

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA
VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2015-2017 YILLARINDA İZOLE EDİLEN
KARBAPENEM DİRENÇLİ *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA*
PNEUMONIAE İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

GÜLHAN AVCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. FÜSUN CÖMERT

ZONGULDAK

2019

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA
VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2015-2017 YILLARINDA İZOLE EDİLEN
KARBAPENEM DİRENÇLİ *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA
PNEUMONIAE* İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gülhan AVCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Füsün CÖMERT

ZONGULDAK
2019

KABUL VE ONAY:

“ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2015-2017 YILLARINDA İZOLE EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ *ESCHERİCHİA COLİ* VE *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

29.05.2019

Başkan: Prof. Dr. Prof. Dr. Füsun CÖMERT



Üye: Prof. Dr. Canan KÜLAH



Üye: Prof. Dr. Cihadiye Elif ÖZTÜRK



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TARİH: 29.05.2019

Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



ÖZET

Gülhan AVCI, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezinde 2015-2017 Yıllarında İzole Edilen Karbapenem Dirençli *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarının Değerlendirilmesi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2019.

Amaç: Bu çalışmada, Temmuz 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında laboratuvarımızda elde edilen karbapenem dirençli *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının incelenmesi, bu izolatların elde edildiği hastaların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: İzolat bilgileri ve hastaların demografik özellikleri hastane bilgi işletim sisteminden yararlanılarak belirlendi. Bakteri tanımlaması konvansiyonel yöntemler ve gerektiğinde otomatize sistem kullanılarak, antimikrobiyal duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ve/veya tam otomatize sistem kullanılarak yapıldı. İmipenem ve/veya meropenem duyarlılık doğrulaması için gerek duyulduğunda gradiyent test uygulandı. İzolatların epidemiyolojik analizi için Arbitrarily primed PZR (AP-PZR) yöntemi uygulandı. Bakterilerde karbapenemaz enzim tipleri PCR ile gösterildi.

Bulgular: Belirtilen tarihler arasında değerlendirilen 4354 izolat (%70,9 *E. coli*, %29 *Klebsiella* spp.) karbapenem direnci % 2,8 (% 93,4 *Klebsiella* spp.), *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında ise sırasıyla %0,25 ve %9 bulundu. İzolatlarda imipenem ve meropenem direnci sırasıyla %30,5 ve %84,61 idi. Bakterilerin elde edildiği hastaların yaşlarının 5-94 (Mean 63 ve SD±17), erkek/kadın oranının 56/41 olduğu belirlendi. Hastaların %39'u yoğun bakım, %16'sı hematoloji-onkoloji ve gerisi muhtelif servislerde tedavi almıştı. Hastalarda altta yatan hastalık olarak kanser (%36,6), diabetes mellitus (%28,7), yüksek tansiyon (%19) ve KOAH (%11) bulunduğu, %41,23'ünün tedavi sırasında öldüğü belirlendi. Hastaların %44'ü üç veya daha fazla grup antibiyotik tedavisi aldığı gözlemlendi.

Karbapenem dirençli izolatların AP-PCR ile kümeleşme oranı oldukça yüksek olarak bulundu. Benzerlik gösteren 21 farklı kümeden seçilen temsili 32 izolata en sık görülen karbapenemaz gen bölgeleri araştırıldı. Çalışılan izolatların biri dışında tümünde OXA-48 enzimi belirlendi.

Sonuç: Bölgemizde *E. coli* ve *Klebsiella* spp. için karbapenem direnci sırasıyla %0,25 ve %9 bulunmuştur. İzolatların elde edildiği hastaların genel olarak ileri yaşlı, altta

yatan ciddi hastalığı bulunan ve daha önce hastane yatış ve birden fazla antibiyotik grubu kullanım öyküsü olan hastalar olduğu gözlenmiştir. İzolatlarımızda OXA-48 enziminin bulunduğu belirlenmiştir. İzolatlarda belirlenen yüksek kümeleşme oranı enfeksiyon kontrol önlemlerinin önemine dikkat çekmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enterobacteriaceae*, karbapenem direnci, karbapenemaz



ABSTRACT

Gülhan AVCI, Evaluation of carbapenem-resistant *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates isolated at Zonguldak Bülent Ecevit University Health Application and Research Center between 2015 and 2017, Zonguldak Bülent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Microbiology, M.Sc. Thesis, Zonguldak, 2019

Aim: The aims of this study is to investigate the carbapenem resistant *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates and to evaluate the patients from whom these isolates were obtained in our laboratory between July 2015-December 2017.

Method: The isolate information and demographic characteristics of the patients were determined using the hospital information operating system. Bacterial identification was made by conventional methods and automated system when necessary, and antimicrobial susceptibility tests were performed using Kirby-Bauer disc diffusion method and/or full automatized bacterial identification system. Gradient test was performed to confirmation of imipenem and/or meropenem susceptibility when necessary. Arbitrarily primed PCR (AP-PCR) method was applied for epidemiological analysis of the isolates. PCR was used for determination carbapenemase enzyme types.

Results: Carbapenem resistance was found to be 2,8% (93,4% *Klebsiella* spp.) in 4354 (70,9% *E. coli*, 29% *Klebsiella* spp.) isolates examined within the specified dates and this resistance was found to be 0,25% and 9% in *E. coli* and *Klebsiella* spp isolates respectively. The imipenem and meropenem resistance of the isolates were 30,5% and 84,61%, respectively. The age of the patients from whom the bacteria were obtained was 5-94 years old (Mean 63 and SD $\pm$ 17), the male/female ratio was 56/41. Of the patients, 39% was intensive care unite, patient, while 16% of them received treatment in hematology-oncology unites and the rest of them received treatment in various services. The underlying diseases of the patients were cancer (36.6%), diabetes mellitus (28,7%), high blood pressure (19%) and COPD (11%), and 41,23% of the patients died during their treatment. It was observed that 44% of the patients received three or more groups of antibiotics.

The clustering rate of carbapenem resistant isolates with AP-PCR was found to be quite high. The most common carbapenemase gene regions were investigated in 32 isolates selected from 21 different clusters showing similarity. Except one of the isolates which was evaluated, OXA-48 enzyme was found in all.

Conclusion: Carbapenem resistance for *E. coli* and *Klebsiella* spp was found to be 0,25% and 9%, respectively in our region. Patients that the isolates were obtained were generally old, had an underlying disease, history of hospitalization and used more than one group of antibiotics. OXA-48 enzyme was found in our isolates. The high clustering rate of the isolates highlighted the importance of infection control measures.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, carbapenem resistance, carbapenemase



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren her aşamasında engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, yardımı, hoşgörüsü, sevgisi ve sonsuz sabrı ile daima bana destek olan ve idealist kişiliğiyle her zaman örnek aldığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli öğretmenim ve tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Füsün CÖMERT'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Eğitimim süresince başta bilimsel fikir ve düşünceleri olmak üzere, bana her konuda yardımcı olan değerli hocalarım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Canan KÜLAH, İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. İshak Özer TEKİN ve İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet ARASLI ve Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı Dr. Nilüfer UĞUR ÖZLÜK'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tezimde değerlendirdiğim izolatların epidemiyolojik analizi ve yorumları konusundaki yardımları ile bana büyük destek sağlayan saygıdeğer Prof. Dr. Barış OTLU hocama teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel analiz ve yorumlama aşamalarında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocam Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Füzuan Köktürk'e teşekkür sunarım.

Eğitimim süresince, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan, bilgilerini, güler yüz ve samimiyetlerini esirgemeyen tüm mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca hayatım boyunca bana emeği geçen tüm aile bireylerine, dualarıyla hep yanımda olan sevgili annem Tevrat AVCI'ya ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayıp sonsuz sevgi ve şefkat duygusuyla desteğini hep hissettiren sevgili abim Subay AVCI'ya sonsuz şükranlarımı sunarım.

Ve son olarak unutulmaz yardımları, neşesi, güler yüzü ve dostluğu için Sn. Kübra ŞENTÜRK'e ve onun harika öğrencilerine teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY:.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİL DİZİNİ	xv
TABLO DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karbapenemler	2
2.2. İmipenem.....	2
2.3. Meropenem	3
2.4. Ertapenem	4
2.5. Doripenem.....	5
2.6. Tebipenem.....	5
2.7. Faropenem.....	6
2.8. Biapenem.....	6
2.9. Panipenem	7
2.10. Razupenem.....	8
2.11. Tomopenem.....	9
2.12. Sanfetrinem	9
2.13. Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae Epidemiyolojisi	10
2.14. Karbapenem Direnç Mekanizmaları	12
2.14.1. Dış Zar Proteinleri.....	12
2.14.2. Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimler (Karbapenemazlar).....	13
2.15. Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenemaz Üretiminin saptanması İçin Önerilen Yöntemler.....	17
2.15.1. Kombinasyon Disk Testleri.....	18
2.15.2. Modifie Hodge Testi	19
2.15.3. Biyokimyasal (kolorimetrik) Testler.....	20
2.15.4. Karbapenem Hidrolizinin MALDI-TOF ile Saptanması	22

2.15.5. Lateral Akım Yöntemleri	22
2.15.6. Moleküler Yöntemleri.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Demografik Özellikler ve Çalışma Yeri (Popülasyonu)	24
3.2. Hastalara Ait Demografik Veri Toplanması	24
3.3. Bakterilerin Tanımlanması.....	24
3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	25
3.5. Karbapenemaz Varlığının CİM Testi ile Gösterilmesi	25
3.6. İzolatların Epidemiyolojik Analizi.....	25
3.6.1. Bakteri DNA izolasyonu	26
3.6.2. Bakteri DNA'sının çoğaltılması (Amplifikasyon).....	27
3.6.3. Amplifikasyon koşulları.....	27
3.6.4. Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesi	28
3.6.5. Amplifikasyon ürünlerinin benzerliklerinin değerlendirilmesi.....	28
3.7. Karbapenem Direnç Genlerinin Araştırılması	29
3.7.1. DNA izolasyonu.....	29
3.7.2. Bakteri DNA'sının çoğaltılması (Amplifikasyon).....	29
3.7.3. Amplifikasyon koşulları.....	30
3.7.4. Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesi	31
3.8. İstatistiksel analiz	31
4. BULGULAR	32
4.1. İzolat Özellikleri.....	32
4.2. Antibiyotik Özellikleri	33
4.3. Hastaların Demografik Özellikleri ve Risk Faktörleri	34
4.4. Karbapenemaz Varlığının CİM Testi ile Gösterilmesi	36
4.5. İzolatların Moleküler Epidemiyolojisi	36
4.6. Karbapenem Dirençli Türlerin Enzim Tipleri.....	42
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	52
8. EKLER.....	64
Ek 1: Etik Kurul Onayı	64
9. ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

µg	: Mikrogram
L	: Litre
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
mg	: Miligram
mm	: Milimetre

KISALTMALAR

AP-PCR	: Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
BHIB	: Brain Heart Infusion Broth
BPH	: İyi Huylu Prostat Büyümesi
CAESAR	: Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CİM	: Karbapenem İnaktivasyon Metodu
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CRACKLE	: The Consortium on Resistance Against Carbapenems in Klebsiella and Other Enterobacteriaceae
CRKP	: Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i>
CSKP	: Karbapenem Duyarlı <i>Klebsiella pneumoniae</i>
DHP-1	: Dehidropeptidaz-1
DM	: Diabetes Mellitus
ECOFF	: Epidemiological Cut-Off Values(Epidemiyolojik sınır değer)
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetat
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjio Pankreatografi
EUCAST	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
I	: Orta Duyarlı
IMP	: İmipenemase Enzimi

KDE	: Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae
KDİKP	: Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i>
KDUKP	: Karbapenem Duyarlı <i>Klebsiella pneumoniae</i>
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> Karbapenemazı
MALDI-TOF	: Matrix assisted laser desorption ionization time of flight
MBL	: Metallo Beta Laktamaz
MHA	: Mueller Hinton agar
MHT	: Modifiye Hodge testi
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MLST	: Multilokus Sekans Tipi
MRS	: Metisiline Dirençli Stafilokok
NDM	: Yeni Delhi Metallo Beta Laktamaz
OMP	: Dış Membran Proteini
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PBP	: Penisilini Bağlayan Proteinler
PEG	: Perkütan Endoskopik Gastrostomi
PFGE	: Pulsed Field Jel Elektroforezi
PZR/PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
SF	: Serum Fizyolojik
SVO	: Serebro Vasküler Olay
TBE	: Tris-Borik Asit-EDTA
TUR	: Transüretral Prostat Rezeksiyonu
TEBİ	: Tebipenem
UPGMA	: Unweighthed Pairwise Grouping Matematical Avenaging
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1: İmipenemin kimyasal organizasyonu.....	3
2: Meropenemin kimyasal organizasyonu	4
3: Ertapenemin kimyasal organizasyonu	4
4: Doripenemin kimyasal organizasyonu.....	5
5: Tebipenem kimyasal organizasyonu.....	6
6: Faropenemin kimyasal organizasyonu.....	6
7: Biapenemin kimyasal organizasyonu.....	7
8: Panipenemin kimyasal organizasyonu	8
9: Razupenemin kimyasal organizasyonu.....	8
10: Tomopenemin kimyasal organizasyonu.....	9
11: Sanfetrinemin kimyasal organizasyonu	10
12: İnvaziv <i>E. coli</i> izolatlarında karbapenem direnç oranlarının dağılımı.....	11
13: <i>K. pneumoniae</i> izolatlarında karbapenem direnç oranlarının dağılımı.	12
14: KPC üretimi olan izolatların coğrafi dağılımı	14
15: OXA-48 üreten izolatların coğrafi dağılımı.....	15
16: EUCAST tarafından önerilen karbapenem direnci ve tarama eşik değerleri	18
17: Kombinasyon testlerinin karbapenem direnç mekanizmasının belirlenmesinde kullanılması.....	19
18: Modifiye Hodge Testi	20
19: CarbaNP test A) 1;kontrol 2;negatif B) 1;kontrol 2;pozitif	21
20: CIM testi P:Pozitif N:Negatif T:Test	21
21: C3 Yoğun Bakım Ünitesi 87-88-89-90-95-97-111-30(<i>E.coli</i>)-113-114-118- 121-122-132-134-139 numaralı izolatlar	37
22: Üroloji Servisi 38-41-42-53-54-55-62-22(<i>E.coli</i>)-65-105-107-112- 124-131-137 numaralı izolatlar.....	119- 37
23: Değerlendirilen izolatlarda belirlenen AP-PCR profilleri	40
24: OXA-48 enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol	42
25: KPC enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol	42
26: NDM enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol	42

27: İMP enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır,	
PK: Pozitif kontrol	42



TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1: Karbapenemaz üreten <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının karakteristik özellikleri	14
2: 2X (Mix) tampon karışımının hazırlanması.....	27
3: 50 µl olan amplifikasyon karışımının hazırlanması.....	27
4: 50 µl olan amplifikasyon karışımının hazırlanması.....	30
5: Hedef gen bölgesi çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri	30
6: İzolatların elde edildiği örnekler	32
7: KDE izolatlarının yıllara göre dağılımı	33
8: KDE 'lerin antibiyotik duyarlılıkların.....	33
9: KDE izole edilen hastalarda mevcut altta yatan hastalıklar.....	34
10: KDE izole edilen hastaların tedavisinde yer aldığı belirlenen antibiyotikler	35
11: KDE izole edilen hastalara uygulandığı belirlenen invaziv girişimler	36
12: Belirlenen genotiplerin ait olduğu izolatların elde edildikleri örnekler ve izole edilme tarihleri	38
13: Ülkemizden farklı merkezlerden bildirilen karbapenemaz genleri.....	48

1. GİRİŞ

Penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak hücre duvarı sentezini engelleyen beta-laktam antibiyotik grubunda yer alan karbapenemler, en geniş spektrumlu antibiyotiklerdendir. Çoklu ilaca dirençli bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan karbapenemler, günümüzde karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (KDiE) 'nin yaygınlaşması ile tehdit altındadır (1). Son yıllara kadar nadir olarak bilinen karbapenem direnci maalesef dünya çapında *Enterobacteriaceae* ailesinde özellikle de *Klebsiella pneumoniae*'da giderek artış göstermektedir. Karbapenem dirençli ve/veya orta duyarlı *Escherichia coli*'nin ortaya çıkışı ve yayılımı da son yıllarda önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya başlamıştır (2). Karbapenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının kan dolaşımı enfeksiyonları, ventilatör ilişkili pnömoni ve üriner sistem enfeksiyonu gibi klinik enfeksiyonlara veya asemptomatik kolonizasyona neden olduğu, bu enfeksiyonların mortalite ve morbiditesinin yüksek olduğu bildirilmektedir (3-5).

Bu enfeksiyonların bir kısmı sporadik sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar şeklinde, bir kısmı ise klonal salgınlar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Karbapenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotik seçenekleri son derece kısıtlıdır ve yakın gelecekte bu sorunun çözüleceğine dair bir umut ışığı bulunmamaktadır. Bu nedenle bir yandan antibiyotikleri doğru endikasyonda, akılcı bir şekilde kullanarak direnç gelişimini yavaşlatmaya çalışırken, öte yandan bu suşların hastane içinde ve hastaneler arası yayılımını önlemek büyük önem taşımaktadır (6).

Yapılan çalışmalarda organ transplantasyonu, mekanik ventilasyon desteği, antibiyotik kullanımı, uzun süreli hastane yatışı, yoğun bakım ünitesinde bakım alma, fonksiyonel kapasite düşüklüğü karbapenem dirençli enterik bakteri ilişkili enfeksiyonlarda risk faktörü olarak belirlenmiştir (7,5,8).

Çalışmamızda Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Temmuz 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında gelen hasta örneklerinde belirlenen karbapenem dirençli *K. Pneumonia* ve *E. coli* izolat oranlarının belirlenmesi, izolatların incelenmesi, bu izolatlar ile enfeksiyon ve/veya kolonizasyon için kolaylaştırıcı olabilecek risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karbapenemler

Karbapenemler ilk kez *Streptomyces cattleya* adı verilen bir toprak mantarı türünden 1976'da üretilmiş ve "thienamycin" molekülünün amino ve hidroksil gruplarında değişiklikler yapılarak elde edilmiş bileşiğin bir türevidir. Hem gram pozitif hem de gram negatif aerob ve anaerob mikroorganizmalarla oluşan, sağlık hizmeti ilişkili ve toplum kökenli enfeksiyonlardaki bakteriyel patojenlere karşı etkili olan karbapenemler, penisilini bağlayan proteinlere bağlanıp, hücre duvar sentezini inhibe eder (1). Karbapenemler diğer beta-laktam üyeleri gibi, yapısında beta-laktam halkası içerirler. Fakat diğer beta laktamlardan farklı olarak, moleküler konfigürasyondaki 1 pozisyonunda karbon atomu sülfür ile yer değiştirmiştir. Bunun dışında beş üyeli halka yapısının 2 ve 3 numaralı karbon atomları arasında da sature olmamış bir çift bağ bulunmaktadır. Bileşikteki hidroksietil yan zincir beta-laktamaz dengesi sorumludur. Bu yan zincir, sefalosporin ve penisilinlerde 'cis' pozisyonunda olmasına rağmen karbapenemlerde 'trans' pozisyonundadır. Bu pozisyon farklılığı karbapenemlere güçlü bir beta laktamaz dayanıklılığı kazandırır (9).

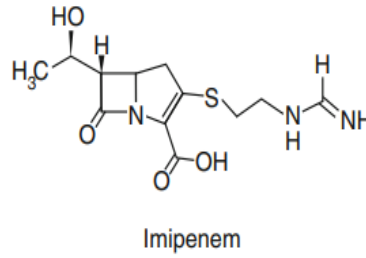
2.2. İmipenem

İlk bulunan karbapenem grubu olan imipenem gram negatif, gram pozitif, aerob ve anaerob mikroorganizmalara karşı geniş bir etkiye sahiptir. Farklı antibiyotik birleşimleriyle karşılaştırıldığında, önem arz eden birçok enfeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajandır. İmipenem diğer beta laktam antibiyotiklerden farklı olarak cis konfigürasyonundaki açıl amino yan zincirinin yerine trans konfigürasyonunda hidroksietil yan zinciri içermektedir. Bu şekilde antibiyotik beta-laktamaz dayanıklılığı kazanmaktadır. İmipenem ayrıca penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak a-halkasında sülfür atomunda metilen (-CH₂-) yapısı içermekte olup, bu şekilde bakteri hücreesindeki hedef proteinlere bağlanması daha kuvvetli olmaktadır (Şekil 1). Molekül ağırlığı düşük olan imipenem, bu özelliği sayesinde hücre membranından kolaylıkla geçebilmektedir. Gram negatif bakterilerde dış membrana penetrasyonu daha fazladır. Düşük molekül ağırlığı ve zwitteryonik

(nötral yük) nedeniyle bakteri hücre duvarına, diğer beta-laktam antibiyotiklerden daha hızlı penetre olmaktadır (9, 10)

İmipenemin, böbrekte ileri derecede enzimatik yıkıma uğraması, metabolitik nefrotoksik bir ajan olması tek başına kullanılmasını engellemektedir. Bu nedenle imipenem bir dehidropeptidaz-1 (DHP-1) inhibitörü olan silastatin ile 1/1 oranında birleştirilerek pazarlanmaktadır. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, reversibl ve özgül inhibitörüdür. Silastatinin antibakteriyel etkinliği ya da beta-laktamazlar üzerine etkisi bulunmayıp imipenemin etkisini antagonize etmemektedir (9).

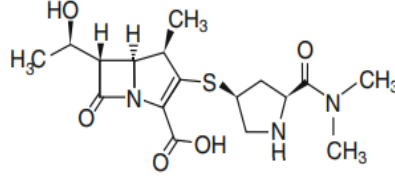
İmipenem, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin büyük molekül ağırlıklı penisilini bağlayan proteinlerine (PBP) (öncelikle PBP2'ye ardından da PBP1a'ya) yüksek bir afinite ile bağlanarak bakteri hücre duvar sentezini inhibe eden bakteriyosidal bir antibiyotiktir. Antibiyotiğin PBP2'ye bağlanması gram negatif bakterilerin sferoblastlara dönüşmesine neden olurken ek olarak PBP1'e bağlanması gram pozitif ve gram negatif bakterilerde hücrelerin lizisini kolaylaştırmaktadır (11).



Şekil 1: İmipenemin kimyasal organizasyonu (9)

2.3. Meropenem

Meropenem, karbapenem grubun ikinci üyesi olarak 1996 yılında kullanıma girmiştir. Klinik olarak önemli olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkili olan meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve gram negatif bakterilerdeki karbapenemazlar hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. PBP2, meropenemin başlıca hedefidir (Şekil 2). Meropenemin gram negatif bakterilere etkinliği daha yüksek olmasına rağmen *Acinetobacter spp.*'ye karşı etkinliği imipenemden düşüktür. İmipenemden farklı olarak meropenem insan böbrek DHP-1 enzimine karşı çok yüksek stabilite gösteren bir karbapenemdir (1).

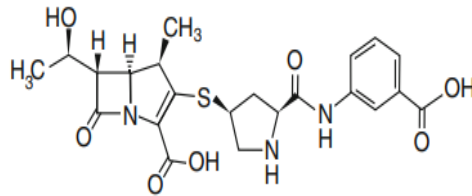


Meropenem

Şekil 2: Meropenemin kimyasal organizasyonu (9)

2.4. Ertapenem

Ertapenem, parenteral yolla tek bir ajan olarak (cilastatin ile birlikte uygulanması gerekli olmayan) uygulanabilen 1-β-metil karbapenemdir (Şekil 3)(12,13). Bakterisidal etkisi hızlıdır. *E.coli*'de ertapenem en yüksek afiniteye sahip penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) 1a, 1b, 2, 3, 4 ve 5'e bağlanmaktadır. İmipenem ve meropenem gibi ertapenem, gram pozitif ve gram negatif aerobik ve anaerobik patojenler dahil olmak üzere çok geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir(14,15). Ancak, imipenem ve meropenemin aksine ertapenem, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerine karşı sınırlı in vitro aktiviteye sahiptir. Bu nedenle, ertapenem için hedef patojenler, gram pozitif aerobik [metisiline dirençli stafilokoklar (MRS) ve enterokoklar dışında] ve anaerobik patojenler, gram negatif anaerobik patojenler ve *Enterobacteriaceae* üyeleri ve *Haemophilus* türleri dahil olmak üzere gram negatif aerobik (nonfermenterler hariç) bakterilerdir. Genel olarak bu hedef patojenler için ertapenem, meropeneme benzer etki gösterir. Gram negatif patojenlere karşı etkisi imipeneme göre biraz daha güçlüdür. Ertapenem, çoğu genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ve/veya AmpC-tipi β-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae*'ye karşı stabildir (16).

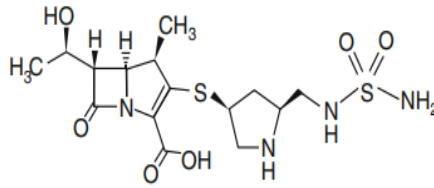


Ertapenem

Şekil 3: Ertapenemin kimyasal organizasyonu (9)

2.5. Doripenem

Doripenem klinik önemi olan gram negatif bakterilere (*Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.* ve *Serratia spp.*) in vitro aktivitesi iyi olan bir antibiyotiktir (Şekil 4). Suşların % 90'ını inhibe eden minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIC_{90}) ≤ 0.5 mg/L olduğu gösterilmiştir. Doripenem, GSBL'ler ve AmpC β -laktamazlar dahil olmak üzere çoğu β -laktamaz tarafından hidrolize karşı stabilite göstermesine rağmen karbapenemazlardan etkilenebilir. Nonfermenter gram negatif bakterilere karşı etkinliği daha sınırlıdır. Gram pozitif bakterilere ve bir grup anaerob bakteriye karşı iyi in vitro aktivitesinin olduğu gösterilmiştir. İn vitro dirençli suşları seçmek için düşük bir potansiyele sahip olan doripenemin genel olarak en azından meropenem, imipenem/silastin, biapenem, sefotaksim veya seftazidim kadar etkili olduğu gösterilmiştir (17).

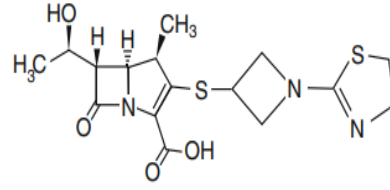


Doripenem

Şekil 4: Doripenemin kimyasal organizasyonu (9)

2.6. Tebipenem

Tebipenem pivoksil (TBPM-PI, ME1211), pediyatrik hastalarda ilaca dirençli *Streptococcus pneumoniae*'nin neden olduğu otolaringolojik ve solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak amacıyla 1994 yılında oral kullanıma uygun olarak geliştirilmiştir. C-2 pozisyonunda bir 1- (1,3-tiyazolin-2-il) azetidin-3-itiyo grubuna (Şekil 5) sahiptir. Tepineme (TEBI) hızla hidrolize olan bir ön ilaç olan TBPM-PI'nin emilim oranı diğer ön ilaç tipi β -laktam antibiyotiklerden daha yüksektir. Tebipenem, genellikle infüzyonlardan daha iyi tolere edilmesi nedeniyle Japonya'da çocuklarda tedavi için onaylanmıştır (18).

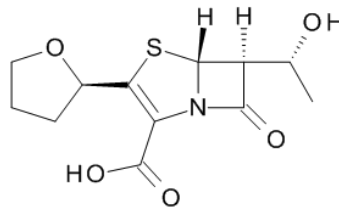


Tebipenem

Şekil 5: Tebipenem kimyasal organizasyonu (9)

2.7. Faropenem

Faropenem medoksomil, beta-laktam antibiyotiklerin yeni bir sınıfındaki ilk oral penemdir (Şekil 6). Faropenem medoksomilin *S.pneumoniae*, *H.influenzae* ve akut bakteriyel rinosinüzitte rol oynayan diğer patojenlere karşı mükemmel in vitro aktivitesi mevcuttur. Klinik çalışmalar, erişkinlerde akut bakteriyel rinosinüzitte yedi günlük tedavinin, klinik ve bakteriyolojik olarak, 10 günlük sefuroksimaksetil tedavisi kadar etkili olduğunu göstermiştir. Hemen hemen hiç ilaç etkileşimi bulunmayan faropenem medoksomilin gastrointestinal flora üzerindeki minimal etkisi, amoksisilin-klavulanattan daha az diyare ve diğer yan etkiler oluşmasını sağlar (19). Faropenem yaygın solunum yolu patojenlerine, aerobik birçok gram pozitif organizmaya ve anaeroblara karşı mükemmel in vitro aktivite göstermiştir. Gram negatif bakterilere karşı etkinliği daha ön plandadır. İn vivo veriler, faropenem'in, komplike olmayan cilt enfeksiyonları dahil olmak üzere, toplumdan edinilmiş enfeksiyonları tedavi etmede etkili olduğunu göstermektedir (20).

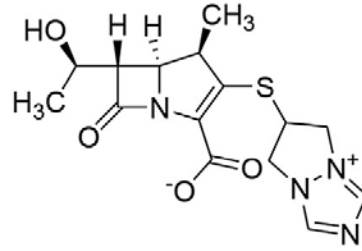


Şekil 6: Faropenemin kimyasal organizasyonu (21)

2.8. Biapenem

Biapenem, imipenemden farklı olarak, C1 pozisyonunda insan böbrek DHP-I hidrolizine stabilite kazandıran 1 beta-metil grubuna sahip yeni bir parenteral

karbapenemdir (Şekil 7) (22-24). Bu nedenle biapenem, bir DHP-I inhibitörü içermeyen tek bir ajan olarak uygulanır. Biapenem, beta-laktamaz üreten türler de dahil olmak üzere birçok gram negatif ve gram pozitif aerobik ve anaerobik bakterileri kapsayan geniş bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Genel olarak, biapenemin in vitro aktivitesi, hem imipenem hem de meropeneme oldukça benzer olmasına rağmen, bazı gram-negatif patojenlere karşı imipeneme göre daha iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir (25-28). Biapenem, Japonya, Kanada ve ABD dahil olmak üzere çeşitli coğrafi bölgelerdeki hastalardan elde edilen *S.pneumoniae* klinik izolatlarına (29) ve betalaktamaz üreten suşlar dahil olmak üzere gram negatif (*Bacteriodes spp.*, *Prevotella spp.*) ve gram pozitif (*Peptostreptococci*, *Clostridia spp.*) anaerobların çok çeşitli klinik izolatlarına karşı mükemmel aktivite göstermiştir (30). Biapenem'in antibakteriyel aktivitesi anaeroblara karşı imipeneminkine benzer olmuştur (31, 25).

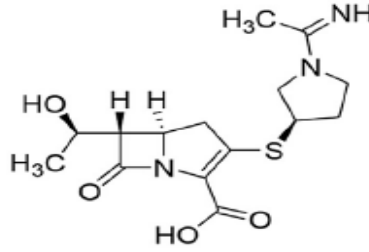


Şekil 7: Biapenemin kimyasal organizasyonu (10)

2.9. Panipenem

Panipenem, *S. pneumoniae* ve β -laktamaz üreten türler de dahil olmak üzere geniş bir gram negatif ve gram pozitif aerobik ve anaerobik bakteriyi kapsayan bir yelpazede in vitro aktiviteye sahip parenteral bir antibakteriyel ajandır. Panipenem, renal tübüle geri alınımın engellenmesi ve nefrotoksisiteyi önlemek için betamipron ile birlikte uygulanır (Şekil 8). Büyük, randomize klinik çalışmalarda, panipenem/betamipron, solunum yolu veya idrar yolu enfeksiyonu olan erişkinlerde imipenem/cilastatininkine benzer şekilde iyi bir klinik ve bakteriyolojik etkinlik göstermiştir. Panipenem/betamipron, cerrahi veya jinekolojik enfeksiyonları olan yetişkinlerde ve karşılaştırmalı olmayan çalışmalarda solunum yolu ve idrar yolu enfeksiyonu olan çocuk hastalarda da etkili olmuştur. Yaşlı hastalarda idrar yolu enfeksiyonlarında, intravenöz piperasiline benzer ve oral ofloksasinden daha fazla klinik etkinlik göstermiştir. Solunum yolu enfeksiyonu olan yaşlı hastalar da tedavi

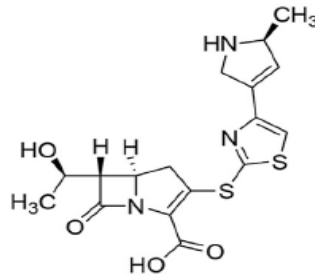
sonuçları başarılıdır. Panipenem/betamipron klinik çalışmalarda bildirilen az sayıda yan etki ile iyi tolere edilmekte, en yaygın bildirilen yan etkliler serum hepatik transaminaz seviyelerinin ve eozinofil düzeylerinin yükseliği ile kızarıklık ve ishal olmaktadır (32).



Şekil 8: Panipenemin kimyasal organizasyonu (10)

2.10. Razupenem

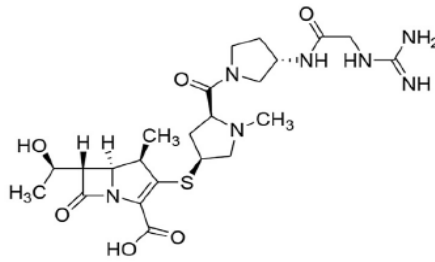
Razupenem parenteral olarak uygulanan yeni bir karbapenemdir (Şekil 9). Polimikrobiyal anaerobik enfeksiyonların tedavisinde potansiyel bir rolü olduğu öne sürülen razupenem, Faz II klinik çalışmalarda büyük yan etkilerinin tespit edilmesi nedeniyle ABD de çalışmaları durdurulmuştur. Razupenem, anaeroblara karşı in vitro olarak değerlendirildiğinde geniş spektrumlu bir aktivite göstermiş, ayrıca penisilin dirençli *S.pneumoniae*, vankomisine dirençli *E.faecium*, ampisilin dirençli *H.influenza*, MRSA ve GSBL üreten çeşitli aerobik bakterilere karşı da etkili olmuştur (10).



Şekil 9: Razupenemin kimyasal organizasyonu (10)

2.11. Tomopenem

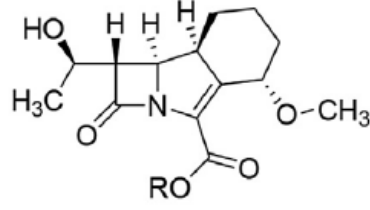
Tomopenem geniş bir antibakteriyel aktiviteye sahip yeni bir karbapenemdir. Farklı gram pozitif ve gram negatif aerob ve anaerob bakterilere etkinliği oldukça iyidir. En yüksek etkinlik MRSA ve *P.aeruginosa*'ya karşıdır. Bir 1- beta metil karbapenem olan tomopenem diğer karbapenemlere göre daha hızlı asetilasyon yapma imkanına sahiptir (Şekil 10). Renal disfonksiyon üzerine net güvenilir sonuçlar bulunmamakla birlikte hastalık ciddiyeti artması ile metaboliklerensi azaldığı için doz ayarlanması gerekmektedir. Yaşlılarda ve kadınlarda ilaç farmokokinetik farkı bulunmamaktadır. Metisilin duyarlı *S. aureus* ve *P. aeruginosa* için meropeneme benzer ve MRSA için vankomisinden daha uzun olan bir saatlik post antibiyotik etkisi mevcuttur (10)



Şekil 10: Tomopenemin kimyasal organizasyonu (10)

2.12. Sanfetrinem

Sanfetrinem geliştirilen ilk trinem (trisiklik beta laktam bileşiği) karbapenemdir. Geniş spektrumlu bakterisidal etkinliğe sahiptir (Şekil 11). Sanfetrinemsileksetil oral olarak kullanılan sanfetrinem ön ilacıdır. Sanfetrinem *S. aureus* a karşı oldukça etkilidir. *S. pneumoniae*' ya karşı etkisi levofloksasin, amoksisilin, sefuroksim ve sefidirinden fazladır. Aynı zamanda *Bacteroides fragilis* grup bakterilere karşı mükemmel aktivitesi mevcuttur. *P. vulgaris* ve *K.oxytoca* ya karşı imipenem benzeri etkinliği vardır. Penisilin dirençli pnömokoklara karşı etkinliği imipenemden daha fazladır. *K.pneumoniae* ve *E.coli* endikasyonunda başarılı bulunmuştur. Sanfetrinem, metallo-betalaktamazlar tarafından hidroliz edilmektedir (10).



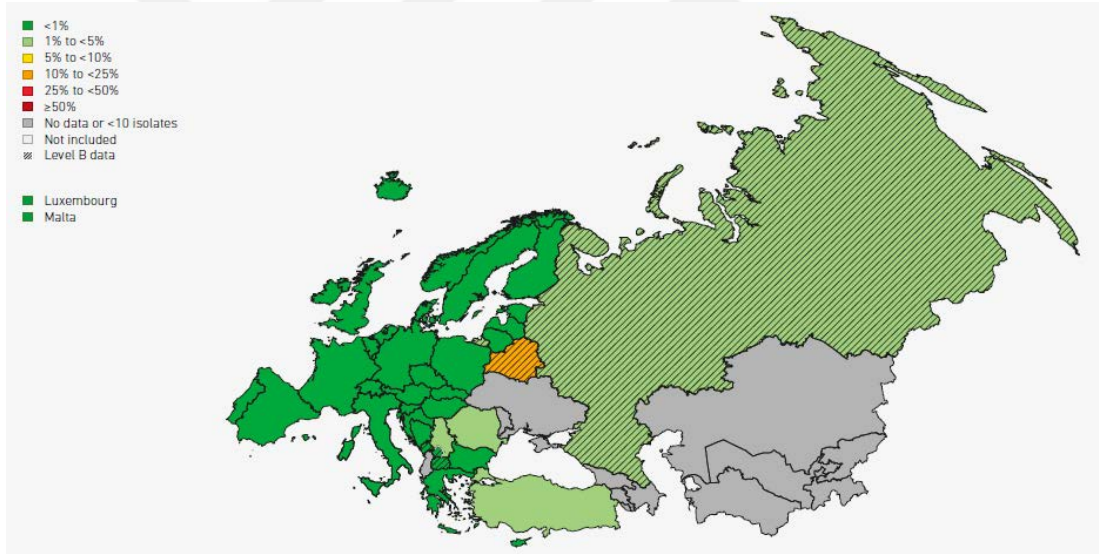
Şekil 11: Sanfetrinem kimyasal organizasyonu (10)

2.13. Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae Epidemiyolojisi

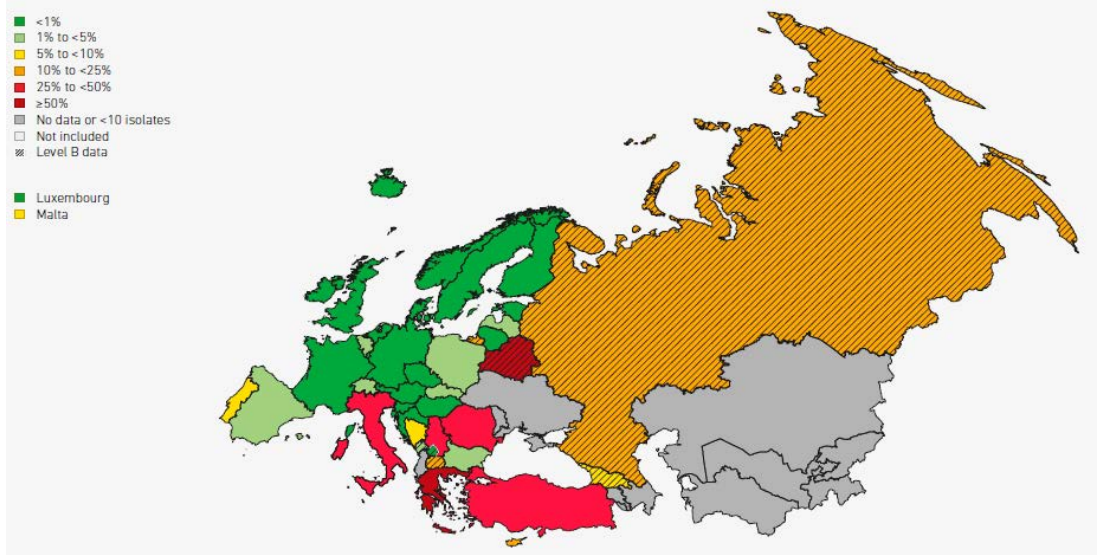
Enterobacteriaceae üriner sistem enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, hastane kaynaklı pnömoniler ve karın içi enfeksiyonların önemli bir nedenidir. GSBL prevelansının yüksek olması çok ilaca dirençli *Enterobacteriaceae* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde farmako kinetik özellikleri nedeniyle tercih edilen ilaç haline getirmiştir. Karbapenemler güvenilirlikleri ve kanıtlanmış etkileri nedeniyle çoklu ilaç direnci olan bu bakteriler için son seçenek ilaç olmuştur. Geçtiğimiz 10 yıl boyunca yapılan bildirimler karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE)'nin önemli bir halk sağlığı sorunu haline geldiğini göstermektedir. Epidemik bölgelerde KDE sıklığının %29 lara ulaşmaktadır (29). KDE bildirimlerinin bu kadar sık olması enfeksiyon kontrol önlemlerin etkinliğinin ve doğruluğunun sorgulanmasını gerektirmektedir. KDE izolatları genellikle düşük durumdaki, altta yatan önemli hastalığı ve kompleks tıbbi durumu bulunan hastalardan izole edilmektedir. İzolatlar karbapenem direncinin yanı sıra sefalosporinlere, kinolonlara ve aminoglikozidlerde yüksek direnç göstermektedir (34,35).

Enterobacteriaceae ailesinde karbapenem direnci coğrafi olarak belirgin farklılık göstermektedir. *K. pneumoniae* izolatları aile içinde en yüksek sıklığa sahip türdür. Genel olarak karbapenem dirençli izolatların sağlık hizmeti ile ilişkili olduğu, sadece Hindistan'da toplum kökenli olguların bildirildiği dikkati çekmektedir. KDE sıklığının en yüksek olduğu ülkeler Yunanistan (%62), İtalya (%33), Brezilya ve Çin'dir. Asya ülkelerinde 2000-2012 yılları arasında KDE epidemiyolojisinin araştırıldığı bir çalışmada, 49 Asya ülkesinin üçte birinden elde edilen verilere göre imipenem ve meropenem dirençli izolat oranı sırasıyla %0.7 ve %0.9 bulunmuştur. *Klebsiella* türleri karbapenem direncinin en yüksek olduğu tür iken, *E.coli* bunu takip etmiştir (35).

Amerika Birleşik Devletlerinde yedi farklı eyalette izole edilen KDE prevalansının 2,93/100,000 olduğu ve izolatların %90'ında karbapenemaz bulunduğu belirlenmiştir (36). Dünya Sağlık Örgütü-CAESAR 2017 raporunda Avrupa ülkelerinde türlere göre KDE sıklığında belirgin farklılık olduğu gözlenmektedir. Genel olarak *E. coli* invaziv izolatları için Avrupa ülkeleri ve Rusya'da karbapenem direncinin %5'in altında olduğu dikkati çekmektedir. *K. pneumonia* izolatları için ise bu oran %50 lerin üzere çıkmaktadır. Ülkemiz izolatlarının çoklu ilaç direnci oranları *E. coli* ve *K. pneumoniae* için sırasıyla %18 ve %35 karbapenem direnci oranları ise sırasıyla %3 ve %30 olarak belirlenmiştir. Karbapeneme orta duyarlı olan izolatlarda bu değerlendirmeye alındığında oranların sırasıyla %5 ve %41 olduğu dikkati çekmektedir. *K. pneumoniae* izolatlarda KDE sıklığının en fazla Yunanistan'da olduğu, ülkemizin ikinci fazla sıklık görülen ülkeler arasında olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 12-13) (37).



Şekil 12: İnvaziv *E. coli* izolatlarında karbapenem direnç oranlarının dağılımı (37)



Şekil 13: *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnç oranlarının dağılımı (37).

2.14. Karbapenem Direnç Mekanizmaları

Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci, aşırı GSBL ve/veya AmpC beta-laktamaz üretimi ile beraberinde eşlik eden dış zar protein kayıpları ve beta-laktam halkasının özel karbapenemaz enzimleri ile hidrolizi yoluyla oluşmaktadır(38-40).

2.14.1. Dış Zar Proteinleri

Kısmi geçirgenliğine rağmen gram negatif bakteri dış mebranı, membran proteinleri aracılığı ile farklı hidrofobik bileşiklerin girişine ya da çıkışına izin vermektedir. Dış membran proteinleri (OMP) fonksiyonel özelliklerine göre özgül ya da özgül olmayan özellikte olabilmektedir. Porin olarak adlandırılan özgül olmayan proteinlerin kaybı özellikle de eşlik eden farklı bir direnç mekanizması mevcut olduğunda antibiyotik direnci gelişimini sağlamaktadır. *E. coli* K-12 suşunda porin yapı ve regülasyonu ile ilgili çeşitli çalışmalar olmasına rağmen klinik izolatlarla ilgili kısıtlı veri bulunmaktadır. *K. pneumoniae* için, OmpK35 ve OmpK36 olarak iki porin proteini bulunmakla birlikte, GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarının çoğunun OmpK35 eksprese etmediği gözlenmiştir. GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarında OmpK35 ve OmpK36'nin birlikte bulunmamasının sefoksitin ve geniş spektrumlu sefalosporinlere direncin yanı sıra karbapenemlere azalmış duyarlılık oluşturduğu

bildirilmiştir. Porin kaybı florokinolonlar gibi beta-laktam yapısında olmayan antibiyotiklere de duyarlılık azalmasına neden olmaktadır (41).

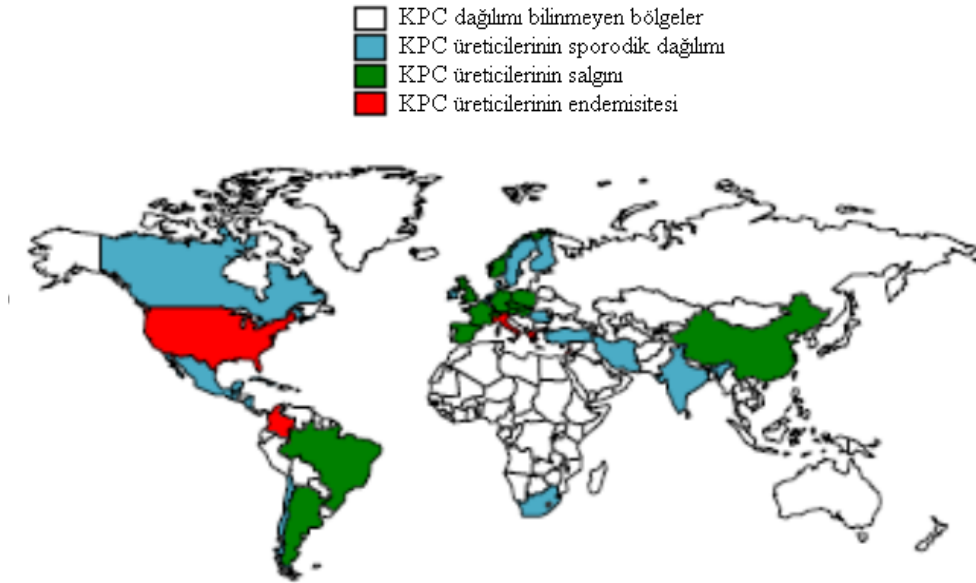
2.14.2. Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimler (Karbapenemazlar)

Geçtiğimiz 10 yıl içinde oldukça nadir olarak bildirilmelerine rağmen, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* artık oldukça yaygın biçimde bildirilmektedir. Farklı gruplara dahil olan enzimlerin yayılım gösterdiği dikkati çekmektedir. Bunların bazıları karbapenemleri belirgin olarak güçlü bir şekilde hidrolize ederken diğerleri düşük aktive göstermektedir. Bazılarının hidrolitik profilinde geniş spektrumlu sefalosporinler bulunurken, bazılarında da bulunmamaktadır. Bazı enzimler klavulanik asit ya da tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inaktive edilebilirken, diğerleri klinik kullanımda olan inhibitörlerden etkilenmemektedir (42).

Ambler tarafından tanımlanan moleküler sınıflarda yer alan yer alan üç ana karbapenemaz grubu bulunmaktadır (Tablo 1). Sınıf A da bulunan KPC(*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), penisilinler, sefalosporinler, klasik beta-laktamaz inhibitörleri (sulbaktam, tazobaktam, klavulanik asit), aztreonam ve karbapenemleri de içeren geniş spektrumlu bir substrat profiline sahip olan ve aktivitesi için serin kullanan bir enzimdir. İnhibitörü boronik asit olan KPC, klavulanik asit ile sadece minimal düzeyde inhibe olmaktadır. Küresel olarak KPC, *Enterobacteriaceae*'de en yaygın olarak görülen karbapenemazdır ve KPC-2 ve KPC-3, en baskın alelleridir. KPC üreten *K. pneumoniae* yüksek prevalansı olan ülkeler, Amerika Birleşik Devletleri, Güney Amerika (Brezilya ve Kolombiya), Avrupa (İtalya ve Yunanistan) ve Doğu Asya (özellikle Çin)'dir (Şekil 14). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki karbapenem dirençli izolatların çoğu KPC karbapenemaz üretmektedir. KPC üreten *K. pneumoniae*'nın epidemik ve hızlı yayılımının klonal kompleks 258 sayesinde olduğu bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde ST258 en sık rastlanan sekans tipi olmakla birlikte ST11, ST340, ST437 ve ST512 Amerika birleşik devletleri dışındaki ülkeler de görülmektedir.

Tablo 1: Karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarının karakteristik özellikleri (38)

Enzim tipleri (sınıf) ve örnekler	Etkinlik spektrumu	İnhibitör(ler)	Endemik bölgeler	Moleküler epidemiyoloji
MBL (B) : NDM-1, IMP, VIM	Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, karbapenemler	Metal şelatörler, örneğin; EDTA, dipikolinik asit	Japonya (IMP), Tayvan (IMP), Hint kıtası (NDM), Balkan devletleri (NDM), Yunanistan (VIM)	IncA/C, N plazmidleri (NDM), sınıf 1 integronlar (VIM, IMP)
KPC (A) : KPC- 2,3,diğerleri	Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, karbapenemler	Klavulanik asit (zayıf), tazobaktam (zayıf), boronik asit, avibaktam	Amerika Birleşik Devletleri, Yunanistan, İtalya, İsrail, Çin, Brezilya, Kolombiya, Arjantin	Tn4401, IncF2 plazmidleri, CC258
OXA (D) : OXA-48, OXA-181, OXA-204, OXA-232	Penisilinler, temosilin, beta laktamaz inhibitör kombinasyonları, karbapenemler(zayıf)	NaCl	Türkiye, Kuzey Afrika (Fas- Tunus), Avrupa (İspanya, Belçika)	Tn1999, IncL/M plazmidleri

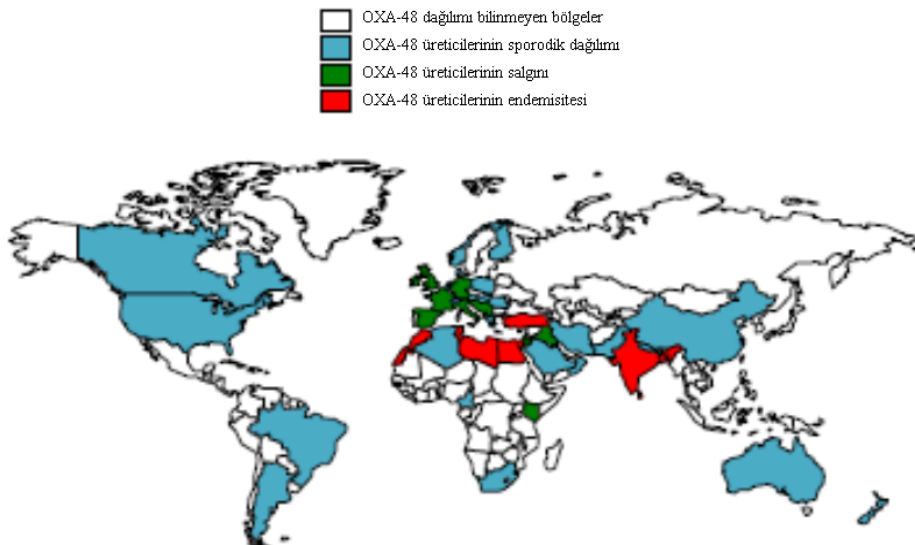


Şekil 14: KPC üretimi olan izolatların coğrafi dağılımı (42)

Sınıf B metallo-beta-laktamazlar içerisinde yer alan IMP, VIM ve NDM aktif bölgelerinde çinko bulunan enzimlerdir. Bu enzimlerin hidrolitik spektrumları KPC ye benzemekle birlikte aztreonam üzerine etkili olmamaları gibi belirgin bir farklılıkları mevcuttur. Karbapenemlere dirençli ve aztreonama duyarlı bir mikroorganizma

metallo-beta-laktamaz üreticisi kabul edilmekle birlikte, klinik izolatlarda aynı zamanda aztreonam direnci de sağlayabilen GSBL üretimi birlikteliği de olabilmektedir. NDM, Hint Yarımadası'nda (Hindistan, Pakistan ve Bangladeş) ve muhtemelen Balkan ülkelerinin bazılarında en yaygın olan karbapenemazdır (39). Birçok NDM varyantı rapor edilmiş olsa da, NDM-1 bu alanda en sık görülen alel olmaya devam etmektedir. NDM üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri Çin'den de giderek daha fazla bildirilmektedir. NDM karbapenemaz üreten organizmalar Amerika Birleşik Devletleri'nde sporadik olmuş, çoğunlukla da Hint alt kıtasından doğrudan ithalat ile ilişkili bulunmuştur (44, 42).

Diğer bir karbapenemaz olan OXA-48, sınıf D de yer almaktadır. OXA-48, KPC gibi serin içeren bir beta-laktamaz olmasına rağmen, penisilinler ve karbapenemleri içeren ancak sefalosporinleri ve aztreonamı dışarda bırakan aktivitesiyle farklılık göstermektedir. Ayrıca, karbapenemler üzerine olan etkisi KPC ve metallo-beta-laktamazlar kadar güçlü değildir. Bu nedenle de OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin karbapenemlere sınırdan duyarlılık (ertapenem MİK 0.5 mg/L, imipenem veya meropenem MİK 1 mg/L gibi) sergilemeleri nedeniyle fenotipik duyarlılık testleri ile belirlenmeleri güç olabilmektedir (44). Üçüncü sıklıkta yaygın dağılım gösteren karbapenemaz olan OXA-48 ilk kez Türkiye'den bildirilmiştir (45). Dünyanın farklı bölgelerinde OXA-48 in yanı sıra varyantları olan OXA-181 ve OXA-232 yayılımı gözlenmektedir. Salgın raporları OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* üyelerini Avrupa ve Kuzey Afrika da dahil olmak üzere Akdeniz ülkelerinde yoğunlaştığını göstermektedir (Şekil 14)(44).



Şekil 15: OXA-48 üreten izolatların coğrafi dağılımı (42)

Karbapenemaz epidemiyolojisinde çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Bunların başında primer rezervuar gelmektedir. Kalabalık yaşam, kötü hijyen, uygun olmayan antibiyotik kullanımı gibi uygun koşulların mevcudiyetinde bu bakterinin ilk tanımlandığı bölgede kolaylıkla yerleşerek yayılım göstermesi mümkündür. Epidemiyolojide etkisi olan diğer faktör karbapenemaz genlerinin hareketlilik ve değişim özellikleridir. Bazı integron veya transpozonlar ve plazmidler horizontal aktarım bakımından yüksek yetenek sergilemektedir. Replikasyon bakımından geniş konak çeşitliği gösteren plazmidler türler ve cinsler arasında hızlı yayılım özelliğine sahiptir. Karbapenemaz genlerinin bulunduğu bakterilerin genetik geçmişleri (hastalar arasında aktarım, kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilme v.b.) başarılı klonların oluşumu ile bakterilerin yayılımını etkilemektedir. Epidemiyolojik dağılımı etkileyen üçüncü önemli faktör insan popülasyonunun yeryüzündeki hareketliliğidir. Kıtalar arası hızlı seyahat ile direnç geni taşıyan bakterilerin de kıtalar arası kolaylıkla yayıldıkları gözlenmektedir (38). Genel olarak Yunanistan ve İtalya yüksek KDE oranlarına sahip olduğu bilinen ülkeler arasında yer almakta, Brezilya, Çin ardından Amerika Birleşik Devletleri ve Kolombiya dahil olmak üzere başka birçok ülke bunları takip etmektedir. En yüksek oranlar *K. pneumoniae* için bildirilmektedir (40). Ülkemizden yapılan bildirimlerde OXA-48'in endemik olduğu gözlenmektedir. Bunun yanı sıra az da olsa diğer karbapenemazlar da tanımlanmıştır (46-48).

Karbapenem- Dirençli *Enterobacteriaceae* kolonizasyonu için tanımlanmış risk faktörleri KDE kolonizasyonu veya enfeksiyonu için risk faktörlerini değerlendiren çalışmalarda, sağlık bakımına maruz kalma ve antibiyotik kullanımı en belirgin riskler arasında bulunmuştur (49-52, 4). Organ ya da kök hücre nakli, mekanik ventilasyon alımı, antimikrobiyallere maruz kalma, zayıf fonksiyonel durum ve yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) yatışı (46) kolonizasyon ve/veya enfeksiyon ile ilişkili risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (49). CRKP (Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*)'li hastalar için elde edilen sonuçlar CSKP (Karbapenem duyarlı *Klebsiella pneumoniae*)'li hastalarla karşılaştırıldığında, karbapenem direnci, mortalitenin artışı ile bağımsız olarak ilişkilendirilmiştir. Yaş, mekanik ventilasyon, malignite, kalp hastalığı ve YBÜ (Yoğun bakım ünitesi) 'de kalış CRKP enfeksiyonlu (50, 4, 53), hastalarda mortalitenin artması ile ilişkili iken, enfeksiyon odağının (örn., kateterin çıkarılması, debridman veya drenaj) uzaklaştırılması hayatta kalma ile bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur (50).

Karbapenem'e dirençli gram negatif organizmalara sahip hastaların % 50'sinden fazlasının uzun süreli palyatif bakım birimlerinden izole edildiğinin gözlenmesi ile bu birimlerin bakterinin kolonizasyonu ve yayılımı için önemli bir rezervuar olabileceğini düşünülmüştür (54, 49). Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının mortalitesi uygun antibiyotik kullanımı veya altta yatan hastalığa bağlı olarak %23 ile %75 arasında değişmektedir. Ciddi enfeksiyonlarda uygun antibiyotik kullanımının gecikmesi, ciddi sepsis ve septik şoku bulunan hastalarda, karbapenemaz üretimiyle de ilişkili olarak, iyileşmenin bozulması ve yüksek mortalite ile ilişkili bulunmuştur (55). KDE ile oluşan enfeksiyonlar için optimal tedavi bilinmemekle birlikte, bilinen tüm karbapenemazlara etkili olan bir tek ilaç henüz mevcut değildir (38).

2.15. Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenemaz Üretiminin saptanması İçin Önerilen Yöntemler

Karbapenemaz üretiminin taranacağı fenotipler KDE üyelerinde karbapenem MİK değerleri klinik sınır değerlerin altında olabilmesi nedeniyle EUCAST tarafından belirlenen ECOFF değerlerinin karbapenemaz üreticilerinin saptanması için kullanılabileceği belirtilmektedir (Şekil 16). Karbapenemaz üreticilerinin saptanmasında meropenem duyarlılık ve özgüllük dengesi açısından en uygun belirleyicidir. Ertapenem, özellikle de *Enterobacter* spp.'de belirgin olan porin mutasyonlarının varlığında GSBL ve AmpC tipi enzimlere göreceli olarak duyarlı olması nedeniyle duyarlılık açısından mükemmel olmakla birlikte, özgüllüğü düşüktür. Meropenem zon çapı <25 mm olan ve yine meropenem zon çapı 25-27 mm olmasına rağmen piperasilin tazobaktam ve/veya temosiline dirençli olan izolatların karbapenemazlar açısından tarama yapılması önerilmektedir (Şekil 16). Tarama testleri temel olarak; kombinasyon disk testleri, karbapenem hidrolizini gösteren kolorimetrik yöntemler, karbapenem hidrolizini gösteren diğer yöntemler ve lateral akım yöntemleridir (56).

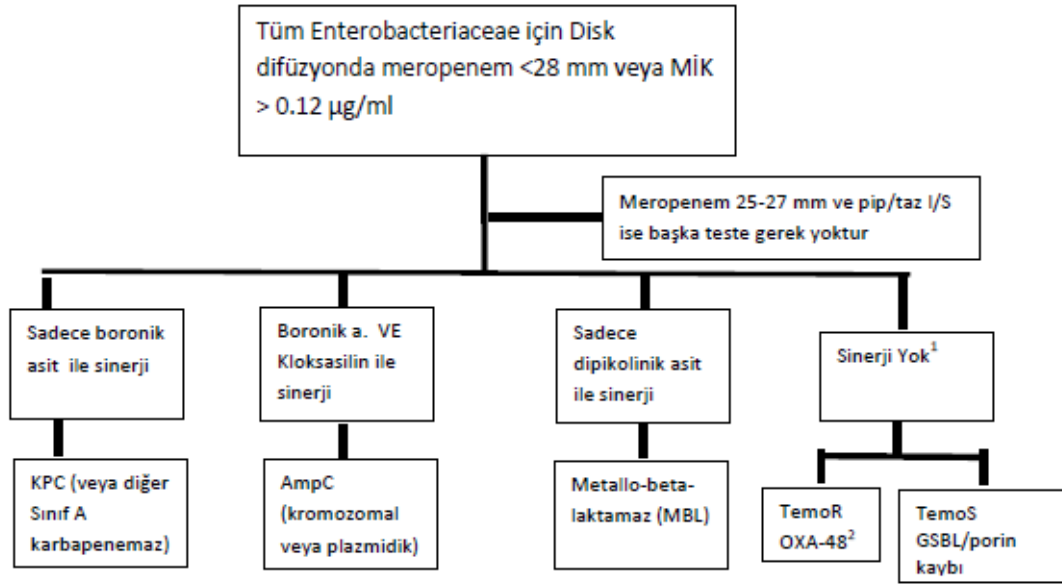
Karbapenem	MİK (mg/L)		Disk difüzyon zonları (mm) (10 µg disklerle)	
	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri
Meropenem ¹	≤ 2	> 0.12	≥ 22	<28 ²
Ertapenem ³	≤ 0.5	> 0.12	≥ 25	<25

¹Duyarlılık ve özgüllük dengesi en iyi olan

Şekil 16: EUCAST tarafından önerilen karbapenem direnci ve tarama eşik değerleri (56)

2.15.1. Kombinasyon disk testleri

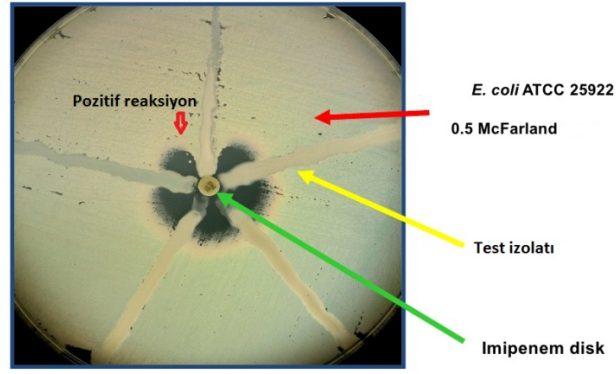
Bu amaç için kullanılan diskler meropenem ile birlikte bilinen enzim inhibitörlerini (KPC için boronik asit, MBL için dipikolinik asit ve etilendiamin tetraasetik asit) içermektedir. Bu yöntem, çeşitli çalışmalarla valide edilmiş olması ve ticari olarak bulunabilmesi (Mast, ROSCO) gibi avantajlara sahiptir. Avibaktam ile inhibe olan OXA-48 halen ticari fenotipik panel mevcut değildir. Bu testlerde kloksasilin, aşırı AmpC üretimi ve porin kaybı birlikteliği ile ortaya çıkan karbapenem direnci ile karbapenemaz üretiminin ayrılması amacıyla eklenmektedir (Şekil 17). Bu yöntemle ilgili temel dezavantaj bir gecelik inkübasyon gerektirmesidir. Günümüzde OXA-48 benzeri enzimler için herhangi bir inhibitör bulunmamaktadır. Temosiline yüksek düzey direnç (MİK>128 mg/L) OXA-48 üreten suşlar için bir fenotipik belirleyici olarak önerilmesine rağmen, diğer direnç mekanizmaları da benzer fenotipe yol açabildiği için, OXA-48 varlığının diğer yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir (56).



Şekil 17: Kombinasyon testlerinin karbapenem direnç mekanizmasının belirlenmesinde kullanılması

2.15.2. Modifie Hodge testi

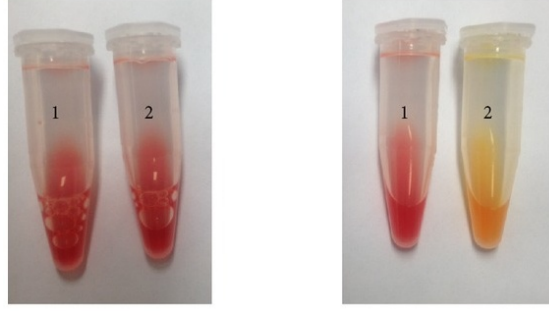
Karbapenemaz üretiminin gösterilmesi amacıyla çeşitli üç boyutlu bir testler geliştirilmiştir (57-59). Açıklanan yöntemlerin tümü, yoğun bakteriyel bir inokulum veya testedilecekizolatların ham bir ekstraktının, antibiyotik disklerinden farklı mesafelerde, agar içerisinde kesilmiş bir yarık veya bir oyuga uygulanmasına dayanmaktadır. İnhibisyon bölgesinin inoküle edilmiş yarık veya oyuk yönünde deformasyonu, GSBL'lerin veya Amp C-tipi beta-laktamazların varlığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şekil 18). Benzer bir teknik, 1976 da Masuda ve arkadaşları tarafından (60) ve daha sonra Marchiaro ve ark. ve Pasteran ve diğ. (61,62) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde test edilen kültür veya hücre içermeyen ekstraktla ıslatılmış antibiyotik diskleri, daha önce duyarlı bir *E. coli* suşu ekilmiş olan agar plakları üzerindeki indikatör antibiyotik disklerinin yanına yerleştirilmiş, yüklü disklerin etrafında *E. coli* üremesi karbapenemaz üretimi lehine değerlendirilmiştir. Ancak, bu yöntemlerin tümü rutin labotauvar için emek yoğun olması nedeniyle yaygın olarak kullanılamamıştır (63).



Şekil 18: Modifiye Hodge Testi

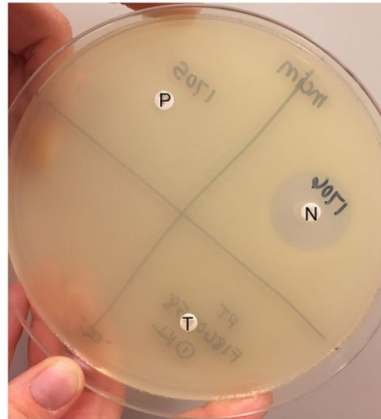
2.15.3. Biyokimyasal (kolorimetrik) testler

Karbapenemaz aktivitesinin hızlı tespiti için 2012 yılında Nordmann ve ark. tarafından, Carba NP testi adlı yeni bir fenotipik yöntem geliştirilmiştir(64-66). Testin çalışma prensibi, karbapenem hidrolizinin pH değişimine yol açması ve bunun sonucunda fenol kırmızısı solüsyonunun kırmızıdan sarıya dönmesidir (Şekil 19). Carba NP testinin yöntem onayı (validasyon basamağı) Mueller Hinton agar, kanlı agar, triptikaz soya agar ve karbapenemaz tarama besiyerlerinin çoğunda üretilmiş koloniler ile yapılmıştır (56). Oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan bu yöntem (64-67) halen CLSI ve EUCAST rehberlerinde yer almaktadır (68, 69). Carba NP testinin ticari olarak temin edilebilen bir kolorimetrik modifikasyonu olan RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarında karbapenemaz üretiminin erken teşhis için pratik bir yöntem sağlamıştır (66). Tekrarlanabilir sonuçlar alınabilmesi için, yöntem basamakları ile ilgili detayların dikkatle izlenmesi ve uygulanması gerekmektedir. Bununla birlikte, CarbaNP'nin ticari versiyonu da dahil olmak üzere tüm kolorimetrik ticari testlerde, sonuçların %3-5'i renk değişiminin “şüpheli” olması nedeniyle yorumlanamama sorunu yaşanmaktadır (56).



Şekil 19: CarbaNP test A) 1;kontrol 2;negatif B) 1;kontrol 2;pozitif

Son zamanlarda, Van der Zwaluw ve ark. herhangi bir laboratuarda gerçekleştirilebilecek düzeyde basit bir karbapenemaz saptama yöntemi olan karbapenem inaktivasyon yöntemini (CIM) tanımlamıştır. Bu test için tek temel gereksinim, 10 mg'lık bir meropenem duyarlılık test diskidir (70). Bu yöntem her türlü karbapenemaz aktivitesinin tespiti için oldukça hassas ve spesifik olduğunu gösterilmiştir (70, 71, 66, 48) yöntemin çalışma prensibi, bir meropenemin bakteri süspansiyonu ile inkübasyonu sonucunda enzim aracılığıyla parçalandığını göstermektir. Meropenem diski, bir öze dolusu bakteri ile iki saat inkübe edildikten sonra, *E.coli* ATCC 25922 (meropeneme duyarlı suş) yayılmış Mueller- Hinton besiyerine yerleştirilmektedir. CIM testinin bazı OXA-48 suşlarını iki saatlik inkübasyonda kaçırabileceğinin belirtilmesi üzerine inkübasyon süresi 4 saate çıkarılarak modifiye CIM testi önerilmiştir (72). Enzimatik inaktivasyon oldu ise disk etrafında inhibisyon zonu oluşmamakta veya çok daralmaktadır. Uygulaması kolay ve ucuz bir test olması nedeniyle rutin laboratuvar uygulaması için uygundur. Bu yöntemin temel dezavantajı, sonuç alınabilmesi için en az 18 saat gerekmesidir.



Şekil 20: CIM testi P:Pozitif N:Negatif T:Test

2.15.4. Karbapenem hidrolizinin MALDI-TOF ile saptanması

Buradaki prensip karbapenemlerin test bakterisi ile karşılaştırılması sonrasında, kütle spektrumunda karbapenemlere ait özgül piklerin kaybolmasının veya yüksekliğindeki azalmanın bir MALDI-TOF analizörü aracılığıyla gösterilmesidir. Değişik çalışmalarda, OXA-48 üreten izolatlar haricinde, bu yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü iyi bulunmuştur. OXA-48 ile ilgili problemin üstesinden gelmek için reaksiyona NH_4HCO_3 eklenmesi önerilmektedir. Ancak bu öneri henüz çok merkezli bir çalışma veya tek merkezli çok sayıda çalışma ile değerlendirilmemiştir (56).

2.15.5. Lateral akım yöntemleri

Karbapenemaz saptanması için son yıllarda yeni bir immuno-kromatografik lateral akım testi geliştirilmiştir. Bu test, nitroselüloz membrana sabitlenmiş anti OXA-48 kaplı koloidal altın nanopartikülleri ile OXA-48 epitoplarının “yakalanması” prensibine dayanmaktadır. OXA-48 benzeri enzimlerin doğrudan tanımlanması için anti-OXA-48 antikorları özgül yakalama reaktifleri olarak kullanılmaktadır. Test yaklaşık 4 dakika sürmektedir. Hem koloniler ile hem de kan kültür şişelerindeki simüle örneklerle denenmiştir. Yine yakın zamanda KPC için de benzer bir test geliştirilmiş, ancak tekrarlanabilirliği henüz çok merkezli bir çalışma veya birden çok tek merkezli çalışma ile değerlendirilmemiştir (56).

2.15.6. Moleküler yöntemler

Moleküler teknikler karbapenemaz genlerinin tam olarak tanımlanması için referans yöntemlerdir (64). Bu tekniklerin çoğu PCR teknolojisine dayanmakta birlikte gerektiğinde enzim kodlayan geninin tüm kodlama bölgesinin dizilemesi yapılabilmektedir. Ayrıca hibridizasyon teknikleri, araştırma laboratuvarlarında ve referans merkezlerinde karbapenemaz genlerinin tanımlanması için yaygın olarak kullanılmıştır. Karbapenemaz geninin kromozomal ya da plazmid kontrollü olup olmadığını belirlemek için hibridizasyon teknikleri ile Southernblot kombinasyonu kullanılabilmektedir (74,75). Halen, birçok klinik laboratuvar fenotipik tespit yöntemlerinin dezavantajlarını bertaraf etmek ve tespit süresini kısaltmak için rutin olarak PCR bazlı yöntemleri kullanmaktadır. Doğrudan koloniler üzerinde

gerçekleştirilen bir PCR tekniği, 4-6 saat içinde mükemmel hassasiyet ve özgülük ile sonuç verebilmektedir. PCR temelli yöntemler ya tekli (76) veya çokluolarak yapılabilen analizlerdir (77-81). Tespit süresini daha da azaltan gerçek zamanlı analizler de kullanılmıştır (82-85). Son zamanlarda, çoklu, daha hızlı ve güvenilir sonuç elde etmek amacıyla moleküler teknikler listesine mikroarray teknolojisi eklenmiştir (86, 87). Moleküler tekniklerin temel dezavantajları, maliyetleri ve eğitimli mikrobiyologlar gerektirmeleridir. Moleküler yöntemlerle ilgili ek bir sorun, tespit edilecek direnç genlerinin önceden tanımlanmış olması gerekliliğidir. Bu nedenle, bu yöntemler yeni karbapenemaz gen tiplerini tespit edilmesinde yetersiz kalabilir (63).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Demografik Özellikler ve Çalışma Yeri (Popülasyonu)

Bu çalışma Temmuz 2015- Aralık 2017 tarihleri arasında hastanemizde yatarak tedavi edilen hastalardan izole edilen karbapenem dirençli *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatları ile gerçekleştirilmiştir. Zonguldak Bülent Ecevit Uygulama ve Araştırma Merkezi gündüz yatakları ile birlikte 619 yatak kapasitesiyle sağlık hizmeti veren bir hastanedir. Sekiz ayrı yoğun bakım biriminde toplam 80 yatak kapasitesi mevcuttur. Yoğun bakım organizasyonu genellikle birer kişilik izolasyon odaları şeklinde olmakla birlikte genel yoğun bakım biriminde 10 kişilik ve dört kişilik bir oda ve Kalp ve Damar Cerrahisi biriminde dört kişilik bir yoğun bakım odası mevcuttur. Yenidoğan ünitesinde 25 küvezin aynı mekanda bulunduğu bir yoğun bakım organizasyonu vardır. Sağlık Merkezimizde 2015 yılında 407.384 hasta muayene edilmiş, 30.548 hasta yatarak tedavi almış, 3663 hastaya yoğun bakım hizmeti verilmiştir. 2016 yılında 478.341 muayene yapılmış, 35.577 hasta yatarak tedavi edilmiş ve 3949 hastaya yoğun bakım hizmeti verilmiştir. 2017 yılında 511.058 muayene yapılmış, 37.767 hasta yatarak tedavi edilmiş ve 4228 hastaya yoğun bakım hizmeti verilmiştir.

3.2. Hastalara Ait Demografik Veri Toplanması

Belirtilen tarihler arasındaki toplam izolat sayısı laboratuvar kayıt defterleri ve hastane bilgi işletim sisteminden yararlanılarak belirlendi. Karbapenem dirençli bakteri izole edilen hastaların kayıtları incelenerek hastaların demografik özellikleri kaydedildi.

3.3. Bakterilerin Tanımlanması

İzole edilen laktoz pozitif bakteriler geleneksel yöntemlerle (laktoz fermentasyonu ve gaz oluşumu, karbon kaynağı olarak sitratı kullanma, üreaz aktivitesi, hareket, ornitin dekarboksilaz aktivitesi, triptofandan indol oluşumu) ve gerektiğinde tam otomatize bakteri tiplendirme sistemi (MicroScan, Beckman Coulter, USA) ile tanımlandı (88).

3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İzole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ve/veya tam otomatize antimikrobiyal duyarlılık test sistemi (MicroScan, Beckman Coulter, USA) kullanılarak yapıldı. İmipenem ve/veya meropenem duyarlılık doğrulaması için gerek duyulduğunda gradiyent test uygulandı. Gradient testte ilaçlı şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin şerit üzerindeki ölçekle kesiştiği nokta minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak tanımlandı. Sonuçlar EUCAST önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Kontrol suşları olarak *E. coli* ATCC 29212 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanıldı (56).

3.5. Karbapenemaz Varlığının CİM Testi ile Gösterilmesi

Kanlı agar plağında saf olarak üremiş olan bakteri kolonisinden bir öze dolusu alınıp steril SF (serum fizyolojik) içinde homojen hale getirildikten sonra içine 10 µg meropenem diski (OxoidLtd, Hampshire, UK) ilave ederek 4 saat boyunca $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de etüvde inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda meropenem diski çıkarılıp, üzerine 0.5 McFarland standardına eş değer bulanıklıkta hazırlanan *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonunun yayıldığı Müeller Hinton agar plağına yerleştirildi. Yaklaşık 2,5 mm mesafe aralığında işlem görmemiş başka bir 10 µg meropenem diski (OxoidLtd, Hampshire, UK) koyularak bir gece 35°C inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, eğer işlem görmüş meropenem diski etrafında inhibisyon zonunun oluşması negatif, bir zonu oluşması pozitif, negatif kontrole göre daha dar bir inhibisyon zonu oluşması şüpheli/zayıf pozitif olarak kabul edildi. Zon çapları 18 mm'nin (≤ 18) altında olan izolatlar pozitif, 19 mm'nin (≥ 19) üzerinde olan izolatlar ise negatif olarak değerlendirildi. OXA-48 ürettiği belirlenmiş olan *K. pneumoniae* suşu pozitif ve *E. coli* ATCC 25922 negatif kontrol olarak kullanıldı (72).

3.6. İzolatların Epidemiyolojik Analizi

İzolatların epidemiyolojik analizi için AP-PZR (Arbitrarilyprimed PZR) yöntemi uygulandı (89). Bunun için öncelikle test edilecek bakterilerden DNA izole edildi.

3.6.1. Bakteri DNA izolasyonu

Bakterilerden DNA eldesi için hazır ticari kit kullanıldı (Peq Gold Bacterial DNA Kit- peqlab- Almanya). Üretici önerileri doğrultusunda izolatlar %5'lik koyun kanlı agarda bir gecelik inkübasyonla üretildi. Saf olarak üreyen tek kolonilerden 1-2 adet alınarak Brain Heart Infusion Broth (BHIB) içinde homojen süspansiyon haline getirildi. Bir gece 37°C'de inkübasyondan sonra elde edilen bakteri süspansiyonu 4000g'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün üzerinde kalan sıvı kısım atıldı. Daha sonra;

- Tüpün içine 100 µl TE buffer ve 100 µl lizozim (10mg/ml) eklendi. Tüpler 30°C'de çalkalamalı su banyosunda 10 dakika inkübasyonu takiben oda ısısında 4000g'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Üzerine 200µl DNA lizis Buffer T eklendi. DNA lizisbuffer T içindeki hücrelere 20 µl Proteinaz K solüsyonu ve 15µl RNA'az A (20 mg/ml) eklendi.
- On saniye vortekslenen tüpler tam etkili bir lizis için 70°C'de çalkalamalı su banyosunda 30 dakika süre ile inkübe edildi.
- Homojenize edilerek lizise uğratılan bakteri süspansiyonunun üzerine 200 µl DNA-tamponu eklendi ve pipetlenerek tamamen karıştırıldı.
- DNA kolonu toplama tüpüne yerleştirildi ve elde edilmiş lizat tamamen kolonun içine aktarıldı. 10000g'de 1 dakika santrifüj ile DNA bağlanması sağlandı.
- Toplama tüpü santrifüjden çıkarıldı ve kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi.
- Yeni toplama tüpüne yerleştirilmiş kolon üzerine 650µl etanolde dilüe edilmiş DNA yıkama tamponu eklenerek yıkandı. 10000g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü santrifüjden çıkarıldı ve kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi. Yıkama basamağı 650µl DNA yıkama tamponu ile birkez daha tekrarlandı.
- Elde edilen kolon yeni bir koleksiyon tüpüne yerleştirildi. 10000g'de 2 dakika santrifüj ile kolon yüzeyi kurutuldu.
- Kolon, steril 1.5ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Elution tamponundan 100µl eklendikten sonra 3 dakika oda ısısında bekletildi. Kolondan ayrılan DNA 6000g'de 1 dakika santrifüj ile çöktürüldü.

Böylece DNA ekstraksiyonu yapılmış oldu. Kolon atıldı ve mikrosantrifüj tüpünün içindeki son ürün toplama tüplerine alındı. Elde edilen son ürün PCR çalışmalarında bakteriyel DNA olarak kullanıldı.

3.6.2. Bakteri DNA'sının çoğaltılması (Amplifikasyon)

DNA amplifikasyonu için öncelikle Tablo 2'de verilen 2X (mix) tampon solüsyonu hazırlandı (90).

Tablo 2: 2X (Mix) tampon karışımının hazırlanması

2 X tampon	İstenen volum	Kullanılacak son volüm
Buffer (10X)	10x	100µl
MgCl ₂ (25mM)	25mM	200µl
dNTP (10mM)	2mM	200µl
Distile Su (dH ₂ O)		400µl
TOPLAM		1000µl

Her bir örnek için Tablo 3'te belirtilmiş olan amplifikasyon karışımı hazırlandı.

Tablo 3: 50 µl olan amplifikasyon karışımının hazırlanması

Amplifikasyon karışımı	Kullanılacak Volüm
2X Amplifikasyon miksi	25 µl
M13primer5'- GAGGGTGGCGGTTCT-3'	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,5 µl
Distile su	18,5 µl
Ekstraksiyon ürünü (örnek)	5 µl
Toplam hacim	50 µl

3.6.3. Amplifikasyon koşulları

Amplifikasyon için Gene Amp PZR System 9700 Termal Cyler (Applied Biosystems, Singapur) cihazı kullanıldı. Hedef DNA bölgesi için aşağıda belirtilen amplifikasyon koşulları sağlandı (90).

Amplifikasyon programı:

Denaturasyon için 95 C’de 5 dakika
Primer bağlanması için 40 C de 5 dakika
Primer uzaması için 72 C de 5 dakika

2 siklus

Denaturasyon için 94 C de 1 dakika
Primer bağlanması için 40 C de 1 dakika
Primer uzaması için 72 C 2 dakika

38siklus

3.6.4. Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesi

Amplifikasyon ürünleri brom fenol mavisi içinde $\frac{3}{4}$ oranında seyreltildi. Bu karışımın 8 µl’si, içinde etidyum bromür bulunan %2 lik agaroz jele yüklendi. 110 volt’luk akımda 1 saat yürütülme (elektroforez) sonrasında UV transillimünatörde (Gel Doc UV görüntüleme sistemi, BioRad, Italy) bant profilleri değerlendirildi. Bu çalışma da belirleyici (marker) olarak 50- 1000 baz çiftlik DNA ladder (Gennu Star, Almanya) kullanıldı (90).

3.6.5. Amplifikasyon ürünlerinin benzerliklerinin değerlendirilmesi

Bant analizleri için benzerlik hesaplarının yapılmasında Dicekorelasyon kat sayısı ve kümeleşme analizi için de UPGMA ("Unweighthed Pairwise Grouping Matematical Avenaging" matematiksel ortalamaıyla ağırlıksız çiftlerin gruplandırılması) yöntemi kullanıldı. İzolatlar benzerlik katsayıları göz önüne alınarak birbirleriyle %90’nın üzerinde benzerlik gösteren suşlar klonal olarak ilişkili kabul edildi. Benzerlik oranları %90’nın altında olan suşlar ise diğerlerinden farklı veya ayrı olarak değerlendirildi (90). Çalışmamızda değerlendirilen izolatlar için kolonizasyon/enfeksiyon ayrımı yapılmadı.

Kullanılan tampon ve çözeltiler;

- **TBE (Tris-borik asit-EDTA) tamponu:**

Stok solüsyon (10 X, p H 8.0)

5,84 gr EDTA (pH:8) (Biobasic, ABD)

61,83 gr Borik asit (Amresco, ABD)

121.1 gr Tris (Biobasic, ABD)

Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanıp, maddeler iyice çözündükten sonra pH'sı 8.0'e ayarlanarak elde edilen bu solüsyon, +4°C'de saklandı

- **Etidyum Bromür (5 mg/ml stok)**

2 ml distile suya, 10 mg etidyum bromür (Fluka, İsviçre) karıştırılarak, manyetik çalkalayıcı üzerinde birkaç saat süreyle çözünmesi sağlandı. Bu karışım koyu renkli şişeye konularak oda sıcaklığında saklandı. Bu çözeltiden, agaroz jel içine 0.1 µl/ml eklendi.

- **Agaroz Jel**

100 ml 1X TBE tamponu içerisinde, 2 gr agaroz jel (%2 olacak şekilde) (Prona/The European Economic Community) iyice eritildi. Jelin sıcaklığı 60°C'ye gelince stok etidyum bromür çözeltisinden 10 µl eklenerek, iyice karıştırıldıktan sonra jel kabına döküldü (90).

3.7. Karbapenem Direnç Genlerinin Araştırılması

3.7.1. DNA izolasyonu

Bakteri DNA izolasyonu, AP-PCR için kullanılan DNA örneklerinden yararlanıldı.

3.7.2. Bakteri DNA'sının çoğaltılması (Amplifikasyon)

Bakteri DNA'sının çoğaltılması için hazır ticari kit olan Universal PCR Master Mix kullanıldı (SNP-Biyoteknoloji). Üretici önerileri doğrultusunda amplifikasyon için Tablo 4'de belirtilen oranlarda karışım hazırlandı (90).

Tablo 4: 50 µl olan amplifikasyon karışımının hazırlanması

Amplifikasyon karışımı	Kullanılacak volüm
Universal PCR Master Mix (2X)	22,5 µl
Primer F (10 pmol)	0,5 µl
Primer R (10 pmol)	0,5 µl
Taq DNA polimeraz	0,3 µl
Distile su	21,2 µl
Ekstraksiyon ürünü (örnek)	5 µl
Toplam hacim	50 µl

Hedef gen bölgelerinin çoğaltılması için Tablo 5’te verilen primer dizileri kullanıldı (karbapenemaz dizileri).

Tablo 5: Hedef gen bölgesi çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri(91)

Hedef bölge	Primerbaz dizisi	Beklenen ürün büyüklüğü
OXA-48	GCGTGGTTAAGGATGAACAC CATCAAGTTCAACCCAACCG	438 bp
NDM	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC CGGAATGGCTCATCACGATC	621 bp
KPC	CGTCTAGTTCTGCTGTCTT CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	798 bp
IMP	GGAATAGAGTGGCCTTAAYTCTC TCGGTTTAAYAAAACAACCACC	232 bp

3.7.3. Amplifikasyon koşulları

Amplifikasyon için Gene Amp PZR System 9700 Termal Cyclers (Applied Biosystems, Singapur) cihazı kullanıldı. Hedef DNA bölgesi için 94°C’de 3 dakikalık ilk denatürasyonun ardından, 94°C’de 30 saniye denatürasyon, primer bağlanması için 60°C’de 30 saniye ve 72°C’de 1 dakika uzama ile toplam 35 siklus ve final uzama olarak 72°C’de 10 dakika olacak şekilde uygulandı (85,77).

3.7.4. Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesi

Amplifikasyon ürünleri(6 µl) brom fenol mavisi(2 µl) içinde $\frac{3}{4}$ oranında seyreltildi. Bu karışımın 8µl'si, içinde etidyum bromür bulunan %2 lik agaroz jele yüklenir. 110 volt'luk akımda 1 saat yürütölme (elektroforez) sonrasında UV transillimünatörde (Gel Doc UV görüntölleme sistemi (BioRad, Italy)) bant profilleri değeriendirildi. Bu çalışma da belirleyici (marker) olarak 50- 1000 baz çiftlik DNA ladder (Gennu Star, Almanya) kullanıldı.

3.8. İstatistiksel analiz

İstatistiksel değeriendirme SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değışkenler için tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma, sözel değışkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Sözel değışkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı ve tüm değeriendirmeler için $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi

4. BULGULAR

4.1. İzolat Özellikleri

Temmuz 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında rutin bakteriyoloji laboratuvarına gelen örneklerden 3091 *E. coli* (%70,9), 1263 *Klebsiella spp.* (%29,1) olmak üzere toplam 4354 bakteri izole edildi. İzolatların toplamında % 2,8 (121/4354) oranında karbapenem direnci bulundu. Karbapenem dirençli izolatların %6.6 sı *E. coli*, %93.4'ü *Klebsiella* türleriydi. *E. coli* ve *Klebsiella spp.* izolatlarında karbapenem direncinin sırasıyla %0,25 ve %9 olduğu belirlendi. İzolatlar en sık %44,62 oranında idrar, %27 oranında kan ve %16 oranında trakeal aspirat olmak üzere değişen oranlarda Tablo 6'da dağılımı belirtilen klinik örneklerden elde edilmişti.

Tablo 6: İzolatların elde edildiği örnekler

Örnek	N (%)121
İdrar	54 (44,62)
Balgam	7 (5,78)
Apse	4 (3,30)
Yara	6 (4,95)
Trakeal Aspirat	16 (13,22)
Kan Kültürü	27 (22,31)
Periton	2 (1,65)
Serviks	1 (0,82)
Bronş	1 (0,82)
Doku	3 (2,47)
Toplam	121

KDE izolatların yıllara göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir. Bu değerlendirmeye göre *K. pneumoniae* için 2015 ve 2016 yılları arasında belirgin farklılık gözlenmemesine rağmen 2017 yılında anlamlı bir artış olduğu bulundu ($p<0.001$).

Tablo 7: İzolatların yıllara göre dağılımı

Bakteri	İzolat sayısı n (%)	Karbapenem direnci			
		2015	2016	2017	Toplam
<i>E. coli</i>	3091 (70.9)	5/569	3/1181	0/626	8
<i>K. pneumoniae</i>	1178 (27.05)	14/184	25/395	70/599	109
<i>K. oxytoca</i>	85 (1.95)	0/9	2/33	2/43	4
Toplam	4354	19	30	72	121

4.2. Antibiyotik Özellikleri

Karbapenem dirençli olduğu belirlenen 121 izolatın disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antibiyotik duyarlılıkları Tablo 8’de verilmiştir. İzole edilmiş olan karbapenem dirençli bakterilerden imipenem ve meropenem dirençleri sırasıyla %30,5 ve %84,61 bulundu. İmipenem ve meropenem direnç birlikteliği %24,3 olarak belirlendi. İzolatların %94’inde kinolon direnci bulunduğu ve in-vitro etkinliği en yüksek olan antibiyotiklerin sırasıyla amikasin, fosfomisin ve trimetoprim-sulfametoksazol olduğu gözlemlendi (Tablo 8).

Tablo 8: İzolatların antibiyotik duyarlılıkları(%)

ANTİBİYOTİK	DUYARLI	ORTA DUYARLI	DİRENÇLİ
Piperasilin-Tazobaktam	1 (0,82)	2 (1,65)	115 (95,04)
Sefepim	8 (6.61)	5 (4,13)	108 (89,25)
Seftazidim	4 (3,3)	0	110 (90,90)
Sefalekssin	36 (29,75)	1 (0,82)	41 (33,88)
Seftriakson	3 (2,47)	1 (0,82)	117 (96,69)
Levofloksasin	7 (5,78)	0	111 (91,73)
Siprofloksasin	2 (0,82)	4 (3,30)	115 (95,04)
Gentamisin	36 (29,75)	1 (0,82)	84 (69,42)
Tobramisin	14 (11,57)	2 (1,65)	94 (77,68)
Amikasin	94 (77,68)	18 (14,87)	9 (7,43)
Ertapenem	2 (1,65)	1 (0,82)	117 (96,69)
İmipenem	66 (54,54)	16 (13,22)	36 (29,75)
Meropenem	11 (9,09)	7 (5,78)	99 (81,81)
Fosfomisin	62 (51,23)	2 (1,65)	18 (14,87)
Nitrofurantion	6 (4,95)	5 (4,13)	69 (57,02)
Trimetoprim-Sulfametoksazol	69 (57,02)	3 (2,47)	47 (38,84)

4.3. Hastaların Demografik Özellikleri ve Risk Faktörleri

Belirtilen tarihler arasında 97 hastadan 121 karbapenem dirençli izolat elde edildi. Bakterilerin elde edildiği hastaların yaşları 5-94 (Mean 63 ve SD±17) ve erkek/kadın oranı 56/41 olarak bulundu. Hastaların %39'u yoğun bakım, %16'sı hematoloji veya onkoloji ve geri kalanların muhtelif servislerde tedavi aldığı belirlendi.

Hastalarda mevcut olan alta yatan hastalık olarak en yüksek oranda visseral organ ilişkili kanser (%36,6), diabetes mellitus (%28,7), yüksek tansiyon (%19) ve KOAH (%11) bulunduğu belirlendi (Tablo 9). Hastaların 40 (%41,23)'ü tedavi sırasında ölmüştü. Tedavi sırasında ölen hastaların kronik hastalıklarına bakıldığında malignitesi olan hastalarda yüksek olduğu (%62,5) belirlendi.

Tablo 9: KDE izole edilen hastalarda mevcut alta yatan hastalıklar

ALTTA YATAN HASTALIK	N (%)
Serebrovasküler hastalık	5 (5,15)
Hemipleji, tetrapleji, parapleji	
Koledokolitiazis	5 (5,15)
Pnömonikonyoz	2 (2,06)
KOAH	11 (11,34)
Hepatit	4 (4,12)
Diabet	29 (29,89)
Kanser	32 (32,98)
Mide, kolon, akciğer, böbrek, pankreas, mesane, prostat, nazofarenks, serviks, over, endometrium, hepatosellüler, kolanjiosellüler	
Hematolojik malignite	9 (9,27)
Lenfoma, lösemi, multiple miyelom	
Karaciğer Transplantasyonu	1 (1,03)
Morbidobez	1 (1,03)
Derin ventrombozu	1 (1,03)
Hidronefroz	1 (1,03)
Böbrek yetmezliği (akut/kronik)	8 (8,24)
Hipertansiyon	19 (19,58)
Kronik kalp yetmezliği	3 (3,09)
BPH	3 (3,09)
Nörojenik mesane	1 (1,03)
Arnold Chiari Sendromu	1 (1,03)
Demans	1 (1,03)
Parkinson	1 (1,03)
Miyokart enfartusu	1 (1,03)
Çoklu travma	1 (1,03)
Chron hastalığı	1 (1,03)

Hastalara uygulanan antibiyotik tedavileri değerlendirildiğinde en fazla kullanılan antibiyotiklerin meropenem (%52,57), seftriakson (%31), teikoplanin (%27,83), siprofloksasin (%17,52) ve benzer oranlarda piperasilin-tazobaktam ile

kolistin (%13,40) olduğu gözlemlendi (Tablo 10). Hastaların %19,58'i bir, %21,64'ü iki, %44'ü ise üç veya daha fazla grup antibiyotik tedavisi almıştı. Hastaların %13,4'ünde herhangi bir antibiyotik kullanım öyküsü bulunamadı.

Tablo 10: KDE izole edilen hastaların tedavisinde yer aldığı belirlenen antibiyotikler

ANTİBİYOTİKLER	N (%)
Seftriakson	30 (30,92)
Siprofloksasin	17 (17,52)
Amikasin	3 (3,09)
Moksifloksasin	13 (13,40)
Targocid	3 (3,09)
Meropenem	51 (52,57)
Metronidazol	9 (9,27)
Teikoplanin	27 (27,83)
Levofloksasin	2 (2,06)
Ertapenem	12 (12,37)
Sefuroksim	2 (2,06)
Ampisilin-sulbaktam	12 (12,37)
Piperasilin-tazobaktam	13 (13,40)
Kolistin	13 (13,40)
Trimetoprim- sulfametoksazol	3 (3,09)
Sefazolin	6 (6,18)
Linezolid	5 (5,15)
Vankomisin	2 (2,06)
Klindamisin	1 (1,03)
Rifampisilin	1 (1,03)
Gentamisin	1 (1,03)
İmipenem	1 (1,03)
Trimetoprim	2 (2,06)
Klaritromisin	1 (1,03)
Seftazidim	1 (1,03)

Karbapenem dirençli *E.coli* ve *Klebsiella spp.* izole edilmeden önce hastalara uygulanmış olan girişimler hastane otomasyon sisteminden sağlanan veriler yoluyla kaydedildi (Tablo 11) 72 (%74) hastaya ERCP, endoskopi, trakeostomi ve PEG daha fazla olmakla histeroskopi, anjioplasti, renal diyaliz, gastroenterostomi v.b. invaziv girişim uygulanmıştı.

Tablo 11: KDE izole edilen hastalara uygulandığı belirlenen invaziv girişimler

GİRİŞİMLER	N (%)
İnvaziv Girişim	1 (1,03)
ERCP	5 (5,15)
Gastroenterostomi	2 (2,06)
Karaciğer Biyopsisi	1 (1,03)
Endoskopi	4 (4,12)
Sonda	2 (2,06)
Mesane Stent Operasyonu	1 (1,03)
Kolesistektomi	1 (1,03)
Anjiyoplasti	3 (3,09)
Splenektomi	1 (1,03)
Göğüs Tüpü	1 (1,03)
TUR	2 (2,06)
Sistoskopi	2 (2,06)
Katarakt Ameliyatı	1 (1,03)
Büyük Kemik Cerrahisi	2 (2,06)
Trakeostomi	4 (4,12)
PEG	3 (3,09)
GİS Perforasyonu nedeniyle ameliyat	1 (1,03)
İleus Operasyonu	1 (1,03)
Kalp Pili	1 (1,03)
Renal diyaliz	3 (3,09)
Kolon ameliyatı	2 (2,06)
Histerektomi	3 (3,09)
Lomber enstrümantasyon çıkarılması	1 (1,03)
İnguinal Embolektomi	1 (1,03)
Beyin tümörü ameliyatı	1 (1,03)

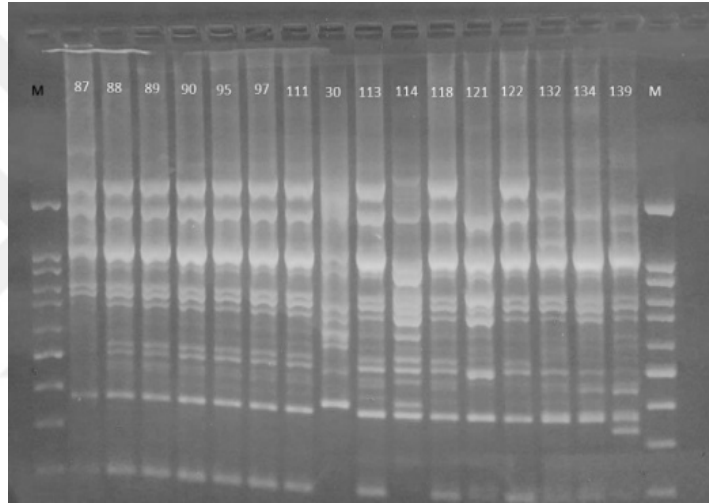
4.4. Karbapenemaz Varlığının CİM Testi ile Gösterilmesi

Benzerlik gösteren 75 izolatın oluşturduğu 15 farklı kümeden seçilen 32 izolata CIM testi uygulandı. İzolatların ikisi dışında tümünde CİM testi pozitif bulundu.

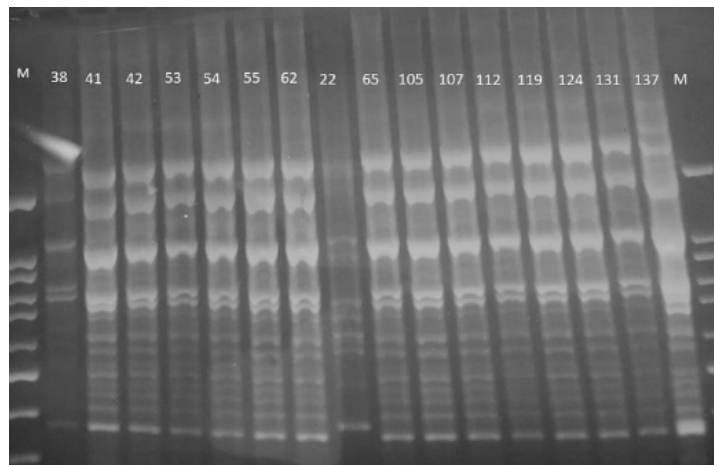
4.5. İzolatların Moleküler Epidemiyolojisi

Çalışmaya dahil edilen 121 izolat içinden stok kültürden canlı olarak bulunan toplam 81 *K. pneumoniae* izolatı için AP-PCR yapıldı. İzolatlar 21 farklı AP-PCR profili gösterirken izolatların 74'ü herhangi bir küme içinde yer aldı. İzolatların kümeleşme oranı %91 bulundu. En büyük kümenin 14 izolatın yer aldığı genotip-8, diğer kümelerin sırasıyla; genotip-2 (8 izolat), genotip-3 (7 izolat), genotip-16 (7 izolat), genotip-1 (6 izolat), genotip-4 (6 izolat), genotip-10 (5 izolat), genotip-6 (5

izolat), genotip-11 (4 izolat), genotip-13 (3 izolat), genotip-9 (3 izolat), genotip-5 (2 izolat) genotip-17 (2 izolat) ve genotip-18 (2 izolat) olduğu belirlendi (Şekil 23). Belirlenen genotiplere göre izolatların elde edildikleri örneklerin ve izole edildikleri tarihlerin özeti Tablo 12’de gösterildi. Çalışmamıza dahil edilen izolatların AP-PCR ile kümeleşme oranı oldukça yüksek olarak bulundu. Çalışmamızda benzerlik sınırı %90 olarak belirlendi, ancak yoğun bakımlardaki hastalardan izole edilen suşları kapsayan genotip-8 ve genotip-2 kümesi arasındaki benzerlik oranı %86,3 gibi yüksek bir oranda bulundu. Bu durum klasik epidemiyolojik verilerle yorumlandığında anlamlı kümeleşme nedeniyle her kümedeki izolatların klonal ilişkilerinin de red edilemeyeceğini düşündürdü.



Şekil 21: C3 Yoğun Bakım Ünitesi 87-88-89-90-95-97-111-30(*E.coli*)-113-114-118-121-122-132-134-139 numaralı izolatlar



Şekil 22: Üroloji Servisi 38-41-42-53-54-55-62-22(*E.coli*)-65-105-107-112-119-124-131-137 numaralı izolatlar

Tablo 12: Belirlenen genotiplerin ait olduğu izolatların elde edildikleri örnekler ve izole edilme tarihleri

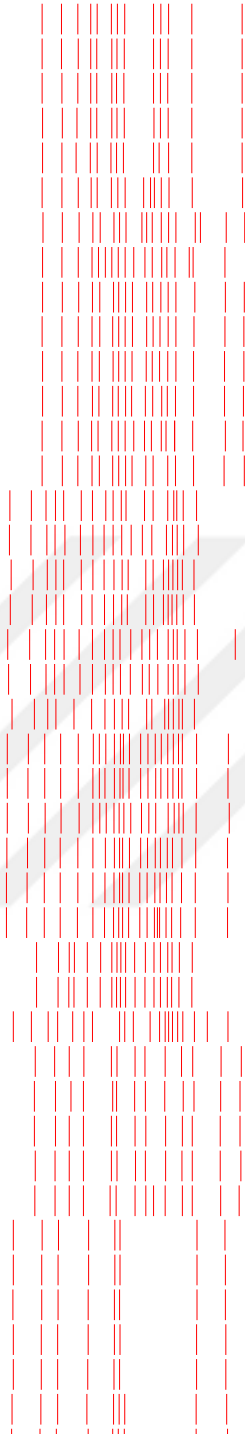
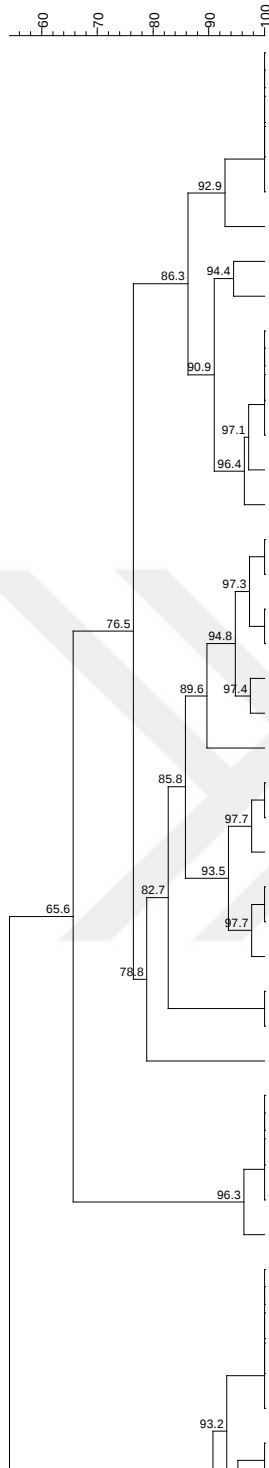
İzolat No	Genotip	Örnek	Tarih	Lokalizasyon
88	1	Trakeal Aspirat	25.04.2017	C3YB
89	1	Kan Kültürü	24.04.2017	C3YB
90	1	İdrar	25.03.2017	C3YB
95	1	Trakeal Aspirat	04.05.2017	C3YB
97	1	İdrar	17.02.2017	C3YB
111	1	Kan Kültürü	21.06.2017	C3YB
113	2	İdrar	23.06.2017	C3YB
114	2	Balgam	28.06.2017	C3YB
118	2	Trakeal Aspirat	07.07.2017	C3YB
121	2	Trakeal Aspirat	13.07.2017	C3YB
122	2	Kan Kültürü	20.07.2017	C3YB
132	2	Kan Kültürü	25.09.2017	C3YB
134	2	Kan Kültürü	20.10.2017	C3YB
139	2	Apse	23.11.2017	C3YB
65	3	İdrar	09.01.2017	Üroloji
105	3	İdrar	13.06.2017	Üroloji
107	3	İdrar	15.06.2017	Üroloji
112	3	Kan Kültürü	21.06.2017	Üroloji
119	3	İdrar	07.07.2017	Üroloji
124	3	İdrar	21.07.2017	Üroloji
131	3	İdrar	19.09.2017	Üroloji
41	4	İdrar	28.09.2016	Üroloji
42	4	İdrar	05.10.2016	Üroloji
53	4	İdrar	18.11.2016	Üroloji
54	4	İdrar	25.11.2016	Üroloji
55	4	İdrar	05.12.2016	Üroloji
62	4	İdrar	22.12.2016	Üroloji
39	5	Trakeal Aspirat	05.08.2016	B3YB
75	5	İdrar	17.03.2017	B3YB
137	6	Doku	08.11.2017	Üroloji
81	7	Kan Kültürü	04.04.2017	B3YB
108	7	Kan Kültürü	15.06.2017	B3YB
116	7	Trakeal Aspirat	01.07.2017	B3YB
120	7	İdrar	13.07.2017	B3YB
123	7	Kan Kültürü	10.07.2017	B3YB
57	8	İdrar	04.12.2016	C3YB
60	8	İdrar	20.12.2016	C3YB
63	8	Trakeal Aspirat	29.12.2016	C3YB
66	8	Trakeal Aspirat	12.01.2017	C3YB
67	8	Kan Kültürü	09.02.2017	C3YB
68	8	Periton	17.02.2017	C3YB
70	8	Trakeal Aspirat	17.02.2017	C3YB
71	8	Trakeal Aspirat	17.02.2017	C3YB
74	8	Trakeal Aspirat	15.03.2017	C3YB
78	8	Kan Kültürü	17.03.2017	C3YB
83	8	İdrar	13.04.2017	C3YB
86	8	İdrar	17.04.2017	C3YB
36	9	Periton	05.06.2016	Onkoloji
37	9	Kan Kültürü	30.06.2016	Hematoloji
92	9	Trakeal Aspirat	28.04.2017	B3YB
44	10	Balgam	11.10.2016	Göğüs
46	10	İdrar	18.10.2016	Nöroloji
76	10	Bronş Lavajı	17.03.2017	Göğüs

Tablo 12: (devamı)

İzolat No	Genotip	Örnek	Tarih	Lokalizasyon
82	10	İdrar	10.04.2017	Genel Cerrahi
110	10	Kan Kültürü	19.06.2017	Genel Cerrahi
93	11	Kan Kültürü	28.04.2017	KVC
103	11	İdrar	09.06.2017	NRŞ
109	11	Yara	19.06.2017	B4YB
138	11	Balgam	21.11.2017	Onkoloji
94	12	Kan Kültürü	28.04.2017	Hematoloji
72	13	Balgam	23.02.2017	Onkoloji
73	13	Balgam	15.03.2017	Onkoloji
127	13	İdrar	31.07.2017	Onkoloji
32	16	İdrar	22.03.2016	C3YB
75	16	İdrar	17.03.2017	Ortopedi
80	16	İdrar	24.03.2017	Enfeksiyon
91	16	İdrar	25.04.2017	Kardiyoloji
100	16	İdrar	31.05.2017	Jinekoloji
115	16	Doku	02.07.2017	Acil
133	16	Kan Kültürü	10.10.2017	Ortopedi
125	17	Kan Kültürü	31.07.2017	Endokrin
128	17	Kan Kültürü	31.07.2017	Gastroenteroloji
140	18	İdrar	12.12.2017	Nefroloji
141	18	Kan Kültürü	26.12.2017	Gastroenteroloji

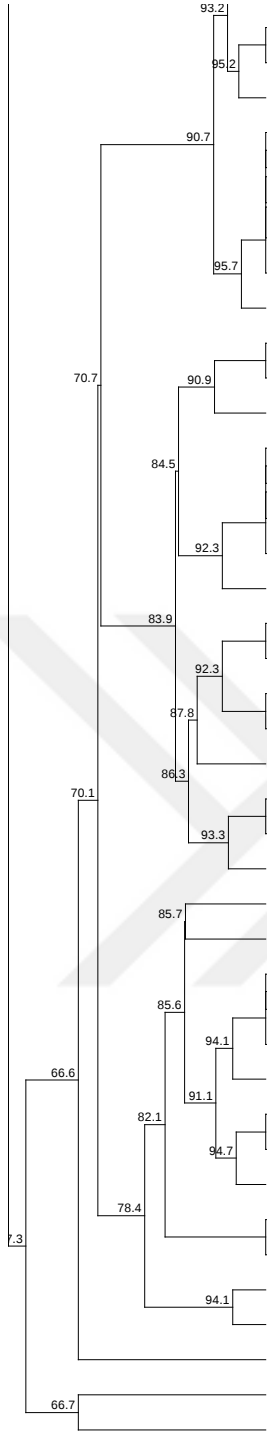
Klebsiella pneumoniae AP-PCR

Klebsiella pneumoniae AP-PCR



No	Bölüm	Genotip
97	C3 YB	1
95	C3 YB	1
90	C3 YB	1
89	C3 YB	1
88	C3 YB	1
111	C3 YB	1
139	C3 YB	2
114	C3 YB	2
134	C3 YB	2
132	C3 YB	2
122	C3 YB	2
118	C3 YB	2
113	C3 YB	2
121	C3 YB	2
112	Üroloji	3
107	Üroloji	3
124	Üroloji	3
119	Üroloji	3
65	Üroloji	3
105	Üroloji	3
131	Üroloji	3
55	Üroloji	4
54	Üroloji	4
62	Üroloji	4
53	Üroloji	4
42	Üroloji	4
41	Üroloji	4
77	B3 YB	5
39	B3 YB	5
137	Üroloji	6
81	B3 YB	7
123	B3 YB	7
116	B3 YB	7
108	B3 YB	7
120	B3 YB	7
78	C3 YB	8
74	C3 YB	8
71	C3 YB	8
70	C3 YB	8
68	C3 YB	8
67	C3 YB	8

Şekil 23: Değerlendirilen izolatlarda belirlenen AP-PCR profilleri

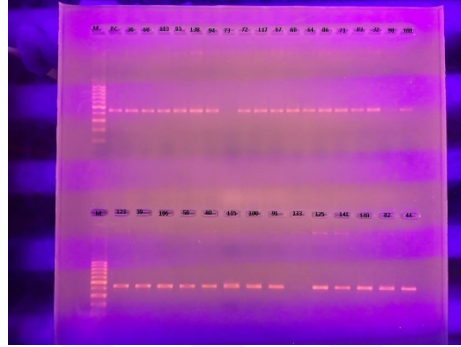


67	C3 YB	8
63	C3 YB	8
83	C3 YB	8
66	C3 YB	8
64	C3 YB	8
60	C3 YB	8
57	C3 YB	8
56	C3 YB	8
86	C3 YB	8
37	Hematoloji	9
36	Onkoloji	9
92	B3 YB	9
82	Genel Cerrahi	10
76	Göğüs hst	10
44	Göğüs hst	10
110	Genel Cerrahi	10
46	Nöroloji	10
109	B4 YB	11
103	NRS	11
93	KVC	11
138	Onkoloji	11
94	Hematoloji	12
73	Onkoloji	13
127	Onkoloji	13
72	Onkoloji	13
58	Ortopedi	14
106	Jinekoloji	15
32	C3 YB	16
115	Ortopedi	16
100	Jinekoloji	16
91	Kardiyoloji	16
80	Enfeksiyon	16
75	Acil	16
133	Ortopedi	16
128	Endokrin	17
125	Gastroenteroloji	17
141	Gastroenteroloji	18
140	Nefroloji	18
87	C3 YB	19
98	B3 YB	20
117	Acil	21

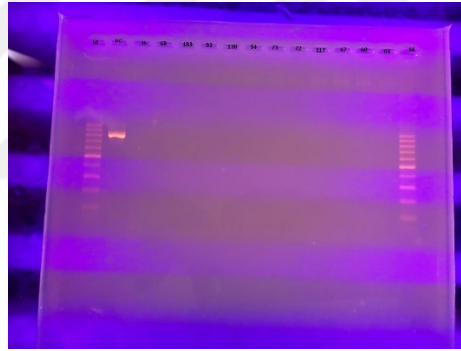
Şekil 23: devamı

4.6. Karbapenem Dirençli Türlerin Enzim Tipleri

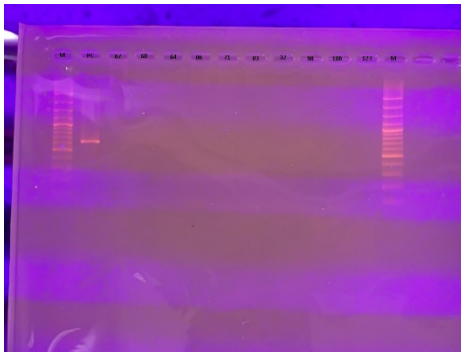
Benzerlik gösteren 21 farklı kümeden seçilen temsili 32 izolata en sık görülen karbapenemaz gen bölgeleri araştırıldı. İzolatların biri dışında tümünde OXA-48 enzimi belirlendi. İzolatlarda KPC, IMP ve NDM tespit edilmedi.



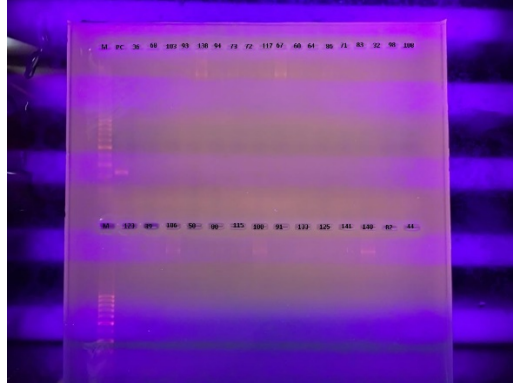
Şekil 24: OXA-48 enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol



Şekil 25: KPC enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol



Şekil 26: NDM enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol



Şekil 27: İMP enziminin amplifikasyon ürününün jel görüntüsü. Markır, PK: Pozitif kontrol

5. TARTIŞMA

Antibiyotik direnci dünya çapında temel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu sorunun oluşturduğu tehlike 2013 yılında Davos Ekonomik Forumu'nda dünya liderleri tarafından da kabul edilmiştir. Antibiyotik direncinin Avrupa için oluşturacağı mali yükün 1.5 milyon avro olacağı tahmin edilmektedir. Yakın gelecekte çoklu dirence sahip olan bakterilere karşı yeni ve etkili antibiyotik geliştirilme umudunun da olmaması tedavi için umutsuzluk oluşturmaktadır (92).

Karbapenemler, 1980'li yılların erken dönemlerinden itibaren çoklu ilaç direncine sahip gram negatif bakterilerlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde son seçenek ilaç olarak kullanılmışlardır. KDE'nin yayılımı hakkında 2000'li yılların başına kadar yeterli veri bulunmamaktadır. Özellikle geçtiğimiz son beş yılda daha yoğun olmak üzere KDE dünya çapında sağlık hizmeti ile ilişkili olan önemli bir patojen haline gelmiştir (93-95). KDE de en yaygın görülen direnç mekanizması ilacın enzimatik inaktivasyonudur. *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenemaz üretimi *K. pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* gibi pek çok türde gösterilmiştir. Bu türlerin içinde en sık gözlenen hastane enfeksiyonu etkenlerinden biri olan *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz ve metallo-beta-laktamaz karbapenem direncinin temel mekanizmasıdır (96). Yaygın ilaç direncine sahip olmaları nedeniyle KDE ile gelişen enfeksiyonların mortalite ve morbiditesi yüksektir (93, 97). KDE ile kolonizasyon için temel rezervuar gastrointestinal sistem olup, mevcut kolonizasyonun enfeksiyon gelişimi kolaylaştırıcı unsur olduğu düşünülmektedir (98). Son yıllarda, çoklu ilaç dirençli bakterilerin toplumda sağlıklı kişilerde asemptomatik taşıyıcılığının da giderek arttığı bildirilmektedir (99-100). Benzer durumun KDE içinde geçerli olduğunun görülmektedir. Sistemik bir derlemede, hastaneye başvuru sırasında hastaların %16,5'nin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ile kolonize olduğu gözlenmiştir (98). Kolonize hastaların başvuru sırasında tespit edilmesinin bakterinin nosokomiyal yayılımını belirgin olarak önleyeceği bildirilmektedir (101,102).

KDE izolatlarının en sık solunum sistemi ve bunu takiben giderek azalan oranlarda üriner sistem, kan, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edildiği gözlenmektedir (98). Çocuk hastaların değerlendirildiği bir çalışmada ise birinci sırada kan (%62,5) ve bunu takiben giderek azalan oranlarda solunum, ventrikül, batin içi ve üriner sistem enfeksiyonları bildirilmiştir (103). Çalışmamızda KDE izole edilen

klirik 6rnekler değerlendirildiğinde en sık idrar (%44,62), kan (%27) ve trakeal aspirat (%16) 6rneklerinin bulunduğu belirlenmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü-CAESAR 2017 raporunda 6lkemiz izolatlarının 6oklu ila6 direnci oranları *E. coli* ve *K. pneumoniae* i6in sırasıyla %18 ve %35 karbapenem direnci oranları ise sırasıyla %3 ve %30 olarak belirlenmiştir. Karbapeneme orta duyarlı olan izolatlarda bu değerlendirmeye alındığında oranların sırasıyla %5 ve %41 olduğu dikkati 6ekmektedir (37). 6alışmamızda, izolatlarımızın toplamında % 2,8 (121/4354) oranında karbapenem direnci bulunmuş, *E. coli* ve *Klebsiella spp.* izolatlarında karbapenem direncinin sırasıyla %0,25 ve %9 olduğu belirlenmiştir. İzolatlarımızda karbapenem direncinin 6lke geneline g6re d6şük bulunmasının nedeninin invaziv izolat sayısının genel değerlendirmeye g6re daha d6şük olmasına bağlı olabileceği d6şün6lmüştür.

KDE nin molek6ler epidemiyolojisi ABD ve d6nyanın diğer b6lgelerinde tanımlanmaya 6alışılmıştır (104-106). Sağlık hizmeti veren kurumlarda KDE ile ilişkili salgınlar ve bağımsız sporadik olgular bildirilmiştir. Bu konuda yapılan molek6ler 6alışmalar multilokus sekans tipi (MLST) 258 (ST258) daha yaygın olmak 6zere ve ST258 ve ST11'in Asya'da yaygın olduğunu g6stermektedir (107).

KDE ile kolonizasyon ve enfeksiyonu olan hastalar değerlendirildiğinde bu hastalarda bazı ortak 6zelliklerin olduğu g6zlenmiştir. Bu 6zellikler KDE ile kolonizasyon ve/veya enfeksiyonu kolaylaştıran fakt6rler olarak tanımlanmışlardır. Yapılan farklı 6alışmalarda, geniş spektrumlu antibiyotiklere uzun s6re maruz kalma, uzun s6reli yatarak sağlık bakım hizmeti alma, kalıcı tıbbi cihazlara ve imm6n sistemi baskılayacak tedavi veya klinik durumlara maruziyet erişkinlerde KDE ile kolonizasyon veya enfeksiyon i6in risk fakt6rleri olarak tanımlamıştır (108-113, 106, 50, 4, 105). KDE izole edilen hastalarda kanser, diabetes mellitus insan imm6n yetmezlik vir6sü ve kardiyovask6ler hastalık varlığının en sık bildirilen ko-morbidit durumlar olduğu g6zlenmektedir (114, 109). 6nceki 3 ay i6erisinde antipseudomonal antibiyotik maruziyeti, ge6irilmiş ameliyat 6yk6sü ve mekanik ventilasyon desteği 6ocuklarda risk fakt6rleri olarak tanımlanmıştır (103).

Kofteridis ve ark., KDKP enfeksiyonu i6in, 6nceki cerrahi işlem ve b6brek hastalığı varlığını bağımsız risk fakt6r6 olarak belirlemiş, antimikrobiyale maruz kalma ile KDKP arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır. Aynı 6alışmada KDKP izole edilen hastaların yaş ortalaması 79 (28-101) bulunmuştur. KDiKP ve KD6KP en fazla idrardan ikinci sıklıkta kandan izole edilmiş, herhangi bir *K. pneumoniae* suşunun

izolasyonu kontrol grubuna kıyasla daha yüksek mortalite ile ilişkili bulunmuştur (106).

CRACKLE çalışmasında KDE izole edilen hastaların yaş ortalaması 70 (51-81) olarak belirlenmiş, kadın hastalarda erkeklere göre hafif olarak yüksek oran (%60) bildirilmiştir. Eşlik eden komorbid durumlar olarak diyabet (%56), kalp hastalığı (%57), böbrek yetmezliği (%26) bulunmuştur (115). Benzer olarak CDC, KDE izole edilen hastalar için yaş ortalamasının 66 (<1-100) ve hastaların %59'unu kadın olarak tanımlamıştır (36). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak KDE izole edilen hastaların genel olarak düşük ve yaşlı hastalar olduğu belirlenmiştir. Hastalarımızın yaş ortalaması 63 olmakla birlikte yaş dağılımının 5 ile 96 arasında olduğu, çocuk hastaların onkoloji servisinde bulunduğu gözlenmiştir. Erkek ve kadın cinsiyet arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen erkek hastalarda oran daha yüksek (%59) bulunmuştur. KDE izole edildiği sırada hastaların %39'unun yoğun bakım, %16'sının hematoloji veya onkoloji ve geri kalanların da muhtelif servislerde tedavi aldığı belirlenmiştir. KDE izole edilen hastaların %66'sının önceki yatış öyküsü olduğu bulunmuştur. KDE izole edilmeden önce uygulanan antibiyotik tedavileri değerlendirildiğinde sırasıyla meropenem (%51), seftriakson (%31), teikoplanin (%27,6), siprofloksasin (%13), piperasilin-tazobaktam ve kolistinin (%13,3) en sık tercih edilen antibiyotikler olduğu gözlenmiştir. Tedavileri süresinde KDE izole edilen hastaların %19,58'i bir, %21,64'ü iki, %44'ü ise üç veya daha fazla grup antibiyotik tedavisi almıştır. Antibiyotik kullanımı ile KDE ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalarda farklı sonuçların bulunduğu gözlenmektedir. Kofteridis ve ark. antibiyotik kullanımının KDE ile enfeksiyon gelişmesi için bir risk faktörü olmadığını bildirirken (106), Loon ve ark.'ları karbapenem ve sefalosporin grubu antibiyotik kullanımının önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir (116). Çalışmamızda KDE izole edilen hastalarda mevcut olan altta yatan hastalık olarak en yüksek oranda visseral organ ilişkili kanser (% 36,6), diabetes mellitus (% 28,7), yüksek tansiyon (% 19) ve KOAH (% 11) bulunduğu, hastaların %44.9'unun tedavi sırasında öldüğü belirlenmiştir. Ölen hastaların %62,5'inde malignite olduğu gözlenmiştir. Dünya genelinde en yaygın karbapenemaz olan KPC'yi üreten *K. pneumoniae* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların mortalitesi üzerine yapılan sistematik bir incelemede bu enfeksiyonlarda mortalite oranı %41 olarak bulunmuştur. Mortalite ülkeye ve hasta tipine göre değişmekle birlikte en duyarlı hastalarda en yüksek oranda gözlenmiştir. En yüksek oranların Brezilya için (%51) ve en düşük

oranların ABD ve Çin için tespit edilmesi üzerine bu sonucun sağlık hizmetlerine ayrılan kaynaklara ve sonuç olarak da sağlanan sağlık hizmeti kalitesi ile orantılı olabileceği düşünülmüştür. Onkoloji hastalarında mortalite oranı %50 olarak bulunmuş, eşlik eden sepsis, organik bozukluk ve metastaz kolaylaştırıcı unsurlar olarak belirlenmiştir. Transplantasyon yapılan hastalarda mortalite düzeyi %52,5 olarak tespit edilmiş, uygulanan immünsüpresyonun çoklu ilaç direnci olan bakteri kolonizasyonunu arttırdığı düşünülmüştür (117).

Akgül ve ark.'ları dört yıllık bir süreçte KDE izole edilen hastaları değerlendirerek mekanik ventilasyon, trakeostomi, üriner kateterizasyon, santral venöz kateter, nazogastrik tüp, total parenteralnütrisyon ve acil müdahale uygulamalarının bu hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak fazla bulunduğunu belirlemişlerdir (5). Benzer olarak CDC çalışmasında da girişimsel uygulamaların belirgin risk unsuru olduğu belirtilerek, hastaların %75'inde üriner kateter, %43'ünde santral venöz kateter ve %39'da beslenme kateteri mevcudiyeti bildirilmiştir (36). Bizim çalışmamızda da hastaların % 74'ünde benzer girişimsel uygulamaların bulunduğu, bu girişimsel uygulamaların içinde en sık ERCP, endoskopi, trakeostomi, PEG, renal diyaliz, anjioplasti ve histerektominin yer aldığı bulunmuştur.

Global olarak KPC enzimi *Enterobacteriaceae* içinde en sık görülen karbapenemaz olup KPC-2 ve KPC-3 en sık görülen alt tipleridir. Klonal yayılım gösteren KPC enziminin başarılı yayılması ST258 klonu sayesinde olmuştur. KPC enzimi daha sıklıkla Amerika Birleşik Devletleri, Brezilya, Kolombiya, İtalya, Yunanistan ve Çin'de belirlenmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin neredeyse tümünde KPC enzimi bulunmaktadır. NDM, Hindistan, Pakistan ve Bangladeş'te en sık bulunan enzimdir. İlk kez ülkemizde tanımlanan OXA-48, global yayılım gösteren üçüncü karbapenemaz türüdür. Kuzey Afrika ülkeleri de dahil olmak üzere Akdeniz ülkelerinde Ve Avrupa'da salgınlar oluşturmalarının yanı sıra sporadik olgularda bildirilmektedir (45).

Ülkemizde OXA-48 yaygın olmakla birlikte az miktarda da olsa diğer enzim tiplerinin tespit edildiği gözlenmektedir (Tablo 13). İstanbul'da Kuşkucu ve ark. 2012 yılında 4052 *E. coli* izolatının 24'ünde KDE (%0,59) bulmuş, 5 izolatta OXA-48 ve 2 izolatta KPC enzimi belirlemiştir(46). Ankara'da Baran ve ark.,181 KDE izolatının 86'sında OXA-48, birinde NDM, üç izolatta OXA-48+NDM ve bir izolatta OXA-48+VIM bulmuştur (118). Çakar ve ark.'ları 2014 yılında her merkezden üretilen ilk

10 KDE izolatinın toplanarak yapıldığı çok merkezli bir çalışmada çoğu *K. pneumoniae* içeren 155 izolat inceleyerek *E.coli*'lerin %94,7'sinde, *K. pneumoniae* izolatlarının %83,1'de OXA-48 bulmuştur. NDM, VIM ve IMP bu çalışmada az sayıda bulunmakla birlikte, üç izolatta OXA-48+NDM, üç izolatta OXA-48+VIM ve bir izolatta VIM+NDM belirlenmiştir (119). Telli ve ark.'ları Ege bölgesinde 11 hastaneden topladıkları 156'sı *K. pneumoniae* olan 164 izolatın %46'sında OXA-48 bulurken, %36,8'inde OXA-48+NDM belirlemişlerdir. Aynı çalışmada izolatların %16,6'sının NDM üreticisi olduğu gözlenmiştir (120). Bizim çalışmamızda AP-PCR sonuçlarına göre benzerlik gösteren 75 izolatın oluşturduğu 15 farklı kümeden seçilen temsili 32 izolatın birisi dışında tümünde OXA-48 bulunmuştur. Ülkemizde az sayıda da olsa farklı merkezlerden bildirilen KPC, İMP ve NDM izolatlarımızda bulunmamıştır.

Tablo 13: Ülkemizden farklı merkezlerden bildirilen karbapenemaz genleri

Referans	KDE	<i>E. coli</i>					<i>K.pneumoniae</i>				
		OXA-48	KPC	NDM	VIM	IMP	OXA-48	KPC	NDM	VIM	IMP
Kuşkucu ve ark., 2012 (46)	4052 <i>E. coli</i> izolatı, %0,59 KDE	5/24	2/24								
Karaaslan, 2013 (126)	1840 rektalsürüntü, %9 KDE	6/55					37/69				
Baran ve ark., 2013 (123)	181 KDE izolatı	%61,54					%75,36	%7,25	%1,45		
Çakar ve ark., 2014 (124)	155 izolat 21 <i>E. coli</i> , 134 <i>K. pneumoniae</i>	18/21		1/21			121/134	8/134	4/134	2/134	
Telli ve ark., 2015 (125)	163 izolat 4 <i>E.coli</i> , 156 <i>K. pneumoniae</i>	3/4		1/4			69/156	1/156	26/156		
Çizmeci ve ark., 2107 (127)	76 izolat	1					49	13		1	

Moleküler yöntemler karbapenemaz kodlayan genlerin belirlenmesinde altın standart olmasına rağmen, bu yöntemlerin teknik donanımının her merkezde bulunmaması, maliyetlerinin yüksek olması, yeni enzim türlerinin tanımlanmasının yetersizliği gibi olumsuzlukları da mevcuttur (48). Karbapenem üretiminin hızlı ve düşük maliyetle gösterilebilmesi için geliştirilmiş olan CarbaNP ve CIM testleri yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip fenotipik yöntemlerdir (48, 66, 68-70). Çalışmamızda PCR ile OXA-48 tespit edilen izolatlarda, ikisinde negatif olmakla birlikte, diğerlerinde CIM testi pozitif bulunmuştur.



6. SONUÇ

1. Temmuz 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında, 4354 izolat incelendi, izolatlarda karbapenem direnci *E. coli* ve *Klebsiella* spp. için sırasıyla %0,25 ve %9 olarak belirlendi.
2. İzolatların elde edildiği hastaların yaşları 5-94 (Mean 63 ve SD±17), erkek/kadın oranı 56/41 olarak bulundu. Cinsiyet farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen erkek hastalarda daha yüksek sayıda olduğu tespit edildi.
3. KDE izole edilen hastaların %66'sının önceki yatış öyküsünün bulunduğu ve %44,9'unun tedavi sırasında öldüğü belirlendi.
4. İzolatların elde edildiği hastalarda altta yatan hastalık olarak en yüksek oranda visseral organ ilişkili kanser (%36,6), diyabet (%28,7), yüksek tansiyon (%19) ve KOAH (%11) bulunduğu belirlendi.
5. KDE izole edilen hastaların %39'u yoğun bakım, %16'sı hematoloji veya onkoloji ve geri kalanları muhtelif servislerde tedavi almışlardı.
6. KDE izole edilen hastalarda mekanik ventilasyon, trakeostomi, ürinerkateter varlığı, ileri yaş, akut böbrek yetmezliği, SVO, DM gibi faktörler ve antibiyotik kullanımının belirgin ortak özellikler olduğu belirlendi.
7. KDE izole edilen hastaların tedavisi sırasında en fazla kullanılan antibiyotiklerin meropenem (%51), seftriakson (%31), teikoplanin (%27,6), siprofloksasin (%13) ve benzer oranlarda piperasilin-tazobaktam ile kolistin (%13,3) olduğu, hastaların %19,58'inin bir, %21,64'ünün iki, %44'ünün ise üç veya daha fazla grup antibiyotik tedavisi aldığı tespit edildi. Hastaların %13,4'ünde herhangi bir antibiyotik kullanım öyküsü bulunamadı. Meropenemin en fazla kullanılan antibiyotik olduğu ve izolatlarda meropenem direncinin imipeneme göre belirgin olarak yüksek olduğu bulunmuştur.
8. Bu çalışmada epidemiyolojik analiz yapılan 81 *K. pneumoniae* izolatı 21 farklı AP-PCR profili gösterirken izolatların 74'ü herhangi bir küme içinde yer aldığı belirlendi. İzolatların kümeleşme oranı %91 bulundu. Bazı yoğun bakımlardaki hastalardan izole edilen suşları kapsayan genotip kümeleri arasındaki benzerlik oranı %86,3 gibi yüksek bir oranda bulundu. Bu durum her kümedeki izolatların tümünün klonal olarak ilişkili olabileceğini gösterdi. Bu nedenle halen birçok bakteri için altın standart genotiplendirme yöntemi olan PFGE ile suşlar arasındaki klonal yakınlığın doğrulanmasına ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

9. Benzerlik gösteren izolatların arasından seçilen 32 izolata CIM testi uygulandı. İzolatların ikisi dışında tümünde CİM testi pozitif bulundu.
10. Benzerlik gösteren izolatların arasından seçilen ve CIM testi uygulanan temsili 32 izolatta en sık görülen karbapenemaz gen bölgeleri araştırıldı. İzolatların biri dışında tümünde OXA-48 enzimi belirlendi.



7. KAYNAKLAR

1. Nicolau DP. Carbapenems: a potent class of antibiotics. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 9:1,23-37, 2008
2. Potter RF, D'Souza AW, Dantas G. The rapid spread of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*. *Drug Resistance Updates* 29:30–46, 2016
3. Ramos JA, Ruano A, Barbosa R, Paillier JE, Saldana JC, Salinas DF, Lemos EV. Mortality due to KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: Systematic review and meta-analysis Mortality due to KPC *Klebsiella pneumoniae* infections. *Journal of Infection* 0163-4453/c, 2018
4. Schwaber MJ, Klarfeld S, Navon S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adult and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 52(3):1028–33, 2008
5. Akgul F, Bozkurt I, Sunbul M, Esen S, Leblebicioglu H. Risk factors and mortality in the Carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: case control study. *Pathogens and Global Health* 110:7-8,321-325, 2016.
6. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. *Medical sciences* 6, 1, 2018
7. Papadimitriou M, Marangos M, Fligou F, Christofidou M, Sklavou C, Vamvakopoulou S, Anastassiou ED, Filos KS. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization acquired during intensive care unit stay: the significance of risk factors for its development and its impact on mortality. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 77,169–173, 2013
8. Magiorakos AP et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 6:113, 2017
9. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Rubinstein DJ, Noreddin AM, Karlowsky JA. Comparative Review of the Carbapenems. *Drugs* 67 (7):1027-1052, 2007
10. El-Gamal M, Brahim I, Hisham N, Aladdin R, Mohammed H, Bahaaeldin A. Recent updates of carbapenem antibiotics. *European Journal of Medicinal Chemistry* 131:185-195, 2017

11. Yang Y, Bhachech N, Bush K. Biochemical comparison of imipenem, meropenem and biapenem: permeability, binding to penicillin-binding proteins, and stability to hydrolysis by beta lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 35;75-84, 1995
12. Majumdar, A.K, Musson, D. G, Birk, K. L. et al. Pharmacokinetics of ertapenem in healthy young volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46,3506–11, 2002
13. Legua, P, Lema, J, Moll, J. et al. Safety and local tolerability of intramuscularly administered ertapenem diluted in lidocaine: a prospective, randomized, double-blind study versus intramuscular ceftriaxone. *Clinical Therapeutics* 24,434–44, 2002
14. Livermore, D. M, Carter, M. W, Bagel, S. et al. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45,1860–7, 2001
15. Goldstein E. et al. Comparative in vitro activities of ertapenem (MK-0826) against 1,001 anaerobes isolated from human intra-abdominal infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44,2389–94, 2000
16. Shah PM, Isaacs RD. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52,538–542, 2003
17. Keam SJ. Doripenem A Review of its Use in the Treatment of Bacterial Infections. *Drugs* 68(14):2021-2057, 2008
18. Hazra S, Xu H, Blanchard JS. Tebipenem, a New Carbapenem Antibiotic, Is a Slow Substrate That Inhibits the β -Lactamase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochemistry* 53,3671–3678, 2014
19. Hadley JA, Tillotson GS, Tosiello R, Echols RM. Faropenem medoxomil: a treatment option in acute bacterial rhino sinusitis. *Expert review of Anti-infective Therapy* Dec 4(6):923-37, 2006
20. Getting JP, Crank CW, Philbrick AH. Faropenem medoxomil. *Ann Pharmacother* 42(1):80-90, 2008
21. <https://www.avachem.com/product/1723A.asp>
22. Hikida M, Kawashima K, Yoshida M. Inactivation of new carbapenem antibiotics by dehydro peptidase-I from porcine and human renal cortex. *Journal Antimicrob Chemother* 30:129-34, 1992

23. Hikida M, Kawashima K, Nishiki K, et al. Renal dehydro peptidase-I stability of LJC 10,627, a new carbapenem antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother* 36 (2):481-3, 1992
24. Sader HS, Gales AC. Emerging strategies in infectious diseases: new carbapenem and trinem antibacterial agents. *Drugs* 61 (5):553-64, 2001
25. Perry CM, Ibbotson T. Biapenem. *Drugs* 62 (15):2221-2234, 2002
26. Neu HC, Gu JW, Fang W, et al. Invitro activity and betalactamase stability of LJC 10, 627. *Antimicrob Agents Chemother* 36 (7):1418-23, 1992
27. Watanabe A, Tokue Y, Takahashi H, et al. Invitro activity of biapenem (BIPM) against clinically isolated respiratory pathogens in 1996-1998 [in Japanese]. *Jpn J Antibiot* 52 (12):690-4, 1999
28. Yoshida M, Watanabe M, Mitsuhashi S. Invitro antibacterial activity of biapenem, a new carbapenem antibiotic [in Japanese]. *Chemo therapy* 42 Suppl. 4:1-19, 1994
29. Chiba N, Kobayashi R, Hasegawa K. Activity of biapenem and 7 other antimicrobial agents against *Streptococcus pneumoniae* [in Japanese]. *Jpn J Chemother* 50 (3):161-70, 2002
30. Appelbaum PC, Spangler SK, Jacobs MR. Susceptibility of 539 gram-positive and gram-negative anaerobes to new agents, including RP59500, biapenem, trospectomycin and piperacillin/tazobactam. *J Antimicrob Chemother* 32 (2):223-31, 1993
31. Aldridge KE, Morice N, Schiro DD. Invitro activity of biapenem (L-627), a new carbapenem, against anaerobes. *AntimicrobAgents Chemother* 38(4):889-93,1994
32. Goa KL, Noble S. Panipenem/Betamipron. *Drugs* 63 (9):913-925, 2003
33. Khorasani G, Salehifar E, Eslami G. Profile of microorganisms and antimicrobial resistance at a tertiary care referral burn centre in Iran: emergence of *Citrobacter freundii* as a common microorganism. *Burns* 34:947-52, 2008
34. Perez F, Van Duin D. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a menace to our most vulnerable patients. *Cleve Clin J Med* 80:225-33, 2013
35. Xu Y, Gu B, Huang M, Liu H, Xu T, Xia W, Wang T. Epidemiology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) during 2000-2012 in Asia. *J Thoracic Disease* 7(3):376–385, 2015

36. Guh AY, Bulens SN, Mu Y et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in 7 US Communities, 2012-2013. JAMA 314(14):1479-1487, 2015
37. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2017. ISBN: 9789289052993
38. Pitout J, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. Antimicrob Agents Chemother 59,5873–5884, 2015
39. Wozniak A. et al. Porin alterations present in non-carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* with high and intermediate levels of carbapenem resistance in Chile. J Med Microbiol 61,1270–1279, 2012.
40. Tsai YK et al. *Klebsiella pneumoniae* outer membrane porins OmpK35 and OmpK36 play roles in both antimicrobial resistance and virulence. Antimicrob Agents Chemother 55,1485–1493, 2011
41. Davenet SB, Mayer N, Vergalli J, Duprilot M, Brisse S, Pagès JM. In-vivoloss of carbapenem resistance by extensively drug resistant *Klebsiella pneumoniae* during treatment via porin expression modification. Scientific Reports 7:6722, 2017
42. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* World wide. Clinical Microbiology and Infection 20:821–830, 2014
43. Bonomo RA. New Delhi metallo b-lactamase and multidrug resistance: a global SOS? Clin Infect Dis 52:485-7,2011
44. Lovleva A, Doi Y. Carbapenem- Resistant *Enterobacteriaceae*. Clin Lab Med 37 303-315, 2017
45. Poirel L, He_aritier C, Tolun V, Nordman P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 48(1):15–22, 2004
46. Kuskucu MA, Karakullukcu A, Ailiken M, Otlu B, Mete B, Aygun G. Investigation of carbapenem resistance and the first identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzyme among *Escherichia coli* isolates in Turkey: A prospective study. Travel Medicine and Infectious Disease 14, 572e576, 2016

47. Karabay O, Altindis M, Karatuna O, Aydemir ÖA, Erdem AF. The carbapenem-resistant Enterobacteriaceae threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 15:6 DOI 10.1186/s12941-016-0118-4, 2016
48. Yıldız SS, Kaşkatepe B, Avcıküçük H, Öztürk Ş. Performance of carbapenem and ciprofloxacin tests in Oxa-48 carbapenemase-producing *enterobacteriaceae*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 64 (1), pp. 9–16, 2017
49. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiology and Prevention. *Health care Epidemiology CID* 53,d 61, 2011
50. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29:1099–106, 2008
51. Hussein K, Sprecher H, Mashlach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates: Risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. *Infect Control Hosp Epidemiol* 30:666–71, 2009
52. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalised patients during a national outbreak. *J HospInfect* 74:344–9,2010
53. Daikos GL, Petrikos P, Psychogiou M, et al. Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo-beta-lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* blood stream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 53:1868–73, 2009
54. Perez F, Endimiani A, Ray AJ, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* across a hospital system: Impact of post-acute care facilities on dissemination. *J Antimicrob Chemother* 65:1807–18, 2010
55. Karaikos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother* 15:1351–1370, 2014
56. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Guidelines for Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. July 2017 (Version 2.0¹).

57. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum b-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 36:1877–1882, 1992
58. Vercauteren E, Descheemaeker P, Ieven M, Sanders CC, Goossens H. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum b-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* in a Belgian teaching hospital. *J Clin Microbiol* 35:2191–2197, 1997
59. Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center. *J Clin Microbiol* 38:1791–1796, 2000
60. Masuda G, Tomioka S, Hasegawa M. Detection of beta-lactamase production by Gram-negative bacteria. *J Antibiot* 29:662–664, 1976
61. Marchiaro P, Ballerini V, Spalding T et al. A convenient microbiological assay employing cell-free extracts for the rapid characterization of Gram-negative carbapenemase producers. *J Antimicrob Chemother* 62:336–344, 2008
62. Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic acid. *J Clin Microbiol* 48:1323–1332, 2010
63. Hrabák J, Chudáčková E, Papagiannitsis CC. Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clin Microbiol Infect* 20:839–853, 2014
64. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* *Emerging Infectious Diseases* 18:1503–1507, 2012
65. Dortet, L., Poirel L., and Nordmann P. Rapid detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas spp.* *J. Clin. Microbiol.* 50:3773–3776, 2012
66. Aktaş E. et al. Evaluation of the Carbapenem Inactivation Method for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria in Comparison with the Rapidec Carba Np. *Microbial Drug Resistance* 23-4, 2017

67. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Simner PJ, Mandrekar JN, Lolans K, Hayden MK, Patel R. Comparison of a novel, rapid chromogenic biochemical assay, the Carba NP test, with the modified Hodge test for detection of carbapenemase-producing gram negative bacilli. *J. Clin. Microbiol.* 51:3097–3101, 2013
68. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty- Fifth Informational Supplement M100-S25. CLSI, Wayne, PA.
69. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Guidelines for Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. December 2013 (Version 1.0). [EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf](#), accessed January 26, 2016 (Online).
70. Van der Zwaluw K., A. de Haan, G.N. Pluister, H.J. Bootsma, A.J. de Neeling, and L.M. Schouls.. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One* 10:e0123690, 2015
71. Tijet, N., S.N. Patel, and R.G. Melano. Detection of carbapenemase activity in *Enterobacteriaceae*: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. *J. Antimicrob. Chemother* 71:274–276, 2016
72. Pierce VM et al. Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology* 55:2321–2333, 2017
73. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* 17:1791–1798, 2011
74. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC et al. Metallo- β -lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 45:2224–2228, 2001
75. Lolans K, Queenan AM, Bush K, Sahud A, Quinn JP. First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo- β -lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 49:3538–3540, 2005
76. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20:440–458, 2007

77. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 59: 321 – 322, 2007
78. Mostachio AK, van der Heidjen I, Rossi F, Levin AS, Costa SF. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding oxacillinases and metallo-beta-lactamases in carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J Med Microbiol* 58:1522–1524, 2009
79. Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 65:490–495, 2010
80. Voets GM, Fluit AC, Scharringa J, Cohen Stuart J, Leverstein- van Hall MA. A set of multiplex PCRs for genotypic detection of extended-spectrum β -lactamases, carbapenemases, plasmid-mediated AmpC β -lactamases and OXA β -lactamases. *Int J Antimicrob Agents* 37:356–359, 2011
81. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 70:119–125, 2011
82. Bisiklis A, Papageorgiou F, Frantzidou F, Alexiou-Daniel S. Specific detection of blaVIM and blaIMP metallo-beta-lactamase genes in a single real-time PCR. *Clin Microbiol Infect* 13:1201-1203, 2007
83. Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J et al. Rapid detection and identification of metallo- β -lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and meltcurve analysis. *J Clin Microbiol* 45:544–547, 2007
84. Chen L, Mediavalla JR, Endimiani A et al. Multiplex real-time PCR assay for detection and classification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene (blaKPC) variants. *J Clin Microbiol* 49:579–585, 2011
85. Monteiro J, Widen RH, Pignatari A, Kubasek C, Silbert S. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother* 67: 906 909, 2012
86. Naas T, Cuzon G, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray (Check-MDR CT102) for rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum beta-lactamases and of KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM-1 carbapenemases. *J Clin Microbiol* 49:1608–1613, 2011
87. Stuart JC, Voets G, Scharringa J, Fluit AC, Leverstein-Van Hall MA. Detection of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* with a commercial DNA microarray. *J Med Microbiol* 61: 809–812, 2012

88. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6. Baskı, s. 211-293, Lippincott Williams&Wilkins, Washington, 2006
89. Kuzucu C, Durmaz R, Otlu B, Aktas E, Gulcan H, Cizmeci Z. Species distribution, antifungal susceptibility and clonal relatedness of *Candida* isolates from patients in neonatal and pediatric intensive care units at a medical center in Turkey. New Microbiol 31:401–18, 2008
90. Durmaz R. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. 2. Baskı. S. 219-235, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2001
91. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. Emerging Infectious Diseases. Emerging Infectious Diseases Vol. 17, No. 10, 2011
92. Nordmann P. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: Overview of a major public health challenge. Médecine et maladies infectieuses 44,51–56, 2014
93. Schwaber MJ, Carmeli Y. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a potential threat. JAMA 300:2911-3, 2008
94. Lledo W, Hernandez M, Lopez E, Molinari OL, Soto RQ, Hernandez E, et al. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 58:256-60, 2009
95. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. Antimicrob Agents Chemother 53:3365-70, 2009
96. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. N Engl J Med 362:1804-13, 2010
97. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenberger K, Eskira S, Peled N, Nativ R, et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol 30:972-6, 2009
98. Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: A systematic review. American Journal of Infection Control 44,539-43, 2016

99. Çakır Erdoğan D, Cömert F, Aktaş E, Köktürk F, Külah C. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Turkish community. Turk J Med Sci 47:172-179, 2017
100. Söğüt N. Zonguldak ilindeki çocuklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.*'nin fekal taşıyıcılığı. Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2015.
101. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, et al. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. Clin Infect Dis 2011;52:1–8.
102. Kelly AM, Mathema B, Larson EL. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the community: a scoping review. International Journal of Antimicrobial Agents 50,127–134, 2017
103. Akturk H. et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in pediatric and neonatal intensive care units: risk factors for progression to infection. Braz j infect dis 20(2):134–140, 2016
104. Davies TA, Queenan AM, Morrow BJ, Shang W, Amsler K, He W, Lynch AS, Pillar C, Flamm RK. Longitudinal survey of carbapenem resistance and resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae* and non-fermenters from the USA in 2007–09. J Antimicrob Chemother 66:2298 –2307, 2011
105. Swaminathan M, Sharma S, Blash SP, Patel G, Banach DB, Phillips M, LaBombardi V, Anderson KF, Kitchel B, Srinivasan A, Calfee DP. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the setting of endemicity. Infect Control Hosp Epidemiol 34:809–817, 2013.
106. Kofteridis DP, Valachis A, Dimopoulou D, Maraki S, Christidou A, Mantadakis E, Samonis G. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization: a case-case-control study. J Infect Chemother 20:293–297, 2014
107. Datta S, Roy S, Chatterjee S, Saha A, Sen B, Pal T, Som T, Basu S. A five-year experience of carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae* causing neonatal septicaemia: predominance of NDM-1. PLoS One 9:e112101, 2014

108. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- β lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. *J Antimicrob Chemother* 66:1383–1391, 2011
109. Falagas ME, Rafailidis PI, Kofteridis D, Vartzili S, Chelvatoglou FC, Papaioannou V, Maraki S, Samonis G, Michalopoulos A. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: a matched case control study. *J Antimicrob Chemother* 60(5):1124–30, 2007
110. Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 30:1180–1185, 2009
111. Lin MY, Lyles-Banks RD, Lolans K, Hines DW, Spear JB, Petrak R, Trick WE, Weinstein RA, Hayden MK. The importance of long-term acute care hospitals in the regional epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis* 57:1246–1252, 2013
112. Marchaim D, Chopra T, Bhargava A, Bogan C, Dhar S, Hayakawa K, Pogue JM, Bheemreddy S, Blunden C, Shango M, Swan J, Lephart PR, Perez F, Bonomo RA, Kaye KS. Recent exposure to antimicrobials and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the role of antimicrobial stewardship. *Infect Control Hosp Epidemiol* 33:817–830, 2012
113. Chiotos K. et al. Multicenter Study of the Risk Factors for Colonization or Infection with Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* in Children. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e01440-17, 2017
114. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenber K, Livshitz-Riven I, Schlaeffer F, Sherf M, Peled N. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Am J Infect Control* 40(5):421–5, 2012
115. Van Duin D et al. Surveillance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: tracking molecular epidemiology and outcomes through a regional network. *Antimicrob Agents Chemother* 58:4035–41, 2014
116. Van Loon K, Voor In 't Holt AF, Vos MC, A systematic review and meta-analyses of the clinical epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 21;62(1), 2017

117. Ramos-Castañeda JA et al. Mortality due to KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: systematic review and meta-analysis mortality due to KPC *Klebsiella pneumoniae* infections. J Infect 76,438–448, 2018
118. Baran I, Aksu N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in Turkey. Ann Clin Microbiol Antimicrob 15:20, 2016
- 119.Çakar A. Türkiye’de 2014 yılı içinde izole edilen karbapeneme dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul 50(1): 21-33, 2016.
120. Telli M. et al. Ege bölgesi hastanelerinden elde edilen kaarbapenem dirençli enterik bakterilerde karbapenemaz direnç genlerinin araştırılması. 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Harbiye, İstanbul, Nisan 01-03, 2016 (Poster-90).

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

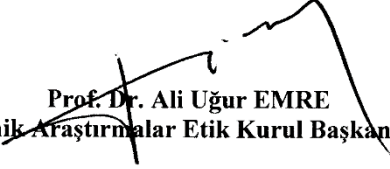
TOPLANTI TARİHİ : 12/06/2019
TOPLANTI NO : 2019/09

KARARLAR :

- 17- 20/12/2017 tarih ve 2017/21 sayılı toplantıda onay alan Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2017-121-20/12 Protokol no'lu "Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde 2015-2017 Yıllarında İzole Edilen Karbapenem Dirençli E. coli ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarının Değerlendirilmesi" konulu çalışma başlığının "Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde 2015-2017 Yıllarında İzole Edilen Karbapenem Dirençli E. coli ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarının Değerlendirilmesi" olarak değiştirilmesi talebinin uygunluğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R


Prof. Dr. Ali Uğur EMRE
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkan V.

9. ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Kars Arpaçay ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul Esenyurt ilçesinde tamamladıktan sonra lisans öğrenimini 2010 – 2014 yılları arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yaptı. 2015 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Moleküler laboratuvarında biyolog olarak çalışmakta ve burada ki görevine devam etmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Esenköy Mah. Abaz Cad. No:298, Kat 9, Daire 110 Kozlu/ZONGULDAK

Tel: (+90) 532 732 08 47

E-posta: gulhanavc67@gmail.com