rapor edilmiştir. Metallo-enzimler (VIM, IMP) de dünya çapında bildirilmiştir ve Güney Avrupa ve Asya'da daha yüksek bir prevalansa sahiptir. OXA-48 tipi karbapenemazlar çoğunlukla Akdeniz ve Avrupa ülkelerinde ve Hindistan'da tespit edilmiştir. Başlangıçta İngiltere, Hindistan ve Pakistan'da tespit edilen NDM-1 üreticilerinin şimdilerde dünya çapında tespit edilmesi endişe vericidir. Karbapenemaz üreticisi etkenlerle enfekte hastaların ve taşıyıcıların saptanması, yayılmalarını önlemek açısından gereklidir [3].

1990'lı yılların başına kadar, tüm karbapenemazlar, iyi tanımlanmış özelliklere sahip, türlere özgü, kromozomal olarak kodlanmış β -laktamazlar olarak tanımlanmıştır [2].

Enterobacteriaceae'larda ilk karbapenemaz (NmcA) üretimi 1993 yılında Fransa'da *Enterobacter cloacae* kromozomu üzerine lokalize bla_{NmcA} geni tespit edilmesiyle tanımlanmıştır [43]. 1991'de Japonya'da imipenem dirençli bir *P. aeruginosa* izolatında ilk MBL enzimi tariflenmiştir [44]. 1995'te Japonya'da *S. marcescens* suşunda karbapenemleri hidrolize edebilen plazmid kaynaklı bir gen, bla_{IMP-1} tarif edilmiştir [45].

1996'da Kuzey Carolina'da bir *K. pneumoniae* suşunda plazmid kaynaklı bir karbapenemaz geni, bla_{KPC-1} tanımlanmıştır [46]. O zamandan beri Enterobacteriaceae türlerinde Ambler sınıfı A, B ve D β -laktamazların olduğu 3 sınıf β -laktamazlara ait çok çeşitli karbapenemazlar tanımlanmıştır [2]. Bu tarihten itibaren bir sürü yeni karbapenemazın tanımlanması terapötik açıdan ve epidemiyolojik olarak endişe yaratmaktadır [6].

Karbapenemazlar, karbapenemin hidrolize olmasına, bakteri hücre duvarındaki porin kanallarının değişmesine ve ilacın permeabilitesinin azalmasına yol açar [29].

Karbapenemazlar tüm karbapenemleri parçalamanın yanı sıra penisilinleri, sefalosporinleri ve monobaktamları da hidrolize ederler. Beta-laktam inhibitörlerinin karbapenemler üzerine minimal etkileri olduğu gösterilmiş olsa bile bunun klinikte önemi bulunmamaktadır [47]. Beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler [2].

2.7. Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae’da Antibiyoterapi

KÜE’ya en etkili antibakteriyel ajanlar kolistin, tigesiklin ve fosfomisinidir. Özellikle kolistin ve tigesiklin yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte son çalışmalar kolistin ve tigesiklin dirençli suşların artışı bildirmektedir. Bu dirençli suşların meydana getirmiş olduğu enfeksiyonlara karşı kombinasyon tedavileri de uygulanmaktadır. Tigesiklin, karbapenemler, rifampin ve doksisisiklin gibi ajanların kolistin ile kombinasyonunun sinerjik etkili olduğu gösterilmiştir [48, 49].

Ciddi kan dolaşımı enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemler ilk tercihtir ancak test edilen izolat duyarlı ise kinolonlar benzer sonuçlar verebilir [50].

2.8. Karbapenemazların Sınıflandırılması

Karbapenemazlar, Ambler sınıflamasında A, B ve D sınıfı beta-laktamazları içeren geniş bir gruptur. A ve D sınıfı β -laktamazlar aktif bölgesinde serin içerirken B sınıfı β -laktamazlar aktif bölgesinde çinko içerir ve metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak adlandırılırlar [2].

Ambler sınıflamasına göre karbapenemazlar;

(1) Sınıf A karbapenemazlar [serin karbapenemazlar (KPC, SME, NMC, IMI, GES enzimleri)]

(2) Sınıf B karbapenemazlar [metallo-beta-laktamazlar (IMP, VIM ve NDM enzimleri)]

(3) Sınıf D karbapenemazlar [OXA karbapenemazlar (OXA-23 ve OXA-48 enzimleri)]

[2, 47, 51]

Tablo-2: Karbapenemazların Sınıflandırılması ve Başlıca Özelliklerinin Karşılaştırılması [52]

Ambler sınıflamasındaki yeri	Sınıf A	Sınıf B	Sınıf D
Epidemiyolojik bölge	ABD, İngiltere	Japonya, Hindistan	Türkiye, Ortadoğu
Enzim aktif bölgesi	Serin	Çinko (Zn)	Serin
Plazmid kaynaklı genler	KPC, GES	NDM	-
Kromozomal kaynaklı genler	NmcA, SME	VIM-2,IMP-1, IMP-2	OXA-23, OXA-48, OXA-181
İnhibitörler	Boronik asit (Klavulanik asit ile zayıf inhibisyon)	Dipikolinik asit, EDTA	-
Beta-laktamlar üzerine etkileri	Monobaktamlar dahil tüm beta-laktamlara (sefamisinler hariç) etkili. GES, karbapenemler üzerine zayıf etkili, monobaktamlara etkili değil.	Aztreonam hariç tüm beta-laktamlara etkili.	Oksasilin ve kloksasilin'e etkili. Karbapenemler üzerinde zayıf hidrolitik aktivite. Aztreonama etkili değil.

2.8.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Sınıf A karbapenemazların beta-laktamlar üzerinde geniş hidrolitik aktivitesi olup karbapenemleri, aztreonamı, penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize edebilmektedirler. Enzim aktif bölgesinde serin bulunmaktadır. Klavulanik asit ve tazobaktam ile kısmen inhibe olabilirler [3].

Bu sınıfta KPC, NMC (not metalloenzyme carbapenemase), IMI (Imipenem hydrolyzing beta-lactamase), SME (*Serratia marcescens* enzyme), GES (Guiana extended spectrum beta-lactamase) enzimleri yer almaktadır. KPC ve GES plazmid ile kodlanmakta olup NMC, IMI ve SME kromozomal kodlanır [2, 46, 53].

Enterobacteriaceae 'da en sık tanımlanan karbapenemaz KPC'dir [54]. KPC (KPC-1) ilk olarak 1996'de Kuzey Carolina'da (ABD) bir *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir [46]. Sonraki yıllarda New York ve ABD genelinde yayılım gözlenmiştir. KPC enzim grubu, *E. coli*, *Klebsiella* türleri, Enterobakter türleri ve *Salmonella enterica* gibi birçok patojende giderek artan oranda bildirilmiştir [55, 56]. Amerika'dan sonra İsrail (Tel Aviv) ve Avrupa (İtalya ve Yunanistan)'da KPC üreten suşların neden olduğu salgınlar ve Güney Amerika ile Çin'de KPC üreten suşlar rapor edilmiştir [57-60]. OXA-48 üreten suşların endemik olduğu, az sayıda NDM üreticisi suşların bildirildiği ülkemizde ilk defa 2014 yılında KPC-2 üreten *K. pneumoniae* suşu tanımlanmıştır. Bu suş, Romanya'da hospitalizasyon öyküsü olup İstanbul'daki bir hastanenin yoğun bakım ünitesine transfer olan 80 yaşında bayan hastada nozokomiyal pnömoni gelişmesi üzerine endotrakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir [61].

KPC enzimi üreten bakterilere bağlı gelişen kan dolaşımı enfeksiyonları yüksek mortaliteye sahiptir. Tedavide kullanılabilir seçenekler kısıtlıdır. Genellikle kolistin, tigesiklin ya da aminoglikozidler tercih edilmektedir [57]. KPC üreten bakterilerin endemik olduğu ABD gibi ülkelerde ampirik tedavide kolistin ile kombinasyon tedavi protokolü giderek artan oranda kullanılmaktadır. Bu nedenle geliştiği düşünülen kolistin dirençli KPC suşlarının da bildirilmeye başlanması endişe vericidir [62].

2.8.2. Sınıf B Karbapenemazlar

Metallo- β -laktamazlar (MBL) olarak bilinen bu enzimlerin aktif bölgesinde aktivitesini düzenleyen çinko (Zn^{++}) iyonları mevcuttur. MBL enzimleri geniş spektrumlu β -laktamaz aktivitesine sahip olmalarına rağmen monobaktamları hidrolize edemezler, bu nedenle tedavide aztreonam kullanılabilir [63]. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), dipikolinik asit (DP) gibi metal iyon şelatörleriyle inhibe olurlar [64].

Enterobacteriaceae suşlarında sık görülen MBL'lere, Verona integron-encoded MBL (VIM), Imipenemase (IMP) ve New Delhi MBL (NDM) örnek verilebilmektedir [2].

MBL'ler 1960'lı yıllardan beri bilinmektedir [65, 66]. Enzimlerin yapısındaki aminoasitlerin dizilimindeki farklılıklar, bu enzimlerin varyantlarını oluşturmaktadır [2].

Çeşitli integron yapılarında lokalize olan bu genler, plazmid ya da transpozonla ilişkili olduğunda bakteriler arasında transferi kolaylaşmaktadır [2].

İlk tanımlanan MBL 1991'de Japonya'da imipenem dirençli bir *P. aeruginosa* izolatından izole edilmiştir [44] ve o zamandan beri dünya çapında bir dizi kazanılmış MBL rapor edilmiştir. Günümüzde MBL üreten Enterobacteriaceae suşlarıyla ilgili bildirilen epidemik ve sporadik vakalar ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Birçok ülkede salgın ve sporadik vakalar bildirilmekle birlikte IMP ve VIM Japonya, Tayvan ve Yunanistan'da endemik olarak bildirilmektedir [2].

VIM ilk defa 1999 yılında İtalya'nın Verona şehrindeki bir suşta rapor edilmiştir [67]. 2005 yılında ABD'de integron kaynaklı bir MBL olan VIM-2'ye bağlı pan-resistant *P. aeruginosa* suşlarının neden olduğu hastane salgını bildirilmiştir [68]. ABD'de ilk VIM üreten enterobakteri 2010 yılında rapor edilmiştir. Yunanistan'da hastaneye yatış öyküsü olan bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir [69]. Türkiye'de ilk defa 2003 yılında imipenem dirençli *K. pneumoniae* suşunda VIM-5 enzimi bildirilmiştir [70]. Yine Türkiye'de 2004 yılında ilk VIM-5 üreten *P.aeruginosa* suşu rapor edilmiş [71], 2007 yılında çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* suşunda ilk defa VIM-1 enzimi tespit edilmiştir [72].

Karbapenemleri hidrolize edebilen plazmid kaynaklı bla_{IMP-1} geni ilk kez 1995'te Japonya'da *S. marcescens* suşunda tarif edilmiştir [45]. Türkiye'de ilk IMP-1 enzimi üretimi, 2003 yılında İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi pediatrik hematoloji kliniğinde tedavi gören 1 yaşındaki hastanın kan kültüründen izole edilen *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiş, 2006 yılında bildirilmiştir [73]. Türkiye'de *E. coli*'de ilk IMP enzim üretimi 2012 yılında rapor edilmiştir [74].

NDM-1 enzimi ilk olarak 2007 yılında İsveç'te, Hindistan'a sık seyahat öyküsü olan bir hastanın idrar kültüründen izole edilen çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae*'de tespit edilip rapor edilmiştir [75]. Bu direnç geninin orjininin Hindistan olduğu belirtilmiştir. Vakaların çoğunun Hindistan ya da Balkan ülkeleri ile bağlantılı olduğu bilinmekle birlikte, Pakistan, İngiltere, İtalya ve Umman'da çok sayıda suş rapor edilmiştir [75-77]. İngiltere, Hindistan ve Pakistan, NDM üreticilerinin rezervuarları olarak tanımlanırken, Balkan ülkelerinin ikinci bir rezervuar oluşturması olası görülmektedir [78]. Türkiye'de ilk olarak 2011 yılında, Irak'ın Bağdat şehrinden Kocaeli'nde bir hastaneye transfer edilen ve hematoloji kliniğinde tedavi edilen 16 yaşında bir erkek hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda NDM-1 enzimi tespit edilmiş,

2012 yılında bildirilmiştir [79]. Daha sonraki yıllarda da ülkemizden NDM enzimi üreten suşların bildirimi yapılmıştır [80]. NDM-1 geni oldukça hızlı yayılmakta ve tüm dünya için önemli bir tehdit unsuru haline gelmektedir [77].

Ülkemizden IMP tipi karbapenemazlar sporodik vakalar halinde rapor edilmektedir ancak durum NDM-1 tipi karbapenemazlar için daha endişe vericidir. Türkiye NDM-1 için bölgesel yayılımın rapor edildiği bir ülkedir. Ancak önümüzdeki dönemlerde bu yayılımın daha da artacağı öngörülebilir [52].

Sınıf B karbapenemaz grubunda bulunan nadir görülen metalloenzimler şunlardır;

German Imipenemase (GIM): 2002 yılında Dusseldorf (Almanya)'dan bildirilmiş, *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır [81].

Seoul Imipenemase (SIM): 2005 yılında Seoul'de (Kore) *A. baumannii* suşunda tanımlanmıştır [82].

Sao Paulo MBL (SPM): 2002 yılında Brezilya'nın Sao Paulo şehrinde, bir *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır [83].

2.8.3. Sınıf D Karbapenemazlar

Tarihsel olarak, karakterize edilen ilk sınıf D β -laktamaz sınıflarına, isoksazolilpenisilin oksasilin'i klasik penisilinlerden daha hızlı hidrolize etme özelliklerinden ötürü oksasilinazlar denmiştir [26].

OXA tipi karbapenemazların çoğu kromozomal genler tarafından kodlanır [84]. Genel olarak klavulanik asit ve EDTA ile zayıf şekilde inhibe edilirler [26]. Aktiviteleri in vitro olarak NaCl tarafından inhibe edilebilmektedir [85].

OXA tipi karbapenemaz üreten ilk izolat Paton ve arkadaşları tarafından 1993 yılında bildirilmiştir [86]. 1985 yılında Edinburgh (İskoçya)'dan bir hastanın kan kültüründen izole edilen *A. baumannii* suşundan izole edilen enzim, ARI-1 (*Acinetobacter resistant to imipenem*) olarak adlandırılmış ve büyük bir plazmid üzerinde bulunduğu gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda ARI-1 enziminin dizilişinin, sınıf D OXA β -laktamaz ailesi ile aynı olduğu gösterilmiştir, bu sebeple

enzimin adı daha sonra OXA-23 olarak değiştirilmiştir [86, 87]. 1998 yılı itibari ile karbapenemaz içeren *Acinetobacter spp.*'ler dünya genelinde tanımlanmaya başlanmıştır [88].

İlk OXA-48 üretimi 2001 yılında İstanbul, Türkiye' de karbapenemler de dahil tüm beta-laktamlara dirençli bir *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir. Tanımlanan bu OXA-48 geni plazmid üzerine konumlandırılmıştır [89]. Plazmid kökenli olan bu genlere sahip izolatlar genel olarak Türkiye ve Hindistan'dan olmak üzere Kuzey Afrika, Orta Doğu ülkeleri, Batı Avrupa, İngiltere'den bildirilmektedir. Ülkemizde OXA-48 pozitifliği yaygındır [3, 42, 90].

OXA-48 tipi karbapenem hidrolize edici sınıf D β -laktamazlar Enterobacteriaceae ailesinde giderek artan oranlarda bildirilmektedir [3].

Bugüne kadar OXA-48 benzeri altı varyant tanımlanmıştır; OXA-48 en yaygın olanıdır. Varyantları birbirinden farklı kılan aminoasit dizilerinin farklı dizilimi ya da delesyonudur [42]. Bu enzimler penisilinlere yüksek düzey direnç gösterirken karbapenemlere düşük düzey direnç göstermektedirler ancak permeabilite kusurları da eklenince karbapenemlere yüksek düzey direnç göstermek mümkündür [42]. OXA-48 penisilinleri ve erken sefalosporinleri hidrolize ederken oksiminosefalosporinlere karşı aktivitesi zayıftır. Seftazidime duyarlıdırlar, sefotaksimi çok düşük düzeyde inhibe ederler. Klavulanik asit ve tazobaktamla inhibisyona dirençlidirler. Ancak OXA-48 ile GSBL birlikteliği söz konusu ise seftazidim ya da sefotaksime direnç olabilir. Çoğu OXA-48 benzeri karbapenemaz üreticilerinin, geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç göstermemesi ve karbapenemlere de sadece azalmış duyarlılık göstermesi nedeniyle fark edilmeleri ve saptanmaları zor olmaktadır. Yayılımlarını kontrol etmek ve önlemek için uygun tarama ve saptama yöntemlerine ihtiyaç olduğu görülmektedir [42].

Karbapenemlerden en az birine azalmış duyarlılık veya direnç gözlenen bir izolatta temosiline (MİK>64 mg/L) ve piperasilin-tazobaktama yüksek düzey direnç mevcutsa OXA-48 varlığından şüphelenilebilir [42, 89, 91].

2.9. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)

1980'li yıllardan beridir *K. pneumonia* ve *E. coli* başta olmak üzere Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinde ve *P. aeruginosa* gibi bazı non-fermenter bakterilerde tanımlanmıştır [92]. GSBL'ler oksimino- β -laktamlar (sefuroksim, 3. ve 4. Kuşak sefalosporinler ve aztreonam) da dahil olmak üzere penisilinler ve sefalosporinlerin çoğunu hidrolize eden enzimlerdir [93]. Bu enzimler sefamisinleri (sefotetan, sefoksitin) ya da karbapenemleri etkilememekte; klavulanik asit, tazobaktam, sulbaktam gibi klasik β -laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmaktadır. GSBL'lerin büyük bir çoğunluğu Ambler sınıf A ya dahil edilirler. β -laktamazların aktif bölgesi etrafındaki nokta mutasyonları nedeniyle ana enzimlerden türemektedirler. SHV, TEM ve CTX-M olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadırlar [92-94]. Enzimleri kodlayan genler sıklıkla büyük plazmidlerde bulunduğundan diğer antimikrobiyal sınıflarına da direnç görülmektedir. Bu nedenle sıklıkla aminoglikozid ve trimetoprim/sulfametoksazol direncini de içeren çok ilaca dirençli fenotiplere rastlamak mümkündür [94].

2000 yılından bu yana *E. coli*, GSBL'lerin üretilmesinden sorumlu önemli bir mikroorganizma olarak karşımıza çıkmaktadır. *Klebsiella spp.* çoğunlukla nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu iken *E. coli* toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır [95, 96].

Karbapenemler, GSBL üreten Enterobacteriaceae'nın neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak tercih edilen ilaçlar olarak kabul edilmektedirler [92].

GSBL saptanması ve enzimlerin tanımlanması özellikle enfeksiyon kontrolü açısından önerilmektedir [93].

2.9.1. Yüksek Düzey AmpC ya da Karbapenemaz Varlığında GSBL Saptanması

Yüksek düzey AmpC varlığında GSBL varlığı maskelenebilir. Böyle durumlarda indikatör sefalosporin olarak, AmpC tarafından genellikle parçalanmayan sefepim kullanılması önerilmektedir. Diğer bir yaklaşım da iyi bir AmpC inhibitörü olan kloksasilin'in kullanılmasıdır. Sefotaksim ve seftazidim disklerine hem kloksasilin hem de klavulanik asit eklenip KDT uygulanabilir [93]. GSBL'lerin maskelenebildiği bir başka durum MBL veya KPC ve/veya geçirgenlik ile ilgili defektlerin varlığıdır [97]. OXA-48 varlığı tek başına ise sefalosporinleri etkilememektedir. OXA tipi karbapenemazların substrat özgüllükleri çeşitlidir ve genellikle

penisilinleri (benzilpenisilin, ampisilin, piperasilin, tikarsilin) ve dar spektrumlu sefalosporinleri, sefalotin ve sefaloridin'i etkili bir şekilde hidrolize ederlerken genişlemiş spektrumlu β -laktamlar, seftazidim, sefotaksim ve aztreonamı hidrolize etmemekte veya çok az hidrolize etmektedirler [84].

Karbapenemaz varlığı halk sağlığı açısından daha önemli olduğundan GSBL'lerin epidemiyolojik önemi sorgulanabilir. Ancak yine de GSBL saptamak isteniyorsa moleküler yöntemler önerilmektedir. Sınıf D grubundan (OXA-tipi) GSBL'lerin klavulanik asit ile inhibe olmadığı, bu nedenle bahsi geçen yöntemlerle saptanamayacağı da bilinmelidir [93, 98, 99].

2.10. AmpC Tipi Beta-laktamazlar (AmpC Sefalosporinazlar)

Ambler moleküler sınıflandırmasına göre sınıf C, Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel gruplandırmasına göre Grup 1'deki beta-laktamazlardır. Kromozomal olarak kodlanan enzimlerdir, aynı zamanda plazmidler üzerinde de taşıyıp aktarılabilirler. İndüklenebilir veya yapısal özellik gösterebilirler. Çoğu penisilini, çoğu sefalosporini ve monobaktamları hidrolize ederler. Bu β -laktamazlar, 1. , 2. ve 3. kuşak sefalosporinleri parçalarken, 4. kuşak sefalosporinleri genellikle etkilemezler. Beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara direnç sağlarlar. Sefalosporinleri penisilinden daha etkin parçalamaktadırlar. Beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilememektedirler. Enzimin aşırı sentezlenmesi sefotaksim, seftazidim ve seftriakson gibi geniş spektrumlu 3. kuşak sefalosporinlere direnç sağlar, bu durum özellikle *Enterobacter spp.*'ye bağlı enfeksiyonlarda problemdir [26, 93, 100]. AmpC β -laktamazlar için kloksasilin, oksasilin ve aztreonam iyi inhibitörlerdir ancak EDTA ile inhibe olmazlar [100].

Çoğu Enterobacteriaceae üyesi üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlıdır. Ancak bu bakterilerden kromozomal kökenli indüklenebilir AmpC β -laktamaz taşıyanlarda tedavi sırasında direnç ortaya çıkabilir [101]. AmpC üreten mikroorganizmalarda dış membran porin kaybı ya da eflüks pompasının aşırı ekspresyonu birlikteliği varsa karbapenem direnci gelişebilmektedir [26, 100].

Plazmid kaynaklı AmpC üreten bakteriler, kromozomal AmpC tipi beta-laktamazların plazmidlere transferi ile gelişmiştir. Plazmid kaynaklı AmpC üretiminden *ampR* regülatör geninin kaybı nedeniyle yüksek seviyelerde enzim üretimi sorumlu tutulmuştur. Bu enzimler çoğunlukla *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella spp.*, *P. mirabilis* ve *E. coli*'de bildirilmiştir. Penisilinler,

sefalosporinler, monobaktamları hidroliz ederler ve indüklenme özellikleri yoktur. AmpC β -laktamazlar için gen taşıyan plazmidler, genellikle aminoglikozidlere, kloramfenikol, kinolonlara, sülfonamidlere, tetrasiklinlere ve trimetoprimlere dirençli genler ve ayrıca TEM-1, CTX-M-3, SHV, VIM-1 gibi diğer β -laktamazlar için genleri de içeren birden fazla direnç genleri taşırlar. Kromozomal olanlara göre epidemiyolojik olarak tehlike potansiyeli daha fazladır [100, 102].

2.10.1. Enterobacteriaceae Türlerinde Kazanılmış AmpC Enzimi Saptanması

Sefamisin direnci (sefoksitin MİK > 8 mg/L) AmpC β -laktamazların yüksek düzey ekspresyonu için bir göstergedir [100]. Bunun yanı sıra, yüksek düzey AmpC üreten suşlarda, genellikle 3. kuşak sefalosporin direnci gözlenmektedir. Sefoksitin direnci ile birlikte seftazidim ve/veya sefotaksim MİK değerinin > 1 mg/L olması, AmpC üretiminin araştırılması için fenotipik kriter olarak kullanılabilir [93]. Ancak sefamisin direnci, sefoksitini parçalamayan plazmid kökenli bir β -laktamaz olan ACC β -laktamaz varlığında gözlenmeyebilir [103]. Porin kaybı da sefoksitin direncine yol açabilmektedir [93].

AmpC doğrulama testleri, fenotipik veya genotipik olarak yapılabilir. Fenotipik doğrulama testleri genel olarak AmpC tipi enzimlerin kloksasilin veya boronik asit türevleri ile inhibisyonu temeline dayanmaktadır. Boronik asit türevlerinin aynı zamanda sınıf A karbapenemazları da inhibe ettikleri bilinmektedir, yorumlama buna göre yapılmalıdır. AmpC aynı zamanda GSBL üreten suşlarda da bulunabileceği için GSBL testinin sonucundan bağımsız olarak araştırılması önerilmektedir [93]. AmpC doğrulama testi olarak AmpC β -laktamaz inhibitörü kullanılabilir. Test edilecek mikroorganizmanın inoküle edildiği plak üzerine seftazidim ve sefotaksim içeren diskler arasına 500 μ g'lık kloksasilin diski yerleştirilerek çift disk sinerji testi yapılabilir [100].

2.11. Kinolonlar

Kinolonlar, sentetik geniş spektrumlu bir antibiyotik ailesidir. 1962'de klinik pratiğe giren nalidiksik asit, kinolon ailesinin tüm üyelerinin öncülü olarak kabul edilir. Kinolonlar patojene bağlı olarak değişen oranlarda iki temel bakteri enzimi olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü inhibe etmektedir [104].

Birinci kuşak kinolonlar (nalidiksik asit, oksolinik asit, sinoksasin, piromidik asit, pipemidik asit ve flumequin) aerop gram negatif bakterilere etki etmektedirler. Bununla birlikte, aerop gram pozitif bakterilere ve anaerop bakterilere etkili değildirler [104].

1980'de norfloksasinin sentezlenmesiyle ikinci kuşak kinolonlar ortaya çıkmıştır. Norfloksasin, C-6 pozisyonuna bir florin eklenmesinden dolayı fluorokinolonlar olarak isimlendirilen kinolonların ilkidir. İkinci kuşak kinolonlar birinci kuşaktan farklı olarak aerop gram pozitif bakterilere karşı da etkinlik göstermektedir. Ayrıca birinci kuşakla karşılaştırıldığında aerop gram negatif bakterilere etkinliği daha fazladır. İkinci kuşak kinolonların anaerop bakterilere karşı aktivitesi yoktur. Diğer ikinci kuşak kinolonlar arasında siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, enoksasin, fleroksasin, lomefloksasin, pefloksasin ve rufloksasin bulunmaktadır [104].

Daha sonra yeni fluorokinolonlar (grepafloksasin, gatifloksasin, sparfloksasin, temafloksasin, tosufloksasin ve pazufloksasin) geliştirildi. Bu yeni kuşak florokinolonlar üçüncü kuşak florokinolonlar olarak isimlendirildi. Bu kuşak kinolonların gram pozitif bakterilere, özellikle *S. pneumoniae*'ye karşı daha fazla etkinliğinin olduğu görüldü. Anaerop bakterilere karşı orta derece bir aktiviteye sahiptiler [104].

Daha sonraki yıllarda anaeroplara karşı kuvvetli aktiviteye ve pnömokoklara karşı artmış aktiviteye sahip son bileşik grubu, dördüncü kuşak florokinolonlar geliştirilmiştir. Trovafloksasin, klinafloksasin, sitafloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasin bu son kuşaktaki antimikrobiyal ajanlardır [104].

EUCAST 'a göre Enterobacteriaceae familyası için fluorokinolon klinik sınır değerleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo-3).

Tablo-3: EUCAST'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Kinolon Klinik Sınır Değerleri [105]

Fluorokinolonlar	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
Siprofloksasin	0.25	0.5	5	25	24
Levofloksasin	0.5	1	5	23	19
Moksifloksasin	0.25	0.25	5	22	22
Norfloksasin	0.5	1	10	22	19

2.12. Polimiksinler

Polimiksinler *Bacillus polymyxa subsp. colistinus*'tan elde edilmiştir ve yalnızca gram negatif bakterilere karşı etkin bir antibiyotik grubudur. Klinik olarak mevcut formlar polimiksin B ve polimiksin E'dir. Polimiksin E, kolistin olarak da bilinmektedir. Kolistin ilk olarak 1952'de sentezlenmiş ve gram-negatif basillerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için 1980'lerin başına kadar kullanılmıştır. Sonraları kolistin toksisitesi nedeniyle artık tercih edilmez duruma gelmiştir. Kolistin in vitro olarak diğer antimikrobiyal sınıflara (örn, penisilinler, sefalosporinler, kinolonlar, aminoglikozitler ve karbapenemler) dirençli olanlar da dahil olmak üzere çeşitli gram negatif mikroorganizmalara karşı mükemmel etkinliğe sahiptir [106].

Kolistinin kesin etki mekanizması bilinmemektedir, ancak ilacın fosfolipidlere bağlanarak bakteriyel hücre zarı bozulmasına neden olduğu düşünülmektedir. Nefrotoksisite, kolistin en önemli yan etkisidir. Önceden böbrek fonksiyonlarında bozukluk olan hastalarda daha sık meydana gelir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması yapılmalıdır, çünkü kolistin esas olarak böbrekler tarafından atılır ve ilacın kandaki yüksek seviyeleri böbrek fonksiyonunu daha da bozabilmektedir [106]. EUCAST kolistin için MİK metodu kullanılmasını önermekte, disk difüzyon testi önermemektedir (Tablo-4) [105].

Tablo-4: EUCAST'a göre Kolistin için Klinik Sınır Değerler [105]

	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
Kolistin	2	2	-	*	*

* MİK metodu kullanılmalı.

2.13. Karbapenemazların Saptanması

Karbapenem direncinin Enterobacteriaceae, özellikle de *K. pneumoniae* ve *E. coli* aracılığıyla yaygınlaştırılması önemli bir halk sağlığı endişesidir [107]. Karbapenemaz üreten bazı bakteriler karbapenemlere belirgin direnç kazanmadıkları gibi karbapenemaz aktivitesine sahip enzimleri olmayan çeşitli Enterobacteriaceae izolatları da karbapenemlere karşı direnç gösterebilmektedir [105]. Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesine yönelik hızlı yöntemler, antimikrobiyal ajanların yeterli ve uygun şekilde kullanılmasını sağlamak ve bu bakterilerin yayılımını sınırlamak için önemlidir [107]. Moleküler yöntemler direnç yayılım mekanizmaları ve epidemiyolojisi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. Karbapenemaz üreten suşlar ile enfekte veya kolonize hastaların izolasyonunun sağlanması hastanede gelişebilecek olası salgınlara önlenmesini sağlar. Bu nedenle karbapenemaz üreticilerinin hızlı ve doğru şekilde saptanması son derece önemlidir [52]. Direnç mekanizmasının saptanması antimikrobiyal duyarlılık saptanması için gerekli değilken enfeksiyon kontrolü ve halk sağlığı açısından gereklidir [93].

Karbapenemaz saptanması için, öncelikle karbapenemaz taraması bunu takiben fenotipik ve genotipik doğrulama yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir. İlk basamakta yani karbapenemaz taramasında karbapenemlere azalmış duyarlılık gösteren izolatlara, fenotipik doğrulama testleri uygulanmalı, pozitif kabul edilen izolatlara karbapenemaz geninin tespiti için PCR tabanlı testler uygulanmalıdır [108].

2.14. Karbapenemaz Taraması

EUCAST'e göre Enterobacteriaceae familyası için EUCAST karbapenem klinik sınır değerleri, karbapenemaz üreticilerinin çoğu dahil olmak üzere klinik önemi olan tüm direnç mekanizmalarını saptamaktadır. Karbapenemaz üreten bazı izolatlar bu sınır değerlere karşı hassas olarak kategorize edilir ve duyarlı olarak rapor edilmelidir. Yani bir karbapenemazın varlığı veya yokluğu, duyarlılığın kategorizasyonunu tek başına etkilememektedir [105].

Karbapenemaz ürettiği halde kılavuzdaki karbapenem klinik sınır değerlerinin altında MİK değerlerine sahip olan suşları da yakalayabilmek için EUCAST tarafından epidemiyolojik sınır değerler (ECOFF) belirlenmiştir [105]. Aynı şekilde, KÜE izolatları sıklıkla klinik karbapenem sınır değerlerinden daha düşük MİK değerlerine sahip oldukları için EUCAST, karbapenemaz taraması yapılacak suşların belirlenmesi için de tarama cut-off değerleri belirlemiştir. Bu değerlere göre imipenem için MİK değeri >1 mg/L, zon çapı <23 mm; ertapenem ve meropenem için MİK değeri >0,125 mg/L, zon çapı <25 mm olan izolatlar karbapenemaz taraması yapılması açısından uygundur [93].

Meropenem, karbapenemaz taraması için duyarlılık ve özgüllük dengesi en iyi olan ajandır. İmipenem ile taramada sokak tipi ve karbapenemaz üreticileri arasındaki ayırım göreceli olarak zayıftır. Bu nedenle imipenemin tek tarama bileşiği olarak kullanılması önerilmemektedir. Ertapenem yüksek duyarlılık ancak düşük özgüllüğe sahiptir; porin mutasyonları varlığında GSBL ve AmpC tipi enzimlere duyarlı olduğu için rutin tarama için önerilmemektedir [93]. EUCAST karbapenemaz taramasında meropenemin kullanılmasını önermektedir [105].

Karbapenem MİK değerlerinden ve zon çaplarından başka, diğer bazı antibiyotiklere direnç profili bize karbapenemaz üreticilerini saptama konusunda yol gösterici olabilir. Karbapenemaz üreten bir suş, birçok β -laktam grubu antibiyotiğe, en azından penisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere direnç göstermektedir. Bu suş Sınıf A ya da Sınıf B karbapenemaz gruplarından bir gene sahipse seftazidim, seftriakson ve sefotaksim gibi genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere de direnç göstermesi beklenir. Sınıf D karbapenemaz üreticilerinde genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere direnç gözlenmemektedir [2].

Tablo-5: EUCAST'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Karbapenem Klinik Sınır Değerleri [105]

Karbapenemler	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)	
	S≤	R>		S≥	R<
Doripenem	1	2	10	24	21
Ertapenem	0.5	1	10	25	22
İmipenem	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16

Tablo-6: CLSI'a göre Enterobacteriaceae Familyası için Karbapenem Klinik Sınır Değerleri [109]

Karbapenemler	Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)			MİK sınır değerleri (µg/mL)		
		S	I	R	S	I	R
Doripenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Ertapenem	10	≥22	19-21	≤18	≤0.5	1	≥2
İmipenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Meropenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4

Tablo-7: EUCAST Önerilerine göre Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae için Klinik Sınır Değerler ve Tarama Eşik Değerleri [93]

Karbapenem	MİK (mg/L)		Disk difüzyon zonları (mm) 10 µg'lık disklerle	
	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri
Meropenem	≤2	>0.12	≥22	<25*
İmipenem	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem	≤0.5	>0.12	≥25	<25

*Bazı durumlarda OXA-48 üreten izolatlar için zon çapı 26 mm'ye kadar ulaşabilmektedir. Bu nedenle, OXA-48 üreten Enterobacteriaceae salgınlarında, özgüllükte düşüş göze alınarak <27 mm tarama eşik değeri olarak kullanılabilir.

2.15. Karbapenemazların Saptanmasında Fenotipik Yöntemler

Rutin duyarlılık testlerinde karbapenemlere karşı azalmış duyarlılık saptanırsa, karbapenemazları saptamak için fenotipik doğrulama yöntemleri kullanılmalıdır. Kullanılabilecek fenotipik testler; Modifiye Hodge Testi (MHT), inhibitör bazlı yöntemler (çift disk sinerji testi, kombine disk testleri, E test-MBL vb.), kromojenik besiyerleri, biyokimyasal yöntemler (Carba NP), MALDI-TOF MS ve immünokromotojenik yöntemlerdir [52]. Modifiye Hodge testi karbapenemaz varlığının saptanması için kullanılabilirken, inhibitör tabanlı testler farklı karbapenemaz sınıfları arasında ayırım yapabilmek için kullanılır [108].

CLSI modifiye Hodge testini (MHT) önermekte iken, EUCAST kombinasyon disk testini önermektedir [105, 109].

2.15.1. Modifiye Hodge Testi

2001 yılında Lee ve arkadaşları, 1978 yılında Hodge ve arkadaşlarının *Neisseria gonorrhoeae* gibi penisilinaz üreten bakterileri saptamak amacıyla geliştirdiği testi modifiye ederek günümüzde karbapenemaz üreten suşları saptamak için kullandığımız modifiye Hodge testini (MHT) geliştirmişlerdir [110].

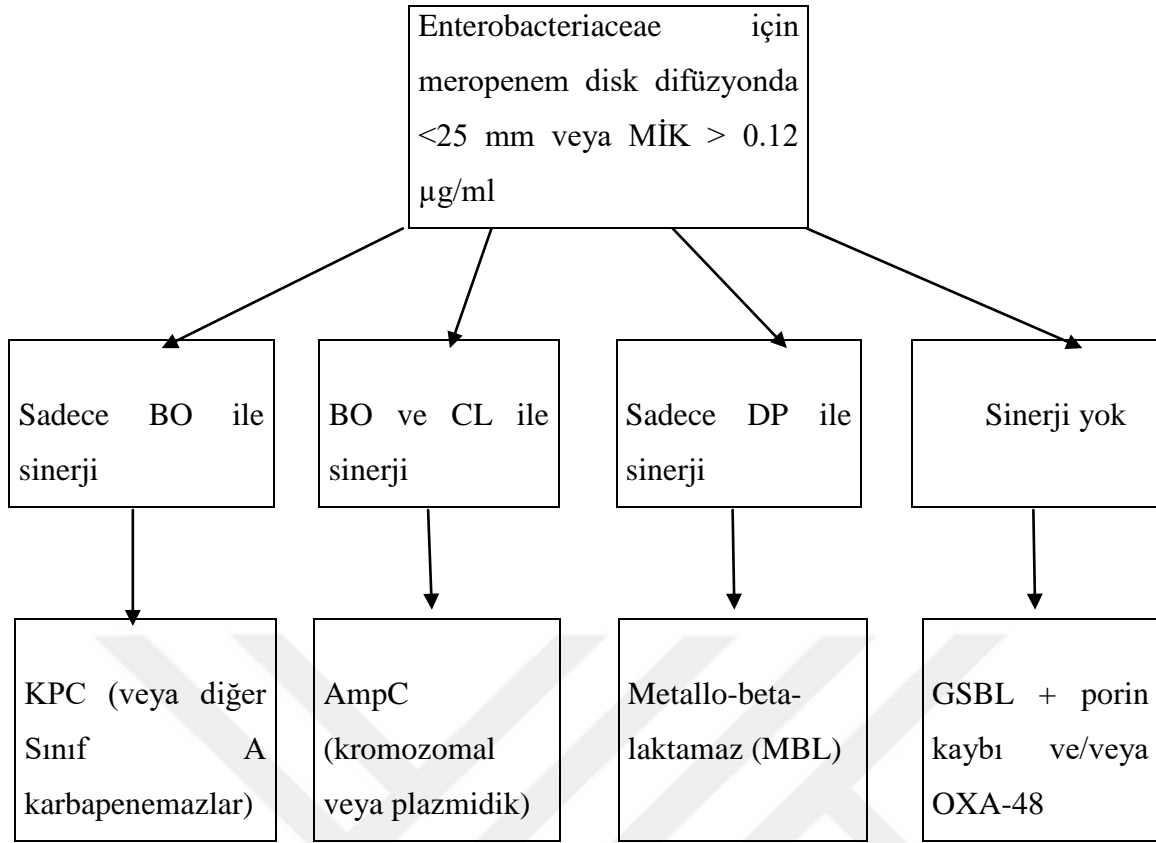
Modifiye Hodge Testi (Yonca yaprağı testi), en az 24-48 saat gerektirdiği için zaman alıcı bir tekniktir. Aynı zamanda yorumlaması subjektiftir. Ancak laboratuvara fazla maliyet getirmediği için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Karbapenemaz üreten izolatların, testte kullanılan karbapenemi inhibe etmesi sonucunda indikatör suş olarak kullanılan duyarlı *E. coli* standart suşunun inhibisyon zonunda yaptığı değişikliğin yorumlanması esasına dayanan bir testtir. Bakterinin ürettiği karbapenemaz çeşidine göre testin duyarlılığı ve özgüllüğü değişmektedir [52]. Yüksek düzey AmpC üreticileri ve CTX-M tipi GSBL üreticilerinde yanlış pozitif sonuçlar gözlemlenmektedir. NDM üreticilerini algılaması zayıfken KPC ve OXA üreticilerinin tespitini iyi yapmaktadır. Sonuçları yorumlamak zordur, duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür [111]. Bu test, izolatların karbapenemaz aktivitesinin tespit edilmesinde ilk adım olarak kullanılabilir. Buna ek olarak, karbapenemaz üreticilerinin neden olduğu salgınlar için enfeksiyon kontrol işleminin bir parçası olarak karbapenemaz aktivitesini kontrol etmek için de yararlı bir testtir [91]. MHT'nin epidemiyolojik veya enfeksiyon kontrol amacı dışında yapılması gerekmez. MHT (+) izolatlarda karbapenem duyarlılık test sonuçlarının yorumlarında değişiklik yapılmasına gerek yoktur [109].

2.15.2. İnhibitör Bazlı Testler

Bazı karbapenemazların etkinliği, kendilerine spesifik inhibitörlerin varlığında azalmaktadır, böylelikle karbapenemaz üreticileri, β -laktam ajanlara daha duyarlı hale gelmektedirler [112]. İnhibitör bazlı testler tek başına karbapenem ile karbapenemaz inhibitörlü kombinasyonların karşılaştırılması esasına dayanmaktadır.

2.15.2.1. Kombinasyon Disk Testi

Kombinasyon disk testi (KDT), çeşitli çalışmalarla valide edilmiş ve ticari olarak bulunabilen bir testtir. Diskler meropenemin yanı sıra BO, DP, EDTA, CL gibi çeşitli inhibitörleri içerirler. BO sınıf A karbapenemazları inhibe ederken, DP veya EDTA sınıf B karbapenemazları inhibe eder. Sınıf D karbapenemazlar için kullanılan bir inhibitör bulunmamaktadır ancak hiçbir inhibisyonun gözlenmediği durumlarda yüksek düzey TEM direnci (MİK>32 mg/L) OXA-48 için fenotipik belirleyici olarak önerilmektedir. Buna karşın, diğer bazı direnç mekanizmaları da benzer fenotipe yol açabilmektedir. Bu nedenle temosilin direnci OXA-48 –tipi karbapenemazlara özgül olmayıp OXA-48 varlığı genotipik yöntemlerle doğrulanmalıdır. Aşırı AmpC üretimi ve porin kaybı birlikteliği ile ortaya çıkan karbapenem direnci ile karbapenemaz üretiminin ayrılması amacıyla CL içeren diskler eklenir (Şekil-1) [93].



Şekil-1: İnhibitör testlerinin yorumlanması ile ilgili akış şeması [93]

2.15.2.2. Çift Disk Sinerji Testi

Bu yöntemde inhibitör emdirilen steril kağıt disk, karbapenem diski ile aralarında belli bir mesafe olacak şekilde besiyerine yerleştirilir. Karbapenem diski ile inhibitör emdirilmiş disk arasında sinerji gözlenir ise sonuç pozitif olarak değerlendirilir [110].

2.15.2.3. Gradyent Difüzyon Testi

Bu yöntemin metallo-β-laktamaz aktivitesini saptamak amacıyla kullanılması önerilmektedir. Bu amaçla imipenem ile imipenem-EDTA kombinasyonunu içeren gradiyent difüzyon testi şeritleri kullanılmaktadır [91].

2.15.3. Karbapenem İçeren Kromojenik Besiyerleri

Karbapenemaz üreticilerinin yayılması, kolonize hastaların hızlı ve doğru bir şekilde saptanması ile engellenebilir. Bu amaçla karbapenem dirençli mikroorganizmaları saptamak üzere çeşitli besiyerleri üretilmiştir. Kolonize hastaların tespiti için hastalardan hastaneye yatışlarının erken döneminde ya da yoğun bakım gibi spesifik bir üniteye geçişten hemen önce sürveyans için uygun örnekler olan gaita ve rektal sürüntü örnekleri alınmalı ve tarama amaçlı kullanılan bu besiyerlerine ekilmelidir [113].

Bu amaçla piyasaya sürülen ilk besiyeri CHROMagar KPC besiyeridir (CHROMagar, Fransa). CHROMagar KPC, sadece yüksek düzey karbapenem direnci gösteren suşları saptamaktadır. Bazı MBL'ler ya da OXA-48 üreticilerinde karbapenem direnci oranı düşüktür. Bu nedenle bu besiyerinin bu suşları saptamadaki duyarlılığı düşüktür [113]. Bir diğer tarama besiyeri CRE Brilliance 'dir. KPC ve MBL üreticilerini iyi saptamakta ancak OXA-48 üreticilerinin tamamını yakalayamamaktadır. Üçüncü besiyeri ise kloksasilin, çinko ve bir karbapenem içeren SUPERCARBA besiyeridir. Duyarlılık ve özgüllüğü farklı tiplerdeki tüm karbapenemaz üreticilerini yakalayabilecek şekilde arttırılmıştır [113].

2.15.4. Carba NP testi

Karbapenemlerin β -laktam halkasının hidrolizinin tanımlanması temeline dayanan bir testtir. Hızlı, hassas ve spesifiktir ve tüm laboratuvarlara uyarlanabilir bir tekniktir. Test edilecek izolatta karbapenemaz mevcut ise, testteki karbapenemin β -laktam halkası hidrolize edilmekte ve pH değişimi olmaktadır. Böylece indikatör olarak kullanılan fenol kırmızısı solüsyonunun rengi kırmızıdan sarıya dönmektedir [114].

Carba NP testinden sonra Enterobacteriaceae ve *Pseudomonas spp.* 'de karbapenemaz üretimini belirlemek için farklı karbapenemaz türleri (sınıf A, B ve D) arasında ayırım yapabilen, inhibitör olarak EDTA ile tazobaktamın kullanıldığı, imipenem hidrolizinden kaynaklanan pH değişiminin saptanması esasına dayanan bir biyokimyasal test (Carba NP test II) daha geliştirildi. Bu sadece karbapenemaz aktivitesinin değil Enterobacteriaceae ve *P. aeruginosa*'daki karbapenemaz tiplerinin saptanması için kolay ve güvenilir bir tekniktir (% 100 duyarlılık ve özgüllük) [115].

2.16. Karbapenemaz Genleri Saptanmasında Genotipik Yöntemler

Başlıca genotipik metotlar PCR çeşitleri, oligonükleotid hibridizasyonu, PFGE (pulsed field gel electrophoresis) ve MLST (multilocus sequence typing) şeklindedir [52].

2.16.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Karbapenemaz genlerinin spesifik inhibitörler kullanılarak fenotipik testlerle tanımlanmasının değeri sınırlıdır. Bu nedenle fenotipik tayin yöntemleri ile ilgili sıkıntıları gidermek ve daha hızlı sonuç verebilmek için polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler OXA tipi enzimler gibi kendisi için henüz fenotipik bir test geliştirilmemiş olan genlerin tayinine imkan sağlamaktadır. Bildirilen moleküler yöntemler in-house ve ticari seçenekleri de içeren gerçek-zamanlı PCR temelli birçok test formatını içermektedir. Ticari genotipik testlere hızlı genetik testler de dahildir [1, 116].

Beta-laktamaz gen gruplarını saptayacak oligonükleotid primerleri için görüş birliği yoktur ancak karbapenemaz genlerini tek tek saptayan PCR yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Multiplex PCR yöntemleri ise tek örnekte eş zamanlı birden çok karbapenemaz gen tipi saptanmasına imkan vermektedir [6].

Piyasada multiplex, real time PCR kullanılarak bla_{VIM}, bla_{KPC}, bla_{IMP}, bla_{NDM}, bla_{OXA-48} gibi yaygın görülen karbapenemaz gen tiplerini tespit eden ticari kitler mevcuttur. Bu kitler ile 40 dk-6 saat gibi kısa zamanda, yüksek duyarlılık ve özgüllükte karbapenemaz tayini yapılabilmektedir [52].

PCR testlerinin temel sınırlamaları maliyetleri ve spesifik bir gen testinin olası tüm karbapenemazları saptamak için yeterince duyarlı olmayabileceğidir [1].

2.16.1.1. Xpert Carba-R PCR Testi

Xpert Carba-R PCR testi, bir saatten kısa bir sürede KPC, NDM, VIM, OXA-48 ve IMP-1 gibi en yaygın görülen karbapenemaz genlerini ayırt edebilen bir testtir [117]. Rektal örneklerde KÜE taramak için üretilmiş bir test olup doğrudan bakteri örnekleri de bu test kullanılarak

çalışılabilmektedir [116]. Hazırlık da dahil tüm aşamaları ile birlikte toplamda 1 saatten daha kısa sũrede sonuç vermesi avantajı nedeniyle malzeme, iş gũcũ ve maliyeti azaltarak optimal karbapenemaz tanımlaması yaptığı için GeneXpert Carba-R testinin kullanılması önerilmektedir [3].

Xpert Carba-R numune hazırlama, DNA ekstraksiyonu, amplifikasyon ve çoklu, gerçek zamanlı PCR analizlerini kullanarak hedef genlerin niteliksel tespitini yapan tam otomatik ve entegre bir sistemdir. Bu yeni yöntem, PCR reaktiflerini içeren ve PCR sũrelerini içerisinde barındıran tek kullanımlık bir kartuş içerir. Bu kartuş, bir dizi karbapenemazı (bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{NDM}, bla_{KPC} ve bla_{OXA-48}) hedefleyen ve çoğaltan primerler içerir. Xpert Carba-R test kiti, 10 numuneyi işlemek için yeterli reaktifleri içerir. Buna ek olarak, tespit edilen 5 beta-laktamaz gen sekansının tũmũnũ taşıyan pozitif bir kontrol ve ̢-laktamaz gen dizileri bulundurmayan negatif kontrol içerir. Test edilecek izolatlar numune reaktifine inokũle edilip ũreticinin talimatlarına göre kartuşa yũklenir. Sonuçlar, GeneXpert yazılımı kullanılarak analiz edilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez (mikrobiyoloji- bakteriyoloji) laboratuvarında yapıldı. Temmuz 2016- Temmuz 2017 tarihleri arasında klinik ve yoğun bakımlardan laboratuvara gönderilen kan, idrar, trakeal aspirat, abse, yara sürüntüsü, balgam, BOS, BAL, katater kanı, dren mayi gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilen 922 *E. coli* ve 564 *K. pneumoniae* izolatu olmak üzere toplam 1486 izolat incelendi. Phoenix™ 100 (Becton-Dickinson, ABD) otomatize sistemi ile karbapenemlerden biri veya birkaçına orta dirençli veya dirençli bulunan izolatlardan 15 *E. coli*, 74 *K. pneumoniae* olmak üzere toplam 89 KDE izolatu karbapenemaz varlığı araştırılmak üzere çalışmaya dahil edildi. Aynı hastadan izole edilen aynı tür bakteriler çalışmaya dahil edilmedi.

3.1. Besiyerlerinin Hazırlanması

3.1.1. Eozin-Metilen Blue (EMB) Agar

37,5 gr EMB dehidre besiyeri (Oxoid, İngiltere) 1 litre distile suda eritilip homojenize edildi. 121 °C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika otoklavlandı. 45 °C'ye kadar soğuması beklendikten sonra steril petrilere 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü.

3.1.2. %16 Gliserollü Triptik Soy Buyyon (TSB)

15 gr TSB dehidre besiyeri (Merck, Almanya) balon jöjeye alındı, üzerine 80 ml gliserol ilave edilip karıştırıldı. 420 ml distile su eklenerek benmari yöntemi ile 5 dk ısıtıldı. 121 °C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dk otoklavlandı. Soğuduktan sonra bek alevinin yanında steril pipetlerle 2 ml'lik ependorflara 1'er ml besiyeri olacak şekilde aktarıldı.

3.2. Suşların Tanımlanması

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örnekler %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye) ve eozin-metilen blue (EMB) agar besiyerlerine ekildi. Ekim yapılan plaklar 24-48 saat 35 °C'de inkübe edildi. Kan kültürü örnekleri ise tam otomatik sistem olan BACTEC FX (Becton-Dickinson, ABD) cihazında inkübe edildi. Üreme sinyalinin alınmasından sonra belirtilen besiyerlerine ekimleri yapıldı. Besiyerlerinde üreyen bakterilerin tür tanımlaması MALDI-TOF

MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak, antibiyotik duyarlılık testleri Phoenix™ 100 (Becton-Dickinson, ABD) otomatize sistemi ile yapıldı.

3.2.1. MALDI-TOF MS Sistemi

Klinik örnekler rutin kültür işlemlerine tabi tutulduktan sonra tanımlama için MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) sistemi kullanıldı. Kültür plağında üreyen koloniden, bir kürdan ucuyla örnek alınarak ‘target slayt’ denen metal plağa sürüldü. Oda ısısında kuruduktan sonra 1 µl matriks (HCCA: alfa siyano-4-hidroksi-sinamik asit) solüsyonu (Bruker Daltonics, Almanya) eklendi. Plak, analiz için Microflex LT MALDI-TOF MS cihazına (Bruker Daltonics, Almanya) yerleştirildi. Her örnek toplamda 320-400 olacak şekilde lazer atışlarına maruz bırakıldı. Ölçümler Flex Control 3.0 yazılımı (Bruker Daltonics, Almanya) ile gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları 0-3 arasında skor değerleri olarak verilmekte olup üretici firma önerisiyle ≥ 2 skor değeri cins ve tür düzeyinde kabul edilebilir skor olarak alındı.

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.3.1. Phoenix 100 (Becton-Dickinson, ABD) Otomatize Sistemi

Gram negatif bakteriler için kullanılan Phoenix 100 NMIC paneli (Becton Dickinson, ABD) inokülasyon yuvaları üst kısma gelecek şekilde inokülasyon istasyonuna yerleştirildi. Uygun olan bakteri kolonisinden Phoenix ID sıvısı içerisine aktarılıp PhoenixSpec nefelometre (Becton Dickinson, ABD) ile 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Phoenix AST sıvısı içeren tüpe AST indikatörü solüsyonu eklenmesinin ardından ID tüpünden bir pipet yardımıyla 25 µL bakteri süspansiyonu AST tüpüne aktarıldı. AST tüpünün tamamı panelin AST tarafındaki doldurma yuvasına boşaltıldıktan sonra panelin kapağı kapatılıp panel ve örnek barkodları Phoenix cihazına tanıtılıp, cihaza yerleştirildi. Antibiyotik duyarlılık sonuçları 16-20 saat içerisinde elde edildi.

3.3.2. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi

Phoenix otomatize sistemi ile imipenem, meropenem veya ertapenemden en az birine artmış MİK değeri gösteren izolatlarda disk difüzyon yöntemiyle imipenem, meropenem, ertapenem, kolistin, siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, norfloksasin duyarlılıkları

çalışıldı. Besiyerinden tek düşmüş kolonilerden steril öze ile bir miktar alınarak PhoenixSpec nefelometre (Becton Dickinson, ABD) cihazı ile 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon steril eküvyon çubuğu ile 4 mm kalınlığındaki Mueller Hinton agar plağının (Oxoid, İngiltere) yüzeyine sürülerek bakteri tüm agar yüzeyine homojen olarak yayıldı. Plaklar kuruduktan sonra üzerine 10 µg imipenem (Oxoid, İngiltere), 10µg meropenem (Oxoid, İngiltere), ve 10 µg ertapenem (Oxoid, İngiltere), 5µg siprofloksasin (Oxoid, İngiltere), 5µg levofloksasin (Oxoid, İngiltere), 5µg moxifloksasin (Oxoid, İngiltere), 10 µg kolistin (Oxoid, İngiltere) içeren antibiyotik diskleri aralarında 25 mm olacak şekilde yerleştirildi. 35 °C'lik etüvde 18-24 saat inkübasyonun ardından inhibisyon zon çapları ölçülerek EUCAST standartlarına göre duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi.

3.4. Suşların Saklanması

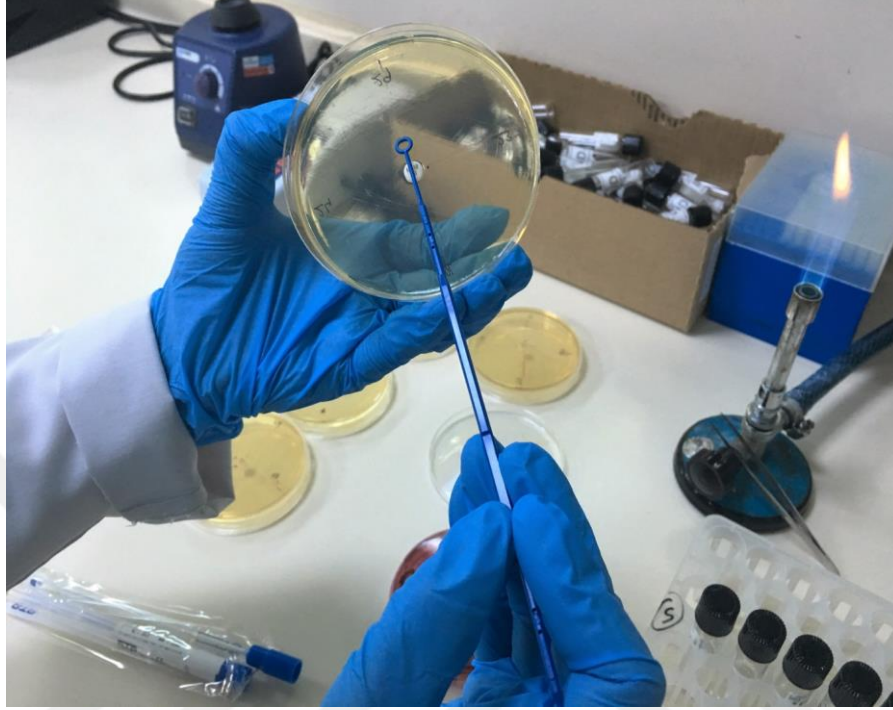
Karbapenem dirençli kabul edilen suşlar %16 gliserollü triptik soy buyyon besiyeri içeren endorflara pasajlanarak hedeflenen sayıya ulaşıldığında modifiye hodge testi, kombine disk yöntemi ve multiplex PCR çalışılmak üzere -80 °C de saklandı.

3.5. Karbapenem Direnç Mekanizmasının Fenotipik Yöntemlerle Tayini

3.5.1. Modifiye Hodge Testi

Karbapenem duyarlı *E. coli* ATCC 25922 standart suşu taze pasajı elde edildi. Taze pasajında tek düşmüş kolonilerden steril öze ile bir miktar alınarak serum fizyolojik (SF) ile 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. McFarland hazırlanması PhoenixSpec nefelometre (Becton Dickinson, ABD) cihazı ile yapıldı. Hazırlanan süspansiyon standart Mueller Hinton agar plaklarına homojen olarak disk difüzyon yönteminde olduğu gibi yayıldı. Nemin emilmesi için 15 dakika beklenip plağın ortasına meropenem 10 µg diski yerleştirildi. Test edilecek olan suşların kanlı agardaki taze pasajından steril öze ile bakteri kolonileri alınıp meropenem diskinin kenarından başlanarak 20-25 mm uzunluğunda çizgi şeklinde ekim yapıldı (Resim-1). 35 °C'lik etüvde 16-24 saat inkübasyondan sonra değerlendirme yapıldı. Test edilen suşun, indikatör suş olarak kullanılan standart *E. coli* suşunun inhibisyon zonunda yaptığı değişiklik yorumlandı. Karbapenemaz şüpheli suşun çizgi şeklindeki ekiminin etrafında *E. coli* ATCC 25922 standart suşunun üremesi sonucu yonca yaprağı şekli oluşması pozitif olarak

değerlendirildi. *K. pneumoniae* ATCC 1705 pozitif kontrol, *K. pneumoniae* ATCC 1706 negatif kontrol olarak kullanıldı [52, 109]. Sonuçlar pozitif ve negatif olarak kaydedildi.



Resim-1: Modifiye Hodge Testi Çalışması

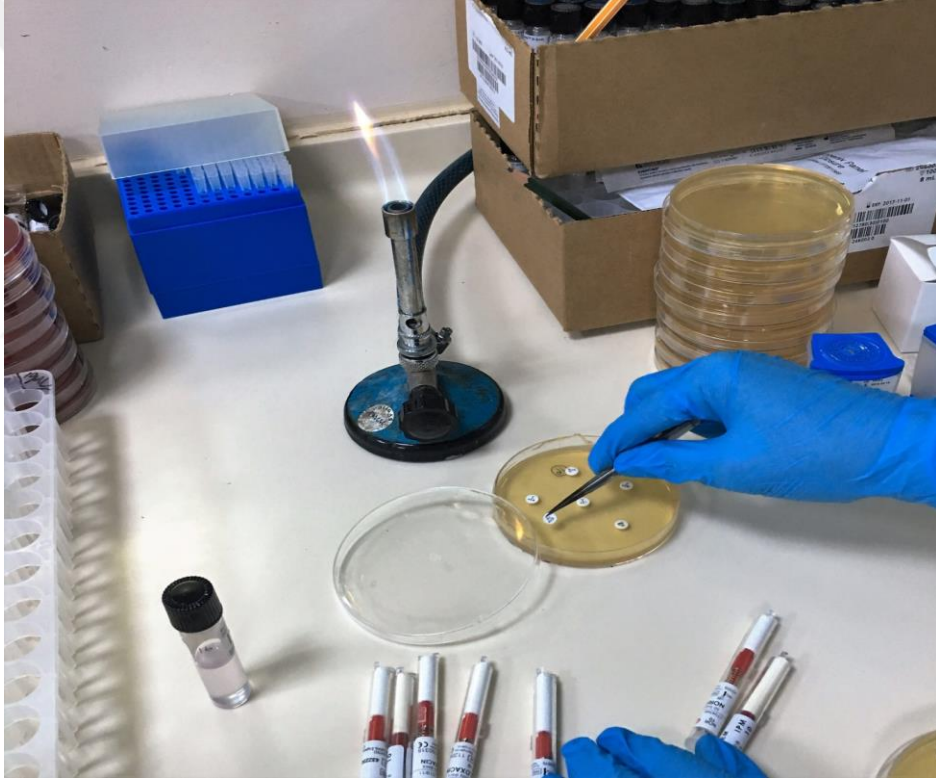
3.5.2. Kombinasyon Disk Testi

-80 °C de saklanmış ependorflar oda ısısına getirildikten sonra %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye) besiyerine ekim yapıp canlandırma sağlandı. İkinci kez yapılan taze pasajında tek düşmüş kolonilerden steril öze ile bir miktar alınarak PhoenixSpec nefelometre (Becton Dickinson, ABD) cihazı ile 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon steril eküvyon çubuğu ile 4 mm kalınlığındaki MHA plağının yüzeyine sürülerek bakteri tüm agar yüzeyine homojen olarak yayıldı.

Meropenem 10 µg + dipikolinik asit 1000 µg (MR+DP) (Liofilchem, İtalya), meropenem 10 µg + fenilboronik asit 400 µg (MR+BO) (Liofilchem, İtalya), meropenem 10 µg + kloksasilin 750 µg (MR+CL) (Liofilchem, İtalya) kombine diskleri temin edildi. 0,2 M etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) (ChemBio, Türkiye) çözeltisinden 10 µL pipetle alınıp 10 µg'lık meropenem diskinin (Oxoid, İngiltere) üstüne damlatıldı. Üzerine 0,2 M EDTA damlatılan

meropenem diski oda ısısında 30 dakika kurumaya bırakıldıktan sonra diğer kombine diskler ile beraber petriye yerleştirildi [118].

Her petriye meropenem 10 µg, MR+DP, MR+EDTA, MR+BO, MR+CL ve temosilin 30 µg (TMO) diski (Liofilchem, İtalya) olmak üzere toplam altı adet disk yerleştirildi. 18 saatlik inkübasyondan sonra inhibitör içeren diskler ile sadece meropenem içeren diskin zon çapları karşılaştırıldı. DP, EDTA ve CL içeren disklerde yalnız MR içeren diske göre zon çapında 5 mm ve üzeri artış pozitif kabul edilirken; BO içeren diskte yalnız meropenem içeren diske göre 4 mm ve üzeri artış pozitif olarak değerlendirildi [4, 118]. Sonuçlar pozitif ve negatif olarak kaydedildi. Temosilin diski inhibisyon zon çapı 10 mm ve altında ise dirençli kabul edildi [4]. Sonuçlar duyarlı ve dirençli olarak kaydedildi.



Resim-2: Antibiyotik Disklerinin MHA Besiyeri Yüzeyine Yerleştirilmesi

Tablo-8: Kombinasyon Disk Testinin Yorumlanması [93]

Beta-laktamaz	Meropenem (10µg) diski ile zon çapında artış			Temosilin (30 µg) diski
	DP ya da EDTA	BO	CL	
MBL	≥5	-	-	Uygulanmaz
KPC	-	≥4	-	Uygulanmaz
OXA-48 benzeri karbapenemazlar	-	-	-	Uygulanır*
AmpC+Porin kaybı	-	≥4	≥5	Uygulanmaz
GSBL+Porin kaybı	-	-	-	Uygulanır*

*Temosilin diski, sadece hiçbir sinerjinin gözlenmediği durumlarda OXA-48 üretimi ile GSBL+porin kaybının ayırt edilmesinde önerilir. Dirençli ise OXA 48 karbapenemaz varlığı lehine, değilse GSBL+porin kaybı lehine yorumlanır.

3.5.3. GSBL Saptamak İçin Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Hiçbir sinerjinin gözlenmediği durumlarda varsa GSBL ile porin kaybı birlikteliğini gösterebilmek için sefotaksim 5 µg (Oxoid, İngiltere) ile seftazidim 10 µg(Oxoid, İngiltere) disklerinin ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski, aralarında merkezden merkeze 20 mm olacak şekilde yerleştirildi. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin zon çapı amoksisilin-klavulanik asit diskiye bakan yüzünde genişleme olduğunda test pozitif olarak değerlendirildi [92]. Sonuçlar pozitif ve negatif olarak değerlendirilip kaydedildi.

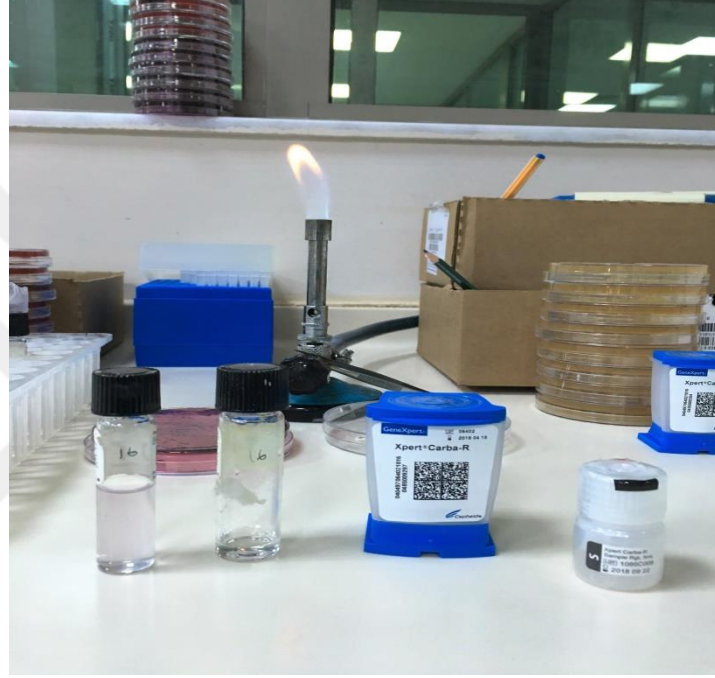
3.6. Karbapenem Direnç Mekanizmasının Genotipik Yöntemlerle Tayini

3.6.1. Multiplex PCR Çalışması

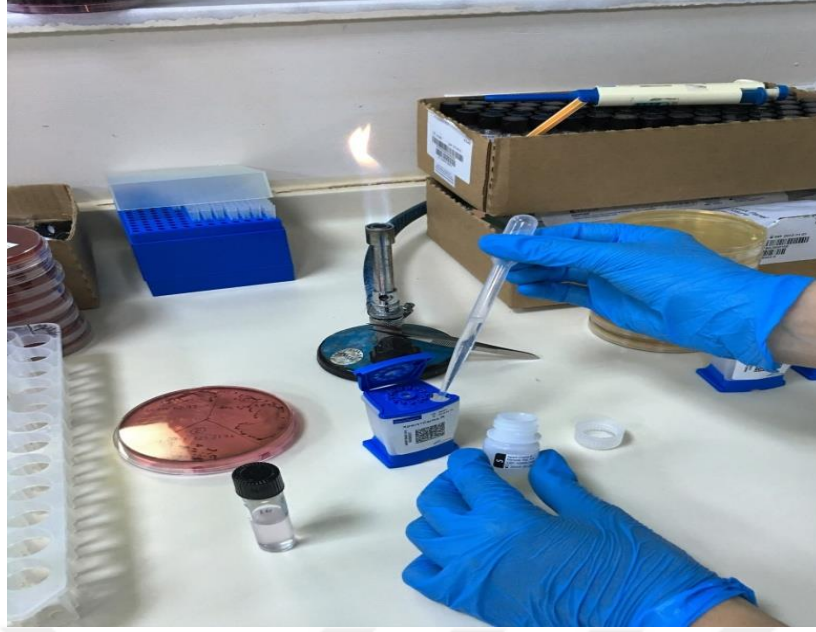
Xpert Carba-R (Cepheid, ABD) sistemi tek bir kartuş ile bla_{KPC}, bla_{NDM}, bla_{VIM}, bla_{OXA-48} ve bla_{IMP-1} karbapenem direnç genlerini tespit etmek için kullanılan moleküler bir testtir. Kartuş, DNA ekstraksiyonu, amplifikasyon ve tarama için gerekli tüm reaktifleri içermektedir.

0.5 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlandı. Steril boş bir tüpe 90 µL phosphate buffered salin (PBS) solüsyonu, üzerine de 10 µL bakteri süspansiyonu eklenerek 1:10 dilüsyon

hazırlandı. Bu dilüsyondan 10 µL sample reagent'a (Cepheid, ABD) aktarıldı. Xpert sample reagent vortexlenerek 1.7 mL si kartuşa aktarıldı (Resim-4). Kartuş barkodu tanıtılıp örnek numarası girilerek GeneXpert (Cepheid, ABD) cihazında çalışıldı (Resim-5) [116]. Testin hazırlanması 5 dakika, cihazdaki işlem 55 dk sürdü. Pozitif kontrol olarak *K. pneumoniae* ATCC 1705, negatif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı.



Resim-3: Xpert Carba-R PCR Çalışması Sırasında Hazırlanmış 0.5 McFarland Bakteri Süspansiyonu, Bakteri Süspansiyonundan Hazırlanmış 1:10 Dilüsyon, Xpert Carba-R Kartuşu ve Xpert Sample Reagent (soldan sağa sırasıyla)



Resim-4: Sample Reagent'a Aktarılan Bakteri Süspansiyonunun Kartuşa Aktarılması



Resim-5: Kartuşun GeneXpert Cihazına Yükleneşmesi

3.7. İstatiksel Analiz

Çalışmamız kapsamında elde edilen verilerin analizi SPSS for Windows 20 paket programında yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için aritmetik ortalama olarak belirlenirken, nominal değişkenler için vaka sayısı ve yüzde olarak belirlenmiştir.

Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson Ki-Kare, Fisher Exact test ve Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiştir. Sürekli değişkenlerin belirlenen bir kategorik değişkene göre anlamlı fark gösterip göstermediği ise normal dağılım varsayımı sağlanıyorsa bağımsız örneklem t testi ile, normal dağılım varsayımı sağlanmıyor ise Mann Whitney U testi ile incelenmiştir. Çalışmada anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

3.8. Onay

Bu tez 06.10.2016 tarihli 16/ 08/ 10 Sayılı Etik Kurul Onayı ve 16194 Proje Numarası ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Tarafından Desteklenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Bakteri İzolatlarının Genel Özelliklerine Ait Bulgular

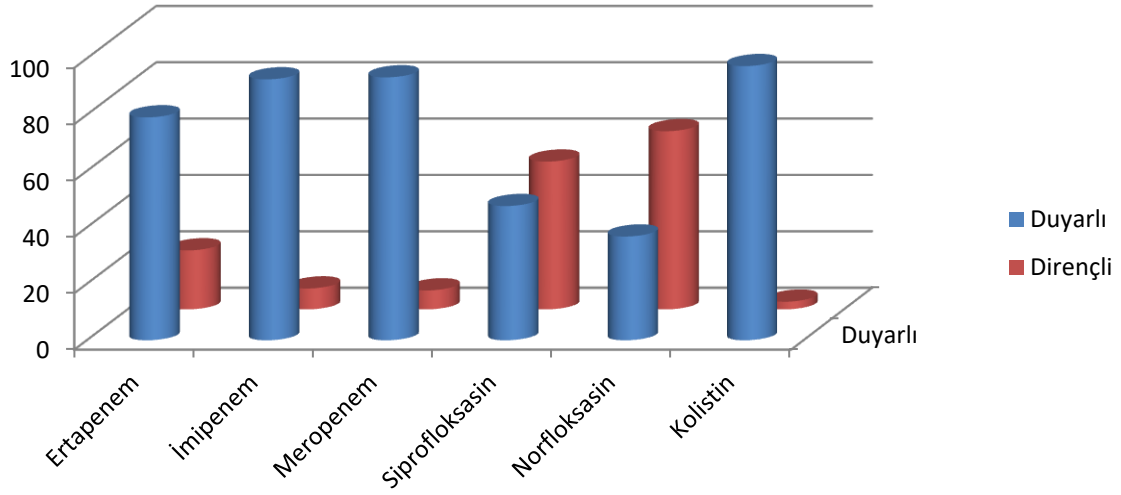
Bu çalışmada, yoğun bakım ve kliniklerde yatan hastalardan alınmış ve laboratuvara incelenmek üzere gönderilmiş olan toplam 1486 hasta materyali analiz edildi. Bu materyallerden izole edilen *E. coli* sayısı 922 (% 62) ve *K. pneumoniae* sayısı 564 (%38)'dir.

E. coli'lerin 524'ü (%56,8) kadın hastalardan, 398'i (%43,2) erkek hastalardan, *K. pneumoniae*'lerin ise 279'u (% 49,5) kadın, 285'i (% 50,5) erkek hastalardan alınan örneklerden izole edildi.

E. coli'lerin 335'i (%36,3) yoğun bakımlardan, 587'si (%63,7) kliniklerden, *K. pneumoniae*'lerin ise 392'si (%69,5) yoğun bakımlardan, 172'si (%30,5) kliniklerden gelen örneklerden izole edildi.

E. coli'lerin 587'sinde (%63,7) GSBL pozitif iken, 335'inde (%36,3) GSBL negatifti, *K. pneumoniae*'lerin ise 391'inde (%69,3) GSBL pozitif iken, 173'ünde (%30,7) GSBL negatif idi. Buna göre GSBL pozitif bakterilerin % 60'ının *E. coli* ve % 40'ının *K. pneumoniae* olduğu ifade edilebilir.

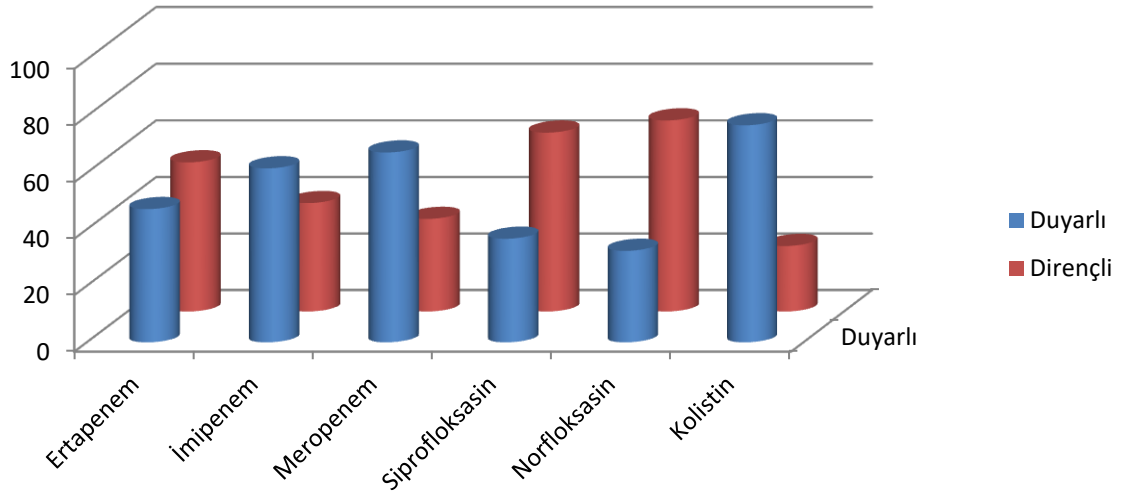
E. coli'lerin ertapenem, imipenem, meropenem, siprofloksasin, norfloksasin ve kolistin direnç durumları Grafik 1'de sunulmuştur.



Grafik-1: *E. coli*'lerin Ertapenem, İmipenem, Meropenem, Siprofloksasin, Norfloksasin ve Kolistin Direnç Durumları (%)

Grafik 1'e göre, *E. coli*'lerin 193'ünün (%20,9) ertapenem dirençli, 69'unun (%7,4) imipenem dirençli, 62'sinin (%6,7) meropenem dirençli, 484'ünün (%52,4) siprofloksasin dirençli, 355'sinin (%63,2) norfloksasin (sadece idrar örneklerinden elde edilmiştir) dirençli, 25'inin (%2,7) kolistin dirençli olduğu tespit edilmiştir.

K. pneumoniae'lerin ertapenem, imipenem, meropenem, siprofloksasin, norfloksasin ve kolistin direnç durumları Grafik 2'de sunulmuştur.



Grafik-2: *K. pneumoniae*'lerin Ertapenem, İmipenem, Meropenem, Siprofloksasin, Norfloksasin ve Kolistin Direnç Durumları (%)

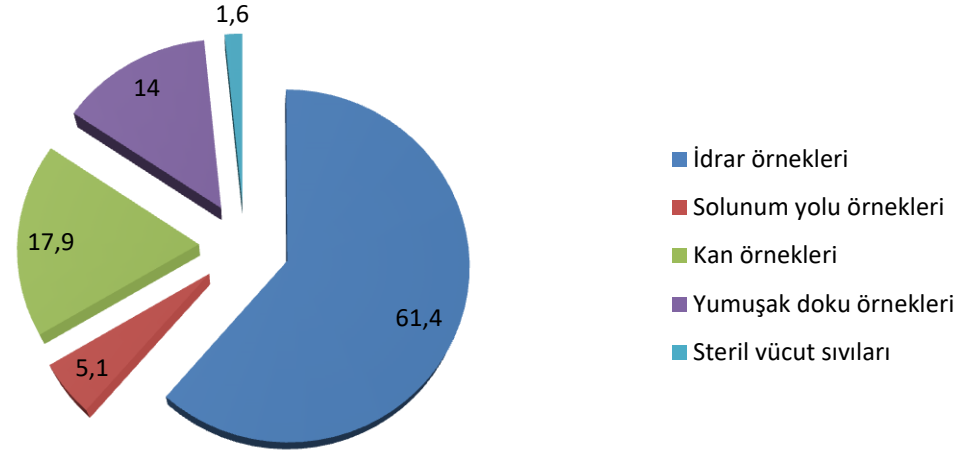
Grafik 2'ye göre, *K. pneumoniae*'lerin 298'inin (%52,8) ertapenem dirençli, 217'sinin (%38,4) imipenem dirençli, 185'inin (%32,8) meropenem dirençli, 357'sinin (%63,3) siprofloksasin dirençli, 161'inin (%67,6) norfloksasin (sadece idrar örneklerinden elde edilmiştir) dirençli, 131'inin (%23,2) kolistin dirençli olduğu tespit edildi.

E. coli'lerin 193'ü (%20,9) en az bir karbapeneme dirençli olup 'karbapenem dirençli Enterobacteriaceae' (KDE) olarak tanımlanırken, 729'unda (%79,1) karbapenem direnci yoktu. *K. pneumoniae*'lerin ise 298'i (%52,8) KDE olarak tanımlanırken, 266'sında (%47,2) karbapenem direnci olmadığı tespit edildi. Karbapenem direncinin *K. pneumoniae*'de *E. coli*'ye göre daha sık görüldüğü tespit edildi.

E. coli'lerin 25'i (%2,7) kolistin dirençli iken, 897'i (%97,3) kolistin duyarlı idi. *K. pneumoniae*'lerin ise 131'inde (%23,2) kolistin direnci varken, 433'ünde (%76,8) kolistin direnci olmadığı tespit edildi.

E. coli'lerin hangi materyal sınıfından elde edildiğine dair bilgiler Grafik 3'te sunulmuştur.

E. coli

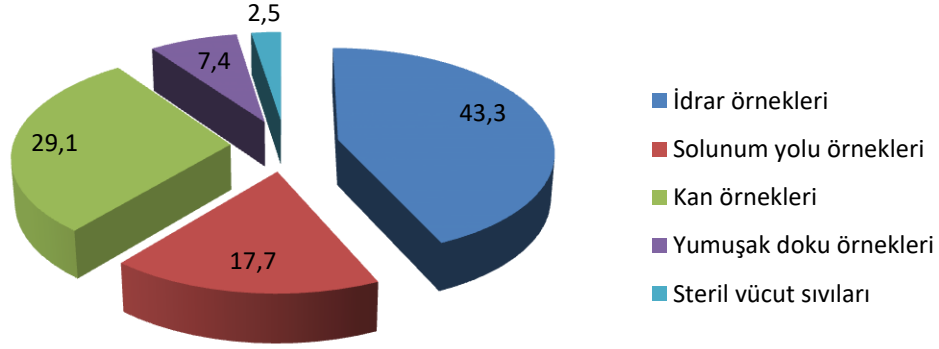


Grafik-3: *E. coli*'lerin Elde Edildiği Materyal Sınıfları Yüzdeleri

Grafik 3'e göre, *E. coli*'lerin 555'i (%60,2) idrar, 10'u (%1,1) nefrostomi, 1'i (%0,1) foley ucu olmak üzere toplam 566'sı (%61,4) idrar örneklerinden; 11'i (%1,2) balgam, 2'si (%0,2) BAL, 24'ü (%2,6) ETA, 9'u (%1) TAK ve 1'i (%0,1) boğaz olmak üzere toplam 47'si (%5,1) solunum yolu örneklerinden; 156'sı (%16,9) kan, 1'i (%0,1) katater kanı ve 8'i (%0,9) katater ucu olmak üzere toplam 165'i (%17,9) kan örneklerinden; 60'ı (%6,5) yara, 10'u (%1,1) dren mayi, 14'ü (%1,5) vagen, 37'si (%4) abse aspiratı, 7'si (%0,8) doku ve 1'i (%0,1) kulak olmak üzere toplam 129'u (%14) yumuşak doku örneklerinden; 3'ü (%0,3) BOS, 3'ü (%0,3) periton, 5'i (%0,5) safra, 1'i (%0,1) eklem sıvısı, 1'i (%0,1) asit mayi ve 2'si (%0,2) plevradan olmak üzere toplam 15'i (%1,6) steril vücut sıvılarından elde edildi.

K. pneumoniae'lerin hangi materyal sınıfından elde edildiğine dair bilgiler Grafik 4'te sunulmuştur.

K. pneumoniae



Grafik-4: *K. pneumoniae*'lerin Elde Edildiği Materyal Sınıfları Yüzdeleri

Grafik 4'e göre, *K. pneumoniae*'lerin 241'i (%42,7) idrar, 2'si (%0,4) nefrostomi ve 1'i (%0,2) foley ucu olmak üzere toplam 244'ü (%43,3) idrar örneklerinden; 6'sı (%1,1) balgam, 3'ü (%0,5) BAL, 62'si (%11) ETA, 27'si (%4,8) TAK, 1'i (%0,2) boğaz ve 1'i (%0,2) nazotrkeal aspirat olmak üzere toplam 100'ü (%17,7) solunum yolu örneklerinden; 143'ü (%25,4) kan, 11'i (%2) katater kanı ve 10'u (%1,8) katater ucu olmak üzere toplam 164'ü (%29,1) kan örneklerinden; 29'u (%5,1) yara, 4'ü (%0,7) dren mayi, 1'i (%0,2) vagen ve 8'i (%1,4) abse aspiratı olmak üzere toplam 42'si (%7,4) yumuşak doku örneklerinden; 5'i (%0,9) BOS, 1'i (%0,2) periton, 1'i (%0,2) safra ve 7'si (%1,2) plevra olmak üzere toplam 14'ü (%2,5) steril vücut sıvılarından elde edildi.

E. coli'lerin 190'ı (%20,6) çocuk hastalara, 732'si (%79,4) erişkin hastalara aitken, *K. pneumoniae*'lerin 147'si (%26,1) çocuk hastalara, 417'si (%73,9) erişkin hastalara aitti.

Karbapenem direnci ile yaş arasındaki ilişkiye bağımsız örneklem t testi ile bakıldı. Bağımsız örneklem t testi sonuçları Tablo 9 'da sunulmuştur.

Tablo-9: KDE Varlığının Yaşa Göre Karşılaştırılması

KDE	n	Yaş	S	sd	t	p
Var	488	52,6	27,6	1011,36	6,92	0,000
Yok	998	41,9	29,1			

*Varyansların homojenliği varsayımı sağlanmadığından serbestlik derecesi 1484 yerine 1011,36 olarak belirlendi.

Tablo 9'a göre, numunesinden KDE izole edilen hastalar ile izole edilmeyen hastaların yaş ortalamaları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Buna göre, KDE üreyen hastaların yaş ortalamaları ($52,6\pm 27,6$) KDE üremesi olmayan hastaların yaş ortalamalarından ($41,9\pm 29,1$) anlamlı bir şekilde daha yüksektir. Buna göre, Enterobacteriaceae 'da karbapenem direnci ile yaş arasında ilişki olduğu ifade edilebilir.

Karbapenem direnci ile örneklerin alındığı yer (klinik, yoğun bakım) arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo-10: Karbapenem Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KDE/Yatılan Yer	Klinik	Yoğun Bakım	sd	χ^2	p
Var	161	327	1	95,105	0,000
Yok	598	400			

sd: serbestlik derecesi

Tablo 10'a göre, klinikte yatan hastaların 161'inde karbapenem direnci varken, 598'inde yoktu. Yoğun bakımda yatan hastaların ise 327'sinde karbapenem direnci varken, 400'ünde yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre karbapenem direnci ile hastanın yattığı yer (klinik, yoğun bakım) arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Yoğun bakımdan alınan örneklerde KDE görülme oranı, kliniklerden alınan örneklerde görülen KDE oranından anlamlı olarak daha yüksekti ($X^2=95,105$, $p<0,05$).

Karbapenem direnci ile cinsiyet arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 11’de sunulmuştur.

Tablo-11: Karbapenem Direnci ile Cinsiyet Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KDE/Cinsiyet	Erkek	Kadın	sd	X ²	p
Var	260	268	1	7,783	0,005
Yok	417	581			

Tablo 11’e göre, erkek hastalardan izole edilen suşların 260’ında karbapenem direnci varken, 268’inde yoktu. Kadın hastalardan izole edilen suşların 417’sinde karbapenem direnci varken, 581’inde yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre, karbapenem direnci ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Erkeklerde KDE görülme oranı, kadınlarda KDE görülme oranından anlamlı olarak daha yüksekti ($X^2=7,783$, $p<0,05$).

Karbapenem direnci ile bakteri türü arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 12’de sunulmuştur.

Tablo-12: Karbapenem Direnci ile Bakteri Türü Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KDE/Bakteri Türü	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	sd	X ²	p
Var	191	297	1	161,901	0,000
Yok	731	267			

Tablo 12’ye göre, *E. coli*’lerin 191’i karbapenem dirençli iken, 731’inde karbapenem direnci yoktu. *K. pneumoniae*’lerin ise 297’si karbapenem dirençli iken, 267’sinde karbapenem direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre, karbapenem direnci ile bakteri türü arasında anlamlı bir ilişki bulundu. *K. pneumoniae* suşlarında KDE görülme oranı, *E. coli* suşlarında KDE görülme oranından anlamlı olarak daha yüksekti ($X^2=161,901$, $p<0,05$).

Karbapenem direnci ile kolistin direnci arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 13’te sunulmuştur.

Tablo-13: Karbapenem Direnci ile Kolistin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KDE/KoD*	Var	Yok	sd	X ²	p
Var	140	348	1	262,673	0,000
Yok	14	984			

*KoD; kolistin direnci

Tablo 13'e göre, kolistin direnci olan bakterilerin 140'ında karbapenem direnci varken, 14'ünde yoktu. Kolistin duyarlı bakterilerin ise 348'inde karbapenem direnci varken, 984'ünde karbapenem direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre, karbapenem direnci ile kolistin direnci arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($X^2=262,673$, $p<0,05$).

Karbapenem direnci ile GSBL arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 14'te sunulmuştur.

Tablo-14: Karbapenem Direnci ile GSBL Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

Karbapenem Direnci /GSBL	Pozitif	Negatif	sd	X ²	p
Var	337	151	1	3,397	0,065
Yok	641	357			

Tablo 14'e göre, GSBL pozitif olan bakterilerin 337'sinde karbapenem direnci varken, 641'inde karbapenem direnci yoktu. GSBL negatif olan bakterilerin 151'inde karbapenem direnci varken, 357'sinde karbapenem direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre, karbapenem direnci ile GSBL arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($X^2=3,397$, $p>0,05$).

Karbapenem direnci ile kinolon direnci arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 15'te sunulmuştur.

Tablo-15: Karbapenem Direnci ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KDE/KD*	Var	Yok	sd	X ²	p
Var	383	105	1	143,773	0,000
Yok	455	542			

*KD; kinolon direnci

Tablo 15'e göre, kinolon direnci olan bakterilerin 383'ünde karbapenem direnci varken, 455'inde karbapenem direnci yoktu. Kinolon direnci olmayan bakterilerin ise 105'inde karbapenem direnci varken, 542'sinde karbapenem direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre, karbapenem direnci ile kinolon direnci arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($X^2=143,773$, $p<0,05$).

GSBL varlığı ile kinolon direnci arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 16'da sunulmuştur.

Tablo-16: GSBL Varlığı ile Kinolon Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

GSBL/KD*	Var	Yok	sd	X ²	p
Pozitif	626	351	1	67,851	0,000
Negatif	212	296			

*KD: kinolon direnci

Tablo 16'ya göre, kinolon direnci olan bakterilerin 626'sında GSBL pozitifken, 212'sinde GSBL negatif. Kinolon direnci olmayan bakterilerin ise 351'inde GSBL pozitifken, 296'sında GSBL negatif. Ki-kare testi sonucuna göre, GSBL varlığı ile kinolon direnci arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($X^2=67,851$, $p<0,05$).

GSBL varlığı ile kolistin direnci arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 17'de sunulmuştur.

Tablo-17: GSBL Varlığı ile Kolistin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

GSBL/ KoD*	Var	Yok	sd	X ²	p
Pozitif	105	873	1	0,428	0,513
Negatif	49	459			

* KoD; Kolistin direnci

Tablo 17'ye göre, kolistin dirençli izolatların 105'inde GSBL pozitifken, 49'unda GSBL negatifti. Kolistin duyarlı izolatların ise 873'ünde GSBL pozitifken, 459'unda GSBL negatifti. Ki-kare testi sonucuna göre, GSBL varlığı ile kolistin direnci arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($X^2=0,428$, $p>0,05$).

GSBL varlığı ile yatılan yer (klinik, yoğun bakım) arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 18'de sunulmuştur.

Tablo-18: GSBL Varlığı ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

GSBL/Yatılan Yer	Klinik	Yoğun Bakım	sd	X ²	p
Pozitif	461	517	1	17,770	0,000
Negatif	298	210			

Tablo 18'e göre, klinikte yatan hastaların 461'inde GSBL pozitifken, 298'inde GSBL negatifti. Yoğun bakımda yatan hastaların ise 517'sinde GSBL pozitifken, 210'unda GSBL negatifti. Ki-kare testi sonucuna göre GSBL varlığı ile hastanın yattığı yer arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Buna göre yoğun bakımda yatan hastalardan alınan örneklerde GSBL pozitifliği anlamlı olarak daha fazla tespit edildi ($X^2=17,770$, $p<0,05$).

Kolistin direnci ile yatılan yer (klinik, yoğun bakım) arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 19'da sunulmuştur.

Tablo-19: Kolistin Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KoD*/Yatılan Yer	Klinik	Yoğun Bakım	sd	X ²	p
Var	19	135	1	103,180	0,000
Yok	740	592			

* KoD; Kolistin direnci

Tablo 19'a göre, klinikte yatan hastalardan izole edilen suşların 19'u kolistin dirençli iken, 740'ı kolistin duyarlı idi. Yoğun bakımda yatan hastalara ait izolatların ise 135'i kolistin dirençli iken, 592'sinde kolistin direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre kolistin direnci ile yatılan yer arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Kolistin direnci, yoğun bakımda yatan hastalardan alınan örneklerde anlamlı olarak daha fazla tespit edildi ($X^2=103,180$, $p<0,05$).

Kinolon direnci ile yatılan yer (klinik, yoğun bakım) arasındaki ilişki Ki-Kare testi ile incelendi. Ki-Kare testi sonuçları Tablo 20'de sunulmuştur.

Tablo-20: Kinolon Direnci ile Yatılan Yer (Klinik, Yoğun Bakım) Arasındaki İlişkiye Dair Ki-Kare Testi Sonuçları

KD* /YatılanYer	Klinik	Yoğun Bakım	sd	X ²	p
Var	390	448	1	15,617	0,000
Yok	368	279			

* KD; Kinolon direnci

Tablo 20'ye göre, klinikte yatan hastaların 390'ından izole edilen suşlarda kinolon direnci varken, 368'inde kinolon direnci yoktu. Yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilen suşların 448'inde kinolon direnci varken, 279'unda kinolon direnci yoktu. Ki-kare testi sonucuna göre kinolon direnci ile yatılan yer arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Buna göre yoğun bakımda yatan hastalardan alınan örneklerde kinolon direnci anlamlı olarak daha fazla tespit edildi ($X^2=15,617$, $p<0,05$).

4.2. Fenotipik ve Genotipik Karbapenemaz Tayin Testi Uygulanan KDE İzolatlarına Ait Bulgular

4.2.1. Genel Özelliklere Ait Bulgular

Karbapenemlerden en az birine azalmış duyarlılık veya direnç gösteren 15 *E. coli* (% 16,9) ve 74 *K. pneumoniae* (% 83,1) olmak üzere toplam 89 izolat fenotipik ve genotipik karbapenemaz tayin testleri yapılmak üzere çalışmaya alındı. İzolatların 42'si (%42,7) kadın hastalardan, 47'si (%52,8) erkek hastalardan izole edilmiş olup 26'sı (%29,2) klinikte, 63'ü (%70,8) yoğun bakımda yatan hastalardan elde edildi. Suşların 9'u (%10,1) çocuk, 80'i (%89,9) erişkin hastalara aitti.

KDE izolatlarının elde edildiği materyal ve kliniklere ait bilgiler Tablo 21'de sunulmuştur.

Tablo-21: KDE İzolatlarının Elde Edildiği Materyal ve Kliniklere Ait Bilgiler

Bölüm	Örnek tipi								N (%)
	İdrar	Kan	Yara	Dren mayı	Plevra	Trakeal aspirat	Eklemler sıvısı	Safra	
Dahiliye yb	-	12	1	-	-	6	-	-	19 (%21,3)
Göğüs tbc yb	2	8	1	-	-	3	-	-	14 (%15,7)
Nöroloji yb	5	2	-	-	-	5	-	-	12 (%13,5)
Acil yb	1	2	-	-	-	1	-	-	4 (%4,5)
Hemato kl	-	4	-	-	-	-	-	-	4 (%4,5)
Ç.cerrahi kl	4	-	-	-	-	-	-	-	4 (%4,5)
Onkoloji yb	-	2	1	-	-	-	-	-	3 (%3,4)
Nöroloji kl	3	-	-	-	-	-	-	-	3 (%3,4)
Anestezi yb	-	1	-	-	-	1	-	-	2 (%2,2)
G.cerrahi yb	1	-	-	1	-	-	-	-	2 (%2,2)
Çocuk yb	-	1	-	-	-	1	-	-	2 (%2,2)
Nefroloji kl	1	1	-	-	-	-	-	-	2 (%2,2)
K.i.tx. ünitesi	-	2	-	-	-	-	-	-	2 (%2,2)
Gastro kl	-	1	-	-	-	-	-	1	2 (%2,2)
Onkoloji kl	2	-	-	-	-	-	-	-	2 (%2,2)
Kardiyoloji yb	-	-	-	-	-	1	-	-	1 (%1,1)
Nöroşirurji yb	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
K.D.cerrahi yb	-	1	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Ç.göğüs kalp yb	-	1	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Göğüs cerrahi yb	-	-	-	-	1	-	-	-	1 (%1,1)
G.cerrahi kl	-	-	1	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Ç.cerrahi yd	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
FTR klinik	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Ortopedi kl.	-	-	-	-	-	-	1	-	1 (%1,1)
Ç.hem-onko	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Üroloji kl.	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Göğüs tbc kl.	-	-	1	-	-	-	-	-	1 (%1,1)
Toplam örnek sayısı	24	38	5	1	1	18	1	1	89 (%100)

kl: klinik, yb: yoğun bakım, Ç.cerrahi kl: çocuk cerrahi klinik, G.cerrahi yb: genel cerrahi yoğun bakım, k.i.tx. ünitesi: kemik iliği transplantasyon ünitesi, Gastro kl: gastroenteroloji klinik, K.D.cerrahi yb: kalp damar cerrahi yoğun bakım, Ç.göğüs kalp yb: çocuk göğüs kalp yoğun bakım, G.cerrahi kl: genel cerrahi klinik, Ç.cerrahi yd: çocuk cerrahi yenidoğan, FTR: fizik tedavi ve rehabilitasyon, Ç.hem-onko: çocuk hematoloji-onkoloji klinik

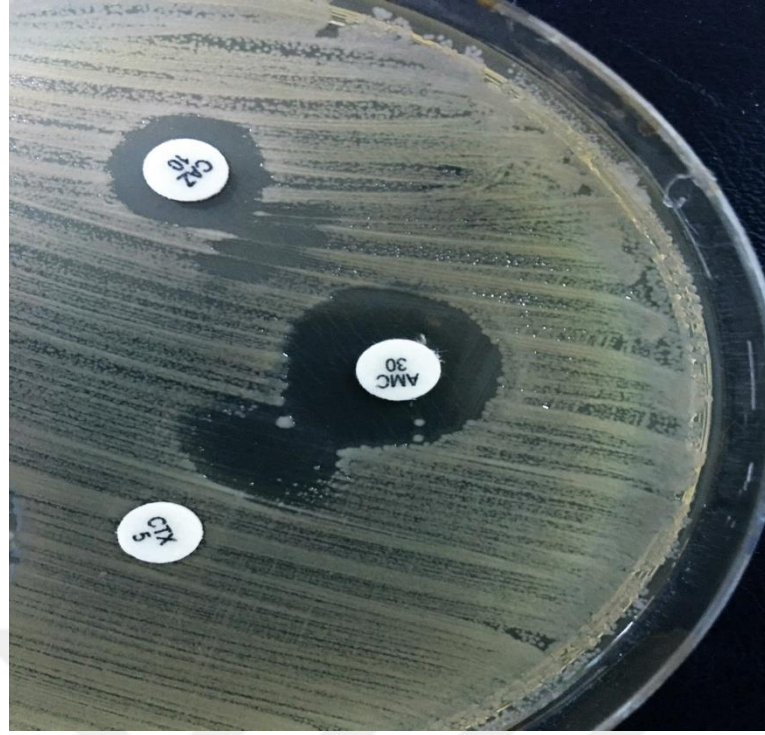
Tablo 21'e göre, örneklerin 19'u (%21,3) dahiliye yoğun bakımdan, 14'ü (%15,7) göğüs tbc yoğun bakımdan, 12'si (%13,5) nöroloji yoğun bakımdan, 4'ü (%4,5) acil yoğun bakımdan, 4'ü (%4,5) hematoloji klinikten, 4'ü (%4,5) çocuk cerrahi klinikten, 3'ü (%3,4) onkoloji yoğun bakımdan, 3'ü (%3,4) nöroloji klinikten, 2'si (%2,2) anestezi yoğun bakımdan, 2'si (%2,2) genel cerrahi yoğun bakımdan, 2'si (%2,2) çocuk yoğun bakımdan, 2'si (%2,2) nefroloji klinikten, 1'i (%1,1) göğüs cerrahi yoğun bakımdan, 2'si (%2,2) kemik iliği transplantasyon ünitesinden, 2'si (%2,2) gastroenteroloji klinikten, 2'si (%2,2) onkoloji klinikten, 1'i (%1,1) kardiyoloji yoğun bakımdan, 1'i (%1,1) nöroşirurji yoğun bakımdan, 1'i (%1,1) kalp damar cerrahi yoğun bakımdan, 1'i (%1,1) çocuk göğüs kalp yoğun bakımdan, 1'i (%1,1) göğüs cerrahi yoğun bakımdan, 1'i (%1,1) genel cerrahi klinikten, 1'i (%1,1) çocuk cerrahi yenidoğan kliniğinden, 1'i (%1,1) fizik tedavi kliniğinden, 1'i (%1,1) ortopedi klinikten, 1'i (%1,1) çocuk hematoloji-onkoloji klinik, 1'i (%1,1) üroloji klinikten ve 1'i (%1,1) göğüs tbc klinikten elde edildi.

KDE'ların 24'ü (%26,9) idrardan, 38'i (%42,6) kandan, 5'i (%5,6) yaradan, 1'i (%1,1) dren mayiden, 1'i (%1,1) plevradan, 18'i (%20,2) trakeal aspirattan, 1'i (%1,1) eklem sıvısından ve 1'i (%1,1) safradan elde edildi.

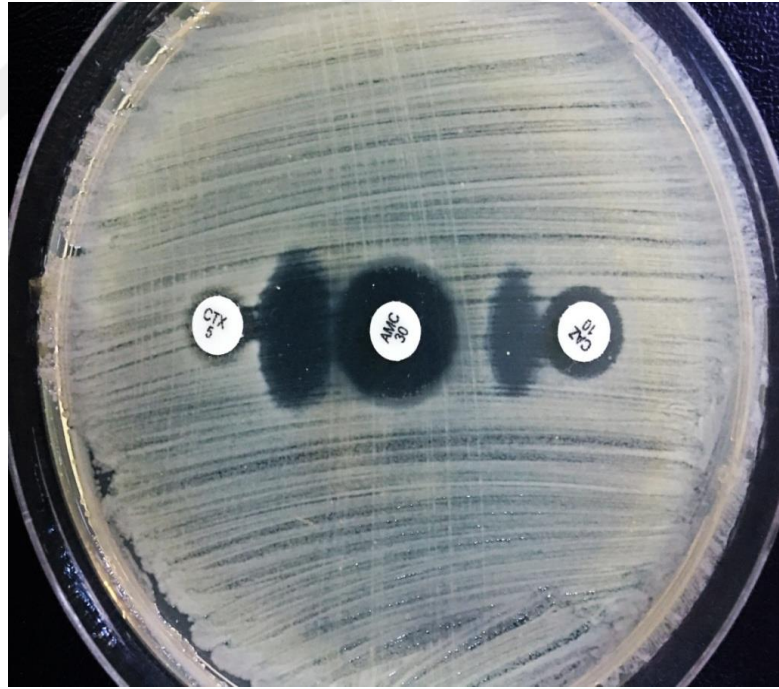
4.4.3. AmpC ve GSBL Enzimlerinin Fenotipik Olarak Tespit Edilmesine Ait Bulgular

İzolatların 6'sında (%6,7) AmpC enzimi fenotipik olarak tespit edilirken, 83'ünde (%93,3) tespit edilmedi.

Otomatize sistemde izolatların 63'ü (%70,8) GSBL pozitif olarak belirtilmişken, çift disk sinerji testi ile 7 (%7,9) izolatta fenotipik olarak GSBL varlığı saptandı. KDE izolatlarında GSBL saptanmasında otomatize sistemin çift disk sinerji testi ile uyumu %8 olarak belirlendi. *E. coli*'lerin 2'sinde (%13,3) GSBL pozitifken, 13'ünde (86,7) GSBL negatifti. Benzer şekilde, *K. pneumoniae*'lerin 5'inde (6,8) GSBL pozitifken, 69'unda (%93,2) GSBL negatifti.



Resim-6: GSBL(+) 78 no'lu suşa ait ÇDST



Resim-7: GSBL(+) 65 no'lu suşa ait ÇDST

4.4.4. MHT Bulguları

İzolatların 71'inde (%79'8) MHT pozitif iken, 18'inde (%18,2) MHT negatifti. Sadece OXA-48 geni bulunan 65 izolattan 61'inde; sadece NDM geni bulunan 4 izolattan 3'ünde; OXA-48 ve NDM genlerinin her ikisini de bulunduran 6 izolatin tamamında; OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçünün de bulunduğu 1 izolatta MHT pozitif tespit edildi. Hiçbir gen bulunmayan 13 izolatin tamamında da MHT negatif tespit edildi (Tablo-25).

KDE'lerin en az bir gene sahip olma durumu ile MHT arasındaki ilişki Kolmogorov Smirnov Testi ile incelendi. Kolmogorov Smirnov Testi sonuçları Tablo 22'de sunulmuştur.

Tablo-22: En Az Bir Gene Sahip Olma Durumu ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları

MHT / Gen	Var	Yok	Toplam	p
Pozitif	71	0	71	
Negatif	5	13	18	0,000
Toplam	76	13	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Kolmorov Smirnov Testi kullanılmıştır.

Tablo 22'ye göre, MHT pozitif olan izolatların 71'inde en az bir gen görülürken, gen görülmeyen izolat mevcut değildi. Aynı şekilde, MHT negatif olan izolatların 5'inde gen görülürken, 13'ünde herhangi bir gene rastlanmadı. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında karbapenemaz geni saptamada MHT duyarlılığı %93, özgüllüğü %100 olarak bulundu. Kolmogorov Smirnov Testi sonucuna göre MHT ile en az bir gen var olma durumu arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0,05$).

OXA-48 geni varlığı ile MHT arasındaki ilişki Fisher Exact Test ile incelendi. Fisher Exact Test sonuçları Tablo 23'te sunulmuştur.

Tablo-23: OXA-48 Geni Varlığı ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Fisher Exact Test Sonuçları

MHT/ OXA-48	Var	Yok	Toplam	p
Pozitif	68	3	71	
Negatif	4	14	18	0,000
Toplam	72	17	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Fisher Exact Test kullanılmıştır.

Tablo 23'e göre, MHT pozitif olan izolatların 68'inde OXA-48 geni varken, 4'ünde OXA-48 geni yoktu. Aynı şekilde, MHT negatif olan izolatların 3'ünde OXA-48 geni varken, 14'ünde OXA-48 geni yoktu. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında, OXA-48 geni saptamada MHT duyarlılığı %94 ve özgüllüğü ise %82 olarak bulundu. Fisher Exact Test sonucuna göre MHT ile OXA-48 varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($p < 0,05$).

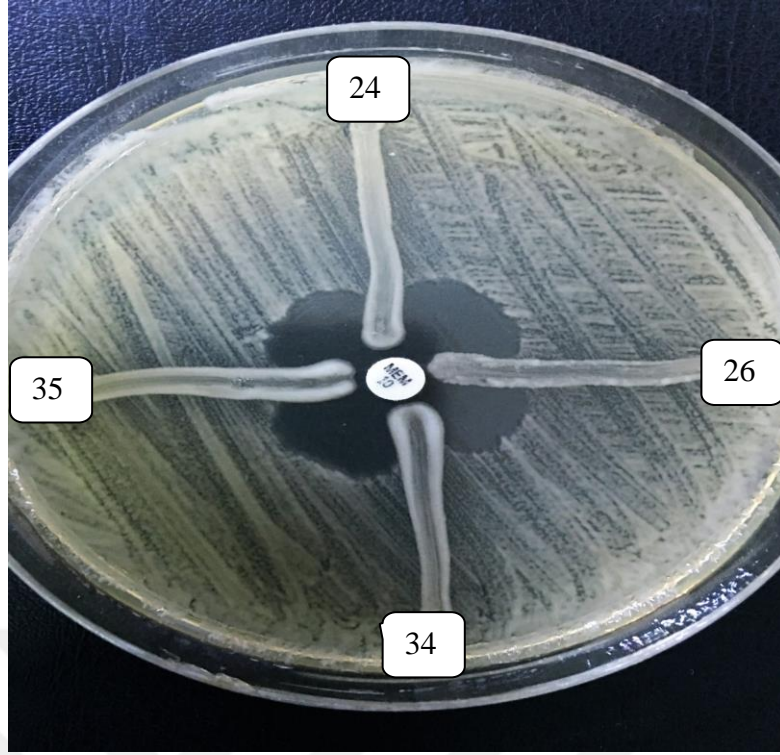
NDM geni varlığı ile MHT arasındaki ilişki Fisher Exact Test ile incelendi. Fisher Exact Test sonuçları Tablo 24'te sunulmuştur.

Tablo-24: NDM Geni Varlığı ile MHT Arasındaki İlişkiye Dair Fisher Exact Test Sonuçları

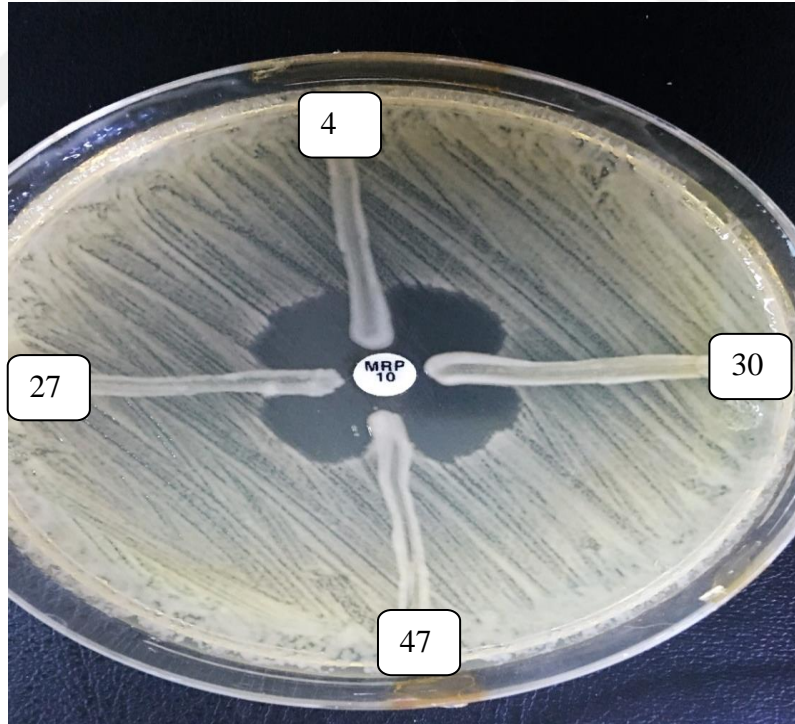
MHT / NDM	Var	Yok	Toplam	P
Pozitif	9	62	71	
Negatif	1	17	18	0,680
Toplam	10	79	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Fisher Exact Test kullanılmıştır.

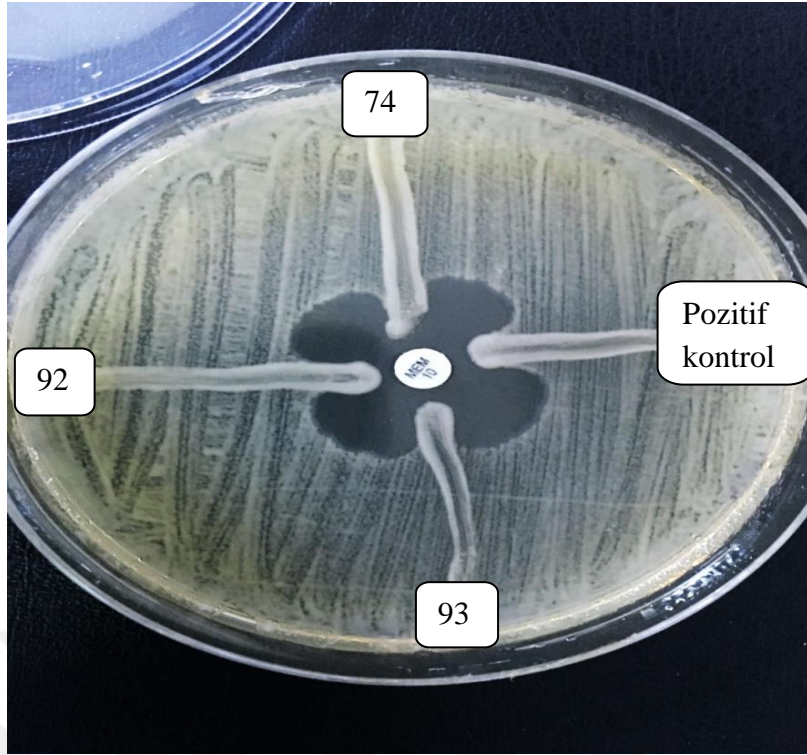
Tablo 24'e göre, MHT pozitif izolatların 9'unda NDM geni varken, 62'sinde NDM geni yoktu. Aynı şekilde, MHT negatif izolatların 1'inde NDM geni varken, 17'sinde NDM geni yoktu. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında NDM geni tespit etmede MHT duyarlılığı %90 ve özgüllüğü ise %22 olarak bulundu. Fisher Exact Test sonucuna göre MHT ile NDM geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p > 0,05$).



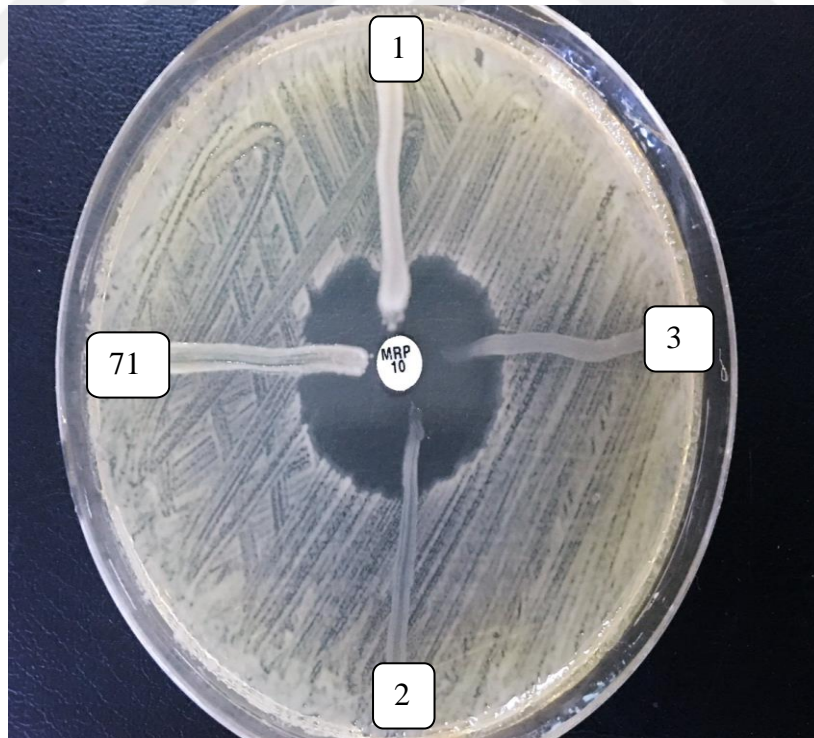
Resim-8: 24, 26, 34 ve 35 no'lu suşlara ait MHT (her 4 suşta da pozitif)



Resim-9: 4, 30, 47 ve 27 no'lu suşlara ait MHT (her 4 suşta da pozitif)



Resim-10: 92, 93 ve 74 no'lu suşlara ait MHT



Resim-11: 1, 2, 3 ve 71 no'lu suşlara ait MHT (1 ve 71 pozitif, 2 ve 3 negatif)

4.4.5. Kombinasyon Disk Testi Bulguları

Sadece OXA-48 geni tespit edilen izolatların 51'inde hiçbir sinerji görülmedi. 10'unda sadece EDTA ile; 1'inde hem EDTA hem BO ile; 1'inde hem EDTA hem CL ile; 2'sinde EDTA, BO ve CL'nin her üçü ile sinerji görüldü. Hiçbir izolatta dipikolinik asit ile sinerji görülmedi. 3 izolatta görülen CL ile sinerji, AmpC varlığı lehine yorumlandı.

Sadece NDM geni tespit edilen 4 izolatın 3'ünde sadece EDTA ile; 1'inde hem EDTA hem DP ile sinerji görüldü. Sadece NDM geni tespit edilen 4 KDE'nin hiçbirinde kloksasilin veya boronik asit ile sinerji görülmedi.

OXA-48 ve NDM genlerinin birlikte bulunduğu 6 izolat'ın 5'inde sadece EDTA ile sinerji görülürken, 1'inde EDTA, CL, BO ve DP'in tamamı ile sinerji görüldü. Bu izolattaki CL ve BO sinerjisi AmpC varlığı lehine yorumlandı.

OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçünün birlikte tespit edildiği 1 izolatta hiçbir sinerji görülmedi.

Karbapenemaz geni tespit edilemeyen 13 izolatın 11'inde hiçbir sinerji görülmedi. 1'inde EDTA ile; 1'inde EDTA, BO ve CL'nin her üçü ile sinerji görüldü. Bu 1 izolattaki BO ve CL sinerjisi AmpC varlığı lehine yorumlandı.

Tablo-25: Karbapenemaz Tipi, Kombinasyon Disk Testi, MHT ve Temosilin Direnç Durumları

Karbapenemaz tipi	Kombinasyon disk testi		Modifiye hodge testi		Temosilin	
	Sinerji(-)	Sinerji(+)	(+)	(-)	Dirençli	Duyarlı
OXA-48 (n:65)	51	14*	61	4	65	0
OXA-48+NDM (n:6)	0	6**	6	0	6	0
NDM (n:4)	0	4***	3	1	4	0
OXA-48+VIM+IMP1 (n:1)	1	0	1	0	1	0
Karbapenemaz(-) (n: 13)	11	2****	0	13	6	7

* EDTA (n:10), EDTA+BO (n:1), EDTA+CL (n:1), EDTA+BO+CL (n:2) ile sinerji

** EDTA (n:5), EDTA+BO+CL+DP (n:1) ile sinerji

***EDTA (n:3), EDTA+DP (n:1) ile sinerji

****EDTA (n:1), EDTA+BO+CL (n:1) ile sinerji

Tablo-25'e göre KDT'nin duyarlılığı %80 (61/76), özgüllüğü %85 (11/13) olarak tespit edildi.

NDM varlığı ile 'EDTA ile sinerji' arasındaki ilişki Kolmogorov Smirnov Testi ile incelendi. Kolmogorov Smirnov Testi sonuçları Tablo 26'da sunulmuştur.

Tablo-26: NDM Varlığı ile 'EDTA ile Sinerji' Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları

EDTA ile sinerji / NDM	Var	Yok	Toplam	p
Var	10	16	26	0,000
Yok	0	63	63	
Toplam	10	79	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Kolmogorov Smirnov Testi kullanılmıştır.

Tablo 26'ya göre, EDTA ile sinerji görülen 10 izolatın tamamında (%100) NDM geni tespit edildi. Aynı şekilde, EDTA ile sinerji görülmeyen izolatların 16'sında NDM geni varken, 63'ünde NDM geni yoktu. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında NDM geni saptamada EDTA ile sinerji duyarlılığı %100 ve özgüllüğü ise %80 olarak bulundu. Kolmogorov

Smirnov Testi sonucuna göre ‘EDTA ile sinerji’ ve NDM geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0,05$).

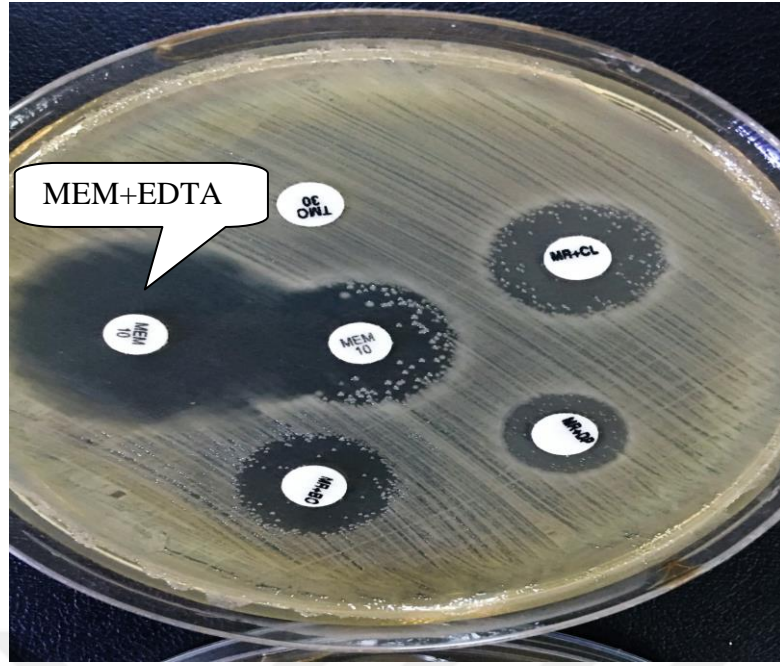
NDM geni varlığı ile ‘dipikolinik asit ile sinerji’ arasındaki ilişki Kolmogorov Smirnov Testi ile incelenmiştir. Kolmogorov Smirnov Testi sonuçları Tablo 27’de sunulmuştur.

Tablo-27: NDM Varlığı ile ‘Dipikolinik Asit ile Sinerji’ Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları

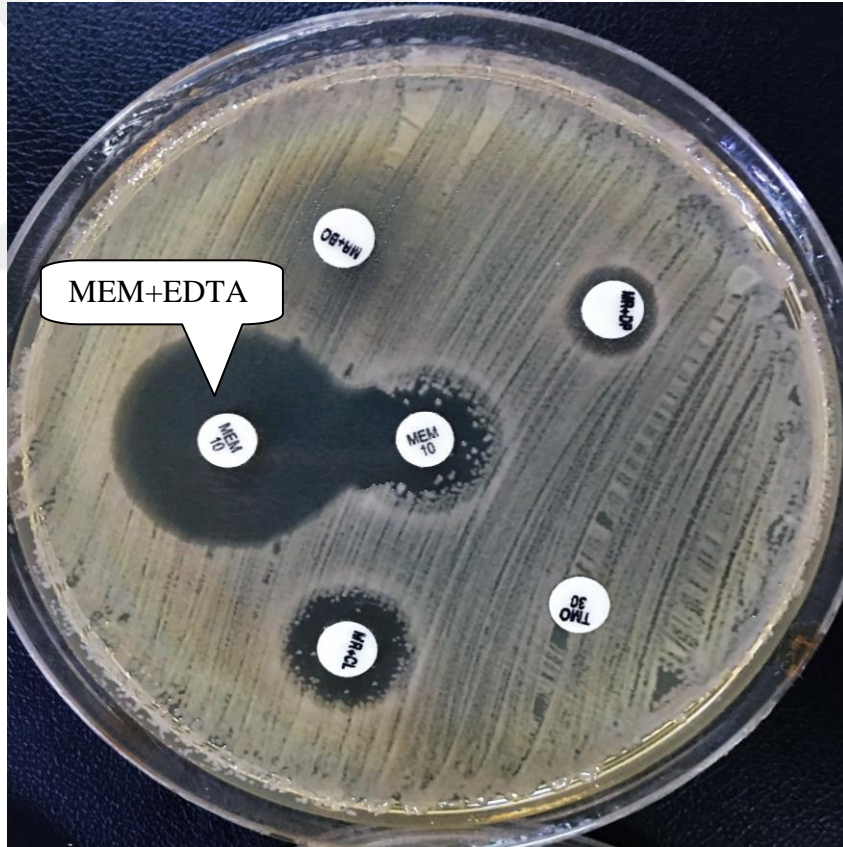
Dipikolinik Asit ile sinerji / NDM	Var	Yok	Toplam	p
Var	2	0	2	0,870
Yok	8	79	87	
Toplam	10	79	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Kolmogorov Smirnov Testi kullanılmıştır.

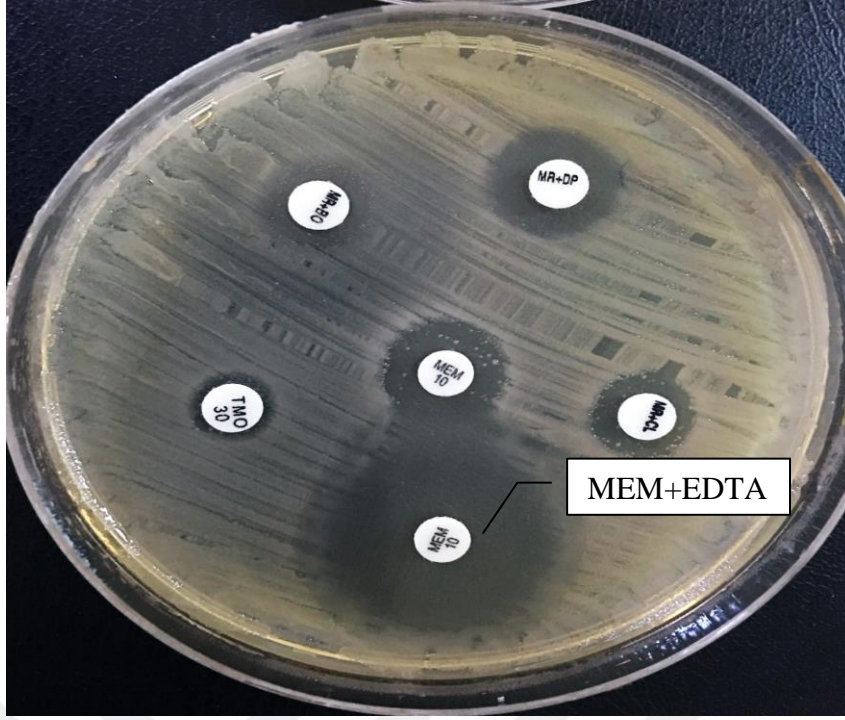
Tablo 27’ye göre, ‘dipikolinik asit ile sinerji’ görülen 2 izolatta da NDM geni vardı. Aynı şekilde, dipikolinik asit ile sinerji görülmeyen izolatlardan 8’inde NDM geni varken, 79’unda NDM geni yoktu. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında NDM geni tespit etmede dipikolinik asit ile sinerjinin duyarlılığı %20 ve özgüllüğü ise %100 olarak bulundu. Kolmogrov Smirnov Testi sonucuna göre ‘dipikolinik asit ile sinerji’ varlığı ile NDM geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).



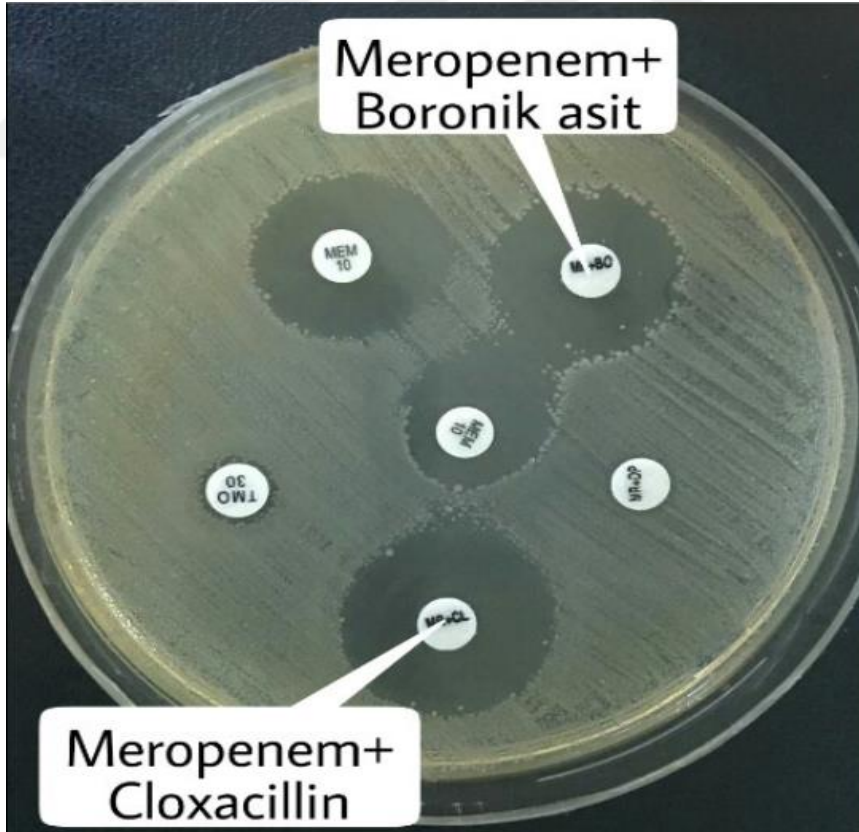
Resim-12: NDM geni tespit edilen 20 no'lu suşun KDT'si (EDTA ile sinerji+)



Resim-13: NDM geni tespit edilen 7 no'lu suşa ait KDT (EDTA ile sinerji+)



Resim-14: NDM geni tespit edilen 73 no'lu suşa ait KDT (EDTA ve DP ile sinerji +)



Resim-15: Karbapenemaz geni tespit edilmeyen, 'AmpC aşırı sentezi+porin kaybı' mekanizması bulunan 88 no'lu suşa ait KDT (CL ve BO ile sinerji+)

İzolaların 74'ünde (%83,1) tespit edilen karbapenem direnç mekanizması ile kombinasyon disk testinde ortaya çıkan sinerji uyumluyken 15'inde (%16,9) karbapenem direnç mekanizması ile kombinasyon disk testinde ortaya çıkan sinerji uyumsuzdur.

4.4.6. Temosilin Direnci Bulguları

Sadece OXA-48 geni bulunan 65 izolatın tamamı, sadece NDM geni bulunan 4 izolatın tamamı, OXA-48 ve NDM genlerinin her ikisini de bulunduran 6 izolatın tamamı ve OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçünün de bulunduğu 1 izolat temosilin dirençli olarak değerlendirildi. Hiç bir gen bulunamayan 13 izolatın 6'sı temosilin dirençli iken 7'si temosilin duyarlı idi (Tablo-25).

İzolaların en az bir gene sahip olma durumu ile temosilin direnci arasındaki ilişki Kolmogorov Smirnov Testi ile incelenmiştir. Kolmogorov Smirnov Testi sonuçları Tablo 28'de sunulmuştur.

Tablo-28: En Az Bir Gene Sahip Olma Durumu ile Temosilin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları

Temosilin Direnci/Gen	Var	Yok	Toplam	P
Var	76	6	7	
Yok	0	7	82	0,003
Toplam	76	13	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Kolmogorov Smirnov Testi kullanılmıştır.

Tablo 28'e göre, temosiline duyarlı olan izolatların 7'sinde herhangi bir gen yoktur. Aynı şekilde, temosiline dirençli olan izolatların 76'sında gen görülürken, 6'sında herhangi bir gene rastlanmamıştır. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında karbapenemaz direnç genlerinin tespitinde temosilin direnci duyarlılığı %100 ve özgüllüğü ise %54 olarak bulunmuştur. Kolmogorov Smirnov Testi sonucuna göre temosilin direnci ile en az bir gen var olma durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$).

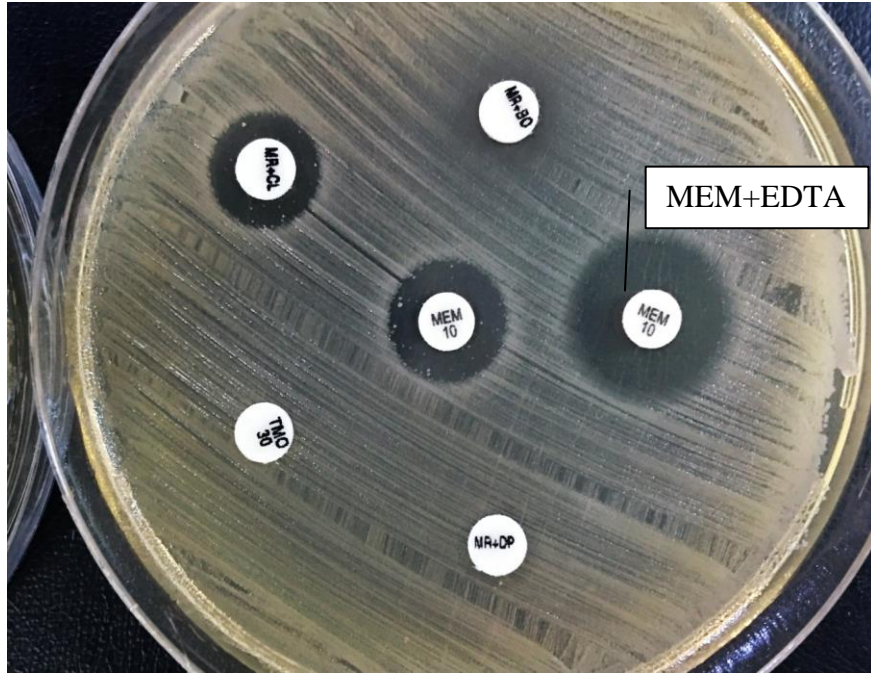
KDE'lerin OXA-48 genine sahip olma durumu ile temosilin direnci arasındaki ilişki Kolmogorov Smirnov Testi ile incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 29'da sunulmuştur.

Tablo-29: OXA-48 Genine Sahip Olma Durumu ile Temosilin Direnci Arasındaki İlişkiye Dair Kolmogorov Smirnov Testi Sonuçları

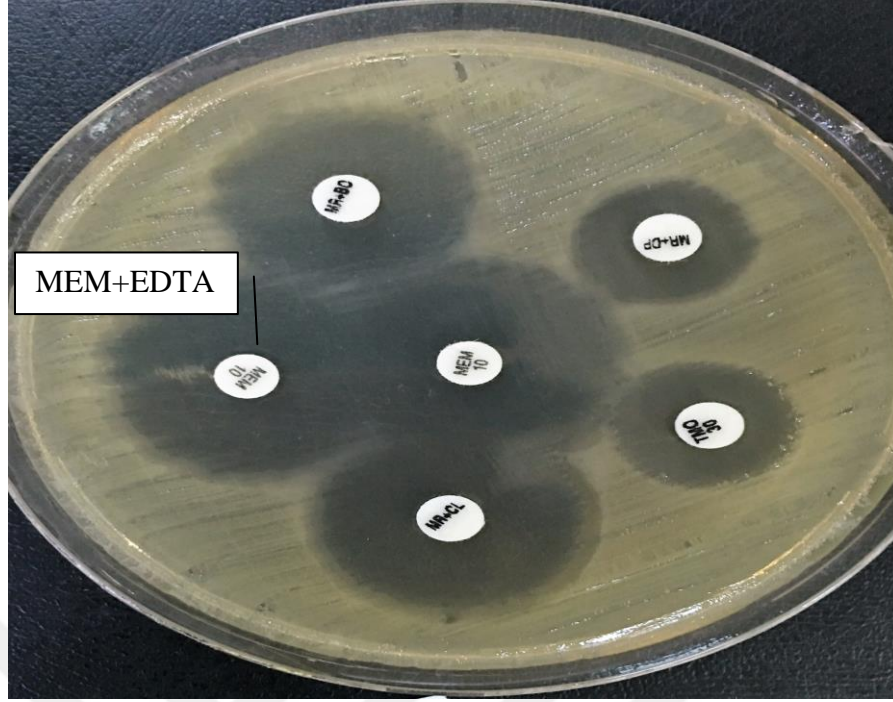
Temosilin/OXA-48	Dirençli	Duyarlı	Toplam	P
Var	72	10	82	
Yok	0	7	7	0,019
Toplam	72	17	89	

*Beklenen değer varsayımı karşılanmadığı için Ki-kare testi yerine Kolmogorov Smirnov Testi kullanılmıştır.

Tablo 29'a göre, temosiline duyarlı olan izolatların hiçbirinde OXA-48 geni yoktur. Aynı şekilde, temosiline dirençli olan KDE'lerin 72'sinde OXA-48 geni görülürken, 10'unda herhangi bir gene rastlanmamıştır. Buna göre, Xpert Carba-R PCR referans alındığında OXA-48 geni tespit etmede temosilin direnci duyarlılığı %100 ve özgüllüğü ise %41 olarak bulunmuştur. Kolmogorov Smirnov Testi sonucuna göre temosilin direnci ile OXA-48 geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$).



Resim-16: OXA-48 Geni Tespit Edilen Temosilin Dirençli 22 no'lu Suş



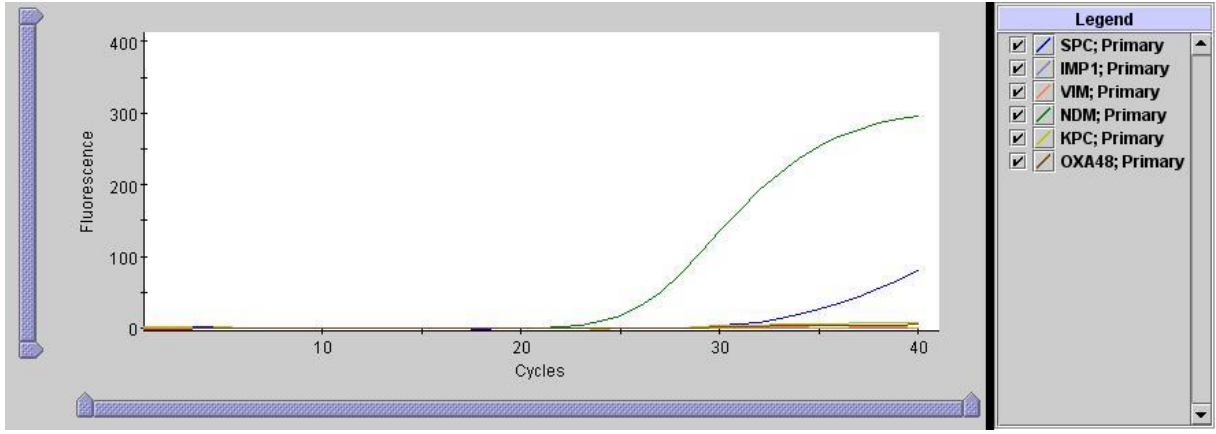
Resim-17: Temosilin Duyarlı Olan 65 no'lu Suş

OXA-48 üreticilerini öngörmede ertapenem direncinin, temosilin ve piperasilin-tazobaktam dirençleri ile birlikte kullanılması halinde duyarlılık %100, özgüllük %59 olarak bulundu.

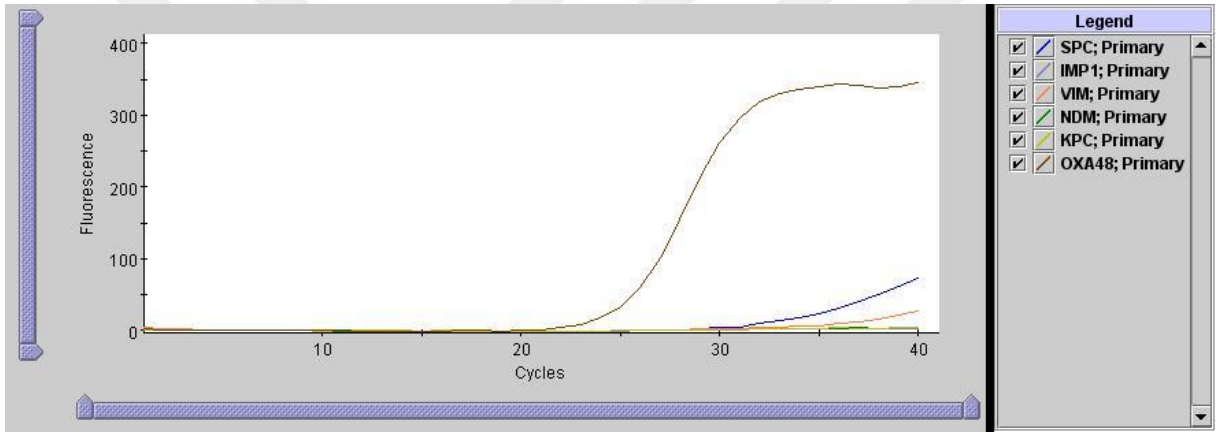
4.4.7. PCR ile Tespit Edilen Karbapenemaz Genlerine Ait Bulgular

KDE'lerin 65'inde (%73) tek başına OXA-48 geni, 4'ünde (%4,5) tek başına NDM geni, 6'sında (%6,7) OXA-48 geni ile birlikte NDM geni, 1'inde (%1,1) ise OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçü birlikte tespit edildi. Onüç izolatta ise OXA-48, NDM, VIM, IMP-1 ve KPC genlerinden hiçbiri tespit edilmedi.

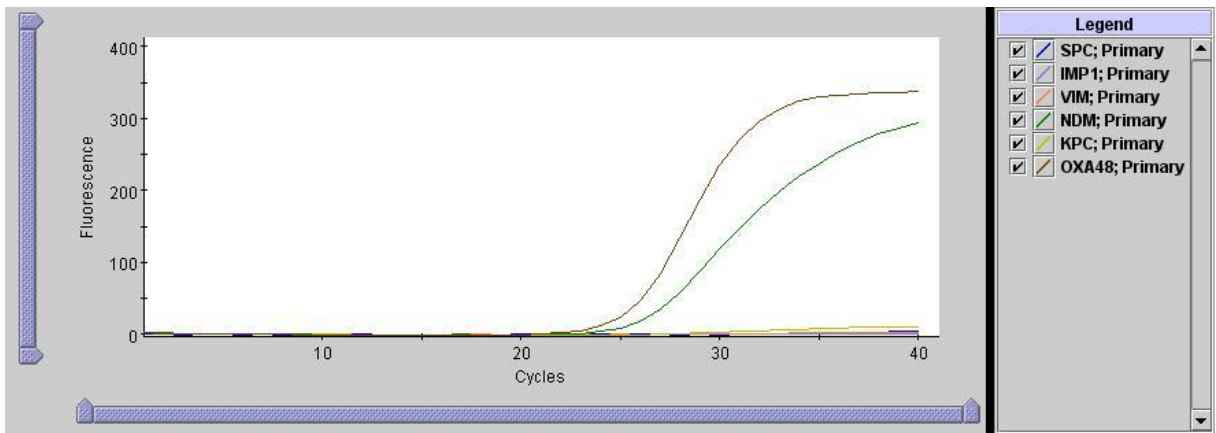
Tek başına OXA-48 geni bulunan izolatların 58'i *K. pneumoniae*, 7'si ise *E. coli* idi. Üç *K. pneumoniae* suşunda ve 1 *E. coli* suşunda tek başına NDM geni tespit edildi. OXA-48 ve NDM genlerinin beraber bulunduğu 6 izolatın tamamı da *K. pneumoniae* idi. Bir *K. pneumoniae* suşunda ise OXA-48, VIM ve IMP-1 genleri birlikte tespit edildi.



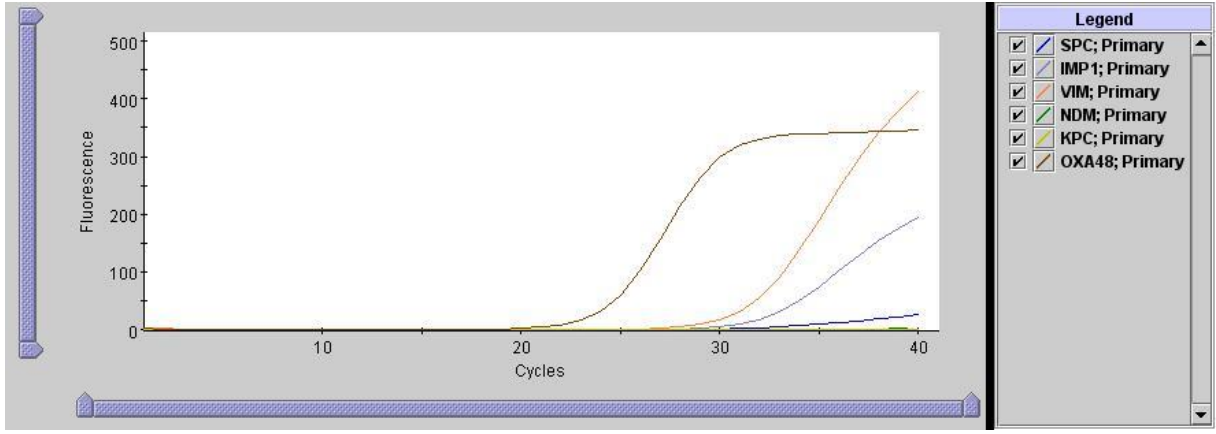
Şekil-2: NDM geni tespit edilen 20 no'lu *K. pneumoniae* izolatına ait Xpert Carba-R PCR analiz sonucu



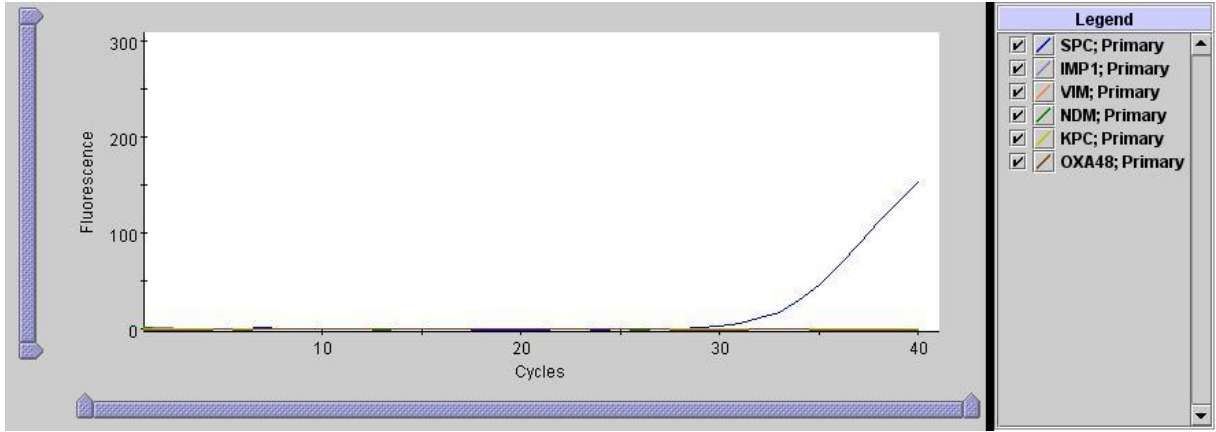
Şekil-3: OXA-48 geni tespit edilen 41 no'lu *E. coli* izolatına ait Xpert Carba-R PCR analiz sonucu



Şekil-4: OXA-48+NDM genleri tespit edilen 90 no'lu *K. pneumoniae* izolatına ait Xpert Carba-R PCR analiz sonucu



Şekil-5: OXA-48+VIM+IMP-1 genleri tespit edilen 74 no'lu *K. pneumoniae* izolatına ait Xpert Carba-R PCR analiz sonucu



Şekil-6: Gen tespit edilmeyen 88 no'lu *E. coli* izolatına ait Xpert Carba-R PCR analiz sonucu

En sık OXA-48 geni (%80,8) tespit edildi. OXA-48 geni en sık dahiliye yoğun bakımdan (%21,3) gelen izolatlarda mevcuttu.

4.4.8. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Bulguları

Tablo-30: İzolatların Otomatize Sisteme Göre Direnç Durumları

Antibiyotikler	n (%)		
	S	I	R
Ertapenem	-	4 (%4,5)	85 (%95,5)
Meropenem	23 (%25,8)	4 (%4,5)	62 (%69,7)
İmipenem	14 (%15,7)	41 (%46,1)	34 (%38,2)
Amikasin	45 (%50,6)	1 (%1,1)	43 (%48,3)
Ampisilin	-	-	89 (%100)
Aztreonam	2 (%2,2)	-	87 (%97,8)
Sefepim	12 (%13,5)	5 (%5,6)	72 (%80,9)
Seftazidim	2 (%2,2)	1 (%1,1)	86 (%96,6)
Seftriakson	2 (%2,2)	1 (%1,1)	86 (%96,6)
Sefuroksim-sodyum	1 (%1,6)	-	63 (%98,4)
Siprofloksasin	5 (%5,6)	1 (%1,1)	83 (%93,3)
Levofloksasin	3 (%3,4)	-	86 (%96,6)
Norfloksasin	2 (%2,2)	-	87 (%97,8)
Moksifloksasin	2 (%2,7)	-	87 (%97,8)
Kolistin	51 (%57,3)	-	38 (%42,7)
Gentamisin	25 (%28,1)	-	64 (%71,9)
Netilmisin	11 (%16,9)	4 (%6,2)	50 (%76,9)
Piperasilin	1 (%1,1)	-	88 (%98,9)
Piperasilin-tazobaktam	1 (%1,1)	1 (%1,1)	87 (%97,8)
SXT	27 (%30,3)	-	62 (%69,7)
Sefiksim*	-	-	23 (%100)
Fosfomisin*	19 (%76,0)	-	6 (%24,0)

SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli

*sadece idrar örneklerinde bakılmıştır.

Tablo 26'ya göre, KDE'lerin 4'ü (%4,5) ertapeneme orta duyarlı ve 85'i (%95,5) dirençli; 23'ü (%25,8) meropeneme duyarlı, 4'ü (%4,5) orta duyarlı ve 62'si (%69,7) dirençli; 14'ü (%15,7) imipeneme duyarlı, 41'i (%46,1) orta duyarlı ve 34'ü (%38,2) dirençli; 45'i (%50,6)

amikasine duyarlı, 1'i (%1,1) orta duyarlı ve 43'ü (%48,3) dirençli; tamamı (%100) ampisiline dirençli; 2'si (%2,2) aztreonama duyarlı ve 87'si (%97,8) dirençli; 12'si (%13,5) sefepime duyarlı, 5'i (%5,6) orta duyarlı ve 72'si (%80,9) dirençli; 2'si (%2,2) seftazidime duyarlı, 1'i (%1,1) orta duyarlı ve 86'sı (%96,6) dirençli; 2'si (%2,2) seftriaksona duyarlı, 1'i (%1,1) orta duyarlı ve 86'sı (%96,6) dirençli; 1'i (%1,6) sefuroksim-sodyuma duyarlı ve 63'ü (%98,4) dirençli; 5'i (%5,6) siprofloksasine duyarlı, 1'i (%1,1) orta duyarlı ve 83'ü (%93,3) dirençli; 3'ü (%3,4) levofloksasine duyarlı ve 86'sı (%96,6) dirençli; 2'si (%2,2) norfloksasine duyarlı ve 87'si (%97,8) dirençli; 2'si (%2,7) moksifloksasine duyarlı ve 87'si (%97,8) dirençli; 51'i (%57,3) kolistine duyarlı ve 38'i (%42,7) dirençli; 25'i (%28,1) gentamisine duyarlı ve 64'ü (%71,9) dirençli; 11'i (%16,9) netilmisine duyarlı, 4'ü (%6,2) orta duyarlı ve 50'si (%76,9) dirençli; 1'i (%1,1) piperasiline duyarlı, 88'i (%98,9) dirençli; 1'i (%1,1) piperasilin-tazobaktama duyarlı, 1'i (%1,1) orta duyarlı ve 87'si (%97,8) dirençli; 27'si (%30,3) SXT duyarlı ve 62'si (%69,7) dirençlidir. İdrar örneklerinden edilen 23 izolatın tamamı (%100) sefiksimine dirençli; 19'u (%76,0) fosformisine duyarlı ve 6'sı (%24,0) dirençlidir.

Çalışmaya alınan suşların Phoenix100 otomatize sistemine göre belirlenen duyarlılık-direnç profilleri değerlendirildi. Karbapenemlerden en dirençli antibiyotik %95,5 oranı ile ertapenem olarak tespit edildi. Aminoglikozidlerden %71,9 oranı ile gentamisin, sefalosporinlerden %96,6 oranı ile seftazidim ve seftriakson, kinolonlardan %97,8 oranı ile norfloksasin ve moksifloksasin, monobaktam olarak da %97,8 oranı ile aztreonam en dirençli antibiyotikler olarak belirlendi.

En duyarlı antibiyotik %57,3 oranı ile kolistin olarak tespit edildi. İkinci en duyarlı antibiyotik %50,6 oranı ile amikasin iken üçüncü en duyarlı antibiyotik %30,3 oranı ile SXT olarak belirlendi.

İdrar örnekleri için ise fosfomisin %76 duyarlılık oranı ile en duyarlı antibiyotik iken, sefiksim %100 direnç oranı ile en dirençli antibiyotik olarak belirlendi.

Tablo-31: Xpert Carba-R PCR İle Karbapenem Direnç Geni Saptanan Ve Saptanmayan İzolatların Antibiyotik Direnç Durumları

Antibiyotikler	n (%)				
	Sadece OXA-48	Sadece NDM	OXA-48+NDM	OXA-48, IMP ve VIM	Negatif
Ertapenem	65 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	9 (%69,2)
Meropenem	44 (%67,7)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	7 (%53,8)
İmipenem	21 (%32,3)	4 (%100)	6 (%100)	-	3 (%23,1)
Amikasin	33 (%50,8)	2 (%50)	6 (%100)	-	2 (%15,4)
Ampisilin	65 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	13 (%100)
Aztreonam	64 (%98,5)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	12 (%92,3)
Sefepim	52 (%80)	4 (%100)	4 (%66,7)	1 (%100)	11 (%84,6)
Seftazidim	62 (%95,4)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	13 (%100)
Seftriakson	63 (%96,9)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	12 (%92,3)
Sefuroksim-Na*	50 (%98)	4 (%100)	2 (%100)	-	7 (%100)
Siprofloksasin	61 (%93,8)	3 (%75)	6 (%100)	1 (%100)	12 (%92,3)
Levofloksasin	63 (%96,9)	3 (%75)	6 (%100)	1 (%100)	13 (%100)
Norfloksasin	64 (%98,5)	3 (%75)	6 (%100)	1 (%100)	13 (%100)
Moksifloksasin	64 (%98,5)	3 (%75)	6 (%100)	1 (%100)	13 (%100)
Kolistin	33 (%50,8)	-	2 (%33,3)	-	3 (%23,1)
Gentamisin	48 (%73,8)	2 (%50)	6 (%100)	1 (%100)	7 (%53,8)
Netilmisin	39 (%76,5)	2 (%50)	3 (%100)	-	6 (%85,7)
Piperasilin	65 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	12 (%92,3)
Piperasilin-tazobaktam	65 (%100)	4 (%100)	6 (%100)	1 (%100)	11 (%84,6)
SXT	44 (%67,7)	1 (%25)	5 (%83,3)	1 (%100)	11 (%84,6)
Sefiksim	13 (%100)	-	3 (%100)	1 (%100)	6 (%100)
Fosfomisin	3 (%21,4)	-	1 (%25)	-	2 (%33,3)

*Sefuroksim-Na: Sefuroksim-sodyum

Tablo 27'ye göre, sadece OXA-48 geni tespit edilen KDE'lerin 65'i (%100) ertapeneme, 44'ü (%67,7) meropeneme, 21'i (%32,3) imipeneme, 33'ü (%50,8) amikaside, 65'i (%100) ampisiline, 64'ü (%98,5) aztreonama, 52'si (%80) sefepime, 62'si (%95,4) seftazidime, 63'ü (%96,9) seftriaksona, 50'si (%98) sefuroksim-sodyuma, 61'i (%93,8) siprofloksasine, 63'ü (%96,9) levofloksasine, 64'ü (%98,5) norfloksasine, 64'ü (%98,5) moksifloksasine, 33'ü (%50,8) kolistine, 48'i (%73,8) gentamisine, 39'u (%76,5) netilmisine, 65'i (%100) piperasiline, 65'i (%100) piperasilin-tazobaktama ve 1'i (%25) SXT'ye, 13'ü (%100) sefiksim ve 3'ü (%21,4) fosfomisine dirençlidir.

Sadece NDM geni tespit edilen KDE'lerin 4'ü (%100) ertapeneme, 4'ü (%100) meropeneme, 4'ü (%100) imipeneme, 2'si (%50) amikaside, 4'ü (%100) ampisiline, 4'ü (%100) aztreonama, 4'ü (%100) sefepime, 4'ü (%100) seftazidime, 4'ü (%100) seftriaksona, 4'ü (%100) sefuroksim-sodyuma, 3'ü (%75) siprofloksasine, 3'ü (%75) levofloksasine, 3'ü (%75) norfloksasine, 3'ü (%75) moksifloksasine, 2'si (%50) gentamisine, 2'si (%50) netilmisine, 4'ü (%100) piperasiline, 4'ü (%100) piperasilin-tazobaktama ve 1'i (%25) SXT'ye dirençlidir.

OXA-48 ve NDM genlerinin her ikisinin birden tespit edildiği KDE'lerin 6'sı (%100) ertapeneme, 6'sı (%100) meropeneme, 6'sı (%100) imipeneme, 6'sı (%100) amikaside, 6'sı (%100) ampisiline, 6'sı (%100) aztreonama, 4'ü (%100) sefepime, 6'sı (%100) seftazidime, 6'sı (%100) seftriaksona, 2'si (%100) sefuroksim-sodyuma, 6'sı (%100) siprofloksasine, 6'sı (%100) levofloksasine, 6'sı (%100) norfloksasine, 6'sı (%100) moksifloksasine, 2'si (%33,3) kolistine, 6'sı (%100) gentamisine, 3'ü (%100) netilmisine, 6'sı (%100) piperasiline, 6'sı (%100) piperasilin-tazobaktama, 5'i (%83,3) SXT'ye, 3'ü sefiksim ve 1'i fosfomisine (%25) dirençlidir.

OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin üçünün birlikte bulunduğu 1 KDE imipenem, amikasin, sefuroksim-sodyum, kolistin, netilmisin ve fosfomisin dışında tüm antibiyotiklere karşı dirençlidir.

Hiçbir gen bulunmayan KDE lerin 9'u (%69,2) ertapeneme, 7'si (%53,8) meropeneme, 3'ü (%23,1) imipeneme, 2'si (%15,4) amikaside, 13'ü (%100) ampisiline, 12(%92,3) aztreonama, 11'i (%84,6) sefepime, 13'ü (%100) seftazidime, 12'si (%92,3) seftriaksona, 7'si (%100) sefuroksim-sodyuma, 12'si (%92,3) siprofloksasine, 13 (%100) levofloksasine, 13 (%100) norfloksasine, 13 (%100) moksifloksasine, 3'ü (%23,1) kolistine, 7'si (%53,8) gentamisine, 6'sı (%85,7) netilmisine, 12'si (%92,3) piperasiline, 11'i (%84,6) piperasilin-

tazobaktama ve 11'i (%84,6) SXT'ye, 6'sı (%100) sefiksimine ve 2'si (%33,3) fosfomisine dirençlidir.

OXA-48 geni var olan 72 izolatın tamamı ertapeneme dirençli; 17'si (%23,6) meropeneme duyarlı, 4'ü (%5,6) orta duyarlı, 51 (%70,8) dirençli; 7'si (%9,7) imipeneme duyarlı, 38'i (%52,8) orta duyarlı, 27'si (%37,5) dirençlidir. NDM üreticilerinde karbapenemlere direnç oranları yüksekken, OXA-48 üreticilerinde karbapenemlere direnç oranları daha düşük tespit edildi.

OXA-48 geni taşıyan izolatlarda kinolonlara direnç oranları sadece NDM geni taşıyanlara göre daha yüksek olarak bulundu.

OXA-48 varlığı ile ertapenem zon çapı ortalaması arasındaki ilişkiye bağımsız örneklem t testi ile bakılmıştır. Bağımsız örneklem t testi sonuçları Tablo 32'de sunulmuştur.

Tablo-32: OXA-48 Varlığı ile Ertapenem Zon Çapı İlişkisi

OXA-48	N	X (mm)	S	sd	t	P
Var	72	9,3	4,5	18,63	-3,92	0,001
Yok	17	17,1	7,8			

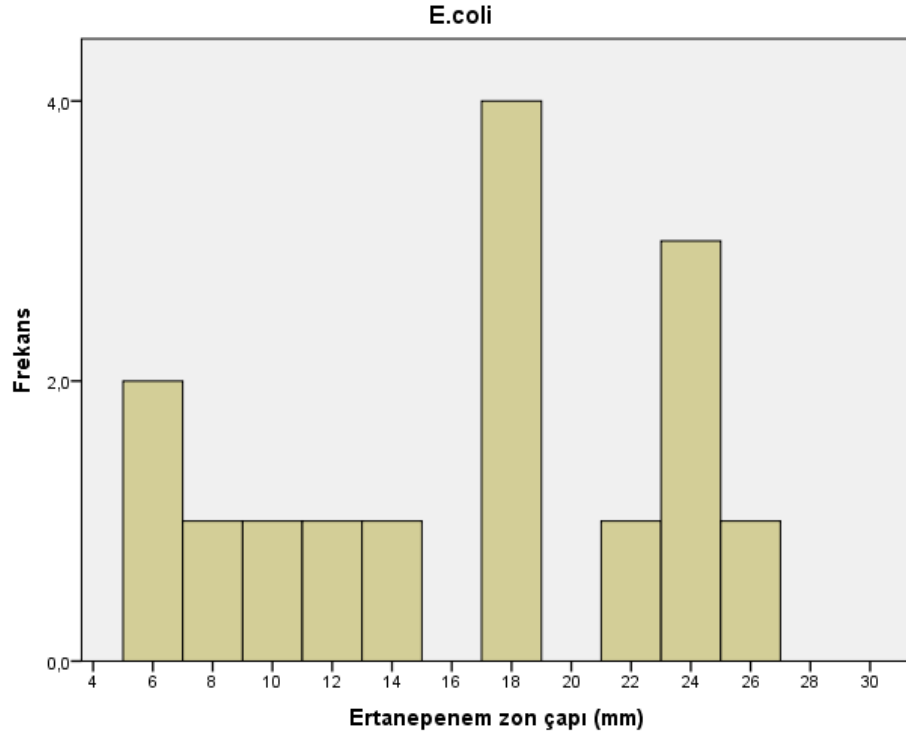
*Varyansların homojenliği varsayımı sağlanmadığından serbestlik derecesi 87 yerine 18,63 olarak belirlenmiştir.

Tablo 32'ye göre, OXA-48 geni tespit edilen izolatlar ile OXA-48 geni olmayan izolatların ertapenem zon çapı ortalamaları arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bir başka deyişle, OXA-48 geni tespit edilen izolatların ertapenem zon çapı ortalamaları ($X=9,3$ mm) OXA-48 geni olmayan izolatların ertapenem zon çapı ortalamalarından ($X=17,1$ mm) anlamlı bir şekilde daha düşüktür. Buna göre, OXA48 varlığı ile ertapenem zon çapları arasında ilişki olduğu ifade edilebilir.

Sadece OXA-48 geni bulunan KDE'lerin ertapenem zon çapı ortalaması ($X=9,2$ mm) ve sadece NDM geni bulunan KDE'lerin ertapenem zon çapı ortalaması ($X=6,7$ mm) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Fakat sadece OXA48 geni bulunan KDE'lerin imipenem zon çapı ortalaması ($X=18,7$ mm) ve sadece NDM geni bulunan KDE'lerin imipenem zon çapı ortalaması ($X=14,5$ mm) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur

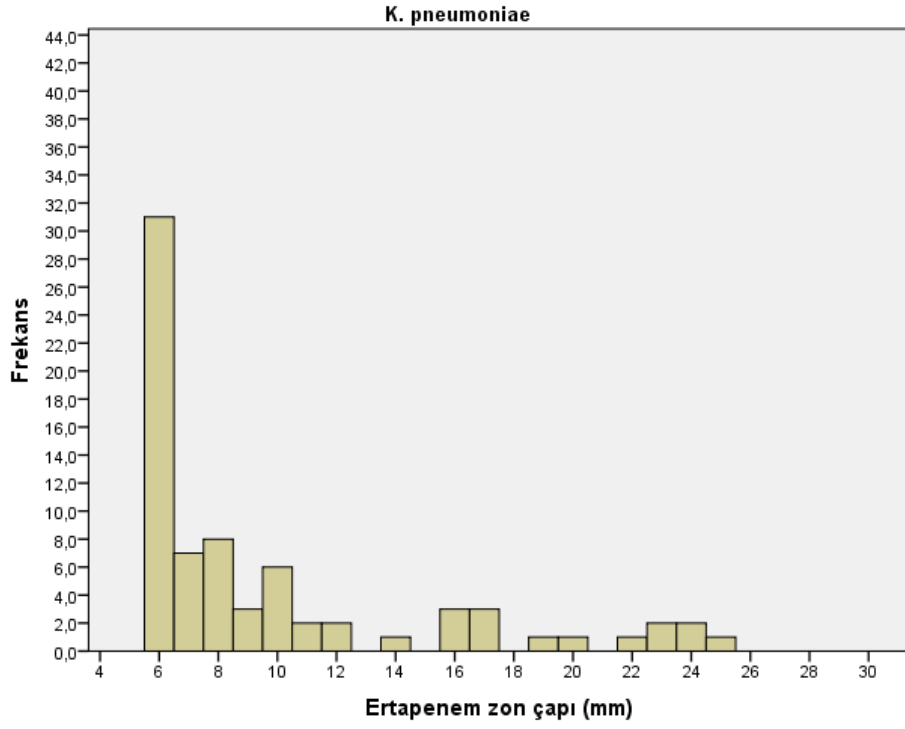
($p < 0,05$). Benzer şekilde, sadece OXA-48 geni bulunan KDE'lerin meropenem zon çapı ortalaması ($X=14,8$ mm) ve sadece NDM geni bulunan KDE'lerin meropenem zon çapı ortalaması ($X=7,5$ mm) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

E. coli'lerin ertapenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği, Grafik 5'te verilmiştir.



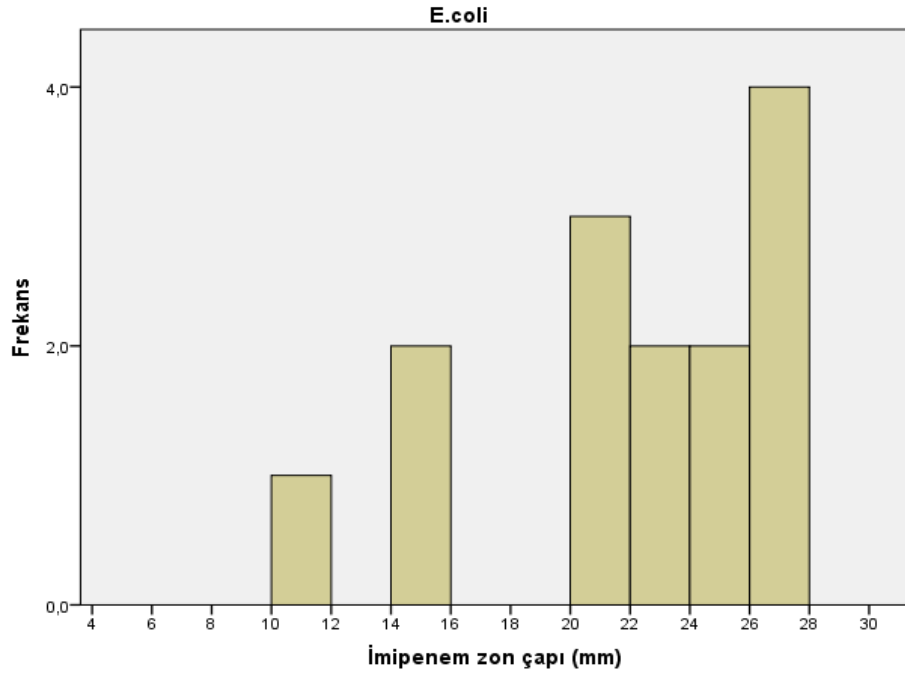
Grafik-5: *E. coli*'lerin Ertapenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

K. pneumoniae'lerin ertapenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği, Grafik 6'da verilmiştir.



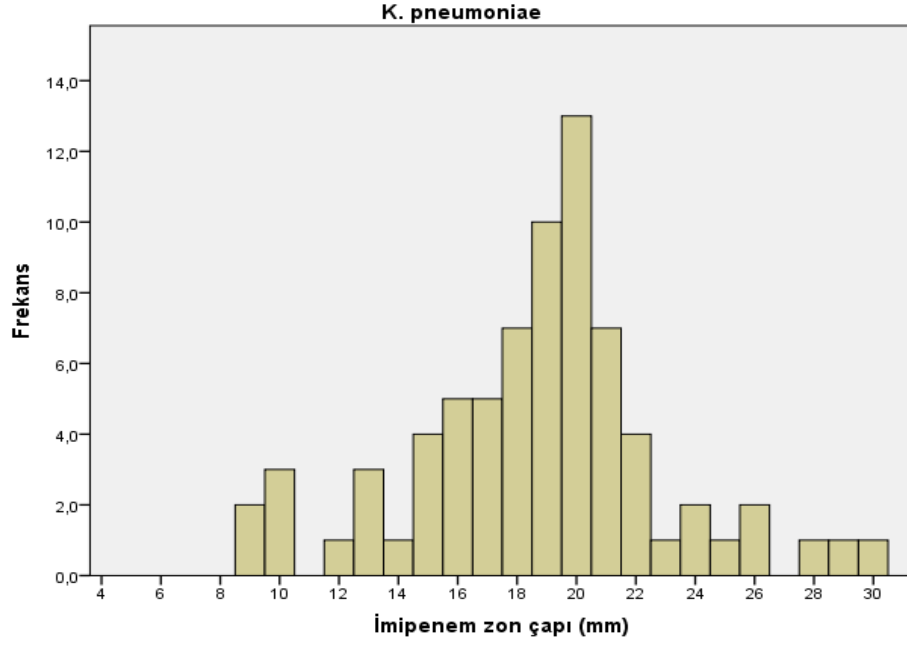
Grafik-6: *K. pneumoniae*'lerin Ertapenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

E. coli'lerin imipenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği, Grafik 7'de verilmiştir.



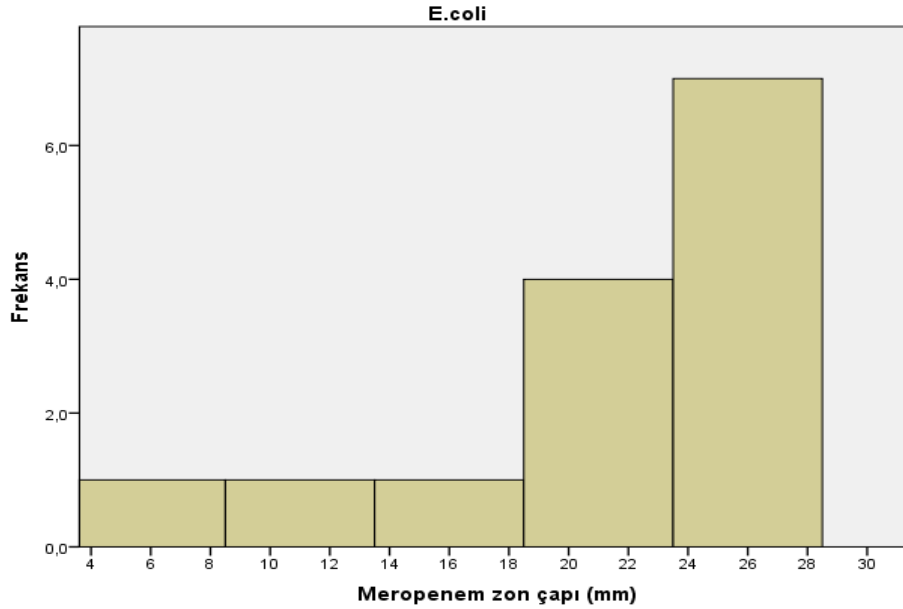
Grafik-7: *E. coli*'lerin İmipenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

K. pneumoniae'lerin imipenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği aşağıda Grafik 8'de verilmiştir.



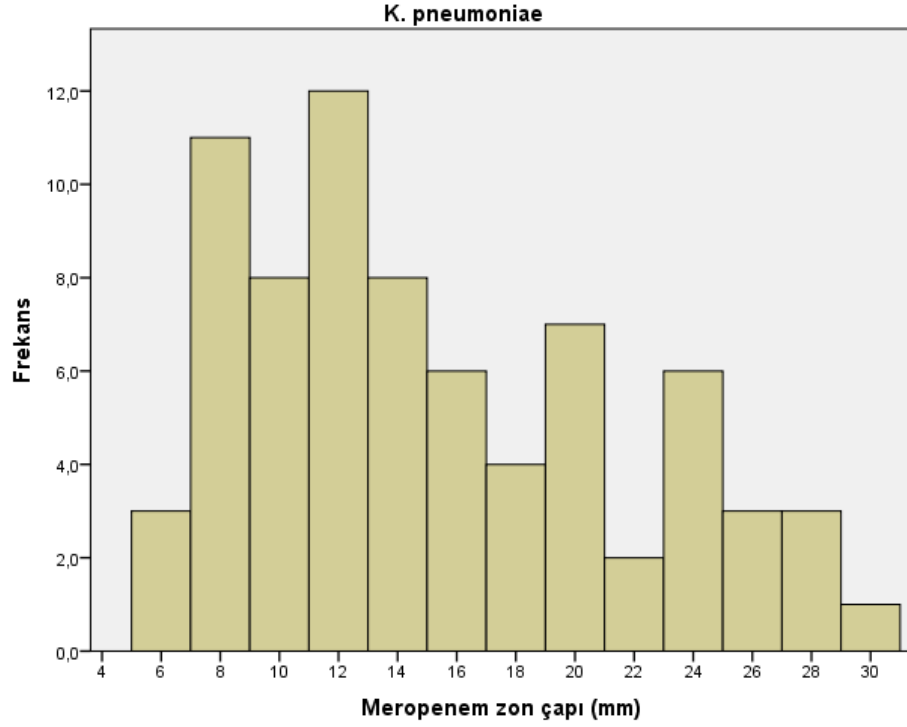
Grafik-8: *K. pneumoniae*'lerin İmipenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

E. coli'lerin meropenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği aşağıda Grafik 9'da verilmiştir.



Grafik-9: *E. coli*'lerin Meropenem Zon Çaplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

K. pneumoniae'lerin meropenem zon çaplarının dağılımına ait histogram grafiği aşağıda Grafik 10'da verilmiştir.



Grafik-10: K. pneumoniae'lerin Meropenem Zon aplarının Dağılımına Ait Histogram Grafiği

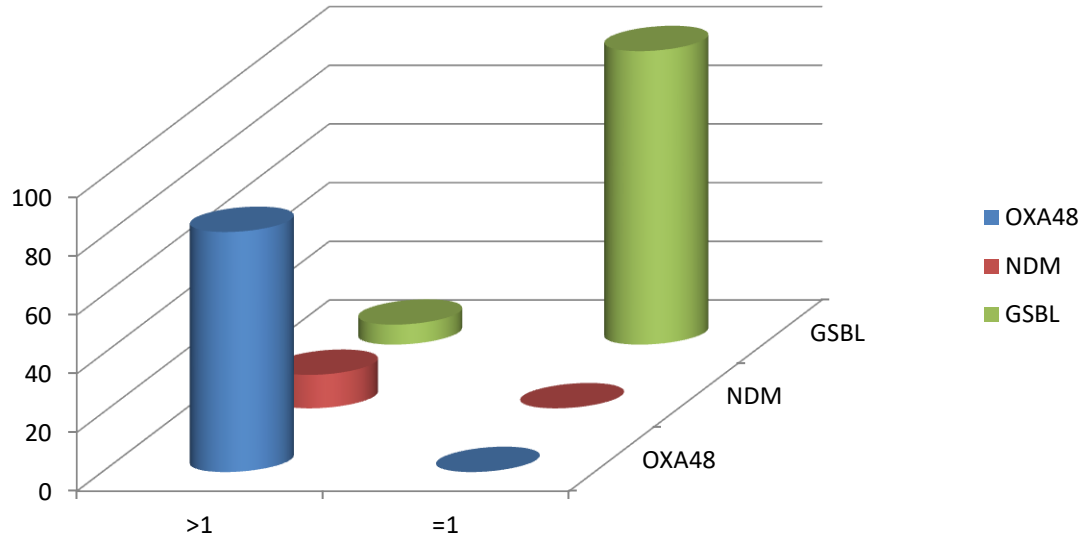
Phoenix otomatize sistemine göre potansiyel karbapenemaz reticisi (PK) olarak tanımlanma ile en az bir karbapenemaz geni varlığı arasındaki ilişkiye dair bilgiler Tablo 24'te sunulmuştur.

Tablo-33: PK Olarak Tanımlanma ile En Az Bir Karbapenemaz Geni Varlığı Arasındaki İlişki

PK / Gen	Var	Yok
Pozitif	71	7
Negatif	5	6

Tablo 32'ye göre, 71 izolat Phoenix cihazına göre 'potansiyel karbapenemaz üreticisi' olarak deėerlendirilmiŐken Xpert Carba-R PCR sonucuna göre de karbapenemaz genine sahip bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre karbapenemaz üreticilerini tanımlamada Phoenix cihazı ile Xpert carba-R PCR arasındaki uyuŐma yüzdesi %86 olarak bulunmuştur.

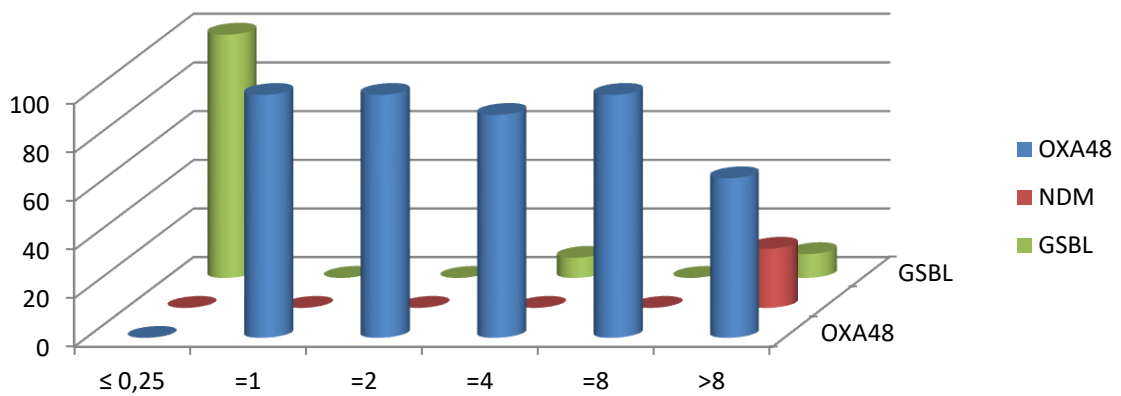
Ertapeneme ait MİK değerleri dağılımı Grafik 11’de sunulmuştur.



Grafik-11: Ertapenem MİK Değerleri Dağılımı (%)

Grafik 11’e göre, ertapenem MİK değeri ‘<1’olan izolatlardan 72’si (%81,8) OXA-48 genine, 10’u (%11,4) NDM genine ve 6’sı (%6,8) GSBL mekanizmasına sahipken ertapenem MİK değeri ‘=1’ olan bir (%100) izolat da GSBL mekanizmasına sahiptir.

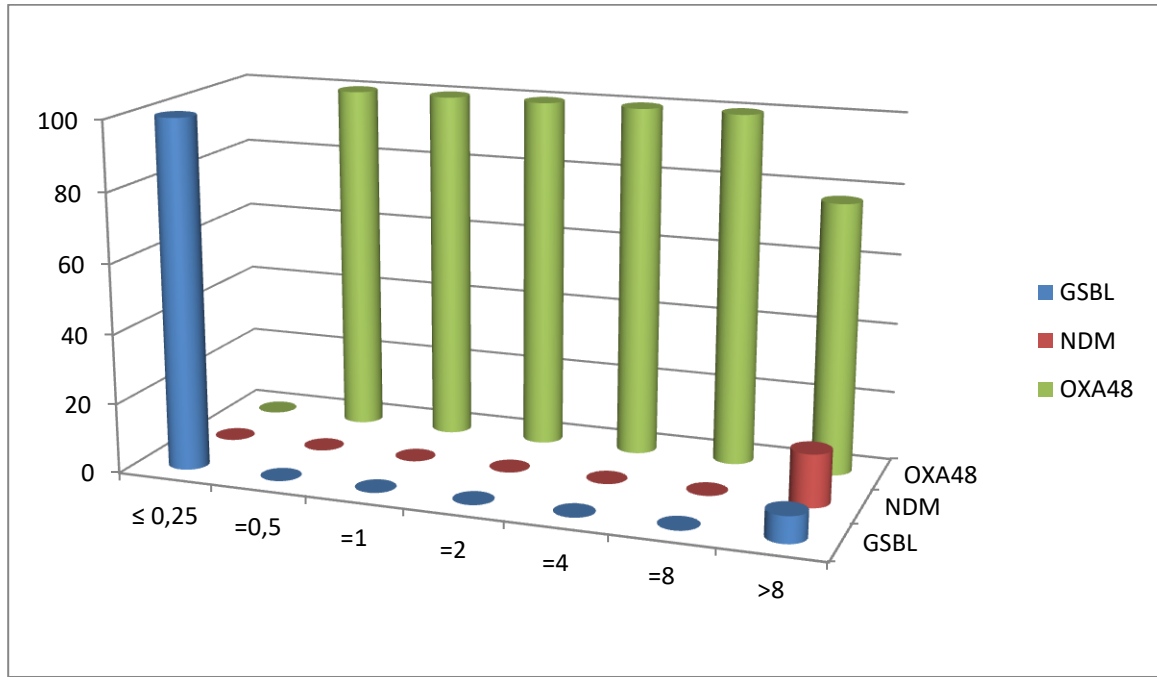
İmipeneme ait MİK değerleri dağılımı Grafik 12’de sunulmuştur.



Grafik-12: İmipenem MİK Değerleri Dağılımı (%)

Grafik 12'e göre, imipenem MİK değeri ' ≤ 0.25 ' olan 2 (%2,2), '=4' olan 1 (%1,1), '>8' olan 4 (%4,5) izolat GSBL mekanizmasına sahiptir. İmpenem MİK değeri '=1' olan 3 (%3,3) izolat, '=2' olan 4 (%4,5) izolat, '=4' olan 11 (%12,3) izolat, '>8' olan 27 (%30,3) izolat, '=8' olan 30 (%30,3) izolatın tamamı OXA-48 genine sahiptir. İmpenem MİK değeri '<8' olan 10 (%11,2) izolat NDM genine sahiptir.

Meropeneme ait MİK değerleri dağılımı Grafik 13'te sunulmuştur.



Grafik-13: Meropenem MİK Değerleri Dağılımı (%)

Grafik 13'e göre, meropenem MİK değeri ' ≤ 0.125 ' olan 2 (%2,2), '<8' olan 5 (%5,6) izolat GSBL mekanizmasına sahiptir. Meropenem MİK değeri '=0.5' olan 2 (%2,2), '=1' olan 6 (%6,7), '=2' olan 9 (%10,1) ve '=4' olan 4 (%4,5), '=8' olan 2 (%2,2), '<8' olan 51 (%57,3) izolatın tamamı OXA-48 genine sahiptir. Meropenem MİK değeri '<8' olan 10 (%11,2) izolat NDM genine sahiptir.

5. TARTIŞMA

Enterobacteriaceae’da direnç sorunu son yıllarda tüm dünyada giderek artan oranlarda karşımıza çıkmaktadır. 1980’li yıllardan sonra tanımlanan GSBL’ler ve daha sonraki yıllarda karşımıza çıkan AmpC beta-laktamazlar ve karbapenemazlar bu bakteri sınıfındaki antibiyotik direncinden sorumlu başlıca enzimlerdir [3, 92]. Bu dirençli bakterilerle enfekte olan hastalarda morbidite ve mortalite oranları yüksektir [3]. Dirence neden olan genler kromozomal ya da plazmidik olarak aktarılmaktadır. Bu genlerin bakteriden bakteriye geçişi kolay olduğundan yayılımı endişe yaratmaktadır. KÜE ile kolonize hastalar mevcut bakteriyi sağlıklı bireylere aktarabilmektedir. Bu izolatlarla kimi zaman salgınlar olmaktadır. Mevcut genlerin ülkeden ülkeye seyahatlerle taşınması da mümkündür. Karbapenemaz üreticileri ile enfekte hastaların ve taşıyıcıların tanımlanması ve izolasyon önlemlerinin alınması gereklidir [2, 3]. Tüm bu nedenlerden ötürü karbapenem dirençli izolatların erken tespiti, uygun antimikrobiallerle tedavisi ve epidemiyolojik açıdan karbapenemaz genlerinin saptanması önemlidir.

Bu amaçla çalışmamız retrospektif veri analizi ve karbapenem direnç mekanizmalarının gösterilmesi olmak üzere iki aşamada planlandı. Çalışmanın retrospektif ayağında; Temmuz 2016- Temmuz 2017 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi klinik ve yoğun bakımlardan bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 922 *E. coli* ve 564 *K. pneumoniae* izolatu olmak üzere toplam 1486 izolatu antibiyotik duyarlılık profilleri incelendi. Ertapenem, imipenem, meropenem, siprofloksasin ve kolistin direnci, *E. coli* suşlarında sırasıyla %20,9, %7,4, %6,7, %52,4 ve %2,7 olarak; *K. pneumoniae* suşlarında ise sırasıyla %52,8, %38,4, %32,8, %63,3 ve %23,2 olarak saptandı. Ertapenem direnci gerek *E. coli*’de gerek *K. pneumoniae*’da imipenem ve meropenem dirençlerinden daha yüksek oranda saptandı. Karbapenemaz enzimlerinin karbapenemlere etkileri farklı olabilir. Ülkemizde sık görülen OXA-48 enzim varlığında ertapenem direnci imipenem ve meropenem direncinden daha sık görülür. Hastanemizde saptanan izolatlarda ertapenem direncinin daha sık görülmesi ülkemizin verileri ile uyumludur.

Korten ve arkadaşlarının 2000-2003 tarihleri arasında Türkiye’deki 9 merkezden 5208 izolatla yapmış oldukları MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) Programı kapsamındaki çalışmada Enterobacteriaceae’da meropenem duyarlılığı %99,3, imipenem duyarlılığı %97,6, siprofloksasin duyarlılığı %70,1 olarak tespit edilmiştir

[119]. Gür ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları ülkemizin verilerini kapsayan çok merkezli HİTİT-2 sürveyans çalışması sonuçlarına göre *E. coli*'de imipenem direnci gözlenmemiş olup, siprofloksasin direnci %58 olarak tespit edilmiştir [120]. Yoğun bakım ünitelerinde antibiyotik duyarlılıklarındaki değişimlerle ilgili 2011 yılında Alp ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 10 yılda siprofloksasin direncinin *E. coli* için %28'den %60'a; *K. pneumoniae* için %21'den %55'e yükseldiği bildirilmiştir [121]. Çalışmamızda siprofloksasin direnci *E. coli*'de %52,4, *K. pneumoniae*'de %63,3 olarak saptandı. Türkiye'de bölgesel farklılıklar olmakla birlikte siprofloksasin direnci %50-60 arasında seyretmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ülkemiz verileri ile uyumludur.

Çalışmamızda toplam 193 (% 20.9) *E. coli* ve 298 (% 52.8) *K. pneumoniae* izolatu karbapenemlerden en az birine dirençliydi ve KDE olarak değerlendirildi. Karbapenem direncinin *K. pneumoniae*'de *E. coli*'ye göre daha sık görüldüğü tespit edildi. Ulu ve arkadaşlarının Adana'da, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesinde yapmış oldukları bir çalışmada KDE izolatlarının %94,8'i erişkin hastalara, %57,1'i erkek hastalara, %59,2'si yoğun bakım hastalarına ait olarak tespit edilmiştir [123]. Bizim çalışmamızda da KDE görülme oranı erkek hastalarda kadınlara göre; yoğun bakım hastalarında klinik hastalarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Aynı zamanda yoğun bakımda yatan hastalardan alınan örneklerde GSBL pozitifliği, kolistin ve kinolon direnci anlamlı olarak daha fazla tespit edildi. Güçlü ve arkadaşlarının Türkiye'de yaptıkları çok merkezli bir çalışmada Türkiye'deki hastanelerde karbapenem ve kinolonların en sık kullanılan antibiyotikler olduğu, antibiyotik kullanımının en çok yoğun bakım ünitelerinde olduğu ve hastanelerimizdeki yüksek antibiyotik direnç oranlarının yoğun antibiyotik kullanımı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [122]. Hastaların invaziv girişimlere maruziyetleri arttıkça enfeksiyonlara yatkınlıkları artar, bu da yoğun ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanılmasını gerekli kılar. Yoğun bakım üniteleri geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının en fazla olduğu birimlerdir. Uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı yoğun bakım ünitelerinde dirençli bakteri izolatlarının ortaya çıkmasına zemin hazırlar. Çalışmamızda yoğun bakım hastalarında karbapenem direncinin yüksek olmasının bu nedene bağlı olduğunu düşünüyoruz. Aynı şekilde GSBL pozitifliğinin, kinolon ve kolistin direncinin yoğun bakımda yatan hastalarda anlamlı olarak daha fazla olması da bu durumla açıklanabilir.

Ulu ve arkadaşlarının çalışmasında karbapenem dirençli *K. pneumoniae* üreyen hastalarda ortalama yaş $51,8 \pm 20,5$ olarak bildirilmiştir [123]. Çalışmamızda KDE üreyen hastaların yaş ortalamaları ($52,6 \pm 27,6$) KDE üremesi olmayan hastaların yaş ortalamalarından

(41,9±29,1) anlamlı bir şekilde daha yüksek bulundu. İleri yaş hastalarının hastaneye yatış süreleri arttığından dirençli bakterilerle karşılaşma ve enfekte olma ihtimalleri daha fazladır. İleri yaş hastalarının bağışıklık sistemlerinin daha zayıf olması da enfeksiyonlara yatkınlığı artırır.

Korten ve arkadaşlarının çalışmasında *K. pneumoniae*'lerin %48,7'si, *E. coli*'lerin %19,5'i GSBL üreticisi olarak bildirilmiştir [119]. Gür ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada *E. coli*'lerin %42'si, *K. pneumoniae*'lerin %41,4'ü GSBL üreticisi olarak bulunmuştur [120]. Ülkemizde 2014 yılında yapılmış bir çalışmada *E. coli* suşlarının %82,7'sinde, *K. pneumoniae*'lerin ise %83,3'ünde GSBL pozitif bulunmuştur [124]. Bizim çalışmamızda *E. coli*'lerin %63,7'si GSBL pozitif iken *K. pneumoniae*'lerin %69,3 GSBL pozitif olarak tespit edildi. Çalışmamızın verileri ülkemiz literatürü ile uyumludur.

Cienfuegos-Gallet ve arkadaşları 2017 yılında karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direncini tanımlamak için yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli suşlarda kolistin direncinin kromozoma entegre olan plazmid DNA'larından kaynaklandığını göstermişlerdir [125]. Bizim çalışmamızda da karbapenem direnci ile kolistin direnci arasında ilişki bulundu ve bu ilişkinin literatürdeki çalışmalardaki gibi plazmidlerden kaynaklandığı öngörülebilir. Yine benzer şekilde Singh ve arkadaşları kromozom üzerinde mevcut olan çoklu antibiyotik direnç genlerinin, plazmidlerin ve/veya integronun çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae*'lerdeki kinolon, beta laktamaz ve diğer antibiyotik dirençlerinden sorumlu olduğunu göstermişlerdir [126]. Çalışmamızda karbapenem direnci ile kinolon direnci arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Bu ilişkiyi plazmidlerle aktarılan ya da bakteri kromozomuna entegre olan çoklu antibiyotik direnç genleri açıklayabilir.

Tolun ve arkadaşlarının bir çalışmasında GSBL üretiminin siprofloksasine dirençli *E. coli* suşları arasında siprofloksasine duyarlı *E. coli* suşlarına göre anlamlı derecede daha sık tespit edildiği ancak bu farkın *K. pneumoniae* suşları arasında anlamlı olmadığı belirtilmiştir [127]. Buruk ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* ve Klebsiella izolatlarının, kinolonlara GSBL üretmeyenlere göre daha yüksek direnç oranları gösterdiklerini bildirmişlerdir [128]. Çalışmamızda GSBL varlığı ile kinolon direnci arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Bizim çalışmamız da bu anlamda literatürü destekler niteliktedir.

CLSI klavuzuna göre ertapenem duyarlılığında azalma karbapenemaz tespiti için önemli bir belirteçdir. CLSI, karbapenemaz taramasında ertapenemin kullanılmasını önermektedir [109].

EUCAST klavuzuna göre ise ertapenem duyarlılığı yüksek olmasına karşın özgüllüğü düşük olduğundan önerilmemekte, duyarlılık ve özgüllük dengesi en iyi olan meropenem önerilmektedir [105]. OXA-48/OXA-181 üreticileri arasında karbapenemlere duyarlı olan ancak karbapenemaz geni tespit edilen izolatlar rastlanabilmektedir [91]. EUCAST bu tip izolatları da tespit etmesi açısından epidemiyolojik sınır değerler belirlemiştir. Ülkemizde OXA-48 üreticilerinin yoğun olduğu göz önüne alındığında EUCAST epidemiyolojik sınır değerlerinin kullanılması önem arz etmektedir. Bazı durumlarda OXA-48 üreten izolatlar için meropenem zon çapı 26 mm'ye kadar ulaşabilmektedir. Bu nedenle, OXA-48 üreten Enterobacteriaceae salgınlarında, özgüllükte düşüş göz önüne alınarak <27 mm tarama eşik değeri olarak kullanılabilir [105]. Eşlik eden başka direnç mekanizması yoksa OXA-48 üreten suşlar için imipenem ve meropenem MİK değerleri genellikle duyarlı kategorisine girmektedirler [129]. OXA-48 ile birlikte GSBL ve dış membran porin kaybı gibi diğer direnç mekanizmalarının varlığı, imipenem ve meropenem için yüksek MİK değerlerine neden olmakta ve izolatu mevcut terapötik ajanlara karşı daha dirençli hale getirmektedir [129, 130].

Çalışmamızın karbapenem direnç mekanizmalarının gösterilmesi kısmında, karbapenemaz varlığı açısından araştırılacak olan izolatlar her iki klavuzun da kriterleri göz önünde bulundurularak seçildi. EUCAST tarama eşik değerleri göz önünde bulundurularak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile ertapenem için zon çapı 25 mm'nin altında ve meropenem için zon çapı 27 mm'nin altında olan tüm izolatlar çalışmaya dahil edildi. NDM ile birlikte OXA-48 geni tespit ettiğimiz bir izolatta disk difüzyonda ertapenem zon çapı 24 mm iken meropenem zon çapı 28 mm idi. Ertapenem zon çapı 25 mm'nin altında olduğu için izolatu çalışmaya dahil ettik. Değerlendirmeyi meropenem tarama zon çapına göre yapsaydık bu karbapenemaz üreticisini atlayabilirdik. Bir OXA-48 üreticisi *K. pneumoniae* izolatının imipenem ve meropenem duyarlı iken sadece ertapeneme dirençli olduğunu tespit ettik. Bu durumlar ertapenem diskinin tarama için kullanılmasının gerekliliğini ve karbapenemazları yakalamada iyi bir tercih olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda EUCAST'ın karbapenemaz taraması için belirlediği yüksek eşik değerlerin de gerekliliğini göstermiştir.

Enterobacteriaceae 'da sıklıkla tespit edilen karbapenemazlar KPC, NDM, IMP, VIM ile OXA-48 ve varyantlarıdır [3]. Enterobacteriaceae'da farklı karbapenemaz türlerinin saptanmasında çeşitli in-house ya da ticari, multipleks PCR, real-time PCR ve DNA mikroarray gibi metodlar tercih edilebilmektedir [91]. Xpert Carba-R PCR testi her ne kadar rektal örneklerde karbapenem dirençli Enterobacteriaceae'ları taramak için üretilmiş olsa da doğrudan bakteri

örnekleri de bu test kullanılarak çalışılabilmektedir [116]. Xpert Carba-R PCR testi KPC, NDM, VIM, IMP ve OXA-48 gibi sık görülen karbapenemazları tek seferde ve 1 saatten kısa bir süre içinde tespit edebilen bir testtir [117]. Biz de çalışmamızın moleküler tanı kısmında Xpert Carba-R PCR testini kullandık. İzolatlarımızın 65'inde (%73) tek başına OXA-48 geni, 4'ünde (%4,5) tek başına NDM geni, 6'sında (%6,7) OXA-48 geni ile birlikte NDM geni, 1'inde(%1,1) ise OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçü birlikte tespit edildi. 13 izolatta ise OXA-48, NDM, VIM, IMP-1 ve KPC genlerinden hiçbirine rastlanmadı.

Tenover ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları bir çalışmada Xpert MDRO testinin KPC geni için duyarlılığı %100, özgüllüğü %99 iken; VIM geni için sırasıyla %100, %99,4 olarak tespit edilmiştir [117]. Findlay ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada Xpert Carba-R PCR testinin KPC, VIM ve NDM genlerini tespit etmede duyarlılığı %100, IMP geni tespit etmede %71 ve OXA-48 benzeri genleri tespit etmede %83 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada in-house yöntemlerle Xpert Carba-R PCR ile OXA-48 benzeri enzim üreticisi 102 izolattan 18'inde herhangi bir gene rastlanmamıştır. Xpert Carba-R PCR'ın karbapenemaz geni saptayamadığı 18 izolata in-house PCR uygulanmış ve tamamının OXA-181 üreticileri olduğu gösterilmiştir [116]. Çalışmamızda, imipenem ve meropenem duyarlıyken ertapenem dirençli olup fenotipik yöntemlerle inhibisyonun görülmediği ancak temosilinin dirençli saptandığı 5 izolatta Xpert Carba-R PCR testi ile direnç geni saptanamadı. Bu izolatların piperasilin-tazobaktama da dirençli olması OXA-48 benzeri gen varlığını düşündürdü. Bu izolatlarda gen saptanamaması Xpert Carba-R PCR testinin OXA-48 benzeri genleri tespit etmede duyarlılığının düşük olmasıyla açıklanabilir.

Azap ve arkadaşlarının 2013 yılında Başkent Üniversitesi Hastanesinde 16 *K. pneumoniae* izolatu ile yapmış oldukları bir çalışmada izolatların tamamında OXA-48 geni tespit edilmiş, KPC, IMP, VIM, NDM genlerine rastlanmamıştır [129]. Alp ve arkadaşlarının 2013 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 94 karbapenem dirençli izolat ile yapmış oldukları bir çalışmada 86 izolatta OXA-48 geni, 1 izolatta NDM-1 ile birlikte OXA-48 geni, 4 izolatta NDM-1 geni ve 3 izolatta IMP geni tespit edilmiştir [80]. Ulu ve arkadaşlarının 2014 yılında Adana'da yapmış oldukları çalışmada suşların %74,5'inde OXA-48 geni, %45,9'unda VIM geni, %20,4'ünde (n:20) NDM geni bulunmuştur [123]. Şahin ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada 43 karbapenem dirençli izolattan 7'sinde OXA-48 geni, 1'inde NDM geni bulunmuştur [131]. Demir ve arkadaşlarının 2015 yılında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 95 izolat ile yapmış oldukları bir çalışmada 49 izolatta OXA-48 geni, 6 izolatta

NDM-1 geni, 2 izolatta VIM geni tespit edilmiştir. IMP ve KPC genlerine rastlanmamıştır [132]. Kutlu ve arkadaşlarının 2015 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde 112 izolat ile yaptıkları bir çalışmada 83 izolatta (%74,1) OXA-48 geni, 9 izolatta (% 8) VIM geni, 7 izolatta (% 6,3) VIM ile birlikte OXA-48 geni, 2 izolatta (% 1,8) NDM geni tespit edilmiştir [133]. Genç ve arkadaşlarının 2016 yılında 140 karbapenem dirençli izolat ile yaptıkları bir çalışmada 129 izolatta OXA-48 geni, 10 izolatta NDM geni ve 1 izolatta VIM geni tespit edilmiştir [134]. Bizim çalışmamızda ülkemizde yapılmış olan çalışmalar ile benzer şekilde en sık rastlanan karbapenemaz geni OXA-48 (%80,8) olarak bulundu. Ellisekiz *K. pneumoniae* ve 7 *E. coli* izolatında tek başına OXA-48 geni; 6 *K. pneumoniae* izolatında NDM geni ile birlikte OXA-48 geni; 1 *K. pneumoniae* izolatında ise OXA-48, VIM ve IMP-1 genleri birlikte tespit edildi. OXA-48 üreten *K. pneumoniae* ilk defa 2003 yılında Türkiye’den bildirilmiş [89], bu tarihten sonra da başta Türkiye olmak üzere Belçika, Lübnan, İngiltere, Hindistan ve Arjantin’den bildirimler yapılmaya devam etmiştir [90]. Tekli vakalar bildirildiği gibi çeşitli salgınlar bildiren yayınlar da olmuştur, OXA-48 üreticileri Orta Doğu’dan Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika’ya yayılmaya devam etmektedir [135]. Daha sonraki yıllarda ülkemizde yine en sık OXA-48 geni tespit eden çalışmalar olmuştur [132-134]. Bu bağlamda ülkemiz, OXA-48 geninin endemik olarak bulunduğu bir ülke olarak kabul edilebilir. Çalışmamız da bunu destekler niteliktedir.

Suudi Arabistan’da, Altamimi ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada Xpert Carba-R PCR yöntemi ile 24 izolatta (%38,33) OXA-48 geni, 5 izolatta NDM geni, 1 *K. pneumoniae* izolatında VIM geni tespit edilmiştir [107].

Çalışmamızda ikinci en sık tespit edilen gen NDM (%11,2) idi. 4 izolatta (%4,5) tek başına NDM geni, 6’sında (%6,7) OXA-48 geni ile birlikte NDM geni tespit edildi. Türkiye’den ilk NDM üreticisi Enterobacteriaceae 2012 yılında bildirilmiştir. Bu ilk NDM geni Irak’tan Türkiye’deki bir hastaneye transfer olan hastadan izole edilen *K. pneumoniae* izolatında tespit edilmiştir [79]. 2013 yılında Alp ve arkadaşları NDM üreticisi 4 *K. pneumoniae* izolatı, OXA-48 ile birlikte NDM üreticisi 1 *K. pneumoniae* izolatı bildirmişler ve bu çalışma ile artık Türkiye’nin NDM üreticisi bakterilerin bulunduğu ülkeler listesine girdiğini belirtmişlerdir [80]. Sonraki yıllarda ülkemizde yapılan çalışmalar ile NDM geni tespit edilmeye devam etmiştir [132-134]. Ulu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada NDM geni oranının %20,4 olarak tespit edilmesi ülkemiz açısından endişe verici olarak nitelendirilmiştir [123]. Çalışmamızdaki NDM verileri de ülkemizdeki diğer çalışmaları desteklemektedir. NDM geni İngiltere, Hindistan, Pakistan ve Bangladeş de dahil olmak üzere birçok ülkede ağırlıklı olarak *E. coli* ve *K. pneumoniae* olmak

üzere çeşitli izolatlarda bildirilmiştir [135]. Bizim çalışmamızda da 3 *K. pneumoniae* izolatında ve 1 *E. coli* izolatında tek başına NDM geni tespit edildi. OXA-48 ve NDM genlerinin beraber bulunduğu 6 izolatın tamamı da *K. pneumoniae* idi. Bugüne kadar Hindistan, Sırbistan, Bangladeş orijinli NDM üreticisi *E. coli* suşları Avustralya, Fransa, Hindistan, Almanya ve İsveç’den bildirilmiştir [136]. Hindistan, Sırbistan, Irak, Kenya, Umman, Pakistan orijinli NDM üreticisi *K. pneumoniae* suşları Hindistan, İsveç, Irak, Kenya, Umman, Fransa’dan bildirilmiştir [136]. Ortadoğu’da da Hindistana seyahat sık olduğu için NDM yayılımı mümkündür [136]. Yine savaş gibi ülkeler arası insan geçişlerinin arttığı durumlarda NDM geni ülkeler arasında yayılabilmektedir. Lerner ve arkadaşlarının iç savaşta yaralanan Suriyeli’lerin tedavi edildikleri bir hastanede 32 karbapenem dirençli izolatla yaptıkları çalışmada 19 izolatta NDM geni, 13 izolatta OXA-48 geni tespit edilmiştir [137]. Türkiye’nin Suriye ve Irak’taki savaşlar nedeniyle en fazla göç alan ülke olması NDM oranındaki artışın nedeni olarak gösterilebilir.

Çalışmamızda farklı olarak 1 izolatta 3 gene birden rastlandı. OXA-48, VIM ve IMP-1 genleri, nöroloji yoğun bakım ünitesinde ürosepsis tanısı ile yatan hastanın idrar kültüründe üreyen *K. pneumoniae* izolatında tespit edildi. Ertapenem, imipenem ve meropenem için zon çapları sırasıyla 17, 18 ve 19 mm olarak tespit edildi. İzolatın MHT’si pozitif. KDT’de sinerji görülmedi. Temosilin dirençli olarak bulundu. İzolatın ürettiği hasta 77 yaşında, hipertansiyon ve diabetes mellitus hastası olup 2 yıl önce hemorajik serebrovasküler olay geçirmiş. Son iki yıl içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde nöroloji kliniği ve yoğun bakım ünitesinde mükerrer yatışları olan hasta ateş ve piyüri yakınması ile acil servise başvurmuş. Ürosepsis tanısı alan hastanın idrar kültüründe karbapenem dirençli *K. pneumoniae* üretti. Hastanın 10 yıl önce hac ziyareti nedeniyle Suudi Arabistan’a seyahati dışında yurt dışına çıkışı olmamış. Hac ziyaretinde geçirilmiş enfeksiyon ya da hastaneye yatış öyküsünün olmaması, hastadan izole edilen üç farklı genin yurt dışı seyahatle ilgili olmadığını düşündürdü. Hastanın yatmakta olduğu nöroloji yoğun bakım ünitesi düşük hastaların uzun süre takip ve tedavi edildiği bir klinik. Yatan hastaların arasında yurt dışından gelen hastaların da bulunması, farklı hastalardaki bakteriler arasında direnç geni aktarımları, bu hastadaki 3 farklı gen varlığını açıklayabilir.

Karbapenemaz saptanmasında CLSI Modifiye Hodge testini önermektedir [109]. KPC ve OXA-48 üreticilerini yakalamada MHT’nin duyarlılığı mükemmel olmakla birlikte, NDM, VIM ve IMP üreticilerini tespit etmede duyarlılığı düşüktür [3, 111, 138]. Us ve arkadaşları ülkemiz gibi OXA-48 üreticilerinin endemik olduğu bölgelerde MHT’nin %90’ın üzerinde duyarlılığa sahip olduğunu belirtmişlerdir [139]. Şahin ve arkadaşları bir çalışmalarında MHT ile OXA-48

pozitifliği arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir [131]. Literatürle uyumlu olarak bizim çalışmamızda da MHT ile NDM pozitifliği arasında ilişki bulunmazken MHT ile OXA-48 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulundu. OXA-48 geni saptamada MHT duyarlılığı %94 ve özgüllüğü %82 olarak tespit edilirken; NDM geni saptamada MHT duyarlılığı %90, özgüllüğü ise %22 olarak tespit edildi. Doyle ve arkadaşlarının 2012 yılında 142 karbapenem dirençli izolat ile yapmış oldukları bir çalışmada MHT, OXA-48 üreticilerini tespit etmede %93 duyarlıyken, MBL üreticilerini tespit etmedeki duyarlılığı %12 bulunmuştur [138]. Girlich ve arkadaşlarının bir çalışmasında MHT'nin NDM geni saptamada duyarlılığı %50 olarak bulunmuştur. MHT'nin düşük sensitiviteli ve zaman alıcı bir test olduğunu belirtmişlerdir [111]. Demir ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada MHT'nin NDM-1 geni saptamada yetersiz olduğu belirtilmiştir [132]. Bahsedildiği üzere NDM geni saptamada MHT'nin duyarlılığını düşük bulan çalışmalar olmakla birlikte bizim çalışmamızda olduğu gibi yüksek tespit eden çalışmalar da mevcuttur. Kutlu ve arkadaşlarının 2016 yılında Ankara'da yapmış oldukları bir çalışmada OXA-48 üreticileri için duyarlılık %96,7, VIM ve NDM üreticileri için %100 olarak tespit edilmiştir [133].

CLSI'ya göre MHT, bakteri süspansiyonu 1:10 sulandırılarak uygulanmalı iken sulandırma basamağını atlamayı öneren çalışmalar da mevcuttur [140, 141]. Kim ve arkadaşları MHT yapılırken 1:10'luk sulandırma basamağının atlanmasını önermektedir. Yaptıkları çalışma, dilüsyon basamağının testin duyarlılığında herhangi bir artışa neden olmadığını, hatta inokülüm düşük olduğu için zayıf üremelerin (özellikle NDM üreticilerinde) yalancı negatifliklere neden olabileceğini göstermiştir [140]. Lee ve arkadaşlarının bir çalışmasında, düşük inokülümün testin duyarlılığına katkı sağlamadığı gösterilmiştir [141]. 2016 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılan bir çalışmada MHT, izolatlara hem 1:10 sulandırım uygulanarak hem de atlanarak yapılmıştır. 1:10 sulandırım kullanılarak yapıldığında testin duyarlılığı %92,6, özgüllüğü ise %11,1 olarak bulunurken, sulandırma basamağı atlanınca testin duyarlılığı %96,8'e yükselmiş, özgüllüğü ise aynı kalmıştır [133]. Bizim çalışmamızda MHT 1:10 'luk sulandırma basamağı atlanarak yapıldı. Karbapenemaz üreticilerini saptamada MHT duyarlılığı %93, özgüllüğü %100 olarak bulundu. Bartolini ve arkadaşlarının İtalya'da 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada, sulandırma basamağını atlayarak yaptıkları testte MHT duyarlılığı %94, özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur [142]. Doyle ve arkadaşlarının 2012 yılında 142 karbapenem dirençli izolat ile yapmış oldukları bir çalışmada MHT duyarlılığı %61 ve özgüllüğü %93 olarak bulunmuştur [138]. Solanki ve arkadaşlarının Hindistan'da 2014 yılında yapmış oldukları bir çalışmada MHT duyarlılığı %58, özgüllüğü %93 olarak bulunmuştur. Düşük duyarlılık NDM

geninin fazla olmasına bağlanmıştır [143]. Dijk ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada MHT duyarlılığı %99, özgüllüğü %59 olarak bulunmuştur [144]. Genç ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 1:10 sulandırma ile uygulanan MHT duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %97 ve %100 olarak bulunmuştur [134]. Demir ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 1:10 sulandırma ile uygulanan MHT duyarlılığı %78.95 olarak bulunmuştur [132]. AlTamimi ve arkadaşlarının 2017 yılında yapmış oldukları bir çalışmada sulandırma basamağı olmadan uygulanmış, MHT'nin duyarlılığı %89,6, özgüllüğü %96,77 olarak bulunmuştur [107]. MHT duyarlılığı çalışmalarda epidemiyolojik verilerin değişkenliğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda OXA-48 üreticilerinin çoğunlukta olduğundan MHT duyarlılığı literatürü destekler biçimde yüksek bulundu (%93). Test karbapenemaz türünü tanımlayamadığı için epidemiyolojik açıdan yetersizdir. Aynı zamanda değerlendirmesinin subjektif olması, karbapenemaz türünü ayırt edememesi ve bazı karbapenemaz türlerinde düşük duyarlılığa sahip olması gibi dezavantajlara sahiptir. Ancak genotipik karbapenemaz tarama testleri ve maliyeti yüksek fenotipik tarama testlerini yapması mümkün olmayan laboratuvarlar için taramada kullanılacak alternatif bir testtir. Sulandırma basamağının atlanması iş yükünü azaltacağından testin uygulanabilirliğini arttıracaktır.

Us ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada karbapenemaz aktivitesini saptamada KDT'nin MHT'ye göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterdiği ve karbapenemaz tipini belirlemede PCR ile %90'ın üzerinde uyum gösterdiği belirtilmiştir [139]. KDT, karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae'yı, GSBL ya da aşırı AmpC sentezine eşlik eden porin kaybı olan karbapenem dirençli izolatlardan ayırabilmektedir. Bu yöntem ile aynı zamanda karbapenemaz tipi de ayırt edilebilmektedir [118]. Giske ve arkadaşlarının çalışmasında manuel hazırlanan disklerle yapılan test ile ticari olarak hazır alınan tabletlerle yapılan testin benzer sonuçlar gösterdiği bulunmuştur [118]. Genç ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada manuel hazırladıkları KDT ile hazır ticari KDT kitlerini karşılaştırmış; manuel KDT için duyarlılığı %85, özgüllüğü %73; hazır ticari kit ile yapılan KDT için duyarlılık ve özgüllüğü %100 bulmuşlardır [134]. Solanki ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları bir çalışmada KDT duyarlılık ve özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir [143]. Bizim çalışmamızda EDTA diski manuel olarak hazırlanırken BO, DP ve CL disklerini ticari olarak temin edildi. Çalışmamızda KDT'nin duyarlılığı %80 (61/76), özgüllüğü %85 (11/13) olarak bulundu. İzolatların 74'ünde (% 83,1) kombinasyon disk testlerinde gözlemlenen sinerji, saptanan direnç mekanizması ile uyumluydu.

Giske ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada EDTA ve DP'nin, MBL'leri tespit etmede mükemmel bir hassasiyet gösterdiği belirtilmiştir [118]. Bizim çalışmamızda da 'EDTA ile sinerji' ile NDM pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulundu. 'EDTA ile sinerji' 10 NDM üreticisinin tamamında tespit edildi. NDM geni saptamada 'EDTA ile sinerji' duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %80 olarak bulundu. Dijk ve arkadaşlarının çalışmasında 'DP ile sinerji'nin MBL'leri saptamada duyarlılığı %90, özgüllüğü %96 olarak bulunmuştur [144]. Çalışmamızda 'DP ile sinerji' 10 NDM üreticisinin 2'sinde tespit edildi. NDM geni saptamada 'DP ile sinerji'nin duyarlılığı %20 ve özgüllüğü ise %100 olarak bulundu. 'DP ile sinerji'deki düşük duyarlılığın, kombinasyon diskinin ticari kit olmasından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Giske ve arkadaşlarının çalışmasında KDT'de DP ile yanlış pozitiflik gözlenmemiş ancak EDTA'nın yanlış pozitifliklerinden dolayı özgüllüğü düşük tespit edilmiştir [118]. Çalışmamızda da 'DP ile sinerji'de yanlış pozitifliğe rastlanılmadı ancak 'EDTA ile sinerji'de yanlış pozitiflikler sık tespit edildi. Çalışmamıza göre NDM geni saptamada EDTA, DP den daha başarılı bulundu ('DP ile sinerji'nin duyarlılığı %20 olmasına rağmen 'EDTA ile sinerji'nin duyarlılığı %100'dü).

2005 yılında yapılmış bir çalışmada OXA karbapenemazlar ve 'EDTA ile sinerji'nin yanlış pozitifliği arasındaki ilişkiden bahsedilmiştir [145] ancak bu durum OXA-48 için ayrıca belirtilmemiştir. Giske ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada OXA-48 geni içeren izolatlarda EDTA ile yanlış pozitiflikler görülmüştür [118]. Bizim çalışmamızda sadece OXA-48 üreticisi olan 65 izolatın 14'ünde, 7 'GSBL ve porin kaybı birlikteliği' olan izolatın 1'inde ve 6 'AmpC ve porin kaybı birlikteliği' olan izolatın 1'inde EDTA ile sinerji yanlış pozitif olarak tespit edildi. Sonuç olarak bizim çalışmamızda da bahsi geçen literatürlerle benzer biçimde OXA-48 üreticilerinde EDTA ile yanlış pozitifliklere sık rastlanmıştır.

Giske ve arkadaşlarının çalışmasında BO'nun KPC üreticisi *K. pneumoniae*'leri saptamada yüksek hassasiyet gösterdiği tespit edilmiş, porin kaybının eşlik ettiği aşırı AmpC sentezi durumunda BO sinerjisine CL sinerjisinin eşlik edeceğini belirtilmiştir [118]. Çalışmamızda BO ile sinerji 1 OXA-48 üreticisi izolatta yanlış pozitif olarak saptandı. İki OXA-48, 1 NDM+OXA-48 üreticisinde ve gen tespit edilmeyen bir izolatta CL ile birlikte pozitif. Bu 4 izolatta BO ve CL ile sinerji AmpC varlığının fenotipik göstergesi olarak değerlendirildi. Çalışmamızda KPC geni tespit etmediğimiz için BO'nun duyarlılığını hesaplayamadık.

Bartolini ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada fenotipik karbapenemaz tayin testleri, birden fazla direnç mekanizması içeren izolatları tanımlamada başarısız bulunmuştur

[142]. Bizim çalışmamızda da OXA-48 ile birlikte NDM geni taşıyan 6 izolatin KDT'si değerlendirildiği zaman MBL taşıdıkları fenotipik olarak tespit edilebilirken OXA-48 varlığını tahmin etmek mümkün değildi. Birden fazla direnç mekanizması veya birden fazla karbapenemaz geni barındıran izolatlarda en uygun yöntemin PCR tabanlı yöntemler olduğunu düşünüyoruz.

KDT'de OXA-48 üreticileri için sinerji beklenmemektedir. Hiçbir sinerjinin gözlenmediği durumlarda yüksek düzey TEM direnci OXA-48 için fenotipik belirleyici olarak önerilmektedir [93]. Çalışmamızda 51 OXA-48 üreticisinde, OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin her üçünü tespit ettiğimiz bir izolatta ve aradığımız genlerden hiçbirini tespit etmediğimiz 11 izolatta hiçbir sinerji gözlenmedi. Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada, BD MAX multiplex PCR sistemi referans olarak alındığında OXA pozitifliğini göstermede, temosilin disk difüzyon yönteminin duyarlılığı %92 ve özgüllüğü %4,5 olarak bulunmuştur [146]. Bizim çalışmamızda Xpert Carba-R PCR referans alındığında OXA-48 geni tespit etmede temosilin direnci duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %41 olarak bulundu. Karbapenemaz direnç genlerinin tespitinde temosilin direnci duyarlılığı %100 ve özgüllüğü ise %54 olarak bulundu. Çalışmamızda sadece OXA-48 üreticisi izolatlarda değil NDM üreticisi 4 izolatta da temosilin dirençli bulundu. Sadece 5 temel gen grubunu araştırdığımız için diğer suşlarda araştırdıklarımızın dışında bir karbapenemaz geni olabilir. Bu suşlardaki temosilin direncinin buna bağlı olup olmadığının anlaşılması için daha geniş gen skalası ile ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Dijk ve arkadaşlarının bir çalışmasında 'KDT 'de hiçbir sinerji gözlenmemesi ve beraberinde temosilin direnci' olması durumu'nun OXA üreticilerini saptamada duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir [144]. Bizim çalışmamızda 'KDT 'de hiçbir sinerji gözlenmemesi ve beraberinde temosilin direnci' olması durumunun OXA-48 üreticilerini saptamada duyarlılığı %91 (51/56), özgüllüğü %58 (19/33) olarak bulundu.

EUCAST, karbapenemaz geni saptanmasını her ne kadar sadece halk sağlığı ve epidemiyolojik açıdan önerse de Mimoz ve arkadaşlarının bir çalışmasında, bazı karbapenemaz üreticilerinin karbapenemlere in vitro duyarlı bulunmalarına rağmen karbapenem içeren tedavi rejimlerinde problemler ortaya çıkabildiği görülmüştür [147]. Bu bağlamda tedavinin başarısı açısından da karbapenemaz üreticilerinin tespiti önem arz etmektedir. KÜE hemen hemen tüm beta-laktam ajanlara dirençli iken sıklıkla da kinolon, aminoglikozid ve SXT'ye de direnç göstermektedir [3]. Azap ve arkadaşlarının çalışmasında tüm *K. pneumonia* suşları amikasin ve

kolistin duyarlı olarak tespit edilmiştir [129]. Ulu ve arkadaşlarının çalışmasında karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'lerin %74,3'ü kolistin duyarlı olarak bildirilmiştir [123]. Lerner ve arkadaşlarının çalışmasında tüm karbapenem dirençli suşlar karbapenemlere ve gentamisine dirençli iken kolistin ve fosfomisine duyarlı olarak tespit edilmiştir [137]. Altamimi ve arkadaşlarının çalışmasında amikasin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin, sefepim, sefotaksim, seftazidim, siprofloksasin, sefuroksim, gentamisin, piperasilin/tazobaktam ve trimetoprim/sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir. Direnç oranları karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları için sırasıyla %45,8, %100, %100, %83,3, %87,7, %87,7, %95,8, %75, %95,8 ve %62,5 olarak; *E. coli* izolatları için sırasıyla %0, %60, %100, %100, %100, %100, %100, %100, %40, %40, %40 olarak tespit edilmiştir [107]. Çalışmamızda Phoenix100 otomatize sistemine göre belirlenen duyarlılık-direnç profillerine göre karbapenemlerden en dirençli antibiyotik %95,5 oranı ile ertapenem olarak tespit edildi. Aminoglikozidlerden %71,9 oranı ile gentamisin, sefalosporinlerden %96,6 oranı ile seftazidim ve seftriakson, kinolonlardan %97,8 oranı ile norfloksasin ve moksifloksasin, monobaktam olarak da %97,8 oranı ile aztreonam en dirençli antibiyotikler olarak belirlendi. KDE izolatlarının %95,5'i ertapenem dirençli; %69,7'si meropenem dirençli; %38,2'si imipenem dirençli idi. Literatüre benzer şekilde bizim çalışmamızda da en duyarlı antibiyotik kolistin (%57,3) olarak belirlendi. İzolatların %50,6'sı amikasine duyarlıydı. Üçüncü en duyarlı antibiyotik SXT (%30,3) olarak belirlendi. İdrar örnekleri için ise fosfomisin %76 duyarlılık oranı ile en duyarlı antibiyotik iken, sefiksim %100 direnç oranı ile en dirençli antibiyotik olarak belirlendi. Bu yönüyle çalışmamızın klinisyenlere antibiyotik seçimi konusunda yol gösterici olacağını düşünüyoruz.

KDT'deki inhibisyon testlerinden hiçbiri OXA-48 / OXA-181 üreticilerinin tespiti için uygun değildir, çünkü bu enzimlerin aktivitesi klavulanik asit, tazobaktam, sulbaktam veya herhangi bir çinko şelatörü tarafından inhibe edilmemektedir. Temosilin ve piperasilin-tazobaktam'ın her ikisine birden yüksek düzey direnç gösteren bir Enterobacteriaceae'da karbapenemlerden en az birine azalmış duyarlılık veya direnç görülmesi olası OXA-48 üreticilerinin tanımlanmasına yönelik ilk adım olarak kullanılabilir [42, 89, 91]. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak tüm OXA-48 üreticilerinde ertapeneme azalmış duyarlılık ya da direnç, temosilin ve piperasilin-tazobaktama direnç tespit edildi. OXA-48 üreticilerini öngörmede ertapenem direncinin, temosilin ve piperasilin-tazobaktam dirençleri ile birlikte kullanılması halinde duyarlılık %100, özgüllük %59 olarak bulundu.

BD Phoenix sistemi, karbapenemaz üreticilerini tanımlamak için Xpert Carba-R PCR ile % 86 uyumlu bulundu.

Literatürde karbapenem dirençli Enterobacteriaceae'larda kolistin gradient difüzyon testinin yapılıp, mcr-1 geninin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur [148]. Çalışmamızdaki kolistin dirençli KDE'lerde gradient difüzyon test ile MİK değeri bakılıp, mcr-1 geni araştırılmasını bütçemizin kısıtlılığından dolayı yapamadık. Kolistin dirençli KDE'lerde kolistin gradient difüzyon test ile doğrulama yapılmasını ve moleküler yöntemlerle mcr-1 geni araştırılmasını öneriyoruz.

Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae'larda florokinolon ve aminoglikozid direnç genlerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır [149]. Kinolon ya da aminoglikozid dirençli KDE'lerde direnç genlerinin çalışılmasını öneriyoruz.

6. SONUÇLAR

1. *K.pneumoniae* izolatlarında antibiyotik direnç oranları *E. coli* izolatlarına göre daha yüksek bulundu.
2. Sonuçlarımız, ertapenem diskinin karbapenemazları yakalamada iyi bir tercih olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda EUCAST'ın karbapenemaz taraması için belirlediği yüksek eşik değerlerin de gerekliliğini göstermiştir.
3. Karbapenemaz saptamada en iyi yöntem moleküler yöntemlerdir.
4. Çalışmamızda MHT duyarlılığı, KDT'e göre daha yüksek bulundu. Moleküler yöntemlerin kullanılmadığı laboratuvarlarda karbapenemaz varlığını öngörmek için MHT; karbapenemaz tipini öngörmek için KDT kullanılabilir. Ülkemiz OXA-48 geninin endemik olduğu bir ülke olduğundan, ülkemizde karbapenemaz taranmasında MHT kullanılabilir.
5. Ülkemizde yapılmış olan çalışmalar ile benzer şekilde en sık rastlanan karbapenemaz geni OXA-48 (%80,8) olarak bulundu. İkinci en sık tespit edilen gen NDM (%11,2) idi. Çalışmamızda literatürden farklı olarak 1 suşta OXA-48, VIM ve IMP-1 genlerinin üçüne birden rastlandı.
6. Karbapenemlere duyarlı olup karbapenemaz geni saptanan izolatlarda tedavi sırasında gelişebilecek potansiyel karbapenem direncini önlemek için kombinasyon tedavisi kullanılmalıdır. En düşük direnç oranları kolistin ve amikasinine ait olup kolistin ya da amikasin, tedavi protokollerinde tercih edilebilecek

ajanlar olarak ön plana çıkmaktadır. Bu yönüyle çalışmamızın klinisyenlere antibiyotik seçimi konusunda yol gösterici olacağını düşünüyoruz.

7. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak tüm OXA-48 üreticilerinde ertapeneme azalmış duyarlılık ya da direnç, temosilin ve piperasilin-tazobaktama direnç tespit edildi. Bu direnç profilinin OXA-48 üreticilerini tahmin etmede kullanılabileceğini düşünüyoruz. Düşük özgüllüğünden dolayı temosilin disk testinin OXA-48 üreticilerini saptamada tek başına yeterli olmadığını düşünüyoruz.
8. Xpert Carba-R PCR testi ile sadece belli gen gruplarına bakılmış olması, çalışmamızın kısıtlılığı idi. Karbapenem direnci olan ancak KDT’de hiçbir sinerjinin görülmediği izolatlarda, başka karbapenemaz genlerinin varlığı açısından ileri incelemelere ihtiyaç duyulmaktadır.
9. Kolistin dirençli KDE izolatlarında mcr-1 geni; kinolon dirençli KDE’lerde ise ilgili antibiyotik direnç genlerinin araştırılmasını öneriyoruz.

KAYNAKLAR

1. Temkin, E., et al., Carbapenem resistant Enterobacteriaceae: biology, epidemiology, and management. Annals of the New York Academy of Sciences, 2014; 1323(1):22-42.
2. Queenan, A.M. and K. Bush, Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev, 2007; 20(3): 440-58.
3. Nordmann, P., T. Naas, and L. Poirel, Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae . Emerg Infect Dis, 2011; **17**(10): 1791-8.
4. Testing, E.C.o.A.S., EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. EUCAST, Basel, Switzerland: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints, 2013.
5. Cantón, R., et al., Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clinical Microbiology and Infection, 2012; 18(5): 413-31.
6. Tzouvelekis, L., et al., Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. Clinical microbiology reviews, 2012; 25(4): 682-707.
7. Bennett, J.E., R. Dolin, and M.J. Blaser, Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Elsevier Health Sciences 2014; 2508-2514.
8. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin Tanımlanması ve AMD Testleri. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. AMD-MT-04. Sürüm no:1.0, 2014; 4.
9. Carroll, K.C., Butel, J.S., and Morse, S.A., Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology, McGraw Hill Professional 26 E. 2015; 235,375-377
10. Procop, G.W., Church, D.L., Koneman, E.W., Hall, G.S., Janda, W.M., Woods, G.L., Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Seventh Edition. 2017; 269-271
11. Somer, A., Antibiyotiklerde direnç sorunu. Turkish Pediatrics Archive/Türk Pediatri Arşivi, 2010; 45-6.
12. Gülay, Z., Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Beta-laktamlara ve Karbapenemlere direnç. Hastane İnfek. Derg., 2001; 5: 210-29.

13. Kattan, J., M. Villegas, and J. Quinn, New developments in carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008; 14(12): 1102-11.
14. Demirtürk, N. and T. Demirdal, Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2004; 5(2): 19
15. Lupski, J.R., Molecular mechanisms for transposition of drug-resistance genes and other movable genetic elements. *Review of Infectious Diseases*, 1987; 9(2): 357-68.
16. Page, M.G., Beta-lactam antibiotics, in *Antibiotic Discovery and Development* Springer 2012; 79-117.
17. Tille, P., *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. Elsevier Health Sciences, 2015; 307-29
18. Gür, D., Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *Hastane infeksiyonları dergisi*, 1997; 1: 38-9.
19. Chen, H., M. Yuan, and D. Livermore, Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics amongst *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected in the UK in 1993. *Journal of medical microbiology*, 1995; 43(4): 300-9.
20. Spratt, B., Resistance to β -lactam antibiotics mediated by alterations of penicillin-binding proteins, in *Microbial resistance to drugs* Springer, 1989; 77-100.
21. Sanders, C.C., β -Lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clinical infectious diseases*, 1992; 14(5): 1089-99.
22. Babic, M., A.M. Hujer, and R.A. Bonomo, What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug resistance updates*, 2006; 9(3): 142-56.
23. Webber, M. and L. Piddock, The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003; 51(1): 9-11.
24. Bradford, P.A., Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 2001; 14(4): 933-51.
25. Comaglia, G., A. Mazzariol, and R. Fontana, The astonishing complexity of antibiotic resistance. *Clinical microbiology and infection*, 2000; 6: 93-4.
26. Bush, K., G.A. Jacoby, and A.A. Medeiros, A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1995; 39(6): 1211-2.
27. Papp-Wallace, K.M., et al., Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011; 55(11): 4943-60.
28. Jacoby, G.A. and L.S. Munoz-Price, The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 2005; 352(4): 380-91.

29. Zhanel, G.G., et al., Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 2007; 67(7):1027-52.
30. Bassetti, M., et al., Current status of newer carbapenems. *Current medicinal chemistry*, 2009; 16(5): 564-75.
31. Butterworth, D., et al., Olivanic acids, a family of beta-lactam antibiotics with beta-lactamase inhibitory properties produced by *Streptomyces* species. I. Detection, properties and fermentation studies. *J Antibiot (Tokyo)*, 1979; 32(4): 287-94.
32. Kahan, J., et al., Thienamycin, a new β -lactam antibiotic I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *The Journal of antibiotics*, 1979; 32(1): 1-12.
33. Queenan, A.M., et al., Hydrolysis and inhibition profiles of β -lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2010; 54(1): 565-9.
34. Shah, P., Parenteral carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008; 14(1): 175-80.
35. Keating, G.M. and C.M. Perry, Ertapenem. *Drugs*, 2005; 65(15): 2151-78.
36. Basoli, A., et al., Imipenem/cilastatin (1.5 g daily) versus meropenem (3.0 g daily) in patients with intra-abdominal infections: results of a prospective, randomized, multicentre trial. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 1997; 29(5): 503-8.
37. Edwards, J., Meropenem: a microbiological overview. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1995; 36(suppl A): 1-17.
38. White, R., et al., Comparative in vitro pharmacodynamics of imipenem and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1996; 40(4): 904-8.
39. Başaran, S. and V. Korten, Doripenem: Klinik uygulamada yeni bir karbapenem. *Klinik Derg*, 2010; 23(1): 2-5.
40. Chen, L.-r., et al., Combination of IMP-4 metallo- β -lactamase production and porin deficiency causes carbapenem resistance in a *Klebsiella oxytoca* clinical isolate. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 2009; 65(2): 163-7.
41. Farra, A., et al., Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem. *International journal of antimicrobial agents*, 2008; 31(5): 427-33.
42. Poirel, L., A. Potron, and P. Nordmann, OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012; 67(7): 1597-606.

43. Naas, T. and P. Nordmann, Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994; 91(16): 7693-7.
44. Watanabe, M., et al., Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1991; 35(1): 147-51.
45. Ito, H., et al., Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1995; 39(4): 824-9.
46. Yigit, H., et al., Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2001; 45(4): 1151-61.
47. Patel, J.B., J.K. Rasheed, and B. Kitchel, Carbapenemases in Enterobacteriaceae : activity, epidemiology, and laboratory detection. Clinical Microbiology Newsletter, 2009; 31(8): 55-62.
48. Bratu, S., et al., Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005; 56(1): 128-32.
49. Livermore, D.M., et al., What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae ? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. International journal of antimicrobial agents, 2011; 37(5): 415-9.
50. Kang, C.-I., et al., Risk factors for and clinical outcomes of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2004; 25(10): 860-7.
51. Miriagou, V., et al., Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. Clinical microbiology and infection, 2010; 16(2):112-22.
52. Kılıç, Ü., T. Demiray, and M. Altındış, Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Fenotipik Ve Genotipik Metotlar. Ankem Derg, 2016; 30(2): 62-75.
53. Ambler, R., et al., A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. Biochemical Journal, 1991; 276(Pt 1): 269-70.
54. Nordmann, P., L. Dortet, and L. Poirel, Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae : here is the storm! Trends in molecular medicine, 2012; 18(5): 263-72.

55. Bratu, S., et al., Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Archives of internal medicine*, 2005; 165(12): 1430-5.
56. Kitchel, B., et al., Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2009; 53(8): 3365-70.
57. Munoz-Price, L.S., et al., Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet infectious diseases*, 2013; 13(9): 785-96.
58. Maltezou, H., et al., Outbreak of infections due to KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Crete (Greece). *Journal of Infection*, 2009; 58(3): 213-9.
59. Samra, Z., et al., Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel. *International journal of antimicrobial agents*, 2007; 30(6): 525-9.
60. Leavitt, A., et al., Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2007; 51(8): 3026-9.
61. Labarca, J., et al., KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New microbes and new infections*, 2014; 2(2): 50-1.
62. Bogdanovich, T., et al., Colistin-Resistant, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)–Producing *Klebsiella pneumoniae* Belonging to the International Epidemic Clone ST258. *Clinical infectious diseases*, 2011; 53(4): 373-6.
63. Walsh, T., The emergence and implications of metallo- β -lactamases in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology and infection*, 2005; 11(6): 2-9.
64. Bush, K. and G.A. Jacoby, Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2010; 54(3): 969-76.
65. Saino, Y., et al., Purification and properties of inducible penicillin beta-lactamase isolated from *Pseudomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1982; 22(4): 564-70.
66. Kuwabara, S. and E. Abraham, Some properties of two cell-bound beta-lactamases from *Bacillus cereus* 569-H. *Biochemical Journal*, 1969; 115(4): 859-60.
67. Lauretti, L., et al., Cloning and characterization of bla VIM, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999; 43(7): 1584-90.

68. Lolans, K., et al., First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo- β -lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2005; 49(8): 3538-40.
69. Control, C.f.D. and Prevention, Update: detection of a verona integron-encoded metallo-beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*-United States, *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 2010; 59(37): 1212-3.
70. Midilli, K., G. Aygün, and M. Kuskucu. A new variant of metallo-beta-lactamase detected in a *Klebsiella pneumoniae* strain: VIM-5. in *KLIMIK Congress, Istanbul, Turkey*, Abstract 2003; 21-2.
71. Bahar, G., et al., Detection of VIM-5 metallo- β -lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004; 54(1): 282-3.
72. Yildirim, I., et al., First detection of VIM-1 type metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate from Turkey also producing the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*, 2007; 19(4): 467-8.
73. Aktas, Z., et al., First IMP-1 producing *Klebsiella pneumoniae* isolate in Turkey. *Clinical Microbiology and Infection*, 2006; 12(7): 695-6.
74. Aktas, Z., et al., Carbapenem resistance in Turkey: Repeat report on OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* and first report on IMP-1 beta-lactamase in *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research*, 2012; 6(17): 3874-8.
75. Yong, D., et al., Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2009; 53(12): 5046-54.
76. Kumarasamy, K.K., et al., Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, 2010; 10(9): 597-602.
77. Berrazeg, M., et al., New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google Maps. *Euro Surveill*, 2014; 19(20): 20809-10.
78. Livermore, D.M., et al., Balkan NDM-1: escape or transplant. *Lancet Infect Dis*, 2011; 11(3): 164-5.
79. Poirel, L., et al., NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2012; 56(5): 2784-5.

- 80.** Alp, E., et al., Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary university hospital in Turkey. *Journal of Hospital Infection*, 2013; 84(2): 178-80.
- 81.** Castanheira, M., et al., Molecular characterization of a β -lactamase gene, blaGIM-1, encoding a new subclass of metallo- β -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2004; 48(12): 4654-61.
- 82.** Lee, K., et al., Novel acquired metallo- β -lactamase gene, blaSIM-1, in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2005; 49(11): 4485-91.
- 83.** Toleman, M.A., et al., Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2002; 50(5): 673-9.
- 84.** Walther-Rasmussen, J. and N. Høiby, OXA-type carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006; 57(3): 373-83.
- 85.** Poirel, L., T. Naas, and P. Nordmann, Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2010; 54(1): 24-38.
- 86.** Paton, R., et al., ARI 1: β -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents*, 1993; 2(2): 81-7.
- 87.** Donald, H.M., et al., Sequence Analysis of ARI-1, a Novel OXA β -lactamase, Responsible for Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2000; 44(1): 196-9.
- 88.** Afzal-Shah, M. and D. Livermore, Worldwide emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1998; 41(5): 576-7.
- 89.** Poirel, L., et al., Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2004; 48(1): 15-22.
- 90.** Carrère, A., et al., Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2010; 54(3): 1369-73.
- 91.** Nordmann, P., et al., Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012; 18(5): 432-8.
- 92.** Pitout, J.D. and K.B. Laupland, Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae : an emerging public-health concern. *The Lancet infectious diseases*, 2008; 8(3): 159-66.
- 93.** Giske, C.G., et al., EUCAST Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu. V 1.0; Temmuz 2013; 3-21

94. Paterson, D.L. and R.A. Bonomo, Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*, 2005; 18(4): 657-86.
95. Pitout, J.D., Infections with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae . *Drugs*, 2010; 70(3): 313-33.
96. Pitout, J.D., et al., Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005; 56(1): 52-9.
97. Tsakris, A., et al., Use of boronic acid disk tests to detect extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of KPC carbapenemase-possessing Enterobacteriaceae . *Journal of clinical microbiology*, 2009; 47(11): 3420-6.
98. Naas, T., L. Poirel, and P. Nordmann, Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clinical microbiology and infection*, 2008; 14(1): 42-52.
99. Drioux, L., et al., Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae : review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008; 14(1): 90-103.
100. Jacoby, G.A., AmpC β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 2009; 22(1): 161-82.
101. Hauser, A.R., *Antibiotic basics for clinicians: Choosing the right antibacterial agent*. Lippincott Williams & Wilkins. 2007; 36-7
102. Pitout, J.D., C.C. Sanders, and W.E. Sanders, Antimicrobial resistance with focus on β -lactam resistance in gram-negative bacilli. *The American journal of medicine*, 1997; 103(1): 51-9.
103. Bauernfeind, A., et al., A novel type of AmpC β -lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1999; 43(8): 1924-31.
104. Andriole, V.T., The quinolones: past, present, and future. *Clinical infectious diseases*, 2005; 41(Supplement 2): 113-9.
105. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.0, 2017. <http://www.eucast.org>
106. Stein, A. and D. Raoult, Colistin: an antimicrobial for the 21st century? *Clinical infectious diseases*, 2002; 35(7): 901-2.
107. AlTamimi, M., et al., Comparison of phenotypic and PCR methods for detection of carbapenemases production by Enterobacteriaceae. *Saudi J Biol Sci*, 2017; 24(1): 155-61.

108. Stuart, J.C. and M.A. Leverstein-Van Hall, Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. International journal of antimicrobial agents, 2010; 36(3): 205-10.
109. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013; 44-57.
110. Lee, K., et al., Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clinical microbiology and infection, 2001; 7(2): 88-91.
111. Girlich, D., L. Poirel, and P. Nordmann, Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. Journal of clinical microbiology, 2012; 50(2): 477-9.
112. Hammoudi, D., C.A. Moubareck, and D.K. Sarkis, How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. Journal of microbiological methods, 2014; 107: 106-18.
113. Nordmann, P. and L. Poirel, Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013; 68(3): 487-9.
114. Nordmann, P., L. Poirel, and L. Dortet, Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging infectious diseases, 2012; 18(9): 1503-4.
115. Dortet, L., L. Poirel, and P. Nordmann, Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas spp.* by using a biochemical test. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2012; 56(12): 6437-40.
116. Findlay, J., et al., Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015; 70(5): 1338-42.
117. Tenover, F.C., et al., Detection of colonization by carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in patients by use of the Xpert MDRO assay. Journal of clinical microbiology, 2013; 51(11): 3780-7.
118. Giske, C., et al., A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo- β -lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clinical microbiology and infection, 2011; 17(4): 552-6.
119. Korten, V., et al., Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007; 59(4): 453-7.

120. Gur, D., et al., Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother*, 2009; 21(4): 383-9.
121. Alp, E., et al., Changing pattern of antibiotic susceptibility in intensive care units: ten years experience of a university hospital. *Anaerobe*, 2011; 17(6): 422-5.
122. Guclu, E., et al., Antibiotic consumption in Turkish hospitals; a multi-centre point prevalence study. *J Chemother*, 2017; 29(1): 19-24.
123. Ulu, A.C., et al., Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* at a Turkish Center: Is the Increase of Resistance a Threat for Europe? *J Glob Antimicrob Resist*, 2017; <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.06.012>
124. Gözütok, F., Et Al., Kayseri Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi'nde 2013 Yılında Gelişen Hastane İnfeksiyonlarının Değerlendirilmesi. *Ankem Derg*, 2014; 28(3): 86-93.
125. Cienfuegos-Gallet, A.V., et al., Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Mediated by Chromosomal Integration of Plasmid DNA. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017; 61(8): July 25;61(8). pii: e00404-17. doi: 10.1128/AAC.00404-17. Print 2017 Aug.
126. Singh, S.K., et al., Antibiotic resistance determinants and clonal relationships among multidrug-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Pathog*, 2017; 110: 31-6.
127. Tolun, V., et al., Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clin Microbiol Infect*, 2004; 10(1): 72-5.
128. Buruk, C.K., et al., [Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance genes in quinolone-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. isolates from bloodstream infections]. *Mikrobiyol Bul*, 2016; 50(2): 186-95.
129. Azap, Ö., et al., Detection of OXA-48-like carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care center in Turkey: molecular characterization and epidemiology. *Balkan medical journal*, 2013; 30(2): 259-60.
130. Gülmez, D., et al., Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *International journal of antimicrobial agents*, 2008; 31(6): 523-6.
131. Sahin, K., et al., Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 2015; 14(1): 44-5.

132. Demir, Y., Y. Zer, and I. Karaoglan, Investigation of VIM, IMP, NDM-1, KPC and OXA-48 enzymes in Enterobacteriaceae strains. Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 2015; 28-9.
133. Kutlu, H.H., Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Enterik Bakterilerde Karbapenemaz Varlığının ve Tiplerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D., Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2015;123-4
134. Genc, O., E. Aksu, and A. Gulcan, The identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae by using molecular assay and phenotyping confirmation tests. Journal of microbiological methods, 2016; 125: 8-11.
135. Kilic, A. and M. Baysallar, The first *Klebsiella pneumoniae* isolate co-producing OXA-48 and NDM-1 in Turkey. Annals of laboratory medicine, 2015; 35(3): 382-3.
136. Poirel, L., et al., Genetic features of blaNDM-1-positive Enterobacteriaceae . Antimicrobial agents and chemotherapy, 2011; 55(11): 5403-7.
137. Lerner, A., et al., Detection and characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in wounded Syrian patients admitted to hospitals in northern Israel. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016; 35(1): 149-54.
138. Doyle, D., et al., Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. Journal of clinical microbiology, 2012; 50(12): 3877-80.
139. Us, E., H.H. Kutlu, and A. Tekeli, Karbapenemaz Üreticisi Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Modifiye Hodge Testi ile İnhibitör Tabanlı Testlerin Karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 2016; 69 (3):153-6
140. Kim, H.-K., et al., Further modification of the modified Hodge test for detecting metallo- β -lactamase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae . Annals of laboratory medicine, 2015; 35(3): 298-305.
141. Lee, K., et al., Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. Journal of microbiological methods, 2010; 83(2): 149-52.
142. Bartolini, A., et al., Comparison of phenotypic methods for the detection of carbapenem non-susceptible Enterobacteriaceae . Gut pathogens, 2014; 6(1): 13-4.
143. Solanki, R., et al., Comparative Evaluation of Multiplex PCR and Routine Laboratory Phenotypic Methods for Detection of Carbapenemases among Gram Negative Bacilli. J Clin Diagn Res, 2014; 8(12): 23-4.

144. Dijk, K., et al., A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid and temocillin. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014; 20(4): 345-6.
145. Segal, H. and B.G. Elisha, Use of Etest MBL strips for the detection of carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005; 56(3): 598-9.
146. Ciftci, E., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarındaki Karbapenemaz Varlığının Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Tıpta Uzmanlık Tezi, Isparta, 2015; 71
147. Mimos, O., et al., Broad-spectrum β -lactam antibiotics for treating experimental peritonitis in mice due to *Klebsiella pneumoniae* producing the carbapenemase OXA-48. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2012; 56(5): 2759-60.
148. Chew K.L., La MV, Lin RTP, Teo JWP. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr-positive Enterobacteriaceae: Comparison of Sensititre, Microscan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. *Clin Microbiol*, 2017 Jun 7. pii: JCM.00268-17. doi: 10.1128/JCM.00268-17.
149. Zhao Z., Lan F., Liu M., Chen W., Huang L., Lin Q., Li B. Evaluation of automated systems for aminoglycosides and fluoroquinolones susceptibility testing for Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: *Antimicrob Resist Infect Control.*, 2017; 6:77-8.