

AYHAM ABULAILA

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST. DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( DOKTORA TEZİ )**

**GRAM NEGATİF ÇOMAKLARDA  
KARBAPENAMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE  
ARAŞTIRILMASI**

**DR. AYHAM ABULAİLA**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ZERRİN AKTAŞ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( DOKTORA TEZİ )**

**GRAM NEGATİF ÇOMAKLARDA  
KARBAPENAMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE  
ARAŞTIRILMASI**

**DR. AYHAM ABULAİLA**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ZERRİN AKTAŞ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**

## DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Programında Doktora öğrencisi AyhamAbulaila tarafından Prof Dr Zerrin Aktaş'ın danışmanlığında hazırlanan "Gram Negatif Çomaklarda Karbapenemazların Moleküler Yöntemlerle Araştırılması " başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 08.08.2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı**

**Prof Dr Ali Ağacıdan**

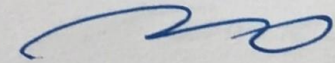
İstanbul Üniversitesi,  
İstanbul Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

**Prof Dr Zerrin Aktaş**

İstanbul Üniversitesi,  
İstanbul Tıp Fakültesi,

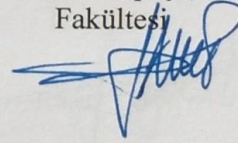
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



**Jüri**

**Prof Dr Hrisi Bahar Tokman**

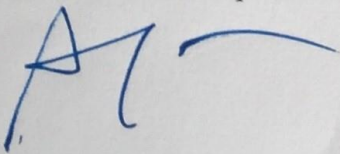
İstanbul Üniversitesi-  
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp  
Fakültesi



**Jüri**

**Prof Dr Derya Aydın**

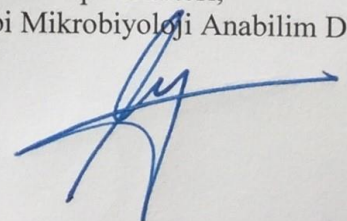
Birüni Üniversitesi Tıp Fakültesi



**Jüri**

**Doç Dr Dilek Şatana**

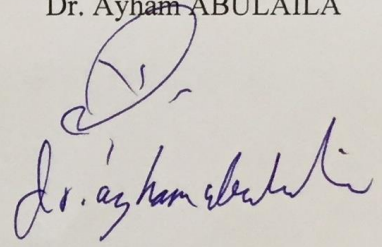
İstanbul Üniversitesi,  
İstanbul Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dr. Ayham ABULAILA



## İTHAF

Aileme, Çocuklarıma ve Eşime ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan’a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Daha iyi bir araştırmacı olmam için değerli rehberliği, öğrettikleri, emeği ve sabrı için değerli danışman hocam Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ’a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bana emeği geçen bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Şengül Derbentli, Prof. Dr. Nezahat Gürler, Prof. Dr. Bülent Gürler, Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Prof. Dr. Betigül Öngen, Prof. Dr. M. Derya Aydın, Prof. Dr. Ali Öner, Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. Zayre Erturan, Prof. Dr. Arif Kaygusuz, Prof. Dr. Özden Boral, Doç. Dilek Şatana ve Doç. Dr. Yaşar Nakipoğlu’na teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım süresince manevi destekleri ile bana yardımcı olan tüm yüksek lisans, doktora ve uzmanlık öğrencilerine dostlukları için teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleri ile bugüne gelmemi sağlayan ve her zaman yanımda olan canım aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20992



## İÇİNDEKİLER

|                                                                         |       |
|-------------------------------------------------------------------------|-------|
| TEZ ONAYI .....                                                         | ii    |
| BEYAN.....                                                              | iii   |
| İTHAF.....                                                              | iv    |
| TEŞEKKÜR.....                                                           | v     |
| İÇİNDEKİLER .....                                                       | vi    |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                   | x     |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                  | xii   |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                                   | xiv   |
| ÖZET .....                                                              | xvi   |
| ABSTRACT.....                                                           | xviii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                   | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                 | 3     |
| 2.1. Patojenler .....                                                   | 3     |
| 2.1.1. Habitat.....                                                     | 3     |
| 2.1.2. Konakçı-mikroorganizma etkileşimi ve hastalıklarla ilişkisi..... | 3     |
| 2.1.3. <i>Escherichia coli</i> .....                                    | 4     |
| 2.1.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....                               | 4     |
| 2.1.5. <i>Klebsiella oxytoca</i> .....                                  | 5     |
| 2.1.6. <i>Enterobacter cloacae</i> .....                                | 5     |
| 2.2. $\beta$ - laktam antibiyotikler.....                               | 5     |
| 2.3. Karbapenem grubu antibiyotikler .....                              | 7     |
| 2.3.1. Karbapenemlerin bulunması .....                                  | 7     |
| 2.3.2. Karbapenemlerin etki mekanizması.....                            | 8     |
| 2.3.3. İmipenem .....                                                   | 9     |
| 2.3.3.1. İmipenem'in etki mekanizması.....                              | 10    |
| 2.3.3.2. İmipenemin klinik kullanımı.....                               | 10    |
| 2.3.4. Panipenem.....                                                   | 11    |
| 2.3.5. Meropenem .....                                                  | 11    |
| 2.3.5.1. Meropenem'in etki mekanizması.....                             | 11    |
| 2.3.5.2. Meropenem'in klinik kullanımı .....                            | 12    |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.6. Ertapenem .....                                                        | 12 |
| 2.3.6.1. Ertapenem'in etki mekanizması.....                                   | 12 |
| 2.3.6.2. Ertapenem'in klinik kullanımı .....                                  | 13 |
| 2.3.7. Doripenem.....                                                         | 13 |
| 2.3.7.1. Doripenem'in etki mekanizması.....                                   | 13 |
| 2.3.8. Biapenem .....                                                         | 14 |
| 2.4. Penemler .....                                                           | 14 |
| 2.5. Karbapenemlere direnç mekanizması .....                                  | 15 |
| 2.5.1. Atım pompaları .....                                                   | 15 |
| 2.5.2. Porinlerin ekspresyonunu ve/veya işlevini değiştiren mutasyonlar ..... | 16 |
| 2.5.3. PBP'lerin ekspresyonunu ve/veya işlevini değiştiren mutasyonlar .....  | 16 |
| 2.5.4. $\beta$ -laktamazların üretimi .....                                   | 16 |
| 2.5.4.1. $\beta$ -laktamazların sınıflandırılması .....                       | 16 |
| 2.5.4.2. Karbapenemazlar .....                                                | 18 |
| 2.5.4.3. Kromozomal Karbapenemazlar .....                                     | 18 |
| 2.5.4.4. Kazanılmış Karbapenemazlar .....                                     | 18 |
| 2.5.4.4.1. A Sınıfı Karbapenemazlar .....                                     | 19 |
| 2.5.4.4.2. B Sınıfı Karbapenemazlar .....                                     | 20 |
| 2.5.4.4.3. D Sınıfı Karbapenemazlar veya Oksasilineazlar .....                | 21 |
| 2.5.4.4.3.1. OXA-48 tipi karbapenemazlar .....                                | 21 |
| 2.5.4.4.3.2. OXA-48 türleri .....                                             | 21 |
| 2.5.4.4.3.3. OXA-48 epidemiyolojisi .....                                     | 22 |
| 2.6. Türkiye'de Gram-negatif bakterilerde kazanılmış karbapenem direnci.....  | 22 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                       | 25 |
| 3.1. Besiyerleri ve Ayıraçlar .....                                           | 25 |
| 3.1.1. Mueller-Hinton Agar (Biolife).....                                     | 25 |
| 3.1.2. McConkey tarama besiyeri .....                                         | 25 |
| 3.1.3. Triple Sugar Iron Agar (Üç Şekerli Demirli Besiyeri) (Oxoid).....      | 25 |
| 3.1.4. Gliserol-Triptik Soy Broth (Oxoid) .....                               | 25 |
| 3.1.5. EDTA Solüsyonu .....                                                   | 26 |
| 3.1.6. Fenilboronik Asit (PBA).....                                           | 26 |

|                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.7. 1X Tris-Borik asit-EDTA (TBE) Tamponu.....                                                                                                                  | 26 |
| 3.1.8. Diğer malzemeler .....                                                                                                                                      | 26 |
| 3.1.9. Örneklerin Toplanması .....                                                                                                                                 | 26 |
| 3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri .....                                                                                                                         | 27 |
| 3.2.1. Disk difüzyon yöntemi.....                                                                                                                                  | 27 |
| 3.2.2. Buyyonda dilüsyon yöntemi .....                                                                                                                             | 28 |
| 3.3. Karbapenem direncinin fenotipik yöntemlerle saptanması.....                                                                                                   | 28 |
| 3.3.1. Kombine Disk Metodu (KDM) ile metallo-beta-laktamaz (MBL) ve Sınıf A karbapenemaz (KPC) aktivitesinin belirlenmesi.....                                     | 28 |
| 3.3.2. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (KİM).....                                                                                                                   | 29 |
| 3.3.3. Modifiye Hodge Testi (MHT).....                                                                                                                             | 29 |
| 3.3.4. Blue Carba Testi (BCT) .....                                                                                                                                | 29 |
| 3.3.5. Genotipik testler .....                                                                                                                                     | 30 |
| 3.3.5.1. Direnç genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile incelenmesi.....                                                                          | 30 |
| 3.3.5.2. DNA ekstraksiyonunun hazırlanması .....                                                                                                                   | 31 |
| 3.3.5.3. Amplifikasyon içeriğinin hazırlanması .....                                                                                                               | 31 |
| 3.3.5.4. Amplifikasyon programı .....                                                                                                                              | 31 |
| 3.3.5.5. Amplifikasyon ürünlerinin gösterilmesi .....                                                                                                              | 31 |
| 3.3.5.6. Real Time PCR .....                                                                                                                                       | 31 |
| 3.3.5.7. Dizi Analizi .....                                                                                                                                        | 32 |
| 3.4. İstatistiksel Analiz.....                                                                                                                                     | 32 |
| 4. BULGULAR.....                                                                                                                                                   | 33 |
| 4.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının genel özellikleri .....                                                                                            | 33 |
| 4.2. CRE izolatlarının (n=98) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı.....                                                                                    | 34 |
| 4.3. İlk Yatışta kolonize olmayan hastaların CRE ile kolonize olma süreleri. ....                                                                                  | 38 |
| 4.4. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı ..... | 39 |
| 4.5. Çalışmaya dahil edilen CRE izolatlarının türlere göre dağılımı. ....                                                                                          | 41 |
| 4.6. CRE izolatlarında mikrodilüsyon yöntemiyle karbapenem grubu antibiyotikler için saptanan MİK değerleri.....                                                   | 43 |
| 4.7. CRE izolatlarının enzim tiplerine göre, antibiyotikler için saptanan MİK aralıkları, Mik <sub>50</sub> ve Mik <sub>90</sub> değerleri.....                    | 47 |

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8. Fenotipik Testlerin Sonuçları.....                              | 48 |
| 4.8.1. Blue Carba Test Yönteminin (BCT) Sonuçları.....               | 48 |
| 4.8.2. Modifiye Hodge Test (MHT)'inin sonuçları .....                | 49 |
| 4.8.3. Karbapenem İnaktivasyon Metodunun (KİM) sonuçları .....       | 49 |
| 4.8.4. Kombine Disk Metodunun (KDM) Sonuçları .....                  | 50 |
| 4.9. Genotipik Testlerin Sonuçları .....                             | 51 |
| 4.9.1. Klasik PCR Yönteminin Sonuçları .....                         | 51 |
| 4.9.2. Real-Time PCR yönteminin sonuçları .....                      | 52 |
| 4.9.3. Dizi Analizi Sonuçları.....                                   | 53 |
| 4.9.4. Fenotipik ve PCR testleri sonuçlarının karşılaştırılması..... | 54 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                    | 56 |
| 6. KAYNAKLAR .....                                                   | 73 |
| 7. ETİK KURUL KARARI.....                                            | 88 |
| 8. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....                                   | 91 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ.....                                                     | 92 |

## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. <i>Enterobacteriaceae</i> 'de karbapenemaz üreten izolatlarda karbapenemler için saptanan MİK aralıkları .....                                           | 20 |
| Tablo 2. Türkiye'de tanımlanan çeşitli karbapenem türleri ve keşfedildikleri tarihler.                                                                            | 23 |
| Tablo 3. Karbapenemaz türüne göre CRE yayılımının epidemiyolojik evreleri, EuSCAPE.....                                                                           | 24 |
| Tablo 4. EUCAST önerilerine göre karbapenemaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i> için kinik sınır değerler ve tarama eşik değerleri. ....                           | 27 |
| Tablo 5. Klasik PCR yönteminde kullanılan primerler .....                                                                                                         | 30 |
| Tablo 6. CRE kolonizasyonu saptanan YBÜ'leri, örnek sayıları ve haftalara göre dağılımı. ....                                                                     | 33 |
| Tablo 7. YDYB den izole eden CRE izolatlarının (n=17 ) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı. ....                                                         | 35 |
| Tablo 8. ÇYB den izole eden CRE izolatlarının (n=9) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı. ....                                                            | 35 |
| Tablo 9. RAYB den izole eden CRE izolatlarının (n=49) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı. ....                                                          | 36 |
| Tablo 10. ACYB den izole eden CRE izolatlarının (n=19) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı. ....                                                         | 37 |
| Tablo 11. KDCYB den izole eden CRE izolatlarının (n=4) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı. ....                                                         | 38 |
| Tablo 12. CRE izolatlarının YBK ünitelerine göre dağılımı .....                                                                                                   | 42 |
| Tablo 13. <i>Enterobacteriaceae</i> ailesine ait izolatların karbapenem grubu antibiyotikler için saptanan MİK değerleri, klasik ve real-time PCR sonuçları. .... | 43 |
| Tablo 14. CRE izolatlarının enzim tipine göre antibiyotikler için saptanan MİK aralıkları, MİK <sub>50</sub> ve MİK <sub>90</sub> değerleri. ....                 | 47 |
| Tablo 15. BCT yöntemi ile karbapenemaz enzimi negatif olarak saptanan suşların karbapenemler için saptanan MİK (mg/L) değerleri. ....                             | 48 |
| Tablo 16. MHT testi sonucu negatif olarak saptanan suşların MİK (mg/L) değerleri. ..                                                                              | 49 |
| Tablo 17. Klasik PCR Yönteminin Sonuçları.....                                                                                                                    | 51 |
| Tablo 18. Real-Time PCR Yönteminin Sonuçları .....                                                                                                                | 52 |

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 19. DNA dizi analizi sonuçları .....                                         | 53 |
| Tablo 20. Klasik PCR ve fenotipik testlerin sonuçlarının karşılaştırılması.....    | 54 |
| Tablo 21. Real-time PCR ve fenotipik testlerin sonuçlarının karşılaştırılması.. .. | 55 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. $\beta$ -laktam antibiyotikler ve $\beta$ -laktamaz enzimlerinin tarihçesi .....                                                                         | 6  |
| Şekil 2. Olivanik asit, klavulanik asit ve tienamisinin kimyasal yapıları .....                                                                                   | 8  |
| Şekil 3. İmipenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                         | 9  |
| Şekil 4. Panipenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                        | 10 |
| Şekil 5. Meropenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                        | 11 |
| Şekil 6. Ertapenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                        | 12 |
| Şekil 7. Doripenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                        | 13 |
| Şekil 8. Biapenemin kimyasal yapısı .....                                                                                                                         | 14 |
| Şekil 9. Gram negatif bakteri dış membran yapısı, KPC-2 karbapenemaz, PBP3, OprD ve MexA-MexB-OprM efluks sistemi .....                                           | 15 |
| Şekil 10. Karbapenemaz türleri. ....                                                                                                                              | 17 |
| Şekil 11. KPC, NDM ve OXA-48 tipi karbapenemazların dünya üzerinde dağılımı.....                                                                                  | 19 |
| Şekil 12. Karbapenemazların substratı, hidrolizi ve karbapenemaz inhibitörleri .....                                                                              | 20 |
| Şekil 13. Avrupa, Hindistan ve Orta Doğu'da OXA-48 benzeri genin dağılımı .....                                                                                   | 22 |
| Şekil 14. KDCYB ünitesi hariç diğer yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların CRE ile ortalama kolonizasyon süreleri (hafta). ....                                | 38 |
| Şekil 15. YDYB'de yatan hastalardan izole edilen tüm CRE izolatlarının (n=49) oranları (tekrarlayan suşlar dahil), türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı. .... | 39 |
| Şekil 16. ÇYB'de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı. ....             | 39 |
| Şekil 17. RAYB'de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı. ....            | 40 |
| Şekil 18. ACYB'de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı. ....            | 40 |
| Şekil 19. KDCYB'de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.....            | 41 |
| Şekil 20. CRE izolatlarının (n=98) türlere göre dağılımı. ....                                                                                                    | 42 |
| Şekil 21. CRE İzolatlarının YBÜ'lerine göre dağılımı.....                                                                                                         | 42 |
| Şekil 22. Blue Carba testi; enzim tiplerine göre pozitif ve negatif örnekler. ....                                                                                | 48 |
| Şekil 23. Modifiye Hodge Testi.....                                                                                                                               | 49 |
| Şekil 24. Karbapenem İnaktivasyon Metodu.....                                                                                                                     | 50 |

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 25. Kombine Disk Metodu sonuçlarının örneği, KPC(sol) ve MBL(sağ) .....           | 49 |
| Şekil 26. Klasik PCR yönteminin sonuçları.....                                          | 50 |
| Şekil 27. Klasik PCR Yönteminin jel görüntüsü .....                                     | 50 |
| Şekil 28. Real-Time PCR Yönteminin Sonuçları .....                                      | 51 |
| Şekil 29. Real-Time PCR; bla <sub>OXA-48-like</sub> (42-61)'i suşlarının sonuçları..... | 52 |
| Şekil 30. KPC pozitif olan izolatin dizi analizi sonucu. ....                           | 53 |





## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

|           |                                                                                   |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| CRE       | Carbapenamase Resistant Enterobacteriaceae (Karbapeneme Dirençli Enterik Bakteri) |
| CPE       | Karbapenemaz Üreten Enterik bakteriler                                            |
| HE:       | Hastane enfeksiyonu                                                               |
| YBÜ:      | Yoğun bakım ünitesi                                                               |
| YDYB:     | Yeni Doğan yoğun bakım                                                            |
| ÇYB:      | Çocuk yoğun bakım                                                                 |
| ACYB:     | Acil cerrahi Yoğun bakım                                                          |
| RAYB:     | Reanimasyon yoğun bakım                                                           |
| KDCYB:    | Kalp Damar Cerrahi yoğun bakım                                                    |
| ÇAD:      | Çoğul antibiyotik dirençli                                                        |
| MBL:      | Metallo-beta-laktamaz                                                             |
| DNA:      | Deoksi ribonükleik asit                                                           |
| EMB:      | Eozin Metilen Blue                                                                |
| PBP:      | Penisilin bağlayan protein                                                        |
| GSBL:     | Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz                                               |
| EDTA:     | Etilen diamin tetra asetik asit                                                   |
| PCR:      | Polimeraz zincir reaksiyonu                                                       |
| LPS:      | Lipopolisakkarit                                                                  |
| ATCC:     | The American Type Culture Collection                                              |
| MİK:      | Minimal inhibitör konsantrasyon                                                   |
| TSI agar: | Triple sugar iron agar                                                            |
| MHA:      | Mueller Hinton agar                                                               |
| DNaz:     | Deoksiribonükleaz                                                                 |
| MHB:      | Mueller Hinton buyyon                                                             |

|         |                                                                |
|---------|----------------------------------------------------------------|
| CLSI:   | Clinical and Laboratory Standards Institute                    |
| TBE:    | Tris-Borik asit-EDTA                                           |
| SAM:    | Ampisilin- sulbaktam                                           |
| PRL:    | Piperasilin                                                    |
| TZP:    | Piperasilin-tazobaktam                                         |
| TIC:    | Tikarsilin                                                     |
| TIM:    | Tikarsilin-klavulanik asit                                     |
| CAZ:    | Seftazidim                                                     |
| CRO:    | Seftriakson                                                    |
| FEB:    | Sefepim                                                        |
| GN:     | Gentamisin                                                     |
| AK:     | Amikasin                                                       |
| TOB:    | Tobramisin                                                     |
| NET:    | Netilmisin                                                     |
| CİP:    | Siprofloksasin                                                 |
| LEV:    | Levofloksasin                                                  |
| TET:    | Tetrasiklin                                                    |
| DO:     | Doksisiklin                                                    |
| MIN:    | Minosiklin                                                     |
| COL:    | Kolistin                                                       |
| SXT:    | Trimetoprim- sulfametoksazol                                   |
| PB:     | Polimiksin B                                                   |
| MEM:    | Meropenem                                                      |
| IMP:    | İmipenem                                                       |
| EUCAST: | The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| VRE:    | Vankomisine dirençli enterokok                                 |

## ÖZET

ABULAİLA, A. (2018). Gram negatif çomaklarda karbapenamazların moleküler yöntemlerle araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: *Enterobacteriaceae*, Karbapenemaz enzimleri, NDM-1/OXA-48/ KPC, Real-time PCR, Yoğun bakım Üniteleri.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20992

Bu çalışmada, 23 Ocak -23 Temmuz 2017 tarihleri arasında, hastanemizin yoğun bakım servislerinde yatan hastaların rektal veya dışkı örnekleri incelenerek, karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* ailesindeki türlerle kolonizasyonu agarda tarama yöntemiyle araştırılmıştır. Karbapenem grubu antibiyotiklerin MİK değerleri buyyonda dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Karbapenemazların varlığı fenotipik testler ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Karbapenem direncine neden olan ve en yaygın olarak saptanan genler (OXA-48, IMP, VIM, KPC ve NDM) klasik PCR ve Real time PCR yöntemiyle araştırılmıştır. Ayrıca OXA-48, NDM, KPC pozitif bulunan toplam dokuz izolata DNA dizi analizi uygulanmıştır. Çalışma dönemi boyunca, toplam 765 rektal sürüntü veya dışkı örneği taranmış ve 98 suş izole edilmiştir. 98 izolattın 91'i *Klebsiella pneumoniae*, üçü *Klebsiella oxytoca*, üçü *Enterobacter cloacae* ve bir tanesi *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır. Fenotipik testlerden; KİM, MHT, ve BCT testleri karbapenemaz üreten izolatları sırasıyla %100, %98 ve %90.8 oranında doğru olarak tespit etmiş, ancak enzim tipleri bu testlerle özgül olarak belirlenememiştir. *K. pneumoniae* suşlarının 49'unda bla<sub>OXA-48</sub>, 34'ünde bla<sub>OXA-48</sub>/bla<sub>NDM-1</sub>, yedisinde bla<sub>NDM-1</sub> ve birinde bla<sub>KPC</sub> geni, *K. oxytoca* suşlarının ikisinde bla<sub>OXA-48</sub> ve birinde bla<sub>NDM-1</sub>, *E. cloacae* suşlarının ikisinde bla<sub>OXA-48</sub>, birinde bla<sub>NDM-1</sub> ve *E. coli* suşunda bla<sub>OXA-48</sub>/bla<sub>NDM-1</sub> geni saptanmıştır. Real time PCR sonuçları, klasik PCR sonuçları aynı oranda saptanmakla birlikte bu testle NDM-1/VIM ayırımı yapılamamıştır. Bu çalışmada hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde CRE kolonizasyonu yüksek oranda saptanmış ve OXA-48 ve NDM-1 enzimleri bu dirençten sorumlu en yaygın enzim

tipleri olarak belirlenmiş, OXA-48 ve NDM tipi karbapenemaz enzimlerini üreten suş sayısında önemli bir artış olduğu gözlenmiştir.



## ABSTRACT

ABULAILA, A. (2018). Molecular detection of carbapenemases in Gram-negative rods. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. PhD Thesis. İstanbul.

Key Words: *Enterobacteriaceae*, Carbapenemase enzymes, carbapenem inhibition test, NDM-1/ OXA-48/ KPC, Real-time PCR, Intensive Care Units

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 20992

In this research, we examined stool samples or rectal swaps from patients in intensive-care units (ICUs) of our hospital for carbapenemase resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) from 23 Jan 2017 to 23 Jul 2017. Screening for CRE achieved by agar screening test. MIC values were detected by broth microdilution test. Phenotypic tests and molecular methods were used to detect carbapenemases. Common carbapenem resistance genes (KPC, NDM, VIM, OXA-48 and IMP-1) were tested by classic PCR and by Real-time PCR. In addition, DNA sequence analyzes were performed for nine isolates positive for KPC, NDM, and OXA-48 gens. During the study period, a total 765 stool samples or rectal swaps were screened and 98 strains were isolated. Ninety-one of 98 were *Klebsiella pneumoniae*, three *Klebsiella oxytoca*, three *Enterobacter cloacae* and one *Escherichia coli*. By phenotypic tests, CIM, MHT and BCT correctly identified carbapenemase producers with sensitivity of 100%, 98% and 90.8% respectively; however, these tests cannot identify types of carbapenemase enzymes specifically. *K. pneumoniae* positive isolates were distributed as the followings; 49 bla<sub>OXA-48</sub>, 34 both bla<sub>OXA-48</sub> and bla<sub>NDM-1</sub>, seven bla<sub>NDM-1</sub> and one bla<sub>KPC</sub>. *K. oxytoca*; two bla<sub>OXA-48</sub>, one bla<sub>NDM-1</sub>. *E. cloacae*; two bla<sub>OXA-48</sub>, one bla<sub>NDM-1</sub>. *E. coli* one isolate with both bla<sub>OXA-48</sub> and bla<sub>NDM-1</sub>. Real-time PCR kit results were the same as classic PCR, however, kit does not distinguish between NDM-1/VIM. In this study, CRE colonization was detected at high rates in our hospital ICUs and OXA-48 and NDM-1 enzymes were found to be the most common enzyme types responsible for this resistance. A significant increase in the number of strains producing both OXA-48 and NDM-type carbapenemase enzymes was observed also.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karbapenemaz üreten ve dolayısıyla çoğul dirençli Gram negatif basiller, dünyada giderek artan bir oranda sorun haline gelmektedir. İlk başlarda sorun büyük ölçüde, herhangi bir antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirme yatkınlığına sahip patojenler olan *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* ile sınırlıydı. Bu patojenlerle gelişen enfeksiyonlar, çoğunlukla karbapenem kullanımının yoğun olduğu ve hastalarda bağışıklık sisteminin bozulduğu yoğun bakım ünitesi gibi nozokomiyal ortamlarla sınırlıydı. Ancak son yıllarda, *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan türlerde karbapenemaz üreten suş sayılarında da belirgin bir artış meydana gelmiştir [1].

Sorun, tedavide kullanılabilecek antibiyotiklerin eksikliği nedeniyle giderek artış göstermektedir. Yakın geçmişte, dikkatler daha çok penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve glikopeptide dirençli *Enterokoklar* gibi Gram pozitif patojenlerde antimikrobiyal direnç üzerine yoğunlaşmıştır. Bu durum, daptomisin, linezolid, telavansin, seftarolin ve kinupristin dalfopristin gibi yeni antimikrobiyaller ile sonuçlanan ilaç geliştirme sürecinin hızlanmasına neden olmuştur. Çoklu ilaca direnç gösteren Gram negatif basillere yönelik antibiyotik geliştirme çalışmaları ise daha yavaş ve daha az verimli olmuştur. Tigesiklin tedavide kullanılmak üzere geliştirilmiş ancak, kısa bir süre sonra tigesikline dirençli izolatlar da bildirilmiştir [2]. Klinisyenler çok az sayıda kanıt eşliğinde veya herhangi bir kanıt olmadan genellikle fosfomisin ve polimiksinler gibi eski antimikrobiyalleri içeren birleşik tedavilere başvurmak zorunda kalmışlardır [3].

Gram negatif bakterilerde beta laktamaz üretimine bağlı olarak antimikrobiyal direncin ortaya çıkması ve yayılması ciddi bir sorundur. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten Gram negatif bakterilerin tedavisinde karbapenem grubu antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak karbapenemlerin de yaygın kullanılmasının sonucu olarak dünyada *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan türler arasında karbapenem grubu antibiyotikler de dâhil olmak üzere çoklu ilaç direncine sahip izolatların sayısında artış gözlenmektedir [4]. Çoklu ilaç direncine olan Gram negatif bakterilerin neden olduğu hastane enfeksiyonları son yıllarda küresel önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu bakterilerle gelişen enfeksiyonlar hasta morbidite ve mortalitesini arttırmakta, hastanede yatış süresini uzatarak tedavi maliyetlerinin yükselmesine neden olmaktadır. Karbapenemlere dirençli suşlarla gelişen bakteriyemilerde mortalite oranı

karbapenemlere duyarlı suşların neden olduğu bakteriyemiden iki kat daha fazla olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [5].

*Enterobacteriaceae* ailesinde dünyada en yaygın olarak saptanan karbapenemaz enzimleri; Ambler sınıfı A'da bulunan KPC, sınıf B'de bulunan metallo  $\beta$ -laktamazlar; çoğunlukla VIM, NDM ve IMP ve D sınıfında bulunan OXA-48 enzimleridir [6]. Ülkemizde en yaygın olarak saptanan enzim ise OXA-48 karbapenemazdır, ancak son zamanlarda NDM tipi karbapenemaz enzimi giderek artan oranlarda bildirilmektedir. Diğer enzimler (KPC, IMP, VIM) sporadik olarak bildirilmektedir [7]. KPC, OXA-48 ve MBL genleri plazmit, integron ve transpozonlar gibi hareketli elementler üzerinde bulunduklarından ve kolayca bakteriler arasında yayılabilme özelliklerinden dolayı, hastane salgınları açısından mümkün olan en kısa sürede tanımlanmaları önemlidir [8].

Bu çalışmada hastanemizin yoğun bakım servislerinde yatan hastaların rektal sürüntü veya dışkı örnekleri agarda tarama yöntemi ile incelenerek, hastaların karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* üyesi suşlarla kolonizasyon oranları, CRE tespiti durumunda karbapenemaz enzim tipleri fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılarak belirlenecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Patojenler

*Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan türler, Gram-negatif çomak şeklinde, sporsuz ve fakültatif anaerop bakterilerdir. *Enterobacteriaceae*, ailesinde bulunan cinsler ve türler; oksidaz negatif, şekerleri fermente etme, katalaz üretme ve nitratı nitrite indirgeme yetenekleri ve bazı türlerin hareketli olması ile diğer Gram negatif bakterilerden ayrılırlar.

#### 2.1.1. Habitat

*Enterobacteriaceae* familyasının birçok üyesi insanların ve hayvanların bağırsak mikroflorasının ortak üyesidir. Bağırsak, *Escherichia coli*'nin birincil rezervuarıdır. Neredeyse tüm insanların ve hayvanların dışkılarında bulunur ve insanların bağırsağından en çok izole edilen fakültatif anaerop bakteridir. *E. coli* çevrede daha az sıklıkta rastlanır, suda ve besin kaynaklarında bulunmaları ise genellikle fekal kontaminasyona işaret etmektedir. Nispeten *Klebsiella pneumoniae* daha fazla her yerde bulunmakla birlikte sağlıklı bireylerin dışkı örnekleri yanı sıra su ve topraktaki çevresel rezervuarlarda sıklıkla bulunur [9]. Hastanede yatan hastalarda anlamlı derecede yüksek taşıyıcı oranları ile birlikte dışkıda tespit edilme oranları özellikle hastanede yatış süresine ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak değişir (%5-38) [10], [11].

#### 2.1.2. Konakçı-mikroorganizma etkileşimi ve hastalıklarla ilişkisi

Enfeksiyona neden olma yeteneği genel olarak patojene özgü, konakçıya özgü ve bazen de cihaza özgü faktörlerle ilgilidir. Konakçı bağışıklığı veya mukozal bariyerlerin risk taşıması durumunda *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşları fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilirler. Enterobakterilerde patojene özgü virülans faktörlerini, adezyon, pili ve fimbrialara sahip olması, hücre sitoskeleton hasarının artışı gibi çeşitli etkilere sahip toksinler de dahil olmak üzere salgı sistemleri, birçok bakteri enziminin aktivitesi için gerekli olan demir edinimini (ko-enzimatik) artıran sideroforlar, ve genellikle kapsül oluşumunda yer alan antifagositik özellikler oluşturmaktadır. Dış membran lipopolisakkaridlerin (LPS) kompozisyonundaki farklılıklar da virülansı etkileyen özelliklerdir [10, 11].



### 2.1.3. *Escherichia coli*.

İnsanlarda, biyolojik olarak önemli olan *E. coli* suşları, sağlıklı bireylerde idrar yolu enfeksiyonları, sepsis ve menenjit de dahil olmak üzere bağırsak ve ekstra bağırsak (ExPEC) hastalığına neden olabilecek kommensal ve patojenik suşları oluşturmaktadır. İntestinal patojenik suşlar kommensal suşlardan farklıdır ve nadiren kalın bağırsağın florasında görülürler, sağlıklı bireylerde yeterli dozda yutulduklarında düzenli olarak hastalık oluşturdıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Buna karşılık ExPEC suşları, sağlıklı bireylerin yaklaşık beşte birinde bağırsağın stabil kolonizasyonunu sağlama yeteneğine sahiptirler. *E. coli* genomu, ortak çekirdek genomik materyalini temsil eden DNA'nın %50'sinden az oranı ile son derece çok yönlüdür. Patojenite adaları (PAI'lar) adı verilen bölgeler, *E. coli*'nin kromozomal DNA'sındaki bu 11 varyasyonun çoğunun sebebi olup çeşitli virülans belirleyicileriyle ilişkili büyük DNA bölgeleri (10-200 kb) oluştururlar. Patojenik *E. coli* soyları, virülans belirleyicilerini kodlayan kommensal suşlarla karşılaştırıldığında fazladan mobil genetik elementler (transpozonlar, plazmidler, bakteriyofajlar) de taşıyabilirler. İdrar yolu enfeksiyonları ile ilişkili suşlar genellikle P türü fimbriyanın adezyonu, alfa-hemolizin invazyonu ve aerobaktin sideroforlarca demirin uzaklaştırılması ile ilişkilidir, buna karşın bağırsak hastalıklarında çeşitli entero ve verotoksin üretimi önemli rol oynamaktadır [10], [12].

### 2.1.4. *Klebsiella pneumoniae*

*K. pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonları, zatürre ve sepsise neden olan fırsatçı enfeksiyonlar ile sıklıkla ilişkili olan, *Enterobacteriaceae* ailesinin hareket özelliği olmayan bir üyesidir. Birçok ülkede, *K. pneumoniae*, nazokomiyal sepsis nedenleri arasında *E. coli*'den sonra ikinci sırada yer alır. Ayrıca *K. pneumoniae*'nin nazokomiyal salgınları, hastanede yatan hastalarda, özellikle de yeni doğan ünitelerinde hızlı yayılım kabiliyetleri nedeniyle yaygın olarak görülmektedir. Çevreden kaynaklanan *K. pneumoniae* suşları, klinik suşlar ile aynı virülans faktör setini içerirler, bağırsakları kolonize etme yetenekleri bakımından eşitlerdir ve dolayısıyla bağışıklık yetersizliği olan konakçıya sürekli bir tehdit oluştururlar. Bununla birlikte, klinik izolatlarda tanımlanan en yaygın K-serotiplerden biri olan K2, nadiren çevresel izolatlardan alınır. Yine de çevresel *K. pneumoniae*'nin hastalığa nasıl katkıda bulunduğu tam olarak anlaşılamamıştır. . Bununla birlikte, çevreden kaynaklanan *K. pneumoniae* suşlarının nozokomiyal yayılımı, bildirilen çeşitli vakalarda da belirtilmiştir. Bağırsak

kolonizasyonu genellikle *K. pneumoniae* enfeksiyonundan önce meydana gelir. *K. pneumoniae* suşlarının patojenezitesi genel olarak, fimbrial tip 1 veya 3'ün adezyonlarını oluşturan virülans faktörlerine, belirgin kapsül ve LPS tabakası tarafından kullanılan antifogastık özelliklere bağlıdır [9, 10].

#### **2.1.5. *Klebsiella oxytoca***

*K. pneumoniae* gibi *K. oxytoca* da çeşitli nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilir. Triptofandan indol üretme kabiliyeti bakımından *K. pneumoniae*'den ayrılır. Aynı zamanda birden fazla antibiyotige karşı dirençli de olabilir. *K. oxytoca*'nın antibiyotik kullanımı ile ilişkili hemorajik kolitlere neden olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır [10].

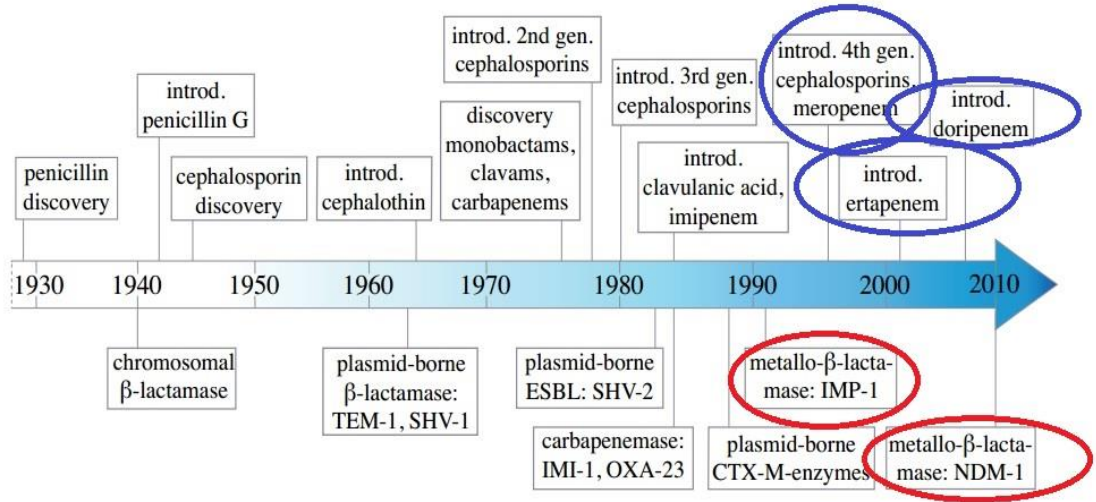
#### **2.1.6. *Enterobacter cloacae***

*E. cloacae* türüne ait bakteriler laktozu fermente eder, hareketlilerdir ve mukoid koloniler oluştururlar. Enfeksiyonlar genellikle hastanede yatan hastaların endojen bağırsak florasından kaynaklanırlar, ancak hastadan hastaya yayılarak salgınlar oluşturabilirler. Enfeksiyonlar özellikle antimikrobiyal tedavi alan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda yaygındır. *Enterobakter* spp., zatürre, idrar yolu enfeksiyonları, yara ve yanık enfeksiyonları, intravasküler ve diğer protez cihazlarının enfeksiyonları ve menenjit gibi çok çeşitli nazokomiyal enfeksiyonlara neden olurlar. *E. cloacae* ve *E. aerogenes*' in neden olduğu enfeksiyonlar arasında ayırt edici özelliklerin bulunmadığı görülmektedir. *E. sakazakii* en çok yeni doğanlarda bakteriyemi ve menenjite neden olur ve süt tozu mamasının tüketimi ile ilişkilidir. *E. cloacae* 'nin potansiyel virülans özellikleri, serum direnci ve fagositoz direnci ve aerobaktin üretimine katkıda bulunan, doku kültürü hücrelerine yapışan ve muhtemelen tip 1 fimbrianın ekspresyonunun sonucu olan mannoz duyarlı hemagglütinasyon sergileyen kapsüllerini içermektedir [10].

### **2.2. $\beta$ -laktam antibiyotikler**

1928 yılında sihirli bir ilaç olarak nitelendirilen penisilinin Alexander Fleming tarafından bulunması, ardından, Oxford'daki Sir William Dunn Patoloji Okulu'nda Florey ve diğerleri tarafından saflaştırılması ve en sonunda kurumsal Kuzey Amerika'daki seri üretim yöntemlerinde elde edilen başarı ile birlikte bulaşıcı hastalıkların geleceği kalıcı şekilde değişime uğramıştır [13]. Penisilinin ne kadar

önemli olduğu, bu sihirli ilacın iltihaplı yaraları tedavi edebildiği ve böylece milyonlarca hayatı kurtarabildiği İkinci Dünya Savaşı sırasında ortaya çıkmıştır. İlk sefalosporin Giuseppe Brotzu tarafından 1945 yılında keşfedilmiş olup bu keşif yüzlerce değişik sefalosporin gelişimine yeni bir zemin hazırlamıştır [14]. Şekil 1,  $\beta$ -laktamları ve  $\beta$ -laktamaz keşfinin zaman aralığını göstermektedir.



Şekil 1.  $\beta$ -laktam antibiyotikler ve  $\beta$ -laktamaz enzimlerinin tarihçesi [15].

İlk defa 1940 yılında, penisilinin  $\beta$ -laktam halkasını hidrolize edebilen bir enzim keşfedilmişti ve bu  $\beta$ -laktamazlar olarak bilinen bir grup enzimin ilk üyesiydi [16]. Başlangıçta,  $\beta$ -laktamazlar temelde *stafilokoklar* [17] ve *Bacillus spp.* [18] içinde bulunan penisilinazlardan oluşuyordu, ancak 1970'lerin sonunda, ampisilin de dahil olmak üzere daha geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamları hidrolize edebilme yeteneğine sahip  $\beta$ -laktamazlar yayılmaya başlamıştır. TEM-1, SHV-1 ve OXA-1 gibi plazmit kaynaklı  $\beta$ -laktamazlar *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan birçok izolatta saptandı [19]. Bu nedenle, yeni  $\beta$ -laktamazlara karşı daha dayanıklı olan yeni antibiyotiklerin bulunması gerekiyordu, yeni  $\beta$ -laktamazlara karşı dayanıklılık ilk kez sefuroksim tarafından gösterilmiştir [20]. Ardından, sefuroksim, sefotaksim [21] ve seftazidim [22] gibi 3. kuşak sefalosporinler Gram-negatif basillere karşı daha da güçlü bir etkinlik ile birlikte ilaç şirketleri tarafından piyasaya sunulmuştur.

Bununla birlikte, bu genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin yaygın olarak kullanılması nedeniyle, aynı türden bir genişletilmiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz oluşumunun ortaya çıkışına katkıda bulunmuştur. Bunların çoğu, yukarıda bahsedilen

TEM, SHV ve OXA plasmidinden kaynaklanan  $\beta$ -laktamazların nokta mutasyonlarının sonucu ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan, birçok Gram-negatif basili de genişletilmiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilen özünde kromozomal sefalosporinaz (AmpC) üretme kabiliyetine sahiptir. Bu enzimler genellikle indüklenmeden üretilmemesine karşın, *Enterobacter cloacae* ve *Citrobacter freundii* gibi bazı türlerde düzenleyici genlerinde mutasyonlar meydana gelebilir ve bu da enzimlerin büyük miktarlarda aşırı üretimine neden olur. Sefalosporinaz üretiminden sorumlu genler plazmitler gibi mobil elementler üzerinde bulunurlar. Bu genler enterik bakterilerde türler içinde ve türler arasında yayılım göstermişlerdir.

### 2.3. Karbapenem grubu antibiyotikler

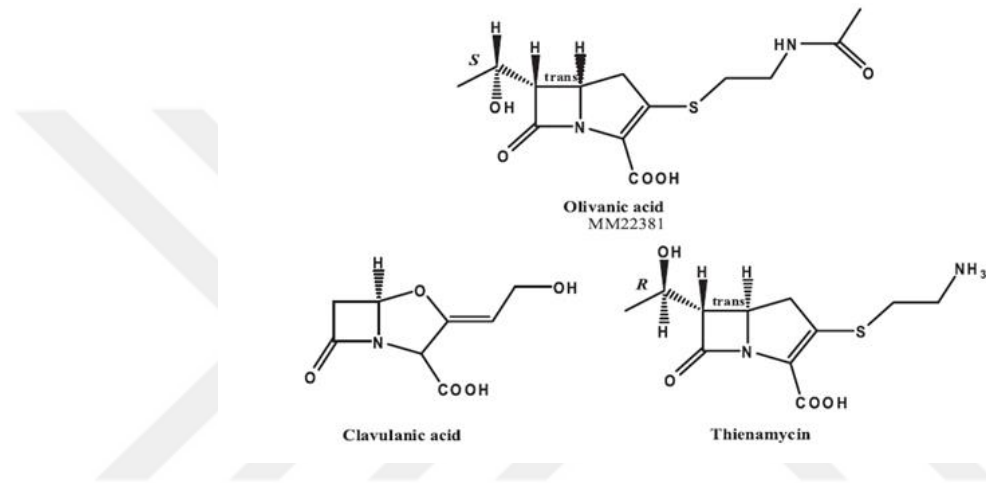
Karbapenemler, ciddi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan Gram-negatif bakterilerin (GNB) tedavisinin en son alternatif olarak kullanılan güçlü geniş spektrumlu  $\beta$ -laktam antibiyotiklerdir [23]. 2000'li yıllardan önce karbapenem-dirençli bakteriler, çoğunlukla *Pseudomonas aeruginosa* ve daha az oranda *Acinetobacter baumannii* olmak üzere yalnızca birkaç klinik izolatta bulunurdu. Karbapenem grubu antibiyotiklere direnç, karbapenemaz enzimleri üretimi dışında, yüksek seviyede  $\beta$ -laktamaz ekspresyonu ile birlikte dış membranın geçirgenliğinde azalma ve/veya aktif pompa sistemlerinin aşırı ekspresyonuna bağlı olarak gelişmektedir [21].

#### 2.3.1. Karbapenemlerin bulunması

1976 yılında,  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine duyulan ihtiyaç, bilim insanlarını, doğal olarak Gram-pozitif *Streptomyces clavuligerus* tarafından üretilen olivank asitleri keşfetmeye yönlendirmiştir. Kimyasal stabilitelerinin olmaması ve bakteri hücrelerine zayıf nüfuz etmesi nedeniyle olivank asitler daha fazla üretilmemiştir.[24], [25]. Kısa süre sonra iki adet daha kuvvetli  $\beta$ -laktamaz inhibitörü bulunmuştur, (i) *S. clavuligerus*'dan elde edilen klavulanik asit ilk beta laktamaz inhibitörüdür. Bununla beraber (ii) *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen tienamisin ilk karbapenem antibiyotiktir. (bileşik 3).

Karbapenemler diğer  $\beta$ -laktamlardan farklıdır, tipik dört üyeli  $\beta$ -laktam halkasındaki 1-pozisyonundaki karbonun yerine sülfür eklenerek yeni bir beş üyeli  $\beta$ -laktam yapısı oluşturulmuştur [26].

Karbapenemleri penisilinler ve sefalosporinler'den daha dayanıklı hale getiren neden ise  $\beta$ -halkasına bağlı fakat bir cis konfigürasyonundaki asil amino yan zincir de içeren Penisilinler ve sefalosporinlerin aksine C-6 pozisyonunda bir trans konfigürasyonunda hidroksietil yan zinciri içermeleridir. Çünkü tienamisin kimyasal olarak çok fazla stabil değildir ve terapötik bir ilaç olarak geliştirilemez [10].

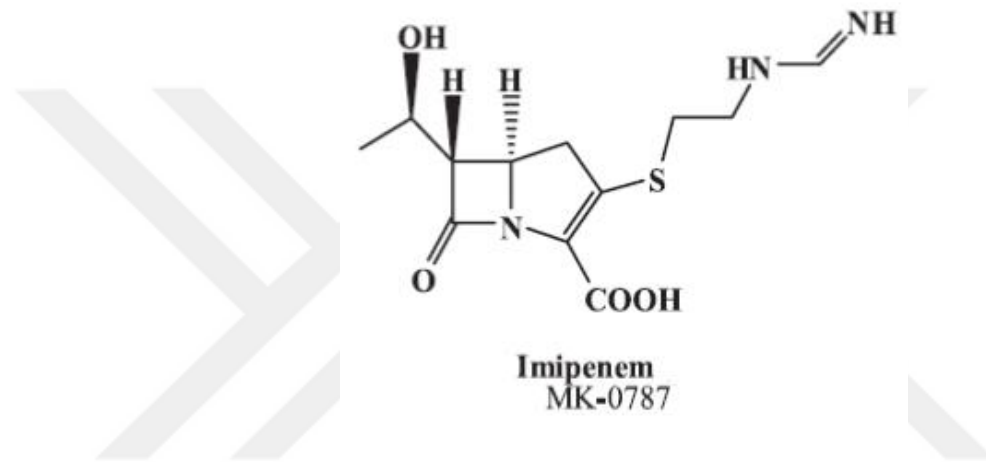


Şekil 2. Olivanik asit, klavulanik asit ve tienamisinin kimyasal yapıları [12].

### 2.3.2. Karbapenemlerin etki mekanizması

Bir  $\beta$ -laktam sınıfı olarak, karbapenemlerin porinler olarak da bilinen dış membran proteinlerinden geçmesi gerekmektedir. Geçiş için OmpC veya OmpF membran proteinlerini kullanan sefalosporinler ve penisilinlerin aksine, karbapenemler, Gram-negatif bakterilerin dış membran bariyerini OprD dış membran proteinlerini kullanarak geçerler [10]. Periplazmik boşlukta olduklarında, karbapenemler PBP'leri "kalıcı olarak" asilleştirirler. PBPlar, bakterilerin hücre duvarında peptidoglikanın oluşumunu katalizleyen enzimlerdir (transglikolazlar, transpeptidazlar ve karboksipeptidazlar). Karbapenemler peptidin çapraz bağlanmasını ve diğer peptidaz reaksiyonlarını inhibe edebilir. Karbapenemlerin diğer  $\beta$ -laktamlara göre etkinliklerinin kilit unsuru çoklu farklı PBP'lere bağlanma kabiliyetleridir. Çünkü hücre duvarı oluşumu, içerisinde oluşumun ve otolizin aynı anda meydana geldiği dinamik "üç boyutlu bir süreçtir. PBP'ler inhibe edildiğinde, otoliz devam eder ve peptidoglikanın zayıflamasına neden olur ve hücre ise ozmotik basınca bağlı olarak patlar [23].

Bu benzersiz dış membran geçirgenlik özelliği ve  $\beta$ -laktamaza karşı yüksek stabilite, karbapenemlerin geniş antibakteriyel spektrumu ve karbapenemler ile  $\beta$ -laktam antibiyotik sınıfının diğer üyeleri arasındaki çapraz direncin nispeten eksikliğini açıklamaktadır [10]. Dolayısıyla karbapenemler *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus rettgeri*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacteroides fragiles* de dahil olmak üzere en yaygın penisilaz ve sefalosporinazlar (Ambler sınıf A ve C enzimleri) üreten bakterilere karşı etkindirler [10].



Şekil 3. İmipenemin kimyasal yapısı [12].

### 2.3.3. İmipenem

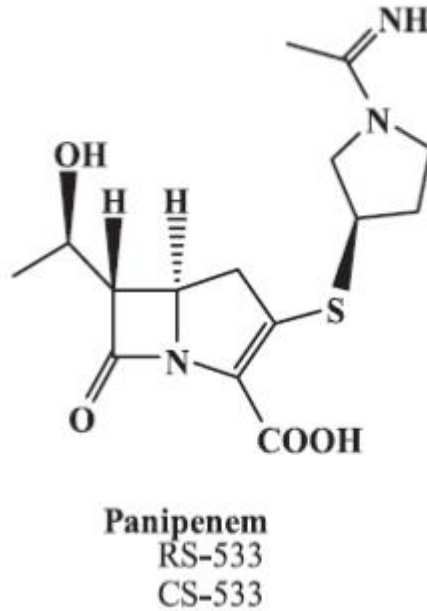
İmipenem (N-formimidoil-tienamisin veya MK-0787) 1980 yılında ilk kez klinik olarak kullanılan karbapenemdir. N-formimidoil grubun 2 pozisyonuna eklenmesi yoluyla tienamisinden üretilmiştir. İmipenemin ilk 20 yılda 26 milyondan fazla hastayı tedavi ettiği düşünülmektedir. Ciddi enfeksiyonlarda uygun antibiyotikle başlangıç tedavisinin seçilmesi son derece önemlidir. İmipenem memeli renal dehidropeptidaz I (DHP-I) tarafından hızla parçalanır, bu yüzden enzimin bir inhibitörü olan silastatin ile kombine edilmiştir. Silastatin imipenem'in bozulmasını (DHP-I) önlemek ve böbrekleri imipenemin yüksek dozlarının potansiyel toksik etkilerinden korumak için kullanılır. İmipenem ve silastatin kombinasyonunun oranı 1:1'dir [27].

### 2.3.3.1. İmipenem'in etki mekanizması

İmipenem, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin penisilin-bağlayıcı proteinlerine (PBP) yüksek afinite ile bağlayarak bakteriyel hücre duvar sentezini inhibe eder. Örneğin, *Escherichia coli*'de, imipenem PBPS-1A, PBPS-1B ve PBPS-2'nin transpeptidaz aktivitelerini inhibe eder ve aynı zamanda PBPS-4 ve PBPS-5'in D-alanin karboksipeptidaz aktivitelerini inhibe eder. Ayrıca, PBP-1A'nın transglikozilaz aktivitesinin güçlü inhibisyonuna da neden olur, ancak düşük afiniteli PBP-3'e bağlandığı için PBP-3'ün transpeptidaz aktivitesine karşı zayıf aktiviteye sahiptir ve septum oluşumunu inhibe etmez [28]. PBP-1 ve PBP-3'e uygun olarak bağlanan diğer karbapenemleri de içeren diğer hiçbir  $\beta$ -laktama benzememektedir.

### 2.3.3.2. İmipenemin klinik kullanımı

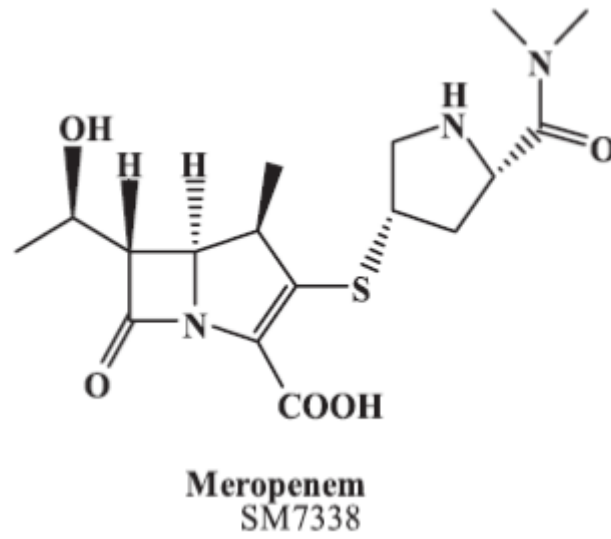
İmipenem aerop ve anaerop Gram pozitif ve Gram-negatif koklar ve basilleri içeren çok geniş etki spektrumuna sahiptir. İmipenem, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Clostridium difficile* ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaz [27].



Şekil 4. Panipenemin kimyasal yapısı [12].

### 2.3.4. Panipenem

Panipenem 1993 yılında Sankyo tarafından uygulanmıştır. İmipenem gibi bir dehidropeptidaz inhibitörüdür, bu durumda betamipron ile birlikte uygulanması gerekir [29]. Mevcut karbapenemlere kıyasla herhangi bir avantaj sunmadığı için yalnızca Japonya, Çin ve Güney Kore'de onaylanmıştır.



Şekil 5. Meropenem kimyasal yapısı [12].

### 2.3.5. Meropenem

Meropenem kimyasal olarak imipenem'den daha stabildir, DHP-1'e stabil olmasından dolayı tek başına kullanılır. Antibakteriyel etki açısından meropenem enterik bakterilere karşı genellikle imipenem'den iki ile dört kat daha güçlüdür [30]. Meropenem, menenjit enfeksiyonunda kullanımı onaylanan tek karbapenemdir, çünkü meninkslere mükemmel bir şekilde nüfuz eder [31].

#### 2.3.5.1. Meropenem'in etki mekanizması

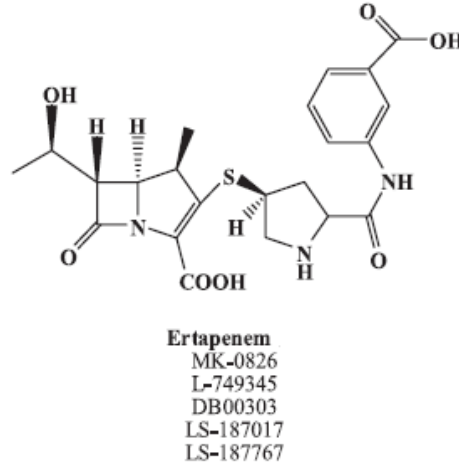
Meropenem, *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya serbestçe nüfuz eder, ancak dış membran porin proteini olan OprD içermeyen *P.aeruginosa* suşlarına karşı daha fazla etkiye sahiptir ki bu da OprD dışındaki porinleri hücrenin içine girmesi için kullanabileceğini düşündürmektedir [32]. İmipenem gibi meropenem



de PBP'lere yönelik yüksek afiniteye sahiptir. Örneğin *E.coli*'de meropenem için birincil PBP'ler PBP2 ancak *P.aeruginosa* 'da birincil PBP'ler ise PBP3'tür [33].

### 2.3.5.2. Meropenem'in klinik kullanımı

Meropenem, imipeneminkine çok benzer bir antibakteriyel etki spektrumuna sahiptir ancak stafilokoklara ve enterokoklara karşı daha az etkilidir. *P.aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan türlere ve *Haemophilus influenza*'ye karşı daha aktiftir. Tüm yaygın insan patojenleri ile ilgili olarak, sadece *metisilen-dirençli Staphylococci* ve *Enterococcus faecium* meropeneme eşit düzeyde dirençlidir [33].



Şekil 6. Ertapenemin kimyasal yapısı [12].

### 2.3.6. Ertapenem

Ertapenem kimyasal olarak imipenem'den daha stabildir, DHP-1'e stabil olmasından dolayı tek ajan olarak uygulanır. Ertapenem, insan plazmasında diğer karbapenemlerin arasında en uzun eliminasyon yarılanma ömrüne sahiptir [14]. Bu avantaj, günde iki doz olarak kullanılan diğer karbapenemlerin aksine, günde bir doz olarak kullanılmasını sağlar.

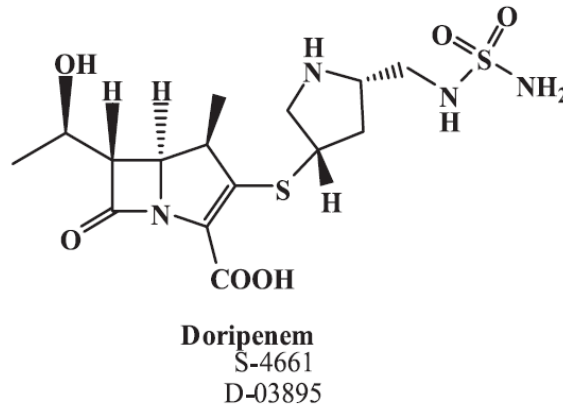
#### 2.3.6.1. Ertapenem'in etki mekanizması

Meropenem gibi ertapenem de *Escherichia coli*'nin PBP-2 ve ardından PBP-3'e en güçlü şekilde bağlanır ve PBP-1a ve -1b'ye karşı iyi derecede afiniteye sahiptir. İmipenem ilk olarak PBP-2 ve ardından -1a ve -1b'ye bağlanırken, PBP-3 için zayıf

afiniteye sahiptir. Bu nedenle, ertapenem ve meropenem, *E. coli*'deki birincil PBP hedeflerini imipenem'den daha fazla doymuş hale getirmek için daha düşük konsantrasyonlara ihtiyaç duymaktadır ve bu, neden daha düşük MİK'lere sahip olduklarını açıklamaktadır [34].

#### 2.3.6.2. Ertapenem'in klinik kullanımı

Ertapenem, *Enterobacteriaceae*, Gram-pozitif türler ve anaeroplara karşı imipenem ve meropenemde olduğu gibi geniş etki spektrumuna sahiptir. Ertapenem, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp'ye karşı etkili değildir [34].



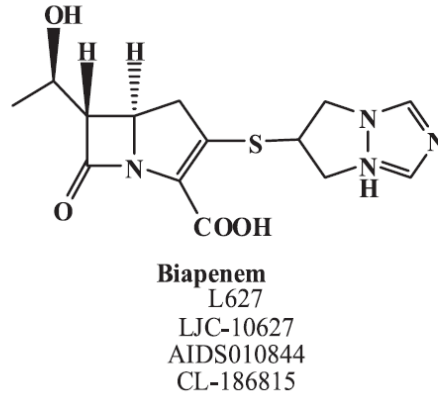
Şekil 7. Doripenemin kimyasal yapısı [12].

#### 2.3.7. Doripenem

2007 yılında, ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) komplike karın içi enfeksiyon ve komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi için doripenemi onaylamıştır [35].

##### 2.3.7.1. Doripenem'in etki mekanizması

Genel olarak, doripenem PBP bağlanma profilleri meropeneminkine oldukça benzerdir. *E. coli*'de doripenem, PBP2'ye, *P. aeruginosa*'da ise PBP2 ve PBP3 için yüksek afiniteye sahiptir [36].



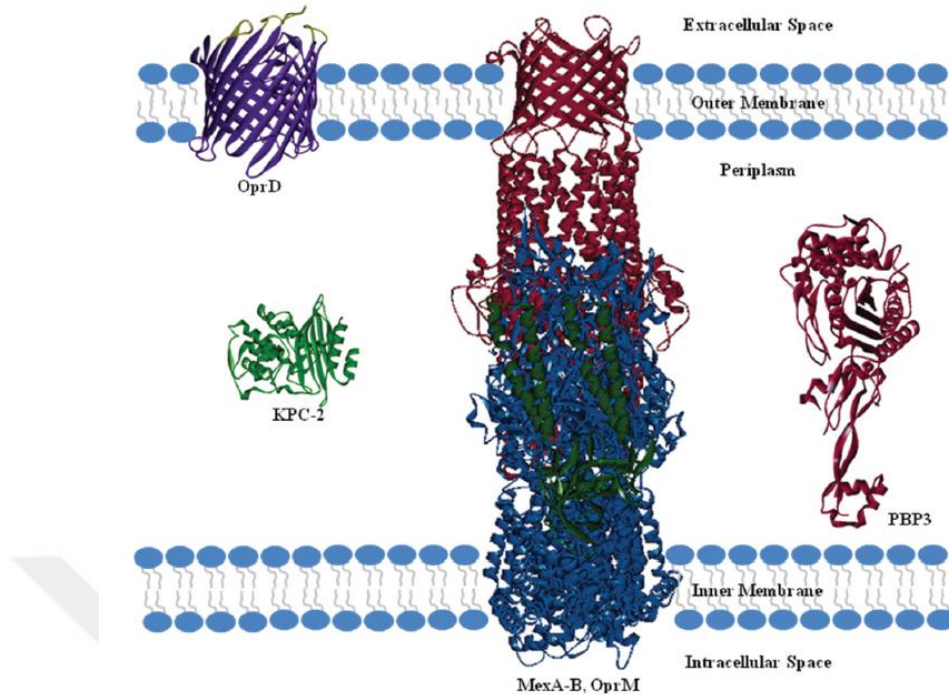
**Şekil 8.** Biapenemin kimyasal yapısı [12].

### 2.3.8. Biapenem

Biapenem (1β-metil-karbapenem), β-laktamaz üreten türler dahil olmak üzere birçok Gram-negatif ve Gram-pozitif aerobik ve anaerobik bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel etkiye sahiptir [37]. Biapenem, insan renal dihidropeptidaz-I (DHP-1) ile hidrolize için imipenem'den daha stabildir ve etki mekanizması ve klinik kullanım açısından meropenem ile benzerdir [38].

### 2.4. Penemler

Faropenem ve ritipenem, karbapenemler değil penemlerdir ancak β-laktam halkasında karbon yerine kükürt içermeleri haricinde karbapenemlere benzer yapıdadırlar. Oral yoldan uygulanabilirler [39].



**Şekil 9.** Gram negatif bakteri dış membran yapısı, KPC-2 karbapenemaz, PBP3, OprD ve MexA-MexB-OprM efluks sistemi [12].

## 2.5. Karbapenemlere direnç mekanizması

Karbapenemlere direncin gelişmesinde dört mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlar; i-Karbapenemleri ve diğer  $\beta$ -laktamları hidrolize eden bir  $\beta$ -laktamazın üretilmesi, ii-Gram-negatif bakteri dış membranındaki OprD'nin azalması veya yokluğundan dolayı ve genellikle bir  $\beta$ -laktamaz üretimi ile birlikte dış membran geçirgenliğinin azalması. (iii) Gram-negatif bakterilerdeki dış membrandan aktif pompa sistemleri ile antibiyotiğin dışarı atılması ve iv- değiştirilmiş veya düşük affiniteli bir PBP hedefi üretilmesidir [40]–[42]. Gram-pozitif kok ve Gram-negatif çomaklarda karbapenemlere karşı direnç arasındaki ana farklılık, Gram-pozitif koklarda amino asit dizilişlerinde ya substitusyon ya da edinme yoluyla yeni bir karbapeneme dirençli PBP'nin üretilmesi şeklinde tipik olarak PBP'lerin değiştirilmesinin bir sonucu olmasıdır [43]–[45]. Gram-negatif çomaklarda ise  $\beta$ -laktamaz ekspresyonu, atım pompaları, porin kaybı ve PBP'deki değişikliklerin tamamı karbapenem direnci ile ilişkilidir [42-44].

### 2.5.1. Atım pompaları

*P. aeruginosa*'da bulunan çoklu antibiyotik atım pompa sistemi (MexA-MexB-OprM) (Şekil 2.5.4), imipenem dışında doripenem, ertapenem ve meropenem pompalama yeteneğine sahiptir. MexB, MexA tarafından dış membran proteini OprM

ile bağılı bir sitoplazmik membran akışı pompa proteinidir. Bu pompa sistemi ile doripenem, ertapenem, meropenem, penisilinler, sefalosporinler ve fluorokinolonlar hücreden dışarı atılabilir. Bu dışa atım sisteminin aşırı ekspresyonundan dolayı hedef PBP'leri etkisizleştirmek için gerekenden daha düşük seviyeye düşmesi nedeniyle, imipenem dışında doripenem, ertapenem ve meropenem için MİK değerleri yükselir [43], [45, 46].

### 2.5.2. Porinlerin ekspresyonunu ve/veya işlevini değiştiren mutasyonlar

Mutasyon nedeniyle oluşan OprD'nin düşük üretimi veya yokluğu, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. ve  $\beta$ -laktamaz ekspresyonu veya dışa atım pompası ile ilişkili olan Gram-negatif bakterilerdeki karbapenemlere karşı direncin ortaya çıkmasına neden olabilir [47, 48]. Bu mekanizma ile imipeneme dirençli suşların, diğer karbapenemler için de düşük aktiviteye sahip olduğu kabul edilir, ancak doripenem ve meropenemin minimum inhibisyon konsantrasyonları duyarlılık sınırları içinde olabilir, bu da OprD'nin tüm karbapenemler için özel bir giriş yolu olmadığını ortaya koymaktadır [53].

### 2.5.3. PBP'lerin ekspresyonunu ve/veya işlevini değiştiren mutasyonlar

Gram-pozitif koklarda karbapenem direncinin ana mekanizmasıdır. Düşük affiniteli bir PBP veya PBP'lerin üretimi  $\beta$ -laktam direncine aracılık eder. Penisiline dirençli *pnömokoklarda* karbapenem direncini ve *viridans* grubu *streptokok*, metisiline dirençli *stafilokok* ve ampisiline dirençli ( $\beta$ -laktamaz üretmeyen) *enterokokları* ve özellikle *Enterococcus faecium*'u açıklar [49]. Gram-negatif çomaklarda, değiştirilmiş PBP ekspresyonu *P. aeruginosa*'da dirence katkıda bulunur [49], [50].

### 2.5.4. $\beta$ -laktamazların üretimi

$\beta$ -laktamazların üretimi önemli bir  $\beta$ -laktam antibiyotik direnç mekanizmasıdır.  $\beta$ -laktamazlar,  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin hidrolize edilmesi ve ilacın PBP hedefine ulaşmasını önleme yeteneğine sahip periplazmik enzimlerdir.

#### 2.5.4.1. $\beta$ -laktamazların sınıflandırılması

$\beta$ -laktamazlar, enzimin hidrolizi ve inhibisyon profiline dayanan işlevsel düzen [44] veya moleküler yapıya dayalı yapısal düzen olmak üzere iki sistemle sınıflandırılabilir. 1980 yılında, Ambler  $\beta$ -laktamazlarını moleküler yapılarına göre A,

B, C ve D sınıfları olmak üzere dört gruba ayırmıştır [54]. B Sınıfı enzimler, inaktif  $\beta$ -laktamları için  $Zn^{2+}$  kullanırken diğer A, C ve D sınıfları  $\beta$ -laktam bağını hidrolize etmek için nükleofil olarak bir serin kullanır. Ambler sınıflandırması, mantığı ve basitliği nedeniyle işlevsel sınıflamayı büyük oranda geçersiz kılmıştır.

A sınıfı  $\beta$ -laktamazları, klavulanik asit gibi  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilen penisilazlar ve/veya sefalosporinazlar olabilirler. Metallo- $\beta$ -laktamazlar (MBL) olarak da bilinen B sınıfı  $\beta$ -laktamazlar karbapenemazlardır [55] çünkü MBL'nin metal-kenetleyiciler tarafından inhibe edilebileceği aktif bölgede çinko iyonlarına ihtiyaç duyarlar. C sınıfı  $\beta$ -laktamazlar, kloksasilin tarafından inhibe edilen sefalosporinazlardır. D sınıfı veya oksasilinaz (OXA)  $\beta$ -laktamazlar, oksasilini penisilin'den daha yüksek bir oranda hidrolize edebilme özelliği ile karakterizedir. D sınıfı veya oksasilazaz, spesifik bir inhibitör içermez.

Grup 1 (C sınıfı) sefalosporinazlar; Geniş spektrumlu, inhibitöre dirençli ve genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamazlara serin karbapenemazları içeren (A ve D sınıfı) grup 2; grup 3 metallo- $\beta$ -laktamazlar dahil olmak üzere  $\beta$ -laktamazların sınıflandırmasına yönelik güncellenmiş üç grup içeren yeni bir büyük gruplama sistemi de vardır [25].

|                 |                                                                                        |   |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| KPC (1-10)      | <i>Enterobacteriaceae</i> spp<br><i>P. aeruginosa</i>                                  | A |
| SME             | <i>S. marcescens</i> , not plasmid Associated.                                         |   |
| NMC-A, IMI      | <i>Enterobacter</i> spp.                                                               |   |
| GES             | <i>P. aeruginosa</i> and <i>Enterobacteriaceae</i> spp                                 |   |
| IMI, VIM, NDM-1 | <i>Pseudomonas</i> spp.<br><i>Acinetobacter</i> spp.<br><i>Enterobacteriaceae</i> spp. | B |
| OXA             | <i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> , and <i>Enterobacteriaceae</i> spp         | D |

Şekil 10. Karbapenemaz türleri. [56]

#### 2.5.4.2. Karbapenemazlar

Karbapenemazlar, karbapenemleri hidrolize etme yeteneğine sahip özel  $\beta$ -laktamazlardır. Ambler sınıfı A, B ve D'ye aitlerdir. Karbapenemler ya doğal olarak kromozomal üretilir ya da sonradan kazanılırlar.

#### 2.5.4.3. Kromozomal karbapenemazlar

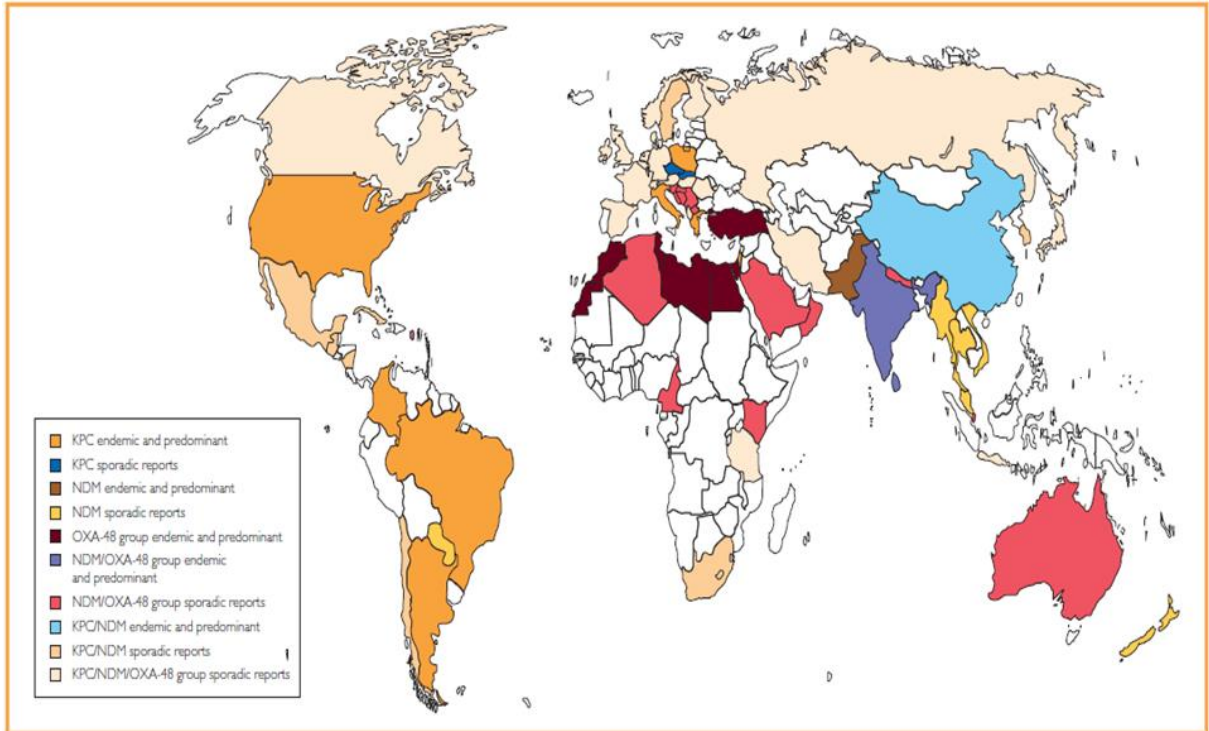
*Fluoribacter* (önceden *Legionella*) *gormanii* [48] tarafından üretilen FEZ enzimi, *Elizabethkingae meningosepticum* [49] tarafından GOB ve BlaB ve *Stenotrophomonas maltophilia* [50] tarafından L1 enzimleri kromozomal karbağenemazlardır. *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Elizabethkingae meningosepticum*, düşük patojenite gösterirler ancak intrensek olarak multidrag dirençten dolayı tedavisi zor olan gerçek enfeksiyonlara nadiren neden olabilirler. Karbapenemaz geni kromozom üzerinde bulunduğundan dolayı epidemiyolojik olarak bir tehdit oluşturmazlar. Bireysel hasta açısından ciddi bir durum olmasına rağmen bu kromozomal karbapenemazlar sınırlı bir küresel tehdit oluşturmaktadır.

#### 2.5.4.4. Kazanılmış karbapenemazlar

1994 yılında, ilk plazmit kaynaklı karbapenemaz Japonya'da tanımlanmıştır. *Serratia marcescens*'de IMP-1 adlı bir B sınıfı enzim bulunmuş ve daha sonrasında *P. aeruginosa* arasında yaygınlaştığı tespit edilmiştir [57]. Daha sonraki plazmit kaynaklı B sınıfında bulunan enzimler ise 1997 yılında Kuzey İtalya Verona kentinde *P. aeruginosa*'da tanımlanan VIM türü enzimlerdir [58].

A sınıfı enzimler ile ilgili olarak, ilk plazmitle ilişkili karbapenemaz aslında IMP ve VIM'den önce bulunmuştur; 1982 yılında Londra'daki [53] *S. marcescens*'den izole edilen SME-1 ve 1984 yılında Kaliforniya'daki bir hastanede izole edilen iki *E. cloacae*'den izole edilen IMI-1'dir [59]. Her ikisi de imipenem'in yaygın olarak üretilmesinden önce bulunmuştur. Ancak 1996 yılında, yeni bir plazmit ilişkili A sınıfı karbapenemaz, Kuzey Carolina, ABD'de *Klebsiella pneumoniae*'den izole edilmiştir. Bu enzim ilk başta KPC-1 olarak adlandırılmış ancak şu an KPC-2 olarak değiştirilmiştir [60].

Karbapenem hidrolize edici bir oksasilinazın ilk tanımlaması 1993 yılında *Acinetobacter baumannii*'de [56], OXA-48 ilk olarak 2003 yılında *K. pneumoniae*'de tanımlanmıştır [57, 58].



Şekil 11. KPC, NDM ve OXA-48 tipi karbapenemazların dünya üzerinde dağılımı [58].

#### 2.5.4.4.1. A Sınıfı karbapenemazlar

Yukarıda belirtildiği gibi, bazı A sınıfı karbapenemazlar kromozom tarafından kodlanmış enzimler NmcA, Sme, IMI-1 ve SFC-1 enzimleridir. Ancak daha fazla klinik ve epidemiyolojik önemi olan karbapenemazlar KPC, IMI-2 ve GES enzimleri ve türevleridir. Bunların hepsi, klavulanik asit ile inhibe olurlar [61]. Bu grup içinde KPC enzimi klinik ve epidemiyolojik olarak en önemli enzimdir. ABD'de KPC'nin bulunmasından kısa bir süre sonra, KPC üreten bakteriler dünya çapına dağılım göstermiş, ABD ile birlikte diğer ülkelerde, özellikle Porto Riko, Kolombiya, Yunanistan, İsrail ve Çin'de birçok ülkede saptanmıştır [58, 59]. Ayrıca Avrupa ve Güney Amerika'da da bildirilmiştir KPC enzimleri çoğunlukla hastane kökenli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarından ve daha az sıklıkla *E. coli* ve diğer enterik bakteri türlerinden izole edilmişlerdir. Araştırmalar,  $bla_{KPC}$  genlerinin transpozon Tn 4401 olan tek bir genetik element ile ilişkili olduğunu göstermiştir [64].

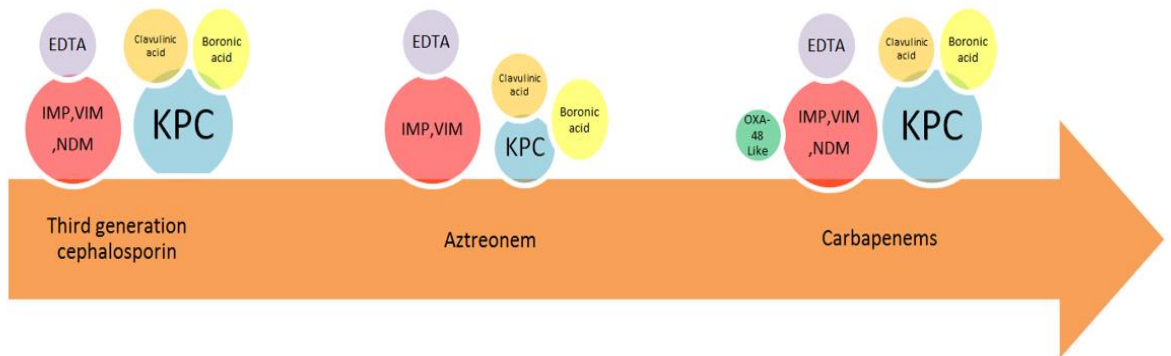


**Tablo 1.** *Enterobacteriaceae*'de karbapenemaz üreten izolatlarda karbapenemler için saptanan MİK aralıkları [64].

|                           | MİK (mg/) |           |           |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
|                           | İmipenem  | Meropenem | Ertapenem |
| KPC                       | 0.5->64   | 1->64     | 0.5->64   |
| Metallo $\beta$ -laktamaz | 0.5->64   | 0.25->64  | 0.5->64   |
| OXA-48                    | 1->64     | 0.5->64   | 0.25->64  |

#### 2.5.4.4.2. B Sınıfı karbapenemazlar

Bu enzimler çoğunlukla Verona integron kodlu metallo- $\beta$ -laktamaz (VIM), IMP ve Yeni Delhi metallo-  $\beta$ -laktamazlar -1 (NDM-1) tipindedir. VIM ve IMP'in Yunanistan, Tayvan ve Japonya'da endemik olduğu bildirilmiştir. Bu enzimler aztreonam hariç tüm  $\beta$ -laktamları hidrolize edebilir, klavulanik asitle inhibe olmaz, ancak EDTA ile inhibe edilirler [61], [65]. Bu grup içinde uluslararası anlamda en çok ilgiyi NDM-1 enzimi görmüştür. İsveç'te 2008'de Yeni Delhi'de daha önce hastaneye yatırılmış Hintli hastada bulunmasından sonra tüm dünyada hızla yayılmıştır. [66] , Orta ve Güney Amerika dışındaki tüm kıtalarda tespit edilmiştir. Bu izolatların çoğu Hint alt-kıtasıyla doğrudan ilişkilidir [66]. Balkan devletleri ve Orta Doğu, bazı araştırmalara göre NDM-1'in ikincil rezervuarları gibi davranabilir [66].



**Şekil 12.** Karbapenemazların substratı, hidrolizi ve karbapenemaz inhibitörleri.

#### 2.5.4.4.3. D Sınıfı karbapenemazlar veya oksasilinazlar

D sınıfı enzimler, oksasilin gibi isoksazolil-tipi  $\beta$ -laktamları etkin şekilde hidrolize edebilme yeteneklerinden ötürü oksasilinazlar veya OXA'lar olarak da adlandırılır [67]. Bu sınıf, oksasilinaz, karbapenemaz veya sefalosporinaz içeren hidroliz profiline göre birçok aileye bölünebilir. Örneğin, 1970'lerin başında saptanan OXA-1, oksasilini etkin şekilde hidrolize eden D sınıfı enzimin (dar –spektrum) bir alt türünü temsil eder [68]. 250'den fazla D sınıfı  $\beta$ -laktamaz tespit edilmiştir, bunların birkaç tanesi karbapenemazdır. Üyeleri OXA-24/40, OXA-48 ve OXA-23 içeren D sınıfı  $\beta$ -laktamazları (CHDLs) hidrolize eden karbapenem olarak da adlandırılırlar [67]. Çoğu (CHDL'ler) genellikle *Acinetobacter* spp.'den (Örneğin, OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-143) [70], [71] izole edilirken, OXA-48 tipi enzimler neredeyse sadece *Enterobacteriaceae*'de tanımlanır [72]. Bugüne kadar sadece *A. baumannii*'de OXA-48'i bildiren iki çalışma vardır ve *P. Aeruginosa* ile yapılan hiçbir çalışma bulunmamaktadır [69].

##### 2.5.4.4.3.1. OXA-48 tipi karbapenemazlar

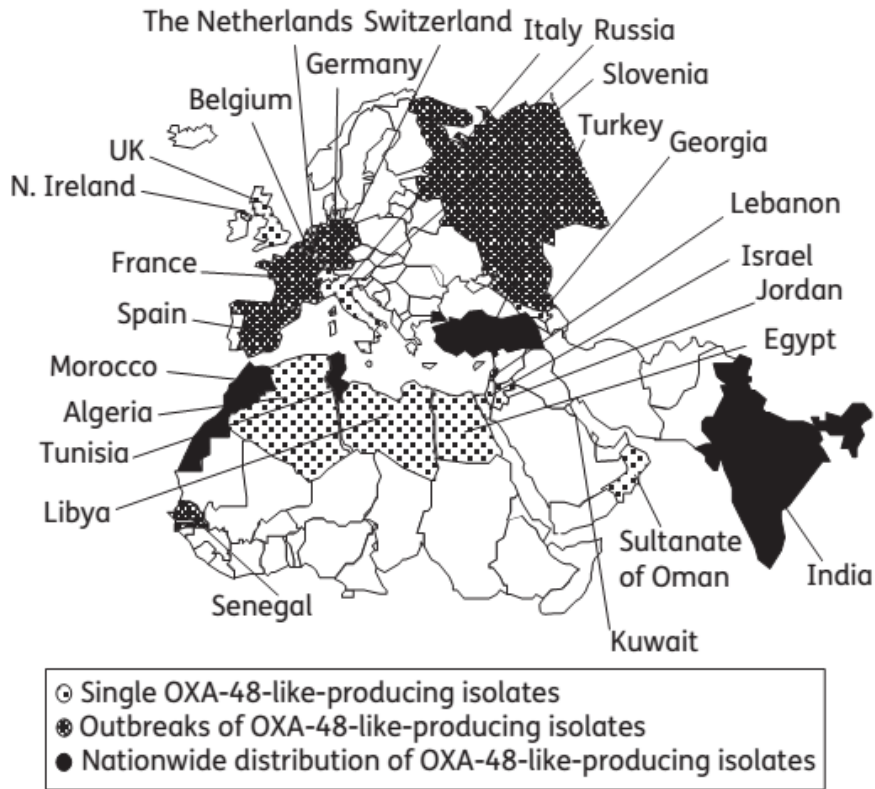
CHDL'ler klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam gibi klinik kullanımda bulunan  $\beta$ -laktamaz inhibitörü tarafından inhibe edilmezler [70]. Bunların dışında, boronik asit türevleri (BA), dipikolinik asit (DPA) ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) tarafından da inhibe edilmezler. OXA-48 penisilinleri etkili bir şekilde hidroliz eder ancak karbapenemleri zayıf olarak hidrolize eder, karbapenemleri zayıf olarak hidrolize ettiği için tespiti zorlaşır, gözden kaçabilirler ve yayılımları sessiz bir şekilde gerçekleşir. Ancak enzim kinetik analizi OXA-48'in imipenem ve panipenem için meropenem ve ertapenem'den daha büyük katalitik etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır [71]. OXA-48 benzeri enzimlerin hızla yaygınlaşmasının bir diğer önemli nedeni ise kodlayıcı genlerinin (*bla*<sub>OXA-48</sub> tipi genler) her zaman plazmitten kaynaklanıp, bir bakteriden diğerine kolaylıkla geçmesine izin vermesidir [72].

##### 2.5.4.4.3.2. OXA-48 türleri

Birçok farklı OXA-48 benzeri beta-laktamazlar dünya çapında tanımlanmıştır . Bilinen OXA-48 varyantları; OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244 ve OXA-245, OXA-247, OXA-370'tir [73]. Bu varyantlar OXA-48'den bir ile beş amino asit değişikliği ve/veya dört amino asit delesyonu ile farklılık gösterir ki bu da modifiye  $\beta$ -laktam hidroliz spektrumu ile sonuçlanır [74].

### 2.5.4.4.3.3. OXA-48 epidemiyolojisi

OXA-48 tipi karbapenemazların ilk olarak İstanbul'da tanımlanmasından beri OXA-48 tipi enzim üreten Gram negatif bakteriler Türkiye dışında, Orta Doğu, Hindistan ve Kuzey Afrika ülkelerinde yaygınlaşmıştır. Bu ülkeler OXA-48 üreticilerinin rezervuarları olarak düşünülmektedir [72]. Ayrıca Fransa, Almanya, İspanya, Hollanda ve Birleşik Krallık'taki ülkelerdeki OXA-48 tipi enzim üreten suşlar giderek artan oranda bildirilmektedir [6]. Benzer karbapenemaz etkinliğine sahip OXA-181 Hindistan, Hollanda, Singapur, Fransa ve Umman Sultanlığı'nda tespit edilmiştir. Bu suşların çoğunun kaynağı, Hindistan alt kıtasında izlenmiştir [75]. Şekil 5.4.4.6 OXA-48 üreten izolatların dağılımını göstermektedir.



Şekil 13. Avrupa, Hindistan ve Orta Doğu'da OXA-48 benzeri genin dağılımı [75].

### 2.6. Türkiye'de Gram-negatif bakterilerde kazanılmış karbapenem direnci

OXA-48'in ilk kez 2001 yılında Türkiye'de hastanemizde bulunmasının ardından, birçok çalışma Türkiye'de OXA-48 enzimini sentezleyen *Enterobacteriaceae* ailesine ait suşlar (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter cloacae*'de) birçok hastanede endemik hale geçmiştir [76]–[78]. ECDC

yönergelerine göre, endemik durum veya 5. evre "Bir ülkedeki çoğu hastane, art arda yerel kaynaklardan kabul edilen vakalar ile karşılaşmaktadır" anlamına gelmektedir [79].

Karbapenemazlarla ilgili çok merkezli olarak gerçekleştirilen EuSCAPE projesinde, karbapenemlere dirençli olan 155 izolatın %14'ü *E. coli* ve 86'sı *K. pneumoniae* idi. Bu suşların çoğunda moleküler testlerle tek bir enzim bulunur. Tek enzim sentezleyenlerin oranı; OXA-48: %84.6, NDM: %6.3, VIM: %2.8 ve IMP: %1.4 olarak bildirilmiştir. Yedi izolatta iki enzimin birlikteliği; OXA-48+NDM: %2.1, OXA-48+VIM: %2.1, VIM+NDM: %0.7 olarak saptanmıştır [80]. Ayrıca, ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda NDM-1, IMP-1, VIM-5 ve KPC-2 enzimi üreten CRE türleri ortaya konmuştur [7], [81].

Tablo 2'de Türkiye'de tanımlanan çeşitli karbapenemaz tipleri ve keşfedildikleri tarihler gösterilmektedir.

**Tablo 2.** Türkiye'de tanımlanan çeşitli karbapenem türleri ve keşfedildikleri tarihler.

| Gen            | İzolasyon Yılı | Kaynak |
|----------------|----------------|--------|
| OXA-48         | 2001           | [82]   |
| IMP-1          | 2000-2004      | [83]   |
| NDM-1          | 2011           | [84]   |
| OXA-48 + NDM-1 | 2010-2011      | [85]   |
| KPC-2          | 2011           | [86]   |
| VIM-5          | 2011-2013      | [87]   |

Bu genler arasında NDM-1, Türkiye'nin güneydoğusundaki giderek hızla artmakta olup, çok nadir olarak bildirilen KPC enzimi üreten suş sayısı 2013 yılında 2b'den 2014-2015'te 0'a düşmüştür. Diğer enzim tiplerinde ise EuSCAPE bildirimine göre artış gözlenmektedir [81].

**Tablo 3.** Karbapenemaz türüne göre CRE yayılımının epidemiyolojik evreleri, EuSCAPE [79].

| Country                                   | Epidemiological stage for the spread of CPE by type of carbapenemase |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|
|                                           | KPC                                                                  |                        | OXA48             |                        | VIM               |                        | NDM               |                        | IMP               |                        |
|                                           | 2013 <sup>a</sup>                                                    | 2014-2015 <sup>b</sup> | 2013 <sup>a</sup> | 2014-2015 <sup>b</sup> | 2013 <sup>a</sup> | 2014-2015 <sup>b</sup> | 2013 <sup>a</sup> | 2014-2015 <sup>b</sup> | 2013 <sup>a</sup> | 2014-2015 <sup>b</sup> |
| .                                         |                                                                      |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |
| .                                         |                                                                      |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |
| .                                         |                                                                      |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |
| .                                         |                                                                      |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |                   |                        |
| Spain                                     | 2b                                                                   | 3                      | 3                 | 4                      | 3                 | 4                      | 1                 | 2b                     | 2b                | 1                      |
| Sweden                                    | 2a                                                                   | 1                      | 1                 | 2a                     | 1                 | 1                      | 2a                | 1                      | 0                 | 1                      |
| The former Yugoslav Republic of Macedonia | NA                                                                   | 1                      | NA                | 0                      | NA                | 0                      | NA                | 0                      | NA                | NA                     |
| Turkey                                    | 2b                                                                   | 0                      | 1                 | 5                      | 1                 | 2b                     | 1                 | 3                      | 1                 | 1                      |
| United Kingdom                            | 3                                                                    | 4 <sup>d</sup>         | 3                 | 2b                     | 3                 | 2b                     | 2b                | 2b                     | 1                 | 0                      |

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Besiyerleri ve Ayıraçlar

##### 3.1.1. Mueller-Hinton agar (Biolife)

Mueller-Hinton agar (MHA)'dan 38 gr. alınarak 1000 ml'lik saf su içinde ısıtılarak çözündürüldü (pH 7,3  $\pm$  0.1). Otoklavda 121 °C'de 15 dk. tutularak sterilizasyonu sağlandı, daha sonra su banyosu ile soğutulduktan sonra kalınlığı 4 mm olacak şekilde steril (90 mm) petrilere döküldü. Katılaşması için oda sıcaklığında tutularak, çalışma başlayıncaya kadar + 4 °C'de buzdolabında saklandı.

##### 3.1.2. McConkey tarama besiyeri

McConkey agardan (Biolife) 50 gr alınarak 1000 ml'lik saf su içinde ısıtılarak çözündürüldü (pH 7,1-7,3). Otoklavda 121 °C'de 15 dk. tutularak sterilizasyon sağlandı. Meropenem son konsantrasyon (1mg/L) yapmak için, 45-50 °C'ye soğutulduktan sonra 0.001 gr meropenem 5 ml distile su içerisinde çözündürülüp eklendi. Kalınlığı 4 mm olacak şekilde steril petrilere döküldü. Katılaşması için oda sıcaklığında tutuldu, çalışma başlayıncaya kadar + 4 °C'de en fazla bir hafta buzdolabında saklandı.

\* Kalite kontrol:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, Negatif kontrol.
- *Klebsiella pneumoniae* NEQAS Pozitif kontrol.

##### 3.1.3. Üç şekerli besiyeri (Oxoid)

Triple Sugar Iron Agar (Oxoid) 65 gr tartıldı ve 1000 ml saf su içerisinde çözüldü (pH 7.4). Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildikten sonra steril cam tüplere dağıtıldı, yatık olarak katılaştırıldı. Katılaşması için oda sıcaklığında tutuldu, çalışma başlayıncaya kadar + 4 °C'de buzdolabında saklandı.

##### 3.1.4. Gliserol-triptik soy broth (Oxoid)

İzolatların saklanması için %16 gliserol içeren triptik soy broth kullanıldı. 30 g triptik soy broth, 160 ml gliserol, 840 ml saf suda eritildi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika tutuldu, 55 °C'ye kadar su banyosu ile soğutulduktan sonra 1.5 ml'lik ependorf tüplerine 1'er ml'lik hacimlerde dağıtıldı.

### 3.1.5. EDTA solüsyonu

0,5 M EDTA solüsyonu hazırlamak için; 18.61 gr. disodyum EDTA.2H<sub>2</sub>O (Sigma)+ 100 ml distile suda çözüldü ve 2 gr NaOH (Sigma) kullanılarak pH 8,0'e ayarlandı.

### 3.1.6. Fenilboronik asit (PBA)

PBA solüsyonu hazırlamak için;120 mg PBA (Sigma), 3 ml DMSO'da çözüldü ve bu solüsyona 3 ml'lik steril distile su eklendi.

### 3.1.7. 1X Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu

10.77 gr trisbase (Sigma), 5.502 gr borik asit (Sigma), 900 ml distile su ile karıştırılıp manyetik karıştırıcıda eritildi. 20 ml 0.5 M EDTA solüsyonundan karıştırılıp son hacim 1000 ml olacak şekilde steril distile su ile tamamlandı.

### 3.1.8. Diğer malzemeler

- I. İmipenem monohidrat, 5 mg (Sigma)
- II. Faropenem sodyum hidrat,, 10 mg (Sigma)
- III. Ertapenem sodyum, 10 mg (Sigma)
- IV. Temosilin disk (30 µg) (Bioanalyse)
- V. Kloksasasilin disk (1 µg) (Bioanalyse)
- VI. Ertapenem disk (10 µg) (Oxoid)
- VII. İmipenem disk (10 µg) (Oxoid)
- VIII. Meropenem disk (10 µg) (Oxoid)
- IX. DNA moleküler ağırlık standardı (Φx174 Hae III), 50 µg (Bioron)
- X. Taq DNA Polimeraz, 5 U / µl, 500 U (Bioron)
- XI. 4 dNTPs seti, 4 x 100 mM, 4 x 200 µl (Bioron)

### 3.1.9. Örneklerin toplanması

Çalışmada 23 Ocak -23 Temmuz 2017 tarihleri arasında, İstanbul Tıp Fakültesi yoğun bakım servislerinde yatan hastaların rektal veya dışkı örnekleri incelenerek, karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerin kolonizasyonu araştırılmıştır. Örnekler 5 farklı servisten toplanmıştır; Reanimasyon Yoğun Bakım

(RAYB), Acil Cerrahi Yoğun Bakım (ACYB),Yeni Doğan Yoğun Bakım (YDYB), Çocuk Yoğun Bakım (ÇYB) ve Kalp Damar Cerrahi (KDYB). Toplanan suşlar Gliserol-Triptik soy buyyona (TSB) alınarak çalışma başlayıncaya kadar -80 °C’de saklanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen *Enterobacteriaceae* suşlarının tür tanımlaması konvansiyonel biyokimyasal yöntemlerle yapılmıştır. Tür tanımlaması için Gram negatif, oksidaz negatif olan koloniler, üç şekerli demirli besiyerine (TSİ), Metil Kırmızısı, Voges Proskauer, Motilite İndol Ornitin (MİO), Üre ve Sitrat içeren besiyerlerine ekimleri yapılarak tiplendirilmiştir.

### 3.2. Antibiyotik duyarlılık testleri

#### 3.2.1. Disk difüzyon yöntemi

Bakterilerin *in vitro* koşullarda antibiyotik duyarlılık testleri EUCAST rehberine göre disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Karbapenemlere duyarlılık testlerinde imipenem (10 µg), ertapenem (10 µg), meropenem (10 µg) diskleri kullanılmıştır. *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşları kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Karbapenem direnci için tarama testi: Tarama testinde meropenem (1 mg/L) ilave edilmiş McConkey besiyeri kullanılarak, meropeneme dirençli olan *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakteriler saf şekilde izole edilmiştir. 18-24 saatlik kültür pasajlarından steril serum fizyolojik tuzlu su içinde 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonu pamuklu eküvyon ile Mueller Hinton agar besiyeri yüzeyine, petriyi tamamen kaplayacak şekilde sürülmüştür. 5-6 dakika bekletildikten sonra antibiyotik diskleri besiyeri yüzeyine yerleştirilmiş ve 35-37 °C’de, 18-20 saat aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası antibiyotik disklerinin zon çapları, EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir [88].

**Tablo 4.** EUCAST önerilerine göre karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için kinik sınır değerler ve tarama eşik değerleri [88].

| Carbapenems | MIC breakpoint (mg/L) |     | Disk content (µg) | Zone diameter breakpoint (mm) |     |
|-------------|-----------------------|-----|-------------------|-------------------------------|-----|
|             | S ≤                   | R > |                   | S ≥                           | R < |
| Doripenem   | 1                     | 2   | 10                | 24                            | 21  |
| Ertapenem   | 0.5                   | 1   | 10                | 25                            | 22  |
| Imipenem    | 2                     | 8   | 10                | 22                            | 16  |
| Meropenem   | 2                     | 8   | 10                | 22                            | 16  |



### 3.2.2. Buyyonda dilüsyon yöntemi

Mikrodilüsyon yönteminde MHB kullanılır.

- Test 96-kuyucuklu U-tabanlı mikropklarda uygulanır
- Test için mikropkların hazırlanmasında stok solüsyondan antimikrobiyal ajanların sulandırımı yapılabılır.
- Bu şekilde hazırlanan antibiyotik konsantrasyonları aynı sıra ile mikropklara dağıtılır.
- Antibiyotik konsantrasyonları bu şekilde hazırlandığı gibi iki kat dilüsyon ile de hazırlanabilir; o Mikropklağın tüm kuyucuklarına 0.1 ml MHB konulur. 10 o Başlanmak istenilen antibiyotik konsantrasyonunun iki kat üst konsantrasyonu hazırlanır, Örneğın; 256 µg/ml'den başlaması isteniyorsa 512 µg/ml konsantrasyon hazırlanır o İlk kuyucuğa 0.1 ml konulur ve daha sonra iki kat dilüsyonlar yapılarak istenilen konsantrasyonlar hazırlanır (en son 0.1 ml dışarı atılır)
- Her plakta bir sterilit kontrol kuyucuğu ve bir de üreme kontrol kuyucuğu bulunmalıdır
- Hazırlanan plaklar -60°C'ye kaldırılıp çalışılıncaya kadar saklanabilir. o Ancak mikropklar dondurucudan çıkarılıp çözölüp tekrar dondurulmamalıdır [89].

### 3.3. Karbapenem direncinin fenotipik yöntemlerle saptanması

#### 3.3.1. Kombine disk metodu (KDM) ile metallo-beta-laktamaz (MBL) ve Sınıf A karbapenemaz (KPC) aktivitesinin belirlenmesi

Taze kültür (18-20 saat) pasajlarından steril serum fizyolojik tuzlu su içinde 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve normal disk difüzyon prosedürüne göre MHA besiyerine yayılmıştır. Petri içerisine dört tane meropenem (10 µg) diski besiyeri yüzeyine, arasında 25 mm mesafe şekilde yerleştirilmiştir. Birinci disk üzerine 0.1 M EDTA 10 µl (292 µg EDTA), ikinci diske 400 µg fenilboronik asit (PBA), üçüncü diske 292 µg EDTA/400 µg fenilboronik asit birlikte eklenmiş, dördüncü diske herhangi bir inhibitör madde eklenmemiştir. Plaklar 35- 37°C'de, 18-20 saat inkübasyondan sonra inhibitör içeren ve içermeyen disklerin inhibisyon zon çapları ölçölmüştür [90]. Meropenem/EDTA diskinin ve meropenem/EDTA/PBA diskinin inhibisyon zon çapı, tek başına meropenem diskine göre zon çapı >5 mm olan şuşlar, metalo-beta laktamaz pozitif olarak kabul edilmiştir. Meropenem/PBA diskinin ve meropenem/EDTA/PBA diskinin inhibisyon zon çapı, tek başına meropenem diski zon çapına göre >5 mm olan şuşlar, KPC pozitif kabul edilmiştir. Meropenem/EDTA

diskinin, Meropenem/PBA diskinin ve meropenem/EDTA/PBA diskinin inhibisyon zonu tek başına meropenem diski zon çapından >5 mm olan şuşlar, KPC ve metallo-beta laktamaz pozitif olarak kabul edilmiştir [86-87].

### 3.3.2. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (KİM)

Şüpheli bakterilerin taze kültür (18-20 saat) pasajlarından steril serum fizyolojik tuzlu su içinde süspansiyonu hazırlanmış ve içine meropenem diski atılıp iki saat 35°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İki saatin sonunda süspansiyon içindeki disk alınıp ve karbapenem duyarlı standart suşun 0.5 McFarland bulanıklık standartına göre hazırlanmış *Escherichia coli* ATCC 25922 suşunun yayıldığı MHA agar plağına konulmuştur. Altı saatlik inkübasyon sonrasında normalde *E.coli* suşunun etrafında inhibisyon zonu oluşması beklenirken, test edilen bakteride karbapenemaz varlığı nedeniyle inaktive olan meropenem diski *E. coli* suşunda inhibisyon zonu oluşturmaması beklenir. Bu sebeple inhibisyon zonu oluşturmamayan bakteriler, karbapenemaz üreten bakteriler olarak değerlendirilir [92].

**Note:** Negatif kontrol için *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanmış.

### 3.3.3. Modifiye Hodge Testi (MHT)

0.5 McFarland standardına uygun hazırlanan *E.coli* ATCC 25922 süspansiyonları 1/10 oranında Mueller Hinton buyyonda dilüe edilerek Mueller-Hinton (MHA) agara eküvyon ile inoküle edilir ve plaklar 3–10 dakika kurumaya bırakılır. Ertapenem, meropenem diskleri her biri ayrı bir plak merkezine yerleştirilir. 10 µl’lik bir öze veya eküvyon ile 18-24 saatlik kültürlerden üretilmiş olan test edilecek bakteri alınarak diskin kenarından dışarı doğru 20–25 mm uzunluğunda düz bir çizgi şeklinde ekilir. Plaklar etüvde 18-20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilir. MHA plağına test bakterisinin çizgisi ile inhibisyon zonunun kesişme noktasındaki üreme artışı pozitif olarak değerlendirilir [93].

Üremede artış: Karbapenemaz üretimi pozitif

Üreme artışı yok: Karbapenemaz üretimi negatif

### 3.3.4. Blue Carba Testi (BCT)

18-24 saatlik bakteri kültüründen 10 µl hacimde öze dolusu koloni alınır. İmipenem içermeyen 100 µl test solüsyonu (0.04% bromothymolblue+0.1 mg/L ZnSo<sub>4</sub>)

ve 100 µl imipenem içeren test solüsyonu (0.04% bromothymolblue+0.1 mg/L ZnSo<sub>4</sub>+3 mg /L imipenem) içinde süspansiyon edilir. 37 °C'de çalkalamalı etüvde 10 dakika ile 2 saat arası çalkalayarak inkübe edilir ve 10. dakikadan itibaren, 10 dakikada bir ikinci saatin sonuna kadar değerlendirilir. Süre sonunda imipenem içeren test solüsyonunun renginin maviden yeşil veya sarıya değişmesi pozitif test sonucu olarak kabul edilir [94].

### 3.3.5. Genotipik testler

Klasik PCR ve Real time PCR yöntemleri kullanılmıştır. Her iki yöntemde de karbapenem direncinden sorumlu olan en yaygın genler (OXA-48, IMP, VIM, KPC ve NDM) araştırılmıştır [5], [90-91].

#### 3.3.5.1. Direnç genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile incelenmesi

McConkey agarda dirençli bulunan ve tür tanımlaması yapılan Enterobacteriaceae ailesine ait suşlarda OXA-48, KPC, VIM, IMP ve NDM-1 genleri spesifik primerler kullanılarak araştırılmıştır [92-93].

**Tablo 5.** Klasik PCR yönteminde kullanılan primerler

| PRİMER                                        | DİZİ (5'-3')                                     | KAYNAK |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------|
| <b>NDM-1-F</b><br><b>NDM-1-R</b>              | TAAAATACCTTGAGCGGGC<br>AAATGGAACTGGCGACC         | [95]   |
| <b>VIM-F</b><br><b>VIM-R</b>                  | CGCGGAGATTGARAAGCAAA<br>CGCAGCACCRGGATAGAARA     | [99]   |
| <b>IMP-F</b><br><b>IMP-R</b>                  | GAGTGGCTTAATTCTCRATC<br>CCAAACYACTASGTTATCT      | [95]   |
| <b>KPC-F</b><br><b>KPC-R</b>                  | TGTTGCTGAAGGAGTTGGGC<br>ACGACGGCATAGTCATTTGC     | [95]   |
| <b>OXA-48 -LİKE F</b><br><b>OXA-48-LİKE R</b> | AACGGGCGAACCAAGCATTTT<br>TGAGCACTTCTTTTGTGATGGCT | [99]   |

### 3.3.5.2. DNA ekstraksiyonunun hazırlanması

18-24 saatlik kültürde üreyen suşlardan 1-2 koloni alınır ve 500 µl distile su bulunan ependorf tüplerinde süspanse edilir. Hazırlanan tüpler ısıtma bloğunun içerisinde 95 °C’de 10 dakika bekletilir ve süre sonunda tüpler hızla soğutulularak, 13000 rpm de 10 dakika santrifüj edilir ve üst sıvı alınarak, çalışma yapılıncaya kadar, kalıp DNA olarak – 20 °C’de saklanır.

### 3.3.5.3. Amplifikasyon içeriğinin hazırlanması

Toplam 50 µl amplifikasyon karışımının içeriği;

24 µl distile su + 5 µl 10X PCR buffer + 5 µl MgCl<sub>2</sub> + 10 µl dNTP (dATP, dCTP, dTTP ve dGTP) + 1,5 µl primer (F ve R) + 1µl Taq DNA polimeraz. Amplifikasyon içeriğine en son olarak 2 µl DNA ekstraksiyonu ilave edilir.

### 3.3.5.4. Amplifikasyon programı

**OXA-48:** 94 °C’de 10 dakika; 94 °C’de 60 saniye, 55 °C’de 60 saniye, 72 °C’de 60 saniye toplam 35 siklus; 72 °C’de 7 dakika olarak uygulanır.

**NOT:** Primerlerin bağlanma ısıları, kullanılan primerin içeriğine göre modifiye edilmiştir.

### 3.3.5.5. Amplifikasyon ürünlerinin gösterilmesi

Amplifikasyon ürünleri 0.5 M Tris-Borik asit-EDTA ile hazırlanmış, %1’lik etidyum bromür (10 mg/ml) ilave edilmiş agaroz jelde, 100 V’da 60 dakika boyunca yürütülür. Transiluminatörde UV ışık altında DNA moleküler ağırlık standardı (Φx174 Hae III) ile karşılaştırılarak değerlendirilir.

### 3.3.5.6. Real Time PCR

Real time PCR yönteminde aşağıda belirtilen karbapenem direncinden sorumlu genlerinin türevleri araştırılmıştır. Testin uygulanması üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

**Kullanılan bu kit;** KPC-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17; OXA-48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 247, 370; VIM-1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11,

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38; **NDM-1**, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 türevlerini saptamaktadır.

#### **3.3.5.7. Dizi Analizi**

Dizi analizi toplam dokuz izolata uygulanmıştır. Bu izolatlar; *K. pneumoniae* bla<sub>OXA-48</sub>, *K. pneumoniae* bla<sub>NDM-1</sub>, *K. pneumoniae* bla<sub>KPC</sub>, *K. oxytoca* bla<sub>OXA-48</sub>, *K. oxytoca* bla<sub>NDM-1</sub>, *E. cloacae* bla<sub>OXA-48</sub>, *E. cloacae* bla<sub>NDM-1</sub> ve *E. coli* hem bla<sub>OXA-48</sub><sup>+</sup> bla<sub>NDM-1</sub> genleri pozitif olarak bulunan suşlardır.

Dizi analiz hizmet alımı ile gerçekleştirilmiş, analizde ABI 3100 Genetik Analyzer cihazı kullanılmıştır.

#### **3.4. İstatistiksel analiz**

Elde edilen verilerin analizinde istatistik paket programlarından IBM-SPSS versiyon 19 kullanıldı. Hastaların materyal ve servisleri türü değişkenlerine ait veriler tanımlayıcı istatistiksel analizler kullanılarak sıklık ve yüzde olarak sunuldu.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının genel özellikleri

Araştırma 23 Ocak -23 Temmuz 2017 tarihleri arasında toplam 765 rektal sürüntü/dışkı örneği incelendi. Örnekler Yeni Doğan Yoğun Bakım, Çocuk Yoğun Bakım, Acil Cerrahi Yoğun Bakım, Reanimasyon Yoğun Bakım ve Kalp Damar Cerrahi Yoğun Bakım ünitelerinde yatan hastalardan alındı. Rektal sürüntü örneklerinden en az birinde CRE üremesi kolonizasyon olarak tanımlandı. Üç veya daha fazla rektal sürüntü örneğinde CRE üremesinin olmaması kolonizasyonu temizlenmesi olarak değerlendirildi [100]. Bu çalışma periyodu sırasında hiçbir dekolonizasyon prosedürü uygulanmadı. Tablo 6’da zaman aralıkları, yoğun bakım ünitelerinden temin edilen örnek sayıları ve meropenem dirençli suş sayıları gösterilmiştir.

**Tablo 6.** CRE kolonizasyonu saptanan YBÜ’leri, örnek sayıları ve haftalara göre dağılımı.

| Hafta      | YDYB <sup>1</sup>  |                          | ÇYB <sup>2</sup>   |                          | RAYB <sup>3</sup>  |                          | ACYB <sup>4</sup>  |                          | KDCYB <sup>5</sup> |                          | Toplam |             |
|------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------|-------------|
|            | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | (n)    | Pozitif (n) |
| 1. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 23.01.2017 | 15                 | 5                        | 6                  | 1                        | -                  | -                        | 13                 | 6                        | -                  | -                        | 34     | 12          |
| 2. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 30.01.2017 | 14                 | 2                        | 6                  | 2                        | 14                 | 7                        | 10                 | 4                        | -                  | -                        | 44     | 15          |
| 3. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 06.02.2017 | 14                 | 1                        | 5                  | 1                        | 17                 | 7                        | 7                  | 5                        | 4                  | 1                        | 47     | 15          |
| 4. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 13.02.2017 | 14                 | 1                        | 6                  | 1                        | 14                 | 8                        | 6                  | 4                        | -                  | -                        | 40     | 14          |
| 5. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 20.02.2017 | 15                 | 2                        | 6                  | 2                        | 13                 | 10                       | 3                  | 1                        | 2                  | 1                        | 39     | 16          |
| 6. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 27.02.2017 | 13                 | 3                        | 5                  | 2                        | 13                 | 5                        | 4                  | 1                        | 2                  | 2                        | 37     | 13          |
| 7. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 06.03.2017 | 12                 | 2                        | 6                  | 1                        | 13                 | 3                        | -                  | -                        | 2                  | 0                        | 33     | 12          |
| 8. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 13.03.2017 | 15                 | 4                        | 6                  | 4                        | 12                 | 11                       | 8                  | 3                        | 1                  | 0                        | 42     | 12          |
| 9. hafta   |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 20.03.2017 | 14                 | 2                        | 5                  | 3                        | 14                 | 6                        | 5                  | 1                        | -                  | -                        | 38     | 12          |
| 10. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 27.03.2017 | 14                 | 2                        | 9                  | 0                        | 13                 | 6                        | 5                  | 2                        | -                  | -                        | 41     | 10          |
| 11. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 03.04.2017 | 16                 | 1                        | 8                  | 1                        | 11                 | 5                        | 5                  | 0                        | 1                  | 0                        | 41     | 7           |
| 12. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 10.04.2017 | 15                 | 2                        | 6                  | 0                        | 12                 | 4                        | 8                  | 3                        | 4                  | 2                        | 44     | 11          |
| 13. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 17.04.2017 | 15                 | 1                        | 8                  | 1                        | 10                 | 8                        | 4                  | 0                        | 2                  | 2                        | 39     | 12          |
| 14. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 24.04.2017 | 17                 | 2                        | 6                  | 0                        | 11                 | 9                        | 3                  | 0                        | 3                  | 1                        | 40     | 12          |
| 15. hafta  |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |                    |                          |        |             |
| 01.05.2017 | 16                 | 2                        | 2                  | 0                        | 15                 | 8                        | 12                 | 6                        | -                  | -                        | 45     | 10          |

| Hafta                   | YDYB <sup>1</sup>  |                          | ÇYB <sup>2</sup>   |                          | RAYB <sup>3</sup>  |                          | ACYB <sup>4</sup>  |                          | KDCYB <sup>5</sup> |                          | Toplam      |             |
|-------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------------|-------------|-------------|
|                         | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | Örnek sayıları (n) | Pozitif örnek sayısı (n) | (n)         | Pozitif (n) |
| 16. hafta<br>08.05.2017 | 16                 | 3                        | 4                  | 0                        | 10                 | 4                        | 6                  | 4                        | -                  | -                        | 36          | 11          |
| 17. hafta<br>15.05.2017 | 16                 | 5                        | 5                  | 0                        | 11                 | 8                        | 5                  | 1                        | 1                  | 0                        | 38          | 14          |
| 18. hafta<br>22.05.2017 | 17                 | 5                        | 4                  | 0                        | 10                 | 7                        | 9                  | 4                        | -                  | -                        | 40          | 16          |
| 19. hafta<br>29.05.2017 | 18                 | 4                        | 5                  | 2                        | 15                 | 11                       | 8                  | 2                        | -                  | -                        | 45          | 19          |
| <b>Toplam</b>           | <b>286</b>         | <b>49</b>                | <b>108</b>         | <b>21</b>                | <b>228</b>         | <b>127</b>               | <b>121</b>         | <b>47</b>                | <b>22</b>          | <b>9</b>                 | <b>765</b>  | <b>253</b>  |
| <b>Ortalama</b>         | <b>13.6</b>        | <b>2.3</b>               | <b>5.1</b>         | <b>1</b>                 | <b>11.4</b>        | <b>6.6</b>               | <b>6.1</b>         | <b>2.4</b>               | <b>2</b>           | <b>0.8</b>               | <b>40.3</b> | <b>13.3</b> |

**NOT:**<sup>1</sup>YDYB: Yeni Doğan Yoğun Bakım, <sup>2</sup>ÇYB: Çocuk Yoğun Bakım, <sup>3</sup>RAYB: Reanimasyon Yoğun Bakım, <sup>4</sup>ACYB: Acil Cerrahi Yoğun Bakım, <sup>5</sup>KDCYB: Kalp Damar Cerrahi Yoğun Bakım

Yeni doğan yoğun (YDYB) bakım ünitesinden alınan 286 örneğin 49’unda (42 *K. pneumoniae*, dört *K. oxytoca* ve üç *E. cloacae*), Çocuk yoğun bakım (ÇYB) ünitesinden alınan 108 örneğin 21’inde (19 *K. pneumoniae*, bir *K. oxytoca* ve bir *E. coli*); Reanimasyon Yoğun Bakım (RAYB) ünitesinden alınan 228 örneğin 127’sinde (hepsi *K. pneumoniae*), Acil Cerrahi Yoğun Bakım (ACYB) ünitesinden alınan 121 örneğin 47’sinde (46 *K. pneumoniae* ve bir *E. cloacae*) ve Kalp Damar Cerrahi Yoğun Bakım (KDYCB) ünitesinden alınan 22 örneğin dokuzunda (*K. pneumoniae*) meropeneme dirençli *Enterobacteriaceae* ailesine ait izolat saptanmıştır.

- Toplam alınan rektal sürüntü/dışkı örnek sayısı: 765,
- CRE kolonizasyonu saptanan örnek sayısı: 253
- Pozitif örnek oranı: 253/765 x 100: %33,
- Toplam CRE izolasyonu yapılan hastaların 98’i (%53,1) kadın, 46’sı (%46,9) erkek hastadır. Erkek CRE kolonizasyon oranı kadın hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

#### 4.2. CRE izolatlarının (n=98) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı

23 Ocak-23 Temmuz 2017 tarihleri arasında, CRE izolatların yoğun bakım üniteleri, örnek sayıları, haftalara ve bakterilere türlerine göre dağılımı Tablo 7-11’de gösterilmiştir. Ayrıca, bu tablolarda yoğun bakım ünitelerine ilk yatışlarında negatif olan hastaların CRE ile kolonize olma süreleri ve yatış süreleri de gösterilmektedir.





**Tablo 9.** RAYB'den izole eden CRE izolatlarının (n=49) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı.

| Suş No | Hafta 2 | Hafta 3 | Hafta 4 | Hafta 5 | Hafta 6 | Hafta 7 | Hafta 8 | Hafta 9 | Hafta 10 | Hafta 11 | Hafta 12 | Hafta 13 | Hafta 14 | Hafta 15 | Hafta 16 | Hafta 17 | Hafta 18 | Hafta 19 |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 25     | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     |
| 17     | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 18     | K.pn    | (-)     | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 19     | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 20     | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 21     | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 22     | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 23     | K.pn    |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 30     | (-)     | (-)     | K.pn    |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 33     | (-)     | (-)     | (-)     | K.pn    |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 28     |         | (-)     | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 34     |         |         |         | K.pn    | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 35     |         |         |         | K.pn    |         |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 16     |         |         |         |         | K.pn    |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 29     |         |         |         |         | K.pn    |         |         |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 39     |         |         |         |         |         | K.pn    | K.pn    |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 47     |         |         |         |         |         | (-)     | K.pn    |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 52     |         |         |         |         |         | (-)     | K.pn    | K.pn    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 49     |         |         |         |         |         | (-)     | K.pn    | K.pn    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 48     |         |         |         |         |         |         | K.pn    |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 50     |         |         |         |         |         |         | K.pn    |         |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 51     |         |         |         |         |         |         | K.pn    | K.pn    |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 54     |         |         |         |         |         |         | (-)     | (-)     | K.pn     | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 56     |         |         |         |         |         |         |         | (-)     | (-)      | K.pn     | K.pn     | K.pn     |          |          |          |          |          |          |
| 53     |         |         |         |         |         |         |         |         | K.pn     | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 63     |         |         |         |         |         |         |         |         | (-)      | (-)      | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     |          |          |
| 55     |         |         |         |         |         |         |         |         | K.pn     | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 57     |         |         |         |         |         |         |         |         |          | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 58     |         |         |         |         |         |         |         |         |          | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |          |
| 65     |         |         |         |         |         |         |         |         |          | (-)      | K.pn     |          |          |          |          |          |          |          |
| 62     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          | (-)      | K.pn     |          |          |          |          |          |          |
| 69     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          | (-)      | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     |          |          |
| 64     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     | K.pn     |          |          |
| 71     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          | (-)      | K.pn     |          |          |          |          |          |
| 72     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          | K.pn     | K.pn     | K.pn     |          |          |          |
| 70     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          | K.pn     | K.pn     |          |          |          |          |
| 76     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          | (-)      | K.pn     |          |          |          |          |
| 74     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          | K.pn     |          |          |          |          |
| 75     |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |          |          | K.pn     | K.pn     |          |          |          |



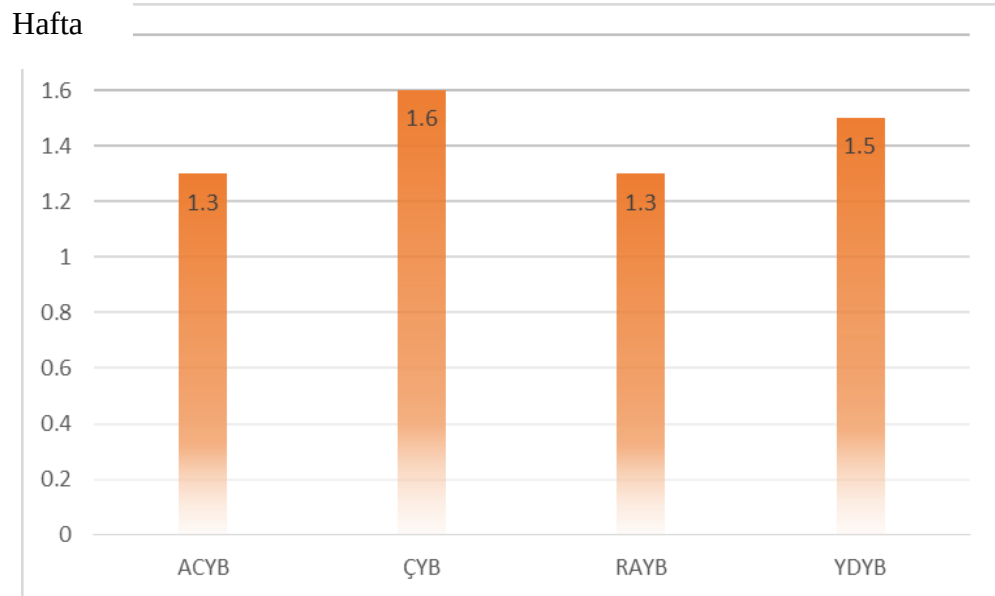
**Tablo 11.** KDCYB den izole eden CRE izolatlarının (n=4 ) haftalara ve bakteri türlerine göre dağılımı.

|    | Hafta 1 | Hafta 2 | Hafta 3 | Hafta 4 | Hafta 5 | Hafta 6 | Hafta 7 | Hafta 8 | Hafta 9 | Hafta 10 | Hafta 11 | Hafta 12 |
|----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| 36 | K.pn    |         |         |         |         |         |         |         |         |          |          |          |
| 26 |         | K.pn    | K.pn    | K.pn    |         |         |         |         |         |          |          |          |
| 15 |         |         |         |         | K.pn    |         |         |         |         |          |          |          |
| 60 |         |         |         |         |         |         |         |         |         |          | K.pn     | K.pn     |

|        |                      |
|--------|----------------------|
| (-)    | Negatif              |
| K.pn   | <i>K. pneumoniae</i> |
| K.ox   | <i>K. oxytoca</i>    |
| En.c   | <i>E. cloacae</i>    |
| E.coli | <i>E.coli</i>        |

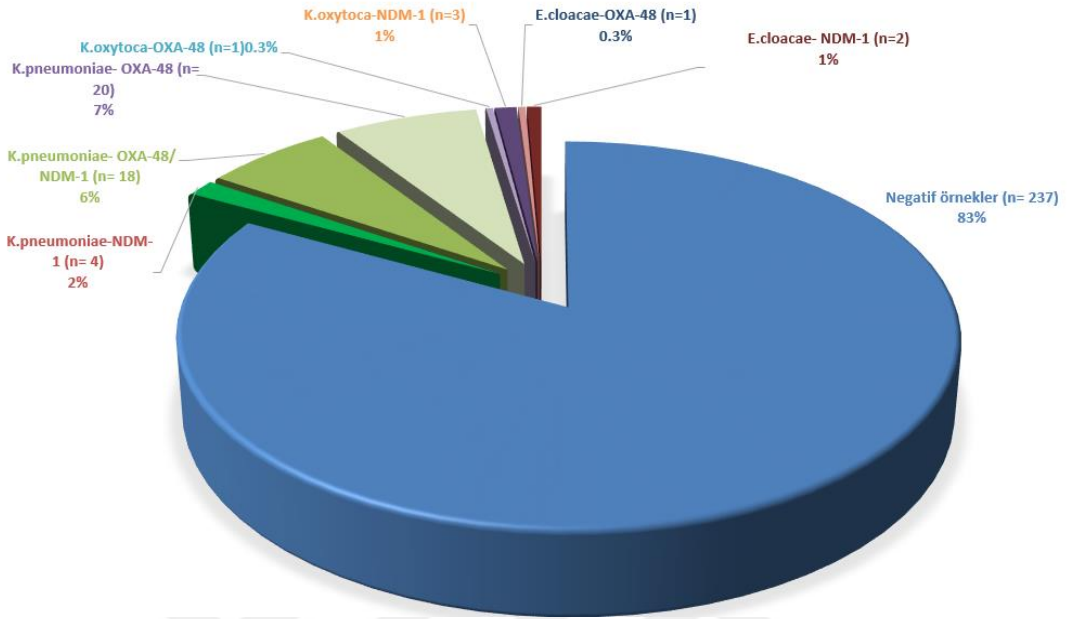
**NOT:** KDCYB ünitesinde 12. Haftadan sonra örnek gönderilmediği için 19. Haftaya kadar izlenememiştir.

#### 4.3. İlk Yatışta kolonize olmayan hastaların CRE ile kolonize olma süreleri.

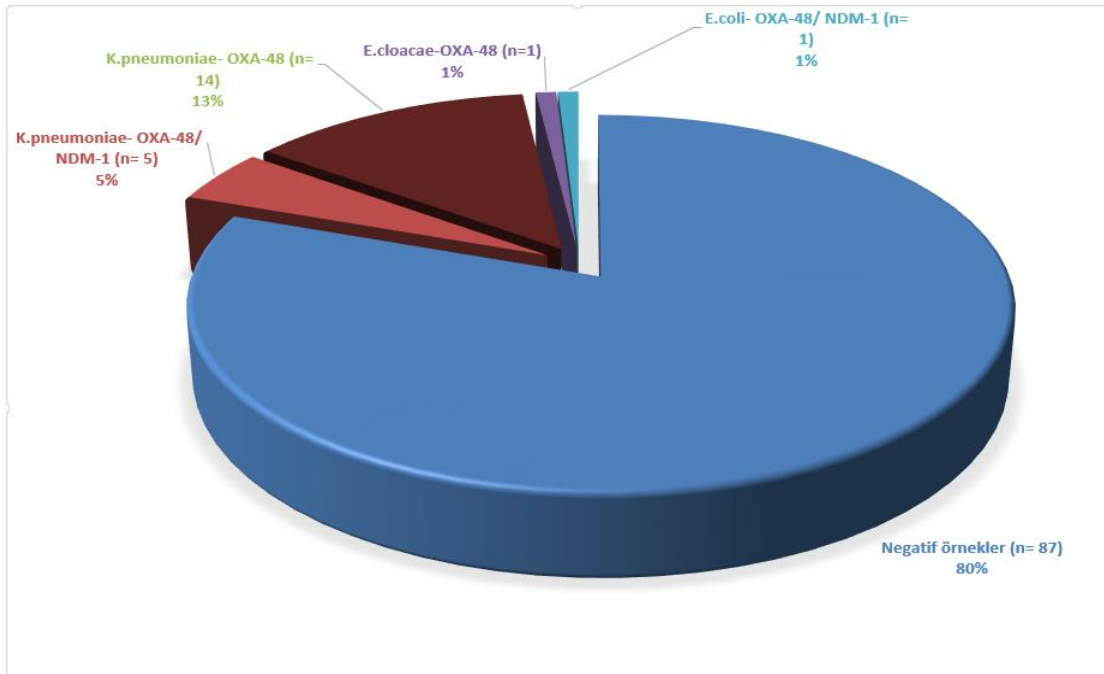


**Şekil 14.** KDCYB ünitesi hariç diğer yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların CRE ile ortalama kolonizasyon süreleri (hafta).

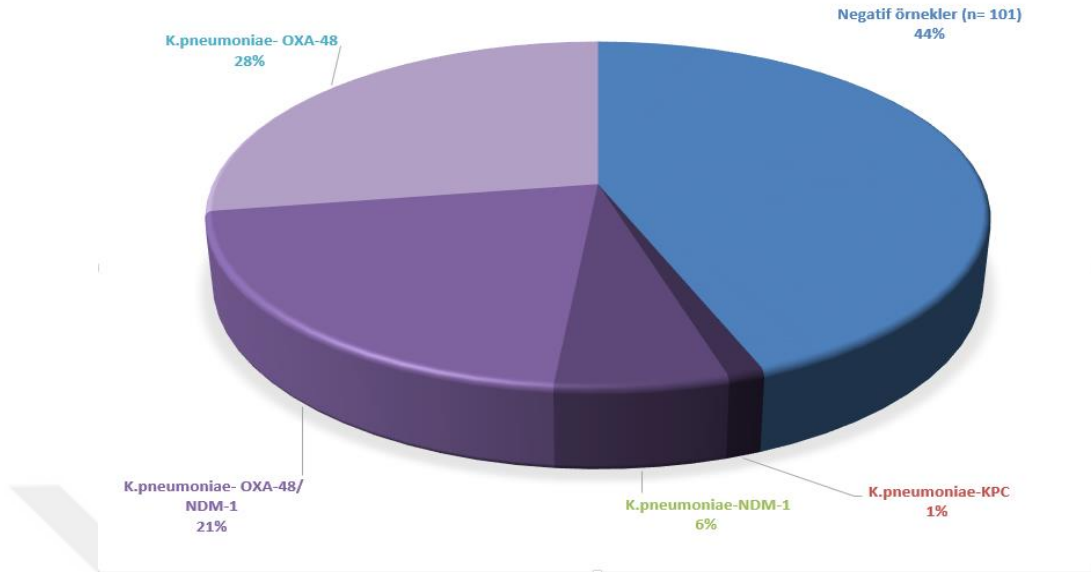
**4.4. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı (Şekil 15-20).**



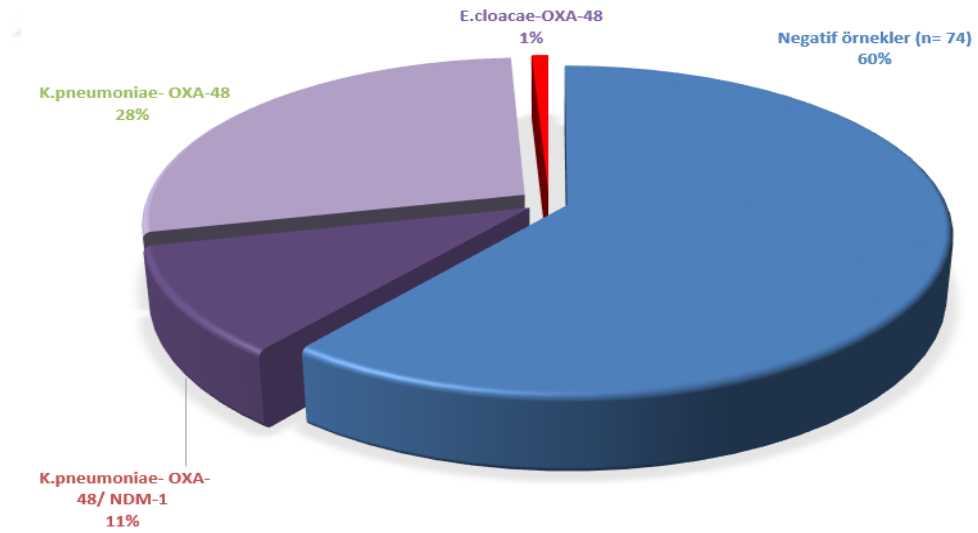
**Şekil 15.** YDYB’de yatan hastalardan izole edilen tüm CRE izolatlarının (n=49) oranları (tekrarlayan suşlar dahil), türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.



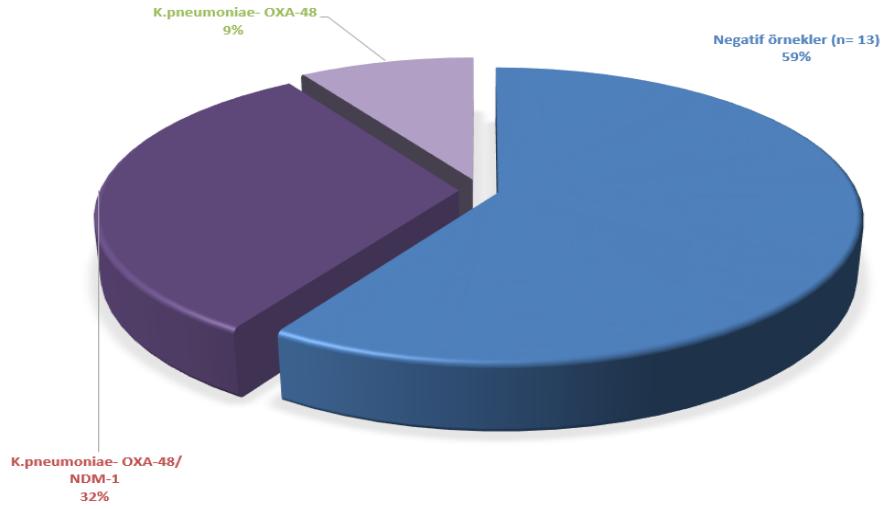
**Şekil 16.** ÇYB’de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.



**Şekil 17.** RAYB’de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.



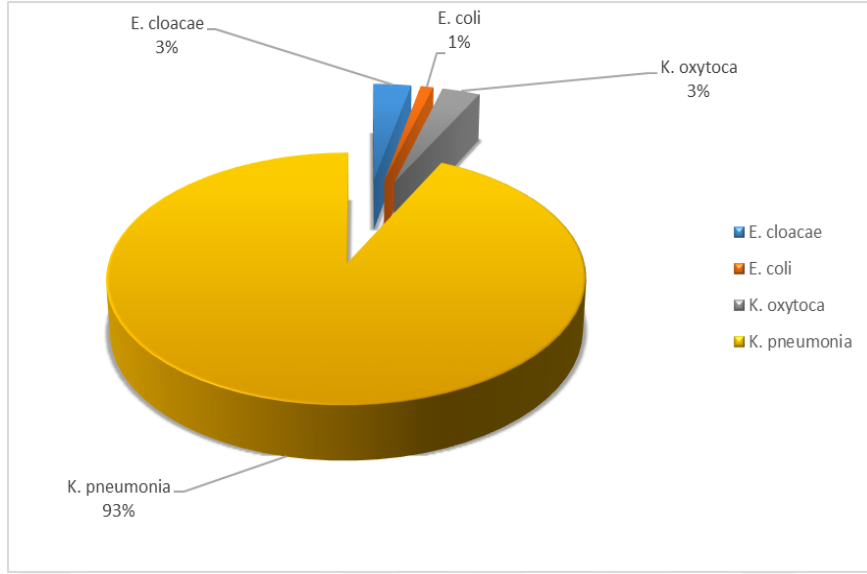
**Şekil 18.** ACYB’de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.



**Şekil 19.** KDCYB’de yatan hastalardan izole edilen CRE izolatlarının (tekrarlayan suşlar dahil) oranları, türlere ve enzim tiplerine göre dağılımı.

#### 4.5. Çalışmaya dahil edilen CRE izolatlarının türlere göre dağılımı.

23 Ocak -23 Temmuz 2017 tarihleri arasında yoğun bakım servislerinden gelen rektal sürüntü veya dışkı örneklerinden toplam 96 hastadan 253 CRE izolasyonu yapılmıştır. Ancak çalışmaya kolonizasyon olarak saptanan birinci izolatı dahil edilmiş ve çalışma boyunca toplam 98 CRE izolatı değerlendirilmiştir. Tekrarlayan izolatlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilen izolatların 91’i *K. pneumoniae*, üçü *K. oxytoca*, üçü *E. cloacae* ve bir tanesi *E. coli* olarak belirlenmiştir. İzolatların bakteri türleriye göre dağılım oranları Şekil 20’de gösterilmiştir.



**Şekil 20.** CRE izolatlarının (n=98) türlere göre dağılımı.

En fazla meropeneme dirençli *Enterobacteriaceae* suşu reanimasyon yoğun bakım ünitesinden gelen örneklerden izole edilmiştir. Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda kolonizasyon oranı diğer yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Örneklerin izole edildikleri ünitelere göre dağılımı tablo 12 ve şekil 21’de gösterilmiştir.

**Tablo 12.** CRE izolatlarının YBK ünitelerine göre dağılımı

| Servis        | İzolat sayısı (n) | Oranı (%)  |
|---------------|-------------------|------------|
| ACYB          | 19                | 19.4       |
| ÇYB           | 9                 | 9.2        |
| KDCYB         | 4                 | 4.1        |
| RAYB          | 49                | 50         |
| YDYB          | 17                | 17.3       |
| <b>Toplam</b> | <b>98</b>         | <b>100</b> |



**Şekil 21.** CRE İzolatlarının YBÜ’lerine göre dağılımı

#### 4.6. CRE izolatlarında mikrodilüsyon yöntemiyle karbapenem grubu antibiyotikler için saptanan MİK değerleri.

**Tablo 13.** *Enterobacteriaceae* ailesine ait izolatların karbapenem grubu antibiyotikler için saptanan MİK değerleri, klasik ve real-time PCR sonuçları.

| <i>K. pneumoniae</i> (n=91) |            |     |      |     |     |                    |                             |
|-----------------------------|------------|-----|------|-----|-----|--------------------|-----------------------------|
| İzolat                      | MİK (mg/L) |     |      |     |     | Gen                | Gen                         |
| No                          | MEM        | DOR | FAR  | IMP | ERT | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
| 1                           | 64         | 32  | 256  | 256 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 2                           | 256        | 256 | 512  | 512 | 512 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 3                           | 128        | 256 | 512  | 512 | 256 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 5                           | 64         | 128 | >512 | 512 | 256 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 7                           | 128        | 128 | 256  | 512 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 8                           | 64         | 128 | 256  | 512 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 9                           | 64         | 128 | 256  | 128 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 10                          | 64         | 128 | 256  | 128 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 11                          | 64         | 128 | 256  | 128 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 12                          | 128        | 64  | 256  | 256 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 13                          | 64         | 128 | 256  | 128 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 14                          | 256        | 512 | 512  | 256 | 512 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 15                          | 256        | 512 | 512  | 256 | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 16                          | 128        | 256 | 512  | 512 | 512 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 17                          | 256        | 512 | 256  | 128 | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 18                          | 512        | 256 | 512  | 512 | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 19                          | 512        | 256 | 512  | 512 | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 20                          | 256        | 512 | 512  | 512 | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 21                          | 256        | 128 | 512  | 256 | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 22                          | 256        | 128 | 512  | 512 | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 23                          | 256        | 128 | 512  | 512 | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |



| No | MEM | DOR | FAR  | IMP  | ERT  | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
|----|-----|-----|------|------|------|--------------------|-----------------------------|
| 24 | 64  | 128 | 64   | 256  | 128  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 25 | 512 | 512 | >512 | >512 | >512 | KPC                | KPC                         |
| 26 | 128 | 64  | 128  | 64   | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 27 | 64  | 32  | 256  | 128  | 128  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 28 | 128 | 128 | 512  | 256  | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 29 | 256 | 128 | 512  | 512  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 30 | 128 | 256 | 512  | 512  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 31 | 512 | 256 | 512  | 512  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 32 | 256 | 128 | 256  | 128  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 33 | 128 | 128 | 128  | 32   | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 34 | 128 | 256 | 128  | 32   | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 35 | 512 | 256 | 128  | 128  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 36 | 512 | 256 | 256  | 256  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 37 | 64  | 32  | 256  | 256  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 38 | 16  | 8   | 32   | 8    | 128  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 39 | 128 | 128 | >512 | 128  | >512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 40 | 512 | 512 | >512 | 128  | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 43 | 512 | 256 | 512  | 512  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 44 | 512 | 256 | 512  | 512  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 45 | 256 | 512 | 512  | 512  | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 47 | 32  | 32  | 512  | 16   | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |
| 48 | 32  | 32  | 128  | 16   | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |

| No | MEM | DOR | FAR  | IMP  | ERT  | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
|----|-----|-----|------|------|------|--------------------|-----------------------------|
| 49 | 64  | 256 | 512  | 64   | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like ,(NDM veya VIM) |
| 50 | 16  | 8   | 32   | 8    | 128  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 51 | 256 | 128 | 256  | 128  | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 52 | 128 | 256 | >512 | 128  | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 53 | 64  | 128 | 512  | 32   | 128  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 54 | 64  | 128 | 512  | 32   | 64   | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 55 | 32  | 32  | 512  | 16   | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 56 | 32  | 32  | 128  | 16   | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 57 | 64  | 256 | 512  | 64   | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 58 | 32  | 16  | 128  | 32   | 512  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 59 | 32  | 16  | 64   | 8    | 256  | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 60 | 64  | 32  | 128  | 8    | 128  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 61 | 256 | 512 | 512  | 32   | 256  | OXA-48 like        | -                           |
| 62 | 256 | 256 | 512  | 64   | 128  | OXA-48 like        | -                           |
| 63 | 128 | 256 | 256  | 32   | 128  | OXA-48 like        | -                           |
| 64 | 512 | 256 | 256  | 128  | >512 | OXA-48 like        | -                           |
| 65 | 256 | 512 | 256  | 128  | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | -                           |
| 66 | 512 | 256 | 512  | 256  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | -                           |
| 67 | 512 | 256 | 512  | 128  | 256  | OXA-48 like, NDM-1 | -                           |
| 68 | 256 | 512 | 512  | 128  | 512  | OXA-48 like        | -                           |
| 69 | 64  | 128 | 256  | 128  | 256  | OXA-48 like        | -                           |
| 70 | 64  | 128 | 256  | 128  | 256  | OXA-48 like        | -                           |
| 71 | 16  | 8   | 64   | >512 | 512  | OXA-48 like        | -                           |
| 72 | 16  | 8   | 64   | 64   | 256  | OXA-48 like        | -                           |
| 73 | 128 | 128 | >512 | 64   | 512  | OXA-48 like, NDM-1 | -                           |
| 74 | 128 | 256 | >512 | >512 | >512 | OXA-48 like        | -                           |
| 75 | 128 | 256 | >512 | 64   | >512 | OXA-48 like        | -                           |
| 76 | 128 | 128 | >512 | 64   | >512 | OXA-48 like        | -                           |
| 77 | 16  | 8   | 64   | 32   | 256  | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 78 | 16  | 8   | 32   | 8    | 128  | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 79 | 128 | 128 | >512 | 128  | >512 | OXA-48 like        | OXA-48 like,                |
| 80 | 512 | 512 | >512 | 128  | 256  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |

| No                                         | MEM  | DOR  | FAR  | IMP | ERT | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
|--------------------------------------------|------|------|------|-----|-----|--------------------|-----------------------------|
| 81                                         | 128  | 256  | >512 | 128 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 82                                         | 64   | 128  | 512  | 32  | 128 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 83                                         | 64   | 128  | 512  | 32  | 64  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 84                                         | 32   | 32   | 512  | 16  | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 85                                         | 32   | 32   | 128  | 16  | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 86                                         | 64   | 256  | 512  | 64  | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 87                                         | 32   | 16   | 128  | 32  | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 88                                         | 32   | 16   | 64   | 8   | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 89                                         | 64   | 32   | 128  | 32  | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 90                                         | 512  | 256  | >512 | 256 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 91                                         | 256  | 256  | >512 | 128 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 92                                         | 512  | 512  | 512  | 512 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 93                                         | 32   | 64   | 256  | 128 | 256 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 94                                         | 16   | 32   | 128  | 32  | 256 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like, (NDM veya VIM) |
| 96                                         | 128  | 128  | 128  | 256 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 98                                         | 512  | >512 | >512 | 512 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| <b><i>K. oxytoca</i> (n=3) (MİK, mg/L)</b> |      |      |      |     |     |                    |                             |
| No                                         | MEM  | DOR  | FAR  | IMP | ERT | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
| 4                                          | 256  | 128  | 512  | 512 | 256 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 6                                          | 128  | 128  | 256  | 512 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 97                                         | 128  | >512 | >512 | 64  | 128 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| <b><i>E. cloacae</i> (n=3) (MİK, mg/L)</b> |      |      |      |     |     |                    |                             |
| No                                         | MEM  | DOR  | FAR  | IMP | ERT | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
| 41                                         | 64   | 128  | >512 | 512 | 256 | NDM-1              | (NDM veya VIM)              |
| 42                                         | 128  | 128  | 256  | 512 | 512 | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| 46                                         | 64   | 128  | 512  | 32  | 64  | OXA-48 like        | OXA-48 like                 |
| <b><i>E. coli</i> (n=1) (MİK, mg/L)</b>    |      |      |      |     |     |                    |                             |
| No                                         | MEM  | DOR  | FAR  | IMP | ERT | Klasik PCR         | Real-time PCR               |
| 95                                         | >512 | >512 | >512 | 512 | 512 | OXA-48 like, NDM-1 | OXA-48 like,(NDM veya VIM)  |

**4.7. CRE izolatlarının enzim tiplerine göre, antibiyotikler için saptanan MİK aralıkları, Mik<sub>50</sub> ve Mik<sub>90</sub> değerleri.**

**Tablo 14.** CRE izolatlarının enzim tipine göre antibiyotikler için saptanan MİK aralıkları, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri.

| Antibiyotik | Mik <sub>50</sub><br>(mg/L) | Mik <sub>90</sub><br>(mg/L) | OXA-48<br>like     | NDM-1         | OXA-48 like +<br>NDM-1 | KPC* |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------|------------------------|------|
|             |                             |                             | MİK aralığı (mg/L) |               |                        |      |
| <b>MEM</b>  | 128                         | 512                         | 16 - >512          | 16 - 512      | 16 - 512               | 512  |
| <b>DOR</b>  | 128                         | 512                         | 16 - >512          | 8 - >512      | 8 - >512               | >512 |
| <b>FAR</b>  | 512                         | >512                        | 64 - >512          | 64 - 512      | 32 - >512              | >512 |
| <b>IMP</b>  | 128                         | 512                         | 8 - >512           | 32 - 512      | 8 - 512                | >512 |
| <b>ERT</b>  | 256                         | 512                         | 64 - >512          | 128 - 512     | 128 - 512              | >512 |
| <b>CTZ</b>  | >512                        | >512                        | 16 - >512          | 32 - >512     | 16 - >512              | >512 |
| <b>CTX</b>  | >512                        | >512                        | 128 - >512         | 256 -<br>>512 | 512 - >512             | >512 |
| <b>CEP</b>  | >512                        | >512                        | 128 - >512         | 128 -<br>>512 | 512 - >512             | >512 |
| <b>COL</b>  | 32                          | 64                          | 0.5 - 128          | 16 - 32       | 8 - 128                | 8    |
| <b>TIG</b>  | 2                           | 8                           | 0.125 - 64         | 2 - 8         | 1 - 16                 | 4    |
| <b>CIP</b>  | 64                          | 256                         | 2 - >512           | 8 - 256       | 8 - 256                | 256  |

Not: \* KPC tek bir izolat olduğu için sadece MİK değerleri verilmiştir.

#### 4.8. Fenotipik Testlerin Sonuçları

##### 4.8.1. Blue Carba Test Yönteminin (BCT) Sonuçları

BCT yöntemi ile 98 CRE izolatının 89'u pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu yöntemde karbapenemaz enzimi negatif olarak bulunan dokuz suş *K. pneumoniae* olarak tanımlanmış, ancak bu suşların OXA-48 geni PCR yöntemiyle pozitif bulunduğundan dolayı sonuçlar yalancı negatiflik olarak değerlendirilmiştir. BCT ile karbapenemaz enzimi negatif olarak suşların karbapenemler için saptanan MİK değerleri tablo 14'te verilmiştir.

**Tablo 15.** BCT yöntemi ile karbapenemaz enzimi negatif olarak saptanan suşların karbapenemler için saptanan MİK (mg/L) değerleri.

|    | Suş No | MİK (mg/L) |     |     |      |     |
|----|--------|------------|-----|-----|------|-----|
|    |        | MEM        | DOR | FAR | IMP  | ERT |
| 1. | 7      | 128        | 128 | 256 | 512  | 256 |
| 2. | 9      | 64         | 128 | 256 | 128  | 256 |
| 3. | 54     | 64         | 128 | 512 | 32   | 64  |
| 4. | 56     | 32         | 32  | 128 | 16   | 512 |
| 5. | 57     | 64         | 256 | 512 | 64   | 256 |
| 6. | 61     | 256        | 512 | 512 | 32   | 256 |
| 7. | 63     | 128        | 256 | 256 | 32   | 128 |
| 8. | 71     | 16         | 8   | 64  | >512 | 512 |
| 9. | 72     | 16         | 8   | 64  | 64   | 256 |

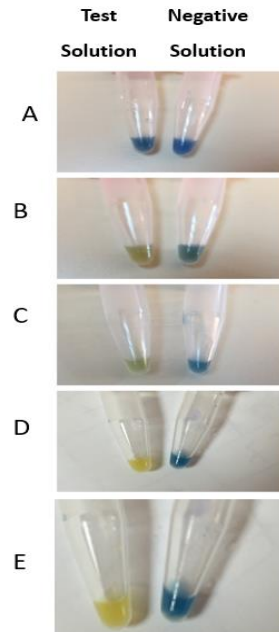
A. *E. coli* ATCC25922 (Negatif kontrol)

B. OXA-48 üreten *K. pneumoniae*

C. OXA-48+ NDM-1 üreten *E. coli*

D. NDM-1 üreten *E. cloacae*

E. KPC üreten *K. pneumoniae*



**Şekil 22.** Blue Carba testi; enzim tiplerine göre pozitif ve negatif örnekler.

#### 4.8.2. Modifiye Hodge Test (MHT)'inin sonuçları

Modifiye Hodge testi ile (Şekil 23), karbapenemaz enzimini üreten izolatları %98 (96/98) oranında doğru olarak tespit edilmiştir. Tespit edilemeyen iki suş *K. pneumoniae* izolatıdır ve bunların OXA-48 geni pozitif olarak bulunmuştur. MHT yalancı negatif olarak değerlendirilen suşların karbapenemler için MİK değerleri tablo 16'de gösterilmiştir.

**Tablo 16.** MHT testi sonucu negatif olarak saptanan suşların MİK (mg/L) değerleri.

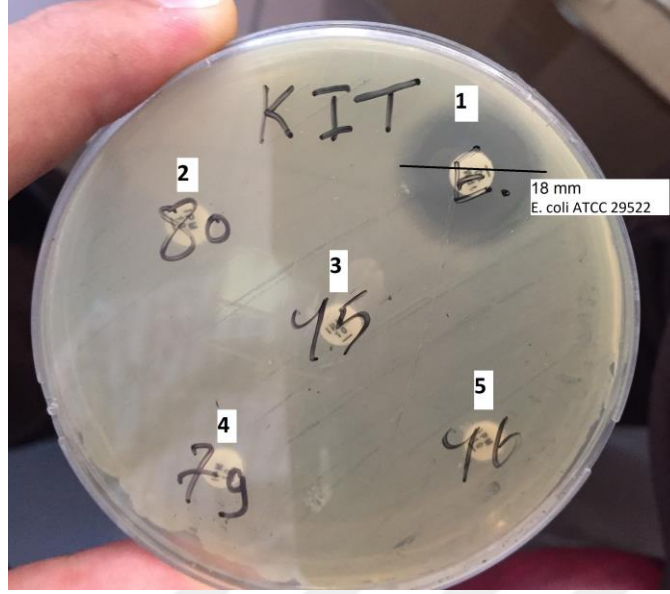
|    | Suş No | MİK (mg/L) |     |      |     |     |
|----|--------|------------|-----|------|-----|-----|
|    |        | MEM        | DOR | FAR  | IMP | ERT |
| 1. | 45     | 256        | 512 | 512  | 512 | 512 |
| 2. | 91     | 256        | 256 | >512 | 128 | 512 |



**Şekil 23.** Modifiye Hodge Testi: 1, Negatif kontrol (karbapenemeler duyarlı suş), 2, NDM-1 pozitif suş, 3, OXA-48 pozitif suş, 4, NDM-1 ve OXA-48 pozitif suş, 5: KPC pozitif suş

#### 4.8.3. Karbapenem İnaktivasyon Metodunun (KİM) sonuçları

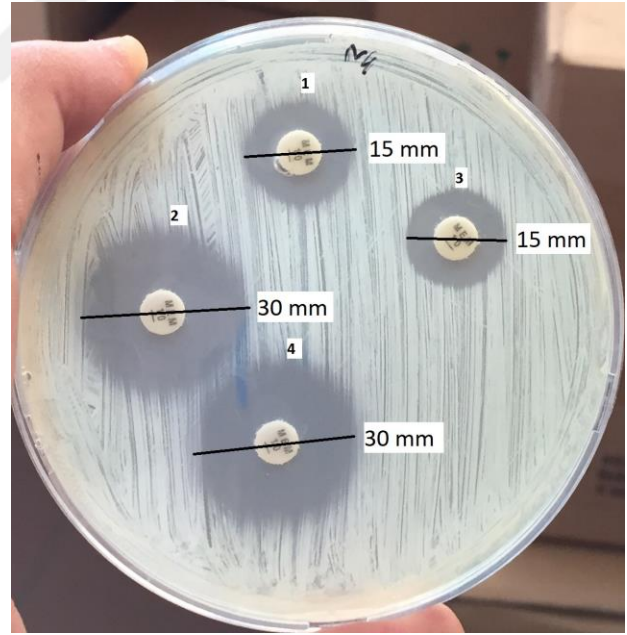
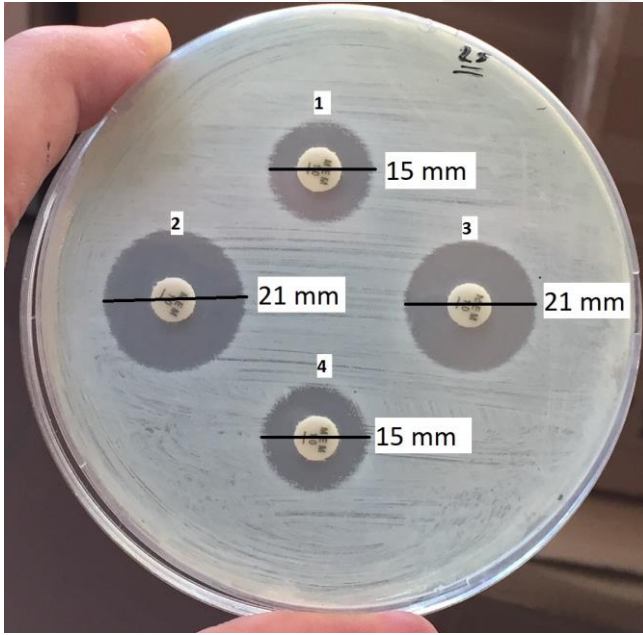
KİM testi ile KPC, NDM veya OXA-48 genini taşıyan tüm suşlar %100 duyarlılıkla tespit edilmiştir.



Şekil 24. Karbapenem İnaktivasyon Metodu

#### 4.8.4. Kombine Disk Metodunun (KDM) sonuçları

KDM testi (Şekil 35), %100 (45/45) oranında MBL'leri ve KPC karbapenemaz üreten bakterileri doğru olarak tespit etmiştir.



Şekil 25. Kombine Disk Metodu sonuçlarının örneği, KPC(sol) ve MBL(sağ)

1: MEM, 2: MEM+EDTA+ PBA, 3: MEM+PBA, 4: MEM+EDTA

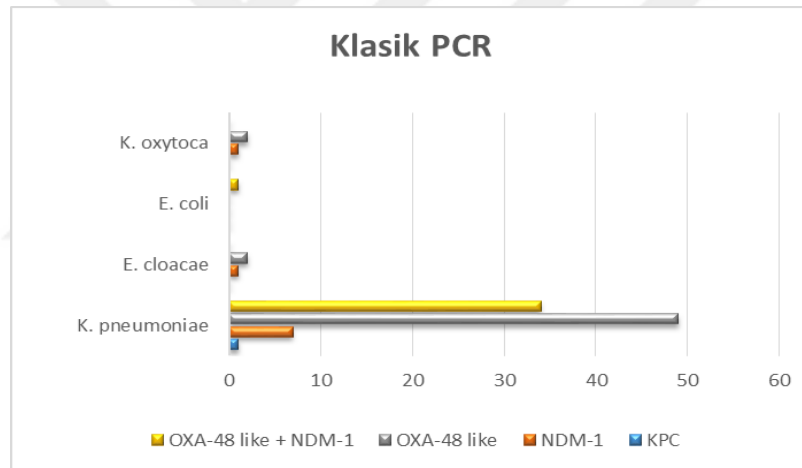
#### 4.9. Genotipik Testlerin Sonuçları

##### 4.9.1. Klasik PCR yönteminin sonuçları

Karbapenemaz varlığı saptanan *Enterobacteriaceae* izolatlarında türlere göre karbapenemaz tiplerinin dağılımı (n= 98) tablo 17 ve şekil 22’de gösterilmiştir.

**Tablo 17.** Klasik PCR yönteminin sonuçları.

| Karbapenemaz geni   | <i>K.pneumoniae</i> | <i>E. cloacae</i> | <i>E. coli</i> | <i>K. oxytoca</i> | TOPLAM   |
|---------------------|---------------------|-------------------|----------------|-------------------|----------|
|                     | Sayı (%)            | Sayı (%)          | Sayı (%)       | Sayı (%)          | Sayı (%) |
| KPC                 | 1 (1)               | 0                 | 0              | 0                 | 1 (1)    |
| NDM-1               | 7 (7)               | 1 (1)             | 0              | 1 (1)             | 9 (9)    |
| OXA-48 LiKE         | 49 (50)             | 2 (2)             | 0              | 2 (2)             | 53 (54)  |
| OXA-48 LiKE + NDM-1 | 34 (35)             | 0                 | 1 (1)          | 0                 | 35 (36)  |
| TOPLAM              | 91 (93)             | 3 (3)             | 1 (1)          | 3 (3)             | 98 (100) |



**Şekil 26.** Klasik PCR yönteminin sonuçları



**Şekil 27.** Klasik PCR Yönteminin jel görüntüsü: Kolon 1: Marker, kolon 2: Negatif kontrol, kolon 3: Pozitif kontrol, kolon 4: bla<sub>OXA-48</sub> kontrol, kolon 5: bla<sub>KPC</sub> kontrol, kolon 6: bla<sub>KPC</sub> kontrol (tekrar), kolon 7: bla<sub>NDM-1</sub> kontrol, kolon 8: bla<sub>VIM-1</sub> kontrol

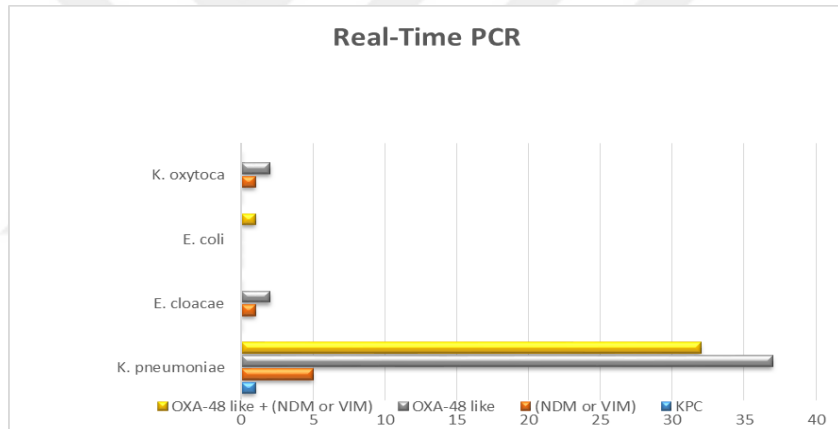


#### 4.9.2. Real-Time PCR yönteminin sonuçları

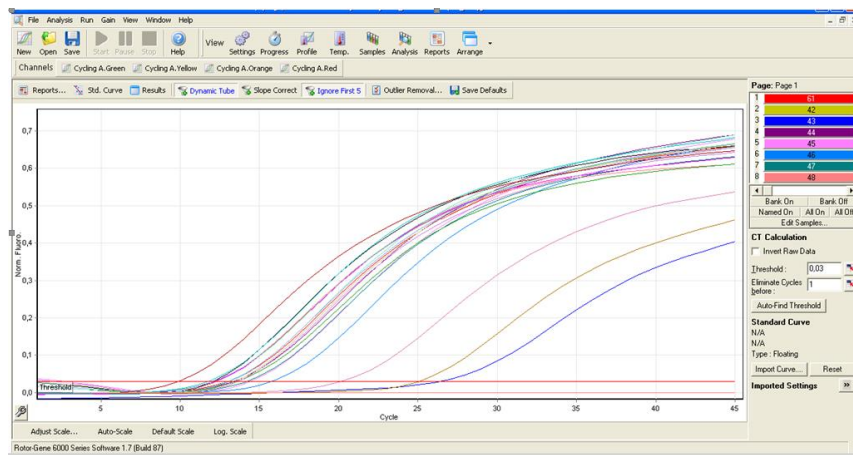
*Enterobacteriaceae* izolatlarında karbapenem direncinden sorumlu genlerin türlere ve karbapenemaz tiplerinin göre dağılımı (n=82) tablo 18 ve şekil 24, 25’de gösterilmiştir.

**Tablo 18.** Real-Time PCR yönteminin sonuçları.

| Gen                          | <i>K. pneumoniae</i> | <i>E. cloacae</i> | <i>E. coli</i> | <i>K. oxytoca</i> | TOPLAM   |
|------------------------------|----------------------|-------------------|----------------|-------------------|----------|
|                              | Sayı (%)             | Sayı (%)          | Sayı (%)       | Sayı (%)          | Sayı (%) |
| KPC                          | 1 (1)                | 0                 | 0              | 0                 | 1 (1)    |
| NDM-1 VEYA VIM               | 5 (6)                | 1 (1)             | 0              | 1 (1)             | 7 (9)    |
| OXA-48 LİKE                  | 37 (45)              | 2 (2)             | 0              | 2 (2)             | 41 (50)  |
| OXA-48 LİKE + NDM-1 VEYA VIM | 32 (39)              | 0                 | 1 (1)          | 0                 | 33 (40)  |
| TOPLAM                       | 75 (91)              | 3 (4)             | 1 (1)          | 3 (4)             | 82 (100) |



**Şekil 28.** Real-Time PCR Yönteminin Sonuçları



**Şekil 29.** Real-Time PCR; bla<sub>OXA-48-like</sub> (42-61)’i suşlarının sonuçları

#### 4.9.3. Dizi analizi sonuçları

Dizi analizi toplam dokuz izolat uygulanmıştır. Bu izolatlar; *K. pneumoniae* bla<sub>OXA-48</sub> pozitif suşu, *K. pneumoniae* bla<sub>NDM-1</sub> pozitif suşu, *K. pneumoniae* bla<sub>KPC</sub> pozitif suşu, *K. oxytoca* bla<sub>OXA-48</sub> pozitif suşu, *K. oxytoca* bla<sub>NDM-1</sub> pozitif suşu, *E. cloacae* bla<sub>OXA-48</sub> pozitif suşu, *E. cloacae* bla<sub>NDM-1</sub> pozitif suşu ve *E. coli* hem bla<sub>OXA-48</sub> hem de bla<sub>NDM-1</sub> pozitif suşudur.

Dizi analiz hizmet alımı ile gerçekleştirilmiş, analizde ABI 3100 Genetik Analiz cihazı kullanılmıştır.

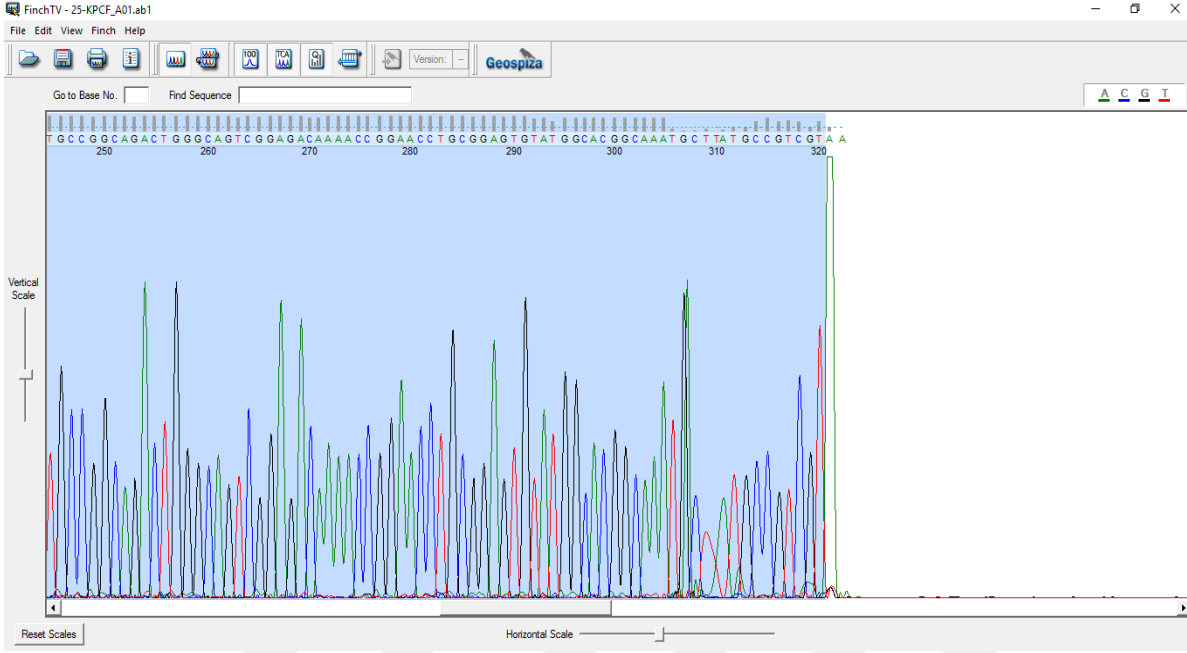
DNA dizi analizi sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. CBI BLAST ana sayfasındaki BLAST programı kullanılarak benzerlik açısından analiz edilmiştir.

(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

Farklı DNA dizi analizi sonuçları tablo (18)'de gösterilmiştir.

**Tablo 19.** DNA dizi analizi sonuçları

|                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1-OXA48F_F01</b> | ATAGACATCTTCTTCGGTCCCACTAGCTTGATGCTCCCTCGATTGGGCGTGGTTAAGGATGAACACCAAGTCTTTAAGTGGG<br>ATGGACAGACGCGGATATCGCCACTTGGAATCGCGATCATAATCTAATCACCAGCATGAAATATTCAGTTGTCCTGTTTATC<br>AAGAAATTTGCCGCCAAATTTGGCGAGGCACGTATGAGCAAGATGCTACATGCTTTTCGATTATGGAATGAGGACATTTCCGGC<br>AATGTAGACAGTTTCTGGCTCGAGCGTGGTATTGCAATTTCCGCCACGGAGCAAAATCAGCTTTTAAAGAAAGCTGTATCACAAT<br>AAGTTACACGTATCGGAGCGCAGCCAGCGTATTGTCAACAAGCCATGCTGACCGAAGCCAAATGGTGACTATATTATTCGGGC<br>TAAACTGGATACTCGACTAGAATCGAACCTAAGATTGGCTGGTGGGTCGGTTGGTTGAACCTTGATGATAATGTGTGGTTTTT<br>TGCGATGAATATGGATATGCCACATCGGATGGTTTAGGGCTGCGCAAGCCATCAGAAAAAAGTGCTCAAAACCC |
| <b>1-OXA48R_B02</b> | GGGTGCTACTATCATCCGAGTTGGGTATATCCATTATCATCGCAAAACCACACATTATCATCAAGTTCAACCAACCGACC<br>CACCAGCCAATCTTAGGTTGATCTAGTCGAGTATCCAGTTTTCAGCCGAATAATATAGTCACCATTTGGCTTCGGTCAGCATG<br>GCTTGTGTTGACAATACGCTGGCTGCGCTCCGATACGTGTAACCTATTGTGATACAGCTTTCTTAAAAAGCTGATTGTCTCCGTG<br>GCCGAAATTCGAATACCAACCGTCGAGCCAGAACTGTCTACATTGCCGAAATGTCTTACCATAATCGAAAGCATGTAGC<br>ATCTGTCTACATCGCTCGCCAATTTGGCGGGCAAATTTCTTGATAAACAGGCACAACTGAATATTTCATCGCGGTGATTAGA<br>TTATGATCGCGATTCCAAGTGGCGATATCGCGCGTCTGTCCATCCCACTTAAAGACTTGGTGTTTCATCCTTAACCCAGCCCCAA<br>TCGAGGGCGATCAAGCTATTGGGAATTTTAAAGGTAGATGCGGGTAAAAATGCTGGTTTCCCGCCGGTAA          |
| <b>2-NDM1F_E10</b>  | CAATAGGGGTGTGATTGCTCGGTTTCGACCCAGCCATTGGCGCGATGTCAGGCTGTGTTGCGCCGCAACCATCCCTCTTGC<br>GGGGCAAGCTGGTTGACAACGCAATTGGCATAAGTCGAATCCCGCCGATGACAGCGCTCCATACCGCCCATCTTGTCTCG<br>ATGCGCGTGAGTCACACCGCCAGCGCGACCGGCGAGGTTGATCTCTGCTTGATCCAGTTGAGGATCTGGGCGGTCTGGTCAT<br>CGGTCCAGGCGGTATCGACCCAGCAGCGCGGCCCATCTCTGACGATCAAAACCGTTGGAAGCGACTGCCCGCAACCCGGC<br>ATGTCGAGATAGGAAGTGTGCTGCCAGACATTCGGTGCAGCTGGCGGAAACAGATCGCCAAACCGTTGGTGCAGGTTTC<br>CATTTAAGCC                                                                                                                                                                      |
| <b>2-NDM1R_A03</b>  | GTGGCGGATCTCGGTTTTCCGCCAGCTCGCACCGAATGTCTGGCAGCACACTTCTATCTCGACATGCCGGTTTCGGGGCAG<br>TCGCTTCCAACGGTTTGATCGTCAGGGATGGCGGCGCGTGTGGTGGTCGATACCGCTTGGACCGATGACCAGACCGCCAG<br>ATCCTCAACTGGATCAAGCAGGAGATCAACCTGCCGCTGCGCGTGGCGGTGGTGACTCACGCGCATCAGGACAAGATGGGCG<br>GTATGGACGCGCTGCATGCGGCGGGGATTGCGACTTATGCCAATGCGTTGTGCAACAGCTTCCCCGCAAGAGGGGATGGTT<br>GCGGCGCAACACAGCTGACTTTCGCCGCCAATGGCTGGGTGCAACCAGCAACCGGCCCACTTTGGCCGCTCAAAGGTTAT<br>TTTAA                                                                                                                                                                         |
| <b>25-KPCF_A01</b>  | CTCGTTCCGCGTTCGTAGGCCCTCATGCGCTCTATCGGGGATACCAGTTCCGCTGAGCCGCTGGGAGCTGGAGCTGAACCTC<br>CGCCATCCAGCGATGCGCGCGATACCTCATCGCGCGCGCGGTGACGGAAGCTTACAAAACTGACACTGGGCTCTGCAC<br>TGGCTGCGCGCAGCGGCGAGCTTTGTTGATTGGCTAAAGGGAAACACGACCGGCAACCCAGCATCCGCGCGCGGTGCC<br>GGCAGACTGGGCGATCGGAGACAAAACCGGAACCTGCGGAGTGTATGGCAGCGCAATGCTTATGCGCGTCTGTA                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>25-KPCR_C01</b>  | GAGTGCTTCGCACACGGTTCCGGTTTTGTCTCCGACTGCCAGTCTGCCGGCACCGCGCGCGGATGCCGTTGGTTGCCGGTGC<br>TGTTTTCCCTTAGCCAATCAACAACTGCTGCGCTGCGGCGCAGCGAGTGACAGAGCCAGTGTGAGTTTTTGTAAAGCTTTCCG<br>TCACGGCGCGCGCGATGAGGTATCGCGCGCATCGCTGGGATGGCGGAGTTGAGCTCCAGCTCCAGCGGTCCAGACGGAA<br>CGTGGTATCGCGGATAGAGCGATGAAGGCCGTGAGCCCGCGCGGCCCACTCCCTTCAGCAACAATA                                                                                                                                                                                                                                                                                    |



**Şekil 30.** KPC pozitif olan izolatın dizi analizi sonucuna örnek

#### 4.9.4. Fenotipik ve PCR testleri sonuçlarının karşılaştırılması

Çalışmada test edilen izolatların fenotipik testi sonuçları, klasik PCR (tablo 19) ve Real-time PCR ile (tablo 20) karşılaştırılmıştır. Ancak Real Time PCR testi 82 suşa uygulanabilmektedir.

**Tablo 20.** Klasik PCR ve fenotipik testlerin sonuçlarının karşılaştırılması.

| Klasik PCR          | Fenotipik testler |             |            |             |            |             |            |             |
|---------------------|-------------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| Gen                 | BCT               |             | MHT        |             | KİM        |             | KDM        |             |
|                     | Suş Sayısı        | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) |
| KPC                 | 1                 | 1/100       | 1          | 1/100       | 1          | 1/100       | 1          | 1/100       |
| NDM-1               | 9                 | 9/100       | 9          | 9/100       | 9          | 9/100       | 9          | 9/100       |
| OXA-48 LİKE         | 53                | 44/83       | 53         | 51/96       | 53         | 53/100      | *          | *           |
| OXA-48 LİKE + NDM-1 | 35                | 35/100      | 35         | 35/100      | 35         | 35/100      | 35         | 35/100      |
| TOPLAM              | 98                | 89/91       | 98         | 96/98       | 98         | 98/100      | 45         | 45/100      |

**Tablo 21.** Real-time PCR ve fenotipik testlerin sonuçlarının karşılaştırılması.

| Real-time PCR               | Fenotipik testler |             |            |             |            |             |            |             |
|-----------------------------|-------------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| Gen                         | BCT               |             | MHT        |             | KİM        |             | KDM        |             |
|                             | Suş Sayısı        | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) | Suş Sayısı | Sonuç (n/%) |
| KPC                         | 1                 | 1/100       | 1          | 1/100       | 1          | 1/100       | 1          | 1/100       |
| NDM-1 veya VIM              | 7                 | 7/100       | 7          | 7/100       | 7          | 7/100       | 7          | 7/100       |
| OXA-48 LİKE                 | 41                | 35/85       | 41         | 39/95       | 41         | 41/100      | *          | *           |
| OXA-48 LİKE /NDM-1 veya VIM | 33                | 33/100      | 33         | 33/100      | 33         | 33/100      | 33         | 33/100      |
| TOPLAM                      | 82                | 76/92       | 82         | 80/98       | 82         | 82/100      | 41         | 41/100      |

## 5. TARTIŞMA

Antibiyotiklerin yaygın ve sıklıkla kontrolsüz kullanımı, antibiyotiğe dirençli patojenlerin seçimiyle sonuçlanmıştır. Bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle dünyada milyonlarca insan yaşamını kaybetmektedir. 2050 yılına kadar, antibiyotiğe dirençli patojenlerin kontrol altına alınamaması durumunda küresel ölüm oranının 10 milyon, tedavi masraflarının 10000 trilyon dolara çıkacağı tahmin edilmektedir [101]. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar MDR bakterileri ile enfekte olmaları açısından yüksek risk altındadırlar [102]. Karbapenemler, *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan suşların GSBL veya plazmit aracılı AmpC tipi beta laktamaz enzimleri oluşturmaları nedeniyle enfeksiyonların tedavisinde başvurulacak en son antimikrobiyallerdir. Son yıllarda tüm dünyada ve Türkiye’de karbapenemazlar enterik bakterilerde giderek artan oranda daha fazla bildirilmektedir. Bakteriyel kolonizasyon, enfeksiyon gelişiminin başlangıç adımı olarak kabul edilir. Yapılan çalışmalarda CRE ile kolonizasyon oranları YBÜ’de yatan hastalarda kolonize olmayanlara göre en az iki katı artmış enfeksiyon riski ile ilişkilendirilmiştir [103]. Hastaların daha önce YBÜ’de yatmış olması, karbapenem kullanımı ve önceki hastanede yatış süresinin uzun olması CRE kolonizasyonu açısından başlıca risk faktörleri olarak bildirilmiştir. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (ESCMID) MDR patojenlerinin yayılımını azaltmak için aktif süreyans ile kültürü tarama testlerini önermektedir [104].

Bu çalışmada 23 Ocak-23 Temmuz 2017 tarihleri arasında hastanemiz yoğun bakım servislerinde yatan hastalardan toplam 96 hastadan alınan rektal sürüntü veya dışkı örneklerinden 253 CRE izolasyonu yapılmıştır. Ancak hastalarda kolonizasyon olarak saptanan CRE izolatlarının ilk izolatu çalışmaya dahil edilmiş ve çalışma boyunca toplam 98 (%33) CRE izolatu değerlendirilmiştir. Bu hastaların 52’si (%53,1) kadın ve 46’sı (%46,9) erkek hastadır. SPSS kullanılarak yapılaran istatistiksel değerlendirmede CRE kolonizasyonu açısından cinsiyetle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Yaş dağılımına göre bakıldığında 98 hastanın 73’ü (%74,5) yetişkin, 25’i (%25,5) çocuk hastadır. Hastaların yaş ortalaması erişkinler için 59.8 yaş, çocuklar için 3.7 yaş olarak bulunmuştur.

MDR-Gram-negatif bakterilerin kolonizasyonu ile klinik enfeksiyonun arasındaki ilişki günümüzde hala tam olarak açıklanamamıştır. Akılcı antibiyotik

kullanımı uygulamalarının yanı sıra, enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkin kullanımı, yoğun bakım ünitelerine kabul edilen hastaların kolonizasyon taramalarının yapılması, VRE ve MDR gibi Gram negatif çomaklar dahil sorunlu patojenleri taşıyan hastaların izolasyonu, ulusal veri ağı ile hastaların monitörizasyonu ve sorunlu patojenleri taşıyan hastaların yeni bir hastaneye yatması durumunda kolonizasyon hakkında erken bildirim sisteminin oluşturulması enfeksiyonlarla mücadeleye başlıca temel yaklaşımlar arasında sayılmaktadır.

CRE'lere bağlı enfeksiyonların, daha çok komorbiditeleri olan ve yoğun sağlık bakımı uygulanan hastalarda geliştiği yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. Hastanemizde yapılan bir çalışmada (Ocak-Ağustos 2017) genel ve travma acil YBÜ'lerinde yatan hastalarda, uzun süreli yatış ve hastaların yattığı gün piperasilin-tazobaktam, meropenem veya kinolon kullanıyor olmaları rektal CRE taşıyıcılığı gelişmesine etki eden bağımsız risk faktörleri olarak bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada rektal CRE kolonizasyonu gelişen hastalarda, CRE'ye bağlı enfeksiyon gelişme riskinin, kolonizasyon olmayanlara göre yaklaşık altı kat, mortalite oranlarının ise yaklaşık üç kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bunların dışında, rektal CRE kolonizasyonu sonrası CRE enfeksiyonu gelişen hastalarda, enfeksiyon gelişmeyenlere göre YBÜ yatış süresinin daha uzun olduğu bu çalışmada vurgulanmıştır [105].

Kolonize hastaların, özellikle rektal sürüntü tarama kültürleriyle belirlenerek izole edilmesi, dirençli bakterilerle enfeksiyonların kontrolündeki en önemli basamaklardan biri olarak tanımlanmaktadır. Hastanemizde yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda CRE kolonizasyonu açısından güncel durumu belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, rektal sürüntü/dışkı örneklerinden en az birinde CRE üremesi, kolonizasyon olarak tanımlandı ve hastaların CRE ile kolonize olma süreleri çalışma boyunca takip edildi. Çalışmamız sonuçlarına göre; yoğun bakım ünitelerinde en yüksek kolonizasyon oranı, %56 ile RAYB'de ( $p<0.01$ ) tespit edilmiş olup, ardından KDCYB'de %41, ACYB'de %40 ve ÇYB'de %19 olarak tespit edilmiş olup, en düşük kolonizasyon oranı %17 ile YDYB'da gözlenmiştir. RAYB ve KDCYB uzun süreli yatıştan dolayı, en yüksek kolonizasyon olan üniteler olarak değerlendirilmiştir. Hastaneye yatışlarında, başlangıçta CRE kolonizasyonu olmayan hastaların CRE ile kolonize olma süreleri; RAYB ve ACYB'de 1.3, YDYB'da 1.5, ÇYB'da 1.6 hafta olarak tespit edilmiştir. Yetişkin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda kolonizasyon oranı en düşük %40, en yüksek %56 olarak saptanmıştır. Yeni doğan yoğun

bakım ve çocuk yoğun bakım ünitelerinde bu oran en düşük %17 ve en yüksek %19 olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak yaş arttıkça kolonizasyon oranının arttığı çalışma sonucunda gözlenmiştir. Yetişkin hastalar daha uzun olarak hastanede kaldıklarından dolayı kolonizasyon oranlarının da göreceli olarak arttığı görülmektedir.

Araştırmamızda, bakteri türüne göre bakıldığında, en fazla kolonizasyonun *K. pneumoniae* (%93) izolatları ile olduğu görülmektedir. Diğer türlerin daha az oranda (%3 *K. oxytoca*, %3 *E. cloacae* ve %1 *E. coli*) olduğu tespit edilmiştir.

### **Fenotipik ve Genotipik Testlerin Sonuçları:**

İnhibitör esaslı testler ya da kombine disk metodu (KDM), bazı bileşiklerin (örneğin, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), dipikolinik asit (DPA) veya fenilboronik asit [PBA]) spesifik olarak karbapenemaz aktivitesini inhibe etme kabiliyetine dayanır. MBL aktivitesi EDTA ve DPA (şelatlaştırıcı maddeleri) tarafından engellenir, PBA ise KPC enzimlerini inhibe eder [104]. Pournaras ve arkadaşları [108] hem EDTA hem de PBA'nın tek bir diskte birlikte kullanılmasıyla KPC ve MBL'yi barındıran suşların saptanabileceğini bulmuşlardır. Bu bağlamda, Miriagou ve arkadaşları [109], PBA ve DPA (EDTA yerine) içeren tabletler ile KPC ve VIM'i birlikte üreten suşların optimum sonuçlarla saptanması üzerinde çalışmışlardır. Çalışmamızda, KPC ve MBL'yi birlikte üreten herhangi bir suş tespit edilmedi, ancak inhibitör esaslı testler (PBA, EDTA) (Şekil 35) NDM ve KPC tipi karbapenemaz oluşturan izolatları %100 duyarlılıkta tespit etmiştir.

Araştırmamızdaki izolatların hepsi temosilin ve kloksasine dirençli bulunmuştur. OXA-48 tipi karbapenemaz oluşturan bakterilerde, fenotipik tanısal belirteç olarak temosilin direncinin kullanılmasının, OXA-48 enzimini tespiti için yetersiz olduğu kanıtlanmıştır [110]. Kloksasilin ise AmpC tipi beta laktamaz enzimlerini inhibe ederek, karbapenem direncinin AmpC hiperüretimi ve porin proteinlerinin kaybına bağlı olarak gelişen karbapenem direncinin ayırımında fenotipik yöntem olarak kullanılmaktadır [111]. Bu çalışmada, temosilin ve kloksasilin duyarlılık test sonuçlarına bakarak karbapenemaz enzim tipi hakkında bilgi sahibi olmak mümkün olamamıştır.

Bu çalışmada, MHT ile karbapenemaz enzimi üreten izolatlar %98 duyarlılıkla doğru olarak tespit edilmiştir. MHT özel bir malzemeye ihtiyaç duyulmadan CLSI önerileri baz alınarak rutin laboratuvarlarda kolayca uygulanabilir. Bununla birlikte, MHT'in önemli dezavantajları vardır; bu test karbapenemaz tipleri arasında ayırım

apamamaktadır, sonuçların yorumlanması zordur, sonuçlanması en az 24-48 saat gerektirir ve özgüllüğü yoktur (yüksek düzeyde AmpC üreticileri veya CTX-M tipi ESBL üreticileri ve *Enterobacter* türlerinde yalancı pozitif sonuçlar bildirilmiştir) [107–109]. Dolayısıyla, pozitif veya şüpheli sonuçların, özellikle ESBL üreten izolatların yaygın olduğu bölgelerde alternatif testlerle doğrulanması önerilmektedir.

Kolorimetrik testler karbapenemaz aktivitesinin varlığında bir karbapenemin  $\beta$ -laktam halkasının enzimatik hidrolizine dayanmaktadır ki, bu da pH düşüşüne ve sonuçta bir pH indikatörünün (Carba NP [115] için fenol kırmızısı veya Blue-CARBA [94] için bromotimol mavisi) renk değiştirmesine neden olur. Blue-CARBA, Pires ve arkadaşları [94] tarafından 2013 yılında geliştirilmiştir. Blue-Carba, Carba NP ile benzer sonuçlar veren Carba NP'nin bir modifikasyonudur: *Enterobacteriaceae* 'de karbapenamazların saptanmasında %100 duyarlılık ve %91-100 arasında değişen özgüllük bildirilmiştir [113]. Orijinal Carba NP testine kıyasla en büyük avantajı ise bakteri enzimi ekstraktlarına ihtiyaç duyulmadan bakteri kolonileri üzerinde doğrudan uygulanabilir olmasıdır. Bununla birlikte, Carba NP'deki modifikasyonlar bakteri kolonileri üzerindeki performansını da kolaylaştırmıştır. Bizim çalışmamızda, BCT 89/98 oranında (%90.8 duyarlılık) doğru tespitte bulunmuş, karbapenemaz aktivitesi tespit edilmemiş izolatların tümünün OXA-48 genine (*bla<sub>OXA-48</sub>* için %83 duyarlılık) sahip oldukları belirlenmiştir. Ancak bu izolatların imipenem için MİK değerleri (32->512 mg/L) yüksek bulunduğundan dolayı yanlış negatiflik olarak değerlendirilmiştir. Bu izolatların beşinin mukoid olduğu gözlenmiş ve mukoid koloni oluşturan izolatlarda bu testin kullanılmaması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. NDM, KPC gibi diğer enzimler ve OXA-48 ve NDM'nin birlikte üretilmesi durumunda ise duyarlılık %100 olmuştur. Test sürelerine göre değerlendirildiğinde; OXA-48 üreticileri için test süresinin 5-50 dakika olduğu, solüsyonun renginin maviden yeşile dönüştüğü, NDM, KPC ve OXA-48 ve NDM tipi enzimlerin birlikte üretilmesi durumunda, testin 2-10 dakika içinde pozitif hale geldiği ve solüsyonun renginin doğrudan maviden sarıya değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 32). Bu durum BCT'inin sadece karbapenem hidrolitik aktivitesini saptamada yararlı olduğunu değil aynı zamanda karbapenemaz enzim türüne ilişkin bir ipucu da verebileceğini ortaya koymaktadır.

KİM yöntemi Van der Zwaluw ve arkadaşları [92] tarafından tanımlanmıştır. Özetle, aktif bir duyarlılık testi meropenem diski (10 mg) bir test edilecek bakteri



süspansiyonu içerisine atılır; bakterinin bir karbapenemaz enzimini üretmesi, antibiyotiğin inaktivasyonuna neden olur. Meropenem diskinin bakteri süspansiyonunda 35°C’de iki saatlik inkübasyondan sonra, süspansiyon içindeki disk alınıp ve karbapenem duyarlı standart suşun *E. coli* ATCC 25922 suşunun yayıldığı MHA agar plağına konulmuştur. Altı saatlik inkübasyon sonrasında normalde *E.coli* suşunun etrafında inhibisyon zonu oluşması beklenirken, test edilen bakteride karbapenemaz varlığı nedeniyle inaktive olan meropenem diski *E. coli* suşunda inhibisyon zonu oluşturmaması beklenir (Şekil 32). Bu sebeple inhibisyon zonu oluşturmamayan bakteriler, karbapenemaz üreten bakteriler olarak değerlendirilir [92]. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (KİM) testteki ilk veriler %98-100 arasında duyarlılığa ve %100 özgüllüğe işaret etmektedir [92], [118]. Çalışmamızda, KİM testi, düşük MİK değerlerine sahip olsalar bile KPC, NDM veya OXA-48 üreten test edilmiş tüm suşları belirgin bir şekilde tespit etmiştir. Bu yöntemin ucuz ve yorumlanması kolay olduğu kanıtlanmıştır, ancak test farklı türdeki karbapenemazlar ayırt etmemektedir. Bu testin bir diğer önemli dezavantajı ise sonuçların okunması için en az sekiz saat inkübasyon süresine ihtiyaç duyulmasıdır.

Bu çalışmada hastanemizde ilk kez KPC pozitif *K. pneumoniae* suşu izole edilmiştir. KPC pozitif *K. pneumoniae* ile kolonize olan 13 yaşında erkek çocuk olan hasta, hastanemizde yedi yıldır RYBÜ’de yatmaktadır. Bu hasta yurt dışında veya Türkiye’de başka herhangi bir hastaneye yatırılmamıştır. Geriye yönelik olarak hasta bilgilerine bakıldığında, uzun süreli yatışa ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak VRE’de dahil olmak üzere çok ilaca dirençli bakterilerle dönem dönem kolonize olduğu gözlenmiştir. KPC pozitif *K. pneumoniae* izolatlarının bildirimi ülkemizde birkaç raporla sınırlıdır [119] Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi’nin (ECDC) Avrupa Antimikrobiyal Direnci Gözetim Ağı (EARS-Net) verilerine göre [79], Türkiye’de KPC pozitif *K.pneumoniae* epidemiyolojisi 2013’te 2b evresinden (sporadik hastane salgınları) 2015’de 0 evresine gerilemiştir.

*K. pneumoniae* karbapenemaz (KPC) üreten Enterobakteriler Avrupa’da halen en geniş yayılıma sahip iken OXA-48-üreten enterik bakterilerde giderek artan bir oranda yayılım göstermektedir. KPC ve OXA-48-üreten enterik bakterilerin dağılımı ülkelere göre değişkenlik göstermektedir. Yunanistan’da KPC üreten enterik bakteriler daha yaygın iken OXA-48 üretenler ise nadir olarak saptanmaktadır. Bunun aksine, Malta’da

OXA-48 beta laktamazı sentezleyen enterik bakteriler daha yaygın olarak görülmektedir [81].

Çakar A. ve arkadaşları [80] tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada Türkiye'nin değişik bölgelerindeki merkezlerden izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığını ve enzim tipleri belirlenmiştir. Karbapenemlere dirençli izolatların %86.5'inin *K. pneumoniae*, %13.5'ü ise *E. coli* olarak tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada izolatların sentezlediği enzim tipi dağılımları incelendiğinde; OXA-48: %84.6; NDM: %6.3; VIM: %2.8 ve IMP: %1.4 oranında saptanırken, iki enzime sahip izolatların oranı; OXA-48 + NDM: %2.1, OXA-48+VIM: %2.1; VIM+NDM: %0.7 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada KPC enzimi gözlenmemiştir. Sonuçlar çalışmamızdan farklı olmasına rağmen OXA-48 enzimini üreten *K.pneumoniae* tüm çalışmalarda halen en yaygın bakteridir (İstatistiksel olarak anlamlı  $p < 0.05$ ).

Bir diğer şaşırtıcı sonuç ise OXA-48+NDM enzim kombinasyonunu taşıyan izolatların oranını %35.7 olarak tespit etmemizdir. İki enzimi birlikte taşıyan suşların bir tanesi *E. coli* iken, diğerleri (34 suş) *K. pneumoniae*'dir. Çakar A. ve ark. tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada iki enzimin kombinasyonu %5' ten düşük bulunmuştur [80]. Hastanemizde gözlediğimiz bu artış, ülkemizde diğer merkezlerde de iki enzimi birden sentezleyen suş sayısının giderek yayılacağı endişesini yaratmaktadır. Ülkemizdeki bütün merkezlerin süveyans çalışmaları ile güncel durumlarını belirlemeleri, dirençli suşların yayılımının önlenmesi için son derece önem taşımaktadır. Carrër ve ark. [120] hastanemizde 2006 Mayıs-2007 Ocak tarihleri arasında, OXA-48 üreten *K. pneumoniae* izolatlarının neden olduğu bir salgın bildirmişlerdir. OXA-48 geni pozitif bulunan ilk *E. coli* ve *C. freundii* izolatları da ülkemizden bildirilmiştir [2-3, 74]. Bütün bu çalışmalar ve son yapılan bu çalışma ile OXA-48 üreticisi *K. pneumoniae* izolatlarının hastanemizde endemik hale geçtiğini göstermektedir.

Uzun bir dönem boyunca OXA-48 bildirimleri sadece Türkiye'den yapılmışken, günümüzde Güney Akdeniz ülkeleri, Hindistan, Almanya, Avustralya, Amerika, Orta Doğu, ve Kuzey Afrika ülkeleri de dahil olmak üzere OXA-48 pozitif izolatlar dünyanın her tarafından bildirilmektedir [124]. İstanbul'da Çizmeci ve arkadaşları [124] tarafından 2017 yılında yapılan bir bildirimde *K. pneumoniae* (n=75) izolatlarının 52'si

OXA-48, 17'si NDM-1, ikisi VIM-5 pozitif olarak bulunmuştur. İki izolatta OXA-48 ve NDM-1 birlikte saptanmıştır. İzolatlar poliklonal dağılım göstermiş ve 19 izolat kolistine dirençli bulunmuştur.

Karbapenemaz üreten bakterilerin küresel yayılımı, uluslararası sağlık otoriteleri tarafından kritik bir halk sağlığı sorunu olarak vurgulanmıştır. Şu anda Kuzey Amerika ve Avrupa enfeksiyon kontrol kılavuzlarında önerilen bu yayılımın önlenmesi, CRE ile kolonizasyonun doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanmasını içerir [74], [138]. Rektal süürüntü örneklerinde CRE'nin saptanması için farklı yöntemler kullanılmıştır; bunlar arasında, belirli kromojenik ortam ile kültür ve in-house ve ticari moleküler testler (Cepheid Xpert Carba-R assay, Check-Direct CPE) bulunmaktadır [126]. Kültür bazlı yöntemler, ortamın bileşimi ve hedeflenen karbapenemazlara (örn., KPC, VIM, NDM, IMP veya OXA-48 enzimleri) bağlı olarak duyarlılık ve özgüllük sorunları ile sınırlıdır, üremeleri için 24 ile 48 saat gerekir ve fenotipik ve/veya moleküler yöntemlerle doğrulama ihtiyacı vardır. Ayrıca, kültür yöntemlerinin doğruluğu yüksek oranda orta formülasyona (besiyeri tipi ve antibiyotik desteğinin konsantrasyonu) bağlı olduğundan, karbapenemaz enzimlerinin artan çeşitliliği ve değişken ifadeleri, kültür yöntemlerinin duyarlılığını etkilemektedir. Ek olarak, rektal veya perirektal sürüntü örneklerindeki bakteriyel yük ayrıca kültür bazlı testlerin doğruluğunu da etkiler [127], [128]. Bu nedenlerle, moleküler testler geliştirilmiş ve bu sınırlamaların çoğunun üstesinden geldiği iddia edilmiştir [129]. Bu moleküler deneyler, multipleks-PCR-esaslı analizler, izotermal amplifikasyon (LAMP) bazlı deneyler ve mikrodizi bazlı analizleri içerir. Bu analizlerin bazıları sadece iyi karakterize edilmiş bir CRE koleksiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiş, klinik örneklerle ve/veya çok bölgeli bir yaklaşımla birlikte değerlendirilmiştir [145 - 147].

CRE'nin doğru ve zamanında tespiti, uygun hasta yönetimi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla uygulanması için kritik öneme sahiptir. Bakteriyel kolonilerden veya klinik örneklerden direkt olarak direnç genlerini tanımlamak için klasik yöntemler dışında Cepheid Xpert Carba-R assay, Check-Direct CPE (CDCPE) testi gibi farklı moleküler analizler karbapenemaz üreten organizmaları saptamak üzere geliştirilmiş gerçek zamanlı ticari bir multipleks (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>VIM/NDM</sub>) testleridir. İç ekstraksiyon ve inhibisyon kontrolü olan bu test kiti ile *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub> ve *bla*<sub>NDM</sub> genleri tek bir reaksiyon tüpünde tespit edilebilmektedir. Ancak

*bla<sub>VIM</sub>* ve *bla<sub>NDM</sub>* aynı florokrom (VIC) tarafından tespit edilir ve ayırt edilemezler. Test süresi 3 saattir (1 saat ekstraksiyon ve 2 saat RT-PCR). Bu yöntemlerin çoğu nadiren çok merkezli klinik çalışmalarda doğrulanmıştır.

Bu tez çalışmasında, klasik PCR ve Real Time PCR testlerini karşılaştırarak, kültür yöntemlerine gerek kalmadan rektal sürüntü örneklerinden hastanemizde yaygın olan karbapenemaz tiplerinin belirlenmesinde hangi yöntemin kullanılması gerekliliği ile ön bilgilere ulaşmak ve Real Time PCR testlerinin tarama yöntemi olarak analitik performansını saptamak, hedeflerden diğerini oluşturmaktaydı. Bu çalışmada, Real-Time PCR yöntemi ile *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>NDM/VIM</sub>* ve *bla<sub>OXA-48</sub>* genlerinin saptanması için “Check-Direct CPE” kiti kullanıldı ve 98 izolat için performansı klasik PCR yöntemi ile değerlendirildi.

Ancak tez bütçesinin yeterli olmaması nedeniyle, Real time PCR testi direkt olarak rektal sürüntü veya dışkı örneklerine uygulanamamış, test, kültürde CRE olduğu tespit edilen suşlara uygulanabilmiş, klasik PCR ve Real time PCR sonuçları karşılaştırılmıştır. CDCPE'nin analitik performansı, CDCPE ile elde edilen sonuçların, referans olarak alınan seçtirici besiyerlerinde üreyen kolonilerden, direnç genleri klasik PCR testi ile doğrulanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Birçok çalışmada, CDCPE ile klasik PCR testi veya diğer ticari testlerin karşılaştırılmasında benzer sonuçlar bildirilmiştir. Lund ve arkadaşları [131] bakteriyel kolonilerinden ve doğrudan dışkı örneklerinden, IMP, NDM, VIM, KPC ve OXA-48 karbapenemaz genlerini saptamak için laboratuvarında kendileri real-time PCR yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntem, bir tüpte NDM, VIM ve IMP genleri, diğerinde OXA-48 ve KPC genleri bulunan iki tüpte gerçekleştirilen bir multipleks PCR'dir. Özellikle VIM ve IMP genlerinin tüm varyantlarını kapsayacak şekilde düzenlenmiş primerler ve probolararağmen, PCR reaksiyonlarının etkinliği %95-100 arasında bulunmuştur. Dışkı örneklerine farklı konsantrasyonlarda karbapenemaz üreten suşlar ile eklenmiş ve hem PCR hem de geleneksel kültür ile analiz edilmiştir. PCR analizinin duyarlılığı 100 ila 10,000 cfu/ml arasında değişmiştir.

Amerika'da, A. Lau ve ark. [132] tarafından yapılan çalışma göre; direkt olarak 301 peri-rektal sürüntüden test uygulanmış, dokuz suş KPC pozitif olarak bulunmuş duyarlılık 100, özgüllük, %88 olarak bildirilmiştir.

Huang ve ark. [133] Belçika'da *bla*<sub>OXA-48</sub> yaygınlığını saptamak için, dört hastanede direkt olarak 394 rektal sürüntü örneklerinde kromojenik CRE selektif seçtirici kültürle Check-Direct CPE multiplex PCR testini (CDCPE) karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır. CDCPE'nin duyarlılığı, özgüllüğü ve negatif prediktif değeri sırasıyla %100, %94 ve %100 olarak bulunmuştur. %5.3 yalancı pozitif sonuçla ilgili olarak mikrobiyolojik öyküyü incelediklerinde, beş hastada karbapenemaz üreten bakterilerle daha önce kolonize olduğu gözlenmiş ve bir örnekte güçlü bir VIM/NDM sinyali (Ct = 22.17) elde edilmiştir. Kültürde *P. aeruginosa* kolonilerinin üremesi, sinyalin bu bakteriden olabileceğini düşündürmüştür. Aynı çalışmada testin VIM ve NDM ayırımının yapılamamasının epidemiyolojik olarak önemli olabileceğine ve bu sorunun diğer platformlara (CFX96, Bio-Rad veya BD MAX sistemi, BD Molecular) uyarlanmış başka bir CDCPE versiyonu kullanılarak çözümlenebileceğine dikkat çekmişlerdir. Bunların dışında tespit edilen OXA-48 benzeri genlerin rutin olarak kültürü yapılamayan bağırsak mikrobiyotasında bulunan diğer bakterilerden (örn. *Shewanella* spp.) kaynaklanabileceğine, hedeflenen bakterilerde yanlış pozitifliklere neden olabileceğine vurgu yapmışlardır [134]. Salgın analizlerinde, rektal sürüntü veya dışkı örneklerinden yapılan direkt Real time PCR testlerinde yazarların belirttiği bu konular son derece önemlidir, aksi takdirde gerçek salgın analizlerinde yanlış değerlendirmelere ve verilerin gerçeği yansıtmamasına neden olabilecektir. Bu çalışmada da klasik PCR testi kullanılsaydı, karbapenemaz pozitifliğinin NDM veya VIM genlerinden hangisinden kaynaklandığı belirlenemeyecekti. Klasik PCR ile hastanemizde NDM pozitif suş sayısında bir artış olduğu görülmektedir, ancak VIM gibi diğer enzimlerin ayırımının da doğru yapılması önemlidir.

Lau ve arkadaşları [146] 258 hastadan 301 perirektal sürüntü örneğinde direkt olarak Check-Direct CPE multiplex PCR testini kullanarak *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM/VIM</sub>, ve *bla*<sub>OXA-48</sub> genlerini araştırmışlar ve testin klinik performansını değerlendirmişlerdir. Testin sensitivitesi KPC suşları için %100, spesifisitesi %88 olarak bulunmuştur. Yazarlar aynı zamanda test maliyetlerini de karşılaştırmışlardır. Kültür yöntemlerinin maliyetini negatif kültürler için 3-8 dolar, pozitif kültürler için 14-18 dolar, Check-Direct CPE için ekstraksiyon da dahil tüm örnekler için 24 dolar olarak belirlemişlerdir. CDCPE testinin uygulanma süresini 3.5 saat olarak bildirmişlerdir. Örneklerin üçlü veya beşli havuzlayarak PCR testi maliyetinin azaltılabileceğine dikkat çekmişlerdir. Rutin uygulamalar için ticari olarak piyasada bulunan kit seçimi yapılırken, bölgesel

olarak güncel yaygın olan karbapenemaz tipleri ve gelecekte olası değişimler de dikkate alınarak yapılmalıdır. Seçim yapılırken; test kitinin o bölgede yaygın olan genleri ve türevlerini kapsaması yanı sıra iş hacmi ve akışlarıyla birlikte maliyet etkinliği de dikkat alınmalıdır.

Rosner ve arkadaşları [135] 80 iyi karakterize edilmiş MDR-Gram negatif suşunda, karbapenemaz genlerinin saptanması ve tiplendirilmesi için ticari olarak temin edilebilen iki moleküler analizin (CDCPE ve AID line probe testinin) tanısal güvenilirliğini karşılaştırmışlardır. Testler, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'yi (CPE) %97.7 duyarlılıkla tespit ederek, oldukça güvenilir olarak bulunmuştur, ancak *A. baumannii*-kompleksi üyelerinin analizi için uygun olmadığı bildirilmiştir. *Enterobacteriaceae*'deki en yaygın karbapenemaz genlerinin doğrulanması ve tiplendirilmesi için her iki testin yapılması kolay ve hızlı araçlar olduğunu bildirmekle birlikte, CDCPE'nin kullanımının daha kolay ve daha az teknolojik gereksinimleri olan herhangi bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için uygulanmasının mümkün olabileceğini vurgulamışlardır.

Smiljanic ve arkadaşları [136], kendilerinin geliştirdiği in house multipleks PCR ile RT-PCR testinin (CDCPE) performansı karşılaştırmışlardır. 116 karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarında bla<sub>KPC</sub>, bla<sub>VIM</sub>, bla<sub>NDM</sub> veya bla<sub>OXA</sub> genleri araştırılmıştır. Her iki testle de KPC, VIM ve NDM genleri doğru olarak tespit edilmiştir. In-house RT-PCR, OXA genlerinin %79'unu, CDCPE ise %43.3'ünü tespit etmiştir. In-house PCR, kan kültürü şişelerinden direkt olarak genleri tespit etmiş ve erime eğrisi analizleri ile OXA tipleri (23-like and 48-like) başarılı bir şekilde belirlenmiştir. Bununla birlikte, yazarlar her iki analizde de çeşitli OXA genlerinin yetersiz olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. In house RT-PCR yöntemi ile *Enterobacteriaceae* ve *A. baumannii* izolatlarında OXA tipi genlerin büyük bir çoğunluğunun tespit edildiği açıklanmıştır.

Sınıf D  $\beta$ -laktamazlar içinde bulunan çeşitli enzimler karbapenemleri hidrolize eder. Bu varyantlar OXA-48'den bir ile beş amino asit değişikliği ve/veya dört amino asit delesyonu ile farklılık gösterir ki bu da modifiye  $\beta$ -laktam hidroliz spektrumu ile sonuçlanır. Günümüze kadar karbapenemleri inaktive eden bu enzimlerin (OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-143) büyük bir çoğunluğu *Acinetobacter* spp. türlerinde bulunan izolatlardan bildirilirken, OXA-48 enzimi ve türevleri *Enterobacteriaceae*

ailesinde bulunan türlerde tespit edilmiştir. Son yıllarda OXA-48 enziminden köken alan diğer türevler; OXA 162 *K. pneumoniae*'da, OXA-163 *K. pneumoniae* ve *E. cloacae*ve OXA-247, *K. pneumoniae* izolatlarında Arjantin'den, OXA-181 *K. pneumoniae*'da Hindistan'dan, OXA-204 *K. pneumoniae*'da Kuzey Afrika'dan, OXA-244, OXA-245 ve OXA-405 *K. pneumoniae*'da İspanya'dan, OXA-247, *K. pneumoniae*'da Arjantin'den, OXA-370 *Enterobacter hormaechei*'da Brezilya'dan bildirilmiştir. Ülkemizde bu türevlerle ilgili bir bildirim bulunmamaktadır [125].

J. Findlay ve arkadaşları [137] piyasada bulunan üç ticari kiti (CDCPE kit, eazy plex Super Bug complete A kit ve Xpert Carba-R kit) kullanarak sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Uyumsuz sonuç saptanması durumunda in-house PCR ve dizileme ile mevcut olan karbapenemazlar ayrıca belirlediklerini rapor etmişlerdir. Çalışmada toplam 450 (438 *Enterobacteriaceae*, 12 *Pseudomonas* spp.) izolat ile çalışılmış ve üç kitin hepsi KPC, VIM, NDM ve klasik OXA-48 karbapenemazları doğru olarak saptamıştır. Ancak OXA-181 varyant (n=18) Xpert Carba-R kit veya the eazy plex SuperBug complete A kit ile tespit edilememiş, yalnız Check-Direct CPE assay tespit edebilmiştir. Yine üç kitten yalnız Xpert Carba-R kit IMP karbapenemazları tespit edebilmiştir. Araştırmacılar bu testlerle yanlış pozitiflik olmadığını, ticari analiz kitlerinin, klinik olarak anlamlı karbapenemazlarla bakterileri tespit etmek için güvenilir bir yol sunmakla birlikte, bazı testlerin OXA-48 benzeri karbapenemazların duyarlılığını en üst düzeye çıkarmak için kapsamının genişletilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Çalışmada kullanılan CDCPE kiti ile, OXA-48 ile birlikte 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 247 ve 370 türevlerinin de saptanabileceği test prosedüründe üretici firma tarafından bildirilmektedir. Bu test çalışmasında, OXA-48 türevlerini saptamak amacıyla 98 izolattan farklı türlerden sahip oldukları diğer karbapenemazlarda dikkata alınarak rastgele olarak seçilen dokuz izolata dizileme yapılmış, ancak OXA-48 türevleri saptanmamıştır. Aslında OXA-48 geni bulunan tüm izolatlar için dizilemenin yapılması ile daha gerçekçi sonuçlara ulaşılması mümkün olabilirdi, ancak tezin bütçesi bu maliyeti karşılayamayacağı için tüm OXA-48 pozitif suşlara dizileme yöntemi uygulanamamış olması veri kısıtlamasına neden olmuştur. İleride başka projeler ile destek alınarak bu eksiklik giderilmeye çalışılacaktır. Bu projelerde MLST analizlerinin yapılması ile hastanemizde yaygın olan klonlar hakkında bilgi sahibi

olunabilecektir. KPC pozitif bulunan izolata da MLST analizi uygulanabilseydi, suşun epidemiyolojik ilişkisi hakkında bilgi sahibi olunabilirdi, bütün bunlar bu tez çalışmasının eksiklikleridir.

Ülkemizde yoğun bakım ünitelerinde CRE kolonizasyonunu belirlemek için yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İstanbul'da yapılan bir araştırmada karbapenemlere duyarlı olmayan bakterilerin %81'i *K. pneumoniae*, %19'u *E. cloacae* olarak bildirilmiştir [138]. İstanbul'da Gaziosmanpaşa Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Ocak 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında, erişkin YBÜ'nde yatan hastalar, aktif sürveyans yöntemi ile hastane enfeksiyonlar açısından izlenmiş, *K. pneumoniae* (%11), *Acinetobacter baumannii* (%46) ile gelişen enfeksiyonlardan sonra ikinci olarak en sık saptanan etken olarak bildirilmiştir [139].

Bu tez çalışmasında, en yüksek CRE kolonizasyon oranı, çalışma döneminde gönderilen tüm dışkı veya rektal sürüntülerin %56'lık kolonizasyon yüzdesiyle RAYB'de gözlemlenmiştir. Bu ünite, CRE izolatlarının yaklaşık yarısında (%49) bla<sub>OXA-48</sub> geni, %42'sinde bla<sub>OXA-48</sub> ve bla<sub>NDM-1</sub> birlikte, %7'sinde bla<sub>NDM-1</sub> ve bir suş bla<sub>KPC</sub> barındırıyordu. RAYB'de, CRE izolatlarının %91'inin tek başına ya da bla<sub>NDM-1</sub> ile birlikte bla<sub>OXA-48</sub> benzeri gene sahip olduğu gözlemlendi.

KDCYB'den sadece beş CRE *K. pneumoniae* kolonizasyonu saptanmasına rağmen, bu ünite, çalışma dönemi boyunca gönderilen tüm dışkı veya rektal sürüntülerin %41'lik CRE kolonizasyon yüzdesine sahip olmak suretiyle, ikinci sırada kabul edilmiştir. Bu ünite, CRE izolatlarının %80'i hem bla<sub>OXA-48</sub> benzeri hem de bla<sub>NDM-1</sub>, % 20'si ise sadece bla<sub>OXA-48</sub> benzeri gen barındırıyordu. KDCYB'de tüm CRE izolatlarının tek başına ya da bla<sub>NDM-1</sub> ile birlikte bla<sub>OXA-48</sub> benzeri gene sahip olduğu belirlendi.

ACYB ünitesi CRE kolonizasyonu sıklığı açısından üçüncü sırada yer almıştır. Çalışma dönemi boyunca gönderilen tüm dışkı veya rektal sürüntülerin %40'ında CRE kolonizasyonu saptandı. CRE izolatlarının %74'ü bla<sub>OXA-48</sub> geni barındırıyordu, bunu % 26'lık bir oranla hem bla<sub>OXA-48</sub> benzeri hem de bla<sub>NDM-1</sub> barındıran CRE izolatları takip ediyordu. ACYB ünitesinde tüm CRE izolatlarının tek başına ya da bla<sub>NDM-1</sub> ile birlikte bla<sub>OXA-48</sub> genine sahip olduğu belirlendi.

ÇYB ünitesi CRE kolonizasyonu açısından dördüncü sırada bulunuyordu. Çalışma dönemi boyunca gönderilen tüm dışkı veya rektal sürüntülerin %19'ünde CRE



kolonizasyonu saptandı., CRE izolatlarının %67'si bla<sub>OXA-48</sub> geni, %33'ü hem bla<sub>OXA-48</sub> hem de bla<sub>NDM-1</sub> barındırıyordu. ÇYB'de, tüm CRE izolatlarının tek başına ya da bla<sub>NDM-1</sub> ile birlikte bla<sub>OXA-48</sub> benzeri gene sahip olduğu gözlemlendi.

Bu sıradaki son ünite, çalışma dönemi boyunca gönderilen tüm dışkı veya rektal sürüntülerin %17'lik kolonizasyon yüzdesi ile YDYB idi. Bu ünite, CRE'nin % 42'si bla<sub>OXA-48</sub> geni barındırıyordu, hem bla<sub>OXA-48</sub> hem de bla<sub>NDM-1</sub> için %32 ve sadece bla<sub>NDM-1</sub> için %26 izolatla saptandı. YDYB'de, CRE izolatlarının %74'ünün tek başına ya da bla<sub>NDM-1</sub> ile birlikte bla<sub>OXA-48</sub> i gene sahip olduğu belirlendi.

Budak ve arkadaşları [140] tarafından yapılan bir çalışmada (Temmuz 2009-Aralık 2010) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen karbapenemlere dirençli bakterilerin %22'sini *K. pneumoniae*, %3'ünü *E. coli* olarak saptamışlardır. İnvazif alet kullanımı, parenteral beslenme, hastanede yatış süresinin uzun olması, GSBL ve çoğul dirençli *Enterobacteriaceae* izolasyonunun olması karbapenem direncinin gelişmesi için risk faktörleri olarak tanımlamışlardır. Çalışmalarında karbapenemlere dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda mortalite oranını %60 olarak bildirmişlerdir.

McConville ve arkadaşları [141] tarafından bildirilen bir çalışmada, 338 yoğun bakım ünitesi hastasının %28'inin sefalosporinlere dirençli enterik bakteriler veya CRE ile kolonize olduğu ifade edilmiştir. Swaminathan ve arkadaşları tarafından bildirilen bir başka çalışmada ise, yoğun bakım, medikal-cerrahi ve akut rehabilitasyon ünitelerinde yatan tüm hastalar dahil tarama yapılmış ve CRE prevelansı %5.4 olarak bildirilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda CRE ile kolonizasyon oranı % 5.4-22.9 arasında değişmektedir [142]. Bu çalışma sonuçları ile kıyaslandığında oranlarımızın oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, 2016 yılına kıyasla, OXA-48 tipi karbapenemaz enziminin hala hastanemizde en baskın karbapenemaz olduğu, ancak bla<sub>NDM-1</sub> ve bla<sub>OXA-48</sub> genlerinin birlikte taşıyan suş oranında artış olduğu tespit edilmiştir. 2016 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nde yapılan bir tez çalışmasında [143], 108 klinik örnekten izole edilen 94 CRE suşunun 79'u *K. pneumoniae*, sekizi *E. coli*, altısı *Enterobacter aerogenes* ve birisi *Serratia marcescens* olarak tanımlanmıştır. OXA-48 direnç geni 74 (%78,7) suшта saptanırken, NDM pozitifliği ise sadece dokuz (%9,5) suшта saptanmıştır, iki suшта ise OXA-48 ve NDM birlikteliği saptanmıştır. Bu

çalışma ile kıyaslandığında CRE-*K. pneumoniae* hala hastanemizde saptanan en yaygın tür olarak yerini korumakla birlikte, NDM genini tek başına (%7) ve OXA-48+NDM genlerini birlikte taşıyan suş sayısında (%35) önemli bir artış olduğu gözlenmektedir.

Ülkemizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında, Güdücüoğlu ve arkadaşları [144] bir üniversite hastanesinin iki yoğun bakım ünitesinde, sekiz hastadan izole edilen ardışık dokuz pan-drug-*K. pneumoniae* suşları ile oluşan bir salgın bildirmişlerdir. PFGE ve MLST yöntemleri ile yapılan genotipleme çalışmalarında, altı hastanın yedi suşundan oluşan baskın bir CR-*K. pneumoniae* klonunu göstermişlerdir. Bu suşlar, uluslararası yüksek riskli bir klon olan ST11 tipindeydi. Suşlar kolistin de dahil olmak üzere tüm antimikrobiyallere karşı dirençli, NDM-1 ve OXA-48 karbapenemazlar için pozitif, fakat plazmit kaynaklı kolistin direnç genleri için negatif olarak bulunmuştur. Bir hastada kolonizasyon saptadıklarını ve beş hastanın, ortalama 12 gün içinde enfeksiyon nedeniyle öldüğünü bildirmişlerdir. Salgın analizinde hiçbir çevresel veya personel bağı kurulamadığını, salgını enfeksiyon kontrol önlemlerini artırarak durdurduklarını ifade etmişlerdir.

Hindistan'da yapılan bir çalışmada yoğun bakım ünitesine yatırılan hastalarda CRE ile kolonizasyon oranı %6.6 (8/122) olarak gözlenmiştir. YBÜ hastaları arasında CRE'nin kolonizasyonu 4. günde (% 22) 1. güne (% 11) göre anlamlı olarak yüksek (p değeri 0.002) bulunmuştur. Tespit edilen karbapenemaz genleri, NDM-1, OXA-48, 181, KPC olarak bildirilmiş, NDM-1 en baskın karbapenemaz tipi olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada 50 CRE izolatının %16'sı meropeneme ve imipeneme (MIK $\leq$ 1 mg/L) duyarlı, bütün suşlar kolistin ve tigesikline duyarlı bulunmuştur. CRE taşıyıcılığı için; yoğun bakımda kalış süresi, ventilatör ve aminoglikozitlerin kullanımı ilişkili risk faktörleri olarak bildirilmiştir [145].

İki İran üniversite hastanesinde 95 hastadan alınan rektal sürüntü örneklerinde CRE taraması Chrom-agar ve MacConkey agar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Karbapenemaz kodlayan genleri tespit etmek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılmıştır. Hastanede yatan hastalarda CRE ile kolonizasyon oranı %37.9 olarak bulunmuştur. Toplamda 54 CRE izolatı tanımlanmış ve bunların 47'sinde karbapenemaz üretimi pozitif olarak tespit edilmiştir. On beş hasta çoklu CRE izolatları ile kolonize olarak bulunmuştur. CRE taşıyıcılığında; yoğun bakım ünitesinde yatmış olma, antibiyotik maruziyeti ve mekanik ventilasyon üç önemli risk faktörü olarak tespit

edilmiştir. OXA-48 en sık görülen karbapenemazken, bunu NDM-1 ve NDM-7 izlemiştir. Onbir suşta NDM-1 ve OXA-48, altı suşta NDM-7 ve OXA-48 birlikte tespit edilmiştir. KPC, GES, IMP veya VIM genleri saptanmamıştır [146].

Fransa'da, karbapenemaz epidemiyolojisine yönelik bir çalışmada, 1485 izolat test edilmiş. ve 341 tanesi (%22,9) CRE olarak bulunmuştur. CRE izolatlarının %66'sı *K. pneumoniae*, %24'ü *E. coli* ve %10'u *E. cloacae* olarak bildirilmiştir. Bu izolatlarda en sık görülen enzim tipi %75,4'lük oranla OXA-48 benzeri olarak belirlenmiş ve bunu sırasıyla KPC (%11.4), NDM (%7.9), VIM (%4.7), IMI (0.6 %) ve bir suş (*K. pneumoniae*) OXA-48 benzeri+NDM (% 0.3) tipi karbapenemazlar izlemiştir. Bunların hastane enfeksiyon geçişi net belirlenememiş olup, toplum kökenli yayılımın muhtemel olabileceği çalışmada ifade edilmiştir [147].

Polonya'da yapılan bir çalışmada, NDM pozitif izolatlar açısından endemik ülkeler içinde olmamasına rağmen, 2012-14'te 40 hastanede Poznań ve Varşova'da 10 poliklinik ve 1 bakım evi, tanımlanan NDM pozitif *Enterobacteriaceae* ile 374 enfeksiyon/kolonizasyon vakasından 370 vaka, *Klebsiella pneumoniae* salgını ile ilişkili bulunmuştur. *K. pneumoniae* ST11'in salgın suşu, Çek Cumhuriyeti'nden 2013 yılına kadar tanımlanan bir izolatla benzer bulunmuştur. Çek suşunda olduğu gibi, izolatların çoğu, bir bla<sub>NDM</sub>'yi paylaşan, farklı büyüklükteki IncFII- ve IncR-tipi plazmitlerine sahip olarak bildirilmiştir [148]. 2013 yılında üç diğer NDM vakası rapor edilmiş; bunlardan üçü Karadağ, Hindistan veya Afganistan'dan gelenlerle ilişkili bulunmuştur. Hint orijinli *Escherichia coli* ST448 NDM-5 izolatı, daha önce Polonya ve Fransa'da (sırasıyla Kongo ve Hint kökenli) *E. coli* suşlarında gözlemlenen bla<sub>NDM</sub> genetik bağlamı dahil olmak üzere, İspanya'dan alınan yeni bir izolatla benzerlik göstermiştir [149]. Afgan orijinli *Proteus mirabilis*, bu türün bir kromozomal bla<sub>NDM-1</sub> lokasyonu olan ikinci izolatı olarak tespit edilmiştir [148]. Bu çalışma NDM genlerinin dünya üzerinde küresel olarak nasıl yayıldığını göstermesi açısından iyi bir örnek olarak kabul edilebilir.

Türkiye'de de NDM pozitif suşların yayılım kaynaklarını gösterecek çok merkezli ve ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Klonal ilişkilerin boyutlarının gösterilmesi, yayılım zincirlerinin kırılması enfeksiyon kontrol önlemleri açısından ilk basamak olarak önem taşımaktadır [84], [148].

İsrail’de yapılan bir çalışma göçlerin önemini göstermesi açısından çarpıcı bir örnek çalışmadır. Bu çalışma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiş ve karbapenemaz tiplerindeki farklılıklara dikkat çekilmiştir. İlk gözlemde CRE taşıyıcılığı yaygınlığı 184/1147 (% 16) olarak bulunmuş ve bütün izolatlar KPC-K. *pneumoniae* olarak belirlenirken, ikinci çalışmada CRE taşıyıcılığı yaygınlığı 127/1287 (% 9,9) olarak tespit edilmiştir. Bu izolatların 113’ü (% 89) KPC-K.*pneumoniae*, dokuzu (% 7) diğer KPC üreten türler ve beşi (%4) NDM ve OXA-48 üreten CRE olarak saptanmıştır (sırasıyla n = 1 ve 4). ST258 klonu tarafından temsil edilen KPC-KP popülasyonunun oranı, 2008 yılında 120/184 (%65) iken, 2013 yılında 91/113 (%80) olmuştur. KPC enzimi CRE taşıyıcılarının %58’inde (71/122) tespit edilmiştir. 2013 çalışmasında, edinim kaynağı PACH’in kendisi olarak belirlenmiştir. Dört OXA-48 CRE’nin tamamı ya doğrudan ya da dolaylı olarak Filistin Yönetimi ya da Suriye’den gelen hastalardan elde edilmiştir. İsrailli akut bakım sonrası hastanelerde (PACH) CRE prevalansının azalmasına ve yeni CRE tiplerinin ortaya çıkmasına rağmen, KPC-KP ST258 klonu temsil edilen baskın klon olarak kaldığı çalışmada vurgulanmaktadır [150]. Ülkemiz de son zamanlarda başta Suriye olmak üzere büyük göç almaktadır. Sağlıklı olanların ve hastaneye yatırılarak tedavi edilen hastaların CRE ile kolonizasyon durumları hakkında bilgi bulunmamaktadır. Sürveyans çalışmalarının yapılmasının gerekliliği ortadadır, geniş çaplı ve düzenli olarak sürveyans çalışmalarını gerçekleştirilmesi halk sağlığının korunması açısından son derece önemlidir.

## Sonuç

1. Bu çalışmada, yoğun bakım ünitelerimizdeki Gram negatif bakteriyel patojenlerde karbapenemaz direncini tanımlamak ve karakterize etmek için çeşitli fenotip ve genotip bazı tekniklerin uygulanmasını amaçlamıştır.
2. Araştırmamızda en duyarlı ve özgül fenotip olan (KDM), sadece KPC ve MBL tipi karbapenemazları saptamak yararlı olduğu bulunmuş, ancak Türkiye’de en yaygın olan OXA-48 tipi karbapenemazın özgül olarak saptanması için faydalı bulunmamıştır. KİM, CRE izolatlarının tespiti için yeni bir testtir ancak duyarlılığını ve özgüllüğünü saptamak için daha fazla suşun kullanıldığı bir araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Ek olarak, karbapenemaz türleri arasında ayırımı sağlamamaktadır.
3. MHT duyarlılığı %98 idi, ancak test özgül değildir, sadece karbapenemaz üretimini test etmek için kullanılabilir, karbapenemaz tipi hakkında bilgi vermemektedir.

4. BCT doğrulayıcı test olarak da kullanılabilir, ancak OXA-48 benzeri enzimlere olan duyarlılığı orta derecelidir.
5. Check-Direct CPE gerçek zamanlı PCR, hızlı ve doğrudur, ancak klasik yöntemlere göre daha pahalıdır ve MBL türleri olan NDM ve VIM enzimleri arasında ayırımı sağlamamaktadır. CRE taramalarında hastanemizde güncel olarak farklı yoğun bakım ünitelerinden haftalık olarak yaklaşık 40 rektal sürüntü alınmaktadır, sadece laboratuvar testleri dikkate alınarak maliyet hesaplandığında rutin tarama için Check-Direct CPE gerçek zamanlı PCR kullanımını önermemekteyiz. Ancak hasta yatış zamanları, enfeksiyon kontrol önlemleri, mortalite ve morbidite oranları, personel ve diğer sarflar da dikkate alınarak maliyet analizleri yapılırsa belki daha maliyet etkin olarak bulunabilir. Hastane idarelerinin bu hesaplamaları yapması gereklidir.
6. Klasik PCR, karbapenamaz genlerinin tespiti için altın standart yöntemdir, ancak nitelikli yetişmiş eleman ve alt yapıya ihtiyaç duyar ve seçilen ekstraksiyon yöntemleri önemlidir, standardize edilmiş ekstraksiyon yöntemlerinin seçilmiş olması son derece önemlidir, aksi takdirde yanlış negatiflikler veya pozitiflikler olabilir. Bunların dışında insan teknik hatası nedeniyle yanlış negatiflikler olası ihtimali de bulunmaktadır. Çalışmamızda bir kerede iki bla<sub>OXA-48</sub> geni saptanmamıştır, sonuçlar tekrarlandığında hatalı olarak sonuçların negatif olarak belirlendiği tespit edilmiştir.
7. CRE'nin ideal tespiti için, çeşitli fenotip ve genotip tabanlı teknikler birlikte çalışılarak değerlendirilmelidir. Rektal sürüntü örneklerinde üç kere üst üste negatif sonuç alınması durumunda kolonizasyonun sonlandığı düşünülebilir. Ancak unutulmamalıdır ki yatış süresi uzadığı zaman bu hastalar tekrar kolonize olabilir, hastaların yatışları boyunca kolonizasyon açısından sürveyans kültürlerinin her hafta alınarak takip edilmesi gerekir.
8. Hastanemizde bu protokollerin oluşturulmasının yanı sıra uygulamaların da çok sıkı olarak gerçekleştirilmesi gerekir. Bu çalışma sonuçlarına bakıldığında hastanemizin enfeksiyon kontrol uygulamalarının yetersiz olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Acil olarak enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerekliliği ortadadır.

## Öneriler

1. CRE enfeksiyonuna yatkın hastaların erken teşhisi için risk altındaki hastaların ya da CRE ile kolonize hastaların tanımlanması.

2. CRE-pozitif hastaların elektronik sistem ile izlenmesi hastanede ünite içi veya üniteler arasında nakillerde veya başka bir hastanede yatışlarında gerekli önlemlerin alınması ve izolasyon için bilgi akışının sağlanması
3. Aktarımın önlenmesine yardımcı olan (el hijyeni, elbise, eldiven, maske vb.) içeren enfeksiyon kontrol önlemlerine sıkı sıkıya uyulması, eğitimlerin düzenli olarak yapılması ve uyumun artırılması
4. Çoklu ilaç direncinin prevalansını azaltmak için antimikrobiyal yönetiminin uygulanması ve uyumunun artırılması.
5. Hemşireler ve temizlik elemanları da dahil tüm YBÜ personeli için enfeksiyon kontrol önlemleri ve kolonize ve enfekte hastalarla ilgili hastane içi ve arasındaki iletişim hakkında eğitim verilmesiKarbapenemaz enzimlerinin alt türlerini ve aktarımını tespit etmek, salgın analizlerinde moleküler yöntemlerin (PFGE, MLST vd. ) kullanılmasının desteklenmesi ve alt yapı eksiklerinin tamamlanması, hastane enfeksiyonlarını önlemeye yönelik çalışmalar için ek bütçelerin oluşturulması başlıca önerilerimizin arasında bulunmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] P. Nordmann, L. Dortet, and L. Poirel, “Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!,” *Trends Mol. Med.*, vol. 18, no. 5, pp. 263–272, May 2012.
- [2] D. Yahav, A. Lador, M. Paul, and L. Leibovici, “Efficacy and safety of tigecycline: a systematic review and meta-analysis,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, no. 9, pp. 1963–1971, Sep. 2011.
- [3] M. E. Falagas, D. E. Karageorgopoulos, and P. Nordmann, “Therapeutic options for infections with Enterobacteriaceae producing carbapenem-hydrolyzing enzymes,” *Future Microbiol.*, vol. 6, no. 6, pp. 653–666, Jun. 2011.
- [4] R. Nijhuis, O. Samuelsen, P. Savelkoul, and A. van Zwet, “Evaluation of a new real-time PCR assay (Check-Direct CPE) for rapid detection of KPC, OXA-48, VIM, and NDM carbapenemases using spiked rectal swabs,” *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 77, no. 4, pp. 316–320, Dec. 2013.
- [5] M. J. Schwaber, S. Klarfeld-Lidji, S. Navon-Venezia, D. Schwartz, A. Leavitt, and Y. Carmeli, “Predictors of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Acquisition among Hospitalized Adults and Effect of Acquisition on Mortality,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, no. 3, pp. 1028–1033, Mar. 2008.
- [6] P. Nordmann, T. Naas, and L. Poirel, “Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*,” *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, no. 10, pp. 1791–1798, Oct. 2011.
- [7] Z. Aktas, C. Bal, K. Midilli, L. Poirel, and P. Nordmann, “First IMP-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolate in Turkey,” *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 12, no. 7, pp. 695–696, Jul. 2006.
- [8] A. P. Zavascki, C. G. Carvalhaes, R. C. Picão, and A. C. Gales, “Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy,” *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, vol. 8, no. 1, pp. 71–93, Jan. 2010.
- [9] R. Podschun and U. Ullmann, “*Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 11, no. 4, pp. 589–603, Oct. 1998.

- [10] G. L. Mandell, R. G. Douglas, and J. E. Bennett, Eds., *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, 6.-8. . Philadelphia, Pa: Elsevier, 2005.
- [11] M. C. Glen, *Hospital Epidemiology and Infection Control*, 3rd Edition. .
- [12] T. A. Russo and J. R. Johnson, "Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC," *J. Infect. Dis.*, vol. 181, no. 5, pp. 1753–1754, May 2000.
- [13] R. Hare, "New light on the history of penicillin.," *Med. Hist.*, vol. 26, no. 1, pp. 1–24, Jan. 1982.
- [14] K. Bush and P. A. Bradford, "β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors: An Overview," *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 6, no. 8, p. a025247, Aug. 2016.
- [15] M. Adler, "Mechanisms and Dynamics of Carbapenem Resistance in *Escherichia coli*," 2014.
- [16] "An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin: Abstract: Nature." [Online]. Available: <http://www.nature.com/nature/journal/v146/n3713/abs/146837a0.html>. [Accessed: 11-Aug-2016].
- [17] W. M. Kirby, "EXTRACTION OF A HIGHLY POTENT PENICILLIN INACTIVATOR FROM PENICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCI," *Science*, vol. 99, no. 2579, pp. 452–453, Jun. 1944.
- [18] J. M. Barnes, "Penicillin and *B. anthracis*," *J. Pathol. Bacteriol.*, vol. 59, no. 1–2, pp. 113–125, Jan. 1947.
- [19] A. A. Medeiros, "Evolution and Dissemination of β-Lactamases Accelerated by Generations of β-Lactam Antibiotics," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 24, no. Supplement 1, pp. S19–S45, Jan. 1997.
- [20] C. H. O'Callaghan, R. B. Sykes, A. Griffiths, and J. E. Thornton, "Cefuroxime, a new cephalosporin antibiotic: activity in vitro," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 9, no. 3, pp. 511–519, Mar. 1976.
- [21] R. Heymès, A. Lutz, and E. Schrinner, "Experimental evaluation of HR756, a new cephalosporin derivative: pre-clinical study," *Infection*, vol. 5, no. 4, pp. 259–260, 1977.



- [22] C. H. O'Callaghan, P. Acred, P. B. Harper, D. M. Ryan, S. M. Kirby, and S. M. Harding, "GR 20263, a new broad-spectrum cephalosporin with anti-pseudomonal activity.," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 17, no. 5, pp. 876–883, May 1980.
- [23] K. M. Papp-Wallace, A. Endimiani, M. A. Taracila, and R. A. Bonomo, "Carbapenems: past, present, and future," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, no. 11, pp. 4943–4960, Nov. 2011.
- [24] A. G. Brown *et al.*, "Naturally-occurring beta-lactamase inhibitors with antibacterial activity," *J. Antibiot. (Tokyo)*, vol. 29, no. 6, pp. 668–669, Jun. 1976.
- [25] K. Bush and G. A. Jacoby, "Updated functional classification of beta-lactamases," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, no. 3, pp. 969–976, Mar. 2010.
- [26] J. S. Kahan *et al.*, "Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties," *J. Antibiot. (Tokyo)*, vol. 32, no. 1, pp. 1–12, Jan. 1979.
- [27] A. C. Rodloff, E. J. C. Goldstein, and A. Torres, "Two decades of imipenem therapy," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 58, no. 5, pp. 916–929, Nov. 2006.
- [28] T. Hashizume, F. Ishino, J. Nakagawa, S. Tamaki, and M. Matsushashi, "Studies on the mechanism of action of imipenem (N-formimidoylthienamycin) in vitro: binding to the penicillin-binding proteins (PBPs) in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and inhibition of enzyme activities due to the PBPs in *E. coli*," *J. Antibiot. (Tokyo)*, vol. 37, no. 4, pp. 394–400, Apr. 1984.
- [29] K. L. Goa and S. Noble, "Panipenem/betamipron," *Drugs*, vol. 63, no. 9, p. 913–925; discussion 926, 2003.
- [30] J. H. Jorgensen, L. A. Maher, and A. W. Howell, "Activity of meropenem against antibiotic-resistant or infrequently encountered gram-negative bacilli.," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 35, no. 11, pp. 2410–2414, Nov. 1991.
- [31] R. Dagan, L. Velghe, J. L. Rodda, and K. P. Klugman, "Penetration of meropenem into the cerebrospinal fluid of patients with inflamed meninges," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 34, no. 1, pp. 175–179, Jul. 1994.
- [32] E. Riera *et al.*, "Pseudomonas aeruginosa carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, no. 9, pp. 2022–2027, Sep. 2011.
- [33] J. R. Edwards, "Meropenem: a microbiological overview," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 36, no. suppl A, pp. 1–17, Jul. 1995.

- [34] D. M. Livermore, A. M. Sefton, and G. M. Scott, "Properties and potential of ertapenem," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 52, no. 3, pp. 331–344, Sep. 2003.
- [35] D. L. Paterson and D. D. DePestel, "Doripenem," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 49, no. 2, pp. 291–298, Jul. 2009.
- [36] T. A. Davies, W. Shang, K. Bush, and R. K. Flamm, "Affinity of Doripenem and Comparators to Penicillin-Binding Proteins in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, no. 4, pp. 1510–1512, Apr. 2008.
- [37] X. Wang *et al.*, "Biapenem versus meropenem in the treatment of bacterial infections: a multicenter, randomized, controlled clinical trial," *Indian J. Med. Res.*, vol. 138, no. 6, pp. 995–1002, Dec. 2013.
- [38] C. M. Perry and T. Ibbotson, "Biapenem," *Drugs*, vol. 62, no. 15, p. 2221–2234; discussion 2235, 2002.
- [39] J. M. T. Hamilton-Miller, "Chemical and microbiologic aspects of penems, a distinct class of beta-lactams: focus on faropenem," *Pharmacotherapy*, vol. 23, no. 11, pp. 1497–1507, Nov. 2003.
- [40] J.-M. Rodríguez-Martínez, L. Poirel, and P. Nordmann, "Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, no. 11, pp. 4783–4788, Nov. 2009.
- [41] X. Z. Li, L. Zhang, and K. Poole, "Interplay between the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system and the outer membrane barrier in the multiple antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 45, no. 4, pp. 433–436, Apr. 2000.
- [42] A. Mena *et al.*, "Characterization of a large outbreak by CTX-M-1-producing *Klebsiella pneumoniae* and mechanisms leading to in vivo carbapenem resistance development," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 8, pp. 2831–2837, Aug. 2006.
- [43] Y. Katayama, H.-Z. Zhang, and H. F. Chambers, "PBP 2a Mutations Producing Very-High-Level Resistance to Beta-Lactams," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 2, pp. 453–459, Feb. 2004.
- [44] T. Koga, C. Sugihara, M. Kakuta, N. Masuda, E. Namba, and T. Fukuoka, "Affinity of Tomopenem (CS-023) for Penicillin-Binding Proteins in *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, no. 3, pp. 1238–1241, Mar. 2009.

- [45] A. Matsumoto, M. Hosoya, Y. Kawasaki, M. Katayose, K. Kato, and H. Suzuki, "The emergence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* and host risk factors for carriage of drug-resistant genes in northeastern Japan," *Jpn. J. Infect. Dis.*, vol. 60, no. 1, pp. 10–13, Feb. 2007.
- [46] P. Nordmann *et al.*, "Comparative activity of carbapenem testing: the COMPACT study," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, no. 5, pp. 1070–1078, May 2011.
- [47] J. P. Pearson, C. Van Delden, and B. H. Iglewski, "Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals," *J. Bacteriol.*, vol. 181, no. 4, pp. 1203–1210, Feb. 1999.
- [48] D. W. Wareham and D. C. Bean, "In-vitro activity of polymyxin B in combination with imipenem, rifampicin and azithromycin versus multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemases," *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 5, p. 10, Apr. 2006.
- [49] C. G. Giske, L. Buarø, A. Sundsfjord, and B. Wretling, "Alterations of porin, pumps, and penicillin-binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*," *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 14, no. 1, pp. 23–30, Mar. 2008.
- [50] X. Z. Li, H. Nikaido, and K. Poole, "Role of mexA-mexB-oprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, no. 9, pp. 1948–1953, Sep. 1995.
- [51] S. Mushtaq, Y. Ge, and D. M. Livermore, "Doripenem versus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro: activity against characterized isolates, mutants, and transconjugants and resistance selection potential," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 8, pp. 3086–3092, Aug. 2004.
- [52] T. Köhler, M. Michea-Hamzehpour, S. F. Epp, and J.-C. Pechere, "Carbapenem Activities against *Pseudomonas aeruginosa*: Respective Contributions of OprD and Efflux Systems," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, no. 2, pp. 424–427, Feb. 1999.
- [53] Y. Sumita and M. Fukasawa, "Meropenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*," *Chemotherapy*, vol. 42, no. 1, pp. 47–56, Feb. 1996.
- [54] R. P. Ambler, "The structure of beta-lactamases," *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, vol. 289, no. 1036, pp. 321–331, May 1980.

- [55] M. S. Wilke, A. L. Lovering, and N. C. Strynadka, "β-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective," *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 8, no. 5, pp. 525–533, Ekim 2005.
- [56] G. Zilahi, A. Artigas, and I. Martin-Loeches, "What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU?," *Ann. Intensive Care*, vol. 6, no. 1, p. 96, Dec. 2016.
- [57] E. Osano *et al.*, "Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance.," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 38, no. 1, pp. 71–78, Jan. 1994.
- [58] L. Lauretti *et al.*, "Cloning and Characterization of blaVIM, a New Integron-Borne Metallo-β-Lactamase Gene from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, no. 7, pp. 1584–1590, Jul. 1999.
- [59] B. A. Rasmussen *et al.*, "Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, no. 9, pp. 2080–2086, Sep. 1996.
- [60] H. Yigit *et al.*, "Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, no. 4, pp. 1151–1161, Apr. 2001.
- [61] A. M. Queenan and K. Bush, "Carbapenemases: the versatile beta-lactamases," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 20, no. 3, p. 440–458, table of contents, Jul. 2007.
- [62] P. Nordmann, G. Cuzon, and T. Naas, "The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria," *Lancet Infect. Dis.*, vol. 9, no. 4, pp. 228–236, Apr. 2009.
- [63] S. Navon-Venezia *et al.*, "First Report on a Hyperepidemic Clone of KPC-3-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel Genetically Related to a Strain Causing Outbreaks in the United States," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, no. 2, pp. 818–820, Feb. 2009.
- [64] G. Cuzon *et al.*, "Worldwide Diversity of *Klebsiella pneumoniae* That Produce β-Lactamase blaKPC-2 Gene," *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 16, no. 9, pp. 1349–1356, Sep. 2010.
- [65] T. R. Walsh, M. A. Toleman, L. Poirel, and P. Nordmann, "Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm?," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 18, no. 2, pp. 306–325, Apr. 2005.

- [66] P. Nordmann, L. Poirel, M. A. Toleman, and T. R. Walsh, "Does broad-spectrum  $\beta$ -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, no. 4, pp. 689–692, Apr. 2011.
- [67] C. M. June, B. C. Vallier, R. A. Bonomo, D. A. Leonard, and R. A. Powers, "Structural origins of oxacillinase specificity in class D  $\beta$ -lactamases," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 58, no. 1, pp. 333–341, 2014.
- [68] R. W. Hedges, N. Datta, P. Kontomichalou, and J. T. Smith, "Molecular Specificities of R Factor-Determined Beta-Lactamases: Correlation with Plasmid Compatibility," *J. Bacteriol.*, vol. 117, no. 1, pp. 56–62, Jan. 1974.
- [69] N. Mathlouthi *et al.*, "Emergence of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates Collected from Some Libyan Hospitals," *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 21, no. 3, pp. 335–341, Jun. 2015.
- [70] S. M. Drawz and R. A. Bonomo, "Three decades of beta-lactamase inhibitors," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 23, no. 1, pp. 160–201, Jan. 2010.
- [71] J.-D. Docquier *et al.*, "Crystal structure of the OXA-48 beta-lactamase reveals mechanistic diversity among class D carbapenemases," *Chem. Biol.*, vol. 16, no. 5, pp. 540–547, May 2009.
- [72] L. Poirel, A. Potron, and P. Nordmann, "OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 7, pp. 1597–1606, Jul. 2012.
- [73] S. Oueslati, P. Nordmann, and L. Poirel, "Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like -lactamases," *J. Antimicrob. Chemother.*, Jan. 2015.
- [74] L. Dortet, S. Oueslati, K. Jeannot, D. Tandé, T. Naas, and P. Nordmann, "Genetic and biochemical characterization of OXA-405, an OXA-48-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase without significant carbapenemase activity," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, no. 7, pp. 3823–3828, Jul. 2015.
- [75] M. Shanthi, U. Sekar, A. K., and H. G. Bramhne, "OXA-181 Beta Lactamase is not a Major Mediator of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae," *J. Clin. Diagn. Res. JCDR*, vol. 7, no. 9, pp. 1986–1988, Sep. 2013.
- [76] A. Kilic *et al.*, "Identification and characterization of OXA-48 producing, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Turkey," *Ann. Clin. Lab. Sci.*, vol. 41, no. 2, pp. 161–166, 2011.

- [77] Z. Aktaş, C. B. Kayacan, I. Schneider, B. Can, K. Midilli, and A. Bauernfeind, “Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48, persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey,” *Chemotherapy*, vol. 54, no. 2, pp. 101–106, 2008.
- [78] Z. Aktaş, C. B. Kayacan, I. Schneider, B. Can, K. Midilli, and A. Bauernfeind, “Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinase, OXA-48, Persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey,” *Chemotherapy*, vol. 54, no. 2, pp. 101–106, 2008.
- [79] B. Albiger, C. Glasner, M. J. Struelens, H. Grundmann, D. L. Monnet, and the European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group, “Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015,” *Eurosurveillance*, vol. 20, no. 45, Nov. 2015.
- [80] A. Çakar *et al.*, “[Investigation of carbapenemases in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2014 in Turkey],” *Mikrobiyol. Bul.*, vol. 50, no. 1, pp. 21–33, Jan. 2016.
- [81] E. C. for D. P. and C. (ECDC)-H. C. U.-E. editorial team, “ECDC’s latest publications,” 06-Apr-2015. [Online]. Available: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21143>. [Accessed: 02-Sep-2016].
- [82] L. Poirel, C. Héritier, V. Tolün, and P. Nordmann, “Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, no. 1, pp. 15–22, Jan. 2004.
- [83] L. M. Deshpande, R. N. Jones, T. R. Fritsche, and H. S. Sader, “Occurrence and characterization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004),” *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 12, no. 4, pp. 223–230, 2006.
- [84] L. Poirel, M. Ozdamar, A. A. Ocampo-Sosa, S. Turkoglu, U. G. Ozer, and P. Nordmann, “NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Now in Turkey,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, no. 5, pp. 2784–2785, May 2012.
- [85] E. Alp *et al.*, “Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary university hospital in Turkey,” *J. Hosp. Infect.*, vol. 84, no. 2, pp. 178–180, Jun. 2013.

- [86] R. N. Jones, M. Flonta, N. Gurler, M. Cepparulo, R. E. Mendes, and M. Castanheira, "Resistance surveillance program report for selected European nations (2011)," *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 78, no. 4, pp. 429–436, Apr. 2014.
- [87] I. I. Balkan *et al.*, "Blood stream infections due to OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: treatment and survival," *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.*, vol. 26, pp. 51–56, Sep. 2014.
- [88] "EUCAST: Clinical breakpoints." [Online]. Available: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). [Accessed: 21-Aug-2017].
- [89] "Broth Microdilution MIC Test," *Clin. Microbiol. Proced. Handb. 3rd Ed.*, pp. 25–41, Jan. 2010.
- [90] A. Tsakris *et al.*, "A simple phenotypic method for the differentiation of metallo- $\beta$ -lactamases and class A KPC carbapenemases in Enterobacteriaceae clinical isolates," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, no. 8, pp. 1664–1671, Aug. 2010.
- [91] A. Bartolini, I. Frasson, A. Cavallaro, S. N. Richter, and G. Palù, "Comparison of phenotypic methods for the detection of carbapenem non-susceptible Enterobacteriaceae," *Gut Pathog.*, vol. 6, p. 13, May 2014.
- [92] K. van der Zwaluw, 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*, vol. 10, no. 3, p. e0123690, 2015.
- [93] A. Amjad, I. Mirza, S. Abbasi, U. Farwa, N. Malik, and F. Zia, "Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production," *Iran. J. Microbiol.*, vol. 3, no. 4, pp. 189–193, Dec. 2011.
- [94] J. Pires, A. Novais, and L. Peixe, "Blue-Carba, an Easy Biochemical Test for Detection of Diverse Carbapenemase Producers Directly from Bacterial Cultures," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 51, no. 12, pp. 4281–4283, Dec. 2013.
- [95] J. Monteiro, R. H. Widen, A. C. C. Pignatari, C. Kubasek, and S. Silbert, "Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 4, pp. 906–909, Apr. 2012.
- [96] A. van der Zee *et al.*, "Multi-centre evaluation of real-time multiplex PCR for detection of carbapenemase genes OXA-48, VIM, IMP, NDM and KPC," *BMC Infect. Dis.*, vol. 14, p. 27, 2014.

- [97] L. Poirel, T. R. Walsh, V. Cuvillier, and P. Nordmann, "Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes," *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 70, no. 1, pp. 119–123, May 2011.
- [98] P. Hemarajata, S. Yang, J. A. Hindler, and R. M. Humphries, "Development of a novel real-time PCR assay with high-resolution melt analysis to detect and differentiate OXA-48-Like  $\beta$ -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, no. 9, pp. 5574–5580, Sep. 2015.
- [99] P. Mlynarcik, M. Roderova, and M. Kolar, "Primer Evaluation for PCR and its Application for Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae," *Jundishapur J. Microbiol.*, vol. 9, no. 1, Jan. 2016.
- [100] E. O'Fallon, S. Gautam, and E. M. C. D'Agata, "Colonization with multidrug-resistant gram-negative bacteria: prolonged duration and frequent cocolonization," *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 48, no. 10, pp. 1375–1381, May 2009.
- [101] O'Neill J. Review on Antimicrobial Resistance Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. London: Review on Antimicrobial Resistance. 2014. Available from: [https:// amr-review.org/sites/PDF](https://amr-review.org/sites/PDF).
- [102] R. M. Zurawski, "Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Occult Threat in the Intensive Care Unit," *Crit. Care Nurse*, vol. 34, no. 5, pp. 44–51, Oct. 2014.
- [103] Y. Dickstein, R. Edelman, T. Dror, K. Hussein, Y. Bar-Lavie, and M. Paul, "Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization and infection in critically ill patients: a retrospective matched cohort comparison with non-carriers," *J. Hosp. Infect.*, vol. 94, no. 1, pp. 54–59, Sep. 2016.
- [104] E. Tacconelli *et al.*, "ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients," *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 20 Suppl 1, pp. 1–55, Jan. 2014.
- [105] , Cumhuri Özman, Serap Şimşek Yavuz, Seniha Başaran, Atahan Çağatay, Oral Öncül, Halit Özsüt, Haluk Eraksoy. "Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarında Karbapeneme Dirençli Enterobacteriaceae ile Dışkı Kolonizasyonu ve Kolonize Hastalarda Enfeksiyon Gelişmesine Etki Eden Risk Faktörlerinin Tanımlanması". KLİMİK 2018, Antalya, sayfa 344, poster 103).



- [106] A. Tsakris, I. Kristo, A. Poulou, F. Markou, A. Ikonomidis, and S. Pournaras, "First occurrence of KPC-2-possessing *Klebsiella pneumoniae* in a Greek hospital and recommendation for detection with boronic acid disc tests," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 62, no. 6, pp. 1257–1260, Dec. 2008.
- [107] F. Pasteran, T. Mendez, L. Guerriero, M. Rapoport, and A. Corso, "Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 47, no. 6, pp. 1631–1639, Jun. 2009.
- [108] S. Pournaras, A. Poulou, and A. Tsakris, "Inhibitor-based methods for the detection of KPC carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in clinical practice by using boronic acid compounds," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, no. 7, pp. 1319–1321, Jul. 2010.
- [109] "Combined disc methods for the detection of KPC- and/or VIM-positive *Klebsiella pneumoniae*: improving reliability for the double carbapenemase produ... - PubMed - NCBI." [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23627340>. [Accessed: 27-Jan-2018].
- [110] N. Woodford, R. Pike, D. Meunier, R. Loy, R. Hill, and K. L. Hopkins, "In vitro activity of temocillin against multidrug-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp., and evaluation of high-level temocillin resistance as a diagnostic marker for OXA-48 carbapenemase," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 69, no. 2, pp. 564–567, Feb. 2014.
- [111] K. van Dijk *et al.*, "A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid and temocillin," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 20, no. 4, pp. 345–349, Apr. 2014.
- [112] Y. Takayama, Y. Adachi, S. Nihonyanagi, and R. Okamoto, "Modified Hodge test using Mueller-Hinton agar supplemented with cloxacillin improves screening for carbapenemase-producing clinical isolates of Enterobacteriaceae," *J. Med. Microbiol.*, vol. 64, no. 7, pp. 774–777, Jul. 2015.
- [113] C. G. Carvalhaes, R. C. Picão, A. G. Nicoletti, D. E. Xavier, and A. C. Gales, "Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, no. 2, pp. 249–251, Feb. 2010.

- [114] “Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae.” [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3264163/>. [Accessed: 27-Jan-2018].
- [115] L. Dortet, L. Brécard, L. Poirel, and P. Nordmann, “Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from blood cultures,” *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 20, no. 4, pp. 340–344, Apr. 2014.
- [116] J. Pires, R. Tinguely, B. Thomas, F. Luzzaro, and A. Endimiani, “Comparison of the in-house made Carba-NP and Blue-Carba tests: Considerations for better detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae,” *J. Microbiol. Methods*, vol. 122, pp. 33–37, Mar. 2016.
- [117] “Evaluation of the Recently Launched Rapid Carb Blue Kit for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria.” [Online]. Available: <http://jcm.asm.org/content/53/9/3105.full>. [Accessed: 27-Jan-2018].
- [118] N. Tijet, 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.*, vol. 71, no. 1, pp. 274–276, Jan. 2016.
- [119] M. A. Kuskucu, A. Karakullukcu, M. Ailiken, B. Otlu, B. Mete, and G. Aygun, “Investigation of carbapenem resistance and the first identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzyme among *Escherichia coli* isolates in Turkey: A prospective study,” *Travel Med. Infect. Dis.*, vol. 14, no. 6, pp. 572–576, Dec. 2016.
- [120] A. Carrër, L. Poirel, H. Eraksoy, A. A. Cagatay, S. Badur, and P. Nordmann, “Spread of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Istanbul, Turkey,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, no. 8, pp. 2950–2954, Aug. 2008.
- [121] H. Nazic, L. Poirel, and P. Nordmann, “Further Identification of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinant in Enterobacteriaceae in Turkey,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, no. 5, pp. 2146–2147, May 2005.
- [122] D. Gülmez *et al.*, “Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 31, no. 6, pp. 523–526, Jun. 2008.

- [123] L. Poirel, M. Özdamar, A. A. Ocampo-Sosa, S. Türkoglu, U. G. Ozer, and P. Nordmann, “NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Now in Turkey,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, no. 5, pp. 2784–2785, May 2012.
- [124] Z. Cizmeci, E. Aktas, B. Otlu, O. Acikgoz, and S. Ordekci, “Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae yields increasing rates of NDM-1 carbapenemases and colistin resistance in an OXA-48- endemic area,” *J. Chemother. Florence Italy*, vol. 29, no. 6, pp. 344–350, Dec. 2017.
- [125] A. Mairi, A. Pantel, A. Sotto, J.-P. Lavigne, and A. Touati, “OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 37, no. 4, pp. 587–604, Apr. 2018.
- [126] M. Tato *et al.*, “Multisite Evaluation of Cepheid Xpert Carba-R Assay for Detection of Carbapenemase-Producing Organisms in Rectal Swabs,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 54, no. 7, pp. 1814–1819, 2016.
- [127] V. Pérez-Blanco *et al.*, “Epidemiology and control measures of an OXA-48-producing Enterobacteriaceae hospital-wide oligoclonal outbreak,” *Epidemiol. Infect.*, vol. 146, no. 5, pp. 656–662, Apr. 2018.
- [128] W. Laolerd, Y. Akeda, L. Preeyanon, P. Rathawongjirakul, and P. Santanirand, “Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Bangkok, Thailand, and Their Detection by the Carba NP and Modified Carbapenem Inactivation Method Tests,” *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, May 2018.
- [129] P. Rezaei-Hachesu *et al.*, “The design and evaluation of an antimicrobial resistance surveillance system for neonatal intensive care units in Iran,” *Int. J. Med. Inf.*, vol. 115, pp. 24–34, Jul. 2018.
- [130] E. Maamar *et al.*, “High Prevalence of Gut Microbiota Colonization with Broad-Spectrum Cephalosporin Resistant Enterobacteriaceae in a Tunisian Intensive Care Unit,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, Nov. 2016.
- [131] M. Lund, M. B. Petersen, A. L. Jørgensen, D. Paulmann, and M. Wang, “Rapid real-time PCR for the detection of IMP, NDM, VIM, KPC and OXA-48 carbapenemase genes in isolates and spiked stool samples,” *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, Apr. 2018.
- [132] A. F. Lau, G. A. Fahle, M. A. Kemp, A. N. Jassem, J. P. Dekker, and K. M. Frank, “Clinical Performance of Check-Direct CPE, a Multiplex PCR for Direct

Detection of bla(KPC), bla(NDM) and/or bla(VIM), and bla(OXA)-48 from Perirectal Swabs,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, no. 12, pp. 3729–3737, Dec. 2015.

[133] T.-D. Huang *et al.*, “Multicentre evaluation of the Check-Direct CPE® assay for direct screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from rectal swabs,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, no. 6, pp. 1669–1673, 2015.

[134] D. Souverein *et al.*, “Clinical sensitivity and specificity of the Check-Points Check-Direct ESBL Screen for BD MAX, a real-time PCR for direct ESBL detection from rectal swabs,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 72, no. 9, pp. 2512–2518, Sep. 2017.

[135] S. Rösner *et al.*, “Comparison of two commercial carbapenemase gene confirmatory assays in multiresistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii-complex,” *PloS One*, vol. 13, no. 5, p. e0197839, 2018.

[136] M. Smiljanic, M. Kaase, P. Ahmad-Nejad, and B. Ghebremedhin, “Comparison of in-house and commercial real time-PCR based carbapenemase gene detection methods in Enterobacteriaceae and non-fermenting gram-negative bacterial isolates,” *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 16, no. 1, p. 48, Jul. 2017.

[137] J. Findlay, K. L. Hopkins, D. Meunier, and N. Woodford, “Evaluation of three commercial assays for rapid detection of genes encoding clinically relevant carbapenemases in cultured bacteria,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, no. 5, pp. 1338–1342, May 2015.

[138] D. Haciseyitoglu *et al.*, “The First Enterobacter cloacae Co-Producing NDM and OXA-48 Carbapenemases and Interhospital Spread of OXA-48 and NDM-Producing Klebsiella pneumoniae in Turkey,” *Clin. Lab.*, vol. 63, no. 7, pp. 1213–1222, Jul. 2017.

[139] Elif Sargın Altunok, Meltem Erpek, Leman Karacaoğlu, Firdevs Erdemir “Yoğun Bakım Ünitelerinde Gelişen Hastane Enfeksiyonlarının ve Etken Mikroorganizma Dağılımlarının Değerlendirilmesi (2015-2017)”. KLİMİK 2018, Antalya, sayfa 431, poster 195).

[140] S. Budak *et al.*, “The determination of carbapenem resistance in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates related to nosocomial infections and the evaluation of risk factors,” *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, no. 45, p. 113, 2014.

[141] T. H. McConville, S. B. Sullivan, A. Gomez-Simmonds, S. Whittier, and A.-C. Uhlemann, “Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization (CRE) and

subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study,” *PloS One*, vol. 12, no. 10, p. e0186195, 2017.

[142] M. Swaminathan *et al.*, “Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the setting of endemicity,” *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 34, no. 8, pp. 809–817, Aug. 2013.

[143] “İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi 2016;79(2),” *Issuu*. [Online]. Available: [https://issuu.com/itfdergisi/docs/itfd\\_2016\\_79\\_2](https://issuu.com/itfdergisi/docs/itfd_2016_79_2). [Accessed: 02-May-2018].

[144] H. Guducuoglu *et al.*, “Hospital Outbreak of a Colistin-Resistant, NDM-1- and OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae*: High Mortality from Pandrug Resistance,” *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, Dec. 2017.

[145] G. Mittal *et al.*, “Risk factors for fecal carriage of carbapenemase producing Enterobacteriaceae among intensive care unit patients from a tertiary care center in India,” *BMC Microbiol.*, vol. 16, Jul. 2016.

[146] H. Solgi *et al.*, “Molecular characterization of intestinal carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae among inpatients at two Iranian university hospitals: first report of co-production of bla NDM-7 and bla OXA-48,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 36, no. 11, pp. 2127–2135, Nov. 2017.

[147] L. Dortet, G. Cuzon, and P. Nordmann, “Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France, 2012,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 69, no. 3, pp. 623–627, Mar. 2014.

[148] A. Baraniak *et al.*, “NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012-14: inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 71, no. 1, pp. 85–91, Jan. 2016.

[149] C. Lübbert *et al.*, “Environmental pollution with antimicrobial agents from bulk drug manufacturing industries in Hyderabad, South India, is associated with dissemination of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing pathogens,” *Infection*, vol. 45, no. 4, pp. 479–491, Aug. 2017.

[150] A. Adler *et al.*, “Persistence of *Klebsiella pneumoniae* ST258 as the predominant clone of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in post-acute-care hospitals in Israel, 2008-13,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, no. 1, pp. 89–92, Jan. 2015.



## ETİK KURUL KARARI



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 1852

Tarih : 09.12.2014

Konu : Doç.Dr.Zerrin AKTAŞ

Sayın Doç.Dr.Zerrin AKTAŞ  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi :Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 25/11/2014 gün ve 1121 yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Ayham ABULALÂ'nın yürüteceği 2014/1816 dosya numaralı "Gram Negatif Çomaklarda Karbapenamazların Moleküler Yöntemlerle Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 28/11/2014 tarih ve 20 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN  
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

|                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                        |                   |                                                                                                              |  |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>"Gram Negatif Çomaklarda Karbapenamazların Moleküler Yöntemlerle Araştırılması"</b> |                   |                                                                                                              |  |
| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER       | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Tarihi                                                                                 | Versiyon Numarası | Dili                                                                                                         |  |
|                                | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                        |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |  |
|                                | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <input checked="" type="checkbox"/>                                                    |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |  |
|                                | OLGU RAPOR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>                                                               |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>            |  |
|                                | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <input type="checkbox"/>                                                               |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>            |  |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <input type="checkbox"/>                                                               | Açıklama          |                                                                                                              |  |
|                                | TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | SİGORTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <input checked="" type="checkbox"/>                                                    |                   |                                                                                                              |  |
|                                | BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | İLAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | YILLIK BİLDİRİM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | SONUÇ RAPORU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
|                                | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <input type="checkbox"/>                                                               |                   |                                                                                                              |  |
| KARAR BİLGİLERİ                | Karar No:20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Tarih: 28/11/2014                                                                      |                   |                                                                                                              |  |
|                                | İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı görevli <b>Doç.Dr.Zerrin AKTAŞ</b> 'ın sorumluluğunda ve Ayham ABULAILA'nın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. |                                                                                        |                   |                                                                                                              |  |

| İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU |                                   |                                                       |                                                                  |                                                                                                      |                                                                  |                                                                  |                                                                  |        |  |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------|--|
| ÇALIŞMA ESASI                                           |                                   |                                                       |                                                                  | 19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik |                                                                  |                                                                  |                                                                  |        |  |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:                         |                                   |                                                       |                                                                  | Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN                                                                            |                                                                  |                                                                  |                                                                  |        |  |
| Unvanı/Adı/Soyadı                                       | Uzmanlık Alanı                    | Kurumu                                                | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişkisi *                                                                             |                                                                  | Katılım **                                                       |                                                                  | İmza   |  |
| Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN                               | Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)           | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>                                     | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | İZİNLI |  |
| Prof. Dr. Berrin UMMAN                                  | Kardiyoloji                       | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı) | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>                                     | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |        |  |
| Prof. Dr. Ahmet GÜL                                     | Romatoloji                        | İstanbul Tıp Fakültesi                                | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>                                     | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | İZİNLI |  |
| Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN                                 | Nöroloji                          | İstanbul Tıp Fakültesi                                | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>                                     | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |        |  |
| Dr. Sevdâ ÖZEL                                          | Biyoistatistik                    | İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik            | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>                                     | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | İZİNLI |  |

\* :Araştırma ile ilişkisi  
 \*\* :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.



## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

|                         |                  |                                                                              |
|-------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| ETİK KURUL<br>BİLGİLERİ | ETİK KURULUN ADI | İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ<br>KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU                   |
|                         | AÇIK ADRESİ:     | İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET<br>KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL |
|                         | TELEFON          | 0 (212) 414 21 53                                                            |
|                         | FAKS             | 0 (212) 414 21 53                                                            |
|                         | E-POSTA          | itfetikkurul@istanbul.edu.tr.                                                |

BAŞVURU BİLGİLERİ

|                                                     |                                                                                        |                                          |                                               |                                           |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                               | <b>"Gram Negatif Çomaklarda Karbapenamazların Moleküler Yöntemlerle Araştırılması"</b> |                                          |                                               |                                           |
| ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU                             | ---                                                                                    |                                          |                                               |                                           |
| KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI   | <b>Doç.Dr.Zerrin AKTAŞ</b>                                                             |                                          |                                               |                                           |
| KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI   | <b>Tıbbi Mikrobiyoloji</b>                                                             |                                          |                                               |                                           |
| KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | <b>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı</b>  |                                          |                                               |                                           |
| DESTEKLEYİCİ                                        | <b>İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi</b>                              |                                          |                                               |                                           |
| DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ                    | ---                                                                                    |                                          |                                               |                                           |
| ARAŞTIRMANIN FAZİ                                   | FAZ 1                                                                                  | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
|                                                     | FAZ 2                                                                                  | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
|                                                     | FAZ 3                                                                                  | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
|                                                     | FAZ 4                                                                                  | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
| ARAŞTIRMANIN TÜRÜ                                   | Yeni Bir Endikasyon                                                                    | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
|                                                     | Yüksek Doz Araştırması                                                                 | <input type="checkbox"/>                 |                                               |                                           |
|                                                     | Diğer ise belirtiniz :                                                                 |                                          |                                               |                                           |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER                       | TEK MERKEZ<br><input checked="" type="checkbox"/>                                      | ÇOK MERKEZLİ<br><input type="checkbox"/> | ULUSAL<br><input checked="" type="checkbox"/> | ULUSLAR ARASI<br><input type="checkbox"/> |

## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### GRAM NEGATİF ÇOMAKLARDA KARBAPENAMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%6

BENZERLİK ENDEKSİ

%4

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%5

YAYINLAR

%1

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

KILIÇ, Ümit, DEMİRAY, Tayfur and ALTINDIŞ, Mustafa. "KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE İZOLATLARININ SAPTANMASINDA FENOTİPİK VE GENOTİPİK METOTLAR", Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği, 2016.

Yayın

%1

ÇAKAR, Aslı, AKYÖN, Yakut, GÜR, Deniz,

2

%1

KARATUNA, Onur, ÖĞÜNÇ, Dilara, BAYSAN ÖZHAK, Betil, ÇÖPLÜ, Nilay, ÇAĞATAY, Mustafa, KILIÇ, Abdullah, BAYSALLAR, Mehmet, BAKICI, Zahir, ÇELİK, Cem, GÜLAY, Zeynep, AYDEMİR, Şöhret, TÜNGER, Alper, KILIÇ, Hüseyin, ERÇAL, Barış Derya, AŞÇI

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                              |                  |             |
|-----------------|------------------------------|------------------|-------------|
| <b>Adı</b>      | Ayham                        | <b>Soyadı</b>    | Abulaila    |
| <b>Doğ.Yeri</b> | Filistin-Gazze               | <b>Doğ.Tar.</b>  | 23/12/1982  |
| <b>Uyruğu</b>   | Filistinli                   | <b>TC Kim No</b> | 99379315174 |
| <b>Email</b>    | dr.ayhamabulaila@hotmail.com | <b>Tel</b>       | 05532819110 |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı                       | Mez. Yılı |
|-----------------|------------------------------------------------|-----------|
| <b>Doktora</b>  |                                                |           |
| <b>Yük.Lis.</b> |                                                |           |
| <b>Lisans</b>   | Tıp ve Cerrahi lisans, Sana'a Üniverity, Yemen | 2007      |
| <b>Lise</b>     | Filistin lise                                  | 2000      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|    | Görevi | Kurum                                               | Süre (Yıl - Yıl) |
|----|--------|-----------------------------------------------------|------------------|
| 1. |        | Asistan, Islamic university of Gaza, Tıp Fakültesi. | 2008-2011        |
| 2. |        | Genel Doktor, Alawda Hastanesi, Gazze               | 2007-2008        |
| 3. |        |                                                     | -                |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma*  | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|-----------------|-------------------|----------|---------|----------------|---------------|
| <b>Türkçe</b>   | TÖMER             | Çok iyi  | Çok iyi |                |               |
| İngilizce       | AMIDEAST          | Çok iyi  | Çok iyi |                |               |
| Arapça          | Anadil            | Çok iyi  | Çok iyi |                |               |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|----------------------|---------|--------------|-------|
| <b>LES Puanı</b>     |         |              |       |
| <b>(Diğer) Puanı</b> |         |              |       |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program              | Kullanma becerisi |
|----------------------|-------------------|
| Microsoft PowerPoint | Çok iyi           |

|                 |         |
|-----------------|---------|
| Microsoft Word  | Çok iyi |
| Microsoft Excel | Çok iyi |

## Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

### Yayınların Listesi:

#### Uluslararası yayınlar: SCI Expanded Kapsamındaki yayınlar

- 1- Haciseyitoglu D, Dokutan **A, Abulaila** A, Erdem F, Cag Y, Ozer S, Aktas Z. The First Enterobacter cloacae Co-Producing NDM and OXA-48 Carbapenemases and Interhospital Spread of OXA-48 and NDM-Producing Klebsiella pneumoniae in Turkey. Clin Lab. 2017 Jul 1;63(7):1213-1222. doi: 10.7754/Clin.Lab.2017.170120.
- 2- F. Erdem, **A. Abulaila**, Z. Aktas, O. Oncul. “Comparison of the Novel Oxa-48 and Kpc K-SeT Assay, and Blue-Carba Test for the Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Using PCR as a Reference Method” Clin. Lab.; 63:515-522. 2017.
- 3- M. Kapmaz, **A. Abulaila**, F. Erdem, E. Yeniaras, O. Oncul, and Z. Aktas, “First detection of NDM-1 with CTX-M-9, TEM, SHV and rmtC in Escherichia coli ST471 carrying IncI2, A/C and Y plasmids from clinical isolates in Turkey.” J. Glob. Antimicrob. Resist., vol. 7, pp. 152–153, Dec. 2016.

#### Uluslararası Posterler

- **A.bulaila**, F. Erdem, O. Oncul, Z. Aktas” Comparison of a novel OXA-48 K-SeT test and Blue-Carba test in detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae with using PCR as reference method” Event: ECCMID 2016. Amsterdam, the Netherlands. ePoster presentation EP0234.
- F. Erdem, **A. Abulaila**, Z. Aktas, M. Fevzi Ozsoy, O. Sahingoz, O. Oncul.” In vitro evaluation of double carbapenem and colistin combinations against OXA-48, NDM and KPC carbapenemase-producing colistin-resistant Klebsiella pneumoniae” Event: ECCMID 2016. Amsterdam, the Netherlands. ePoster EV0430.
- D. Haciseyitoglu, Aysegul Dokutan, **Ayham Abu Laila**, F. Erdem, Yasemin Cag, Serdar Ozer, Z. Aktas.(2015), The First Enterobacter cloacae Co-producing NDM and OXA-48 Carbapenemases and Interhospital Spread of OXA-48 and

NDM Producing *Klebsiella pneumoniae*, Istanbul, Turkey. Abstract (poster session) Session Number 161. ICAAC/ICC 2015. San Diego, California.

- Z. Aktas, C. Kayacan, **A. Abulaila**, M. Morosini, R. Cantûn, M. Diez-Aguilar. (2014), Time kill-assay of antibiotic combinations for multi resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* harbouring OXA-48 carbapenemase. Abstract (poster session) Antibacterial drug activity and interactions in Gram-negative bacteria. ECCMID, Barcelona, Spain.

#### Üyelik:

- ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases)
- ASM (American Society for Microbiology)
- BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy)
- TMC (Turkish society of microbiology)

#### Kurs ve Konferanslar:

- **ESCMID/ASM Conference** on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance, 21 - 23 September 2016, Vienna, Austria.
- **26th ECCMID 2016, 9 - 12 April 2016, Amsterdam, Netherlands**
- ESCMID Postgraduate Education Course "**Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Challenges and Preparedness**" Verona 24/25 September 2015
- The conference of infectious diseases (**İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı Ankara-2016**)
- **14th ESCMID Summer School** 4 – 11 July 2015, Istanbul, Turkey.
- From 6<sup>th</sup> Feb to 17<sup>th</sup> Feb 2010 a 18-hour training course in "**Statistical Package for the Social Sciences**" (SPSS) Held at the Islamic University of Gaza, Community Service & Continuing Education Deanship (CSCED)
- From 14<sup>th</sup> to 18<sup>th</sup> 2009 the "**Tow day Primary Trauma Care Course**" and "**One day Primary Trauma Care Instructors Course**" Held at Human Resource Development Department, Gaza city Taught by Primary Trauma Care Foundation (PCTF) team.
- From 13<sup>th</sup> Nov to 27<sup>th</sup> Nov 2008 24-hour training course in "**Preparation of Self Evaluation Document for Academic Programs**" Held at the Islamic University of Gaza, Community Service & Continuing Education Deanship (CSCED).

#### Kazanılan burslar

- The BSAC travel grant to attend ECCMID 2016.
- ESCMID attending grant for ESCMID/ASM Conference.
- ESCMID attending grant for ESCMID Postgraduate Education Course.
- ESCMID attending grant 14th ESCMID Summer School.

