



**T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI HASTANE
ENFEKSİYON KONTROLÜ DOKTORA PROGRAMI**

**VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ
OLGULARINDAKİ BAKTERİYEL PATOJENLER;
DİRENÇ PROFİLLERİNİN MOLEKÜLER
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Besim ÇAM

DOKTORA TEZİ

KIRŞEHİR-HAZİRAN/2025



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI HASTANE
ENFEKSİYON KONTROLÜ PROGRAMI

**VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ
OLGULARINDAKİ BAKTERİYEL PATOJENLER;
DİRENÇ PROFİLLERİNİN MOLEKÜLER
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Besim ÇAM

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Lokman HİZMALI

KIRŞEHİR-HAZİRAN/2025

KABUL VE ONAY

“Ventilatör İlişkili Pnömoni Olgularındaki Bakteriyel Patojenler; Direnç Profillerinin Moleküler Değerlendirilmesi” adlı bu çalışma 24/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hastane Enfeksiyonları Kontrolü Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr. Öğr. Üye. Lokman HİZMALI
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Elif SEVİM
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Mustafa Gökhan GÖZEL
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Fikriye MİLLETLİ SEZGİN
Amasya Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Seyit Ali BÜYÜKTUNA
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
Tıp Fakültesi

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Besim ÇAM



ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalında doktora tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada, Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen trakeal aspirat örneklerinden izole edilen 56 VİP etkeni dâhil edilmiş olup bu etkenlerin direnç profillerinin moleküler olarak incelenmesi amaçlandı.

Ventilatör İlişkili Pnömoni Olgularındaki Bakteriyel Patojenler; Direnç Profillerinin Moleküler Değerlendirilmesi adlı çalışmamda her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Lokman HİZMALİ'ye teşekkürlerimi iletmeyi borç bilirim. Yine çalışma boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen, bütün yoğunluğuna rağmen çalışma boyunca bilgi birikimiyle bize yol gösteren, önderliğiyle tezin ilerlemesini sağlayan sevgili hocam Prof. Dr. Elif SEVİM' e emeklerinden dolayı minnet duyar çok teşekkür ederim.

Haziran, 2025

Besim ÇAM

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. VİP Tanısı	4
2.1.1. VİP Tanısında Klinik Pulmoner Enfeksiyon Skorunun Yeri	6
2.1.2. VİP Tanısında Biyobelirteçlerin Yeri	6
2.2. VİP Epidemiyolojisi	7
2.3. Risk Faktörleri	7
2.4. VİP Etkenleri.....	8
2.5. Mikrobiyolojik Tanılama	10
2.6. Direnç Mekanizmaları.....	13
2.6.1. Gram Negatif Bakterilerde Direnç Mekanizmaları	16
2.6.1.1. İlacın Enzimatik İnaktivasyonu.....	17
2.6.1.2. İç ve Dış Membran Permeabilitesinde Azalma.....	25
2.6.1.3. İlacın Dışarı Atılması (Aktif Pompa Sistemi)	26
2.6.1.4. Alternatif Bir Metabolik Yolun Kullanılması	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
4. BULGULAR.....	39

4.1. VIP Etkenlerinin Belirlenmesi	39
4.2. Etkenlerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	39
4.3. Etkenlerin Antibiyotik Direnç Profillerinin Moleküler Karakterizasyonu	40
4.3.1. Etkenlerin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi.....	40
4.3.1.1. <i>A. baumannii</i> Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi	40
4.3.1.2. <i>K. pneumoniae</i> Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi.....	41
4.3.1.3. <i>P. aereginosa</i> Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi	42
4.3.1.4. <i>E. cloacae</i> Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi	42
4.3.1.5. <i>E. coli</i> Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi	42
4.3.2. Etkenlerin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi	43
4.3.2.1. <i>A. baumannii</i> Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi ..	43
4.3.2.2. <i>K. pneumoniae</i> Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi	43
4.3.2.3. <i>P. aereginosa</i> etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi .	44
4.3.2.4. <i>E. coli</i> Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi	44
4.4. Etkenlerin Aktarılabılır Direnç Genlerinin Belirlenmesi	48
4.5. Etkenlerin Plazmit Replikasyon Orjiini	49
4.6. Etkenlerin MLST Analizleri.....	49
4.7. Etkenlerin Rep-PCR Analizleri	50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	52
KAYNAKLAR	71
EKLER.....	97
Ek 1. Vip-Olgü Rapor Formu.....	97
Ek 2. Tez Bildiri Sertifikası.....	98
ÖZGEÇMİŞ.....	99

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: VİP'te akciğer grafi örnekleri	5
Şekil 2.2: Antibiyotik direnç mekanizması	17
Şekil 2.3: CTX-M-, TEM- ve SHV üreten izolatların ABD, Asya-Pasifik, Avrupa ve Latin Amerika'daki dağılımı	19
Şekil 2.4: Klinik açıdan en önemli karbapenemaz genlerinin dünya çapında dağılımı	22
Şekil 2.5: NDM üreticilerinin coğrafi yayılımı	24
Şekil 4.1: <i>A. baumannii</i> GSBL pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1} , <i>bla</i> _{OXA-1})	41
Şekil 4.2: <i>K. pneumoniae</i> GSBL pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M1} , <i>bla</i> _{OXA-1})	41
Şekil 4.3: <i>P. aureginosa</i> GSBL pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M1})	42
Şekil 4.4: <i>E. Cloacae</i> GSBL pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{Oxa-1} , <i>bla</i> _{CTX-M1})	42
Şekil 4.5: <i>E. coli</i> GSBL pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{Oxa-1} , <i>bla</i> _{CTX-M1} , <i>bla</i> _{TEM} ve <i>bla</i> _{CTX-M2})	43
Şekil 4.6: <i>A. baumannii</i> Karbapenem pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-40})	43
Şekil 4.7: <i>K. pneumoniae</i> Karbapenem pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{OXA-48} , <i>bla</i> _{NDM-1})	44
Şekil 4.8: <i>P. aureginosa</i> Karbapenem pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-51})	44
Şekil 4.9: <i>E. coli</i> etkeninde Karbapenem pozitif direnç genleri (<i>bla</i> _{OXA-48})	45
Şekil 4.10: Plazmit replikasyon orijini F ve K gen görünütüsü	49
Şekil 4.11: <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının dendogram gösterimi	50
Şekil 4.12: <i>A. baumannii</i> izolatlarının dendogram gösterimi	51

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: 2016 IDSA/ATS ve 2017 ERS/ESICM/ESCMID/ALAT kılavuzlarının VİP'te ÇİD için risk faktörlerinin karşılaştırılması.....	8
Tablo 2.2: Direnç Tanımları.	9
Tablo 2.3: ÇİD gram negatif patojenlerin HGP/VİP prevelansı	10
Tablo 2.4: Son kılavuzlara göre VİP'te mikrobiyolojik tanılama	11
Tablo 2.5: Klinik örneklerin alınma ve laboratuvara gönderilme koşulları	12
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan primerler.	29
Tablo 3.2: Tespit edilecek genlerin büyüklüğü, Tm sıcaklıkları ve uzama süreleri.	34
Tablo 3.3: <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının GenBank kayıt numaraları	37
Tablo 3.4: <i>A. baumannii</i> izolatlarının GenBank kayıt numaraları.....	38
Tablo 4.1: Etkenlerin dağılımı.....	39
Tablo 4.2: <i>A. baumannii</i> direnç genleri dağılımı.....	46
Tablo 4.3: <i>K. pneumoniae</i> direnç genleri dağılımı	47
Tablo 4.4: <i>P. aureginosa</i> , <i>E. coli</i> ve <i>E. cloacae</i> direnç genleri dağılımı.....	48

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler : Açıklama

°C	:	Celsius ölçeği
µl	:	Mikrolitre
Pmol	:	Pikomol
Sn	:	Saniye
V	:	Volt
Tm	:	Primer Melting Temperature
Dk	:	Dakika
µg	:	Mikrogram
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
Cfu	:	Coloni Forming Units
%	:	Yüzde İşareti
<	:	Küçük işareti
>	:	Büyük işareti
≤	:	Küçük eşittir işareti
≥	:	Büyük eşittir işareti

Kısaltmalar : Açıklama

APACHE	:	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
ARDS	:	Akut Respiratory Distress Sendrom
ATS	:	American Thoracic Society
ATCC	:	American Type Culture Collection
BAL	:	Bronko Alveoler Lavaj
CLSI	:	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMV	:	Sitomegalovirüs
CPIS	:	Clicinal Pulmonary İnfection Score
CRP	:	C-reaktif protein
ÇİD	:	Çoklu İlaça Dirençli

DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	:	Deoksiribonükleotid
EMB	:	Eozin Metilen BlueAgar
ERS	:	European Respiratory Society
ESCMID	:	European Society for Clinical Microbiology and Infectious Disease
ESICM	:	European Society of Intensive Medicine
ETA	:	Endotrakeal aspirat
EuSCAPE	:	Avrupa Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae
FOB	:	Fiberoptik Bronkoskopi
GSBL	:	Genişletilmiş Spektrumlu Betalaktamaz
HGP	:	Hastanede Gelişen Pnömoni
HGT	:	Horizontal Gen Transferi
HSV	:	Herpes Simpleks Virüs
IDSA	:	Infectious Diseases Society of America
INICC	:	International Nosocomial Infections Control Consortium
KOAH	:	Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
LB	:	Luria Bertani Broth
MGE	:	Mobil Genetik Element
MLST	:	Multi Locus Sequence Typing
PBP	:	Penisilin Bağlayan Protein
PCR	:	Polimeraz Chain Reaction
PCT	:	Prokalsitonin
PEEP	:	Positive End Expiratory Pressure
PSB	:	Korunmuş Fırça Yöntemi
Rep-PCR	:	Repetitive Extragenic Palindromic PCR
SAPS	:	Simplified Acute Physiology Score
ST	:	Sequence Type
UV	:	Ultra Viyole
VİP	:	Ventilatör İlişkili Pnömoni
XDR	:	Ekstra İlaça Dirençli
YBÜ	:	Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

DOKTORA TEZİ

VENTİLATÖR İLİŞKİLİ PNÖMONİ OLGULARINDAKİ BAKTERİYEL PATOJENLER; DİRENÇ PROFİLLERİNİN MOLEKÜLER DEĞERLENDİRİLMESİ

BESİM ÇAM

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik

Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Hastane Enfeksiyon Kontrolü Doktora Programı

Danışman: Dr. Öğr. Üye. Lokman HİZMALİ

Bu çalışma, hastanede gelişen VİP vakalarından izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin moleküler düzeyde belirlenmesini amaçlamaktadır. Ventilator İlişkili Pnömoni (VİP), yoğun bakım ünitelerinde en sık rastlanan enfeksiyon olmakla birlikte mortalite, morbidite ve maliyet artışı ile doğrudan ilişkilidir. VİP vakalarında en yaygın görülen bakteriyel patojenler; *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* gibi çoklu ilaç dirençli (ÇİD) Gram negatif bakterilerdir.

Çalışmamız Kırşehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde 30.11.2022 -30.11.2023 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel izolatlarda antibiyotiklere karşı gelişen dirençten sorumlu genlerin varlığı Polimeraz Chain Reaction (PCR), klonal benzerlik ve genetik tiplendirme çalışmaları ise Repetitive Extragenic Palindromic-PCR (rep-PCR) ve Multi-Locus Sequence Typing (MLST) yöntemleriyle belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında, toplam 56 kültür pozitif VİP hastası tespit edilmiştir. Bu hastaların 30'u (%53,6) erkek olup, yaş ortalamaları 63,3±19,2 yıl olarak belirlenmiştir. İzole edilen mikroorganizmalar arasında en sık rastlanan etken *A. baumannii* (%45,1) olup, bunu *K.*

pneumoniae (%43,1) ve *P. aeruginosa* (%7,8) takip etmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde *A. baumannii* suşları; siprofloksasin ve meropeneme %100, kolistine ise %69,6 oranında dirençli bulunmuştur. *K. pneumoniae* suşlarında da benzer şekilde karbapenem %94,73, piperasilin-tazobaktam %100 ve kolistin direnci %100 olarak tespit edilmiştir.

Moleküler analizler sonucunda; *A. baumannii* izolatlarında *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23} ve *bla*_{OXA-40} genleri pozitif bulunmuştur. *K. pneumoniae* suşlarında ise *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} genleri pozitif bulunmuştur. Konjugasyon deneyleri sonucunda 9 (%17,6) izolat transkonjugant olarak belirlenmiştir.

Özellikle *K. pneumoniae* izolatlarında ST2096, *A. baumannii* izolatlarında ise ST2 klonunun yaygın olduğu ve bu klonların hipervirülant özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde daha önce bildirilmeyen *A. baumannii*'de ST78, *K. pneumoniae*'de ise ST45, ST437 ve ST1128 klonları tespit edilmiştir.

Sonuçlar, VİP etkeni olarak en sık *A. baumannii* ve *K. pneumoniae*'nin izole edildiğini ve klonal analizler, aynı bakterilerin hastane ortamında yayılım gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle karbapenem ve β -laktamaz direnç genlerinin yaygın bulunması β -laktam grubu antibiyotiklere karşı olan direnci açıklamaktadır. Bu direnç, hastane enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırmakta ve alternatif tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulduğunu ve enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Haziran 2025, 113 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Ventilatör ilişkili Pnömoni, Antimikrobiyal direnç, Direnç genleri,

Acinetobacter baumannii, *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

BACTERIAL PATHOGENS IN VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA; MOLECULAR ASSESSMENT OF RESISTANCE PROFILES

Besim ÇAM

Kırşehir Ahi Evran University

Institute of Health Sciences

Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology

PhD Program in Hospital Infection Control

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Lokman HİZMALI

This study aims to determine the antibiotic resistance profiles of bacteria isolated from hospital-acquired VAP cases at the molecular level. Ventilator-Associated Pneumonia (VAP) is the most commonly encountered infection in intensive care units and is directly associated with increased mortality, morbidity, and healthcare costs. The most frequently observed bacterial pathogens in VAP cases are multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria such as *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*.

The study was conducted in the Intensive Care Units of Kırşehir Training and Research Hospital between November 30, 2022, and November 30, 2023. The presence of resistance genes in bacterial isolates was identified using Polymerase Chain Reaction (PCR), while clonal similarity and genetic typing analyses were performed using Repetitive Extragenic Palindromic-PCR (rep-PCR) and Multi-Locus Sequence Typing (MLST) methods.

A total of 56 culture-positive VAP patients were identified in the study. Of these, 30 (53.6%) were male, with a mean age of 63.3 ± 19.2 years. Among the isolated microorganisms, *A. baumannii* was the most common pathogen (45.1%), followed by *K. pneumoniae* (43.1%) and *P. aeruginosa* (7.8%).

Antibiotic susceptibility testing revealed that *A. baumannii* strains were 100% resistant to ciprofloxacin and meropenem, and 69.6% resistant to colistin. Similarly, *K. pneumoniae* strains showed 94.73% resistance to carbapenems, and 100% resistance to both piperacillin-tazobactam and colistin.

Molecular analyses showed that the following resistance genes were present in *A. baumannii* isolates: *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, and *bla*_{OXA-40}. In *K. pneumoniae* isolates, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{OXA-48}, and *bla*_{NDM-1} genes were detected. Conjugation experiments identified 9 (17.6%) isolates as transconjugants.

Clonal analysis revealed that the ST2096 clone was predominant among *K. pneumoniae* isolates, while ST2 was the most prevalent among *A. baumannii* isolates, both of which are known to exhibit hypervirulent characteristics. Notably, clones not previously reported in Turkey were identified, including ST78 in *A. baumannii* and ST45, ST437, and ST1128 in *K. pneumoniae*.

The findings demonstrate that *A. baumannii* and *K. pneumoniae* are the most frequently isolated pathogens in VAP cases, and clonal analysis indicates their spread within the hospital environment. The widespread presence of carbapenem and β -lactamase resistance genes explains the high level of resistance to β -lactam antibiotics. This resistance complicates the treatment of hospital-acquired infections, emphasizing the urgent need for alternative therapeutic strategies and strict adherence to infection control measures.

June 2025, 113 Page

Keywords: Ventilator Associated Pneumonia, Antimicrobial resistance, Resistance genes, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*

1. GİRİŞ

Dünya genelinde hastanede gelişen pnömoni, tüm hastane enfeksiyonlarının %15'ini, ülkemizdeyse %11-30'unu oluşturmaktadır (1). Ülkemizde yapılan çalışmalarda hastanede gelişen pnömoni, dünya geneliyle aynı şekilde nozokomiyal enfeksiyonlar içinde 2. sıklıktadır (2).

Fakat, özellikle yoğun bakım üniteleri (YBÜ), immün sistemi baskılanmış hastaların bulunduğu onkoloji ve yanık ünitelerinde en sık görülen hastane kökenli enfeksiyon Ventilator İlişkili Pnömoni (VİP)'dir. VİP, entübasyon sırasında enfeksiyonu bulunmayan, entübasyondan sonra 48-72 saat içinde ortaya çıkan pnömoni olarak tanımlanmaktadır. YBÜ'lerinde gelişen pnömonilerin yaklaşık %90'ının mekanik ventilatör kullanılan hastalarda görülmektedir (3).

Mekanik ventilatör hastaların iyileşmesinde sağladığı faydanın yanında, çeşitli komplikasyonlara da neden olmaktadır. Bunlardan uygulama sırasında meydana gelebilen komplikasyonlar; larenks ve trakea yaralanmaları, diş kırılmaları ve kanamalarıdır. Uygulama sonrasında ortaya çıkan komplikasyonlar ise renal ve kalp sorunları, asit-baz dengesizliği ve nozokomiyal enfeksiyondur. Mekanik ventilasyon desteği alan hastalarda ortaya çıkan ve en sık görülen nozokomiyal enfeksiyon ise VİP'dir (4-6) Ayrıca mekanik ventilatör kullanımı morbidite, mortalite ve maliyetin artmasıyla yüksek oranda ilişkilidir (7).

International Nosocomial Infections Control Consortium (INICC) 2021 raporuna göre Sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlara bağlı mortalite oranı %17 iken sadece VİP'e bağlı mortalite oranı %42 bulunmuştur (8). Yapılan diğer çalışmalarda ise mortalite oranları %6,3-66,9 arasında değişmektedir (9). En yüksek mortalite oranı ise %66,3 ile Türkiye'de yapılan bir çalışmada bulunmuştur (10). Özetle VİP tek başına mekanik ventilasyon süresini ve yoğun bakımda kalış süresini arttırırken mortaliteye etkisi altta yatan hastalığın şiddetine göre değişmektedir (ARDS (Akut Respiratuar Distres Sendromu), KOAH (Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı), yanık hasta vb.).

VİP neden olan ajanlar; hastane, yoğun bakım florası, hasta florası, diğer dış etkenlerden

(başka hastalar, ziyaretçi ve hastane personeli) bile etkilenerek değişiklik gösterebilmektedir (11). Pnömoni etkenlerinin dağılımındaki farklılıklar; hastanelerin, hastane popülasyonlarının ve tanı kriterlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır. Özellikle ampirik tedavi düzenlenirken bu farklılıkların, kliniğe özel floranın ve antimikrobiyal duyarlılığın iyi bilinmesi önemlidir (12). VIP vakalarında en yaygın görülen bakteriyel patojenler; *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* gibi çoklu ilaç dirençli (ÇİD) Gram negatif bakterilerdir (13). Hastane ve özellikle de yoğun bakım gibi riskli birimler, mikrobiyal ajanların yaşamlarını rahatça sürdürebilecekleri ve antimikrobiyal direncin yaygınlaşması için birçok faktörü içinde bulunduran yerlerdir.

Plazmidler aracılığıyla direnç genleri transferini kapsayan horizontal gen transfer yöntemleri, direncin bakteriler arasında hızlı bir şekilde dağılmasını kolaylaştırır. Bu hareketli genetik unsurlar türler arası direnç gelişimini de sağlar. Sonuçta, bakteriler direnç geninin transferiyle direnci hızlı bir şekilde kazanır ve ÇİD bakterilerin mutasyonunu oldukça hızlanır.

Etkenlerin antibakteriyel direnç mekanizmalarını belirleyebilmek için bakterilerin moleküler yöntemlerle incelenmesi, direnç genlerinin tespiti, bu etkenlerin klonal benzerliklerinin belirlenmesini, etkenler arasında gen transferi varlığının tespit edilmesini sağlamaktadır. Moleküler yöntemlerle bulunan sonuçlar direncin önlenmesi, hastalığın klinik seyrine yön verilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin düzenlenmesi için kullanılmaktadır.

Bu yüzden, bu çalışmada VIP etkenlerinin moleküler olarak incelenmesi, direnç genlerinin tespit edilmesi, etkenlerin konjugatif plazmid varlığının tespiti ve etkenlerdeki klonal dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Hastanede gelişen pnömoni ve ventilatörle ilişkili pnömoni gelişimi, alt solunum yoluna gelen bakterinin miktarı ve virülans özellikleri ile konakçının hücresel, mekanik ve humoral savunma mekanizmalarıyla bağlantılıdır. VİP'in en temel sebepleri orofaringeal foloranın mikroaspirasyonu ya da gastrointestinal içeriğin aspirasyonu sonucudur (14). Orofaringeal sekresyonların uyurken aspire edilmesi normal insanlarda bile %45 gibi yüksek oranlardadır. Bu oranlar hasta bireylerde ise daha da artmaktadır. Genellikle hastane yatışından ve entübasyondan sonraki 48 saat içinde üst solunum yolu florasının hastanedeki dirençli mikroorganizmalar ile yer değiştirdiği bilinmektedir.

Kolonizasyon, konağa ait risk faktörleri (kronik hastalık vb.), invaziv işlemler, antibiyotik geçmişi ile bağlantılıdır. Aynı zamanda hastaya uygulanan her girişimsel işlem, tedavi amaçlı hastanın vücuduna yerleştirilen bütün ekipmanlar patojen mikroorganizma bulaş kaynağı olabilir (15).

Sağlıklı bir insanın enfeksiyonlara karşı bazı savunma mekanizmaları vardır (öksürük refleksi, mukosilier klirens, mukus üretimi, laktoferrin, anatomik hava yolu bariyerleri vb.). Ciddi hastalığı olan, yoğun bakım gibi riskli birimlerde yatan ve invaziv girişim uygulanan hastalardaysa bu savunma mekanizmaları tam olarak çalışmamaktadır. (15, 16). Pnömoni gelişmesinde yeterli sayıda virülans özelliklere sahip bakterinin alt solunum yollarına gelmesi ve akciğerlerde bulunan hücresel, humoral ve mekanik savunma sistemlerini devre dışı bırakan faktörleri içermesi gerekir. VİP'e neden olan etkenler alt solunum yollarına üç şekilde ulaşabilmektedir

1. Mikroorganizmaların aspire edilmesi
2. Mikroorganizmaların solunması (inhalasyon)
3. Dış etkenler (başka bir bakteremi kaynağı vb.) (17).

Hastalığın patogenezinde; etkenlerin mikroaspirasyonu, orofaringeal ve trakeobronşiyal bakteri kolonizasyonu ile subglottik sekresyonların aralıklı drenajı rol oynamaktadır. Patogeneizde en sık görülen yol aspirasyon yoludur. Mikroorganizmalar endotrakeal tüp ve kateter gibi girişimsel aletlerin üzerinde biyofilm tabakası oluşturabilirler ve devamlı mikroorganizma kaynağı haline gelebilirler. Biyofilm tabakası mikroorganizmalarda

antibiyotiğin etkinliğini azaltarak yaşamalarını sürdürmelerini sağlar (18). Aspirasyon ile ilişkili olan diğer durumlar; endotrakeal tüp içi aspirasyonlar, ventilasyondan ayrılma, kaf basıncında düşme, ekspiryum sonu pozitif basıncın(PEEP) düşük tutulması gibi durumlardır. Mikroaspirasyonların minimum olması için endotrakeal kaf basıncı 18 ile 25 mmHg (25- 30 cmH20) arasında olmalı, kaf basıncı bilerek düşürülecekse eğer öncesinde mutlaka ağız içinin ve subglottik bölgenin aspire edilmesi gerekmektedir. Sedasyon ise bir diğer aspirasyon risk faktörüdür. Endokardit, enfekte venöz kateterler ya da gastrointestinal floradaki bakterilerin aspirasyonu sonucunda da bakteriler alt solunum yoluna ulaşması da hematogen yola örnek olarak verilebilir (19).

2.1.VİP Tanısı

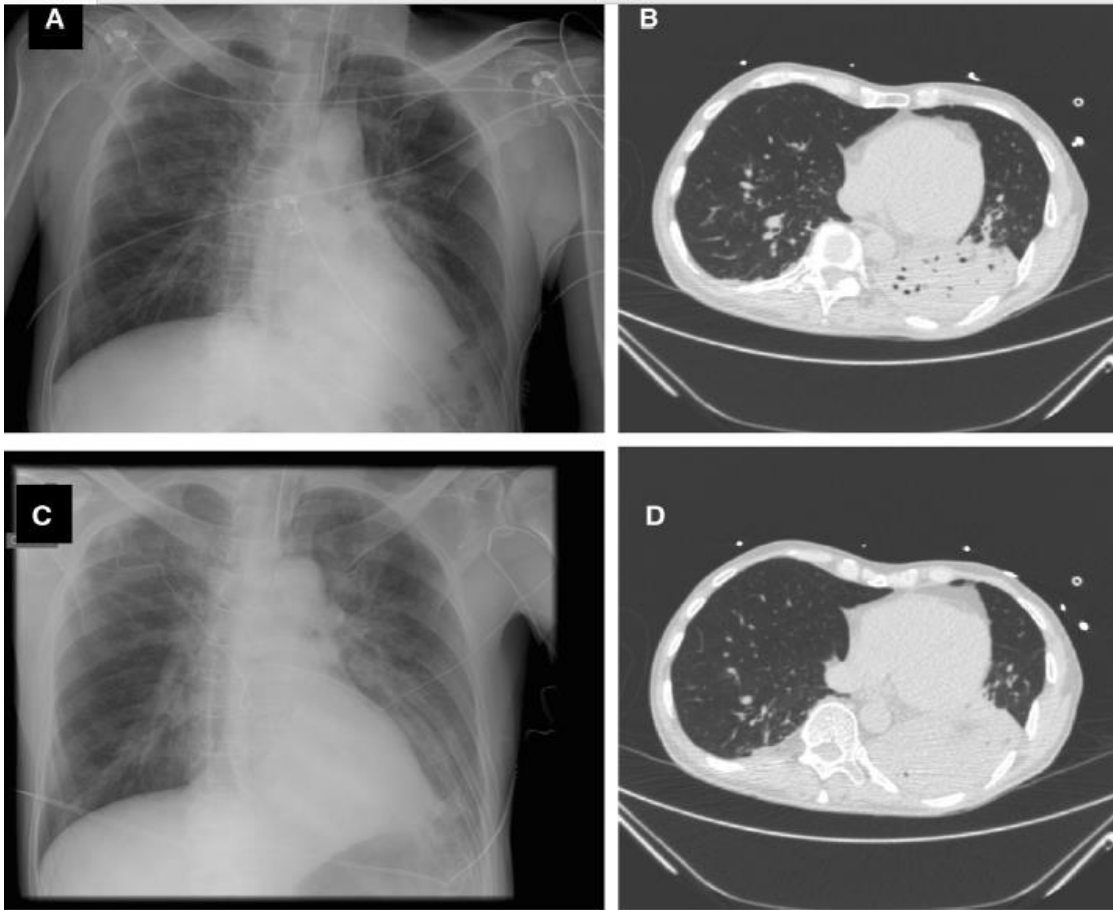
Ventilatörle ilişkili pnömoni ile ilgili Infectious Diseases Society Of America/American Thoracic Society (IDSA/ATS)'nın hem 2005 hem de 2016 da yayınladıkları kılavuzlarda uygulanabilecek tam bir tanılama yöntemi belirlenmemiştir. VİP tanısı koymak için öncelikle şüphelenmek gerekir (17). VİP tanısı geleneksel olarak 3 temel kriter üzerinde yoğunlaşır; klinik şüphe, yeni ya da ilerleyen ve kalıcı infiltrasyon, alt solunum yolundan alınan pozitif mikrobiyolojik kültür (20).

Akciğer grafisi VİP şüphesinde ilk yapılacak işlemdir. Akciğer grafisinin normal olması VİP tanısını dışlar. Ama akciğer grafisi VİP tanısı koymak için yeterli değildir çünkü grafi bulguları non-spesifiktir (21). IDSA/ATS 2016 kılavuzunda HGP ve VİP için yeni bir akciğer infiltrasyonunun yanı sıra, yeni başlayan ateş, pürülan balgam, lökositoz ve oksijenasyonda azalmayı içeren, infiltrasyonun enfeksiyöz kökenli olduğuna dair klinik kanıtlara dayanan bir klinik tanı önermektedir (17). Wunderink ve arkadaşları tarafından yapılan gözlemsel çalışmada; klinik ve radyolojik olarak VİP tanısı konulan hastaların postmortem değerlendirmesinde, hastaların gerçekte %43'ünün VİP olduğu anlaşılmıştır (22).

VİP tanısında kısaca 3 basamaktan bahsedilebilir; hastanın klinik bulguları, akciğer grafisi ve mikrobiyolojik etken değerlendirmesi. Klinik bulgular; vücut sıcaklığının 38°C'nin üzerine çıkması ya da 36°C'nin altında olması, balgam ya da trakeal sekresyon miktarında artış, renginde koyulaşma ve pürülans artışı, öksürük, oskültasyonda ral ya da bronşial ses saptanması, sekresyonlara bağlı olarak ronküs duyulmasıdır. Plevral effüzyon geliştirse ilgili alanda matite saptanabilir. Arteriyel kan gazı değerlendirildiğinde oksijenizasyon

bozulması izlenebilir. Ventilatördeki hastanın solunum sayısında artış, tidal hacimde azalma, FiO_2 ihtiyacında artma gibi değişiklikler ilk bulgu olarak saptanabilir. Laboratuvar bulgularında ise özgül olmayan bulgular, lökositoz ($>12 \times 10^9$ Lökosit/L) ya da lökopeni ($<4,0 \times 10^9$ Lökosit/L) tanıyı desteklemektedir (14).

Akciğer grafisi VİP tanısı için oldukça önemlidir. Klinik bulguların yanında akciğer grafisindeki yeni ve ilerleyici infiltrasyon, konsolidasyon, kavitasyon veya plevral effüzyon varlığı VİP tanısını düşündürmelidir (Şekil 2.1). Genellikle yatak başında çekilen akciğer grafilerinin olması ve değerlendirmede objektif kriterlerin eksik olması dezavantajları arasındadır (23, 24).



Şekil 2.1: VİP’te akciğer grafi örnekleri (22). VİP tanısı konulan 65 yaşındaki hastanın akciğer grafi ve tomografi görüntüleri. (a) VİP şüphesi ile çekilen akciğer filmi normal görünmektedir. (b,d) aynı gün çekilen tomografi görüntüsünde ise sol alt lobda konsolidasyon görünmektedir. BAL sonucu 10^5 cfu/ml *Enterobacter aerogenes* bulunmuş. (c) ertesi gün çekilen akciğer grafisinde ise infiltrasyonun ilerlediği görülmektedir.

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda akciğer grafisinin yatıştan itibaren kötü olması, aynı zamanda farklı hastalıkların (atelektazi, mukus plakları ve tıkanmalar, kalp yetmezliği

ya da ARDS) pnömoni bulgularıyla benzerlik göstermesi akciğer grafisinin VİP tanısındaki önemini azaltmaktadır. Tomografi görüntüleri tanı koymada normal akciğer grafisinden daha üstün olmasına rağmen hem maliyet hem de hasta transfer sürecinden dolayı tercih edilmemektedir (25). Akciğer ultrasonografisi gibi yeni yöntemlerin, pnömonik infiltrasyonlar ve efüzyonların görüntülenmesinde kullanılabileceği ve VİP tanısında başarı sağlayacağı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir ancak bunun için henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (16).

2.1.1. VİP Tanısında Klinik Pulmoner Enfeksiyon Skorunun Yeri

Klinik pulmoner enfeksiyon skoru (Clinical Pulmonary Infection Score-CPIS): VİP tanısını koymak için; akciğer grafisi, klinik, fizyolojik ve mikrobiyolojik değerlendirmelerin birlikte yapıldığı bir skorlama yöntemidir. VİP tanısı için duyarlılık ve özgüllüğü %65'tir. İzlemde CPIS ≤ 6 bulunması tedavinin bitirilmesi konusunda fikir verebilir. IDSA/ATS 2016 kılavuzunda HGP/VİP tanısı için düşük duyarlılık ve özgüllüğünden dolayı CPIS kullanımını önermemektedir (17).

2.1.2. VİP Tanısında Biyobelirteçlerin Yeri

Biyobelirteçlerin rolü tanıda sınırlı olmakla birlikte, erken tanı koymayı sağlayacak ve tedavi başarısını arttıracak nitelikte olmalıdır. Günümüzde ise en sık kullanılan biyobelirteçler, prokalsitonin (PCT), sTREM-1 C-reaktif protein (CRP)'dir (16).

Prokalsitonin

Normal serum seviyesi 0,01 ng/mL'nin altında olan prokalsitonin, bakteri kaynaklı enfeksiyonlarda endotoksin salınımından dolayı tüm parankimal dokulardan salınımı 24 saat içerisinde artar ve serum seviyesi yükselir. Bu yüzden bakteri kaynaklı enfeksiyonların, viral ve mantar kaynaklı enfeksiyonlardan ayırt edilmesinde kullanılır. VİP'li hastalarda iki şekilde kullanımı olabilir. Birincisi antibiyotik tedavisi başlanan VİP'li hastalarda tedavinin (antibiyotik) kesilmesi konusunda ya da progresif artışı septik şok ve mortalite için öngördürücü olabilir (16). IDSA/ATS 2016 kılavuzunda PCT düzeyine göre antibiyotik başlanması ya da sonlandırılması hastaya herhangi bir avantaj sağlamadığı bu yüzden tedaviye karar verirken sadece klinik belirti ve bulguların göz önünde bulundurulması önerilmektedir (17).

CRP (C-reaktif protein)

Vücuttaki inflamasyonu gösteren CRP'nin en önemli avantajı birçok merkezde rahatlıkla ölçülebilir olmasıdır. Ancak enfeksiyon dışındaki birçok sebepten etkilenecek yükselmesi, VİP tanısında kullanımını sınırlamaktadır. Seri CRP ölçümleri, prognoz ve tedaviye yanıt takipte yararlıdır (16). Yine en son kılavuzlarda VİP tanısında CRP kullanılması önerilmemektedir (17).

2.2. VİP Epidemiyolojisi

2017 Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi, yoğun bakım ünitelerindeki 8983 pnömoni vakasının %97,3'ünün entübasyonla bağlantılı olduğu belirtilmiştir (26). Mekanik ventilasyon tek başına VİP riskini 6-21 kat arttırmaktadır (27). Yapılan iki çalışmada VİP'li hastalarla VİP olmayan hastalar karşılaştırılmış; VİP'in mekanik ventilasyon süresini 7,6 ile 11,5 güne kadar uzattığı ve hastanede kalış süresini de 11,5 ile 13,1 güne kadar uzattığı gösterilmiş ve VİP'in hasta başına ek 40000\$ maliyet yaptığı belirtilmiştir (28, 29). Ülkemizde içinde bulunduğu INICC 2021 raporuna göre gelişmekte olan 42 ülkenin cerrahi ve dahili yoğun bakım ünitelerindeki VİP verileri değerlendirildiğinde, ortalama VİP hızı 1000 ventilatör gününde 11,47 bildirilmiştir (8). VİP insidansı Kuzey Amerika bölgesinde 1000 ventilatör gününde 1-2,5 vaka iken Avrupa bölgesinde 1000 ventilatör gününde 18 vaka olarak belirtilmiştir (30). Bölgeler arası bu farklılık ise net bir VİP tanı kriteri olmaması farklı tanı kriterlerinin ve farklı mikrobiyolojik örnekleme yöntemlerinin kullanılıyor olmasına bağlanmıştır. 2017'de yapılan ve ülkemizin de dahil olduğu 9 Avrupa ülkesinin içeren çalışmada VİP hızı 1000 ventilatör gününde 18.3 olarak bildirilmiştir (31). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı Özet 2022 raporuna göre, VİP hızı 3,68 olarak bildirilmiştir (32).

2.3. Risk Faktörleri

VİP için belirlenen risk faktörleri hastalığın gelişmesini kolaylaştırır ve prognozun kötüleşmesini sağlar. VİP gelişimi için risk faktörleri; Trakeostomi, hastanede uzun süreli yatış, ileri yaş, travma hastası, cerrahi operasyon, yanık hasta, sigara öyküsü, düşük albümin düzeyi, yüksek APACHE II-SAPS II skoru, ARDS varlığı, hastada akciğer yaralanması varlığı, KOAH, üst solunum yolu kolonizasyonu, orofarengeal kolonizasyon,

PaO₂:FiO₂>200 mmHg, biyofilm oluşumuna izin veren endotrakeal tüp kullanılması, hastanın supine pozisyonunda olması, reentübasyon, enteral besleme, çoklu santral venöz kateter kullanımı, ventilatör devrelerini sık değiştirme, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı öyküsü, paralitık ajanların kullanımı ve hastaların yoğun bakımlar arası transferi olarak belirtilmiştir. Amerika ve Avrupa’da yayınlanan en son kılavuzlarda VİP’te ÇİD bakteriler için risk faktörleri farklı şekilde belirtilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: 2016 IDSA/ATS ve 2017 ERS/ESICM/ESCMID/ALAT kılavuzlarının VİP’te ÇİD için risk faktörlerinin karşılaştırılması (33).

Amerika kılavuzu	Avrupa kılavuzu
Önceki 90 gün içinde IV antibiyotik kullanımı	Önceden antibiyotik kullanım
VİP öncesi >5 gün hastanede yatış öyküsü	VİP öncesi >5 gün hastanede yatış öyküsü
VİP’le aynı zamanlı septik şok varlığı	Septik şok
VİP öncesi ARDS varlığı	Hastanede ÇİD patojen oranlarının yüksek olması
VİP’ten önce akut böbrek replasyonu	Önceden ÇİD kolonizasyonu

2.4. VİP Etkenleri

Nozokomiyal pnömoninin mikrobiyolojisi, pnömoni öncesi hastanede kalış süresi, önceden yoğun bakımda kalış öyküsü, yoğun bakım florası, altta yatan hastalığın şiddeti, önceden kullanılan antibiyotikler, ventilasyon süresi gibi birçok etkene bağlıdır (30). Altta yatan hastalıklar bazı etkenlere yatkınlık oluşturur. Sistik fibrosizli hastalar *S. aureus* ve *P. aeruginosa* açısından risklidir. KOAH’lı hastalar *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, ve *Moraxella catarrhalis* açısından risklidir. VİP etkenleri özellikle aspirasyon pnömonisi ve ARDS hastalarının bazı olgularında ise polimikrobiyal olarak gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda candida türleri, entereokoklar ve koagülaz negatif stafilocoklar genellikle kolonizasyon olarak bulunmuştur (20). Genellikle erken başlangıçlı VİP’in (ilk 4 gün içinde) önceden antibiyotik almayan hastalarda normal orofaringeal florasından kaynaklandığı, geç başlangıçlı VİP’in (en az 5 gün hastanede yatış süresi olan) ise ÇİD patojenlere yönelik risk faktörlerini bulunduran hastalarda, ÇİD patojenlerinden kaynaklanma olasılığı daha yüksektir (17). Direnç tanımları Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Direnç tanımları.

Tanım	Açıklama
Çok ilaca dirençli; MDR, ÇİD (multidrug-resistant)	Üç veya daha çok antibiyotik grubunda en az birer ilaca direnç vardır (örneğin aminoglikozitler, florokinolonlar, sefalosporinler, vs). Metisiline dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA), antibiyotik duyarlılık profili ne olursa olsun MDR kabul edilir.
Aşırı Dirençli; XDR ("extensively", "extremely drug resistant")	Bir iki grup dışında hemen hemen tüm gruplarda en az bir ilaca direnç vardır.
Tam-dirençli (pan-rezistant)	Tüm antibiyotiklere dirençlidir.

Erken başlangıçlı pnömonilerde en sık görülen etkenler *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA)'dır. Geç başlangıçlı pnömonilerde ise en sık etkenler %55-85 oranında görülen aerop gram negatif bakterilerdir (27, 34).

2016 IDSA/ATS'nin HGP/VİP kılavuzunda yayınlanan meta analizde *Pseudomonas aeruginosa* oranı %13, *Acinetobacter* oranı %4, MSSA oranı %10, MRSA oranı %6 ve enterik gram negatif çomakların oranı ise %16 olarak belirtilmiştir (17). Ülkemizdeki çalışmalarda en sık bulunan VİP etkenleri *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *E. cloacae* gibi Gram negatif bakteriler olurken, *S. aureus* ise en sık rastlanan Gram pozitif bakteridir. Yapılan çalışmalara bakıldığında *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* arasında sıralama değişmektedir (35, 36). Ayrıca *Acinetobacter* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının gittikçe arttığı bildirilmiştir (37). *Enterobacteriaceae* ailesinin geniş spektrumlu beta-laktamaz ve *Amp-C* betalaktamaz üretiminden dolayı gelişen 3. Ve 4. Kuşak sefalosporin direnci ise endişe vericidir. Yine karbapenemaz üreten suşların giderek yaygınlaşması endişe vericidir (30). XDR patojenlerin tedavisinde kolistin sıkça kullanılması kolistin direncinin de hızla artmasına neden olmuştur (38). Dünya genelinde yapılan çalışmalarda bulunan gram negatif bakterilerin dağılımı Tablo 2.3' de verilmiştir.

Tablo 2.3: ÇİD gram negatif patojenlerin HGP/VİP prevalansı (39).

Yazar/yıl/ülke	Çalışma tipi	Vip sayısı	ÇİD gram negatif patojen prevalansı
Kanafani ve ark./2019/Lübnan	Retrospektif	162	90% ÇİD <i>A. baumannii</i>
Perez ve ark./2019/Yunanistan, İspanya, İtalya	Prospektif	53	4% PDR <i>P. aeruginosa</i> , 36% XDR <i>P. aeruginosa</i> , 30% ÇİD <i>P. aeruginosa</i>
Ciginskiene ve ark./2019/Litvanya	Retrospektif	60	13% ÇİD <i>A. baumannii</i> , 68% XDR <i>A. baumannii</i> , 18% PDR <i>A. baumannii</i>
Sosa-Hernandez ve ark./2019/Meksika	Retrospektif	48	48% ÇİD <i>A. baumannii</i> , 15% ÇİD <i>P. Aeruginosa</i> , 2% <i>K. pneumoniae</i> GSBL
Wang ve ark./2018/Çin	Prospektif	76	53% GSBL <i>K. pneumoniae</i> ve <i>E. coli</i>

Uzun süreli kritik hastalığı bulunan veya immün sistemi baskılanmış hastalarda VİP'e neden olan etkenler ise *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ve mantarlardır. Hastanede gelişen şiddetli pnömonilerin üçte birinden virüsler sorumludur. Mekanik ventilatöre bağlı hastalarda gelişen pnömonilerde, influenza ve diğer solunum yolları virüslerinin etken olarak belirtildiği birçok çalışma vardır. Mekanik ventile edilen bağışıklığı baskılanmış ve bağışıklığı baskılanmamış hastalarda *Herpesviridae Herpes simplex virüsü* (HSV) ve *Sitomegalovirüs* (CMV) viral reaktivasyona neden olabilir. Mekanik olarak havalandırılan hastalarda HSV bronkopnömonisinin histopatolojik kanıtı %21'e kadar rapor edilmiştir (25). Özellikle çoklu organ yetmezliği olan yoğun bakımda uzun süreli kalan kritik hastalarda CMV reaktivasyonu %20-30 arasında gözlemlenmektedir (40).

2.5. Mikrobiyolojik Tanılama

VİP'te tanı koyabilmek mikrobiyolojik tanılama yöntemleri kullanılarak etken izolasyonunu sağlamak en nemli basmadır. Tedavinin doğru bir şekilde ilerlemesi için etkenin mikrobiyolojik olarak gösterilmesi gereklidir. Etkenin doğru bir şekilde tanımlanması için mikrobiyolojik tanılama yöntemlerinin bütün basamaklarının doğru bir şekilde uygulanması gerekir (16).

Akciğer grafisi normal olmayan ve VİP şüphesi bulunan alt solunum yollarından örnekleme yapılmalıdır (41). Bu örnekleme yöntemleri bronkoskobik ve nonbronkoskobik olarak uygulanır. Endotrakeal aspirasyon (ETA) ve miniBAL nonbronkoskobik yöntemlerdir. Korunmuş fırça yöntemi (PSB) ve bronko alveoler lavajdır (BAL) bronkoskopik yöntemlerdir (42, 43).

Bronkoskopik yöntemler uygulanması zor, komplikasyonları fazla ve maliyetleri yüksek olan yöntemlerdir. ETA ise; daha az invazif, kolay uygulanabilir, ucuz, komplikasyonları az ve her zaman kullanılabilecek bir yöntemdir. Düşük spesifite ve yanlış pozitiflik oranının yüksek olmasına rağmen ETA kantitatif kültürünün invazif yöntemlere benzer şekilde VİP tanısında etkin olduğu gösterilmiştir (12). Bu yüzden IDSA/ATS 2016 kılavuzunda semikantitatif noninvaziv yöntemlerin kullanılmasını önermektedir (17). Farklı kılavuzlarda önerilen mikrobiyolojik tanılama yöntemlerinin karşılaştırılması Tablo 2.4.'de verilmiştir.

Tablo 2.4: Son kılavuzlara göre VİP'te mikrobiyolojik tanılama (30).

IDSA/ATS 2016	2017 ERS/ESICM/ESCMID/ALAT
VİP şüpheli hastalar kandidatif invaziv (PSP, BAL) kültür sonuçlarına göre mi yoksa kandidatif ya da semi-kandidatif non-invaziv ETA (Endotrakeal Aspirat) kültür sonuçlarına göre mi tedavi edilmeli?	VİP şüpheli entübe hastalarda distal kantitatif örnekler mi yoksa proksimal kantitatif örnekler mi dikkate alınmalı?
ÖNERİ	ÖNERİ
Panel VİP tanısında semi-kantitatif non-invaziv yöntemleri önermektedir. Eğer kantitatif invaziv yöntemler kullanılacaksa da PSB için $< 10^3$ CFU/mL, BAL with $< 10^4$ CFU/mL kriterlerinin sağlanması gerekmektedir.	Panel kantitatif distal örneklerin alınmasını önermektedir.

VİP için şüphelenilen hastalarda bronkoskobik ve nonbronkoskobik yöntemler yapılan çalışmalarla karşılaştırılmış; mortalite, yatış süresi ve sadece bronkoskopik yöntemlerde kontaminasyon riskini azalttığı için daha doğru tanımlamalar yaptığı belirtilmiştir. Bu da doğru tedavi seçimi ile direnç oranlarındaki azalma ile sonuçlanmasını sağlamaktadır. Bronkoskopi işlemi için uzmanlık, ekipman ve zaman gerekmesi ve maliyetli olması dezavantaj olarak sayılabilir. Bu yöntemlerden hangisinin seçileceği hasta bazlı belirlenmelidir. Burada antibiyotik tedavisinin daraltılmasının faydaları ile bronkoskobinin riskleri karşılaştırılmalıdır. Bronkoskopi daha az riskli olduğu hastalarda bronkoskopik yöntemler önerilir (42).

Alınan örneklerde etkenler kantitatif ya da semikantitatif olarak çalışılabilir. Eğer solunum yolu örnekleme fiberoptik bronkoskopi (FOB) ile yapılacak ise, bakteriler için tanısal eşik değerlerin muhakkak kullanılması önerilir. BAL için $\geq 10^4$ cfu/mL, ETA için $\geq 10^5$ cfu/mL tanısal sınır değeri olarak kabul edilir (16).

Gram boyama incelemesinde örneğin yeterli olması ve erken dönemde bakteriyel ajan tespiti için önemli bir tanı basamağıdır. Uygun şekilde alınan örnek, Gram boyalı incelemede her alanda skuamöz epitel hücrelerinin <10 ve polimorfonükleer hücre sayısının >25 olarak tanımlanır. Ampirik tedavinin planlamasında olası etkenin erken değerlendirmesinde Gram boyama etkili bir yöntem olabilir; örneğin Gram boyamada stafilokok varlığını destekleyen gram pozitif kokların bulunmaması büyük olasılıkla (daha önce antibiyotik almamış bir hastada) stafilokok pnömonisini ekarte ettirir (16).

VİP tanısı için akciğer biyopsisi yapılması ideal olmayan ve nadiren tercih edilen bir yöntemdir. İnvaziv işlem olmasından kaynaklı çeşitli riskler taşımaktadır. Histolojik tanı kriterlerinin standardizasyonun net olmaması bu yöntemi tanı koymada geri plana iter. Prospektif olarak gerçekleştirilen bir çalışmada mekanik ventile edilirken ölmüş 39 hasta incelenmiş, hastalar, %18 ile %38 arasında VİP tanısı konmuştur. Bulunan sonuçlar VİP tanısı koymanın histolojik olarak da zor olduğunu göstermektedir (42).

Tanı konulurken rutinde önerilen bir diğer örnekleme ise, kan kültürüdür. VİP gelişen hastaların %15'i aynı zamanda bakteriyemik olduğu ve bu hasta grubunun mortalite oranları daha yüksektir. Kan kültürü sonuçları, akciğer dışı enfeksiyon tanısında da yardımcı olabilir (16). Örneklerin alınması ve laboratuvara gönderilme koşulları Tablo 2.5'te verilmiştir.

Tablo 2.5: Klinik örneklerin alınma ve laboratuvara gönderilme koşulları (16).

Örnek Türü	Alım Özelliği	Transfer Özellikleri	Kabul veya Red Kriterleri (Özel durumlar)
Endotrakeal aspirat	En az 14 no'lu steril aspirasyon sondası, trakeaya yerleştirilir; içinden özel aspirasyon kateteri geçirilerek örnek alınır	Mümkün olan en kısa sürede (<2 saat) laboratuvara ulaştırılmalıdır. Eğer hemen gönderilemeyecekse $2-8^{\circ}\text{C}$ 'da 24 saat tutulabilir. Steril, ağızı burgulu kapaklı taşıma kabında gönderilmelidir	Makroskopik olarak tükürük görünümündeki örnekler, oda sıcaklığında 2 saatten fazla beklemiş örnekler kabul edilmez, aynı gün içinde gönderilen ilk örnek değerlendirme için yeterli ise, ikinci bir örnek reddedilir.

Tablo 2.5 (devam): Klinik örneklerin alınma ve laboratuvara gönderilme koşulları (16).

Örnek Türü	Alım Özelliği	Transfer Özellikleri	Kabul veya Red Kriterleri (Özel durumlar)
Mini BAL	Özel bir kateter (Combicath, Combicam vb) endotrakeal tüp içerisinden ilerletilir. Direnci hissedildiğinde distalde bulunan korumalı parça ayrılarak ilerletilir. 20 cc serum fizyolojik verilerek geri çekilir.		BAL örnekleri invazif işlemlerle alındığı için mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından reddedilmez. Bu nedenle örnekler iki saatten fazla oda sıcaklığında kalırsa sonuçların doğru yorumlanabilmesi için laboratuvar mutlaka bilgilendirilmelidir. VIP şüpheli hastalardan etkeni saptamaya yönelik olarak alınan BAL örnekleri kantitatif yöntemle değerlendirilir.
BAL	Standart protokoller uygulanır.	Mümkün olan en kısa sürede (<2 saat) laboratuvara ulaştırılmalıdır. Eğer hemen gönderilemeyecekse 2-8 °C'da 24 saat tutulabilir. Steril, ağzı burgulu kapaklı taşıma kabında gönderilmelidir. Anaerob kültür için uygundur ve anaerob taşıma besiyeri kullanılmalıdır.	

2.6. Direnç Mekanizmaları

Bir bakterinin antimikrobiyal bir ilacın öldürme veya üremeyi durdurma etkisine direnebilme yeteneğine direnç denir. Bu direnç sadece yaygın antibiyotik kullanımı sonucunda değil, olumsuz çevre koşullarında yaşamı sürdürebilmek için kullanılan savunma sürecidir. Bakterilerin antimikrobiyal moleküller tarafından öldürülmeyi önlemek için karmaşık ilaç direnci mekanizmaları geliştirmesi, muhtemelen milyonlarca yıllık evrim boyunca meydana gelen bir süreçtir.

Doğal (İntrensek) Direnç

İlaç kullanımına bağlı olmayan bu direnç türü aynı zamanda kalıtsal da değildir. Bakterinin

temel özelliği olan bu direnç, mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı bulundurmamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir sonucudur. Vankomisin'in dış membrandan geçememesinden dolayı Gram negatif bakteriler bu ilaca doğal olarak dirençli olması iyi bir örnektir. Yine bakterilerin L formları ve Mycoplasma'lar gibi çepersiz mikroorganizmalar penisilin gibi hücre duvar sentezi inhibitörlerine doğal dirençlidir. Başka bir örnekte ise metabolik olarak inaktif olan bakteri sporları doğal dirençlidir. Çünkü birçok ilacın bakteriyi etkileyebilmesi için bakterinin aktif üreme döneminde olması gerekir (44, 45).

Kazanılmış Direnç

Bakteriler genetik yapılarındaki değişimlerin sonucunda önceden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeme durumudur. Kazanılmış direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir (44).

Kromozomal direnç, bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle bakterilerin kromozomunda meydana gelen spontan mutasyonlar bakteri hücresinde yapısal değişimlere sebep olur. Bu mutasyonlar sonucunda hücrenin ilaca permeabilitesi azalabilir veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olabilir. Streptomisin, aminoglikozid, eritromisin, linkomisine karşı görülen direnç örnek olarak verilebilir. Klinikte bu direncin görülme oranı 10^{-7} - 10^{-12} 'dir. Ancak rifampisin ile tedavide spontan mutasyon olasılığı 10^{-5} civarında olup tek başına kullanıldığında rifampisine dirençli mutantların ortaya çıkması nedeni ile tedavi başarısızlığı yüksektir (44).

Ekstrakromozomal direnç, çeşitli yollarla aktarılan plazmid, transpozon ve integron adı verilen genetik elemanlara bağlıdır.

Plazmidler; bakterilerde kromozomdan bağımsız olarak replike olabilen ekstrakromozomal DNA parçacıklarıdır. Genel olarak plazmidler bakterilerin hayatta kalabilmesi için gerekli yapılar değildir. Daha çok bakteriyel replikasyonu etkiledikleri için bakteri evriminde, özellikle de toksinlere, bakteriyofaj ve antimikrobiyallere karşı geliştirilen dirençte önemlidir. Birçok bakteriyel tür plazmid transferi ve ekspresyonu yeteneğine sahiptir. Plazmitler aynı veya farklı cinse ait bakteriler arasında transfer edilebilir. R(direnç)-Plazmitler, yapılarında antimikrobiyallere, ağır metaller ve kimyasal maddelere karşı direnç genleri taşırlar. Birçok direnç genini taşıyan plazmidlerin bakteriler arasında transferi, kromozomal mutasyonlara göre daha hızlı ve etkili bir şekilde antimikrobiyal direnç

gelişimine neden olabilir. Günümüzde R-plazmidlerin çoğu tanımlanmıştır. İnsan ve hayvanlardan alınan bakteri izolatlarındaki R-plazmidler büyük yapısal benzerlikler göstermektedir (46).

Transpozonlar; bakteri kromozomunun değişik yerlerine yerleşebilen veya kromozomdan plazmide, plazmidden plazmide, plazmidden DNA veya bakteriyofaja aktarılabilen; kendi kendilerine replike olamayan, o nedenle kromozom, plazmid veya bakteriyofaj gibi bir replikon üzerinde bulunan DNA dizileridir (47).

İntegronlar; mobil gen ekspresyon elemanları olarak tanımlanır. İntegronlar yapılarında gen, gen kasetleri ve o genin rekombinasyon bölgelerini içerebilirler. İntegraz geni integron tarafından taşınan gen kasetinin diğer DNA'lara entegre edilmesinden sorumludur. İntegronlar kromozomlar, plazmitler veya transpozonların yapısında bulunur ve birçok integronun antimikrobiyal direnç faktörlerini taşıdıkları belirtilmektedir (46).

Ekstrakromozomal direnç antimikrobiyal direncin yayılmasının en önemli nedenidir. Direnç genlerini taşıyan genetik materyal ve plazmidler bir bakteriden diğerine transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon ve transpozisyon gibi mekanizmalarla aktarılırlar. Kromozom veya plazmid üzerindeki direnç genleri, bakterinin bölünmesi ile yavru hücrelere aktarılır (vertikal geçiş). Bu yeni hücrelerin çoğalması ile de dirençli suşun ve direnç genlerinin yayılımı gerçekleşir (klonal yayılım). Plazmidler konjugasyon ile de yatay olarak aktarılabilir (47).

Konjugasyon, yatay gen transfer mekanizmaları arasında en çok araştırılan mekanizmadır. Konjugasyon iki bakteri hücresinin teması sonucunda genetik materyalin çok aşamalı transferi olarak tanımlanmaktadır. Konjugasyon, antimikrobiyal direnç genlerinin transferinden sorumlu en önemli mekanizma olarak kabul edilir. Çünkü transformasyondan daha etkili gen aktarımı sağlar ve transdüksiyondan daha geniş bir bakteri çeşidini kapsar (46). Bakteriler arasında antibiyotik direnç genlerinin plazmid ile aktarılması; β -laktam, kinolon, aminoglikozid, tetrasiklin ve sülfonamid grubu antimikrobiyallere karşı direncin gelişmesini ve yayılmasını sağlamaktadır (48). Konjugasyonda direnç genleri transferi sadece plazmid transferi ile değil aynı zamanda transpozon ve integron transferi ile de gerçekleşebilir. Son yıllarda direnç genlerinin özellikle transpozonlarca taşındıkları anlaşılmıştır (46).

Transformasyon, ortamda serbest bulunan DNA'nın bakteri hücresi içine alınması olup bu

şekilde de direnç genleri aktarılabılır. *Neisseria* türleri ve streptokoklarda patojen ve non-patojen türler arasında gen aktarımı sonucu penisilin bağlayan protein (PBP) değişimlerinin transformasyon ile gerçekleştiği düşünülmektedir (47).

Transdüksiyon; klinik açıdan önemi bilinmeyen bu aktarım, bakteriyofajla direnç genlerinin transferi olup genellikle laboratuvar koşullarında gerçekleştirilir (47).

Çapraz Direnç

Belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, Aynı veya benzer mekanizma ile çalışan başka ilaçlara karşı da dirençli olması durumudur. Bu durum sıklıkla yapısal olarak benzerlik gösteren ilaçlar arasında gözlenmektedir: oleandomisin-eritromisin, kanamisin-neomisin gibi. Ancak bazen birbiriyle hiç ilgisi olmayan ilaçlar arasında da görülebilir. Eritromisin-linkomisin arasındaki çapraz direnç buna örnek olarak gösterilebilir. Kromozomal veya ekstrakromozomal orijinli olabilir (46).

2.6.1. Gram Negatif Bakterilerde Direnç Mekanizmaları

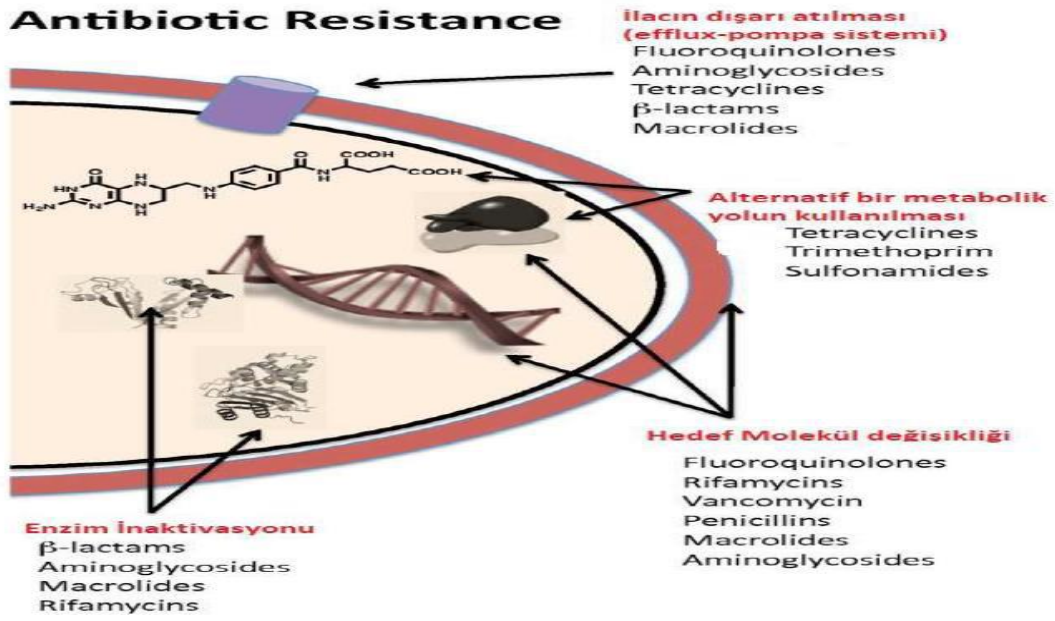
Bir antimikrobiyal sınıfa karşı direncin genellikle birden fazla biyokimyasal yolla elde edilebildiğini ve bir bakteri hücresinin, bir antibiyotığın etkisinden kurtulmak için bir dizi direnç mekanizmasını kullanma becerisine sahip olabileceğini belirtmek gerekir.

Öte yandan bakteri türlerinin bazı direnç mekanizmalarını diğerlerine tercih edecek şekilde evrimleştiği görülüyor. Örneğin, gram-negatif bakterilerde β -laktamlara karşı direncin baskın mekanizması, β -laktamazların üretilmesidir; oysa gram-pozitif organizmalarda bu bileşiklere karşı direnç, çoğunlukla penisilin bağlayan proteinler (PBP'ler) olan hedef bölgelerinin modifikasyonları ile sağlanır. Bu durum muhtemelen gram negatifler ve gram pozitifler arasındaki hücre zarındaki büyük farklılıklardan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (49).

Gram-negatif bakterilerde, bir dış zarın varlığı moleküllerin periplazmik boşluğa girişini "kontrol etmeye" izin verir. Aslında çoğu β -laktam, iç zarda bulunan PBP'lere ulaşmak için spesifik porinlere ihtiyaç duyar. Bu nedenle bakteri hücresi, bu moleküllerin periplazmik boşluğa erişimini kontrol ederek, kinetiği antibiyotik molekülünün yok edilmesi lehine çevirecek yeterli konsantrasyonlarda β -laktamaz üretimine izin verir. Tersine, bu "bölümlere ayırma" avantajı gram-pozitif organizmalarda yoktur (49).

Gram negatif bakterilerde en sık saptanan direnç mekanizmaları şunlardır (Şekil 2.2) (50).

- İlacın Enzimatik İnaktivasyonu
- İç ve Dış Membran Permeabilitesinde Azalma
- İlacın Dışarı Atılması (Aktif Pompa Sistemi)
- Alternatif Bir Metabolik Yolun Kullanılması



Şekil 2.2: Antibiyotik direnç mekanizması (51).

2.6.1.1. İlacın Enzimatik İnaktivasyonu

Gram-negatif bakteriler birçok antibiyotiği parçalayan enzimler sentezler. Bu durum antibiyotik direncinde en önemli mekanizmalardan biridir. Bu grupta β -laktam antibiyotikleri parçalayan β -laktamazlar, aminoglikozidlerin yapısını modifiye eden asetilaz, adenilaz ve fosforilaz enzimleri, kloramfenikölü parçalayan kloromfenikol asetil transferaz ve eritromisini inaktive eden eritromisin esteraz sayılabilir (47).

β -laktamazlar

β -laktam antibiyotiklerini hidroliz eden bu enzimler, 1980’de Ambler tarafından korunmuş ve ayırt edici amino asit motiflerine dayanarak A, B, C ve D olmak üzere dört moleküler grup şeklinde sınıflandırılmıştır. İlk başta serin ve metallo β -laktamaz olarak (sınıf A, B) iki gruba ayırmıştır. Jaurin ve Grundstrom ikilisi 1981’de Sınıf C sefalosporinazları

tanımlanmıştır. 1980'lerin sonlarına doğru sınıf D oksasilin hidroliz eden enzimler sınıflandırılmaya dahil edilmiştir (52). Moleküler yöntemlerin ilerlemesiyle, β -laktamlara direnç geliştiren klinik izolatlarda, bu dirençten sorumlu genlerin amino asit ve nükleotit sekanslarını belirlemek oldukça kolaylaşmıştır. 2009'un sonlarına doğru, β -laktamazlar için veri bankalarında bulunan protein sekanslarının sayısı 890'ı aşmıştır (53).

Gram negatif bakterilerde günümüzde klinik olarak ciddi sorun oluşturabilecek üç tür β -laktamaz üretimi söz konusudur (50):

- GSBL (Genişlemiş Spektrumlu β -laktamaz)
- Karbapenemazlar
- Kromozomal indüklenen enzimler,

GSBL

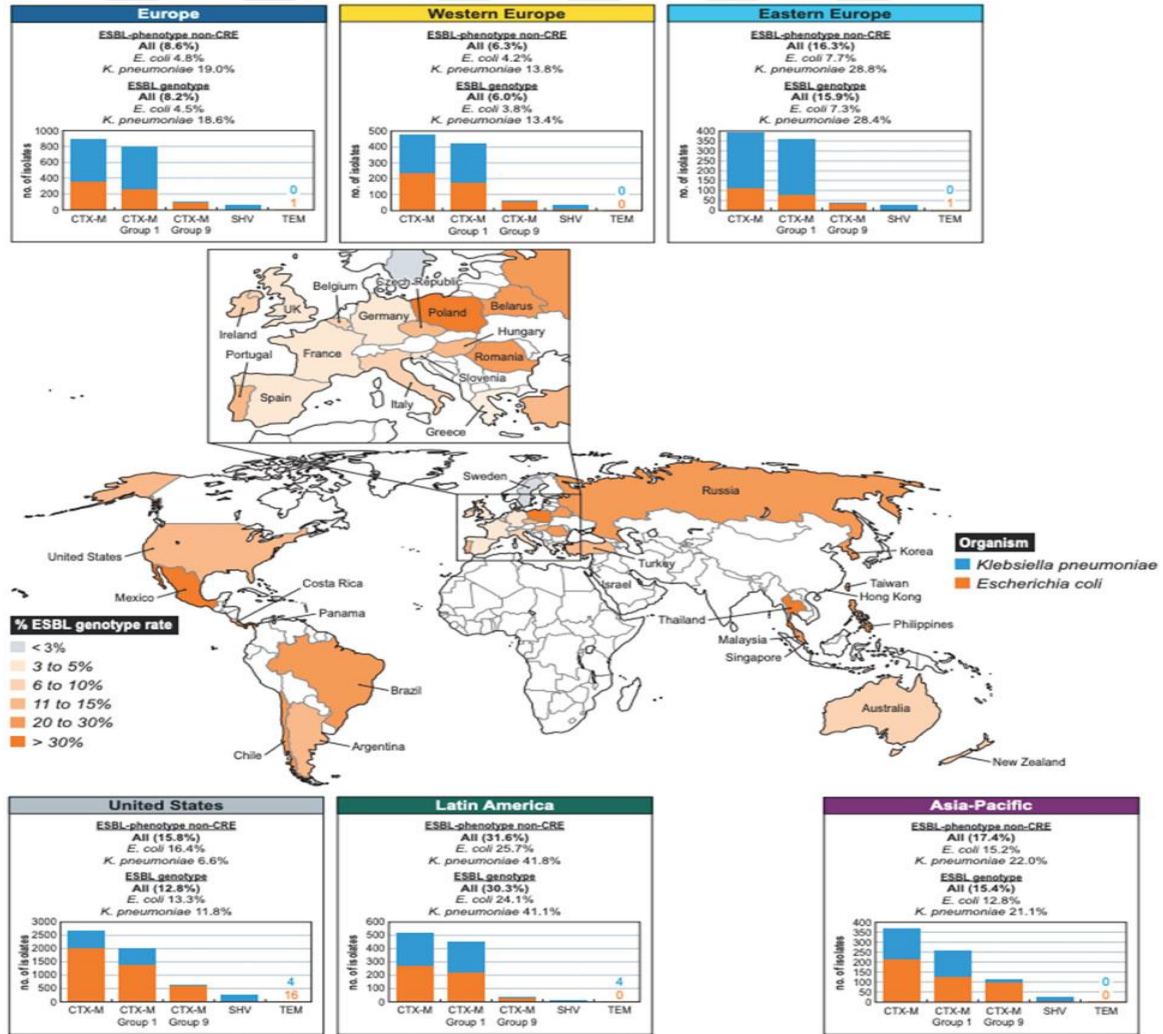
GSBL; oksimino- β -laktamlar (sefuroksim, 3. ve 4. kuşak sefalosporinler ve aztreonam) da dahil olmak üzere penisilinler ve sefalosporinlerin çoğunu hidrolize eden, ancak sefamisinler ve karbapenemleri etkilemeyen enzimlerdir. GSBL'ler β -laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) ile inhibe olur. GSBL prevalansı; tür, coğrafi bölge, hastane/servis, hasta özellikleri, enfeksiyon tipi gibi birçok faktörden etkilendiği için, veriler çalışmadan çalışmaya değişmektedir (54). GSBL'lerin çoğu kazanılmış, plazmidlerce kodlanan enzimlerdir. En sık ve en önemli direnç mekanizması, β -laktam halkasını hidrolize ederek bu grup antibiyotikleri inaktive edebilen β -laktamaz enzimi üretimidir. 1960'larda gram negatifler arasında, ampisilini hidrolize edebilen, plazmit kodlu yeni bir β -laktamaz bulundu (ilk olarak bulunduğu hastanın adını alarak TEM-1(Temoneira) olarak adlandırıldı (55). O andan itibaren, yeni nesil β -laktamların gelişimini sistematik olarak, antibiyotik güdümlü adaptif bakteriyel evrimin en iyi örneği olan bir süreçte, pazara ulaşan her türlü yeni bileşiği yok edebilen enzimlerin hızlı bir şekilde ortaya çıkışı takip etti. β -laktamazları kodlayan genler genellikle *Bla* olarak adlandırılır ve ardından spesifik enzimin adı gelir (örn. *Bla_{TEM}*) ve bunlar kromozomda bulunur veya aksesuar genomun bir parçası olarak mobil genetik elementlerde (MGE) lokalize edilir. Bu genler aynı zamanda integronların bir parçasını oluştururken de bulunabilir, Buda onların yayılmasını kolaylaştıran bir durumdur (49).

Bugüne kadar 1000'den fazla farklı β -laktamaz tanımlanmış (www.lahey.org/studies) ve bakteriyel evrimin normal sürecinin bir parçası olarak çok daha fazlasının rapor edilmeye

devam etmesi muhtemeldir (49).

Bu kadar çok sayıda enzimi gruplandırmak amacıyla Ambler sınıflandırması yaygın olarak kullanılmaktadır. Ambler sınıflandırması amino asit dizisi özdeşliğine dayanır.

A Sınıfı β -laktamazlar, (CTX-M, PER, VEB, TEM ve SHV) C ve D sınıfı enzimlerle paylaştıkları bir özellik olan, katalitik bölgede bir serin kalıntısına sahiptir. A sınıfı enzimlerin çoğu klavulanik asit tarafından inhibe edilir ve bunların aktivite spektrumu monobaktamları içerir ancak sefamisinleri (sefoksitin ve sefotetan) içermez. A Sınıfı enzimler, penisilinazlardan (TEM-1 ve SHV-1) yalnızca penisilini hidrolize eder, GSBL'lerden (CTX-M ve KPC (Klebsiella pneumoniae karbapenemaz)) gibi karbapenemazlara kadar çok farklı katalitik aktivitelere sahip geniş bir protein yelpazesi içerir (49). A sınıfı β -laktamazların dünya genelinde dağılımı şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.3: CTX-M-, TEM- ve SHV üreten izolatların ABD, Asya-Pasifik, Avrupa ve Latin Amerika'daki dağılımı (56).

CTX-M, dünya çapında *K. pneumoniae*, *E. coli* ve diğer Enterobacteriaceae'de yaygın olarak bulunan plazmit kodlu bir GSBL'dir. TEM-3 gibi diğer Ambler sınıf A GSBL'lerin aksine, bu enzim TEM veya SHV'den türetilmemiştir; daha ziyade mevcut kanıtlar bunun muhtemelen *Kluyvera* spp. (insanda önemli patojenik önemi olmayan çevresel bir bakteri) 'den HGT(Horizantal Gen Transferi) yoluyla edinildiğini göstermektedir (57). CTX-M enzimlerini kodlayan genlerin, ekleme dizileri ISEcp1 ve Tn402 benzeri transpozonlar gibi transpoze edilebilir elementlerle ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu hareketli elementler, yayılım için araç görevi görebilecek geniş yelpazedeki konjugatif plazmitler veya faj benzeri diziler tarafından yakalanabilir (58). Sonuç olarak, CTX-M enzimleri dünya çapında en yaygın GSBL haline gelmiştir ve *E. coli* ve *K. pneumoniae*'deki sefalosporin direncinin büyük bir kısmından sorumludur (49).

B Sınıfı enzimler, β -laktam halkasının nükleofilik saldırısı için kofaktör olarak (serin kalıntısı yerine) bir metal iyonu (çoğunlukla Çinko) kullanmaları nedeniyle metallo- β -laktamazlar olarak da bilinir. Metallo- β -laktamazlar klavulanik asit veya tazobaktam tarafından inhibe edilmez ve sefamisinleri etkili bir şekilde hidrolize etmelerine rağmen aztreonam tipik olarak zayıf bir substrattır. Bu enzimlerin, genellikle patojenik olmayan bakterilerin kromozomunda bulunan genler tarafından kodlandığı 50 yıldan fazla bir süre önce keşfedildi (49).

Sınıf C β -laktamazlar, sefamisinler de dahil olmak üzere tüm penisilinlere ve sefalosporinlere (sefepim genellikle zayıf bir substrat olmasına rağmen) direnç kazandırır. Aztreonamı güvenilir bir şekilde hidrolize etmezler ve klavulanik asit tarafından inhibe edilmezler. Klinik açıdan en önemli sınıf C enzimi, genellikle kromozom üzerinde kodlanan bir sefalosporinaz olan AmpC'dir (ancak *bla_{ampC}* geni plazmidlerde de bulunmuştur). Kromozomal AmpC üretimi, diğerlerinin yanı sıra *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *Providencia* spp., *Morganella morganii* ve *P. aeruginosa*'nın ayırt edici özelliğidir. Buna karşılık *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella* spp. ve *Stenotrophomonas* spp. *bla_{ampC}* geninin çekirdek genomunda bulunmadığı türlerin klasik örnekleridir (59).

D Sınıfı β -laktamazlar, oksasilini hidrolize etme yetenekleri (dolayısıyla adları) ve klavulanik asit tarafından zayıf bir şekilde inhibe edilmeleri nedeniyle başlangıçta A sınıfı penisilinazlardan ayrılan çok çeşitli enzimleri içerir. Üçüncü nesil sefalosporinleri ve karbapenemleri parçalama yeteneğine sahip enzimler dahil olmak üzere birçok OXA varyantı tanımlanmıştır. D Sınıfı enzimler özellikle *A. baumannii*'de yaygın olmasına rağmen,

E. coli, *Enterobacter spp.*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* gibi klinik olarak ilgili diğer birçok organizmada da rapor edilmiştir (60). GSBL üretimi en sık *Enterobacteriaceae* ailesinde; özellikle hastanelerde izlenmekle birlikte, bakımevleri ve 2000’li yıllardan itibaren de toplum kökenli enfeksiyonlarda da karşımıza çıkmaktadır. GSBL üretiminin en çok saptandığı bakteriler *E. coli* ve *K. pneumoniae*’dır. GSBL prevalansı; tür, coğrafi bölge, hastane/servis, hasta özellikleri, enfeksiyon çeşidi gibi birçok faktörden etkilendiği için, veriler değişkenlik göstermektedir (61, 62). GSBL’lerin çoğu kazanılmış, plazmidlerce kodlanan enzimlerdir. Enzimin ekspresyon düzeyi, yapısal ve hidroliz özellikleriyle birlikte bulunan diğer direnç mekanizmaları (diğer β -laktamazlar, aktif pompa sistemleri, geçirgenlik değişimleri) GSBL üreten izolatlarda çok çeşitli direnç fenotipleri görülmesine neden olmaktadır (62, 63).

Kromozomal İndüklenen Enzimler

Enterobacter cloacae’nın Amp-C türü enzimi en önemli örnektir. Amp-C enzimini kromozomunda taşıyan *E. cloacae*; tüm sefalosporinlere, aztreonama ve penisilinlere karşı direnç mekanizması taşıyor demektir. Bu enzim genetik olarak kontrollü ve normalde az olarak sentezlenir. Ancak mutasyonlar sonucu enzimin fazla sentezlenmesiyle bakteri β -laktam antibiyotiklere dirençli hale gelir. Bu durumdan dolayı izole edilen *E. cloacae* izolatu duyarlı bulunsa dahi, karbapenemler hariç diğer tüm β -laktamlar bu bakterinin ağır enfeksiyonlarında güvenle kullanılamaz (54).

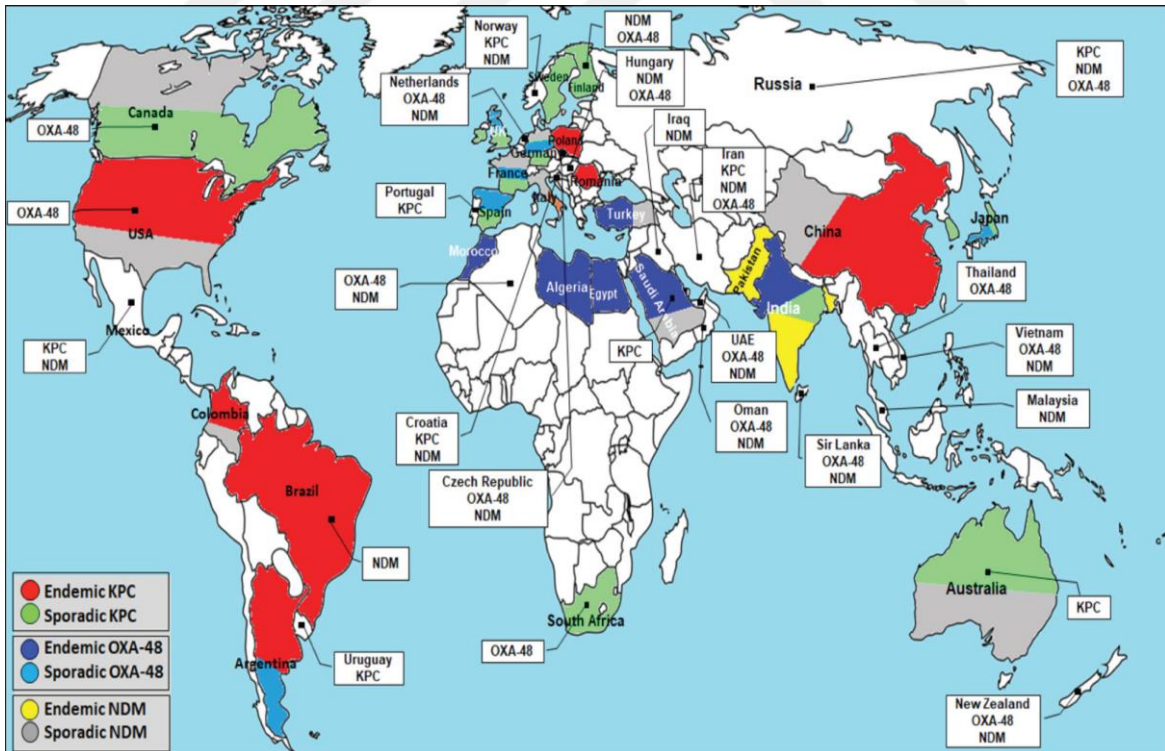
Karbapenemazlar

Karbapenemler β -laktam sınıfı içerisinde en geniş spektruma sahip, hızlı bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir ve geniş antibakteriyel spektrumları nedeni ile ciddi enfeksiyonların tedavisinde yaygın kullanılmaktadırlar. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemleri hidrolize etme yeteneğine sahiptirler. Bu grup, penisilin bağlayan proteinlere güçlü bir şekilde bağlanır ve genel yapı ve büyüklükleri nedeniyle porin kanallarından sızmaları ve bakteri hücrelerine geçişleri çok iyidir (54). Karbapenemazlar, sınıf A, B ve D β -laktamaz üyesidir.

Sınıf A: KPC, NMC, IMI, SME ve GES enzim grubudur. Monobaktamlar da dahil tüm β -laktamlara (sefamisinler hariç) etkilidir. Bugüne kadar, A sınıfı karbapenemazların beş farklı ailesi tanımlanmış olup, bunların üçü tipik olarak kromozomal olarak kodlanmıştır (IMI [imipenem-hidrolize edici enzim], SME [*Serratia marcescens* enzimi] ve NMC [metallo-enzim olmayan karbapenemaz]) ve geri kalan ikisi (KPC ve GES) klasik olarak plazmitlerde

veya diğer MGE'lerde barındırılır. Bunların hepsi klavulanik asit ve tazobaktam tarafından inhibe edilir ve aztreonamı hidrolize eder ancak sefamisinleri hidrolize etmez (49).

KPC ilk olarak 1996 yılında ABD'nin Kuzey Carolina eyaletindeki bir hastadan elde edilen bir *K. pneumoniae*'den tespit edildi (64). Sonraki birkaç yıl içerisinde global bir yayılım gösteren enzim Amerika'nın birçok eyaletine, Porto Riko, Kolombiya, Yunanistan, İsrail ve Çin gibi dünyanın birçok bölgesine yayılmıştır. KPC üreten bakterilerin sebep olduğu salgınlar Avrupa ve Güney Amerika'da da rapor edilmiştir (64). Bu enzimler ağırlıklı olarak *Klebsiella* spp.'de bulunmasına rağmen (bu nedenle adı *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz), diğerlerinin yanı sıra *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Proteus mirabilis* ve *Salmonella* spp. dahil olmak üzere diğer birçok gram-negatifte de rapor edilmiştir. Ayrıca *P. aeruginosa* gibi laktoz fermente etmeyen organizmalarda da bulunmuştur (49). İlk tanımlanmalarından bugüne kadar aminoasit sekanslarındaki farklılıklara göre 153 KPC varyantı tanımlanmıştır. KPC tipi enzimler birçok farklı replikasyon orjinine sahip plazmitlerde tanımlanmıştır ve çoğunlukla bu plazmitler konjugatifdir. Bu durum direncin hızlı yayılımını sağlamakta ve bu da klinik olarak çok ciddi sorunlara yol açmaktadır (65). Karbapenemazların dünya genelinde dağılımı şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4: Klinik açıdan en önemli karbapenemaz genlerinin dünya çapında dağılımı KPC, Yeni NDM ve OXA-48. Beyaz dikdörtgenler içinde listelenen karbapenemazlar yakın zamanda kaydedilmiştir (66).

GES ilk olarak 2000 yılında rapor edilmiştir ve bu aile şimdi 57 varyantı içermektedir. Tüm GES varyantları geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilir. Ancak bazı varyantlarda bulunan amino asitlerde (104 ve 170 pozisyonları) meydana gelen mutasyon bu GES varyantlarını karbapenemlere karşı aktivite göstermelerine sebep olmuştur (51).

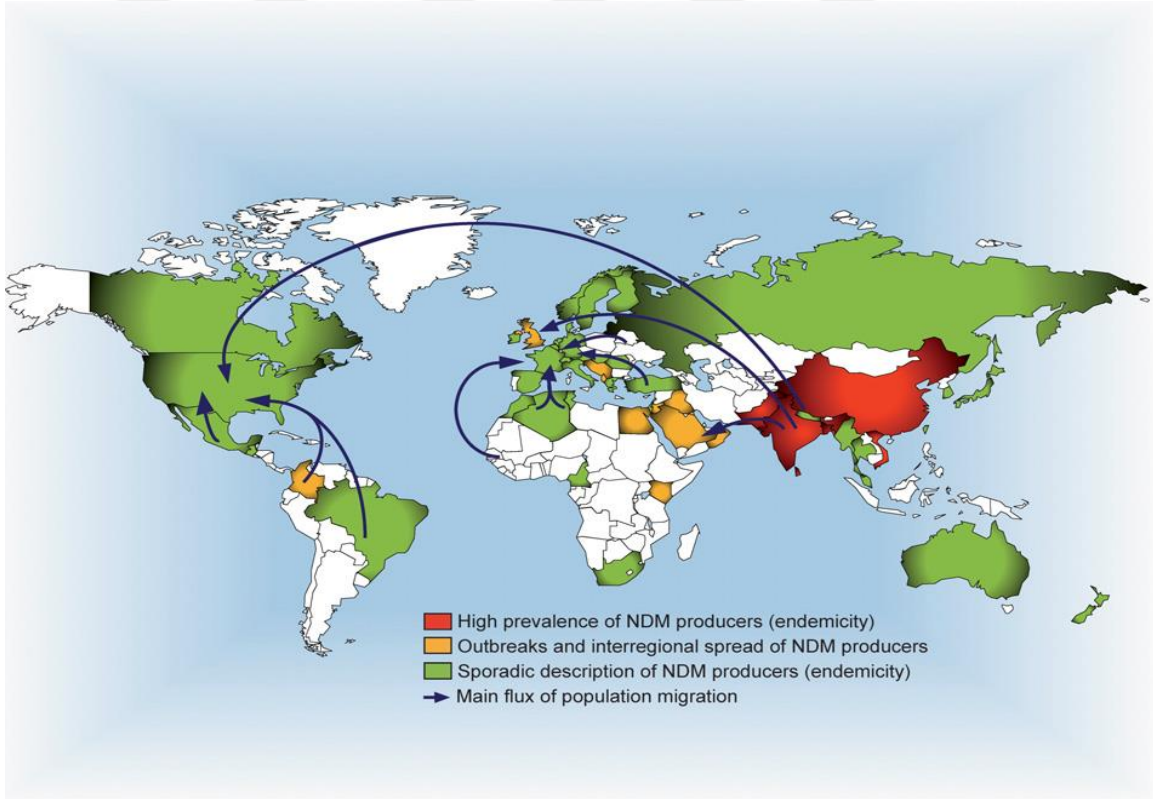
Sınıf B: Metallo- β -laktamazlardır. Aztreonam dışında tüm β -laktamlara etkilidir. Bu enzimler ilk olarak patojen olmayan bakterilerin genellikle kromozomunda lokalize olarak 50 yıldan daha uzun bir süre önce hayatımıza girse de 1990'lı yıllarda IMP ve VIM gibi enzimlerin Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp.'nin ve Acinetobacter türlerinin klinik suşlarında giderek daha fazla rapor edilmesiyle durum çarpıcı biçimde değişmiştir. Metallo- β -laktamazların 10 türü vardır, ancak klinik açıdan önemli olanların çoğu IMP, VIM, SPM ve NDM olmak üzere 4 aileye aittir. Yüksek sıklıkları ve dünya çapındaki yayılmaları göz önüne alındığında, IMP, VIM ve NDM en önemlileridir (49).

İlk IMP tipi enzimler 1990'ların başında Japonya'da *S. marcescens*'te tanımlandı ve o zamandan bu yana diğer organizmaların yanı sıra Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp. ve Acinetobacter spp.'de şimdiye kadar 98 IMP varyantı tespit edilmiş ve IMP tipi karbapenemaz üreticileri dünya çapında yayılım göstermiştir. IMP tipi enzimlerin geniş yayılımı çoğunlukla Japonya, Tayvan ve Doğu Çin'de gösterilmiş, ancak birçok ülkeden yine rapor edilmiştir. Bu enzimleri üreten izolatlar bazen nozokomiyal salgınlara neden olmuştur (49, 51).

VIM tipi enzimlerle ilgili olarak, bunlar ilk olarak 1990'ların sonlarında İtalya'nın Verona kentinde tanımlandı (Verona integron tarafından kodlanan metallo β -laktamaz) ve o zamandan beri tüm dünyaya yayıldı. Bu enzimler başlangıçta *P. aeruginosa*'da bulundu, ancak bunların sınıf-1 integronlarla ilişkileri ve bunları farklı MGE türlerinde konumlandıran raporlarla birlikte, bunların dünya çapında büyük bir endişe haline gelen birçok farklı bakteri türüne yayılmasına muhtemelen katkıda bulunmuştur. Bugüne kadar açıklanan birçok farklı VIM varyantı arasında VIM-2, Avrupa, Asya, Afrika ve Amerika'dan gelen raporlara göre en yaygın şekilde dağılan enzimdir (67).

Hindistan'ın Yeni Delhi kentindeki bir hastaneye kabul edilen İsveçli bir hastadan 2008 yılında alınan *K. pneumoniae* izolatında yeni bir karbapenemaz tanımlandı. Enzim, bulunduğu yerden dolayı (Yeni Delhi Metallo β -laktamaz) NDM-1 olarak adlandırıldı (68). NDM-1, Ambler sınıf B enzimlerinin diğer üyeleriyle çok az amino asit benzerliği paylaşır (örneğin, VIM-1 ile %32), ancak hidrolitik profili hepsine çok benzer. *Bla_{NDM}* geni, farklı

gram-negatif türleri arasında kolayca aktarılabilen çeşitli plazmit türlerinde bulunmuştur ve aynı zamanda ISaba125 gibi ekleme dizilerinin varlığıyla da ilişkilendirilmiştir. Metallo-enzimleri kodlayan diğer genlerin aksine *bla_{NDM}* genellikle integron benzeri yapılarla ilişkili değildir (69). Bununla birlikte, NDM-1 hızla dünya çapında yayıldı ve bulaşmasını önlemeye yönelik birçok çabaya rağmen dünya çapında nasıl kolaylıkla yayılabileceğinin başlıca örneği haline geldi. Ayrıca, NDM enzimlerini kodlayan MGE'leri içeren genler genellikle diğer karbapenemazları kodlayan genleri de (örn. VIM tipi ve OXA tipi enzimler), GSBL, AME (Aminoglikozid Modifiye edici Enzimler), makrolidlere direnç kazandıran metilazlar, kinolon direnci Qnr proteini, rifampini değiştiren enzimler ve sülfametoksazol direncinde rol oynayan proteinler ve diğerlerini bulundurmaktadır. Bu nedenle, NDM-1'in varlığına sıklıkla çoklu ilaca dirençli bir fenotip eşlik eder (49). NDM geninin coğrafi dağılımı şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.5: NDM üreticilerinin coğrafi yayılımı. *bla_{NDM}* genlerinin dünya çapında yayılması ve ana akışı nüfus göçü temsil edilmektedir (70).

NDM-1'in ortaya çıkışı özellikle endişe vericidir çünkü *bla_{NDM}* geninin farklı gram-negatif organizma türleri arasında kolayca aktarılabildiği olduğu, kısa sürede birçok ülkeye yayıldığı ve çeşitli bölgelerde en korkulan direnç belirleyicilerinden biri haline geldiği gösterilmiştir (67). Ek olarak, Hindistan alt kıtasında (yani Hindistan ve Pakistan) *bla_{NDM}* geni yalnızca

hastane kaynaklı patojenler arasında yaygın olarak yayılmakla kalmıyor, aynı zamanda toplumla ilişkili izolatlarda da sıklıkla bulunuyor. Ayrıca, birçok raporda; toprakta ve insan tüketimine yönelik içme suyundan alınan örneklerde gram-negatif bakterilerin NDM-1 ürettiği gösterilmiştir; bu da bu genlerin insan mikrobiyotası yoluyla yayılabileceğini düşündürmektedir (49).

Sınıf D: OXA (oksasilin hidroliz eden) β -laktamazlar, 1970'lerin sonlarında ve 1980'lerin başında en yaygın plazmit kodlu ve genel olarak Enterobacteriaceae ve *P. aeruginosa*'da tanımlanmış enzimlerdir (51). Karbapenemler üzerinde zayıf hidrolitik aktivitesi mevcuttur, aztreonama etkili değildir. Oksasilin ve kloksasilin üzerinde etkilidir (54). Üçüncü kuşak sefalosporinleri (GSBL'ler) (örneğin, *P. aeruginosa*'dan OXA-11) ve karbapenemleri (örneğin, *A. baumannii*'den OXA-23) parçalama yeteneğine sahip enzimler dahil olmak üzere şimdiye dek 1184 OXA varyantı belirlenmiştir (51). Karbapenem hidroliz eden Sınıf D β -laktamazlar 12 alt gruba ayrılırlar. *Bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24/40}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-134}, *bla*_{OXA-143}, *bla*_{OXA-211}, *bla*_{OXA-213}, *bla*_{OXA-214}, *bla*_{OXA-229} ve *bla*_{OXA-235} alt gruplarına ait enzimler, bakteriyel patojenlerde geniş yayılımları nedeniyle büyük klinik öneme sahiptir. Bu enzimlerin çoğu, genellikle *A. baumannii*'de olmak üzere çeşitli *Acinetobacter* izolatlarında tespit edilirken, *bla*_{OXA-48} ve türevleri Enterobacteriaceae'de tanımlanmıştır (51). *Bla*_{OXA-48}, ilk olarak ülkemizde 2001 yılında *K. pneumoniae*'nin ÇİD bir izolatından tanımlanan, geniş çapta yayılmış bir D sınıfı karbapenemazdır (60). *Bla*_{OXA-48} üreten izolatlar artık Avrupa'da da yaygın bir şekilde tespit edilirken, ülkemiz dışındaki ana rezervuarlardan biri de Kuzey Afrika ülkeleridir. Almanya, Fransa, Hollanda, İngiltere, İspanya ve de İsviçre dahil olmak üzere birçok ülkede *bla*_{OXA-48} üreten *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *E. cloacae*'yi içeren hastane salgınları bildirilmiştir (65).

Karbapenemazlar, tüm β -laktam antibiyotiklere karşı dirence yol açmaları nedeniyle endişe vericidir. Karbapenemaz üreten suşlar genellikle diğer direnç mekanizmalarını da taşıdıkları için çoklu dirençlidirler (54).

2.6.1.2. İç ve Dış Membran Permeabilitesinde Azalma

İlacın hücre içine girebilmesindeki azalmadan veya hızla dışarı atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinden kaynaklanan dirençtir.

Antibiyotiklerin etkisini gösterebilmesi için bakteri hücresine penetre olması gereklidir. Aminoglikozidlerin hücre içine girmesi gerekirken, β -laktamların sitoplazmik zarın dış yüzeyine tutunması gerekir.

Gram-negatif bakterilerde bulunan dış membran, lipidden zengin bir tabaka olup antibiyotiklerin hücreye girmesini engelleyen bariyer görevi yapar. İlacın hücreye girmesi, dış membrandaki porinler aracılığı ile olur. Ancak bakteriler bazı koşullarda bulunduğu ortamın ozmolaritesine göre farklı porinler yapma yeteneğindedir. Bu mutasyonlar sonucunda dirençli suşlar ortaya çıkabilir. Örneğin *P. aeruginosa* suşlarında OprD diye özel bir porindeki değişim karbapenem direncine yol açabilir. Dış zar geçirgenliği kinolon ve aminoglikozid direncinde de önemlidir (47).

İç membran (sitoplazmik zar) permeabilitesindeki değişikliklerle kazanılan dirence örnek olarak aminoglikozidleri verebiliriz. Aminoglikozidlerin sitoplazmik zarı geçmesi ise enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olur. Hiperozmolarite, düşük ph ve anaerob koşullar bu evreyi engeller (71)

2.6.1.3. İlacın Dışarı Atılması (Aktif Pompa Sistemi)

Tetrasiklini *E. coli* sitoplazmasından dışarı pompalayabilen bir akış sisteminin tanımı 1980'lerin başına kadar uzanır. O zamandan bu yana, birçok akış pompası sınıfı hem gram negatif hem de gram pozitif patojenlerle karakterize edilmiştir. Bu direnç mekanizması, protein sentezi inhibitörleri, florokinolonlar, β -laktamlar, karbapenemler ve polimiksinler dahil olmak üzere çok çeşitli antimikrobiyal sınıfı etkiler (49)

2.6.1.4. Alternatif Bir Metabolik Yolun Kullanılması

Bazı bakteriler hedef değişimlerinden farklı olarak ilaca duyarlı hedefe gereksinimi ortadan kaldıracak yeni bir metabolik yol geliştirirler. Sülfonamid ve trimetoprim direncinde böyle bir durum söz konusudur. Bakteriler folat sentezleme yerine ortamdan hazır folat alma özelliği kazanabilir (47).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kırşehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitelerinde 30.11.2022 ve 30.11.2023 tarihleri arasında 56 tane kültür pozitif Ventilator ilişkili pnömoni hastası tespit edildi. Bu hastalardan alınan ETA kültürlerinden izole edilen bakterilerin moleküler incelenmesi gerçekleştirildi. Çalışma prospektif bir çalışma olarak planlandı.

VİP Hastalarından ETA Örneklerinin Alınması

ETA örnekleri VİP şüphesi düşünülen hastalarda tanı koymak için klinisyenin talimatı sonucu alınmaktadır. Çalışmamız için özel olarak örnek toplanmamıştır. Alınan örneklerden VİP tanısı konulan hastaların örnekleri çalışmaya alındı. ETA örnekleri; steril şartlarda, örnek almak için tasarlanmış özel kateterler kullanılarak, entübasyon tüpünün içinden serum fizyolojik verilip aspire edilmesi yöntemiyle elde edildi.

ETA Örneklerinden Patojen Mikroorganizmaların İzole Edilmesi

Alınan endotrakeal aspirat örnekleri; koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve eozin metilen blueagara (EMB) ekimi yapılarak plaklar 35°C’de 24- 48 saat inkübe edildi. Ayrıca tüm örnekler için gram boyama yapıldı. İnkübasyon sonrasında üreme görülen petrilere steril öze yardımıyla tek koloni seçilerek Luria Bertani Broth (LB) Agar petrilere ekim yapıldı ve kültürlerin gliserol stokları yapılarak -20°C’de depolandı.

İzolatların Biyokimyasal Yöntemler ile Tanımlanması

İzolatların klasik tanımlanması biyokimyasal testler kullanılarak gerçekleştirildi. İzolatların her biri LB agar petrilere üretili ve izolatlardan Mac Farland 0.5 bulanıklık hazırlandı. Hazırlanan süspansiyon Vitek-2 Gram negatif panellere yüklendi ve Vitek-2 otomatize sistem kullanılarak, biyokimyasal tanımlamaları gerçekleştirildi.

İzolatların Antibiyotik Direnç Profilinin Belirlenmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre belirlenecektir (72). Ampisilin (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg), piperasilin/tazobaktam (110/10 µg), seftriakson (30 µg), seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), sefoperazon (30 µg), sefuroksim (30 µg), sefaklor (30 µg), sefoksitin (30 µg), sefepim (30 µg), gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg), aztreonam (30 µg), siprofloksasin (5

µg)), nalidiksik asit (30 µg), ofloksasin (10 µg) antibiyotik diskleri izolatlarının antibiyotik direnç paternlerini saptamak için kullanıldı. Antibiyogram sonucunda elde edilen zon çapları CLSI kriterlerine göre yorumlandı (73). Kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı.

ETA örneklerinden izole edilen izolatlardan Total DNA İzolasyonu

ETA örneklerinden izole edilen izolatların DNA izolasyonu için iki metot ile gerçekleştirildi.

İlk olarak izolatlardan total DNA izolasyonu kaynatma DNA metoduna göre gerçekleştirildi. Taze bir gecelik kültürde üreyen izolatlardan bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren eppendorf tüplerine aktarıldı. Eppendorf tüpler vorteks yardımı ile karıştırılarak homojen bir süspansiyon elde edildi. Eppendorf tüpleri 15 dk süresince 100°C'ye ayarlı su banyosunda kaynatıldı. Daha sonra tüpler 10 dk. 14.800 rpm'de santrifüj edilip süpernatant kısım yeni bir tüpe aktarıldı. Elde edilen total DNA örnekleri tez boyunca belirlenmek istenen genlerin çoğaltılmasında kullanıldı. Elde edilen total DNA'lar kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

İkinci olarak Tez Çalışması boyunca DNA dizin analizi gerçekleştirilecek olan genlerin çoğaltılmasında kullanılan DNA örnekleri Pure Link Mini DNA İzolasyon Kiti (Invitrogen, USA) kullanılarak, üretici firmanın prosedürü ile gerçekleştirildi.

ETA örneklerinden izole edilen İzolatlarda Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

İzolatlarda karbapenem direncinden sorumlu *bla_{KPC}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* karbapenemaz genleri, beta-laktam direncinden sorumlu *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1}*, *bla_{CTX-M-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{PER1}*, *bla_{VEB}*, *bla_{GES}* geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) genleri, kolistine direnç sağlayan *mcr1-5* genleri ve sınıf C β-laktamaz Amp-C direnci sağlayan *mox*, *cit*, *dha*, *acc*, *ebc*, *fox* genleri PZR yardımı ile çoğaltılıp tespit edildi. Genlerin çoğaltılmasında kullanılan primerler Tablo 3.1'de verilmiştir. PZR reaksiyonları 25 µl son hacimde, 1X Taq Buffer, 1,5mMMgCl, 200 µM herbir dNTP'den, 0,3 pmol/µl herbir primer çiftinden, 1,5 U Taq DNA polimeraz enzimi olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra reaksiyona kaynatma yöntemi ile izole edilen total DNA'dan 5 µl ilave edildi. Belirlenmek istenilen genlerin özelinde Tm sıcaklığı ve büyüklüklerine bağlı olarak uzama parametreleri belirlendi (Tablo 3.2). Bu parametreler belirlendikten sonra PZR döngüleri; ilk denetürasyon 95°C'de 3 dk., daha sonra 35 döngü denatürasyon 95°C'de 45 sn., Primer bağlanma Tm sıcaklığında

45 sn., Uzama 72°C’de gerekli sürede gerçekleştirildi. Son uzama basamağı 72 °C’de 5 dk. olacak şekilde PZR döngüleri gerçekleştirildi.

Gerçekleştirilen PZR işlemiyle elde edilen PZR ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektroforezinde 100 V’da 1 saat yürütüldü. Daha sonra U.V ışığı altında görüntülenen PZR ürünleri, bant varlığı ve büyüklüklerine göre incelenen genlerin tespiti belirlendi.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan primerler.

Hedef Gen	Primer	Sekans (5’3’)	Kaynak
Karbapenemaz	Fwd	TTGGTGGCATCGATTATCGG	(74)
	Rev	GAGCACTTCTTTGTGATGGC	
	Fwd	GGTTTGGCGATCTGGTTTC	(75)
	Rev	CGGAATGGCTCATCACGATC	
	Fwd	ATGTCACGTATCGCCGTCT	(76)
	Rev	TTTCAGAGCCTTACTGCCC	
	Fwd	ATTGGTCTATTTGACCGCGTC	(77)
	Rev	TGCTACTCAACGACTGAGCG	
	Fwd	CATGGTTTGGTGGTTCTTGT	(78)
	Rev	ATAATTTGGCGGACTTTGGC	
	Fwd	GGAATTCCATGAATAAATATTTTACTTGC	(79)
	Rev	CGGGATCCCGTTAAATAATATTCAGGTC	
	Fwd	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	(80)
	Rev	TGGATTGCACTTCATCTT GG	
	Fwd	GTTGTATGTAGAGCGCAGAGG	(81)
	Rev	ACCCACATACCAACCCACTTG	
	Fwd	ATGAAAAAATTTATACTTCC	(81)
	Rev	TTAAATGATTCCAAGATTTTC	

Tablo 3.1 (devam): Çalışmada kullanılan primerler.

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'3')	Kaynak
GSBL	<i>bla_{TEM}</i>	Fwd	AGTATTCAACATTTYCGTGT	(82)
		Rev	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	
	<i>bla_{CTX-M1}</i>	Fwd	GCGTGATAACCACTTCACCTC	
		Rev	TGAAGTAAGTGACCAGAATC	
	<i>bla_{CTX-M2}</i>	Fwd	TGATACCACCACGCCGCTC	
		Rev	TATTGCATCAGAAACCGTGGG	
	<i>bla_{GES}</i>	Fwd	ATGCGCTTCATTCACGCAC	
		Rev	CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	
	<i>bla_{PER1}</i>	Fwd	ATGAATGTCATCACAAAATG	
		Rev	TCAATCCGGACTCACT	
	<i>bla_{VEB}</i>	Fwd	ATTTCCTCGATGCAAAGCGT	
		Rev	TTATTCCGGAAGTCCCTGT	
	<i>bla_{OXA-1}</i>	Fwd	TTTTCTGTTGTTGGGTTTT	
		Rev	TTTCTTGGCTTTTATGCTTG	
	<i>bla_{SHV}</i>	Fwd	ATGCGTTATATTCGCCTGTG	
		Rev	TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
Plazmit replikasyon orijini	<i>HI1</i>	Fwd	GGAGCGATGGATTACTTCAGTAC	(86)
		Rev	TGCCGTTTCACCTCGTGAGTA	
	<i>HI2</i>	Fwd	TTTCTCCTGAGTCACCTGTAAACAC	
		Rev	GGCTCACTACCGTTGTCACTCCT	
	<i>II</i>	Fwd	CGAAAGCCGGACGGCAGAA	
		Rev	TCGTCGTTCCGCCAAGTTCGT	
	<i>X</i>	Fwd	AACCTTAGAGGCTATTTAAGTTGCTGAT	
		Rev	TGAGAGTCAATTTTTATCTCATGTTTTAGC	
	<i>L/M</i>	Fwd	GGATGAAAACATCAGCATCTGAAG	
		Rev	CTGCAGGGGCGATTCTTTAGG	
	<i>N</i>	Fwd	GTCTAACGAGCTTACCGAAG	
		Rev	GTTTCAACTCTGCCAAGTTC	
	<i>FIA</i>	Fwd	CCATGCTGGTTCTAGAGAAGGTG	
		Rev	GTATATCCTTACTGGCTTCCGCAG	

Tablo 3.1 (devam): Çalışmada kullanılan primerler.

Hedef Gen	Primer	Sekans (5'3')	Kaynak
<i>FIB</i>	Fwd	GGAGTTCTGACACACGATTTTCTG	(86)
	Rev	CTCCCGTCGCTTCAGGGCATT	
<i>W</i>	Fwd	CCTAAGAACAACAAAGCCCCCG	
	Rev	GGTGCGCGGCATAGAACCGT	
<i>Y</i>	Fwd	AATTCAAACAACACTGTGCAGCCTG	
	Rev	GCGAGAATGGACGATTACAAAACCTT	
<i>P</i>	Fwd	CTATGGCCCTGCAAACGCGCCAGAAA	
	Rev	TCACGCGCCAGGGCGCAGCC	
<i>FIC</i>	Fwd	GTGAACTGGCAGATGAGGAAGG	
	Rev	TTCTCCTCGTCGCCAAACTAGAT	
<i>A/C</i>	Fwd	GAGAACCAAAGACAAAGACCTGGA	
	Rev	ACGACAAACCTGAATTGCCTCCTT	
<i>T</i>	Fwd	TTGGCCTGTTTGTGCCTAAACCAT	
	Rev	CGTTGATTACACTTAGCTTTGGAC	
<i>FII_S</i>	Fwd	CTGTCGTAAGCTGATGGC	
	Rev	CTCTGCCACAACTTCAGC	
<i>F_{repB}</i>	Fwd	TGATCGTTTAAGGAATTTTG	
	Rev	GAAGATCAGTCACACCATCC	
<i>K</i>	Fwd	GCGGTCCGGAAAGCCAGAAAAC	
	Rev	TCTTTCACGAGCCCGCCAAA	
<i>B/O</i>	Rev	TCTGCGTTCCGCCAAGTTCGA	

Plazmit replikasyon orijini

Tablo 3.1 (devam): Çalışmada kullanılan primerler.

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'3')	Kaynak
Kolistin	<i>Mcr-1</i>	Fwd	CGTTCAGCAGTCATTATGCCAGTTTCTTTTCGCGTGC	(87)
		Rev	CTTACGCATATCAGGCTTGGTTGCTTGTACCGC	
	<i>Mcr-2</i>	Fwd	TGTTGCTTGTGCCGATTGGA	(88)
		Rev	AGATGGTATTGTTGGTTGCTG	
	<i>Mcr-3</i>	Fwd	CGCTTATGTTCTTTTTGGCACTGTATT	(89)
		Rev	TGAGCAATTTCACTATCGAGGTCTTG	
	<i>Mcr-4</i>	Fwd	AATTGTCGTGGGAAAAGCCGC	(90)
		Rev	CTGCTGACTGGGCTATTACCGTCAT	
	<i>Mcr-5</i>	Fwd	GTGAAACAGGTGATCGTGACTTACCG	(91)
		Rev	CGTGCTTTACACCGATCATGTGCT	
pAMPc	<i>MOX</i>	Fwd	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	(92)
		Rev	CACATTGACATAGGTGTGGTGC	
	<i>CIT</i>	Fwd	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	(93)
		Rev	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
	<i>DHA</i>	Fwd	AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	(94)
		Rev	CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
	<i>ACC</i>	Fwd	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	(95)
		Rev	TTCGCCGCAATCATCCCTAGC	
	<i>EBC</i>	Fwd	TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	(96)
		Rev	CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	
K tip	<i>FOX</i>	Fwd	AACATGGGGTATCAGGGAGATG	(97)
		Rev	CAAAGCGCGTAACCG GAT TGG	
	<i>Wzi</i>	Fwd	GTGCCGCGAGCGCTTTCTATCTTGGTATTCC	(98)
		Rev	GAGAGCCACTGGTTCCAGAAAYTTSACCGC	
Rep-PCR	<i>Rep 1</i>		IIIGCGCGICATCAGGC	(82)
	<i>Rep 2</i>		ACGTCTTATCAGGCCTAC	

Tablo 3.1 (devam): Çalışmada kullanılan primerler.

	Hedef Gen	Primer	Sekans (5'3')	Kaynak
<i>A. baumannii</i> MLST	<i>Cpn60</i>	Fwd	<i>ACTGTACTTGCTCAAGC</i>	(93)
		Rev	<i>TTCAGCGATGATAAGAAGTGG</i>	
	<i>FusA</i>	Fwd	<i>ATCGGTATTTCTGCKCACATYGAT</i>	
		Rev	<i>CCAACATACKYTGWACACCTTTGTT</i>	
	<i>GltA</i>	Fwd	<i>AATTTACAGTGGCACATTAGGTCCC</i>	
		Rev	<i>GCAGAGATACCAGCAGAGATACACG</i>	
	<i>PyrG</i>	Fwd	<i>GGTGTTGTTTCATCACTAGGWAAAGG</i>	
		Rev	<i>ATAAATGGTAAAGAYTCGATRTCACCMA</i>	
	<i>RecA</i>	Fwd	<i>CCTGAATCTTCYGGTAAAAC</i>	
		Rev	<i>GTTTCTGGGCTGCCAAACATTAC</i>	
	<i>RplB</i>	Fwd	<i>GTAGAGCGTATTGAATACGATCCTAACC</i>	
		Rev	<i>CACCACCACCRTGYGGGTGATC</i>	
<i>K. pneumoniae</i> MLST	<i>RpoB</i>	Fwd	<i>GGCGAAATGGCDGARAACCAC</i>	(94)
		Rev	<i>GARTCYTCGAAGTTGTAACC</i>	
	<i>RpoB</i>	Fwd	<i>GGCGAAATGGCWGAGAACCA</i>	
		Rev	<i>GAGTCTTCGAAGTTGTAACC</i>	
	<i>GapA</i>	Fwd	<i>TGAAATATGACTCCACTCACGG</i>	
		Rev	<i>CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT</i>	
	<i>Mdh</i>	Fwd	<i>CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG</i>	
		Rev	<i>CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG</i>	
	<i>Pgi</i>	Fwd	<i>GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC</i>	
		Rev	<i>CGCGCCACGCTTTATAGCGGTAAAT</i>	
	<i>PhoE</i>	Fwd	<i>ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG</i>	
		Rev	<i>TGATCAGAACTGGTAGGTGAT</i>	
	<i>InfB</i>	Fwd	<i>CTCGCTGCTGGACTATATTCG</i>	
		Rev	<i>CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC</i>	
	<i>TonB</i>	Fwd	<i>CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT</i>	
		Rev	<i>ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG</i>	

Tablo 3.2: Tespit edilecek genlerin büyüklüğü, Tm sıcaklıkları ve uzama süreleri.

	Primerler	Tm (°C)	Büyüklüğü (bp)	Uzama süreleri (sn)
GSBL	<i>bla_{TEM}</i>	50	847	50
	<i>bla_{SHV}</i>	56	843	50
	<i>bla_{CTX-M1}</i>	54	260	50
	<i>bla_{CTX-M2}</i>	55	341	30
	<i>bla_{PER1}</i>	48	927	75
	<i>bla_{VEB}</i>	55	542	60
	<i>bla_{OXA-1}</i>	50	427	50
	<i>bla_{GES}</i>	57	863	60
Karbapenem	<i>bla_{IMP}</i>	57	488	45
	<i>bla_{VIM}</i>	59	780	50
	<i>bla_{NDM-1}</i>	59	621	50
	<i>bla_{KPC}</i>	58	893	50
	<i>bla_{OXA-48}</i>	58	743	50
	<i>bla_{OXA-23}</i>	54	501	45
	<i>bla_{OXA-51}</i>	56	353	45
	<i>bla_{OXA-58}</i>	58	599	50
	<i>bla_{OXA-40}</i>	58	246	30
Kolistin	Mcr-1	57	309	30
	Mcr-2	52	567	50
	Mcr-3	54	542	50
	Mcr-4	54	487	50
	Mcr-5	58	1644	120
pAMpc	MOX	64	520	30
	CIT	64	462	30
	DHA	64	405	30
	ACC	64	346	30
	EBC	64	302	30
	FOX	64	190	30

Dirençin Aktarılabilirliği

Direnç genlerinin tüm ETA örneklerinden izole edilen izolatlarda konjugatif plazmitlerde yer alıp almadığı Brothmating metodu kullanılarak konjugasyon testleri ile belirlendi (95). Alıcı hücre olarak rifampisin dirençli *E. coli* J53-2 (F⁻, *pro*, *met*, Rif^R) suşu kullanıldı. Hem donör hem de alıcı hücreler, gece boyunca Luria Bertani Broth (LB) içinde bir gece inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kültürler 1:1 oranında *E. coli* J53-2 hücresi ile karıştırılacak ve 18 saat boyunca çalkalamasız ortamda 37°C'de inkübe edildi. Transkonjugantlar, Rifampisin (150 µg/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren LB Agar plakaları üzerinde seçildi.

Transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Transkonjugant hücreler Rifampisin (150 ug/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren 3 ml LB Broth besiyerlerinde çalkalamalı ortamda 37°C'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda hücreler santrifüjle toplandı ve plazmit izolasyonları GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Transkonjugant etkenlerdeki β-laktamaz ve kinolon direnç genleri Tablo 1'de verilen primerler vasıtasıyla PZR reaksiyonları gerçekleştirilerek tespit edildi. PZR reaksiyonlarında transkonjugant hücrelere ait izole edilen plazmitler kalıp DNA olarak kullanıldı.

Plazmid replikasyon orjini

Transkonjugant hücrelerdeki plazmitlerin tiplendirilmesi PCR-tabanlı replikon tipi prosedürü kullanılarak gerçekleştirildi. Bu metotta var olan 18 çift primer, 5 multipleks ve 3 simpleks PCR kullanılarak, ana uyumsuzluk grubu olan FIA, FIB, FIC, HI1, HI2, I1-I₇, L/M, N, P, W, T, A/C, K, B/O, X, Y, F ve FIIA replikonları tanımlandı (86).

Rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic-PCR) Analizi

Çalışmamızda VİP etkenlerinin genotipik çeşitliliğini belirlemek için DNA finger printing yöntemleri arasında olan rep-PZR analizi kullanılmıştır. REP1 ve REP2 primerleri kullanılarak yapılan PZR reaksiyonu; 50 µL son hacimde 1X Taq DNA polimeraz Buffer, 1,5 mM MgCl₂, 200 µM dNTPmix, 10 pmol/µl herbir primerden, 1,5 U Taq DNA polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımına kitle izole ettiğimiz genomik DNA'lerden 50 ng/µl olacak şekilde eklendi. PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C'de 3 dk, daha sonra 30 döngü 95°C'de 45 sn., 45°C'de 1 dk., 72°C'de 8 dk. ve son uzama basamağı

ise 72°C’de 15 dk. olacak şekilde oluşturuldu. Yapılan PZR işlemi sonrasında, ürünler %1,5 agaroz jelde DNA ladder ile yürütülüp, oluşacak olan bant fragmentleri UV ışığı altında görüntülendi. Her bir bant tüm örnekler için var yok şeklinde değerlendirilip fasta formatında bir matriks hazırlandı. Daha sonra matriks Mega.X programında UPGAMA kullanılarak işlendi ve dendogramlar oluşturuldu.

Multi-Lokus Sekans Tipi (Multi-Locus Sequence Typing-MLST)

Çalışmamızda gerçekleştirilen MLST analizleri VİP izolatlarının epidemiyolojik olarak benzerliğini ve dünyanın birçok yerinde salgınlara neden olan izolatlar ile ilişkisini belirlemek amacı ile gerçekleştirildi. MLST analizleri için VİP izolatlarından kit ile DNA izolasyonu gerçekleştirildi. *K. pneumoniae* izolatları için PubMLST veri bankasında bulunan yedi yaşamsal gen (*rpoB*, *pgi*, *mdh*, *infB*, *gapA*, *tonB* ve *phoE*) (https://pubmlst.org/bigdb?db=pubmlst_mlst_seqdef&page=profiles), *A. baumannii* izolatları için ise yine PubMLST veri bankasında bulunan yedi yaşamsal gen (*rplB*, *gltA*, *rpoB*, *pyrG*, *fusA*, *recA* ve *cpn60*) izolatların ST tipini belirlemek için PCR yardımı ile çoğaltıldı (https://pubmlst.org/bigdb?db=pubmlst_abaumannii_seqdef&page=profiles). Çalışmada kullanılan genlere özgü primerler Tablo 3.1’de verildi. PZR reaksiyonları; 50 µL son hacimde 1X Taq Buffer, 1,5 mM MgSO₄, 200 µM dNTPmix, 0,3 pmol/µl herbir primerden, 2U Taq DNA polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımına izole edilen genomik DNA’lardan 50 ng/µl olarak şekilde ilave edildi. PZR programı ilk denetürasyon basamağı 95°C’de 3 dk, daha sonra 36 döngü 95°C’de 45 sn., Tm sıcaklığında 45 sn., 72°C’de 1.5 dk. ve son uzama basamağı ise 72°C’de 5 dk. olacak şekilde oluşturuldu. PZR sonrası amplifikasyon ürünleri etidyum bromür içeren %1’lik agaroz jel elektrofoerizinde 100 V’da yürütüldü ve UV ışığı altında görüntülendi. DNA markır ile büyüklükleri doğrulanan PCR ürünlerinin sekans analizlerinin gerçekleştirilmesi için BMLabosis firmasına gönderildi. DNA dizin analizlerine göre sekans tipleri (STs) PubMLST mevcut veri tabanı kullanılarak atandı (96).

GenBank Kabul Numaraları

Çalışmada izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının MLST gen sekansları GenBank veri bankasında depolanmış ve kayıt numaraları alınmıştır. İzolatlara ait GenBank Kayıt numaraları Tablo 3.3’te verilmiştir. Çalışmada izole edilen *A. baumannii* izolatlarının MLST gen sekansları GenBank veri bankasında depolanmış ve kayıt numaraları alınmıştır. İzolatlara ait GenBank Kayıt numaraları Tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.3: *K. pneumoniae* izolatlarının GenBank kayıt numaraları.

<i>K. pneumoniae</i> izolatları	<i>tonB</i>	<i>rpoB</i>	<i>phoE</i>	<i>pgi</i>	<i>mdh</i>	<i>infB</i>	<i>gapA</i>
Kp1	PV641531	PV641509	PV641487	PV641465	PV641443	PV641421	PV641399
Kp2	PV641532	PV641510	PV641488	PV641466	PV641444	PV641422	PV641400
Kp3	PV641533	PV641511	PV641489	PV641467	PV641445	PV641423	PV641401
Kp4	PV641534	PV641512	PV641490	PV641468	PV641446	PV641424	PV641402
Kp5	PV641535	PV641513	PV641491	PV641469	PV641447	PV641425	PV641403
Kp6	PV641536	PV641514	PV641492	PV641470	PV641448	PV641426	PV641404
Kp7	PV641537	PV641515	PV641493	PV641471	PV641449	PV641427	PV641405
Kp8	PV641538	PV641516	PV641494	PV641472	PV641450	PV641428	PV641406
Kp9	PV641539	PV641517	PV641495	PV641473	PV641451	PV641429	PV641407
Kp10	PV641540	PV641518	PV641496	PV641474	PV641452	PV641430	PV641408
Kp11	PV641541	PV641519	PV641497	PV641475	PV641453	PV641431	PV641409
Kp12	PV641542	PV641520	PV641498	PV641476	PV641454	PV641432	PV641410
Kp13	PV641543	PV641521	PV641499	PV641477	PV641455	PV641433	PV641411
Kp14	PV641544	PV641522	PV641500	PV641478	PV641456	PV641434	PV641412
Kp15	PV641545	PV641523	PV641501	PV641479	PV641457	PV641435	PV641413
Kp16	PV641546	PV641524	PV641502	PV641480	PV641458	PV641436	PV641414
Kp17	PV641547	PV641525	PV641503	PV641481	PV641459	PV641437	PV641415
Kp18	PV641548	PV641526	PV641504	PV641482	PV641460	PV641438	PV641416
Kp19	PV641549	PV641527	PV641505	PV641483	PV641461	PV641439	PV641417
Kp20	PV641550	PV641528	PV641506	PV641484	PV641462	PV641440	PV641418
Kp21	PV641551	PV641529	PV641507	PV641485	PV641463	PV641441	PV641419
Kp22	PV641552	PV641530	PV641508	PV641486	PV641464	PV641442	PV641420

Tablo 3.4: *A. baumannii* izolatlarının GenBank kayıt numaraları.

<i>A. baumannii</i> izolatları	<i>rplB</i>	<i>gltA</i>	<i>rpoB</i>	<i>pyrG</i>	<i>fusA</i>	<i>recA</i>	<i>cpn60</i>
Ab1	PV641376	PV641353	PV641330	PV641307	PV641284	PV641261	PV641238
Ab2	PV641377	PV641354	PV641331	PV641308	PV641285	PV641262	PV641239
Ab3	PV641378	PV641355	PV641332	PV641309	PV641286	PV641263	PV641240
Ab4	PV641379	PV641356	PV641333	PV641310	PV641287	PV641264	PV641241
Ab5	PV641380	PV641357	PV641334	PV641311	PV641288	PV641265	PV641242
Ab6	PV641381	PV641358	PV641335	PV641312	PV641289	PV641266	PV641243
Ab7	PV641382	PV641359	PV641336	PV641313	PV641290	PV641267	PV641244
Ab8	PV641383	PV641360	PV641337	PV641314	PV641291	PV641268	PV641245
Ab9	PV641384	PV641361	PV641338	PV641315	PV641292	PV641269	PV641246
Ab10	PV641385	PV641362	PV641339	PV641316	PV641293	PV641270	PV641247
Ab12	PV641386	PV641363	PV641340	PV641317	PV641294	PV641271	PV641248
Ab13	PV641387	PV641364	PV641341	PV641318	PV641295	PV641272	PV641249
Ab14	PV641388	PV641365	PV641342	PV641319	PV641296	PV641273	PV641250
Ab15	PV641389	PV641366	PV641343	PV641320	PV641297	PV641274	PV641251
Ab16	PV641390	PV641367	PV641344	PV641321	PV641298	PV641275	PV641252
Ab17	PV641391	PV641368	PV641345	PV641322	PV641299	PV641276	PV641253
Ab20	PV641392	PV641369	PV641346	PV641323	PV641300	PV641277	PV641254
Ab22	PV641393	PV641370	PV641347	PV641324	PV641301	PV641278	PV641255
Ab23	PV641394	PV641371	PV641348	PV641325	PV641302	PV641279	PV641256
Ab24	PV641395	PV641372	PV641349	PV641326	PV641303	PV641280	PV641257
Ab25	PV641396	PV641373	PV641350	PV641327	PV641304	PV641281	PV641258
Ab27	PV641397	PV641374	PV641351	PV641328	PV641305	PV641282	PV641259
Ab28	PV641398	PV641375	PV641352	PV641329	PV641306	PV641283	PV641260

4. BULGULAR

Kırşehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitelerinde 30.11.2022 ve 30.11.2023 tarihleri arasında 56 tane kültür pozitif ventilatör ilişkili pnömoni hastası bulundu.

4.1. VİP Etkenlerinin Belirlenmesi

Hastaların 26 (%46,4)'sı kadın, 30 (%53,6)'u erkek olarak belirlendi. Etkenlerin 28 (%50)'i *A. baumannii*, 22 (%42,3)'si *K. pneumoniae*, 4 (%7,7)'ü *P. aureginosa*, 1 (%1,9)'i *E. coli* ve 1 (%1,9)'i *E. cloacae* olarak belirlendi.

Kırşehir Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvar'ında gliserol stoklarda saklanan etkenler tekrar saflaştırmak için LB Agar'a ekim yapıldığında etkenlerin 5 tanesi çoğaltılamadı. Tekrar üretilmeyen 5 etken *A. baumannii* suşları olarak belirlendi.

Sonuç olarak elimizdeki VİP etkenleri 23 (%45,1)'ü *A. baumannii*, 22 (%43,1)'si *K. pneumoniae*, 4 (%7,8)'si *P. aureginosa*, 1 (%2)'i *E. coli* ve 1 (%2)'i *E. cloacae* olmak üzere toplamda 51 adet olarak belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Etkenlerin dağılımı.

Etkenler	Sayı(n)	Oran (%)
<i>A. baumannii</i>	23	45,1
<i>K. pneumoniae</i>	22	43,1
<i>P. aureginosa</i>	4	7,8
<i>E. coli</i>	1	2
<i>E. cloacae</i>	1	2
Toplam	51	100

Bulunan etkenler cins ve tür isimlerinin ilk harfleri kullanılarak sayılarına göre 1'den başlayarak numaralandırıldı.

4.2. Etkenlerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Etkenlerin antibiyogramları Vitek-2 otomatize sistem kullanılarak yapıldı. *A. baumannii* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo, imipenem, meropenem, siprofloksasin,

gentamisin ve levofloksasin (%100), tmp-sxt (%65,2), tigesiklin (%4,3), amikasin (%61) olarak belirlenmiştir. Kolistin direnci mikrodilüsyon testi sonucu belirlenmiş olup etkenlerin %65,2'sı dirençli bulunmuştur.

K. pneumoniae antibiyotik direnç dağılımı; ampisilin, pip-tazo, seftriakson, sefiksime, sefotaksim, sefoksitin, sefuroksim, siprofloksasin, meropenem ve kolistin (%100), amoklavun, seftazidim, ertapenem, sefepim, aztreonam ve tmp-sxt (%95,5), imipenem (%86,4), amikasin ve gentamisin (%68,2) olarak bulunmuştur.

P. aereginosa antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo (%75), seftazidim (%50), sefepim (%50), siprofloksasin (%75), imipenem (%75), meropenem (%50), amikasin (%25), aztreonam (%50) ve kolistin (%100) olarak bulunmuştur.

E. cloacae suşu sefoksitin, kolistin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli, pip-tazo, tmp-sxt, seftazidim, amikasin ve siprofiloksaline karşı duyarlı bulunmuştur.

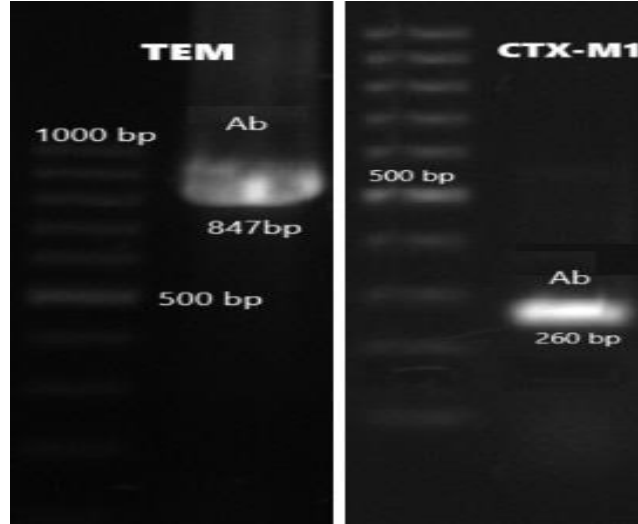
E. coli suşu ampisilin, tmp-sxt, pip-tazo, sefuroksim, sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefepim, aztreonam, ertapenem, siprofloksasin, kolistin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli, imipenem, meropenem ve amikasinine duyarlı bulunmuştur.

4.3. Etkenlerin Antibiyotik Direnç Profillerinin Moleküler Karakterizasyonu

4.3.1. Etkenlerin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

4.3.1.1. *A. baumannii* Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

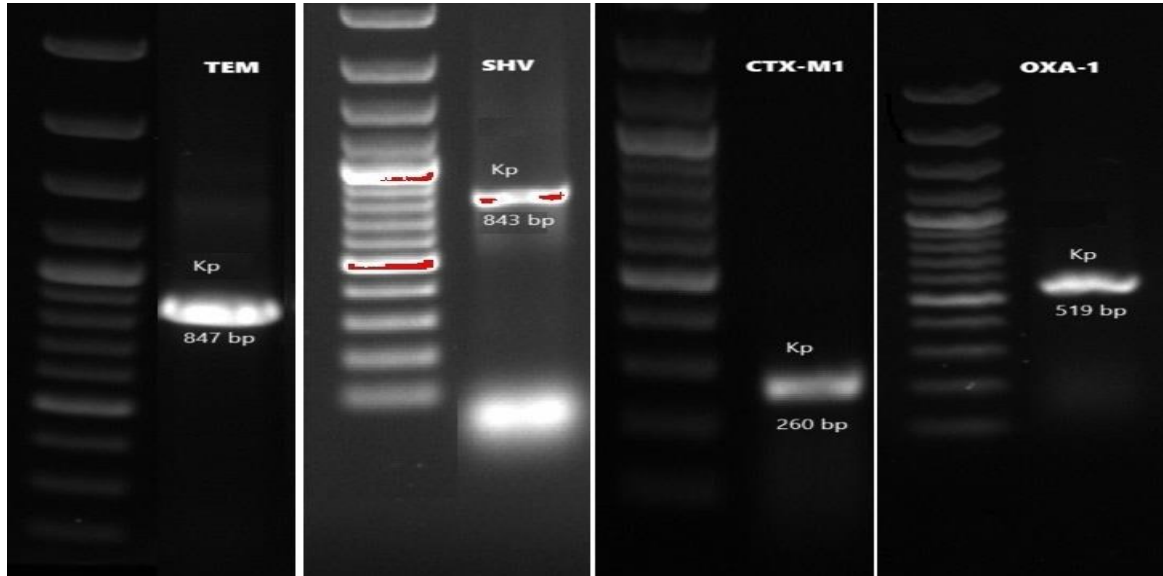
A. baumannii suşlarının GSBL direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M2}*, *bla_{GES}*, *bla_{VEB}* ve *bla_{PER}* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 23 tane *A. baumannii* suşunun: 2 (%8,7)'si *bla_{TEM}*, ve 23 (%100)'ü *bla_{CTX-M1}* pozitif bulunmuştur (Şekil 4.1). Etkenlerin 2 (%8,7)'sinde *bla_{TEM}* ve *bla_{CTX-M1}* genleri birlikte bulunmaktadır.



Şekil 4.1: *A. baumannii* GSBL pozitif direnç genleri (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-1}*).

4.3.1.2. *K. pneumoniae* Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

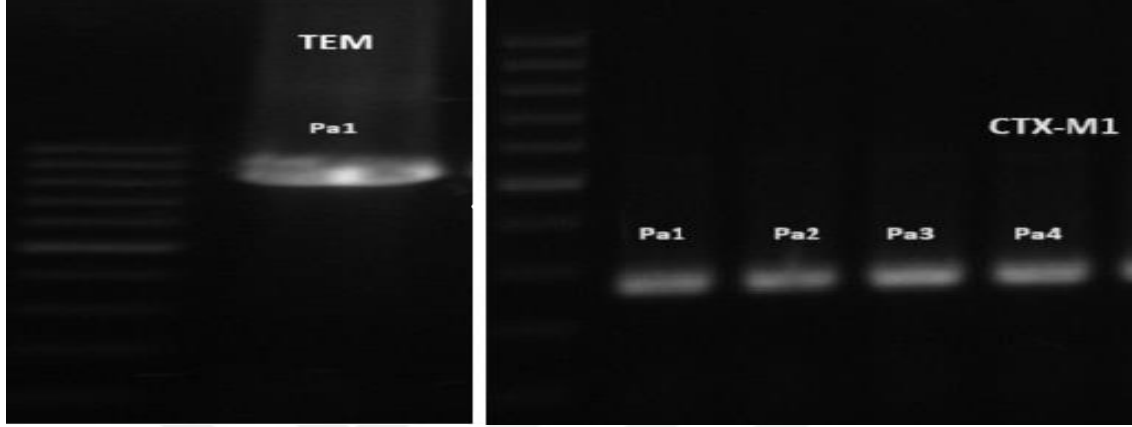
K. pneumoniae suşlarının GSBL direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M2}*, *bla_{GES}*, *bla_{VEB}* ve *bla_{PER}* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 22 tane *K. pneumoniae* suşunun 21 (%95,4)'i *bla_{TEM}* pozitif, 22 (%100)'si *bla_{SHV}* pozitif, 22 (%100)'si *bla_{CTX-M1}* pozitif, 20 (%91)'i *bla_{OXA-1}* pozitif bulunmuştur (Şekil 4.2). Etkenlerin 19 (%86,4)'unda *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M1}* ve *bla_{OXA-1}*, 22 (%100)'sinde *bla_{SHV}* ve *bla_{CTX-M1}* genleri aynı anda pozitif olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2: *K. pneumoniae* GSBL pozitif direnç genleri (*bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-1}*).

4.3.1.3. *P. aureginosa* Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

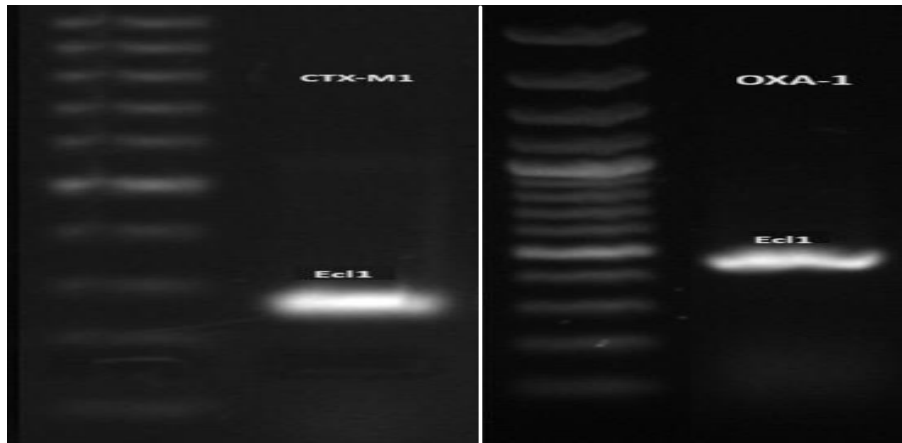
P. aureginosa suşlarının GSBL direnç genlerinin incelenmesi için *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB} ve *bla*_{PER} direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 4 tane *P. aureginosa* suşunun: 1 (%25)'i *bla*_{TEM} ve 4 (%100)'ü *bla*_{CTX-M1} pozitif bulunmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: *P. aureginosa* GSBL pozitif direnç genleri (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1}).

4.3.1.4. *E. cloacae* Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

E. cloacae suşunun GSBL direnç genlerinin incelenmesi için *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB} ve *bla*_{PER} direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda *E. cloacae* suşunda: *bla*_{Oxa-1} ve *bla*_{CTX-M1} genleri pozitif olarak bulunmuştur (Şekil 4.4).

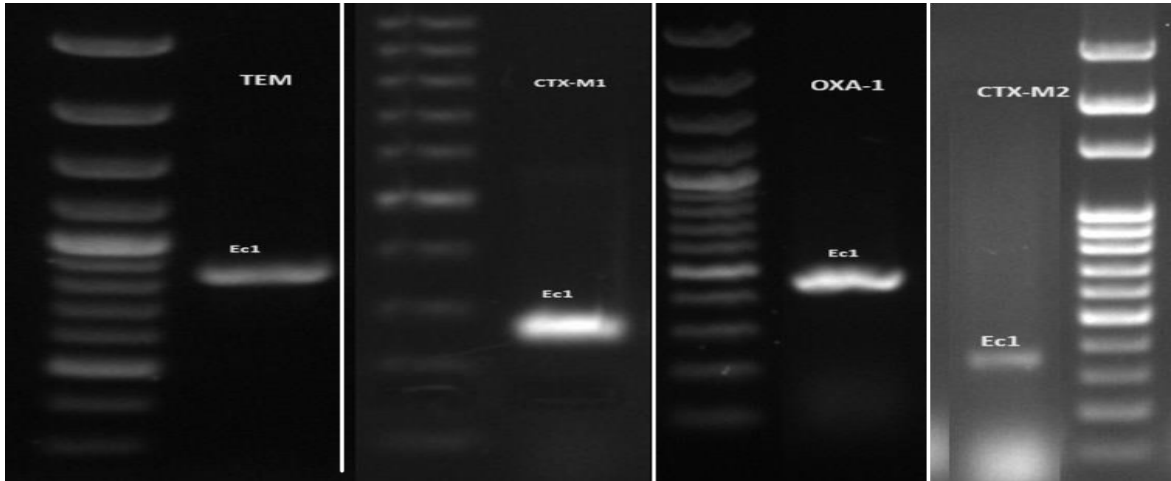


Şekil 4.4: *E. Cloacae* GSBL pozitif direnç genleri (*bla*_{Oxa-1}, *bla*_{CTX-M1}).

4.3.1.5. *E. coli* Etkenlerinin GSBL Direnç Genlerinin İncelenmesi

E. coli suşunun GSBL direnç genlerinin incelenmesi için *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB} ve *bla*_{PER} direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda *E. coli* suşunda: *bla*_{Oxa-1}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{CTX-M2} genleri pozitif olarak bulunmuştur (Resim

4.5).

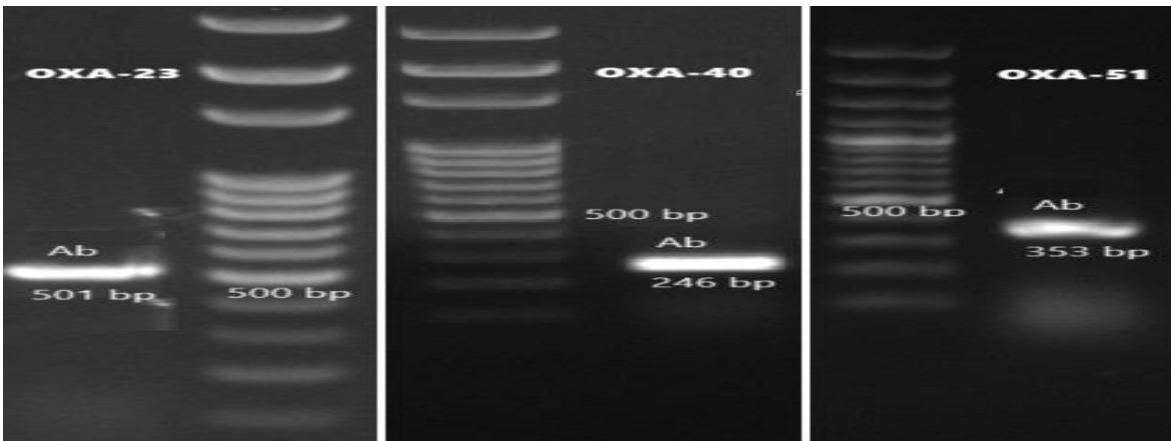


Şekil 4.5: *E. coli* GSBL pozitif direnç genleri (*bla_{OXA-1}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{CTX-M2}*).

4.3.2. Etkenlerin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi

4.3.2.1. *A. baumannii* Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi

A. baumannii suşlarının Karbapenem direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-40}* ve *bla_{OXA-58}* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 24 tane *A. baumannii* suşunun: 23 (%100)'ü *bla_{OXA-51}* pozitif, 22 (%96)'si *bla_{OXA-23}* pozitif ve 1 (%4,2)'i *bla_{OXA-40}* pozitif bulunmuştur (Resim 4.6). Etkenlerin 1 (%4,2)'inde *bla_{OXA-51}* ve *bla_{OXA-40}*, 22 (%96)'sinde ise *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}* genlerinin aynı anda bulunduğu tespit edilmiştir.

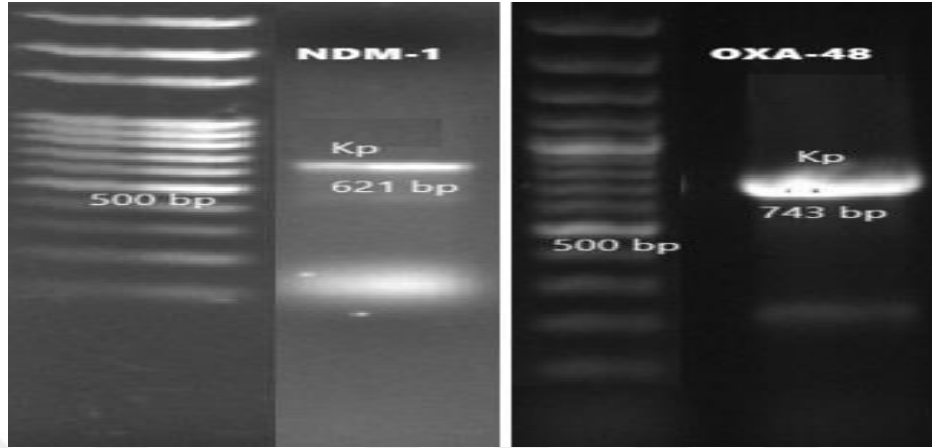


Şekil 4.6: *A. baumannii* Karbapenem pozitif direnç genleri (*bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-40}*).

4.3.2.2. *K. pneumoniae* Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi

K. pneumoniae suşlarının Karbapenem direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-40}* ve *bla_{OXA-58}* direnç genlerine bakıldı.

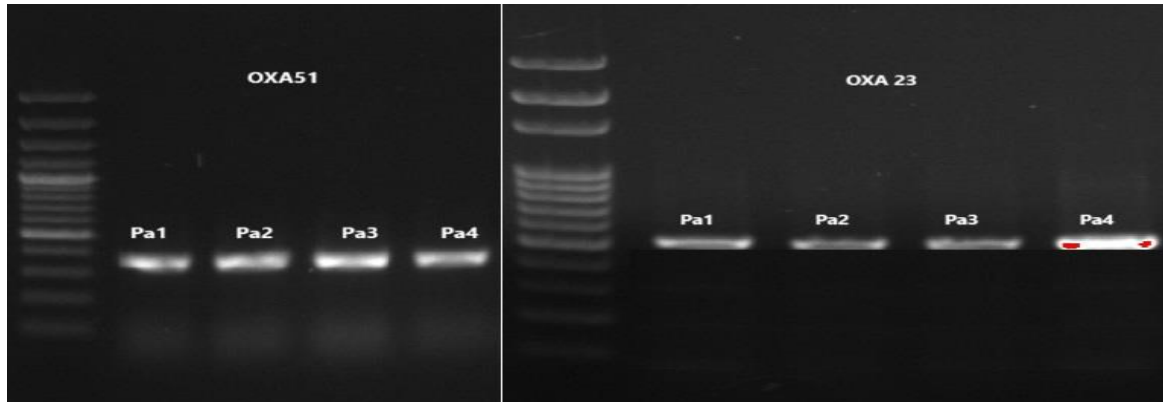
Bakılan genler sonucunda toplam 22 tane *K. pneumoniae* suşunun: 18 (%81,8)'i *bla_{OXA-48}* pozitif, 2 (%9,1)'si *bla_{NDM-1}* pozitif bulunmuştur (Resim 4.7). Etkenlerin 2 (%9,1)'sinin *bla_{NDM-1}* ve *bla_{OXA-48}* genlerini aynı anda taşıdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.7: *K. pneumoniae* Karbapenem pozitif direnç genleri (*bla_{OXA-48}*, *bla_{NDM-1}*).

4.3.2.3. *P. aureginosa* etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi

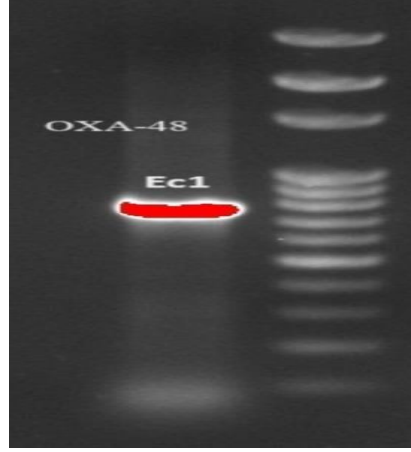
P. aureginosa suşlarının Karbapenem direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-40}* ve *bla_{OXA-58}* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 4 tane *P. aureginosa* suşunun hepsi *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}* geni pozitif olarak bulunmuştur (Resim 4.8).



Şekil 4.8: *P. aureginosa* Karbapenem pozitif direnç genleri (*bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*).

4.3.2.4. *E. coli* Etkenlerinin Karbapenem Direnç Genlerinin İncelenmesi

E. coli suşunda Karbapenem direnç genlerinin incelenmesi için *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{KPC}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-40}* ve *bla_{OXA-58}* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda *E. coli* suşunda sadece *bla_{OXA-48}* geni pozitif bulunmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: *E. coli* etkeninde Karbapenem pozitif direnç genleri (*bla_{OXA-48}*).

Etkenlerimizde kolistin ve pAMPc direnç genleri tespit edilememiştir. Bu durum antibiyotiklere karşı gelişen direncin plazmid aracılı değil kromozomal olarak geliştiğini düşündürmüştür.

Yaptığımız çalışmada etkenlerimizin sahip olduğu direnç genlerinin dağılımı tablo şeklinde verilmiştir (Tablo 4.2., 4.3., 4.4.). *A. baumannii* etkenlerinin 1'inde *bla_{TEM}*, *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA40}* ve *bla_{OXA51}*, 1'inde *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA40}*, *bla_{OXA23}* ve *bla_{OXA51}*, 2'sinde *bla_{TEM}*, *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA23}* ve *bla_{OXA51}*, 23'ünde ise *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA23}* ve *bla_{OXA51}* genlerinin aynı anda bulunduğu tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* etkenlerinin 18'inde *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTXM-1}* ve *bla_{OXA48}* genlerinin aynı anda bulunduğu tespit edilmiştir. *P. aureginosa* etkenlerinin ise 1'inde *bla_{TEM}*, *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA23}* ve *bla_{OXA51}*, 3'ünde de *bla_{CTXM-1}*, *bla_{OXA23}* ve *bla_{OXA51}* genleri aynı anda bulunduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2: *A. baumannii* direnç genleri dağılımı.

GSBL									KARBAPENEMAZ								
Etkenler	TEM	SHV	OXA-1	CTX-M1	CTX-M2	PER-1	GES	VEB	IMP	VIM	NDM-1	KPC	OXA-48	OXA-23	OXA-51	OXA-58	OXA-40
Ab1	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Ab2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab6	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab7	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab9	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab10	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab12	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab13	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab14	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab15	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab16	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab17	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab20	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab22	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab23	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab24	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab25	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab27	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ab28	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

Tablo 4.3: *K. pneumoniae* direnç genleri dağılımı.

Etkenler	GSBL								KARBAPENEMAZ								
	TEM	SHV	OXA-1	CTX-M1	CTX-M2	PER-1	GES	VEB	IMP	VIM	NDM-1	KPC	OXA-48	OXA-23	OXA-51	OXA-58	OXA-40
Kp1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kp2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp8	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp9	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp11	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp12	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp13	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp14	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp16	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kp17	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Kp18	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp19	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Kp20	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Kp21	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kp22	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.4: *P. aureginosa*, *E. coli* ve *E. cloacae* direnç genleri dağılımı.

GSBL									KARBAPENEMAZ								
Etkenler	TEM	SHV	OXA-1	CTX-M1	CTX-M2	PER-1	GES	VEB	IMP	VIM	NDM-1	KPC	OXA-48	OXA-23	OXA-51	OXA-58	OXA-40
Pa1	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Pa2	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Pa3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Pa4	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ecl-1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ec-1	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

4.4. Etkenlerin Aktarılabilir Direnç Genlerinin Belirlenmesi

VIP etkenlerinde tespit edilen direnç genlerinin konjugatif plazmitler üzerinde olup olmadığı konjugasyon deneyi ile tespit edilmiştir. Tüm etkenlerde konjugasyon testleri yapılarak transkonjugant etkenlerler belirlendi. Toplam 51 örnekten 9 (%17,6) izolat transkonjugant olarak belirlendi. Bu etkenler; Kp2, Kp4, Kp6, Kp8, Kp11, Kp12, Kp13, Kp17, Kp20 olarak belirlendi. Bulunan bu etkenlerde pozitif olan direnç genlerinin konjugatif plazmitlerde yer alıp almadığı belirlendi.

Konjugasyon deneyleri sonucunda 22 *K. pneumoniae* izolatının 9 (%41)'unun (Kp2, Kp4, Kp6, Kp8, Kp11, Kp12, Kp13, Kp17, Kp20) konjugatif bir plazmit içerdiği tespit edilmiştir.

Transkonjugant *E. coli* DH5α hücresine konjugatif plazmit içeren TcKp2, TcKp4, TcKp6, TcKp11 ve TcKp13 etkenleri tarafından *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{TEM} genleri aktarılmıştır. Transkonjugant hücreye ana hücrede görülen antibiyotik dirençlerinin aynen aktarıldığı tespit edilmiştir.

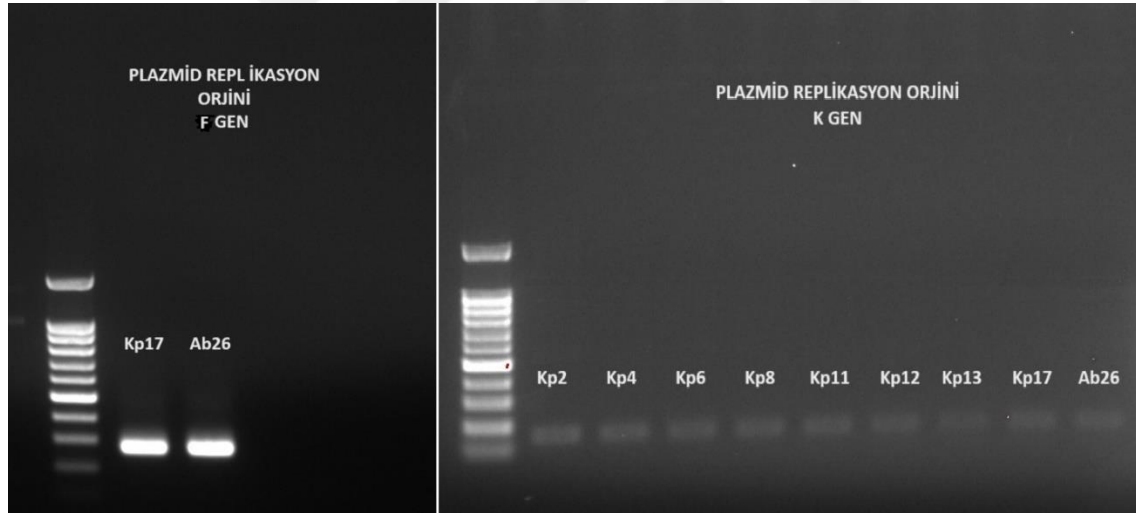
Transkonjugant *E. coli* DH5α hücresine konjugatif plazmit içeren TcKp8 ve TcKp12 etkenleri tarafından *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-1} genleri aktarılmıştır. Transkonjugant hücreye ana hücrede görülen antibiyotik dirençlerinin aynen aktarıldığı tespit edilmiştir.

Transkonjugant *E. coli* DH5α hücresine konjugatif plazmit içeren TcKp17 etkeni tarafından *bla*_{OXA-48}, *bla*_{TEM}, *bla*_{NDM-1} genleri aktarılmıştır. Transkonjugant hücreye ana hücrede görülen antibiyotik dirençlerinin aynen aktarıldığı tespit edilmiştir.

Transkonjugant *E. coli* DH5α hücresine konjugatif plazmit içeren TcKp20 etkeni tarafından *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}* genleri aktarılmıştır. Transkonjugant hücreye ana hücrede görülen antibiyotik dirençlerinin aynen aktarıldığı tespit edilmiştir.

4.5. Etkenlerin Plazmit Replikasyon Orjini

Plazmid replikasyon orjini deneyleri sonucu konjugatif plazmidler belirlenmiştir. Transkonjugant suşlara bakıldığında 7 etkenin (Tckp2, TcKp4, TcKp6, TcKp8, TcKp11, TcKp12 ve TcKp13) sadece K tipi konjugatif plazmidi belirlenmiş olup, TcKp8 ve TcKp12 etkenlerinin (*bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{TEM}*); Tckp2, TcKp4, TcKp6, TcKp11 ve TcKp13 etkenlerinin ise (*bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{TEM}*) direnç genlerini taşıdığı belirlenmiştir. TcKp17 örneğinde ise F ve K tipi konjugatif plazmidleri tespit edilmiş (*bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{NDM-1}*) genlerini taşıdığı belirlenmiştir. TcKp20 transkonjugant suşunda F ve K olmak üzere 2 adet konjugatif plazmid belirlenmiş olup (*bla_{CTX-M1}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}*) direnç genlerini üzerinde taşıdığı tespit edilmiştir.



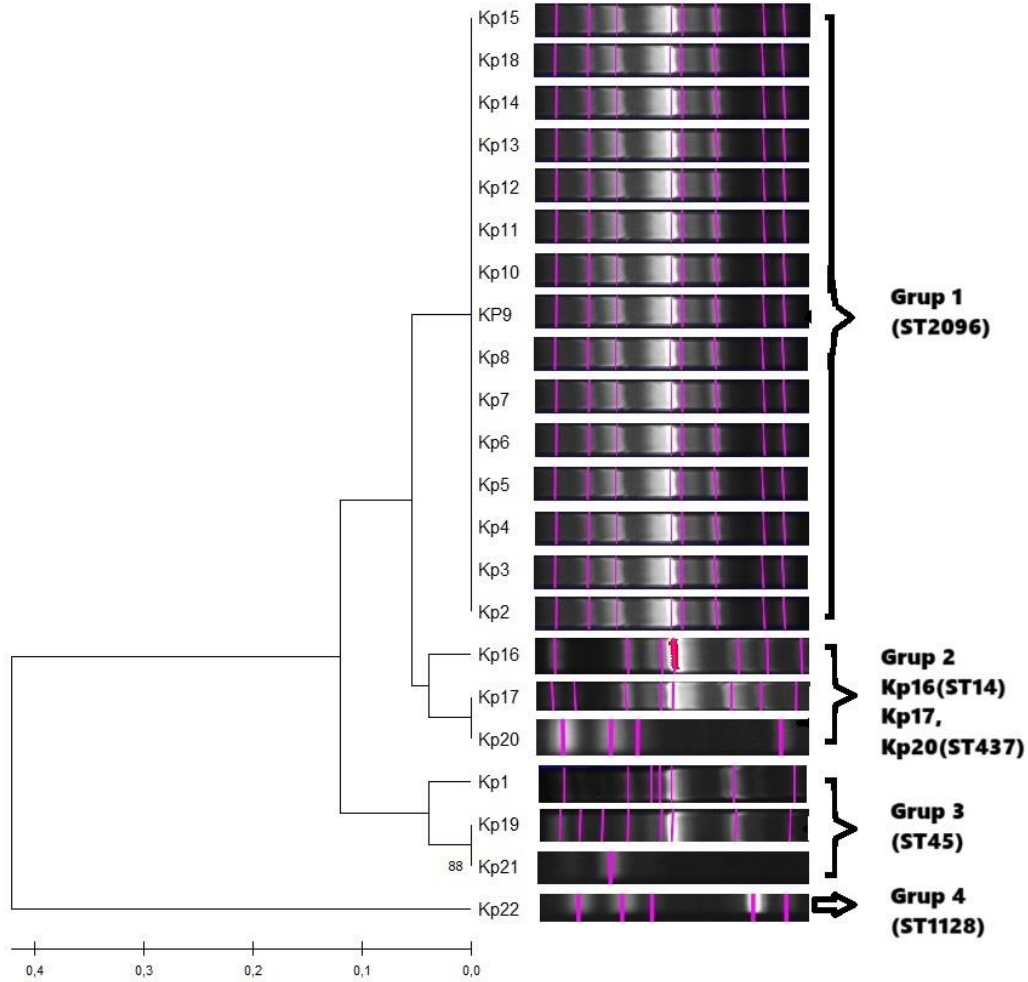
Şekil 4.10: Plazmit replikasyon orjini F ve K gen görüntüsü.

4.6. Etkenlerin MLST Analizleri

Yapılan MLST deneyleri sonucunda *K. pneumoniae* etkeninde 5 farklı Strain type (ST) belirlenmiştir. 22 tane *K. pneumoniae* etkeninin 15'i ST2096, 3'ü ST45, 2'si ST437 ve 1'er izolatta ST14, ST1128 olarak belirlenmiştir. *A. baumannii*'de ise 23 etkenin 1'i ST78 ve 22'si ise ST2 olarak belirlenmiştir. *P. aureginosa*, *E. coli* ve *E. cloacae* etkenlerinde ise sayıları az olduğu için MLST analizi yapılmamıştır.

4.7. Etkenlerin Rep-PCR Analizleri

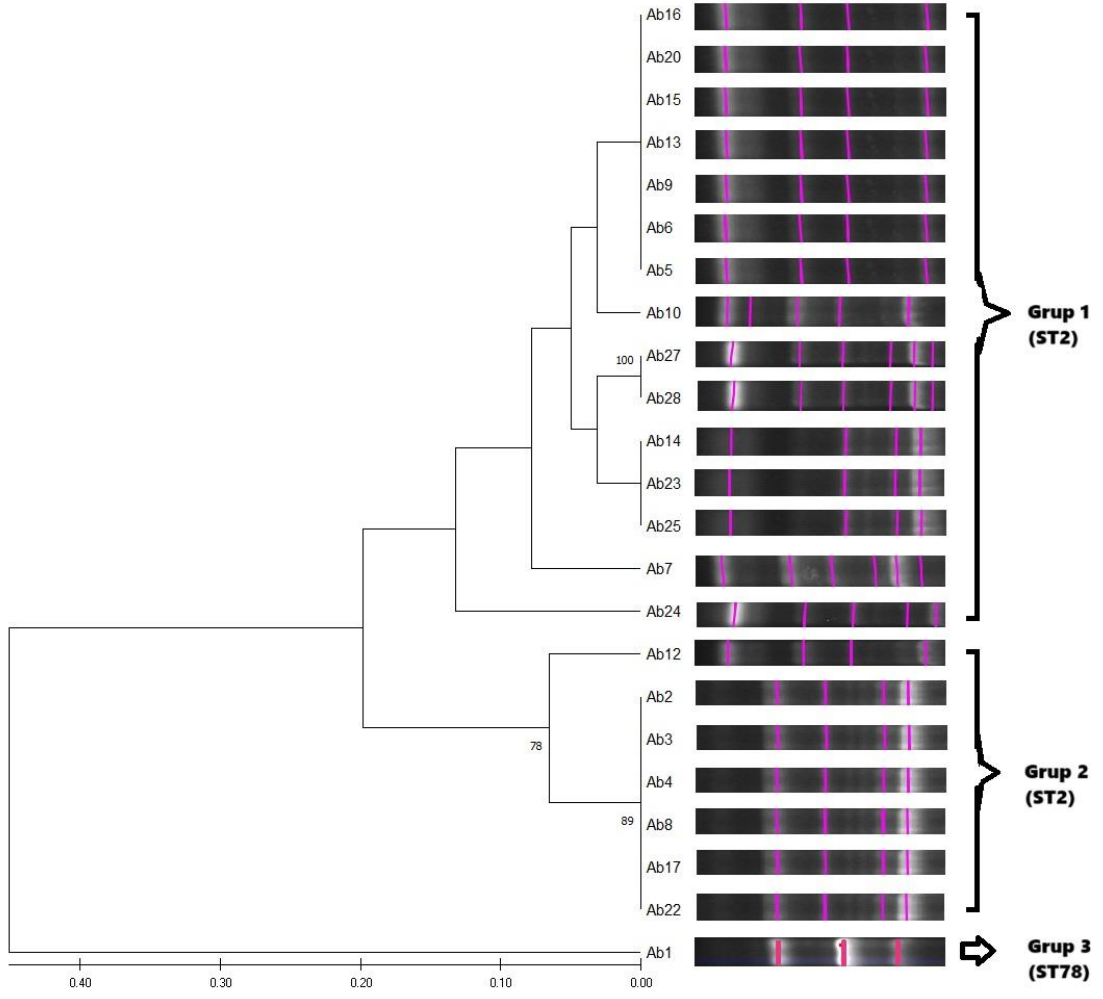
Yapılan rep-PCR analizleri sonucunda *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının filogenetik dağılımı şekil 4.11 ve 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.11: *K. pneumoniae* izolatlarının dendrogram gösterimi.

K. pneumoniae etkenleri toplamda 4 gruba ayrılmıştır. 1. grupta 15 *K. pneumoniae* etkeni bulunurken, etkenlerin hepsinin ST2096 klonu olduğu belirlenmiştir. 2. grupta toplam 3 etken bulunurken, etkenlerin 2 (Kp17 ve Kp20)’si ST 437, 1 (ST)’ i ise ST14 klonu olarak tespit edilmiştir. 3. grupta 3 etken bulunurken, etkenlerin hepsi ST45 klonu olarak tespit edilmiştir. 4. Grupta ise tek etken ST1128 klonu olarak belirlenmiştir.

A. baumannii etkenleri toplamda 3 gruba ayrılmıştır. 1. grupta 15 *A. baumannii* etkeni bulunurken, etkenlerin hepsinin ST2 klonu olduğu belirlenmiştir. 2. grupta toplam 7 etken bulunurken, etkenlerin hepsi ST2 klonu olarak tespit edilmiştir. 3. grupta ise tek etken ST78 klonu olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.12: *A. baumannii* izolatlarının dendrogram gösterimi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

VİP YBÜ'lerde önemli morbidite, mortalite ve hasta bakım maliyetlerinin artmasına yol açmaktadır. VİP etkenleri hastaneler arasında farklılık gösterdiği gibi aynı hastanenin farklı YBÜ'leri arasında da farklılık gösterebilmektedir. VİP hızları; yatan hasta profili, fiziksel ortam koşulları, personel sayısı ve eğitim durumu, uygulanan tedavi protokollerinin ve invaziv girişimlerin fazlalığı ile enfeksiyon kontrol önlemlerine uyum gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Ülkemizde gerçekleştirilen araştırmalarda VİP etkeni olarak Gram negatif bakterilerde *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *E. cloacae* öne çıkarken, gram-pozitif bakterilerde ise *S. aureus* dikkat çekmektedir. Bu çalışmaların bazılarında *A. baumannii* ön plana çıkarken bazılarında da *P. aeruginosa* ön plana çıkmaktadır (35, 36, 97). 137 VİP etkeninin incelendiği bir çalışmada etkenlerin %67,2'si *A. baumannii*, %16,8'i *K. pneumoniae* ve %13,6'sı *P. aeruginosa* olarak belirtilmiştir (98). Ülkemizde yapılan bir çalışmada VİP etkenleri değerlendirilmiş ve *A. baumannii* %61,4, *Pseudomonas spp.* %17, *K. pneumoniae* %5,8 olarak belirtilmiştir (99). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde VİP etkeni olarak gram-negatif mikroorganizmalar izole edilmiştir. En sık Gram-negatif etken olarak *A. baumannii* izole edilirken, bunu *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* izlemiştir.

Toplumdan ve özellikle hastaneden izole edilen Gram negatif bakterilerde özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artması ile antibakteriyel ilaçlara karşı artan direnç, tüm dünyada en önemli sağlık sorunlarından bir tanesi haline gelmiştir. *A. baumannii* geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması ve invaziv işlemlerin daha sık uygulanması ile hastane ortamında, VİP etkeni olarak sık izole edilen bakterilerden biri haline gelmiştir (100). Hayakawa ve ark. [98] *A. baumannii* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; meropenem (%96,5), tmp-sxt (%64,7), amikasin (%91,8), gentamisin (%96,5) ve levofloksasin (%98,8) olarak belirtilmiş kolistin ise bütün etkenlerde duyarlı bulunmuştur. Sangale ve ark. [101] *A. baumannii* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo (%91), imipenem (%97), meropenem (%97), siprofloksasin (%96), amikasin (%94), gentamisin (%90) olarak belirtilmiş, kolistin ise bütün etkenlerde duyarlı bulunmuştur. Toksöz ve ark. [12] çalışmalarında *A. baumannii* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo (%100), imipenem (%100), meropenem (%100), tmp-sxt (%71), siprofloksasin (%96), amikasin

(%90), gentamisin (%96) ve levofloksasin (%100) olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise literatüre benzer şekilde, *A. baumannii* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo, imipenem, meropenem, siprofloksasin, gentamisin ve levofloksasin (%100), tmp-sxt (%65,2), tigesiklin (%4,3), amikasin (%61) olarak belirlenmiştir. Kolistin direnci mikrodilüsyon testi sonucu belirlenmiş olup etkenlerin %65,2'si dirençli bulunmuştur. Hastanemiz için hala bazı antibiyotiklerin kullanılabilir olması iyi gibi görünse de kolistin direncinin literatürün tersine çok yüksek bulunması yakın zamanda *A. baumannii* enfeksiyonlarında tedavi olanağının daha da zorlaşacağı görünmektedir.

Hastanelerde, ÇİD ve XDR *A. baumannii* klonlarının kontrolünü sağlamak için çapraz bulaşların engellenmesi ve salgınların zamanında doğru bir şekilde tanımlanarak kaynağının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, klonal benzerliği tanımlayabilen moleküler epidemiyolojik analiz yöntemlerinin kullanılması gereklidir. *A. baumannii*, antimikrobiyal ilaç direncine yol açan direnç genlerini taşıyan mobil genetik elementleri (plazmid vb.) edinmede oldukça yeteneklidir. Bu özellik, ÇİD ve XDR'ye yol açmaktadır (102). Çalışmamızda *A. baumannii* etkenlerindeki direnç genleri incelenmiş, toplam 23 tane *A. baumannii* suşunun: 2 (%8,7)'si *bla_{TEM}* ve 23 (%100)'ü *bla_{CTX-M1}* pozitif bulunmuştur. Etkenlerin 2 (%8,4)'sinde *bla_{TEM}* ve *bla_{CTX-M1}* genleri birlikte bulunmuştur. Jawaheri [102] 29 klinik *A. baumannii* izolatında %68,9 *bla_{GES}*, %55,1 *bla_{SHV}*, %34,4 *bla_{CTX-M2}* ve %31 *bla_{TEM}* geni tespit edildiği belirtilmiştir. Coşkun ve ark. [103] 96 *A. baumannii* etkenini inceledikleri çalışmalarında, etkenlerin sadece %2'sinde *bla_{TEM}* geni pozitif bulunurken; *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M1-2}*, *bla_{PER}*, *bla_{VEB}* ve *bla_{GES}* genlerinin hiçbir etkende tespit edilmediği belirtilmiştir. Ali ve ark. [104] 36 *A. baumannii* etkenini inceledikleri çalışmalarında *bla_{TEM}* geni %100, *bla_{GES}* %13,8 pozitif olarak belirtilmiştir. Jafari ve ark. [105] çalışmalarında 129 *A. baumannii* etkeni incelemiş ve *bla_{PER}*, *bla_{VEB}*, *bla_{CTX-M}* direnç genlerini sırasıyla %32,40, %16,66, %31,48 pozitif bulduklarını belirtmişlerdir. Ülkemizde (2016) yapılan çok merkezli bir çalışmada 519 *A. baumannii* incelenmiş ve GSBL direnç genleri; *bla_{TEM}* %55,9, *bla_{SHV}* %7,7, *bla_{CTX-M1}* %8,1, *bla_{CTX-M2}* %12,1 ve *bla_{GES}* %1,5 pozitif olarak belirtilmiştir (106). Kostakoğlu ve ark. [107] 86 *A. baumannii* etkenini inceledikleri çalışmalarında, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M2}* genlerini sırasıyla %70,9, %2,3, %4,7, %7,0 pozitif olarak belirtmişlerdir. Ambler Sınıf A (*bla_{PER}*, *bla_{VEB}* ve *bla_{GES}*) GSBL enzimleri, *A. baumannii* gibi etkenlerde giderek yaygınlaşmaktadır (108). Aztreonam ve seftazidime karşı dirençten sorumlu *bla_{GES}* tipi GSBL'ler, *A. baumannii*'de 2010 yılından itibaren arttığı tespit edilmiştir (109). 1995'ten beri, Asya, Avrupa, Güney Amerika ve ABD harici Kuzey Amerika gibi

dünyanın önemli bir kısmında *bla_{CTX-M}* tipinin hızla yayıldığı bildirilmektedir (110). GSBL üreten *A. baumannii* izolatlarında *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{SHV}* genlerinin varlığı, penisilin, geniş spektrumlu sefalosporin ve aztreonamlara direnç ile ilişkilidir (106). GSBL üreten *A. baumannii* izolatlarında 40'tan fazla direnç geni bulunur ve bu suşlar genetik değişkenliği olan etkenlerdir. Bu özellikler bakteriye, antibiyotik baskısı devam ettiği sürece çeşitli direnç mekanizmalarından faydalanma yeteneği vermekte ve aynı izolatta birkaç direnç mekanizması gelişebilmektedir.

A. baumannii'nin karbapenem direncindeki en önemli mekanizma, karbapenemleri hidrolize edebilen β -laktamaz enzimlerinin üretilmesidir. OXA Tipi karbapenemazlar ve MBL'ler *A. baumannii*'de en sık rastlanan karbapenemaz türleridir (111). Doğal OXA-51 benzeri enzimler, *A. baumannii* için genotipik bir belirteçtir (112). Nowak ve ark. [113] yaptıkları çalışmada İspanya, İtalya ve Yunanistan'dan toplanan 65 *A. baumannii* izolatının %80'i *bla_{OXA-23}*, %4,6'sı *bla_{OXA-40}*, %1,5'i *bla_{OXA-58}* ve %1,5'inin *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-58}*'i birlikte pozitif olarak saptandığı belirtilmiştir. Correa ve ark. [114] 2008-2010 yılları arasında Kolombiya'da 14 hastaneden izole edilen 121 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolat değerlendirilmiş, 118 izolat *bla_{OXA-51}* ve *bla_{OXA-23}* pozitif, 3 izolat ise yalnız *bla_{OXA-51}* pozitif olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Nazari ve ark. [115] yaptıkları çalışmada 108 *A. baumannii* etkeninin hepsi *bla_{OXA-51}* geni taşıırken %79,38'i *bla_{VIM}* genini taşıdıkları belirtilmiştir. Telli ve ark. [116] karbapenem dirençli 42 *A. baumannii* suşunu inceledikleri çalışmalarında suşların 18'inde (%42) *bla_{OXA-23}*, 5'inde (%12) *bla_{OXA-58}* direnç geni pozitif bulunurken, *bla_{OXA-24}* direnç genine sahip suş bulunmamıştır. Tüm *A. baumannii* suşlarında doğal olarak bulunan *bla_{OXA-51}* direnç geni bulunmuştur. Diğer karbapenemaz enzimlerinden *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* ve *bla_{NDM-1}* hiçbir suшта bulunmadığı belirtilmiştir. Gözalan ve ark. [117] 112 karbapenem dirençli *A. baumannii* suşunu inceledikleri çalışmalarında, izolatların tümünde *bla_{OXA-51}* ve *bla_{OXA-23}* genlerinin tespit edildiği belirtilmiştir. Çalışılan diğer antibiyotik direnç genleri *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}* ve *bla_{NDM-1}* tespit edilememiştir. Ülkemizde MBL (*bla_{VIM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}*) enzimlerinin araştırıldığı çalışmalarda, Aşgın ve ark. (2019) *A. baumannii* etkenlerinin %14,5'inde *bla_{VIM}* geni tespit edildiğini belirtmişlerdir (118). MBL'lerin karbapenemlere karşı hidrolitik aktiviteleri OXA tipine göre 100-1000 kat daha güçlü olsa da *A. baumannii*'de daha az sıklıkta ve daha çok sporadik olarak rastlanmaktadır (119, 120). OXA tipi direnç genlerinin dağılımında farklı coğrafi bölgelere ve yıllar içinde değişiklikler görülmektedir. Akdeniz ülkelerinde; 2009'dan önce *bla_{OXA-58}* geni *A. baumannii* izolatları arasında daha yaygın iken 2009 yılından sonra *bla_{OXA-23}* geni; Cezayir, Hırvatistan,

Mısır, Fransa, Yunanistan, İtalya, İsrail, İspanya, Tunus ve Türkiye gibi birçok ülkede daha yaygın hale gelmiştir. Bu değişimin sebebi karbapenem direncinin yatay gen transferi ile kazanılması ve/veya *bla_{OXA-23}*'ün daha yüksek karbapenemaz aktivitesi göstermesine bağlanmıştır (119). Bizim çalışmamızda ise toplam 23 tane *A. baumannii* suşunun: 23 (%100)'ü *bla_{OXA-51}*, 22 (%96)'si *bla_{OXA-23}* ve 1 (%4,3)'i *bla_{OXA-40}* pozitif bulunmuş ve etkenlerin 1 (%4,2)'i *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-40}* ve 23 (%96)'ü *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-23}* genlerini aynı anda taşıdıkları tespit edilmiştir. Bu durum etkenlerimizin direnç özelliklerinin ve virülansının fazla olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda bulunan sonuçlar literatürle benzerlik göstermektedir.

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda artan dirençli infeksiyonlar nedeniyle, tedavide seçeneksizlik kolistin kullanımını yaygınlaştırmıştır. Kolistin direncini sağlayan temel unsur ise LPS yapılarındaki mutasyonlardır (112). Duman ve Tekerekoğlu [121] çalışmalarında 97 *A. baumannii* incelemiş, çalışılan *A. baumannii* izolatlarının 8 (%8,2) 'i kolistin dirençli, 89 (%91,8) 'u duyarlı saptanmış olup etkenlerin hiçbirinde *mcr1-5* genleri tespit edilemediği belirtilmiştir. Al-Kadmy ve ark. [122] 121 *A. baumannii* etkenini içeledikleri çalışmalarında etkenlerin %76'sı kolistin dirençli ve etkenlerde *mcr-1*, *mcr-2* ve *mcr-3* genleri sırasıyla %73,5, %64,5 ve %67,8 pozitif olarak belirtilmiştir. D'Onofrio ve ark. [123] çalışmalarında kolistin dirençli 8 *A. baumannii* etkeninde *mcr1-8* genleri araştırılmış ve hiçbir etkende direnç genleri tespit edilmediği belirtilmiştir. *A. baumannii*'deki kolistin direncinin plazmid üzerindeki *mcr-1* geni ile geliştiği İtalya, Irak ve Pakistanda yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (124-126). *Mcr-2*, *mcr-3*, ve *mcr-4* genleri ise yine Irak'ta yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir. *Mcr-4.3* geni ise Brezilya, Çin ve Çek Cumhuriyeti'ndeki *A. baumannii* suşlarında bulunmuştur (127-130). Çalışmamızda toplam 23 tane *A. baumannii* suşunda kolistin direnç genleri tespit edilememiştir. Bu durum etkenlerimizdeki kolistin direncinin kromozomal olarak geliştiğini düşündürmüştür.

Literatüre bakıldığında, *K. pneumoniae*'da çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı yüksek oranda direnç bulunmaktadır. Bu durum dünyada önemli bir halk sağlığı tehdidi olarak yakından takip edilmektedir (51). Sangale ve ark. [101] çalışmalarında *K. pneumoniae* antibiyotik direnç dağılımı; pip-tazo (%74), seftazidim (%81), sefepim (%71), ertapenem (%94,73), meropenem (%47), imipenem (%49), kolistin (%1), amikasin (%45), siprofloksasin (%74) ve gentamisin (%60) olarak belirtilmiştir. Demircan ve ark. [131] çalışmalarında *K. pneumoniae* antibiyotik direnç dağılımı; GSBL (%81), karbapenem direnci (%30,5) ve kolistin direnci (%8,9) olarak belirtilmiştir. Toksöz ve ark. [12] çalışmalarında *K.*

pneumoniae antibiyotik direnç dağılımı; ampisilin (%54), pip-tazo (%33), sefuroksim (%15), seftriakson (%15), sefepim (%31), aztreonam (%31), meropenem (%100), imipenem (%100), amikasin (%42,1), siprofloksasin (%100), tmp-sxt (%94,73), sefoksitin (%42,1), gentamisin (%15), levofloksasin (%100), olarak belirtilmiştir. Arıcı ve ark. [132] çalışmalarında VIP etkeni karbapenem dirençli *K. pneumoniae* direnç dağılımı; amoksisilin-klavulanat, seftriakson, seftazidim, sefepim, pip-tazo (%100), gentamisin, amikasin (%77,8), siprofloksasin (%94,4) olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *K. pneumoniae* antibiyotik direnç dağılımı; ampisilin, pip-tazo, seftriakson, sefiksime, sefotaksim, sefoksitin, sefuroksim, siprofloksasin, meropenem ve kolistin (%100), amoklavlin, seftazidim, ertapenem, sefepim, aztreonam ve tmp-sxt (%95,5), imipenem (%86,4), amikasin ve gentamisin (%68,2) olarak bulunmuştur. Sonuçlar literatüre benzerlik gösterse de kolistin direncinin %100 olması önemlidir. Artan direnç spektrumu ile kolistin direncinin de yüksek olması tedavi seçeneklerini kısıtlayacağı anlaşılmaktadır.

K. pneumoniae'da GSBL üretimi oldukça yaygındır. Literatüre bakıldığında; Effah ve ark. [133] çalışmalarında GSBL direnç dağılımı *bla_{CTX-M-1}* (%41,9), *bla_{SHV-11}* (%41,8), *bla_{TEM}* (%39,5) olarak belirtilmiştir. Ballen ve ark. [134] yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* etkenlerinin %85,45'i *bla_{SHV-1}* %78,95'i *bla_{CTX-M1}*, ve %71,93'ü *bla_{TEM-1}* genini taşıdığını tespit etmişlerdir (134). Deniz ve ark. [135] 14 *K. pneumoniae* suşunu inceledikleri çalışmalarında etkenlerin 9'unda *bla_{CTX-M}*, 7'sinde *bla_{SHV}* ve 6'sında *bla_{TEM}* direnç geni belirlenmiştir. Dünya genelinde pip-tazo direncinin gelişmesinden sorumlu olduğu tespit edilen *bla_{OXA-1}* geni, Manuel ve ark. [136] yaptıkları çalışmada *E. coli* ve *K. pneumoniae* etkenlerinde araştırılmış etkenlerin %41'i pozitif olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise bakılan genler sonucunda etkenlerin 22 (%100)'si *bla_{SHV}* ve *bla_{CTX-M1}* pozitif, 21 (%95,4)'i ise *bla_{OXA-1}* pozitif bulunmuştur. Pozitif bulunan GSBL direnç genlerinin neredeyse etkenlerin hepsinde aynı anda bulunuyor olması etkenlerimizin direnç profilinin çok güçlü olduğunu göstermektedir.

K. pneumoniae'da artan direnç fenotipi, özellikle karbapenem direnci, farklı karbapenemaz genlerinin yaygınlığı ile önemli bir sorundur. Ballen ve ark. [134] yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* etkenlerinin 10 (%18)'unda *bla_{OXA-48}* direnç geni tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Telli [137] çalışmasında tek bir direnç genine sahip suşların sayısı *bla_{OXA-48}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* ve *bla_{VIM}* sırasıyla, 113 (%38,8), 32 (%11), 7 (%2,4) ve 5 (%1,7) olarak bulunmuştur. Birden fazla direnç genine sahip suşların dağılımı; *bla_{OXA-48}* + *bla_{NDM}*, 123 (%42,3), *bla_{OXA-48}* + *bla_{KPC}* iki adet, *bla_{OXA-48}* + *bla_{VIM}* bir adet, *bla_{NDM}* + *bla_{KPC}* bir adet, *bla_{NDM}* + *bla_{IMP}* bir adet

olarak belirtilmiştir. Davarcı ve ark. [138] 64 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşunu inceledikleri çalışmada 45'inde *bla_{OXA-48}*, 26'sında *bla_{NDM-1}*, birinde *bla_{KPC}* ve birinde *bla_{VIM-1}* geni saptamışlardır. Effah ve ark. [133] çalışmalarında karbapenem direnç dağılımı *bla_{KPC-2}* (%14,6) ve *bla_{NDM-1}* (%6,7) olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise toplam 22 tane *K. pneumoniae* suşunun: 18 (%81,8)'i *bla_{OXA-48}* ve 2 (%9,1)'si *bla_{NDM-1}* pozitif bulunmuştur. *Bla_{NDM-1}* geni taşıyan etkenlerin aynı zamanda *bla_{OXA-48}* genini taşıdıkları tespit edilmiştir. *Bla_{OXA-48}* geninin ülkemize özgü bir gen olması ve *bla_{NDM-1}* geninin ise artık küresel bir gen olup ülkemizdeki çalışmalarda gösterilse de hala düşük oranlarda bulunması literatürü destekler niteliktedir.

K. pneumoniae'da kolistin direnci önemli bir sorundur ve bu direncin gelişiminde LPS yapısındaki değişikliklere neden olan kromozomal mutasyonlar (özellikle *pmrB* ve *mgrB* genlerinde) rol oynamaktadır. Karbapenem dirençli suşlarda kolistin direncinin artması tedavi seçeneklerini daha da kısıtlamaktadır (139). Sarı ve ark. [139] 217 *K. pneumoniae* etkeninde *mcr-1* ve *mcr-2* geni araştırmış, etkenlerin hepsinin bu genler açısından negatif olduğunu belirtmişlerdir. Süzük Yıldız ve ark. [140] yılındaki çalışmalarında *E. coli* ve *K. pneumoniae* etkenleri incelenmiş *mcr1-8* genlerine bakılmış ama etkenlerin hepsi negatif olarak belirtilmiştir. Gharaibeh ve ark. [141] yaptıkları çalışmada 179 *K. pneumoniae* etkeninin incelendiği çalışmada kolistin direnci %49,7 olarak bulunmuş ve sadece 1 tanesinde *mcr-1* geni tespit edildiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda *K. pneumoniae* suşlarının kolistin direnç genlerinin incelenmesi için *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* direnç genlerine bakıldı. Bakılan genler sonucunda toplam 22 tane *K. pneumoniae* suşunda kolistin genleri tespit edilememiştir. Etkenlerin hepsinin kolistin dirençli olması ve kolistin direnç genlerinin tespit edilememesi direncin kromozomal yolla geliştiğini düşündürmüştür.

P. aeruginosa, karbapenemler başta olmak üzere birçok antibiyotik sınıfına karşı önemli düzeyde direnç göstermektedir. Özellikle MBL üretimi karbapenem direncinin yaygın bir mekanizmasıdır. MDR *P. aeruginosa* suşlarının varlığı, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmakta ve yeni tedavi stratejilerine olan ihtiyacı artırmaktadır. Hayakawa ve ark. [98] çalışmalarında *P. aureginosa* etkenlerinin antibiyotik direnç dağılımı; seftazidim (%47,6), sefepim (%47,6), aztreonam (%61,9), meropenem (%61,9), gentamisin (%57,1), amikasin (%47,6), levofloksasin (%52,4) olarak belirtilmiştir. Kolistin ise %100 duyarlı olarak belirtilmiştir. Arıcı ve ark. [132] çalışmalarında VIP etkeni karbapenem dirençli *P. aureginosa* direnç dağılımı; seftazidim, sefepim, pip-tazo (%100), amikasin (%95,5), ciprofloksasin (%54,5) olarak belirtilmiştir. Toksöz ve ark. [12] çalışmalarında gentamisin

(%80), amikasin (%20), ciprofloksaisin (%40), pip-tazo (%90), aztreonam (%70), sefepim (%80), imipenem (%80), meropenem (%70), levofloksasin (%70) ve seftazidim (%40) olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *P. aeruginosa* antibiyotik direnç dağılımı; , pip-tazo (%71,42), seftazidim (%57,14), sefepim (%57,14), siprofloksasin (%71,42), imipenem (%71,42), meropenem (%57,14), amikasin (%14,28), aztreonam (%42,85), levofloksasin (%14,28) ve kolistin (%100) olarak bulunmuştur. Kolistin direncinin %100 bulunması ve diğer antibiyotiklere karşı artan direnç oranları *P. aeruginosa* tedavisi için seçenekleri azaltmaktadır.

P. aeruginosa, hastane enfeksiyonlarında önemli bir fırsatçı patojen olup, GSBL üreten suşları ciddi tedavi zorlukları oluşturmaktadır (142). Souza ve ark. [143] çalışmalarında 28 *P. aeruginosa* etkeninde *bla_{TEM}* %11 (3/28), ve *bla_{SHV}* %7 (2/28). *bla_{GES-1}*, *bla_{CTX-M}* genlerinin ise tespit edilemediğini belirtmişlerdir. Laudy ve ark. [144] 110 GSBL dirençli *P. aeruginosa* inceledikleri çalışmalarında 69 *bla_{VEB}*, 13 *bla_{GES}*, *bla_{OXA-2}* ve 6 *bla_{OXA-10}* geni pozitif olarak belirtilmiştir. Peymani ve ark. [145] çalışmalarında 75 GSBL pozitif izolatta, *bla_{TEM-1}* (%26,7), *bla_{CTX-M-15}* (%17,3), *bla_{SHV-1}* (%6) ve *bla_{SHV-12}* (%4) pozitif olarak belirtilmiştir. Amirkamali ve ark. [146] 75 GSBL *P. aeruginosa* inceledikleri çalışmada, %37,3 *bla_{OXA-1}*, %32 *bla_{OXA-4}*, %16 *bla_{GES}* ve %13,3 *bla_{VEB}* genleri pozitif olarak belirtilmiştir. Çopur ve ark. [147] 70 tane *P. aeruginosa* suşunu inceledikleri çalışmalarında izolatların 18 (%25,71)'inde *bla_{VEB}* ve *bla_{PER}* genleri pozitif olarak belirtilmiştir. Sales ve ark. [148] çalışmalarında 110 *P. aeruginosa* incelenmiş ve GSBL direnç genleri; *bla_{CTX-M1}* (%27,27), *bla_{CTX-M2}* (%23,63) ve *bla_{CTX-M3}* (%9,09) pozitif olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise toplam 4 tane *P. aeruginosa* suşunun: 1(%25)'i *bla_{TEM}* ve 4 (%100)'ü *bla_{CTX-M1}* pozitif bulunmuştur. Literatüre bakıldığında farklı bölgelerde farklı oranlarda ve farklı genetik varyasyonlar olduğu görülmektedir. Bu farklılık kullanılan antibiyotikler (3. Ve. 4. Kuşak sefalosporinler) ve bölge florasındaki etkenler arasında yatay gen transferinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hastane salgınları ve transfer edilebilir direnç mekanizmalarıyla birlikte yüksek riskli kolonilerin yayılması MDR *P. aeruginosa* prevalansında artış sağlamıştır.

P. aeruginosa'nın karbapenemlere karşı direnç kazanması, tedavi seçeneklerini ciddi şekilde kısıtlamakta ve büyük bir klinik tehdit oluşturmaktadır (149). Karali ve ark. [150] çalışmalarında 46 *P. aeruginosa* izolatında genlerin dağılımı, 36 *bla_{NDM}*, 2 *bla_{VIM}*, 2 *bla_{IMP}* ve 1 *bla_{OXA-48}* olarak belirtilmiştir. Altan ve ark. [151] 47 adet karbapenem dirençli *P. aeruginosa* incelenmiş %12,8 *bla_{VIM}*, %10,6 *bla_{NDM}*, %6,4 *bla_{OXA-48}* geni saptandığı

belirtilmiştir. *bla_{KPC}* ve *bla_{IMP}* genleri izolatlarda tespit edilmemiştir. Çopur ve ark. [147] 70 tane *P. aureginosa* suşunu inceledikleri çalışmalarında karbapenem direnç genleri; *bla_{KPC}* 12 (%17,14), *bla_{NDM}* 18 (%25,71), *bla_{IMP}* 5 (%7,14), *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-23}* 1 (%1,42), *bla_{OXA-48}* 12 (%17,14) pozitif olarak belirtilmiştir. Diorio-Toth ve ark. [152] yaptıkları çalışmada 142 *P. aureginosa* örneğinde 2/142 *bla_{IMP}*, 5/142 *bla_{NDM-1}* ve 17/142 *bla_{VIM}* geni belirtilmiştir. Souza ve ark. [143] çalışmalarında 28 *P. aureginosa* etkeninde, *bla_{KPC-2}* %11 (3/28) pozitif olarak belirtilmiştir. Etkenlerde *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{VIM-1}*, *bla_{IMP-1}* ve *bla_{NDM-1}* genlerinin ise tespit edilemediğini belirtmişlerdir. *P. aureginosa* suşlarının bakılan genler sonucunda toplam 4 tane *P. aureginosa* suşunun hepsi *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}* pozitif bulunmuştur. Literatürden farklı olarak yüksek bulunan *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}* genlerinin *A. baumannii* etkenlerinde de yüksek bulunması 2 etken arasında gen transferinin gerçekleştiğini düşündürmüştür.

Karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe dirençli suşlara karşı son çare olarak kullanılan kolistin (polimiksin E), bu bakteriye karşı etkili olan az sayıdaki ajanlardan biridir (153). Ancak son yıllarda kolistin direnci giderek artmakta ve bu durum tedavi seçeneklerini ciddi şekilde sınırlamaktadır (154). Yala ve ark. [155] %94 kolistin dirençli 17 *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. örneğinde *mcr-1* ve *mcr-2* gen varlığı araştırılmış, örneklerin hiçbirinden genlerin tespit edilemediği belirtilmiştir. Ejaz ve ark. [156] gram-negatif bakterilerde *mcr-1* ve *mcr-2* genlerini araştırdıkları çalışmada 2 adet *P. aureginosa* suşunun *mcr-1* genini taşıdığı belirtilmiştir. Soni ve ark. [157] 33 kolistin dirençli gram-negatif bakterilerde *mcr-1*, *mcr-2* ve *mcr-3* genlerini araştırdıkları çalışmada etkenlerin hiçbirinde kolistin direnç geni tespit edilemediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda *P. aureginosa* suşlarında kolistin direnç genleri tespit edilememiştir. Yapılan literatür taramasında kolistin direncinde *mcr* gen varlığı daha çok hayvanlardan alınan kaynaklardan tespit edildiği belirtilmiştir. Ahmed ve ark. [158] Mısır'da yaptıkları çalışmada kuşlardan alınan *P. aureginosa* örneklerinde *mcr-1* ve *mcr-2* gen prevalansı sırasıyla %37,5 ve %12,5, insanlarda ise %0 olarak belirtilmiştir. Benzer şekilde Caselli ve ark. [124] İtalya'da yapılan çalışmalarında *mcr-1* geni hayvan izolatlarında %10 bulunurken insan izolatların bu oran %0,1 olarak belirtilmiştir. Düşük bulunan bu sonuçlar kolistin direncinin plazmid aracılı değil kromozomal olarak geliştiğini göstermektedir. Yapılan çoğu çalışmada da kolistin direncinin LPS yapısındaki kromozomal mutasyonlardan kaynaklandığı belirtilmiştir (159).

E. cloacae, hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan oportunistik bir patojen olup, özellikle yoğun bakım hastalarında sepsis, pnömoni ve üriner sistem enfeksiyonları gibi

ciddi hastalıklarla ilişkilidir (160). Son yıllarda *E. cloacae* suşlarında artan antibiyotik direnci, tedavi seçeneklerini sınırlayan önemli bir sorun haline gelmiştir. Altınkanat [161] çalışmasında 7 tane *E. cloacae* suşunun sefoksitin ve aztreonama dirençli bulunduğu belirtilmiştir. Terek [162] çalışmasında incelenen 4 tane *E. cloacae* suşu; %100 imipenem ve sefepim, %75 amoksisilin/klavulanik asit ve aztreonam, %50 sefotaksim ve seftazidime dirençli olarak belirtilmiştir. Wang ve ark. [163] çalışmalarında 53 tane *E. cloacae* suşunun antibiyotik direnç oranları sefotaksim (%100), seftazidim (%100), aztreonam (%100), piperasillin (%87,5), tetrasilin (%75) ve tmp-sxt (%62,5) olarak belirtilmiştir. Özkaçmaz ve Sezgin'in çalışmalarında [164] 18 tane *E. cloacae* suşu incelenmiş ve 5(%27,7)'i kolistin dirençli olarak belirtilmiştir. Tartar ve ark.'nın (165) ETA kültürlerini inceledikleri çalışmada Enterobacter türlerinde kolistin direnci bulunmadığı belirtilmiştir. 2009-2020 arasında yurtdışında yapılan çalışmalarda Enterobacter türlerinde kolistin direnci %16 civarında olduğu belirtilmiştir (166-168). Bizim çalışmamızda ise *E. cloacae* suşu sefoksitin, kolistin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli, pip-tazo, tmp-sxt, seftazidim, amikasin ve siprofiloksasine karşı duyarlı bulunmuştur. Bulunan sonuçlar literatürle benzerlik gösterse de bazı antibiyotiklere karşı duyarlı bulunması bölgemizde tedavisinin hala mümkün olduğunu ancak literatürdeki sonuçlar incelendiğinde direnç durumunun dikkatle takip edilmesi gerekmektedir.

Direnç profilleri, coğrafi bölgelere göre değişkenlik gösterebilir, *E. cloacae*'nin GSBL ve karbapenemaz üreten suşlarının hastane ortamlarında giderek arttığı rapor edilmektedir (169). Altınkanat [161] çalışmasında 7 tane *E. cloacae* suşunun GSBL direnç genlerini incelemiş ve etkenlerin 7'sinde *bla_{SHV}*, 4'ünde *bla_{TEM}* ve 1'inde *bla_{CTX-M}* bulunduğunu belirtmiştir. Terek [162] çalışmasında incelenen 4 tane *E. cloacae* örneğinin 2'sinde *bla_{CTX-M}* geni tespit edildiği belirtilmiştir. Souna ve ark. [170] yaptıkları çalışmada 36 tane *E. cloacae* örneğinin 32 (%88,9)'sinin *bla_{CTX-MI}* genini taşıdığı belirtilmiştir. Peymani ve ark. [171] 48 tane GSBL *E. cloacae* izolatu ile yaptıkları çalışmada etkenlerin %58,5'inin *bla_{OXA-1}* genini taşıdığı belirtilmiştir. Petrosillo ve ark. [172] çalışmalarında 4 tane *E. cloacae* izolatu incelenmiş ve hepsinin *bla_{OXA-1}* genini taşıdığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *E. cloacae* suşunda: *bla_{OXA-1}* ve *bla_{CTX-MI}* genleri pozitif olarak bulunmuştur. Bulunan bu sonuç literatürle benzerlik göstermektedir ancak ülkemizde daha önce *E. cloacae* suşunda *bla_{OXA-1}* geni bildirilmemiştir. Literatürden farklı olarak *bla_{OXA-1}* geninin *A. baumannii* etkenlerinde de bulunması iki etkenin genlerinin birbirine transfer ettiğini düşündürmüştür.

Özellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan MDR ve geniş ilaç dirençli XDR *E. coli*

suşları, küresel sağlık açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (173). Şenol ve ark. [174] çalışmalarında ETA örneklerinden alınan *E. coli* suşlarındaki antibiyotik direnç dağılımı; amoksisilin/klavulanik asit %50, gentamisin %80, amikasin %20, siprofloksaisin %70, tmp-sxt %70, pip-tazo %60 ve kolistin direnci %10 olarak belirtilmiştir. Bayraktar [175] çalışmasında izole edilen 23 *E. coli* suşunda %65,21 ampisilin, %47,82 amoksisilin-klavulonik asit, %56,52 seftriakson, %52,17 seftazidim, sefepim ve siprofloksasin direnci olduğu saptanmış olup, hiçbir suşta kolistin direnci görülmemiştir. *E. coli* suşlarının en duyarlı olduğu antibiyotiklerin amikasin ve meropenem olduğu tespit edilmiştir. Arıcı ve ark. [176] çalışmalarında ETA örneklerindeki *E. coli* suşlarında direnç dağılımı; pip-tazo (%35,8), sefepim (%54), seftazidim (%60,4), seftriakson (%67,9), siprofloksasin (%73,6), tmp-sxt (%57,7) ve kolistin direnci (%1,9) olarak belirtilmiştir. Mishra ve ark. [177] VIP etkenlerini inceledikleri çalışmalarında *E. coli*; meropenem, polimiksin B, kolistin, sefoperazon-sulbaktam, Pip-Tazo, Siprofloksasin ve Sefepime karşı %100 direnç gösterdiği amikasin ise %100 duyarlı olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda *E. coli* suşu ampisilin, tmp-sxt, pip-tazo, sefuroksim, sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefepim, aztreonam, ertapenem, siprofloksasin, kolistin ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli; imipenem, meropenem ve amikasin duyarlı bulunmuştur. Literatüre benzeyen sonuçlar bulunsa da örnek sayımızın az olması çalışmamızın kısıtlıdır.

Toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı GSBL üreten *E. coli* oranları artmaktadır. GSBL pozitif *E. coli*, özellikle üriner sistem enfeksiyonları, pnömoni ve sepsis vakalarında önemli bir patojen olarak öne çıkmaktadır (178). Ülkemizde farklı merkezlerden izole edilen *E. coli* suşları ile yapılan çalışmada, izolatların %83,18'inde *bla_{CTX-M1}*, %44'ünde *bla_{TEM}*, %31,81'inde *bla_{CTX-M2}* ve %1,81'inde *bla_{SHV}* genlerinin varlığı gösterilmiştir (179). Ülkemizde yapılan farklı bir çalışmada *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{SHV}* genleri suşlarda sırasıyla %92, %70 ve %21 oranlarında bulunmuştur (180). Livermore ve ark. [181] İngiltere de yaptıkları çalışmada 293 GSBL *E. coli* örneği incelemiş ve örneklerin; 229 (%78,2)'u *bla_{CTX-M-15}*, 149 (%50,9)'u *bla_{OXA-1}* ve 137 (%46,8)'si *bla_{TEM}* pozitif olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise bakılan genler sonucunda *E. coli* suşunda: *bla_{OXA-1}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{CTX-M2}* genleri pozitif olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar literatürle benzerlik göstermektedir. Bu etkenin aynı anda birçok direnç genini taşıması etkenin direnç profilinin oldukça kuvvetli olduğunu, diğer etkenlerle gen alışverişinin olabileceğini ve bu etkenlerin dikkatle takip edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Karbapenem dirençli *E. coli* (CREC), özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir

patojen olarak öne çıkmaktadır (149). Telli ve ark. [182] 36 tane karbapenem dirençli *E. coli* suşunu inceledikleri çalışmada etkenlerin; 16'sı (%52) *bla_{NDM-1}*, 5'i (%16) *bla_{OXA-48}*, 3'ü (%10) *bla_{KPC}*, 2'si (%6) hem *bla_{NDM-1}* hem de *bla_{OXA-48}* genlerini ve birer suşun *bla_{IMP}* + *bla_{VIM}* ve *bla_{NDM-1}* + *bla_{KPC}* + *bla_{OXA-48}* direnç genlerini taşıdığı belirtilmiştir. 36 ülkeyi içeren küresel bir çalışmada, *E. coli* suşlarında en yaygın karbapenamaz enzim tipinin *bla_{OXA-48}* olduğu, onu *bla_{NDM-5}*'in takip ettiği rapor edilmiştir. Türkiye'den alınan suşlar da bu çalışmaya dahil edilmiş ve en sık *bla_{OXA-48}* benzeri enzimlerin bulunduğu görülmüştür (183). Bizim çalışmamızda ise *E. coli* suşunda sadece *bla_{OXA-48}* geni pozitif bulunmuştur. Bulunan sonuçlar literatürle benzerlik göstermiştir.

Kolistin, karbapenem dirençli Enterobacterales (CRE) ve çoklu ilaç dirençli Gram-negatif bakterilere karşı son çare tedavi olarak kullanılan bir polipeptid antibiyotiktir. *E. coli*'de kolistin direnci, kromozomal mutasyonlar veya plazmid aracılı direnç genleri (*mcr*) ile ortaya çıkmaktadır (184). Sarı ve ark. [185] 31 tane *E. coli* etkeninde *mcr-1* ve *mcr-2* genlerine bakılmış etkenlerinin hiçbirinin bu genleri taşımadığı belirtilmiştir. Rabie ve ark. [186] 107 *E. coli* etkeninde *mcr-1* ve *mcr-2* gen varlığı araştırmışlar ve sadece 1 etkende *mcr-1* gen tespit edildiği belirtilmiştir. Yapılan bir meta-analizde, klinik *E. coli* çalışmalarında en fazla çeşitlilik sergileyen kıta, üç varyantla (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr3*) Asya olurken, bunu iki varyantla (*mcr-1* ve *mcr-2*) Avrupa ve (*mcr-1* ve *mcr-5*) Amerika kıtası izledi. Afrika kıtasında ise sadece *mcr-1* geni tespit edilmiştir (187). Çalışmamızda *E. coli* suşunda kolistin direnç genleri tespit edilememiştir. Kolistin direncinin kromozomal olarak geliştiği düşünülmüştür.

Gen transferi, bakterilerin genetik çeşitliliğini artıran ve antibiyotik direnç gibi özelliklerin yayılmasına katkıda bulunan temel bir süreçtir. Gram-negatif bakterilerde gen transferinin başlıca yollarından biri konjugasyondur. Konjugasyon, bir bakteriden diğerine doğrudan bir genetik materyal aktarımı sağlayan bir süreçtir ve bu süreç çoğunlukla plazmidler aracılığıyla gerçekleşir (188). Gram negatif bakterilerdeki konjugatif sistemler, konjugatif özelliklerine ve konjugasyonun etkinliğine bağlı olarak türler ve cinsler arasında direnç belirleyicilerinin yatay transferini teşvik eder. Antibiyotik direncinin başarılı bir şekilde yayılmasında ise plazmidler en önemli etkenlerden biridir. Barguigua ve ark. [189] çalışmasında 6 tane *K. pneumoniae* izolatu incelenmiş, incelenen altı izolattan üçünde β -laktamaz genlerinin (*bla_{CTX-M-15}*, *bla_{TEM-1b}*, *bla_{OXA-1}*) birlikte transfer edildiğini ve bu genlerin yüksek molekül ağırlıklı konjugatif bir plazmid tarafından taşındığını göstermiştir. Örneklerin ikisinin yaban tipinde bulunan *bla_{TEM-1b}* ve *bla_{OXA-1}* genleri transkonjugant

örneklerde de tespit edildiği belirtilmiştir. Trang ve ark. [190] 9 tane *K. pneumoniae* örneğini incelemiş ve bu örneklerin 5 (%55,5)'inin GSBL genlerini barındıran aktarılabılır plazmidlere sahip olduğu tespit edilmiş olup en fazla bulunan genlerin ise *bla_{CTX-M-15}* ve *bla_{TEM-1}* olduğu belirtilmiştir. Villacis ve ark. [191] yaptıkları çalışmada plazmidinde *bla_{OXA-48}* genine sahip 1 tane *K. pneumoniae* örneğinin incelenmesinde konjugasyon deneyi yapılmış ve *bla_{OXA-48}* genini transkonjugant hücrelerine aktarıldığı belirtilmiştir. Düzgün ve Saral [192] *bla_{NDM-1}* ve *bla_{OXA-48}* genlerini plazmidinde taşıyan 1 tane *K. pneumoniae* örneğini inceledikleri çalışmada konjugasyon deneyleri sonucu transkonjugant hücre tespit edilmiş olup plazmid, PCR ile *bla_{NDM-1}* ve *bla_{OXA-48}* genleri açısından taranmış ve plazmitte *bla_{OXA-48}* geni bulunmuş, *bla_{NDM-1}* geni tespit edilemediği belirtilmiştir. Xiang ve ark. [193] çalışmalarında *bla_{NDM-1}* genine sahip 44 tane *K. pneumoniae* örneğinin 21 (%47,7)'inde transkonjugant hücrede *bla_{NDM-1}* geni tespit edildiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 22 tane *K. pneumoniae* örneğinin 9 tanesi transkonjugant olarak belirlenmiş, yaban hücrede olup TcKp2, TcKp4, TcKp6, TcKp11 ve TcKp13 etkenleri tarafından *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-48}* ve *bla_{TEM}*, TcKp8 ve TcKp12 etkenleri tarafından ise *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}*, *bla_{OXA-1}* genleri transkonjugant hücreye aktarılmıştır. TcKp17 etkeni tarafından *bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}*; TcKp20 etkeni tarafından ise *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}* genleri transkonjugant hücreye aktarılmıştır. Bulunan sonuçlar gen bazında literatürle benzerlik gösterse de transkonjugant örneklerin hepsinde birden fazla direnç geninin belirlenmesi, direnç genlerini çok kolay transfer edebildiğini bu durumda direnç oranlarının daha da artacağı ve farklı patojenlere de yayılabileceği anlaşılabilmektedir. Dolayısıyla enfeksiyon kontrol önlemlerinin öneminin artması gerektiğini göstermektedir.

Mutasyonlar ve horizontal gen transfer mekanizmaları, bakteri genomunun evrimi ve çoklu ortamlara adaptasyonu için kilit konumdadır. *A. baumannii* hayatta kalmada oldukça yetenekli ve direnç genlerini yaymak için HGT'nin tüm mekanizmalarını ve mobil genetik elementleri kullanabilmektedir (194). Xiang ve ark. [193] çalışmalarında *bla_{NDM-1}* genine sahip 8 tane *A. baumannii* örneğinin 5 (%62,5)'inde transkonjugant hücrede *bla_{NDM-1}* geni tespit edildiği belirtilmiştir. Chen ve ark. [195] *bla_{NDM-1}* genini taşıyan 4 tane *A. baumannii* izolatının 3 tanesinin başarıyla *bla_{NDM-1}* genini transfer edebildiğini belirtmişlerdir. Sanchez-Urtaza ve ark. [196] yaptıkları çalışmada *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-64}*, *bla_{PER-7}* ve *bla_{ADC-57}*, genleri belirlenen 1 tane *A. baumannii* etkeninin sadece *bla_{PER-7}* geni plazmid aracılı bulunmuş olup diğer bütün genler kromozom üzerinde taşındığı belirlenmiştir. *Bla_{PER-7}* geni ise başarılı bir şekilde transfer edildiği belirtilmiştir. Jawaheri [102] çalışmasında 29 adet *A.*

baumannii izolatlarının transfer edilebilir plazmid aracılı antibiyotik direnç genleri taşıyıp taşımadığını belirlemek için yaptıkları çalışmada Tc24 izolatının konjugatif plazmid taşıdığı ve *bla_{TEM}* ve *bla_{SHV}*, Tc26 izolatının *bla_{TEM}* ve *bla_{OXA-1}*, Tc28 izolatının *bla_{CTX-M2}* genini taşıdığı belirtilmiştir. Leungtongkam ve ark. [197] yaptıkları çalışmada 14 *A. baumannii* suşunun 4'ü transkonjugant olarak belirlendi ve suşlardan 1'ine *bla_{OXA-23}* ve *bla_{PER-1}* genlerinin transfer edildiği belirtilmiştir. Lopes ve ark. [198] yaptıkları çalışmada *bla_{OXA-23}* genini taşıyan bir *A. baumannii* suşunun konjugasyon deneyi sonucu plazmid aracılı *bla_{OXA-23}* genini karbapenem duyarlı başka bir suşa transfer edildiği belirtilmiştir. *A. baumannii* *bla_{OXA-51}* gibi β -laktamazları doğal olarak üretir. *Bla_{OXA-51}* tipi genellikle kromozomda bulunur. *Acinetobacter* türünün tanımlanmasında bir belirteç olarak kullanılması önerilmiştir. *A. baumannii* plazmidlerinde *bla_{OXA-51}* benzeri geni taşıyan transpozon Tn6080'i çevreleyen hedef bölge kopyalarının tespiti, bu genetik elemanın bu türün kromozomundan transpozisyon yoluyla hareket ettiğini düşündürmektedir (199, 200). Bizim çalışmamızda ise *A. baumannii* etkenlerinde transkonjugant hücre belirlenemedi. Bu durum *A. baumannii* etkenleri arasındaki gen transferinin olmadığını ya da plazmid aracılı konjugasyonla değil farklı mobil genetik elemanlarla olabileceğini düşündürmüştür.

Plazmidler, bakteri genomundan bağımsız olarak replike olabilen ekstrakromozomal DNA molekülleridir. Plazmid replikasyonunun başlaması, replikasyon orijini (ori) adı verilen özel DNA dizileri tarafından kontrol edilir. Plazmidlerin replikasyonu, kendi kendini kopyalama yeteneğini sağlayarak genetik çeşitlilik ve antibiyotik direnç mekanizmalarının yayılmasına katkıda bulunur (201). Çalışmamızda plazmid replikasyon orijini deneyleri sonucu konjugatif plazmidler belirlenmiştir. Transkonjugant suşlara bakıldığında 7 etkenin (Tckp2, TcKp4, TcKp6, TcKp8, TcKp11, TcKp12 ve TcKp13) sadece K tipi konjugatif plazmidi belirlenmiş olup, TcKp8 ve TcKp12 etkenlerinin (*bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{TEM}*); Tckp2, TcKp4, TcKp6, TcKp11 ve TcKp13 etkenlerinin ise (*bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{TEM}*) direnç genlerini taşıdığı belirlenmiş olup, etkenlerin aynı direnç genlerini taşımaları, aynı etkenin hastanenin farklı yerlerinde enfeksiyon yaptığını ya da bu plazmidlerin etkenler arasında çok kolay aktarıldığını düşündürmüştür. TcKp17 örneğinde ise F ve K tipi konjugatif plazmidleri tespit edilmiş (*bla_{OXA-48}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{NDM-1}*) genlerini taşıdığı belirlenmiştir. TcKp20 transkonjugant suşunda F ve K olmak üzere 2 adet konjugatif plazmid belirlenmiş olup (*bla_{CTX-M1}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}*) direnç genlerini üzerinde taşıdığı tespit edilmiştir. Bulunan sonuçlar bu etkenlerin konjugatif plazmidler içermesi ve bu plazmidlerin birden çok direnç geni bulundurması direncin diğer etkenler arasında hızla yayılabileceğini

göstermektedir. Bu duruma yönelik önlemlerin alınması, enfeksiyon kontrol önlemlerinin özenle belirlenip uygulanması ve etkene yönelik tedavinin dikkatlice düzenlenmesi gerekmektedir.

Multilocus dizi tiplemesi (MLST), bakteri türlerinin moleküler tiplendirilmesi için kullanılan yüksek çözünürlüklü bir genotipleme yöntemidir (202). Bu yöntem, evrimsel ilişkileri ve epidemiyolojik yayılımı analiz etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. MLST, belirli bir bakteri türüne özgü 7 ila 10 adet evrimsel olarak korunmuş hane (housekeeping) genini hedef alır. Her gen bölgesinin belirli bir uzunluktaki (genellikle ~450-500 bp) dizisi sekanslanır ve her benzersiz dizi bir allel numarasıyla tanımlanır. Her bir izolat, bu allel kombinasyonlarına göre benzersiz bir dizi tipi (ST, *Sequence Type*) ile tanımlanır (203). Yaptığımız MLST analizleri sonucu *K. pneumoniae* örneklerinin ST'leri belirlenmiştir. Toplam 22 örneğin 15 tanesi ST2096, 3 tanesi ST45, 1 tanesi ST14, 2 tanesi ST437 ve 1 tanesi ST1128 olarak belirlenmiştir.

ST2096 klonu ilk kez 2019'da Hindistan'da bildirilmiş ve ST2096 klonlarının hipervirulent olduğu rapor edilmiştir (204). Hoşbul ve ark. [205] Ülkemizde 2 farklı merkezde yaptıkları çalışmada, 38 tane colistin ve karbapenem dirençli *K. pneumoniae* etkenini incelemişler ve 1. merkezde etkenlerin %81'i ST14, 2. merkezde ise etkenlerin %94'ü ST2096 olarak bildirilmiştir. Karakamış [51] çalışmasında 53 tane *K. pneumoniae* etkeninin %72'si ST2096, %4'ü ST14 olarak bildirilmiştir (51). İşler ve ark. [206] yaptıkları çalışmada, ST2096 ile daha yüksek bakteriyemi ve ölüm riski arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Köse ve ark. [207] ülkemizin 6 farklı coğrafi bölgesinden topladıkları 50 tane karbapenem dirençli *K. pneumoniae* etkenini inceledikleri çalışmada, en çok bulunan ST'ler; 16 tane ST2096, 7 tane ST101 ve 6 tane ST14 olarak bildirilmiştir. Urooj ve ark. [208] Pakistan'da yaptıkları çalışmada izole ettikleri *K. pneumoniae* etkeninin ST2096 klon tipine sahip olduğunu belirlediler. Bu klonun aynı zamanda kolistin direnciyle birlikte ÇİD ve hipermukoviskoz özellik gösterdiği, geniş antibiyotik direnç ve virülans genlere sahip olduğunu tespit ettiler. ST2096 klonunun küresel yayılma riski, klinikte son çare olarak kullanılan karbapenem ve kolistin gibi antibiyotiklere karşı son derece yüksek direnç oranları göstermeleri tedaviyi zorlaştırdığından dolayı önemli bir tehdit oluşturduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda bulunan ST2096 klonlarından Kp4, Kp6, Kp8, Kp11 ve Kp13 etkenlerinin aynı zamanda konjugatif plazmit içerdiği, aktarılabılır plazmidinde *bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{OXA-1}* ve *bla_{TEM}* gibi direnç genlerini taşıdığı belirlenmiştir. Yaygın bulunan bu klonun aynı zamanda konjugatif plazmit içermesi salgın ve direncin artması

konusunda endişe vericidir. Enfeksiyon kontrol önlemlerinin dikkatlice uygulanması oldukça önemlidir.

ST45 klonu, Avrupa Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae (EuSCAPE) projesindeki süveyans çalışmasında oldukça yaygın olan, karbapenemaz üreten bir klon olarak belirtilmiştir (209). Hastanelerdeki kirli ortamların bakterilerin yayılmasında önemli rol oynadığı iyi bilinmektedir ve yapılan çalışmalar ST45 geniş spektrumlu β -laktamaz üreten *K. pneumoniae*'nin yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yayılmasının çevre kirliliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir (210). ST45 klonu *K. pneumoniae* Portekiz'de gözlemlenmiş ve hatta çoklu ilaca dirençli, KPC-3 ve MCR-1 üreten suşların neden olduğu hastane salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir (211). Gallet ve ark. [212] Çin'de yaptıkları çalışmada yenidoğan çocuklarda 1 saat içerisinde alınan kan kültüründe üreyen 12 tane *K. pneumoniae* etkeninin hepsi ST45 klonuna sahip olduğu belirlenmiş ve bu durum hastane kaynaklı suşların anneden çocuğa dikey geçişini veya çevresel kontaminasyonu düşündürmüştür. Chu ve rak. [213] yaptıkları çalışmada ST45 klonunun öncelikli olarak nozokomiyal bulaşla bağlantılı olduğunu, daha az yaygın olarak hastaneler arası bulaş yaptığını belirtmişlerdir. Bu klonun aynı anda bir karbapenem direnç plazmidini ve bir virülans plazmidini taşıdığını ve aynı zamanda halk sağlığına ve antimikrobiyal direncin kontrolüne zorluk teşkil edebilecek yüksek bulaşıcı bir fenotip sergilediğini belirtmişlerdir. Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* izolatları arasında önemli bir klon olarak tanımlanan ST45, 2017 ile 2019 yılları arasında Polonya'daki bir hastanede *bla_{GES-5/-1}* taşıyan *K. pneumoniae* salgını meydana getirdiği belirtilmiştir (212). Ülkemizde ST45 klonu daha önce belirtilmemiştir. Bulduğumuz sonuçlar ülkemizdeki ilk olması açısından önemli ve dikkat edilmesi gereken bir durumdur. Özellikle çevresel bulaşın çok önemli olduğu bu klonda enfeksiyon kontrol önlemlerini dikkatlice uygulamak gerekmektedir. ST45 klonunun hastanemize nasıl geldiği konusunda hasta bazlı ileri epidemiyolojik bir çalışmayla araştırılabilir.

ST437 klonu, daha önce Kuzey-Güney Amerika ve Asya'da rapor edilen küresel bir salgın klondur (214-217). ST437 klonu genellikle β -laktamaz üreten genlerle ilişkilidir. Özellikle *bla_{KPC-2}* ve *bla_{CTXM-15}* ve daha yakın zamanlarda ise *bla_{OXA}* benzeri (*bla_{OXA-48}* ve *bla_{OXA-245}*) veya *bla_{NDM}* benzeri (özellikle *bla_{NDM-1}*, *bla_{NDM-7}* ve *bla_{NDM-23}*) genlerle ilişkilidir. ST437 *bla_{KPC-2}* ve *bla_{CTXM-15}* ekspresyonu daha önce Brezilya'da (218), *bla_{KPC-2}* ve *bla_{OXA-1}* genleri ise Kanada'da bildirilmiştir (219). Avrupa'da da çeşitli çalışmalar ST437 klonlarının varlığını rapor etmiştir. *bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM-1}* genlerini taşıyan *K. pneumoniae* İspanya'da tanımlanmıştır (220). 2014-2017 yılları arasında Slovenya'da meydana gelen bir salgın

sırasında *bla_{OXA-48}* ve/veya *bla_{NDM-1}* genlerini taşıyan karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* ST437 suşları tanımlamıştır (215). Palmieri ve ark. [216] Sırbistan'dan klinik Kp izolatlarında ST437, *bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM-1}* varlığını bildirmiştir. Aynı yıl Weng ve ark. [221] Çin'de ilk kez *bla_{OXA-232}* üreten ST437 Kp suşunu tanımlamıştır. İtalya'da 2024'te yapılan bir çalışmada ise *bla_{NDM-5}*, *bla_{OXA-232}* ve *bla_{CTX-M-15}* genlerini barındıran bir ST437 *K. pneumoniae* suşu bildirilmiştir. Aynı çalışmada *bla_{OXA-232}* üreten suşlar ise sıklıkla Hindistan'a yapılan seyahatlerle ilişkilendirilmektedir (222). Bizim çalışmamızda ise Kp20 etkeni ST437 klonu olarak belirlenmiş olup bu klonda *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{NDM-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{OXA-51}* genleri tespit edilmiştir. Sonuçlarımız literatürden farklı olarak bulunmuştur. Ülkemizde ilk kez tespit edilen bu klonun Aynı zamanda konjugatif 2 tane plazmid taşıdığını tespit ettiğimizden; bu etken oldukça tehlikelidir. Dünya genelinde salgınlardan sorumlu tutulan bu klon hastanemizde ve ülkemizde salgına sebep olabilecek potansiyeldedir.

K. pneumoniae'nin ST1128 dizilim tipi, literatürde nadir görülen bir suş olarak tanımlanmıştır. Bu suş, özellikle kolonizasyon vakalarında tespit edilmiş olup, enfeksiyonlardan ziyade asemptomatik taşıyıcılarda daha yaygın olabilir (223, 224). Ancak, ST1128 ile ilgili mevcut veriler sınırlıdır ve bu suşun epidemiyolojik özelliklerini ve klinik önemini daha iyi anlamak için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

K. pneumoniae'nin ST14 dizilim tipi, son yıllarda küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmıştır. Bu suş, özellikle antibiyotik direnci ve virülans faktörlerinin birleşimiyle dikkat çekmektedir. ST14 suşları, geniş bir antibiyotik yelpazesine karşı direnç göstermektedir. Özellikle, karbapenemler ve kolistin gibi son çare antibiyotiklere karşı dirençli izolatlar bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, iki hastanede karbapenem ve kolistine dirençli ST14 ve ST2096 suşlarının baskın olduğu tespit edilmiştir (225). Benzer şekilde, Hindistan'da neonatal sepsis vakalarında OXA-48 ve NDM-5 gibi karbapenemaz enzimlerini birlikte üreten ST14 suşları saptanmıştır (226). Hastanemizde 2018-2019 yıllarında farklı klinik örneklerden alınan 53 *K. pneumoniae* etkeninin 2'sinde ST14 aleli belirlenmiştir (51). ST14 suşları, farklı kıtalarda çeşitli hastane salgınlarda tespit edilmiştir. Özellikle, Dubai'deki hastanelerde yüksek dirençli ST14 klonlarının yayılması ciddi bir sorun olarak belirtilmiştir (227, 228). Ayrıca, Avrupa'da yapılan genomik analizler, ST14 suşlarının klonal yayılımını ve yatay gen transferi yoluyla direnç genlerinin aktarımını göstermiştir (228). Çalışmamızda bu alelin az bulunması önemli ancak hastanemizde daha önce yapılan çalışmada tespit edilmesi ve ardından bizim çalışmamızda da aynı alelin tespit

edilmesi hastanede bir bulaşın olduğunu göstermekte ve enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkat edilmesi gerekmektedir.

Yaptığımız MLST analizleri sonucu 24 *A. baumannii* etkenin 1'i ST78, 23'ü ise ST2 olarak belirlenmiştir. *A. baumannii*'nin ST2 dizilim tipi, dünya genelinde en yaygın görülen ve çok ilaca dirençli (MDR) suşlar arasında önemli bir yer tutmaktadır (229). ST2, küresel ölçekte baskın bir klonal gruptur ve özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda sıkça tespit edilmektedir. Örneğin, Fiji'deki bir çalışmada, karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarının %77'sinin ST2 olduğu belirlenmiştir (230). Ayrıca, Çin'de altı yıllık bir dönemde yapılan bir araştırmada, kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan MDR *A. baumannii* suşları arasında ST2'nin baskın olduğu saptanmıştır (231). ST2 suşları, karbapenemler ve kolistin gibi son çare antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir. İtalya'da COVID-19 hastalarından izole edilen karbapenem ve kolistine dirençli *A. baumannii* izolatlarının tamamının ST2 olduğu ve bu suşların OXA-23 ve OXA-66 gibi karbapenemaz genlerini taşıdığı bildirilmiştir (229). ST2 suşları, yüksek virülans özelliklerine sahip olup, hiper-virulan ve XDR formlarıyla dikkat çekmektedir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada, ST2'nin hiper-virulan XDR *A. baumannii* suşları arasında baskın olduğu belirtilmiştir (232). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da ST2 klonu sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (233, 234). Sonuç olarak ST2 dizilim tipi, yüksek antibiyotik direnci ve virülans özellikleri nedeniyle küresel sağlık için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu klonun ülkemizde yaygın olması ve özellikle etkenlerimizin neredeyse hepsinin aynı klon bulunması hastanemizde ciddi bir bulaşın olduğunu göstermektedir. Enfeksiyon kontrol önlemlerinin sıklaştırılması ve bu tür etkenlerin yakından takip edilmesi, sürekli genomik sürveyansın önemi vurgulanması gerekmektedir.

ST78 dizilim tipi, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir rol oynayan ve dikkat çeken bir suştur. ST78 suşları, yüksek biyofilm oluşturma kapasitesine ve uzun süreli kuruluğa dayanıklıdır. Bu özellikler, hastane ortamlarında uzun süre hayatta kalmalarına ve yayılmalarına olanak tanır. Ayrıca, ST78 suşları, A549 insan alveolar epitel hücrelerine yüksek yapışma ve invazyon yeteneği göstermiştir. Bu özellikler, bakterinin konakçı hücrelere tutunma ve enfeksiyon oluşturma kapasitesini artırır (235). ST78 suşlarının genomik analizleri, bu suşların çok ilaca dirençli (MDR) profillere sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle, aminoglikozid direnci ile ilişkili genlerin varlığı dikkat çekicidir (236). Karbapenemler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı da direnç geliştirebilmektedir. Örneğin, Rusya'da izole edilen üç *A. baumannii* ST78 suşunda OXA-

72 karbapenemaz ve GSBL geni CTX-M-115 tespit edilmiştir. Bu enzimler, bakterinin beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına katkıda bulunur (237). Ülkemizin de içinde bulunduğu çalışmalarda; ülkemizde ST78 klonu tespit edilemezken, İtalya ve Yunanistan gibi Avrupa ülkelerinde bu klon tespit edilmiştir (238, 239). *A. baumannii* ST78 dizilim tipi, antibiyotik direnci, yüksek virülans faktörleri ve hastane ortamlarında uzun süre hayatta kalabilme yeteneği ile dikkat çekicidir. Ülkemizde daha önce bildirilmemiş olması çalışmamız için önemli olsa da tehlikeli bir varyant olan bu suşun hem hastanemizde hem de ülkemizde yayılımını önlemek için enfeksiyon kontrol önlemlerine özenle uyulması gerekmektedir.

Yapılan rep-PCR analizleri sonucunda *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* etkenlerinin genetik çeşitliliği örnekler arasında belirlenmiştir. Toplamda 22 *K. pneumoniae* izolatının 4 farklı gruba ayrıldığı tespit edildi. Gruplar incelendiğinde Grup 1 içerisinde olan tüm izolatların ST2096, Grup 2’de ST14 ve ST437, Grup 3’te ST45 ve Grup 4’te ise ST1128 klonlarının olduğu tespit edildi. İzolatların alındığı klinikler karşılaştırıldığında ST2096 klonu hastanemizdeki 4 farklı yoğun bakımda da tespit edilmiştir. 2018’de hastanemizde yapılan başka bir çalışmada da en baskın klon ST2096 olarak belirtilmiştir (51). Bu klonun 2018 yılından beri hastanemizde var olduğu ve bizim çalışmamızda da bütün yoğun bakımlarda tespit edilmesi hastanemizde bu klon tarafından ciddi bir salgının olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda ST45 olarak tanımlanan Kp1 izolatı Nöroloji Yoğun Bakımdan, Kp19 ve Kp21 izolatları ise Reanimasyon 2. Basamak Yoğun Bakımdan izole edildi. Bu üç izolatının rep-PCR sonuçları incelendiğinde izolatların aynı genotipik çeşitliliği gösterdiği tespit edildi. Bu sonuçlar enfeksiyon etkeni *K. pneumoniae* ST45 izolatının hastanenin farklı bölgelerine taşındığını ve buralarda enfeksiyona neden olduğunu göstermektedir. Hastane içerisinde dolaşımı yüksek olan hastane personelinin, klinikler arasında hasta transfer protokollerine yeterince dikkat edilmemesi gibi etkenlerin bu taşınımına aracılık ettiği düşünülmektedir. Bu sonuçlarla hastanemizde enfeksiyon kontrol önlemlerinin kalitesinin ve denetimlerinin artırılması gerektiği anlaşılmaktadır.

A. baumannii izolatları incelendiğinde ise toplam 23 etkenin 3 farklı gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Grup 1’ de bulunan 15 *A. baumannii* izolatı ve Grup 2’de bulunan 7 *A. baumannii* izolatının ST2 klonu olduğu tespit edilmiştir. Grup 3’te ise tek izolatın ST78 klonu olduğu tespit edilmiştir. İzolatların alındığı klinikler karşılaştırıldığında ST2 klonu hastanemizde bulunan 4 farklı yoğun bakımda da tespit edilmiştir. Etkenlerinin neredeyse hepsinin aynı klon olması ve hastanedeki bütün yoğun bakımlarda tespit edilmesi,

hastanemizde bu klon tarafından ciddi bir salgının olduğunu göstermektedir. ST78 klonu ise reanimasyon 3. Basamak yoğun bakımda tespit edilmiştir. Yabancı bir vatandaştan alındığı tespit edilen bu etkenin daha çok Avrupada yaygın olarak bulunması ve yüksek direnç, virülans özelliklerinden dolayı dikkatle takip edilmesi ve olası salgınların önüne geçebilmek için enfeksiyon kontrol önlemlerinin özenle uygulanması gerekmektedir.

Çalışmamızda VIP etkenlerinin moleküler yöntemlerle genotipik özellikleri belirlenmiştir. Bu alandaki diğer çalışmalara kıyasla geniş bir veri çıktısıyla detaylı bir çalışmadır. Endemik VIP izolatlarının antibiyotik direnç genleri, klonal dağılımı-yakınlığı ve plazmid profillerinin tespiti ile epidemiyolojik birçok veri sağlamıştır. Sonuçlar, VIP etkeni olarak en sık *A. baumannii* ve *K. pneumoniae*'nin izole edildiğini ve bu bakterilerin hastane ortamında yayılım gösterdiğini ortaya koymaktadır. Antibiyotik direnç profilleri, özellikle β -laktam grubu, karbapenem ve kolistin gibi kritik antibiyotiklere karşı direncin çok yüksek olduğunu göstermektedir. Yüksek direnç oranları, hastane enfeksiyonlarının tedavisini zorlaştırmakta ve alternatif tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır. Direncin moleküler incelenmesinde etkenlerin hepsinde β -laktamaz ve karbapenem direnç genleri tespit edilmiştir. Etkenlerin klonal dağılımına bakıldığında, *A. baumannii*'de ST2 ve *K. pneumoniae*'de ST2096 klonu yaygın olarak tespit edilmiştir. Hastane ortamında bakteriyel etkenlerin klonal olarak yayılabileceğini ve salgın riskinin yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan plazmid analizleri, bu direnç genlerinin yatay gen transferiyle diğer suşlara da geçebileceğini ortaya koymuştur. Çalışmada elde edilen bulgular, hastane enfeksiyon kontrol protokollerinin daha sıkı uygulanması, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının sınırlandırılması ve direnç mekanizmalarının sürekli izlenmesi gerektiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Şafak B, Kıyıldı N, Çetinkaya Z, Altındış M, Aktepe OC, Çıftıcı IH. Ventilator ilişkili pnömoni tanısında endotrakeal aspirat kültürleri: 2004-2006 yılları sonuçları. *Ankem Dergisi*. 2007;21(2):81-85.
2. Bilgin A. Hastane İnfeksiyonları: Ventilator İlişkili Pnömoni Tanısı. *Ankem Derg* 2014;28:208-211.
3. Karateke Y, Terzi B. Yoğun Bakım Ünitelerinde Mekanik Ventilatore Bağlı Hastalarda Ventilator İlişkili Pnömoni (Vip)'Yi Önlemeye İlişkin Ağız Bakımı Etkinliğinin İncelenmesi: Sistematik Bir Derleme. *Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi*. 2021;25(1):1-9.
4. Augustyn B. Ventilator-associated pneumonia: risk factors and prevention. *Critical care nurse*. 2007;27(4):32-39.
5. Uçgun İ. Mekanik ventilasyon komplikasyonları. *Yoğun Bakım Dergisi*. 2008;8(1):44-59.
6. Ursavaş A, Özyardımcı N. Akut solunum yetmezliklerinde noninvaziv mekanik ventilasyon. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2003;29(3):55-59.
7. Melsen WG, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJ. Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Critical care medicine*. 2011;39(12):2736-2742.
8. Rosenthal VD, Duszynska W, Ider B-E, Gurskis V, Al-Ruzzieh MA, Myatra SN, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2013-2018, adult and pediatric units, device-associated module. *American journal of infection control*. 2021;49(10):1267-1274.
9. Mumtaz H, Saqib M, Khan W, Ismail SM, Sohail H, Muneeb M, et al. Ventilator associated pneumonia in intensive care unit patients: a systematic review. *Annals of Medicine and Surgery*. 2023;85(6):2932-2939.
10. Uçgun I, Daglı C, Kiremitçi A, Yildirim H, Ak G, Aslan S. Effects of isolation rooms on the prevalence of hospital acquired pneumonia in a respiratory ICU. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 2013;17:2-8.

11. Ruíz M, Torres A, Ewig S, Marcos MA, Alcón A, Lledó R, et al. Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;162(1):119-125.
12. Toksöz V, Yılmaz M. Ventilator ilişkili pnömoni hastalarından izole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıkları. *Dicle Tıp Dergisi*. 2019;46(4):641-647.
13. Huang Y, Jiao Y, Zhang J, Xu J, Cheng Q, Li Y, et al. Microbial etiology and prognostic factors of ventilator-associated pneumonia: a multicenter retrospective study in Shanghai. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;67:146-152.
14. Klompas M. Epidemiology, pathogenesis, microbiology, and diagnosis of hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia in adults. UpToDate Waltham, MA. 2018.
15. Safdar N, Crnich CJ, Maki DG. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: its relevance to developing effective strategies for prevention. *Respiratory care*. 2005;50(6):725-741.
16. Joseph NM, Sistla S, Dutta TK, Badhe AS, Parija SC. Ventilator-associated pneumonia: a review. *European journal of internal medicine*. 2010;21(5):360-368.
17. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clinical infectious diseases*. 2016;63(5):61-111.
18. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, et al. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Critical care*. 2012;16:1-9.
19. Pneumatikos IA, Dragoumanis CK, Bouros DE, Warner DS, Warner MA. Ventilator-associated pneumonia or endotracheal tube-associated pneumonia? An approach to the pathogenesis and preventive strategies emphasizing the importance of endotracheal tube. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2009;110(3):673-680.
20. Klompas M. Nosocomial Pneumoniae. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 9. Edt. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2019.

21. Society AT. Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:388-416.
22. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, Day CM, Ciemins J, Lacher DA. The radiologic diagnosis of autopsyproven ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 1992;101(2):458-463.
23. Carraro E, Cook C, Evans D, Stawicki S, Postoev A, Olcese V, et al. Lack of added predictive value of portable chest radiography in diagnosing ventilator-associated pulmonary infection. *Surgical Infections*. 2014;15(6):739-744.
24. Craven DE, Hjalmarson KI. Ventilator-associated tracheobronchitis and pneumonia: thinking outside the box. *Clinical infectious diseases*. 2010;51:59-66.
25. Luyt C-E, Combes A, Deback C, Aubriot-Lorton M-H, Nieszkowska A, Trouillet J-L, et al. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007;175(9):935-942.
26. Plachouras D, Lepape A, Suetens C. ECDC definitions and methods for the surveillance of healthcare-associated infections in intensive care units. *Intensive care medicine*. 2018;44:2216-2218.
27. Society AT, America IDSo. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2005;171(4):388-416.
28. Kollef MH, Hamilton CW, Ernst FR. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2012;33(3):250-256.
29. Muscedere JG, Day A, Heylandl DK. Mortality, attributable mortality, and clinical events as end points for clinical trials of ventilator-associated pneumonia and hospital-acquired pneumonia. *Clinical infectious diseases*. 2010;51:120-125.
30. Papazian L, Klompas M, Luyt C-E. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review. *Intensive care medicine*. 2020;46(5):888-906.

31. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2017;36:1999-2006.
32. Hekimoğlu C, Batir E, Gözel E, Altun D. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (Ushiesa) Özet Raporu. 2022.
33. Dominedò C, Ceccato A, Torres A. Ventilator-associated pneumonia: new principles guiding empiric antibiotic therapy. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2020;33(2):182-188.
34. Derneği TT, Kongresi Y. Erişkinlerde toplumda gelişen pnömoni tanı ve tedavi uzlaşı raporu. *Turk Thorac J*. 2009;10(Suppl 9):1-12.
35. Akın A, Esmaoğlu Çoruh A, Alp E, Canpolat D. Anestezi yoğun bakım ünitesinde beş yıl içerisinde gelişen nozokomiyal enfeksiyonlar ve antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. *Erciyes Tıp Derg*. 2011;33(1):7-16.
36. Tomak Y, Ertürk A, Şen A, Erdivanlı B, Kurt A. Anestezi yoğun bakım ünitesinde ventilatör ilişkili pnömoni hızları ve etken mikroorganizmaların dağılımı. *ŞEEAH Tıp Bülteni*. 2012;46:115-119.
37. Ak O, Batirel A, Ozer S, Çolakoğlu S. Nosocomial infections and risk factors in the intensive care unit of a teaching and research hospital: A prospective cohort study. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2011;17(5):29-34.
38. Pérez A, Gato E, Pérez-Llarena J, Fernández-Cuenca F, Gude MJ, Oviaño M, et al. High incidence of MDR and XDR *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(5):1244-1252.
39. Cillóniz C, Dominedo C, Torres A. An overview of guidelines for the management of hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2019;32(6):656-662.
40. Limaye AP, Stapleton RD, Peng L, Gunn SR, Kimball LE, Hyzy R, et al. Effect of ganciclovir on IL-6 levels among cytomegalovirus-seropositive adults with critical illness:

a randomized clinical trial. *Jama*. 2017;318(8):731-740.

41. Leblebicioglu H, Erben N, Rosenthal VD, Atasay B, Erbay A, Unal S, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) national report on device-associated infection rates in 19 cities of Turkey, data summary for 2003–2012. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2014;13:1-13.

42. Erdoğan M, Özcengiz D. Ventilatör ilişkili pnömoni. *Journal of Human Rhythm*. 2003;2(3):110-116.

43. Pham L, Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, et al. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143:1055-1061.

44. Carrol C.K. Bacteriology. Brooks GF, Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24. Edt. New York: McGraw-Hill Medical; 2007.

45. Eliopoulos G. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. *Infectious Diseases Philadelphia: WB Saunders Co*. 1992:280-286.

46. Arslan E. The growing problem: Antimicrobial resistance. *Aksaray Üniversitesi Tıp Bilimleri Dergisi*. 2024;4(3):23-29.

47. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*. 2001;14(2):41-46.

48. Huddleston JR. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infection and drug resistance*. 2014:167-176.

49. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. *Virulence mechanisms of bacterial pathogens*. 2016:481-511.

50. Ruppé É, Woerther P-L, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of intensive care*. 2015;5:1-15.

51. Karakamış Ö. NDM-1 karbapenemaz üreten klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında antibiyotik direncinin ve virülans genlerin karakterizasyonu. [Yüksek lisans tezi] Kırşehir Ahi Evran University (Turkey); 2022.

52. Saral A. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında antibiyotik direnç genlerinin taranması,

Blages-22 ve Blaoxa-66 varyantlarının moleküler karakterizasyonu. [Doktora Tezi]. Rize Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi; 2015.

53. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(3):969-976.

54. Şeşen ZN. Gram negatif bakteriyemi etkenleri ve artan antibiyotik direnci. [Uzmanlık Tezi]. Ankara Başkent Üniversitesi; 2017.

55. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*. 2005;18(4):657-686.

56. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-antimicrobial resistance*. 2021;3(3):1-21.

57. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(1):1-14.

58. Poirel L, Lartigue M-F, Decousser J-W, Nordmann P. IS Ecp1B-mediated transposition of bla CTX-M in Escherichia coli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(1):447-450.

59. Jacoby GA. AmpC β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*. 2009;22(1):161-182.

60. Evans BA, Amyes SG. OXA β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*. 2014;27(2):241-263.

61. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*. 2001;14(4):933-951.

62. Carattoli A. Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008;14:117-123.

63. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008;14:3-10.

64. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant

strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001;45(4):1151-1161.

65. Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:895:1-30.

66. Al-Zahrani IA. Routine detection of carbapenem-resistant gram-negative bacilli in clinical laboratories: A review of current challenges. *Saudi medical journal*. 2018;39(9):861-872.

67. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *The Lancet infectious diseases*. 2011;11(5):381-393.

68. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*. 2010;10(9):597-602.

69. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. The emerging NDM carbapenemases. *Trends in microbiology*. 2011;19(12):588-595.

70. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Rods. *Human Emerging and Re-emerging Infections: Viral and Parasitic Infections*. 2015:897-913.

71. Philips JA. and Blaser MJ. Introduction to Bacteria and Bacterial Diseases. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 9. Edt. Philadelphia. Elsevier health sciences. 2019.

72. Wayne P.A.. Clinical And Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. Inform Suppl[Internet]. 2011;31(1):100-121.

73. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. 2015;35(3).

74. Poirel L, H  ritier C, Tol  n V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(1):15-22.

75. Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of bla NDM-1-positive Enterobacteriaceae. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2011;55(11):5403-5407.
76. Schechner V, Straus-Robinson K, Schwartz D, Pfeffer I, Tarabeia J, Moskovich R, et al. Evaluation of PCR-based testing for surveillance of KPC-producing carbapenem-resistant members of the Enterobacteriaceae family. Journal of clinical microbiology. 2009;47(10):3261-3265.
77. Jeon B-C, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. Journal of clinical microbiology. 2005;43(5):2241-2245.
78. Corvec S, Poirel L, Naas T, Drugeon H, Nordmann P. Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene bla OXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2007;51(4):1530-1533.
79. Qader MK. Molecular Study of *Acinetobacter baumannii* Using 16srRNA and BlaOxa-51 gene isolated from hospitals in Duhok-Kurdistan Region, Iraq. Journal of Duhok University. 2021;24(1):19-25.
80. Mentasti M, Prime K, Sands K, Khan S, Wootton M. Rapid detection of OXA-23-like, OXA-24-like, and OXA-58-like carbapenemases from *Acinetobacter* species by real-time PCR. Journal of Hospital Infection. 2020;105(4):741-746.
81. Zander E, Fernández-González A, Schleicher X, Dammhayn C, Kamolvit W, Seifert H, et al. Worldwide dissemination of acquired carbapenem-hydrolysing class D β -lactamases in *Acinetobacter* spp. other than *Acinetobacter baumannii*. International journal of antimicrobial agents. 2014;43(4):375-377.
82. Iraz M, Düzgün AÖ, Sandallı C, Doymaz MZ, Akkoyunlu Y, Saral A, et al. Distribution of β -lactamase genes among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients in Turkey. Annals of laboratory medicine. 2015;35(6):595-601.
83. Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2008;52(8):2818-2824.

84. Coque TM, Novais Â, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(2):195-200.
85. Hanson ND, Moland ES, Hossain A, Neville SA, Gosbell IB, Thomson KS. Unusual *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolate producing CMY-7, SHV-9 and OXA-30 β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2002;49(6):1011-1014.
86. Carattoli, Alessandra, et al. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *Journal of microbiological methods*, 2005;63(3): 219-228.
87. Fan Z, Feng Y, Xu W, Feng J, Yan C, Fu T, et al. Rapid detection of multi-resistance strains carrying *mcr-1* gene using recombinase-aided amplification directly on clinical samples. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:852488:1-9.
88. Chan W-S, Au C-H, Ho DN, Chan T-L, Ma ES-K, Tang BS-F. Prospective study on human fecal carriage of Enterobacteriaceae possessing *mcr-1* and *mcr-2* genes in a regional hospital in Hong Kong. *BMC Infectious Diseases*. 2018;18:1-12.
89. Zhang J, Wang J, Chen L, Yassin AK, Kelly P, Butaye P, et al. Housefly (*Musca domestica*) and blow fly (*Protophormia terraenovae*) as vectors of bacteria carrying colistin resistance genes. *Applied and environmental microbiology*. 2018;84(1):1-8.
90. Zhang J, Chen L, Wang J, Butaye P, Huang K, Qiu H, et al. Molecular detection of colistin resistance genes (*mcr-1* to *mcr-5*) in human vaginal swabs. *BMC Research Notes*. 2018;11:1-4.
91. Altaee MJ, Al-Charrakh AH. Molecular detection of plasmid mediated Amp C (pAmpC) β -lactamases and associated antibiotics resistance genes among *E. coli* isolates in Iraq. *Eur Chem Bull*. 2023;12:5907-5925.
92. Brisse S, Passet V, Haugaard AB, Babosan A, Kassis-Chikhani N, Struve C, et al. wzi Gene sequencing, a rapid method for determination of capsular type for *Klebsiella* strains. *Journal of clinical microbiology*. 2013;51(12):4073-4078.
93. Diancourt L, Passet V, Nemec A, Dijkshoorn L, Brisse S. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PloS one*. 2010;5(4):e10034:1-17.

94. Zhan L, Wang S, Guo Y, Jin Y, Duan J, Hao Z, et al. Outbreak by hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:182:1-9.
95. Muzslay M, Moore G, Alhussaini N, Wilson A. ESBL-producing Gram-negative organisms in the healthcare environment as a source of genetic material for resistance in human infections. *Journal of Hospital infection*. 2017;95(1):59-64.
96. Jin C, Zhang J, Wang Q, Chen H, Wang X, Zhang Y, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* in 11 Chinese cities. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1597:1-8.
97. Ertürk A ÇA, Köksal E, Köksal ZŞ, Özyurt S. . Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg*. 2012;26(1):1-9.
98. Hayakawa K, Binh NG, Co DX, Thach PT, Thuy PTP, Chau NQ, et al. Clinical and microbiological evaluation of ventilator-associated pneumonia in an intensive care unit in Vietnam. *Infection Prevention in Practice*. 2023;5(4):100318:1-8.
99. Genç Y, Gürkan Y, Mumcuoğlu İ, Kanyılmaz D, Aksoy A, Aksu N. Yoğun bakım hastalarında hastane kaynaklı pnömoni olgularının değerlendirilmesi ve sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobiyallere dirençlerinin araştırılması. 2016;73(4):355-364.
100. Duran H, Ceken N, Atik B. Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Acinetobacter Baumannii* Suşlarının Direnç Profili: Beş Yıllık Çalışma. *The Medical Journal of Mustafa Kemal University*. 2021;12(44):199-204.
101. Sangale A, Vivek B, Kelkar R, Biswas S. Microbiology of ventilator-associated pneumonia in a tertiary care cancer hospital. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2021;25(4):421-428.
102. Jawaheri RKM. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında plazmit aracılı pAMC ve beta-laktamaz direnç genlerinin belirlenmesi. [Yüksek Lisans Tezi]. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi; 2024.
103. Coskun USS, Caliskan E, Cicek AC, Turumtay H, Sandalli C. β -lactamase genes in

carbapenem resistance *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish university hospital. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2019;13(01):50-55.

104. Ali KM, Ali A, Ali M, Hamza S, Hassan S, Osman W. Phenotypic and Genotypic Patterns of Antimicrobial Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii* at Hospital Settings, Khartoum State, Sudan. *EC Microbiology*. 2021;17(3):44-54.

105. Sales AJ, Naebi S, Bannazadeh-Baghi H, Saki M. Antibiotic Resistance Pattern and Prevalence of blaOXA-51, blaNDM, blaVIM, blaPER, blaVEB, blaCTX, tetA and tetB Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Clinical Specimens of Hospitals in Tabriz city, Iran. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*. 2021;10(2);1-8.

106. Beriř Fř, Budak EE, Gülek D, Uzun A, Çizmecı Z, Mengelođlu FZ, et al. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan klinik *Acinetobacter baumannii* izolatlarında beta-laktamaz gen sıklığı ve dağılımının araştırılması: Çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(4):511-521.

107. Kostakoğlu U, Ertürk A, Yıldız İE, Özyurt S, Çiçek AÇ, Karatař M, et al. Antibiotic resistance and integron gene cassettes in *Acinetobacter baumannii* isolates produced in lower respiratory tract samples taken from the intensive care unit. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2020;22(3):450-460.

108. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *International journal of antimicrobial agents*. 2015;45(6):568-585.

109. Pekince B, Ciftci N, Fındık D, Kalem F, Yüksekya ř, Seyhan T, et al. Genotyping of Extrem-resistant *Acinetobacter baumannii* Strains by Pulsed Field Gel Electrophoresis. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2025;55(2).

110. Tzouveleakis L, Tzelepi E, Tassios P, Legakis N. CTX-M-type β -lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *International journal of antimicrobial agents*. 2000;14(2):137-142.

111. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007;51(10):3471-3484.

112. Koşar N. *Acinetobacter baumannii* klinik suşlarının fenotipik ve genotipik özelliklerinin araştırılması. [Uzmanlık Tezi]. Çorum Hitit Üniversitesi; 2021.
113. Nowak J, Zander E, Stefanik D, Higgins PG, Roca I, Vila J, et al. High incidence of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;72(12):3277-3282.
114. Correa A, Del Campo R, Escandón-Vargas K, Perenguez M, Rodríguez-Baños M, Hernández-Gómez C, et al. Distinct genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Colombian hospitals. *Microbial Drug Resistance*. 2018;24(1):48-54.
115. Karami F, Nazari R, Adeli H. Detection of genes encoding metallo-beta-lactamases in Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*. 2021;28(6):559-567.
116. Telli M, Eyigör M, Korkmazgil B, Aydın N, Atalay MA. *Acinetobacter* spp. klinik izolatlarında karbapenem direncinin moleküler epidemiyolojisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2017;47(4):190-196.
117. Gözalan A, Ünalı Ö, Kırca F, Çöplü N, Müderris T, Açıkgöz Z, et al. Yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının moleküler yöntemlerle karakterizasyonu. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2020;77(1):15-24.
118. Asgin N, Otlı B, Cakmakliogullari EK, Celik B. High prevalence of TEM, VIM, and OXA-2 beta-lactamases and clonal diversity among *Acinetobacter baumannii* isolates in Turkey. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2019;13(09):794-801.
119. Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne J-P. Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *BioMed research international*. 2014;2014(1):305784:1-11.
120. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(3):538-582.
121. Duman Y, Tekerekoğlu MS. Yoğun Bakım Ünitelerinde İzole Edilen *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarının Kolistin MİK Değerlerinin ve Direnç Genlerinin İrdelenmesi.

Turkish Journal of Intensive Care. 2021;19(2):71-75.

122. Al-Kadmy IM, Ibrahim SA, Al-Saryi N, Aziz SN, Besinis A, Hetta HF. Prevalence of genes involved in colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*: first report from Iraq. *Microbial Drug Resistance*. 2020;26(6):616-622.

123. D’Onofrio V, Conzemius R, Varda-Brkić D, Bogdan M, Grisold A, Gyssens IC, et al. Epidemiology of colistin-resistant, carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* in Croatia. *Infection, genetics and evolution*. 2020;81:104263:1-13.

124. Caselli E, D’Accolti M, Soffritti I, Piffanelli M, Mazzacane S. Spread of mcr-1–driven colistin resistance on hospital surfaces, Italy. *Emerging infectious diseases*. 2018;24(9):1752-1753.

125. Hafudh HH, Hassan JS, Mahdi D, Hafudh HH. Detection of plasmid-mediated Colistin resistance genes (mcr-1 to mcr-5) in *Acinetobacterbaumannii* recovered from nosocomial versus community wound infection. *Ann Trop Med Public Health*. 2020;23(19):10.36295.

126. Hameed F, Khan MA, Muhammad H, Sarwar T, Bilal H, Rehman TU. Plasmid-mediated mcr-1 gene in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: first report from Pakistan. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2019;52:e20190237:1-6.

127. Bitar I, Medvecky M, Gelbicova T, Jakubu V, Hrabak J, Zemlickova H, et al. Complete nucleotide sequences of mcr-4.3-carrying plasmids in *Acinetobacter baumannii* sequence type 345 of human and food origin from the Czech Republic, the first case in Europe. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2019;63(10):1-4.

128. Ma F, Shen C, Zheng X, Liu Y, Chen H, Zhong L, et al. Identification of a novel plasmid carrying mcr-4.3 in an *Acinetobacter baumannii* strain in China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2019;63(6):1-7.

129. Martins-Sorenson N, Snesrud E, Xavier DE, Cacci LC, Iavarone AT, McGann P, et al. A novel plasmid-encoded mcr-4.3 gene in a colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;75(1):60-64.

130. Snyman Y, Reuter S, Whitelaw AC, Stein L, Maloba MRB, Newton-Foot M.

Characterisation of mcr-4.3 in a colistin-resistant *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolate from Cape Town, South Africa. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2021;25:102-106.

131. Demircan SK, Nazik S, Güler S, Cingöz E. Ventilatör İlişkili Pnömonili Hastaların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi: Altı Yıllık Veri. *KSU Medical Journal*. 2024;19(1):8-16.

132. Arıcı N, Kansak N, Adaleti R, İlhan S, Özdemir R, Şenbayrak S, et al. Ventilatör İlişkili Pnömoni Etkeni Karbapenem Dirençli *Klebsiella Pneumoniae* Ve *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarında Seftazidim-Avibaktamin In Vitro Etkinliği. *Ankem Dergisi*. 2023;37(2):57-64.

133. Effah CY, Sun T, Liu S, Wu Y. *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2020;19:1-9.

134. Ballén V, Gabasa Y, Ratia C, Ortega R, Tejero M, Soto S. Antibiotic resistance and virulence profiles of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical sources. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021;11:738223:1-11.

135. Deniz S, Büyük F, Murat K. Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Kafkas Journal of Medical Sciences*. 2021;11(2):307-317.

136. Manuel C, Maynard R, Humphries RM. Evaluation of Piperacillin-Tazobactam ETEST for the Detection of OXA-1 Resistance Mechanism among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2022;60(12):e01430-22.

137. Telli M. *Klebsiella pneumoniae* klinik suşlarında, 2012-2020 yılları arasında karbapenem direnç oranlarındaki değişimin ve direnç genlerinin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2022;52(2):95-102.

138. Davarci I, Kocoglu ME, Zengin F. Comparison of Carbapenem Inactivation Test and Modified Hodge Test in Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains/Karbapenemaz Üreten *Klebsiella pneumoniae* Suslarında Karbapenem İnaktivasyon Testi ve Modifiye Hodge Testinin Karsılaştırılması. *KLİMİK Journal*. 2018;31(3):223-227.

139. Sarı A, Süzük S, Karatuna O, Öğünç D, Karakoç E, Çizmeci Z, et al. Ülkemizde klinik

Enterobacteriaceae izolatlarında plazmit aracılı kolistin direnç genlerini (mcr-1 ve mcr-2) araştıran çok merkezli çalışmaya ait sonuçlar. Mikrobiyol Bul. 2017;51(3):299-303.

140. Süzük Yıldız S, Şimşek H, Bakkaloğlu Z, Numanoğlu Çevik Y, Hekimoğlu C, Kılıç S. Türkiye’de 2019 yılı içinde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz epidemiyolojisi. Mikrobiyol Bul. 2021;55(1):1-16.

141. Gharaibeh MH, Alyafawi DA, Elnasser ZA, Lafi SQ, Obeidat HM. Emergence of mcr-1 gene and carbapenemase-encoding genes among colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Jordan. Journal of Infection and Public Health. 2022;15(8):922-929.

142. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clinical infectious diseases. 2002;34(5):634-640.

143. Souza GHdAd, Rossato L, Brito GT, Bet GMdS, Simionatto S. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains: a worrying health problem in intensive care units. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2021;63:e71:1-9.

144. Laudy AE, Rog P, Smolińska-Król K, Ćmiel M, Słoczyńska A, Patzer J, et al. Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. PloS one. 2017;12(6):e0180121:1-15.

145. Peymani A, Naserpour-Farivar T, Zare E, Azarhoosh K. Distribution of blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M genes among ESBL-producing *P. aeruginosa* isolated from Qazvin and Tehran hospitals, Iran. Journal of preventive medicine and hygiene. 2017;58(2):155-160.

146. Amirkamali S, Naserpour-Farivar T, Azarhoosh K, Peymani A. Distribution of the bla OXA, bla VEB-1, and bla GES-1 genes and resistance patterns of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitals in Tehran and Qazvin, Iran. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2017;50(03):315-320.

147. Çopur Çiçek A, Ertürk A, Ejder N, Rakici E, Kostakoğlu U, Esen Yıldız İ, et al. Screening of antimicrobial resistance genes and epidemiological features in hospital and community-associated carbapenem-resistant *pseudomonas aeruginosa* infections. Infection and Drug Resistance. 2021:1517-1526.

148. Sales A, Fathi R, Mobaiyen H, Bonab F, Kondlaji K. Molecular Study of the Prevalence of CTX-M1, CTX-M2, CTXM3 in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Samples in Tabriz Town, Iran. *Electronic J Biol.* 2017;13(3):253-259.
149. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, Van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America guidance on the treatment of AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Clinical infectious diseases.* 2022;74(12):2089-2114.
150. Karali H, Güncü MM, Aksu MB. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa*'nın Karbapenemaz Üretimi ve Tiplendirilmesinde Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerin Değerlendirilmesi. *Journal of Health Sciences and Management.* 2024;4(2):42-49.
151. Altan G. Klinik Örneklerden İzole Edilen Karbapenem Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarındaki Antibiyotik Direncinin Moleküler Analizi. *Mikrobiyol Bul.* 2024;58(2):148-170.
152. Diorio-Toth L, Irum S, Potter RF, Wallace MA, Arslan M, Munir T, et al. Genomic surveillance of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates reveals an additive effect of carbapenemase production on carbapenem resistance. *Microbiology spectrum.* 2022;10(3):e00766-22.
153. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options. *Drug resistance updates.* 2010;13(4-5):132-138.
154. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clinical microbiology reviews.* 2017;30(2):557-596.
155. Yala JF, Moundounga HK, Mabika RM, Mounioko F, Minko OZ, Henda S, et al. Colistin Resistance Profiles, Molecular Investigation of mcr-1 and mcr-2 Plasmid Genes and Investigation of Carbapenemase Production in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* Strains. *Open Journal of Medical Microbiology.* 2023;13(4):276-291.
156. Ejaz H, Younas S, Qamar MU, Junaid K, Abdalla AE, Abosalif KOA, et al. Molecular epidemiology of extensively drug-resistant mcr encoded colistin-resistant bacterial strains co-expressing multifarious β -lactamases. *Antibiotics.* 2021;10(4):467-460.

157. Soni M, Kapoor G, Perumal N, Chaurasia D. Emergence of multidrug-resistant non-fermenting gram-negative bacilli in a Tertiary Care Teaching Hospital of Central India: Is Colistin resistance still a distant threat? *Cureus*. 2023;15(5):e39243:1-10.
158. Ahmed ZS, Elshafie EA, Khalefa HS, Kadry M, Hamza DA. Evidence of colistin resistance genes (mcr-1 and mcr-2) in wild birds and its public health implication in Egypt. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2019;8:1-8.
159. Baron SA. Résistance à la colistine chez les bactéries à Gram négatif: mécanismes et nouvelles approches thérapeutiques| [PhD Theses]. fr: Aix-Marseille; 2018.
160. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future microbiology*. 2012;7(7):887-902.
161. Altınkanat G. Rutin laboratuvarımızda İzole Edilen Klebsiella Pneumoniae, Escherichia Coli Ve Enterobacter Cloacae kökenlerinde, Yeni geniş Spektrumlu Beta Laktamaz IBC-1'In Fenotipik Ve Genotipik yöntemlerle saptanması.[Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Marmara Üniversitesi (Turkey); 2006.
162. Terek G. Farklı Şehirlerde İzole Edilen Enterobacteriaceae Üyelerinde CTX-M Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretimi ve Moleküler Epidemiyolojisinin İncelenmesi. [Uzmanlık Tezi]. İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey); 2007.
163. Wang S, Xiao S-Z, Gu F-F, Tang J, Guo X-K, Ni Y-X, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of clinical Enterobacter cloacae bloodstream isolates in Shanghai, China. *PloS one*. 2017;12(12):e0189713.
164. Özkaçmaz A, Milletli-Sezgin F. Evaluation of Colistin Susceptibility Results in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli by Colistin Broth Disk Elution Method Çok İlaça Dirençli Gram-Negatif Basillerde Kolistin Duyarlılık Sonuçlarının Kolistin Sıvı Disk Elüsyon Yöntemi ile Değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi*. 2022;35(3):155-158.
165. Sağmak-Tartar A, Özer A, Ulu R, Akbulut A. Microbiological evaluation of the pathogens isolated from the endotracheal aspirate samples of the patients followed in the intensive care units: A one-year retrospective analysis. 2018;31(1):56-60.
166. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial

Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). Diagnostic microbiology and infectious disease. 2012;73(4):354-360.

167. Hong Y-K, Lee J-Y, Ko KS. Colistin resistance in *Enterobacter* spp. isolates in Korea. Journal of Microbiology. 2018;56:435-440.

168. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009–2012. International journal of antimicrobial agents. 2014;43(4):328-334.

169. Peirano G, Matsumura Y, Adams MD, Bradford P, Motyl M, Chen L, et al. Genomic epidemiology of global carbapenemase-producing *Enterobacter* spp., 2008–2014. Emerging infectious diseases. 2018;24(6):1010-1019.

170. Souana D, Drissi M, Almahmoud I, Maurin M. *Enterobacter cloacae* complex and CTX-M extended-spectrum β -Lactamases in Algeria. Microbial Drug Resistance. 2022;28(3):346-354.

171. Peymani A, Naserpour Farivar T, Mohammadi Ghanbarlu M, Marandi M, Sahmani M, Najafipour R. Emergence of OXA-type extended-spectrum β -lactamases among *Enterobacter cloacae* isolates collected From hospitals of Tehran, Karaj and Qazvin, Iran. Biotech Health Sci. 2014;1(2):1-4.

172. Petrosillo N, Vranić-Ladavac M, Feudi C, Villa L, Fortini D, Barišić N, et al. Spread of *Enterobacter cloacae* carrying blaNDM-1, blaCTX-M-15, blaSHV-12 and plasmid-mediated quinolone resistance genes in a surgical intensive care unit in Croatia. Journal of global antimicrobial resistance. 2016;4:44-48.

173. Pitout JD, DeVinney R. *Escherichia coli* ST131: a multidrug-resistant clone primed for global domination. 2017;6:1-7.

174. Şenol FF, Bahçeci İ, Aytaç Ö, Öner P, Toraman ZA. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen gram negatif gsbl pozitif bakterilerin antibiyotiklere direnç oranları. Turkish Journal of Clinics and Laboratory. 2021;12(4):451-457.

175. Bayraktar HS. Yoğun Bakım Kan Kültürlerinden İzole Edilen Enfeksiyon Etkenlerinin Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Profilleri. Acta Medica Nicomedia. 2024;7(2):161-168.

176. Arici N, Aksaray S, Ankarali H. Gram-Negative Bacteria and Antibiotic Resistances Isolated from Endotracheal Aspirate Samples of Patients Hospitalized in the Intensive Care Unit: 3-Years Retrospective Analysis. JSTR. 2020;6(3):255-264.
177. Mishra DR, Shah DS, Shah N, Prasad JN, Gupta PP, Agrawaal KK. Study of microbiological and antibiotic sensitivity pattern of ventilator associated pneumonia (VAP) in ICU of a tertiary care hospital in Nepal. Journal of Family Medicine and Primary Care. 2020;9(12):6171-6176.
178. Peirano G, Pitout JD. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: update on molecular epidemiology and treatment options. Drugs. 2019;79:1529-1541.
179. Copur Cicek A, Saral A, Ozad Duzgun A, Yasar E, Cizmeci Z, Ozlem Balci P, et al. Nationwide study of Escherichia coli producing extended-spectrum β -lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. The Journal of antibiotics. 2013;66(11):647-650.
180. Bektaş A, GüdücüOğlu H, Gürsoy NC, Berktaş M, GüLTEPE BS, Parlak M, et al. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarının GSBL genlerinin araştırılması. Flora. 2018;23(3):116-123.
181. Livermore DM, Day M, Cleary P, Hopkins KL, Toleman MA, Wareham DW, et al. OXA-1 β -lactamase and non-susceptibility to penicillin/ β -lactamase inhibitor combinations among ESBL-producing Escherichia coli. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2019;74(2):326-333.
182. Telli M, Çoban A. Bir Üniversite Hastanesinde Bazı Karbapenem Dirençli Enterobacterales Türlerinde Direnç Enzimlerinin ve Klonal İlişkilerinin Belirlenmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2024;54(3):201-207.
183. Peirano G, Chen L, Nobrega D, Finn TJ, Kreiswirth BN, DeVinney R, et al. Genomic epidemiology of global carbapenemase-producing Escherichia coli, 2015–2017. Emerging Infectious Diseases. 2022;28(5):924-931.
184. Liu Y, Wang Y, Walsh T, Yi L, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis 2016;16:161–168.
185. Sarı AN, Süzük S, Karatuna O, Öğünç D, Karakoç AE, Cizmeci Z, et al. Results of a

multicenter study investigating plasmid mediated colistin resistance genes (*mcr-1* and *mcr-2*) in clinical Enterobacteriaceae isolates from Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51(3):299-303.

186. Rabie RA, Abdallah AL. Plasmid mediated colistin resistant genes *mcr-1* and *mcr-2* among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates at Zagazig University hospitals, Egypt. *Egyptian Journal of Medical Microbiology.* 2020;29(1):61-66.

187. Bastidas-Caldes C, de Waard JH, Salgado MS, Villacís MJ, Coral-Almeida M, Yamamoto Y, et al. Worldwide prevalence of *mcr*-mediated colistin-resistance *Escherichia coli* in isolates of clinical samples, healthy humans, and livestock—a systematic review and meta-analysis. *Pathogens.* 2022;11(6):659-683.

188. Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature reviews microbiology.* 2005;3(9):711-721.

189. Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Reguig A, Jamali L, Zerouali K, et al. Prevalence and genotypic analysis of plasmid-mediated β -lactamases among urinary *Klebsiella pneumoniae* isolates in Moroccan community. *The Journal of antibiotics.* 2013;66(1):11-16.

190. Trang NHT, Nga TVT, Campbell JI, Hiep NT, Farrar J, Baker S, et al. The characterization of ESBL genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* causing nosocomial infections in Vietnam. *The Journal of Infection in Developing Countries.* 2013;7(12):922-928.

191. Villacís JE, Reyes JA, Castelán-Sánchez HG, Dávila-Ramos S, Lazo MA, Wali A, et al. OXA-48 Carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 307 in Ecuador. *Microorganisms.* 2020;8(3):435-445.

192. Düzgün AÖ, Saral A. Next-generation sequencing of plasmid carrying *bla* OXA-48 in *Klebsiella pneumoniae* from Turkey. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.* 2019;66(2):261-272.

193. Xiang T, Chen C, Wen J, Liu Y, Zhang Q, Cheng N, et al. Resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains carrying *bla* NDM-1 gene and the genetic environment of *bla* NDM-1. *Frontiers in microbiology.* 2020;11:700:1-9.

194. Da Silva GJ, Domingues S. Insights on the horizontal gene transfer of carbapenemase determinants in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.*

2016;4(3):29-62.

195. Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(6):1255-1259.

196. Sánchez-Urtaza S, Ocampo-Sosa A, Molins-Bengoetxea A, Rodríguez-Grande J, El-Kholy MA, Hernandez M, et al. Co-existence of bla NDM-1, bla OXA-23, bla OXA-64, bla PER-7 and bla ADC-57 in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* from Alexandria, Egypt. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(15):12515:1-11.

197. Leungtongkam U, Thummeepak R, Tasanapak K, Sitthisak S. Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in association with conjugative plasmid or class 1 integrons of *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One*. 2018;13(12):e0208468:1-12.

198. Lopes BS, Al-Agamy MH, Ismail MA, Shibl AM, Al-Qahtani AA, Al-Ahdal MN, et al. The transferability of blaOXA-23 gene in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Saudi Arabia and Egypt. *International Journal of Medical Microbiology*. 2015;305(6):581-588.

199. Chen T-L, Lee Y-T, Kuo S-C, Hsueh P-R, Chang F-Y, Siu L-K, et al. Emergence and distribution of plasmids bearing the bla OXA-51-like gene with an upstream IS Aba1 in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(11):4575-4581.

200. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the bla OXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(8):2974-2976.

201. Del Solar G, Giraldo R, Ruiz-Echevarría MJ, Espinosa M, Díaz-Orejas R. Replication and control of circular bacterial plasmids. *Microbiology and molecular biology reviews*. 1998;62(2):434-464.

202. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(6):3140-3145.

203. Enright MC, Spratt BG. Multilocus sequence typing. *Trends in microbiology*.

1999;7(12):482-487.

204. Shankar C, Vasudevan K, Jacob JJ, Baker S, Isaac BJ, Neeravi AR, et al. Mosaic antimicrobial resistance/virulence plasmid in hypervirulent ST2096 *Klebsiella pneumoniae* in India: The rise of a new superbug? *BioRxiv*. 2020:422261.

205. Hosbul T, Guney-Kaya K, Guney M, Sakarya S, Bozdogan B, Oryasin E. Carbapenem and Colistin Resistant *Klebsiella Pneumoniae* ST14 and ST2096 Dominated in Two Hospitals in Turkey. *Clinical Laboratory*. 2021;67(9).

206. Isler B, Özer B, Çınar G, Aslan AT, Vatansever C, Falconer C, et al. Characteristics and outcomes of carbapenemase harbouring carbapenem-resistant *Klebsiella* spp. bloodstream infections: a multicentre prospective cohort study in an OXA-48 endemic setting. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2022;41(5):841-847.

207. Köse Ş, Dal T, Çetinkaya R, ARI O, Yenilmez E, Temel E, et al. Molecular epidemiological investigation of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from intensive care unit patients of six geographical regions of Turkey. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2023;17(10):1446-1451.

208. Urooj M, Shoukat M, Imran M, Ansar M, Faryal R. Emergence of hypermucoviscous colistin-resistant high-risk convergent *Klebsiella pneumoniae* ST-2096 clone from Pakistan. *Future Microbiology*. 2022;17(13):989-1000.

209. Lam MM, Wick RR, Watts SC, Cerdeira LT, Wyres KL, Holt KE. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nature communications*. 2021;12(1):4188.1-16.

210. Shi Q, Zhao J, Wei L, Zhu F, Ji J, Meng Y, et al. Transmission of ST45 and ST2407 extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in neonatal intensive care units, associated with contaminated environments. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2022;31:309-315.

211. Mendes AC, Novais Â, Campos J, Rodrigues C, Santos C, Antunes P, et al. mcr-1 in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with hospitalized patients, Portugal, 2016–2017. *Emerging infectious diseases*. 2018;24(4):762-766.

212. Cienfuegos-Gallet AV, Zhou Y, Ai W, Kreiswirth BN, Yu F, Chen L. Multicenter genomic analysis of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from bacteremia in China. *Microbiology Spectrum*. 2022;10(2):e02290-21.
213. Chu X, Jia X, Jia P, Zhu Y, Yu W, Liu X, et al. Genetic and phenotypic characterization of a novel ST45-K43 carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain causing bloodstream infection: a potential clinical threat. *Microbiology Spectrum*. 2024;12(11):305-324.
214. Emeraud C, Birer A, Girlich D, Jousset AB, Creton E, Naas T, et al. Polyclonal Dissemination of OXA-232 Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*, France, 2013–2021. *Emerging Infectious Diseases*. 2022;28(11):2304-2307.
215. Benulič K, Pirš M, Couto N, Chlebowicz M, Rossen JW, Zorec TM, et al. Whole genome sequencing characterization of Slovenian carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, including OXA-48 and NDM-1 producing outbreak isolates. *PLoS One*. 2020;15(4):e0231503:1-14.
216. Palmieri M, D'Andrea MM, Pelegrin AC, Mirande C, Brkic S, Cirkovic I, et al. Genomic epidemiology of carbapenem- and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Serbia: predominance of ST101 strains carrying a novel OXA-48 plasmid. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:294:1-10.
217. Sahoo S, Sahoo RK, Dixit S, Behera DU, Subudhi E. NDM-5-carrying *Klebsiella pneumoniae* ST437 belonging to high-risk clonal complex (CC11) from an urban river in eastern India. *3 Biotech*. 2023;13(5):139:1-7.
218. Palmeiro JK, De Souza RF, Schörner MA, Passarelli-Araujo H, Grazziotin AL, Vidal NM, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Brazilian tertiary hospital. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:1669:1-11.
219. Tijet N, Sheth PM, Lastovetska O, Chung C, Patel SN, Melano RG. Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae in Ontario, Canada, 2008-2011. *PLoS One*. 2014;9(12):e116421:1-12.
220. Fuster B, Salvador C, Tormo N, García-González N, Gimeno C, González-Candelas F. Molecular epidemiology and drug-resistance mechanisms in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in patients from a tertiary hospital in Valencia, Spain.

Journal of Global Antimicrobial Resistance. 2020;22:718-725.

221. Weng X, Shi Q, Wang S, Shi Y, Sun D, Yu Y. The Characterization of OXA-232 Carbapenemase-Producing ST437 *Klebsiella pneumoniae* in China. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2020;(1):5626503:1-5.

222. Ranieri SC, Fabbrizi V, D'Amario AM, Frascella MG, Di Biase V, Di Francesco C, et al. First report of a bla NDM-producing extensively drug resistant *Klebsiella pneumoniae* ST437 in Italy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024;14:1426817:1-7.

223. Gamaleldin P, Alseqely M, Evans BA, Omar H, Abouelfetouh A. Comparison of genotypic features between two groups of antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates obtained before and after the COVID-19 pandemic from Egypt. *BMC genomics*. 2024;25(1):983:1-14.

224. Liao W, Huang N, Zhang Y, Sun Y, Chen T, Zeng W, et al. Comparison of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains causing intestinal colonization and extraintestinal infections: clinical, virulence, and molecular epidemiological characteristics. *Frontiers in public health*. 2021;9:783124:1-13.

225. Hala S, Malaikah M, Huang J, Bahitham W, Fallatah O, Zakri S, et al. The emergence of highly resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* CC14 clone in a tertiary hospital over 8 years. *Genome medicine*. 2024;16(1):58:1-19.

226. Naha S, Sands K, Mukherjee S, Saha B, Dutta S, Basu S. OXA-181-like carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* ST14, ST15, ST23, ST48, and ST231 from septicemic neonates: coexistence with NDM-5, resistome, transmissibility, and genome diversity. *MSphere*. 2021;6(1):10.1128/msphere. 01156-20.

227. Moubareck CA, Mouftah SF, Pál T, Ghazawi A, Halat DH, Nabi A, et al. Clonal emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST14 co-producing OXA-48-type and NDM carbapenemases with high rate of colistin resistance in Dubai, United Arab Emirates. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2018;52(1):90-95.

228. Mouftah SF, Pál T, Higgins PG, Ghazawi A, Idaghdour Y, Alqahtani M, et al. Diversity of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST14 and emergence of a subgroup with KL64 capsular locus in the Arabian Peninsula. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2021:1-9.

229. Cherubini S, Perilli M, Segatore B, Fazii P, Parruti G, Frattari A, et al. Whole-genome sequencing of ST2 *A. baumannii* causing bloodstream infections in COVID-19 patients. *Antibiotics*. 2022;11(7):955:1-10.
230. Baleivanualala SC, Isaia L, Devi SV, Howden B, Gorrie CL, Matanitobua S, et al. Molecular and clinical epidemiology of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 in Oceania: a multicountry cohort study. *The Lancet Regional Health–Western Pacific*. 2023;40:100896:1-16.
231. Yu K, Zeng W, Xu Y, Liao W, Xu W, Zhou T, et al. Bloodstream infections caused by ST2 *Acinetobacter baumannii*: risk factors, antibiotic regimens, and virulence over 6 years period in China. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2021;10:1-9.
232. Chen PK, Liu C-Y, Kuo H-Y, Lee Y-T, Liu Y-H, Zhang Y-Z, et al. Emergence of extensively-drug-resistant hypervirulent *Acinetobacter baumannii* isolated from patients with bacteraemia: bacterial phenotype and virulence analysis. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2024;64(6):107358.
233. Uluçam Atay G, Bayramoğlu Z, Tosun İ, Ünsal Ü. Karbapeneme dirençli *acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının moleküler epidemiyoloji açısından araştırılmasında üç farklı yöntemin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2024;58(2):97-112.
234. Çimen M. Tam genom dizilemesi ile çoklu-ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* suşunun direnç ve virülans mekanizmalarının araştırılması. [Yüksek Lisans Tezi] Gümüşhane Üniversitesi; 2021.
235. Giannouli M, Antunes LC, Marchetti V, Triassi M, Visca P, Zarrilli R. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I-III and to the emerging genotypes ST25 and ST78. *BMC infectious diseases*. 2013;13:1-11.
236. Harmer CJ, Cahill SM, Kenyon JJ, Hall RM. Aminoglycoside resistance genes in early members of the *Acinetobacter baumannii* ST78A (SMAL, Italian clone) reside in an IS 26-bounded island in the chromosome. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2024;79(5):1014-1018.
237. Pfeifer Y, Hunfeld K-P, Borgmann S, Maneg D, Blobner W, Werner G, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST78 with OXA-72 carbapenemase and

ESBL gene bla CTX-M-115. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016;71(5):1426-1428.

238. Pournaras S, Dafopoulou K, Del Franco M, Zarkotou O, Dimitroulia E, Protonotariou E, et al. Predominance of international clone 2 OXA-23-producing-*Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Greece, 2015: results of a nationwide study. *International journal of antimicrobial agents*. 2017;49(6):749-753.

239. Di Popolo A, Giannouli M, Triassi M, Brisse S, Zarrilli R. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17(2):197-201.



EKLER

Ek 1. Vip-Olgu Rapor Formu

❖ Araştırmanın Adı:

- Ventilatör ilişkili Pnömoni Olgularındaki Bakteriyel Patojenler; Direnç Profillerinin Moleküler Değerlendirilmesi
- Bacterial Pathogens in Ventilator-Associated Pneumonia; Molecular Assessment of Resistance Profiles

❖ ORF dolduran Araştırmacı/lar:

Lokman HİZMALI, Besim ÇAM

❖ Olgunun;

- 1) Çalışmaya katılım tarihi:
- 2) Kayıt no:
- 3) Cinsiyet:
- 4) Yaş:
- 5) Kilo:
- 6) Boy:
- 7) Kronik hastalık var mı: ?

❖ VİP bilgisi;

- 8) MV (Mekanik Ventilasyon) nedeni?, Primer hastalık?
- 9) MV süresi: gün
- 10) MV tüp numarası, seviyesi ? /.....
- 11) MV endotrakeal ilaç, sıvı, inhaler kullanımı var mı? Var: Yok:
- 12) Hasta başı yüksekliği ne kadar? derece

❖ Mikroorganizma (mo) bilgisi;

- 1) Üreyen mo:
- 2) Koloni sayısı:
- 3) Direnç durumu: ESBL, MDR, XDR, PDR

Araştırmacı/ İmza:

Ek 2. Tez Bildiri Sertifikası



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Besim ÇAM
Doğum Yeri	Kırşehir
Doğum Tarihi	*****
Uyruğu	T.C.
Telefon	05435*****
E-Posta Adresi	*****@gmail.com

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Çanakkale 18 Mart Üniversitesi
Fakülte	Sağlık bilimleri yüksekokulu
Bölümü	Hemşirelik
Mezuniyet Tarihi	2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	Erciyes Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimler Enstitüsü
Anabilim Dalı	Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları
Programı	Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları
Mezuniyet Tarihi	2019

Doktora	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimler Enstitüsü
Anabilim Dalı	Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları
Programı	Hastane Enfeksiyonları Kontrolü
Mezuniyet Tarihi	2025

Makale ve Bilirdiler	
Çam B. & Hizmalı L. Bacterial Pathogens In Ventilator-Associated Pneumonia; Molecular Assessment Of Resistance Profiles. 11th International "Artemis" Scientific Research Congress on February 27-28 2025 at Deniplant-Aide Sante Medical Center, Romania.	
Çam, B. & Hızmalı, L. Ventilator İlişkili Pnömonide Mortalite ile İlişkili Risk Faktörleri. Aydın Sağlık Dergisi, 2025;11(1):53-62.	
Çam, B., Saatçi, G. & Ünsal, A. Hemşire Dışı Sağlık Çalışanlarının Erkek Hemşireler ile İlgili Görüşleri. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2022;6(1):22-30.	
Çam, B., & Ulu-Kılıç, A. Investigation of bloodstream infections among patients with hematological malignancies hospitalized at adult hematology and bone marrow transplant (BMT) Units. Kırşehir Ahi Evran Üni Sağ Bilim Enst Derg, 2020;1(3):158-69.	