

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *ENTEROBACTERIACEAE*
İLİŞKİLİ KAN DOLAŞIMI İNFEKSİYONLARININ
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ ve RİSK FAKTÖRLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. EMİNE COŞKUN**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ SUNA SEÇİL ÖZTÜRK DENİZ**

DENİZLİ-2023

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *ENTEROBACTERIACEAE*
İLİŞKİLİ KAN DOLAŞIMI İNFEKSİYONLARININ
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ ve RİSK FAKTÖRLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. EMİNE COŞKUN**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ SUNA SEÇİL ÖZTÜRK DENİZ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 09.05.2022 tarih ve 2022TIPF009 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ-2023

Dr. Öğr. Üyesi Suna Seçil Öztürk Deniz danışmanlığında Dr. Emine Coşkun tarafından yapılan “Karbapenem Dirençli *Enterobacteriaceae* İlişkili Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarının Moleküler Epidemiyolojisi ve Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışması 25/04/2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Dr. Öğr. Üyesi Suna Seçil Öztürk Deniz

ÜYE: Prof. Dr. Murat Kutlu

ÜYE: Dr. Öğr. Üyesi Türkan Tüzün

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

11.5.23

Prof. Dr. Osman İsmail ÖZDEL
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	İV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	Vİİİ
TABLolar DİZİNİ	İX
ÖZET.....	X
SUMMARY	Xİİİ
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. TARİHÇE.....	2
2.2. <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> TÜRLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ	2
2.2.1. Sınıflandırma	2
2.2.2. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	3
2.2.3. Antijenik Yapı	3
2.2.4. Virülans faktörleri.....	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ.....	4
2.4. BETA-LAKTAM GRUBU ANTİBİYOTİKLER	7
2.4.1. Karbapenemler.....	8
2.5. BETA-LAKTAMLARA DİRENÇ MEKANİZMALARI.....	9
2.5.1. Beta-laktamazlar	9
2.5.2. Beta-laktamazların moleküler olarak sınıflandırılması	10
2.5.3. Beta-laktamazların fonksiyonel olarak sınıflandırılması.....	11
2.6. KARBAPENEM DİRENÇ MEKANİZMALARI	11
2.6.1. Porin ekspresyonunda bozulma ile permeabilitede azalma.....	11
2.6.2. Eflüks pompa sistemi aracılığıyla, antibiyotiğin dışarı atılması.....	12
2.6.3. Karbapenemaz genlerinin kazanılması	12
2.6.3.1. Sınıf A karbapenemazlar.....	13
2.6.3.2. Sınıf B Metallobetalaktamazlar	14

2.6.3.3. Sınıf D Serin karbapenemazlar:	18
2.7. KARBAPENAMAZ SAPTAMA YÖNTEMLERİ	20
2.7.1. Karbapenemazların Fenotipik Yöntemlerle Saptanması	21
2.7.1.1. İnhibitör bazlı testler	21
2.7.1.2. Modifiye Hodge Testi	21
2.7.1.3. Karbapenem İçeren Kültür Ortamlarının Kullanılması	22
2.7.1.4. Karbapenem İnaktivasyon Metodu	22
2.7.1.5. Biyokimyasal (kolorimetrik) testler	22
2.7.1.6. Spektrofotometre	23
2.7.1.7. İmmunokromatografi	24
2.7.2. Karbapenemazların Moleküler Yöntemlerle Saptanması	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. ÇALIŞMA TASARIMI	25
3.2. VERİ TOPLAMA VE TANIMLAMALAR	25
3.3. MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR	26
3.3.1. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu ve Tanımlanması	26
3.3.2. Karbapenemaz Geninin Saptanması	27
3.3.2.1. Deoksiribo nükleik asit (DNA) ekstraksiyonu	27
3.3.2.2. PCR ürünlerinin analizi	27
3.3.3. Dirençli Suşlarda Seftalozan-tazobaktam ve Meropenem- vaborbaktam Duyarlılığının Belirlenmesi	29
3.4. ÇALIŞMANIN İZİNİ VE FİNANS KAYNAĞI	29
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	29
3.5.1. İstatistiksel Yöntem	29
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ	63
7. KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Myeloid Lösemi
APACHEII	: Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi
bla	: Beta-laktamaz kodlayan gen
CDC	: Hastalık Korunma ve Kontrol Merkezleri
CKİ	: Charlson komorbidite indeksi
CRP	: C-Reaktif protein
CT	: Döngü eşik değeri
DM	: Diyabetes mellitüs
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECA	: Enterobakteriyel Ortak Antijen
ECDC	: Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjio Pankreatografi
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
EURGen-Net	: Avrupa Antimikrobiyal Direnç Genleri Sürveyans Ağı
EuSCAPE	: Avrupa Karbapenemaz Üreten <i>Enterobacteriaceae</i> Araştırma grubu
GA	: Güven aralığı
GES	: Guiana extended spectrum
GKS	: Glaskow Koma Skoru
GSBL	: Genişletilmiş Spektrumlu Betalaktamaz
IBC	: Integron-borne cephalosporinase
IMI	: Imipenem Hydrolyzing β -lactamase
IMP	: İmipenemaz

KAH	: Koroner arter hastalığı
KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
KDE	: Karbapenem dirençli <i>Enterobacteriaceae</i>
KDIGO	: Böbrek Hastalıkları: Küresel Sonuçların İyileştirilmesi Vakfı
KKY	: Konjestif Kalp Yetmezliği
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KPC	: <i>Klebsiella Pneumoniae</i> Karbapenemaz
MBL	: Metallo-beta-laktamaz
MDS	: Myelodisplastik sendrom
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
NDM-1	: New Delhi Metallobetalaktamaz-1
NMC-A	: Not Metalloenzyme Carbapenemase
OKİT	: Ototog Kemik İliği Nakli
OXA	: Oksasilinaz
OMP	: Dış Membran Proteini
OR	: Odds oranı
PEG	: Perkütan Endoskopik Gastrostomi
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SME-1	: <i>Serratia marcescens</i> enzyme-1
SOFA	: Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru
SOT	: Solid Organ Nakli
SS	: Standart sapma
UV	: Ultraviyole
VIM	: Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Çalışmanın akış şeması.....	31
Şekil 2. Real-time PCR ile elde edilen döngü eşik değerlerinin (CT) sigmoidal eğrileri	48



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Karbapenemlerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 2. Mikrobiyal DNA QPCR Karışımı.....	28
Tablo 3. Real-time PCR Reaksiyon Aşamaları	28
Tablo 4. Hastaların demografik özelliklerinin Enterobacteriaceae izolatlarında karbapenem direncine etkisi.....	33
Tablo 5. Ek hastalıklar ve antibiyotik kullanımının direnç gelişimine etkisi.....	35
Tablo 6. İnvaziv işlem geçirmenin, invaziv alet kullanımının ve laboratuvar bulgularının karbapenem direncine etkisi	37
Tablo 7. Olgularda prognoz takibinde kullanılan skorlamaların değerlendirilmesi	39
Tablo 8. Karbapenem direnç gelişiminde risk faktörleri.....	39
Tablo 9. Demografik özelliklerin mortaliteye etkisi	40
Tablo 10. Ek hastalıklar ve antibiyotik kullanımının mortaliteye etkisi	42
Tablo 11. İnvaziv işlem geçirmenin, invaziv alet kullanımının ve uygulanan tedavilerin mortaliteye etkisi.....	43
Tablo 12. Prognoz takibinde kullanılan parametrelerin mortaliteye etkisi	45
Tablo 13. Mortalite risk faktörlerinin değerlendirilmesi.....	45
Tablo 14. Enterobacteriaceae spp. izolatlarının tür düzeyinde dağılımı	46
Tablo 15. Enterobacteriaceae izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları.....	47
Tablo 16. KDE izolatlarının tür düzeyinde dağılımı	48
Tablo 17. Karbapenemaz direnç genlerinin etkenlere göre dağılımı	49
Tablo 18. İzolatlarda karbapenemaz genlerine göre antibiyotik duyarlılıkları	50
Tablo 19. İzolatlarda saptanan karbapenem dirençlerine göre karbapenemazların dağılımı	51
Tablo 20. KDE izole edilen hastalarda karbapenemaz gen profillerine göre mortalite oranları.....	52

ÖZET

Karbapenem Dirençli *Enterobacteriaceae* İlişkili Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarının Moleküler Epidemiyolojisi Ve Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Dr. Emin COŞKUN

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) ilişkili infeksiyonlar son yıllarda giderek artmaktadır. Sınırlı tedavi seçeneği bulunan bu infeksiyonlar yüksek oranda mortaliteye neden olmaktadır. Erken tanı ve tedavi planlamasının yapılması ve etkin infeksiyon kontrol önlemlerinin alınması bu infeksiyonların yayılımının önlenmesine ve hastalarda mortalitenin azalmasına önemli katkı sağlayacaktır. Yerel insidans ve mevcut karbapenemaz direnç genlerinin bilinmesi, infekte hastalarda risk faktörlerinin belirlenmesi hastane temelli tedavi politikalarının geliştirilmesinde, etkin ve hızlı kontrol önlemlerinin alınmasında, yol gösterici olacaktır.

Bu çalışmada Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi yataklı servislerinde ve yoğun bakım ünitelerinde takip edilen ve *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan hastalarda karbapenem direnci ve mortalite gelişimi için risk faktörlerinin belirlenmesi ve karbapenemaz gen epidemiyolojisinin araştırılması amaçlandı.

Ekim 2021-Şubat 2023 tarihleri arasında 17 aylık süreçte *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan ve prospektif olarak izlenen 177 hasta çalışmaya dahil edildi. *Enterobacteriaceae* aile tanımlamasında yapılan değişiklik nedeniyle sınıf dışı kalan türlerin izole edildiği hastalar ve polimikrobiyal üremesi olanlar değerlendirme dışı bırakılarak, geri kalan 148 hastada karbapenem direnci ve mortalite ilişkili risk faktörleri belirlendi. Elde edilen KDE izolatlarında Real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) moleküler testi kullanılarak karbapenemaz genleri araştırıldı.

Hastalar, demografik özellikler, takip edildikleri klinikler, infeksiyon gelişimi öncesi antibiyotik kullanımı, altta yatan hastalıklar, invaziv işlem veya operasyon geçirme öyküsü ve yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü gibi karbapenem direnci ve mortaliteye neden olabilecek faktörler açısından değerlendirildi. KDE ilişkili kan

dolaşımı infeksiyonu olan hastalar ile karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan hastalar istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Gastroenteroloji servisinde takip edilme, kronik böbrek yetmezliği (KBY) varlığı, karbapenem ve/veya glikopeptit sınıfı antibiyotiklerin kullanımı ve invaziv işlem geçirme öyküsünün olması KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde ise, KBY varlığı ($p=0,035$), karbapenem sınıfı antibiyotiklerin kullanımı ($p<0,001$) ve invaziv işlem geçirme öyküsü ($p=0,01$) KDE ile kan dolaşımı infeksiyonu gelişimi açısından bağımsız risk faktörleri olarak saptandı.

Enterobacteriaceae ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar, kan kültürü örneklerinin alımı sonrası 14 ve 28 günlük mortalite gelişimi açısından takip edildi. Yirmi sekiz gün sonunda ölen hastalar mortaliteyi artıran risk faktörleri açısından değerlendirildi. KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu, erkek cinsiyet, yoğun bakım ünitesinde yatış ve yatış süresinin uzaması, glikopeptit sınıfı antibiyotiklerin kullanımı, üriner katater varlığı, mekanik ventilasyon desteği, parenteral beslenme ve etken izolasyonu sonrası ilk üç gün içerisinde etkin tedavi başlanmaması mortalite gelişimi açısından anlamlı faktörler olarak belirlendi ($p<0,05$). Mortal seyreden hastalarda Glaskow koma skoru (GKS) anlamlı oranda düşük, Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru (SOFA), Pitt bakteriyemi ve Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme (APACHEII) skoru anlamlı oranda yüksekti ($p<0,05$). Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonlarında mortalite gelişimi açısından tek bağımsız risk faktörü yüksek SOFA skoru ($p<0,001$) olarak saptandı.

Kan kültürlerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında karbapenem direnç oranı %46 olarak görüldü. Karbapenem dirençli izolatlar arasında en yaygın görülen tür *K. pneumoniae* (%71,9) idi. KDE izolatlarında beta-laktamaz kodlayan gen (*bla*) *OXA-48* ve *bla* *NDM-1* genleri Real-time PCR ile araştırıldı. Suşların %35,4 (29) 'ünde tek başına *bla* *OXA-48*, %15,9 (13) 'unda tek başına *bla* *NDM-1* ve %30,5 (25) 'inde her iki gen birlikte pozitif saptandı.

Sonuç olarak bu çalışma Türkiye'de KDE türlerinde en yaygın görülen karbapenemaz enzimlerinin halen *OXA-48* olduğunu bununla birlikte *NDM-1* enzimi

ve OXA-48 ile NDM-1 enzimlerinin birlikte görülme oranlarının daha önce yapılan çalışmalara göre arttığını göstermiştir. Bu çalışma Türkiye’de yayılım sıklığı değişen karbapenemaz genlerinin kontrolünün sağlanmasında ve gen epidemiyolojisine göre tedavi stratejilerinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır. Karbapenem direnci ve mortalite gelişimi açısından risk faktörlerinin önceden bilinmesi ise ampirik antibiyotik tedavi seçiminde ve hastaların takibinde fayda sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Enterobacteriaceae, Karbapenem direnci, Risk faktörleri, Karbapenemaz



SUMMARY

Evaluation of Molecular Epidemiology and Risk Factors of Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* Associated Bloodstream Infections

Dr. Emine COŞKUN

In recent years, infections associated with carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) have been increasingly on the rise, causing a high rate of mortality due to limited treatment options. Early diagnosis and treatment planning, as well as the implementation of effective infection control measures, are important contributions to preventing the spread of these infections and reducing mortality in patients. Knowledge of local incidence rates and the presence of carbapenemase-resistant genes, as well as identifying risk factors in infected patients, can guide the development of hospital-based treatment policies and facilitate the implementation of effective and rapid control measures.

The aim of this study was to determine the risk factors for carbapenem resistance and mortality development in patients with *Enterobacteriaceae* associated bloodstream infections followed in the inpatient services and intensive care units of Pamukkale University Medical Faculty Hospital, as well as to investigate the epidemiology of carbapenemase genes. During a 17 month period from October 2021 to February 2023, 177 patients who were prospectively monitored and diagnosed with *Enterobacteriaceae* associated bloodstream infections were included in the study. Patients who had non-classified species due to changes in *Enterobacteriaceae* family classification and those with polymicrobial growth were excluded from the evaluation. Thus, carbapenem resistance and mortality associated risk factors were determined in the remaining 148 patients. Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) molecular testing was used to investigate carbapenemase genes in the obtained CRE isolates.

The patients were evaluated in terms of factors that could cause carbapenem resistance and mortality, such as demographic characteristics, the clinics they were followed in, prior antibiotic use before infection, underlying diseases, history of invasive procedures or surgery, and history of intensive care unit admission. Patients with *Enterobacteriaceae* associated bloodstream infections were statistically

compared with patients with carbapenem sensitive *Enterobacteriaceae* (CSE) associated bloodstream infections.

Being followed in the gastroenterology service, presence of chronic kidney disease, use of carbapenem and/or glycopeptide class antibiotics, and history of invasive procedures were found to be statistically significant for CRE associated bloodstream infections ($p < 0,05$). In multivariate logistic regression analysis, the presence of chronic kidney disease ($p = 0,035$), use of carbapenem class antibiotics ($p < 0,001$), and history of invasive procedures ($p = 0,010$) were found to be independent risk factors for the development of CRE associated bloodstream infections.

Patients with *Enterobacteriaceae* associated bloodstream infections were monitored for 14 and 28 days after the collection of culture samples in terms of mortality development. Patients who died after 28 days were evaluated for risk factors that increased mortality. CRE associated bloodstream infections, male gender, admission to the intensive care unit and prolonged hospital stay, use of glycopeptide class antibiotics, presence of urinary catheter, mechanical ventilation support, parenteral nutrition, and ineffective treatment within the first three days after the isolation of the causative agent were identified as significant factors for mortality development ($p < 0,05$).

Glasgow Coma Score was significantly lower, while SOFA, Pitt bacteremia, and APACHEII scores were significantly higher in patients who developed mortality ($p < 0,05$). In multivariate logistic regression analysis, the only independent risk factor for mortality development in *Enterobacteriaceae* associated bloodstream infections was a high SOFA score ($p < 0,001$).

The rate of carbapenem resistance was observed as 46% in *Enterobacteriaceae* isolates obtained from blood cultures. The most common species among carbapenem resistant isolates was *K. pneumoniae* (71,9%). *bla*_{OXA-48} and *bla*_{NDM-1} genes were investigated in CRE isolates using Real-time PCR. Alone *bla*_{OXA-48} was detected in 35,4% (29) of the strains, alone *bla*_{NDM-1} was detected in 15,9% (13), and both genes were detected together in 30,5% (25) of the strains.

In conclusion, this study showed that OXA-48 is still the most common carbapenemase enzyme in CRE species in Turkey, but the rate of co-occurrence of NDM-1 and OXA-48 enzymes has increased compared to previous studies. This information can guide the control of carbapenemase genes with changing dissemination frequencies in Turkey and determine treatment strategies according to the gene epidemiology. Knowing the risk factors that may cause carbapenem resistance and mortality development can be beneficial in choose of empirical antibiotic treatment and follow the patients.

Keywords: Enterobacteriaceae, Carbapenem resistance, Risk factors, Carbapenemase

1. GİRİŞ

Enterobacteriaceae'lar hem toplum kökenli hem de sağlık hizmeti ilişkili infeksiyonlarda yaygın görülen etkenlerdir. Beta-laktamlar, *Enterobacteriaceae*'ların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler olup, sık kullanımları, beta-laktamazlar yoluyla direncin dünya çapında yayılmasına neden olmuştur (1,2). Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazları (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae*'ların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin sıklıkla kullanılması sonucu ise karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'lar (KDE) önemli bir sorun haline gelmiştir (3).

Enterobacteriaceae ailesinde en yaygın küresel dağılıma sahip karbapenemaz enzimi *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC)'dir (4). Türkiye' de ise en fazla Oksasilinaz (OXA)-48 benzeri karbapenemazlar görülmekte olup, son zamanlarda metallo-beta-laktamazların (MBL) bir üyesi olan NDM-1 (New Delhi Metallo-beta-laktamaz-1) karbapenemazlarda artış bildirilmektedir. KPC enzimi ise daha önceki yıllarda Türkiye'de görülmezken son birkaç yılda MBL'lara benzer oranlarda artmıştır (5,6).

KDE izolatlarının doğru identifikasyonu, infeksiyonların yayılımının önlenmesinde en etkili yöntemlerdendir. Türkiye gibi yüksek karbapenem direnç oranlarına sahip ülkelerde KDE izolatlarının doğru identifikasyonu, direnç profillerinin ve dirence neden olan karbapenemazların tespiti ve infeksiyon gelişimi açısından risk faktörlerinin belirlenmesi infeksiyon kontrol stratejilerinin geliştirilmesine büyük oranda katkı sağlayacak, aynı zamanda hastaların takip ve tedavisinde yol gösterici olacaktır (7).

Bu çalışmada, Pamukkale Üniversitesi Hastanesi yataklı servisler ve yoğun bakım ünitelerinde takip edilmekte olan hastaların kan kültür örneklerinden izole edilen KDE izolatlarında, karbapenemaz enzim varlığının Real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile araştırılması, yeni tedavi seçeneklerinden olan meropenem-vaborbaktam ve seftalozan-tazobaktam antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi ve bu etkenlerle infekte hastalarda direnç ve mortalite risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

KDE, beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonrası görülmeye başlanmıştır. Penisilin klinik kullanıma girmesinin ardından 1940 yılında ilk beta-laktamaz olan ‘penisilinaz’ enzimi tanımlanmış ve sonrasında 1960 yılında ampisilini hidrolize edebilen TEM-1 ve SHV-1 beta-laktamazlar hızla yayılmıştır. TEM-1 ve SHV-1 enzimlerine dayanıklı oksimino sefalosporinler keşfedilmekle birlikte kısa süre sonra oksimino sefalosporinleri de hidrolize edebilen GSBL’ler saptanmıştır. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* lara etkili karbapenemler, 1980’li yılların sonlarına doğru klinikte kullanılmaya başlanmış, (8) ancak 1990 yılında Japonya’ da plazmit ile aktarılabilen karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ortaya çıkmıştır (9). Karbapenem direncinin başlıca nedeni olan ve aktarılabilen genetik elemanlar ile kodlanabilen karbapenemaz enzimleri hızla tüm dünyaya yayılmıştır. Dünyada en geniş yayılıma sahip olan ve ilk kez 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) saptanan KPC karbapenemaz enzimi ortaya çıkmıştır (4). OXA-48 karbapenemaz enzimi ise ilk kez 2001 yılında İstanbul Türkiye’de görülmüş, sonrasında Türkiye’ de dahil olmak üzere Orta doğu ve Kuzey Afrika’da endemilere neden olmuştur (8).

2.2. ENTEROBACTERIACEAE TÜRLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

2.2.1. Sınıflandırma

Enterobacteriaceae ailesi son 20 yılda önemli değişiklikler geçirmiştir. Moleküler taksonomik ve filogenetik çalışmaların sonucunda, ‘*Enterobacterales*’ takım adlandırması altında *Enterobacteriaceae*, *Erwinaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae* ve *Budvicaeae* olarak 7 aileye ayrılmıştır (10–12).

Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. ve *Enterobacter* spp. dahil olmak üzere klinik kültürlerden yaygın olarak izole edilen birçok bakteriyi kapsayan bir ailedir (13,14). Daha önce *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri olan *Erwinia*, *Hafnia*, *Proteus*, *Yersinia* ve *Serratia* cinsleri artık farklı ailelerde sınıflandırılmaktadır

(11). Öncesinde *Vibrionaceae* ailesinde bulunan *Plesiomonas shigelloides* ise artık *Enterobacteriaceae* ailesinde sınıflandırılmaktadır (15).

2.2.2. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesi üyeleri, 1-3 µm uzunluğunda ve 0,5 µm çapında gram-negatif, fakültatif anaerob, sporsuz bakterilerdir. Sitoplazmalarında çok sayıda plazmit bulunabilmekle birlikte tek bir dairesel kromozomdan oluşan genoma sahiptirler. *Klebsiella* ve *Shigella* dışında peritrik kamçıları aracılığı ile hareketlidirler. Glikozu fermente eder, nitratı nitrite indirger ve katalaz üretirler, ancak *P. shigelloides* dışında oksidaz üretmezler (13,16).

2.2.3. Antijenik Yapı

Enterobacteriaceae ailesi membran yapısı iç ve dış membran, periplazmik boşluk ve hücre duvar yapısından oluşmaktadır.

Dış membrana bağlı bulunan oligosakkaritlerdeki değişiklikler farklı O-antijenik yapılarını oluşturmaktadır(13).

Dış membranda *Enterobacteriaceae*'lara özgü polisakkarit yapılı Enterobakteriyel ortak antijen [Enterobacterial Common Antigen (ECA)] bulunmaktadır. ECA bakteriyel patojenitede, dış membran geçirgenliğinin korunmasında ve antikor üretiminde görev almaktadır (17).

Enterobacteriaceae ailesinin bazı üyelerinde 25 °C üzeri sıcaklıkta polisialik asit kapsüllerin olduğu görülürken daha düşük sıcaklıklarda kolanik asitten oluşan, mukoid kapsül benzeri bir yapı meydana geldiği gözlemlenmiştir. Kolanik asit, bakteriyi dış çevreye karşı koruyan glikoz, galaktoz, fukoz ve glukuronik asitten oluşan heteropolimerik antijenik bir yapıdır (13,18).

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan flagella, bakterilere hareketlilik yanısıra adezyon, kolonizasyon ve biyofilm oluşturma yeteneği kazandırmaktadır. Yapısında bulunan flagellin proteinindeki değişiklikler, farklı H-antijenik yapıları oluşturmaktadır (19).

Enterobacteriaceae hücre yüzeyinde bulunan pili veya fimbrialar, otoagregasyon ve adezyona aracılık eder. Konjugasyon ve genetik değişimde görev alırlar (13).

2.2.4. Virülans faktörleri

Enterobacteriaceae ailesinin virülansını belirleyen faktörler, tutunma (adhezyon), bazı türlerde toksin üretimi, hücre membran yapısının bileşeni olan lipopolisakkarit yapı, kapsül ve sidereforlardır (20).

Adhezyonda fimbria, dış zar proteinleri, yüzey karbonhidratları rol almaktadır. *Enterobacteriaceae*'larda genellikle Tip 1, Tip 3 ve P fimbria bulunmaktadır. Tip 1 fimbria ve P fimbrianın idrar yolu infeksiyonu gelişmesinde ve Tip 3 fimbrianın ise biyofilm oluşumundaki etkisi nedeni ile kataterize hastalarda infeksiyon gelişmesinde rol aldığı düşünülmektedir (21,22).

Bakteri membranının bileşeni olan lipopolisakkaritler, konakçı Toll benzeri reseptör 4 tarafından tanınarak proinflatuar sitokin salınımını uyarır (23).

Kapsül yapısı ise patojeni fagositozdan ve kompleman aracılı bakterisidal yanıtı korumaktadır (24).

Çoğu mikroorganizmada ve *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan demir virülans için önemlidir. Bu nedenle bakterilerde güçlü demir şelatörleri bulunmaktadır. Enterobaktin, aerobaktin, yersiniabaktin demir için yüksek afinite gösteren enterobakteriyal sidereforlardır (20,25).

Enterobacteriaceae ailesinin birçok üyesi konak hücreler için toksin salgılar. Bu toksinler bakterinin yokluğunda hastalık oluşturamamakla birlikte patogeneizde yardımcı rol oynar (26). Toksinin hücre dışına salınımı ototransport proteinler ile sağlanır. *Enterobacteriaceae*'nin serin proteaz ototransporterleri (SPATE) olarak adlandırılan proteinler *E. coli* ve *Shigella* için tipiktir (27).

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Enterobacteriaceae ailesi, toplum kaynaklı ve sağlık bakım ilişkili infeksiyonlarda sık görülen bir etkidir. Bu aile 70'den fazla cins içermektedir. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri [Centers for Disease Control and Prevention

(CDC)] Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı sörveyans sisteminde en sık bildirilen, sağlık bakımıyla ilişkili *Enterobacteriaceae* türleri, *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* olmuştur (28).

Enterobacteriaceae'larda beta-laktam antibiyotiklere direnç nedenlerinden biri olan beta-laktamazlar, substrat profilleri, inhibitör profili ve dizi homolojisi bakımından birbirlerinden ayrılırlar. *Klebsiella pneumoniae* TEM ve SHV GSBL tipleri 1990'larda küresel olarak hastane salgınlarına neden olmuştur, ancak 2000'li yıllardan sonra, CTX-M enzimi üreten *E. coli*, özellikle üriner sistem kaynaklı olmak üzere, toplum kaynaklı infeksiyonların önemli nedeni olarak ortaya çıkmıştır (29). GSBL üreten izolatların artan tespiti, tüm dünyada birinci basamak tedavi olarak karbapenemlerin kullanımında artışa yol açmıştır. Bununla birlikte karbapenemlerin hidrolizine yol açan karbapenemaz genlerinin plazmitler aracılığı ile yayılması sonucu KDE suşları hızla yayılmıştır (30). Günümüzde KDE türleri tüm dünyada görölmektedir. Karbapenem direncinin en yaygın nedeni olan karbapenemaz türleri ise bölgeler arasında farklılık göstermektedir (6). Avrupa Antimikrobiyal Direnç Genleri Sörveyans Ağı [European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network (EURGen-Net)] projesi kapsamında 2010-2018 yılları arasında 37 ülkenin dahil edildiği *Enterobacteriaceae*'da karbapenemaz direnç genlerinin araştırıldığı çalışmada Türkiye, Yunanistan, Malta ve İtalya *Enterobacteriaceae*'larda karbapenemaz üretimi ile direncin endemik olarak göröldüğü ülkeler olarak saptanmıştır. Ayrıca 2015-2018 yılları arasında Avrupa'da da karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarında artış görölmüştür (31).

Ambler sınıflandırma sistemi ile beta-laktamazlar Sınıf A, Sınıf B, Sınıf C ve Sınıf D olarak dörde ayrılır. Karbapenemazlar ise Sınıf A, Sınıf B ve Sınıf D içinde yer alır.

Sınıf A enzimleri arasında daha yaygın görölen karbapenemaz KPC' dir. Genellikle plazmit aracılığı ile aktarılan, dünya genelinde karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında en sık saptanan karbapenemaz geni olan beta-laktamaz kodlayan gen (*bla*)_{KPC-1}'in saptanmasından kısa süre sonra ABD' de *bla*_{KPC-2} ve *bla*_{KPC-3} genleri saptanmış ve salgınlar bildirilmiştir. Avrupa bölgesinde ise 2014-

2015'te İtalya ve Yunanistan *bla*_{KPC} taşıyan *Enterobacteriaceae*'lar için endemik iki ülke olarak bildirilmiştir (32).

Türkiye'de ise KPC-2 enzimi ilk kez 2012 yılında *Klebsiella pneumoniae* izolatında saptanmıştır. İstanbul'da 2011-2012 yıllarında ve 2019 yılında İzmir'de yapılan çalışmalarda sırasıyla %8,3 ve %33,3 oranında *bla*_{KPC} geni saptanmıştır (33,34). Ege bölgesinde 2019 yılında 11 merkezin dahil edildiği ve 164 KDE izolatında direnç genlerinin araştırıldığı başka bir çalışmada sadece bir hastadan elde edilen iki izolatta *bla*_{KPC}'ye rastlanmıştır (35).

MBL sınıfındaki karbapenemazlar daha fazla oranda Asya kıtasında görülmektedir. En yaygın görülen MBL olan *bla*_{NDM-1} ilk olarak 2007 yılında Hindistan'a seyahat eden ve *K. pneumoniae*'nin etken olduğu idrar yolu infeksiyonu tanısı koyulan İsveçli bir hastada tespit edilmiştir. Avrupa'da *bla*_{NDM} en yaygın olarak Romanya, Polonya ve Danimarka'da görülmektedir. Ayrıca Fransa, Almanya, Hollanda, Norveç'ten de vakalar bildirilmiştir (36). Saptanan vakaların çoğunun Hindistan, Pakistan ve Bangladeş'e seyahat öyküsü olduğu, bu bölgelerde sağlık bakım hizmeti aldıkları ya da bu hastaların Asya kökenli oldukları görülmüştür. Bu nedenle Hindistan'ın da içinde bulunduğu Asya bölgesinin *bla*_{NDM} için endemik bölge olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte daha sonra yapılan çalışmalarda Sırbistan, Karadağ, Kosova gibi Balkan ülkeleri ve Irak, Umman gibi Orta Doğu ülkelerinden gelen hastalarda *bla*_{NDM-1} saptanmıştır ve bu bölgelerin de NDM-1 için rezervuar olabileceği düşünülmektedir (37,38).

NDM-1 enzimi Türkiye' de ilk kez 2011 yılında Irak'tan sevk edilen, kan kültüründe *K. pneumoniae* izole edilen bir hastada saptanmıştır. Türkiye-İstanbul'da 2012-2013 yılları arası 43 hastadan izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarının karbapenemaz direnç genlerinin değerlendirildiği çalışmada bir hastada *bla*_{NDM-1} saptanmıştır (39). *bla*_{NDM-1} ve *bla*_{OXA-48} birlikteliği, Türkiye' de ilk kez 2013 yılında Suriye sınır bölgesinde bulunan bir hastanın idrar kültüründen izole edilen *K. pneumoniae* izolatında saptanmıştır (40). İstanbul'da bir merkezde 2014-2016 yılları arasında 76 *Enterobacteriaceae* izolatının 17'sinde *bla*_{NDM-1} geni tespit edilmiştir (41). Epidemiyolojik verilerin sınıflandırılarak incelendiği, Avrupa karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* araştırma [European survey of carbapenemase-producing

Enterobacteriaceae (EuSCAPE)] grubu tarafından yapılan çalışmada Türkiye *bla*_{NDM} için 2013 yılında birinci grupta (sporadik vakalar); 2015 yılında ise üçüncü grupta (bölgesel yayılım) sınıflandırılmıştır (32). Türkiye’de 2020 yılında yapılan bir çalışmada *Enterobacteriaceae* izolatlarında %46,7 oranında *bla*_{NDM-1} ve *bla*_{OXA-48} gen birlikteliği %2,2 oranında ise tek başına *bla*_{NDM-1} saptanmıştır (42).

Enterobacteriaceae ailesi tarafından üretilen D Sınıfı karbapenemazlar, OXA-48 ve benzeri beta-laktamazları içerir. *bla*_{OXA-48} dünyada ilk kez 2001 yılında Türkiye’de İstanbul’da izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae*’da saptanmış ve *bla*_{OXA-48} ilişkili ilk salgın da 2006-2007 yılları arasında İstanbul’ dan bildirilmiştir (43). Avrupa ülkeleri arasında 2013-2015 yılları arasında yapılan sörveyans çalışmasında *bla*_{OXA-48} için Türkiye ve Malta endemik ülkeler, Belçika, Fransa, Romanya ve İspanya sınıf 4 (bölgeler arası yayılım) epidemiyolojik bölgeler olarak bildirilmiştir (32). Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi [European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)] tarafından 2017 yılında bir sörveyans çalışması başlatılmıştır. Çalışma kapsamında 2019 yılında Türkiye’den 28 merkez dahil edilmiş ve merkezlerden izole edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşları incelenmiştir. Genotipik olarak karbapenemaz direnç geni saptanan 207 izolatın %52,2’ sinde *bla*_{OXA-48}, %16,4’ ünde *bla*_{KPC}, %15’ inde *bla*_{NDM} görülmüştür. Ayrıca %12,6 oranda *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1}, %2,8 hastada *bla*_{KPC}+*bla*_{NDM} birlikteliği tespit edilmiştir. Özetle ülkemizde OXA-48 enziminin daha önceki verilerde olduğu gibi halen en sık görülen karbapenemaz enzimi olduğu ayrıca NDM-1 karbapenemaz enziminde artış olduğu görülmüştür (6). *bla*_{OXA-48} Avrupa dışında Orta Doğu ve Kuzey Afrika’da endemik olarak görülmektedir (9).

2.4. BETA-LAKTAM GRUBU ANTİBİYOTİKLER

Beta-laktamlar, 1929’da benzilpenisilinin keşfedilmesinden bu yana en sık kullanılan antibiyotik grubu olmuştur. Beta-laktamlar, bakteri hücre duvar sentezinin transpeptidasyon ve karboksipeptidasyon basamağında inhibisyonu ile etki etmektedir (44). Ortak bir beta-laktam halkası taşıyan beta-laktamlar, bu halkaya bağlı yan zincirlere göre penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta-laktamaz inhibitörleri olmak üzere beş sınıfa ayrılırlar (45).

2.4.1. Karbapenemler

Karbapenemler, beta-laktam antibiyotikler içinde gram pozitif, gram negatif ve anaerob bakterilere en geniş spektrumda etkinlik gösteren antibiyotiklerdir (46).

Karbapenemlerin yapısı penisilinlere benzer şekilde beta-laktam halkasından oluşmaktadır. Karbapenemler, penisilinlerden farklı olarak birinci pozisyonda sülfür yerine karbon atomu bulundurur. Ayrıca ikinci ve üçüncü karbon atomu arasında çift bağ yer almaktadır. Altıncı karbon atomundaki hidroksietil yan zinciri ise beta-laktamazlara direnci sağlamaktadır. Karbapenemler, hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterirler (47).

Tienamisin bilinen ilk karbapenem olup diğer karbapenemlerin öncül bileşiğidir. Tienamisin kimyasal kararsızlığı, daha stabil yeni türevlerin keşfine yol açmıştır. Geliştirilen ilk tienamisin türevi imipenem olmuştur. İmipenem renal hücrelerden sentezlenen dehidropeptidaz enzimine duyarlı olup, bu enzim için inhibitör görevi yapan silastatin ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Bu öncül bileşiğe 1. pozisyonda metil grubunun eklenmesi ile dehidropeptidaz direnci sağlanmış ve 2. pozisyonda piroolidin halkası eklenerek daha geniş antimikrobiyal spektruma sahip panipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem gibi karbapenemler elde edilmiştir (48). Dört karbapenem (imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem) ABD'de klinik kullanım için onaylanmıştır.

Karbapenemler düşük oral biyoyararlanıma sahip olmaları ve gastrointestinal membranları kolayca geçememeleri nedeni ile parenteral olarak uygulanmaktadırlar. Ertapenem uzun yarı ömürlü olması ve yüksek oranda proteinlere bağlanması nedeniyle günde bir kez hem intravenöz, hem de intramüsküler olarak uygulanabilmektedir (47).

Karbapenemlerin benzer özellikleri bulunmakla birlikte etki spektrumlarındaki farklılıklar nedeni ile üç sınıfta incelenmesi önerilir (**Tablo 1**). Grup 1 karbapenemler; non-fermantatif basillere etkisi az olanlar, Grup 2 karbapenemler; nonfermenter gram negatif basillere karşı etkisi olanlar ve Grup 3 karbapenemler; metisilin dirençli *S.aureus*'a etkisi olan karbapenemlerdir (47).

Tablo 1. Karbapenemlerin sınıflandırılması (47).

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Karbapenemler	Ertapenem Panipenem Tebipenem	İmipenem Meropenem Doripenem Biapenem	Razupenem Tomopenem

2.5. BETA-LAKTAMLARA DİRENÇ MEKANİZMALARI

Hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerde karşımıza çıkabilen beta-laktam direnci dört mekanizma ile meydana gelmektedir (45,49):

- Beta-laktamazlarla ilaç inaktivasyonu,
- Hedef bölge (PBP) değişikliği,
- Azalmış geçirgenlik ve
- İlacın hücre dışına atılması.

Enterobacteriaceae ailesinde, beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizma, beta-laktam halkasını hidroliz ederek ilacı etkisiz hale getiren beta-laktamazların üretimidir (50).

2.5.1. Beta-laktamazlar

Beta-laktamazlar, daha çok gram negatif bakteriler tarafından sentezlenen, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağını parçalayarak beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini ortadan kaldıran enzimlerdir (51).

Doğal olarak oluşmuş 4300' den fazla beta-laktamaz enzimi tanımlanmış olup, moleküler yöntemlerin gelişmesi, bu enzimlerin dizi analizlerinin yapılmasına olanak sağlamıştır. Bunun sonucunda beta-laktamazlarda farklı protein dizileri saptanmış ve

enzimler sistematik olarak sınıflandırılmıştır (52). Geçmişte beta-laktamazlar, 1968 yılı sonrası enzimlerin fonksiyonel özelliklerine göre ve 1980’de aminoasit dizi analizlerinin bulunması ile moleküler olarak sınıflandırılmıştır (53,54).

Günümüzde beta-laktamazların sınıflandırmasında en çok Bush-Jacoby-Medeiros (fonksiyonel) veya Ambler (moleküler) sınıflandırmaları kullanılmaktadır (55).

2.5.2. Beta-laktamazların moleküler olarak sınıflandırılması

A, C, D sınıfı beta-laktamazlar aktif bölgelerinde serin aminoasidi içerirken B sınıfı MBL’ler aktif bölgelerinde çinkoya ihtiyaç duymaktadır.

Sınıf A: Kromozom veya plazmit tarafından kodlanabilen ve dünyada en yaygın görülen beta-laktamazlardır. Bu grup GSBL olarak adlandırılmakta olup TEM, benzer özelliklere sahip olan SHV, oksiminosefalosporinleri hidrolize edebilen CTX-M ve karbapenemleri hidrolize edebilen KPC enzimlerinden oluşmaktadır (52).

Sınıf B: Aktif bölgelerinde çinko atomu içeren MBL’lerdir. Bu enzimler penisilin, sefalosporin ve karbapenemlere karşı etki gösterebilmekte olup monobaktamlara karşı etkisizdirler. MBL’ler yapısal farklılıklarına göre üç alt gruba (B1, B2, B3) ayrılırlar. B1 alt grubuna ait enzimler plazmitler tarafından kodlanır. B1 alt grubunda yer alan NDM ve Verona Integron-encoded MBL (VIM) enzimleri bu grup beta-laktamazların önem kazanmasına neden olmuştur. Bu alt grupta, bu iki enzim dışında IMP (imipenemaz), SIM ve GIM enzimleri bulunmaktadır. B2 ve B3 alt grubu enzimler ise birkaç istisna dışında kromozomal olarak taşınmaktadır (52,56).

Sınıf C: Kromozomal olarak kodlanan AmpC sefalosporinazlardır. Beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler. Karbapenemaz aktiviteleri bulunmamakta olup bu enzim ile birlikte porin kaybı veya mutasyonu görülmesi sonucu karbapenemlere direnç gelişebilmektedir (52).

Sınıf D: OXA beta-laktamazları içeren ve çoğu plazmid tarafından kodlanan enzimlerdir. Oksasilini hidrolize edebilme özelliğine sahiptirler (57). Tanımlanan ilk OXA beta-laktamazların etki spektrumu penisilinler ile sınırlı iken daha sonra OXA-

11 gibi GSBL etkinliği ve OXA-23, OXA-48 gibi karbapenemaz etkinliği olan enzimler saptanmıştır (58).

2.5.3. Beta-laktamazların fonksiyonel olarak sınıflandırılması

İlk kez 1989 yılında kullanılan, 1995 ve 2010 yıllarında güncellenen Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından önerilen fonksiyonel sınıflama enzimlerin substrat profili, inhibitör duyarlılığı gibi fonksiyonel özelliklerine göre oluşturulmuştur. Fonksiyonel sınıflama üç ana grup ve alt gruplardan oluşmaktadır. Grup 1 (moleküler sınıf C) sefalosporinazları; grup 2 (moleküler sınıf A ve D) geniş spektrumlu, inhibitöre dirençli, GSBL ve serin karbapenemazları ve grup 3 (moleküler sınıf B) MBL'leri içerir. Moleküler sınıflama, fonksiyonel sınıflamaya göre daha pratik olması nedeni ile klinikte kullanımı daha kolaydır (54).

2.6. KARBAPENEM DİRENÇ MEKANİZMALARI

Enterobacteriaceae'larda karbapenemlere direnç başlıca üç mekanizma ile meydana gelmektedir.

2.6.1. Porin ekspresyonunda bozulma ile permeabilitede azalma

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan dış membran proteini [outer membrane protein (OMP)] adı verilen porinler, antibakteriyal maddeler dahil küçük moleküllerin hücre içine alınmasını kontrol eder. Porin ekspresyonunda azalma ve mutasyon görülmesi, hücre içi antibiyotik düzeyini azaltarak direnç gelişmesine neden olmaktadır.

Enterobacteriaceae'larda, katyonik moleküller için OmpF ve OmpC ve anyonik moleküller için PhoE porinleri görev almaktadır. İlk olarak *E. coli*'de görülen OmpF/OmpC türevleri olan porinler *Enterobacter aerogenes* (Omp35/Omp36), *Enterobacter cloacae* (OmpEc35/OmpEc36) ve *Klebsiella pneumoniae*' da (OmpK35/OmpK36) saptanmıştır. OmpF porin türevleri geniş kanal büyüklüğüne sahipken OmpC porin türevleri daha dar kanal büyüklüğüne sahiptir. Dirençli *K. pneumoniae* ve *Enterobacter aerogenes* suşlarında OmpF türevi olan OmpK35 ve Omp35 porinlerinin daha dar yapıda olan OmpK36 ve Omp36 porinleri ile yer değiştirdiği saptanmıştır (59,60).

OmpC türevi porinlerde görülen mutasyonlar antibiyotiklerin hücre içine girişini engelleyerek karbapenem direncine neden olmaktadır. *E. aerogenes* izolatlarında görülen G112D mutasyonu ve *E. coli* izolatlarında görülen D18E ve S274F mutasyonu buna örnektir (60).

2.6.2. Eflüks pompa sistemi aracılığıyla, antibiyotiğin dışarı atılması

Bakterilerde ilacı hücre dışına pompalayan (eflüks) sistem, intrinsik antimikrobiyal direncinin mekanizmalarından biridir. Resistance Nodulation Division (RND) çoklu antimikrobiyal dirence neden olan eflüks pompa sistemidir. Bu pompa sistemi, sitoplazmik zar üzerinde ki bir pompa proteini, periplazmik aralıkta bir membran füzyon proteini ve dış membranda yer alan bir OMP olmak üzere 3 bölümden oluşmaktadır. *Enterobacteriaceae*'da bulunan AcrAB-TolC en iyi bilinen Resistance Nodulation Division (RND)'dir.

E. coli'de *acrAB-tolC* genleri transkripsiyonel düzenleyici MarA ve *K.pneumoniae*'de transkripsiyonel düzenleyici RomA ve RarA tarafından kontrol edilmektedir. *AcrR* 'de mutasyon ile işlev kaybı gelişmesi, AcrAB-TolC'nin fazla sentezlenmesine ve çoklu ilaç direncine neden olmaktadır (61). AcrAB ile karbapenemler, kinolon, tetrasiklinler ve kloramfenikole karşı direnç geliştiği görülmüştür (62).

2.6.3. Karbapenemaz genlerinin kazanılması

Karbapenem direncinin mekanizmalarından biri de karbapenemaz enzimleri tarafından beta-laktamların hidrolizidir.

Karbapenemaz direnç genleri kromozomal genler veya transfer edilebilen genler tarafından kodlanır. Kromozomal olarak kodlanan genler aynı türler arasında dikey olarak, plazmitler ile kodlanan genler ise farklı türler arasında horizontal olarak aktarılır. Plazmit içinde genler transpozon ve integron gibi mobil genetik elemanlar ile taşınır. Plazmit ve diğer mobil genetik elemanlar ile taşınan karbapenemaz direnç genleri, bakteriler arasında daha hızlı ve kolay yayılır (63).

Bin dokuz yüz doksan'ların başına kadar tüm karbapenemazların, kromozomal olarak kodlandığı bilinmekte iken *P.aeruginosa*'da IMP-1 (imipenemaz), *A.baumannii*'de ARI-1 (OXA-23) ve *Klebsiella pneumoniae*'de KPC-1 gibi plazmid

aracılığıyla kodlanan karbapenemazların tanımlanması ile bu görüş değişmiştir. Plazmid aracılığı ile kodlanan karbapenemazların, türler arası yayılımı karbapenemazları küresel bir sorun haline getirmiştir (56).

2.6.3.1. Sınıf A karbapenemazlar

Bu enzimler karbapenemlerin yanı sıra sefalosporinler, penisilinler ve aztreonam dahil olmak üzere farklı beta-laktamları hidrolize edebilir ayrıca klavulanik asit veya tazobaktam ile inhibe edilebilirler (56).

1.Kromozomal olarak kodlanan enzimler: Karbapenemleri hidrolize edebilirler ancak geniş spektrumlu sefalosporinlere etki göstermezler.

NMC-A (Not Metalloenzyme Carbapenemase): 1990 yılında Fransa' da bir *Enterobacter cloacae* NOR-1 klinik izolatında tanımlanmış olup bilinen ilk sınıf A karbapenemazdır. Aminokarboksipenisilinleri, sefalotini, imipenem ve aztreonamı hidrolize edebilen bu enzimler, klavulanik asit ve tazobaktam tarafından inhibe edilebilirler. NMC-A, AmpC tipi enzimlerle benzerlik göstermekte olup benzer şekilde LysR gibi NMC-R adında regülatuar gen içermektedir. Bu gen ile beta-laktam maruziyetinde, enzim sentezi indüklenerek artmaktadır (64).

SME-1 (Serratia marcescens enzyme-1): SME-1 enzimi ilk olarak İngiltere' de 1982 yılında iki farklı *S. marcescens* suşunda tanımlanmıştır. Daha sonra ABD' de SME-2 ve SME-3 enzimleri sporadik olarak saptanmıştır (56).

IMI-1 (Imipenem Hydrolyzing β -lactamase): 1984'te Güney Kaliforniya'da izole edilen iki *E. cloacae* suşundan tanımlanan diğer sınıf A karbapenemaz enzimidir. NMC-A ile aminoasit yapıları yüksek oranda benzerlik göstermektedir. Benzer şekilde regülatuar gen bölgesi ve hidroliz profili mevcuttur. Yakın zamanda ABD'de *Enterobacter asburiae* suşunda ve Çin'den bir *E. cloacae* izolatından plazmit ile kodlanan IMI-2 enzimi saptanmıştır (48,56).

2.Plazmid ile kodlanan enzimler: Sınıf A karbapenemazlar ile aminoasit yapısı benzerlik göstermesi nedeni ile bu gruba dahil edilmişlerdir. Bu enzime sahip izolatların penisilinler, aztreonam, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler ve

karbapenemleri hidrolize ettiği görülmüştür. Kromozomal enzimler ile karşılaştırıldığında tazobaktam ve klavulanik asit ile daha fazla inhibe olduğu ve farklı olarak ekspresyonunun indüklenebilir olmadığı saptanmıştır (4,64).

KPC: KPC-1 enziminin tanımlanması sonrası ABD'nin doğu bölgesinde KPC sınıfı karbapenemazlar hızla yayılmıştır. New York'da 2000'li yılların başında tek aminoasit varyant gösteren KPC-2 ve KPC-3 enzimleri saptanmıştır. Son zamanlarda KPC enzimleri İskoçya, Kolombiya, İsrail ve Çin'de de tespit edilmiştir (56).

*bla*_{KPC} genleri, birçok plazmit ile taşınabilen Tn4401 transpozonu üzerinde yer alır. KPC enzimlerinin hızlı yayılma potansiyelleri plazmit ile kodlanmaları kaynaklı olup bu durum çok ilaca dirençli suşlar ile salgınların görülmesi nedeni ile endişe vericidir. Ayrıca bu enzimlerin, direnç genlerini transfer etme ve depolama yeteneği yüksek olan *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında görülmesi de hızla yayılma nedenlerindedir. Hem hastane hem toplum kökenli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında bulunan klonal kompleks 258 [Clonal Complex (CC258 veya ST258)] KPC enziminin yayılmasından sorumludur (56,65).

GES/IBC (*Guiana extended spectrum/integron-borne cephalosporinase*): Bu enzim ailesi ilk olarak 2000 yılında Yunanistan'da bir *E. cloacae* izolatından IBC-1 ve Fransa Gine bölgesinde bir *Klebsiella pneumoniae* izolatında, GES-1 enziminin saptanması ile tanımlanmıştır. Bu enzim grubunu kodlayan genler, plazmid üzerindeki integronlarda bulunmaktadır. Aminoasit dizilimleri, KPC, SME, NMC enzimlerine benzerlik göstermektedir. Bu enzimler penisilinleri, geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilme yetenekleri nedeni ile başlangıçta geniş spektrumlu beta-laktamazlar olarak adlandırılmışlardır (66). Güney Afrika'da 2001 yılında bir *P. aeruginosa* izolatında saptanan imipenemi hidrolize edebilen GES-2 enziminin saptanması ile sınıf A karbapenemazlara dahil edilmiştir. Bu enzim grubu nadir görülmekle birlikte Yunanistan, Fransa, Portekiz, Güney Afrika, Fransa Ginesi, Brezilya, Arjantin, Kore ve Japonya'dan bildirilmiştir (56).

2.6.3.2. Sınıf B Metallobetalaktamazlar

Karbapenemlerin yanı sıra penisilinler ve sefalosporinler gibi geniş spektrumda beta-laktamları hidrolize edebilme özelliğine sahiptirler bununla birlikte aztreonama

etki edemezler. Beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli olan bu enzim grubu, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) gibi çinko ve iki değerli katyonların şelatörleri ile inhibisyona duyarlıdır (67).

Sınıf B MBL'ler ilk olarak *Bacillus cereus* (Bcll) ve *Stenotrophomanas maltophilia* (L1) gibi fırsatçı patojenlerde kromozomal olarak saptanmıştır. Zamanla daha fazla MBL tanımlanmış olmakla birlikte genlerin kromozomal olarak kodlanması nedeni ile klonal yayılım görülmemiştir. Sonraki dönemlerde kazanılmış ve aktarılabilir MBL'ler saptanmış ve hızla yayılmıştır (67,68).

B1 alt sınıf enzimler: B1 alt sınıf enzimler, aktif bölgelerinde iki çinko atomu bulundurulur. *Bacillus cereus* Bcll enzimi, klinik olarak önem arz eden plazmit ile kodlanan IMP, NDM ve VIM enzimleri, *Bacteroides fragilis*de saptanan CcrA enzimi ve *Crysebacterium meningosepticum'* da saptanan blaB enzimi B1 alt sınıfında yer alır. IMP, VIM ve NDM enzimleri, *Enterobacteriaceae* ailesinde en sık görülen kazanılmış MBL'lerdir (56,67).

IMP (Active on imipenem): Saptanan ilk aktarılabilir MBL enzimi olan IMP-1, ilk olarak 1988 yılında Japonya'da bir hastadan izole edilen *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır. Daha sonra *Serratia marcescens* suşunda da tespit edilen IMP-1 geninin plazmit aracılığı ile sınıf 1 integronlar tarafından transfer edilebildiği saptanmıştır. İtalya' da bir hastadan izole edilen *A. baumannii* suşunda tanımlanan IMP-2 enzimi Avrupa'da saptanan ilk IMP enzimi olmuştur (69). Günümüzde 85 IMP varyantı tanımlanmış ve IMP tipi karbapenemaz üreten bakteriler tüm dünyada yayılım göstermiştir. Avrupa bölgesinde ve Güneydoğu Asya bölgesinde saptanan bla_{IMP} genleri karşılaştırıldığında küresel yayılım açısından fark olduğu ve Güneydoğu Asya bölgesinde genetik transferin lokalize olduğu düşünülmüştür. Japonya, Çin, Tayvan ve Avustralya IMP tipi karbapenemazların endemik olarak görüldüğü bölgelerdir. Diğer bölgelerden salgınlar veya tek tek vakalar olarak bildirilmiştir (68,70).

IMP tipi karbapenemazlar, MBL üreten *P. aeruginosa* suşları arasında yaygın görülürken *Enterobacteriaceae* ailesinde daha nadir saptanmaktadır.

Enterobacteriaceae ailesinde yer alan, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp. bu enzimlerin görüldüğü türlerdir (69,70).

*bla*_{IMP} gen analizi sonucunda, çoğunun sınıf 1 integronlar tarafından taşındığı saptanmıştır. Sınıf 1 integronlarda, *bla*_{IMP} geni ile birlikte farklı antibiyotiklere karşı direnç kodlayan genler de taşınmaktadır. Özellikle aminoglikozitlere direnç kazandıran, *aacA4*, *aadA1*, *aadB* genleri, sınıf D betalaktamaz (*bla*_{OXA}) ve kloramfenikol (*catB*) direnç genleri ile birliktelik gösterdiği saptanmıştır. Bu da *bla*_{IMP} geni taşıyan bakterilerde farklı sınıftan antibiyotiklere direnç görülmesini açıklamaktadır. *bla*_{IMP} genlerinin sınıf 1 integronlar dışında sınıf 3 integronlar ile de taşındığı görülmüştür. Tanımlanan ilk *bla*_{IMP-1} geni plazmit üzerinde bulunan bir sınıf 3 integronda saptanmıştır. Bununla birlikte daha sonra saptanan sınıf 1 integron aracılı *bla*_{IMP} geni taşıyan suşların daha yaygın tip olduğu gösterilmiştir (69).

VIM (Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase): İntegron ilişkili MBL'lerin sık görülen diğer üyesi VIM enzimleridir. VIM-1 ilk olarak 1999 yılında Verona-İtalya'da bir *P. aeruginosa* izolatında saptanmıştır. Kısa süre sonra Fransa ve İtalya'da VIM-2 varyantı tanımlanmıştır. VIM-4 enzimi de Yunanistan'da *P. aeruginosa* izolatlarında rapor edilmiştir. VIM-5 enzimi ilk olarak Türkiye'de 2004-2005 yıllarında, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* suşlarında izole edilmiştir. Bununla birlikte Türkiye'de 2002 yılından daha önce izole edilen *E. cloacae* izolatında *bla*_{VIM-5} bulunduğu daha sonra anlaşılmıştır (71). VIM-5 enziminden tek noktada farklılık gösteren VIM-38 enzimi de benzer şekilde yakın zamanda Türkiye'de *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır (72).

Günümüze kadar 60'dan fazla VIM varyantı tanımlanmış olup bunlar arasından en yaygın görüleni VIM-2'dir. VIM enzimi çoğunlukla *P. aeruginosa* suşlarında, daha az oranlarda *Enterobacteriaceae* ailesinde görülmektedir. Tüm dünyadan vakalar bildirilmekle birlikte özellikle Güney Avrupa ve Güney Doğu Asya'da ki tekrarlayan raporlar bu bölgelerin endemik olduğunu düşündürmektedir (68).

NDM: İlk olarak İsveç'te 2008 yılında, Hindistan'da hastanede yatış öyküsü olan bir hastadan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşunda saptanmıştır. NDM-1, keşfi sonrası Hindistan, Pakistan ve Bangladeş'te yaygın olarak görülmüş ve zamanla

tüm dünyadan *bla*_{NDM} taşıyan suşlar bildirilmiştir. Hindistan alt bölgesi, Balkan ülkeleri ve Orta doğu ülkelerinde *bla*_{NDM} geni endemik olarak görülmektedir (73). *bla*_{NDM} geni Türkiye’de ilk kez 2011 yılında Bağdat-Irak’tan transfer edilen bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* izolatında saptanmıştır (43).

Tanımlanan 30’dan fazla NDM varyantı içinde NDM-1, en geniş dağılıma sahiptir ve 11 farklı bakteri türünde görülmüştür. NDM-1 varyantları gen üzerinde nokta mutasyonları ile oluşmaktadır. Mutasyonun yeri karbapenemaz aktivitesini değiştirmektedir. NDM-2 ve NDM-3 gibi varyantlar, enzimin aktif bölgesinde mutasyon bulunmadığı için NDM-1 ile benzer aktivite göstermektedir. NDM-4 ise enzimin aktif bölgesinde mutasyon bulunması nedeni ile daha fazla oranda karbapenemaz aktivitesine sahiptir. NDM-1, *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesinde ve *Acinetobacter* spp. izolatlarında bulunmakta *P.aeruginosa*’da ise nadir görülmektedir (74).

*bla*_{NDM-1} taşıyan *Enterobacteriaceae*’larda gen transferinin spesifik bir plazmit, klon veya tek bir genetik yapı ile ilişkili olmadığı görülmüştür. IncA/C, IncF, IncN, IncL/M, tiplendirilememiş plazmitler aracılığı ile veya kromozomal olarak taşındığı ortaya koyulmuştur. Bu durum horizontal transfer ile bakteriler arasında hızlı yayılıma neden olmaktadır. Son zamanlarda *bla*_{NDM} geninin, daha yaygın olarak IncX3 plazmidi aracılığı ile taşındığı saptanmıştır (73). *Enterobacteriaceae* ailesinde, *bla*_{NDM} geninin yayılmasında Tn3000 transpozonunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tn3000, Tn125 kalıntıları ve 2 kopya IS3000’den oluşmaktadır (75).

*bla*_{NDM} taşıyan suşlar birbiriyle ilişkisiz birçok direnç genini birlikte eksprese edebilme özelliğine sahiptir. AmpC, GSBL, diğer karbapenemazlar (OXA48, VIM, KPC), aminoglikozit direnci (16S RNA metilaz), kinolon direnci (Qnr), makrolid (esteraz), rifampisin (rifampisin modifiye edici enzim), kloramfenikol ve sulfometaksazol antibiyotiklerine karşı direnç genleri *bla*_{NDM-1} taşıyan bakterilerde birlikte bulunabilmektedir (76).

B2 alt sınıf enzimler: Bu enzimler aktif bölgelerinde tek çinko atomu bulundurmaları ve ikinci çinko atomunun bağlanması sonucu inhibe olmaları ile diğer alt sınıflardan ayrılırlar. Ayrıca diğer iki alt sınıftan farklı olarak sadece

karbapenemleri içeren dar spektrumda hidroliz profiline sahiptirler. *Aeromanas* spp.' den izole edilen CphA ve *Serratia* spp.' den izole edilen Sfh-1 enzimleri bu grup enzimlerin önemli örnekleridir.

B3 alt sınıf enzimler: Aktif bölgelerinde iki çinko atomu bulunması ve substrat profilleri ile B1 alt sınıf enzimlere benzerler. *Stenotrophomonas maltophilia*'da bulunan tetramerik yapısı ile diğer beta-laktamazlardan ayrılan L1 enzimi bu grupta yer alır. *Legionella gormanii*' deki FEZ-1, *Chryseobacterium meningosepticum*'da bulunan GOB-1 enzimleri de bu alt sınıfın üyesidir (67,68).

2.6.3.3. Sınıf D Serin karbapenemazlar

OXA (oksasilini hidrolize edebilen) beta-laktamazlar veya oksasilinazlar olarak bilinen sınıf D beta-laktamazlar, gram negatif bakterilerde yaygın görülen enzimlerdir. D sınıfı karbapenemazların 750'den fazla varyantı bulunmaktadır (77,78). Bu enzimler, oksasilini, benzilpenisilinden daha hızlı hidrolize etmesi nedeni ile oksasilinazlar olarak adlandırılmıştır (79). Diğer karbapenemazlara göre karbapenemleri hidroliz etme özellikleri zayıftır. EDTA, klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam ile inhibisyona direnç gösterirken, NaCl ile inhibe olabilmektedirler. Karbapenemaz aktivitesine sahip ilk OXA betalaktamaz 1985'de İskoçya'da bir hastadan izole edilen *A. Baumannii* suşunda tanımlanmıştır. *Acinetobacter* resistant to imipenem (ARI-1) olarak bilinen bu enzimin daha sonra yapılan gen analizinde OXA tipi enzimlere benzer olduğu saptanmış ve OXA-23 olarak yeniden adlandırılmıştır (56).

Sınıf D karbapenemazlar genellikle *Acinetobacter* spp. izolatlarında görülmektedir. Bununla birlikte, OXA-48 varyantı *Enterobacteriaceae* izolatlarında saptanmaktadır. OXA tipi enzimler filogenetik olarak iki gruba ayrılarak incelenmiştir.

Grup 1 OXA karbapenemazlar: daha çok *Acinetobacter* spp. izolatlarında bulunur ve dört alt gruba ayrılır:

1. Alt grup 1a; OXA-23 benzeri beta-laktamazlar (OXA-23, -27, -49, -73, -102, -103, -133, -146, -165, -166, -167, -168, -169, -170, -171, -225, -239, -366, -398, -422, -423, -435, -440, -481, -482, -483, ve -565)

2.Alt grup 1b; OXA-24/40 benzeri beta-laktamazlar (OXA-24, -25, -26, -72, -139, -160, -207 ve -437)

3.Alt grup 1c; OXA-51 benzeri beta-laktamazlar

4.Alt grup 1d; OXA-58 benzeri beta-laktamazlar (OXA-58, -96, -97, -164, -397, -420 ve -512)

Grup 2 OXA karbapenemazlar: OXA-48 benzeri enzimleri içerir. Bu grup enzimler diğer OXA beta-laktamazlar ile %50'den daha az aminoasit benzerliğine sahiptir. OXA-48 benzeri enzimler *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenem direncinin önemli nedenlerindedir (77).

*bla*_{OXA-48} ilk olarak Türkiye'de *K. pneumoniae* suşunda izole edilmiş sonrasında hızla yayılarak salgınlara neden olmuştur. Türkiye dışında ilk olarak 2010 yılında Belçika'da *bla*_{OXA-48} geni taşıyan *Klebsiella pneumoniae* saptanmış ardından Mısır, Tunus, Fas, Kuzey Afrika, Belçika ve Fransada farklı *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarında *bla*_{OXA-48} geni tanımlanmıştır. Günümüzde *bla*_{OXA-48} geni taşıyan *Enterobacteriaceae* spp. türleri Türkiye, Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde endemik olarak görülmekte ve bu bölgelerde hastane salgınlara neden olmaktadır (77). *bla*_{OXA-48} geni taşıyan *Enterobacteriaceae* ailesinde, genetik yayılım, daha önce IncL/M plazmit olarak bilinen 60 kilobyte'lık IncL plazmitleri ile olmaktadır. IncL plazmiti 2 kopya IS1999'dan oluşan Tn1999 transpozonu ve tir (transfer inhibitör protein) genini içermektedir *bla*_{OXA-48} geni ayrıca IncF ve IncP plazmitler ile de taşınmaktadır (80–82).

*bla*_{OXA-162} geni, ilk olarak Türkiye'de izole edilen bir *K. pneumoniae* suşunda tanımlanmış olup *bla*_{OXA-48}'den bir aminoasit dizisi ile farklılık göstermektedir (83).

*bla*_{OXA-163} geni ilk olarak Arjantin'de bir hastadan izole edilen suşta tanımlanmıştır. *bla*_{OXA-48} ile benzer aminoasit yapısına sahip olmakla birlikte OXA-163 enzimi farklı hidrolitik aktivite göstermektedir. OXA-163, OXA-48'den genişletilmiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilmesi ve karbapenemlere karşı zayıf etki göstermesi ile ayrılmaktadır (84).

OXA-181 enzimi Hindistan'da tanımlanmış olup OXA-48 enziminden dört aminoasit dizisinde farklılık gösterir (85).

OXA-204 enzimi de Cezayir'de bir hastada saptanmış olup iki aminoasit dizisi ile OXA-48 enziminden ayrılır. OXA-48 ile benzer substrat profiline sahiptir (77).

OXA-232 enzimi, OXA-181 ile nokta mutasyon farkı gösterir ve OXA-48 ile benzer hidroliz profiline sahiptir (86).

2.7. KARBAPENAMAZ SAPTAMA YÖNTEMLERİ

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'ların neden olduğu infeksiyonlarda etken olan bakterilerin hızlı tespiti uygun antimikrobiyal seçimi ve infeksiyon kontrol önlemlerinin alınması için önemlidir. Bu bakterilerde karbapenem direncinin türler arası yayılımında özellikle mobil genetik elemanlar ile aktarılabilen karbapenemaz direnç genleri, endişe uyandırmaktadır. Karbapenemazların saptanması için fenotipik, genotipik ve moleküler yöntemler geliştirilmiştir (87).

Bir izolatta karbapenemaz varlığının saptanması ilk olarak karbapenemin minimum inhibitör konsantrasyonunda (MİK) artış veya inhibisyon zon çapında azalma görülmesi ile başlar. Bununla birlikte karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'lar için klinik MİK değeri sınırın altında saptanabilir. Bu nedenle Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi [European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)] tarafından epidemiyolojik cut-off değerleri tanımlanmıştır. EUCAST rehberine göre meropenem, karbapenemaz tespiti için özgülüğü ve duyarlılığı en iyi karbapenemdir (88). Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü [Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)] rehberinde karbapenem direnci için MİK sınır değerler ertapenem için ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ meropenem ve imipenem için ise ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte karbapenemaz varlığının araştırılması MİK değeri ertapenem ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$, meropenem ve imipenem 2-4 $\mu\text{g/ml}$ saptandığı zaman önerilmiştir (89,90).

2.7.1. Karbapenemazların Fenotipik Yöntemlerle Saptanması

2.7.1.1. İnhibitör bazlı testler

Bilinen ilk fenotipik testtir. Spesifik karbapenemaz inhibitörlerinin varlığında karbapenemaz aktivitesinde oluşan azalmanın gösterilmesine dayanır. İnhibitör eklenmesi ile MİK değerinde azalma veya inhibisyon zon çapında artış gözlenir. İnhibisyon için disklere, meropenem ile birlikte A sınıfı karbapenemazlar için boronik asit, B sınıfı metallobetalaktamazlar için dipikolinik asit ve EDTA, AmpC için boronik asit ve kloksasilin eklenmektedir. Rutin kullanılmamakla birlikte avibaktam OXA-48 varlığında inhibitör olarak tercih edilebilir. Temosilin yüksek düzey direnci, OXA-48 benzeri karbanemazların saptanmasında önerilmektedir. Bununla birlikte diğer direnç mekanizmaları ile de bu fenotip görülmektedir. OXA-48 benzeri karbapenemazlar için spesifik olmayan bu testin diğer yöntemler ile doğrulanması gerekmektedir (88). Bu testler basit, ucuz ve karbapenemazları saptamada nispeten verimlidir. Bununla birlikte sonuçların elde edilmesi için en az 18 saatlik inkübasyon gerektirmesi ve eksprese edilmemiş direnç genlerinin varlığında yanlış negatif sonuç vermesi gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır (91,92).

Kombine disk testi: İnhibitörün karbapenem diskine eklenmesi ile elde edilen kombine disk ve tek başına karbapenem diski karbapenemaz araştırılan suşun pasajlandığı Mueller Hinton agar üzerine yerleştirilmektedir. EDTA ile kombine imipenem ve tek başına imipenemin kullanıldığı e-test stripleri de bulunmaktadır.

Çift disk sinerji testi: Karbapenem diskleri, tek başına inhibitör içeren diskler ile aralarında mesafe bırakılarak yerleştirilir. Karbapenem ve inhibitör arasında sinerji saptanması pozitif sonucu gösterir (92).

2.7.1.2. Modifiye Hodge Testi

Bu test, karbapenemin inaktivasyonunun Mueller Hinton agar üzerinde karbapenemaz üreten bir suş tarafından gösterilmesine dayanmaktadır. Karbapenem duyarlı indikatör bir mikroorganizma Mueller Hinton agar üzerine inoküle edilir. Diskin merkezine bir karbapenem diski yerleştirilir ve karbapenemaz açısından test edilen suş, santralden perifer doğru çizgi şeklinde ekilir. Bir gecelik inkübasyon sonrası indikatör suş ile test edilen suş arasında yonca yaprağı benzeri bir büyüme

görülüyor ise suş karbapenemaz üretimi için pozitif kabul edilmektedir. Modifiye Hodge testi, Ambler sınıf A ve D karbapenemazların saptanmasından yüksek duyarlılığa sahiptir. Bununla birlikte sınıf B MBL'ler için bu testin duyarlılığı %50'dir. Agara çinko eklenmesi ile MBL'lerin tespitinde duyarlılığın arttığı görülmüştür (91,92).

2.7.1.3. Karbapenem İçeren Kültür Ortamlarının Kullanılması

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriace*'ların, sağlık bakımı ilişkili infeksiyon etkeni olarak yayılımlarının önlenmesinde, asemptomatik taşıyıcıların saptanması önemlidir. Gastrointestinal flora, *Enterobacteriaceae*'lar için en önemli rezervuardır. Bu amaçla gastrointestinal taşıyıcılık, rektal sürüntü veya dışkı örneklerinden kültür yöntemleri ile taranmaktadır. Bu tarama için ticari olarak temin edilebilen besi yerleri mevcut olmakla birlikte karbapenem diski eklenen MacConkey agarda kültür yapılarak da sonuç elde edilebilir. Tarama yapılan örnek, 10 µg imipenem diski içeren triptik soy broth'a eklenerek 37°C' de bir gece bekletilir ve 100 µl MacConkey agara subpasajı yapılır. Tarama yapılan örneğin, 1 µg/ml oranında imipenem diski içeren MacConkey agara, pasajlanması da diğer bir yöntemdir. Bunlar dışında kromojenik ChromID ESB, CHROMagar KPC, ChromID Carba ve kromojenik olmayan SUPERCARBA gibi ticari olarak temin edilebilen hazır besiyerleri mevcuttur. Bu testler karbapenemaz üretimi ile karbapenem direnci oluşturan diğer mekanizmalar arasında ayırım yapamazlar (92,93).

2.7.1.4. Karbapenem İnaktivasyon Metodu

Bu yöntem, karbapenem diskinin, bakteriyel bir süspansiyon ile inkübasyonu sonrası enzimatik hidrolizinin saptanmasına dayanır. Meropenem diski, bakteri ile iki saat inkübe edildikten sonra *Escherichia coli* ATCC 25922 suşunun pasajlandığı bir agar üzerine yerleştirilir. Karbapenemaz varlığında, meropenemin inaktivasyonu sonucu zon oluşmadığı görülür. Ucuz ve kolay olan bu yöntem farklı karbapenemaz türlerini ayırt edemez ve en az sekiz saatlik inkübasyon süresi gerekir (88,94).

2.7.1.5. Biyokimyasal (kolorimetrik) testler

Carba-NP Testi, test edilen suş tarafından, karbapenem beta-laktam halkasının hidrolizi sonucu pH değişikliği oluşması ve fenol kırmızısında (pH indikatörü),

kırmızıdan sarıya renk dönüşümünün gösterilmesine dayanır. Bu test *Enterobacteriaceae* ailesinde ve *P. aeruginosa*' da yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahiptir. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* 'larda duyarlılık sorunları görülmüştür.

Carba-NP testi iki saatten kısa bir sürede yapılabilmektedir. Düşük maliyetli ve kolay uygulanabilen bu test, moleküler yöntemlerin aksine bilinen karbapenemazlar dışında yeni karbapenemazları da saptayabilmektedir. Aynı zamanda karbapenemaz üreten bakterileri, diğer mekanizmalar ile karbapenem direnci gösteren bakterilerden ayırabilmektedir. Ancak, karbapenemaz sınıfları arasında ayırım yapamaz ve GES tipi karbapenemazları saptayamaz.

Carba-NP testinin türevidir olan Blue-Carba testi de, imipenemin bakteri kolonileri tarafından invitro hidrolizine dayanır. Ph değişikliği ile borotimol mavisinde sarı/yeşil renk değişikliği gözlemlenir. Bu test Ambler sınıf A ve B karbapenemazlar için yüksek, OXA-48 enzimleri için düşük duyarlılığa sahiptir (88,92).

2.7.1.6. Spektrofotometre

- Ultraviyole (UV) Spektrofotometre

Karbapenemaz aktivitesinin göstergesi olan karbapenem hidrolizinin, UV spektrofotometresi kullanılarak ölçümüne dayanır. Test edilen suşun, 10 ml triptik soy broth içinde 37 °C'de 18 saat inkübasyonu sonrası elde edilen kültürün santrifüjü ile pellet elde edilir. Elde edilen pellet ZnSO₄ içeren fosfat tamponu içine karıştırılır. Çözeltinin sonikasyonu sonrası elde edilen süpernatant, imipenem ile karıştırılır ve 297 nm dalga boyunda UV spektrofotometre kullanılarak imipenem hidrolizi hesaplanır (95). Bu yöntem, tüm karbapenemazları tespit edebilir ve aynı zamanda karbapenemazları diğer karbapenem direnç mekanizmalarından ayırabilir. Ucuz olan bu yöntem zahmetli ve zaman alıcıdır. Bu nedenle sadece referans laboratuvarlarında kullanılmaktadır (92).

-Kütle Spektrometre

Matriks Destekli Lazer Dezorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi [Matrix-assisted laser desorption-time ionization-time of flight mass

spectrometry (MALDI-TOF MS)] karbapenem hidrolizi sırasında kütle değişim oranının ölçümüne dayanmaktadır. Bakteriyal süspansiyonun, 1-4 saat karbapenem ile inkübasyonu sonrası bozunma ürünleri ve kütle oranı tespit edilir. OXA-48 enzimleri dışında enzimleri saptamada yüksek duyarlılık ve özgülükte olduğu görülmüştür. Direnç genlerini tanımlamada PCR ile kombinasyon olarak önerilen bu yöntem, mRNA (Ribonükleik asid)'lardan üretilen proteinleri de saptayarak dolaylı yoldan genetik düzeyde sonuç verebilmektedir. Bunun yanında cihazın yüksek maliyetli olması ve bilinmeyen direnç genlerini saptayamaması, bu yöntemin dezavantajlarıdır (91).

2.7.1.7. İmmunokromatografi

İmmünokromatografi, antijen-antikor reaksiyonuna dayanan immünohistokimyasal bir testtir. Kromatografik bir kağıt üzerinde karbapenemaza (antijen) karşı iki antikor kullanılarak test yapılır. Antikorlardan biri kromatografik kağıt üzerinde sabitlenir. Diğeri kolloidal altın ile işaretlenerek bir pedin üzerine alınır. Ped üzerine numune eklendiği zaman işaretli antikor ile karbapenemaz varlığında immünkompleks oluştururlar. Bu kompleks, sıvı örnek materyali ile birlikte hareket ederek kağıt üzerinde ki antikor ile renk değişikliğine neden olan immünkompleks oluşturur. Son zamanlarda birçok ticari immunokromatografi kiti geliştirilmiştir. Kolay kullanılabilen, güvenilir ve hassas olan bu test karbapenemazları ayırt edebilir ancak alt tipleri saptayamaz ve yeni mutasyonları tanıyamaz (92,94).

2.7.2. Karbapenemazların Moleküler Yöntemlerle Saptanması

Moleküler testler karbapenemazların saptanmasında altın standarttır. Bu testlerin çoğu PCR yöntemine dayanmaktadır. Ayrıca bu genler, kesin olarak karbapenemazın saptanması sonrası tam genom dizi analizi yöntemi ile saptanabilir. Bununla birlikte gen analizi, tedavi ve infeksiyon kontrolü için gerekli olmayıp araştırma ve epidemiyolojik çalışma amacı ile kullanılmaktadır. PCR, tekli, multipleks ve gerçek zamanlı (Real-time) olarak bakılabilir. Bu yöntemler ile sonuç, Real-time PCR için daha kısa süre de olmak üzere 4-6 saat içinde alınmaktadır.

Moleküler yöntemler için, yüksek maliyet, deneyimli personel gereksinimi ve tanımlanmamış yeni genlerin tespit edilememesi dezavantajlardır (92,96).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA TASARIMI

Çalışma prospektif, gözlemsel bir araştırma olarak planlandı. Ekim 2021-Şubat 2023 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi yataklı servislerinde veya yoğun bakım ünitelerinde en az 48 saat süreyle yatmakta olan ve *Enterobacteriaceae* spp. ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan 18 yaş ve üzeri hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastaların tekrarlayan kan kültürü üremeleri çalışmaya dahil edilmedi. Kan kültüründe birden fazla etken izole edilen hastalarda çalışma dışı bırakıldı. Hastalar karbapenem direnci ve mortalite gelişimi ile ilişkili risk faktörleri açısından değerlendirildi. Hastalardan izole edilen KDE izolatlarında moleküler olarak Real-time PCR testi ile *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} karbapenemaz genleri araştırıldı. KDE izolatlarında seftalozan tazobaktam ve meropenem vaborbaktam duyarlılıkları çalışıldı.

3.2. VERİ TOPLAMA VE TANIMLAMALAR

Yatak başı değerlendirmeler ve hastane elektronik veri sistemi kullanılarak hasta verileri kaydedildi. *Enterobacteriaceae* aile tanımlamasında yapılan değişiklik nedeniyle sınıf dışı kalan türlerin izole edildiği hastalar ve polimikrobiyal üreme saptanan hastalar değerlendirme dışı bırakıldı. Hastalarda karbapenem direnci ve mortalite risk faktörleri belirlendi.

Hastaların demografik özellikleri, takip edildikleri klinikler, yatış tanıları, yatış süreleri, altta yatan hastalıkları, kan dolaşımı infeksiyonu saptanması öncesi kullandıkları antibiyotikler, yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü, geçirilen invaziv işlemler ve cerrahi öyküsü gibi KDE infeksiyonlarına neden olabilecek risk faktörleri kaydedildi.

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) Böbrek Hastalıkları: Küresel Sonuçların İyileştirilmesi Vakfı [Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)] tanı kriterlerine uygun olarak bakteriyemi saptanması öncesi üç ay veya daha uzun süre, glomerüler filtrasyon hızı <60 ml/dk/1,73 m² olması veya >30 mg/gün albuminüri görülmesi olarak tanımlandı (97).

Geçirilen invaziv işlemler endoskopik retrograd kolanjio pankreatografi (ERCP), endoskopi, kolonoskopi, katater takılması, perkütan endoskopik gastrotomi (PEG) açılması, trakeostomi, double j stent, nefrostomi açılması olarak tanımlandı.

İnfeksiyon tanısı hastaların klinik bulguları yanısıra beyaz küre, C-Reaktif Protein (CRP), prokalsitonin gibi laboratuvar parametreleri ve kan kültür sonuçları değerlendirilerek CDC kriterlerine göre konuldu.

Hastalarda kan dolaşımı infeksiyonunun ciddiyetini belirlemek için bakteriyemi saptandığı gün Glaskow koma skoru (GKS), Ardışık organ yetmezliği değerlendirme skoru (SOFA), Pitt bakteriyemi ve Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme (APACHEII) skorları belirlendi. Komorbid hastalıklar Charlson komorbidite indeksi (CKİ) kullanılarak değerlendirildi.

3.3. MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

3.3.1. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu ve Tanımlanması

Çalışmada, BACTEC sıvı besi yerindeki kan kültürü örnekleri BACTEC 9240 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) cihazında 5 gün süreyle inkübe edildi. Kültür sonuçları önce konvansiyonel olarak koloni morfolojisine göre gram boyama ile değerlendirildi. Mikroskopik incelemede gram negatif basil morfolojisi görülen izolatlar, koyun kanlı agar ve eozin metilen blue agara pasajlandı. Taze bakteri kolonilerinden 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize cihaza yüklendi. Yaklaşık 8-16 saatlik inkübasyon sonucunda bakterilerin tür tayini ve antibiyogram sonuçları belirlendi.

Karbapenem direnci için MİK sınır değerleri EUCAST rehberine göre ertapenem için >0,5 mg/l meropenem için >8 mg/l ve imipenem için >4 mg/l olarak tanımlanmıştır. Disk difüzyon yönteminde ise direnç için sınır zon çapı sınır değerleri ertapenem <25 mm, meropenem <16 mm ve imipenem <19 mm olarak tanımlanmıştır (88). Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* CDC verilerine uygun olarak karbapenem sınıfı antibiyotiklerden en az birine dirençli veya karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* olarak tanımlandı (98).

İzolatlarda kolistin antibiyotik duyarlılığı otomatize sistem ile belirlendi. MİK değeri >2 mg/l olan suşlar dirençli kabul edildi. Kolistin dirençli olan suşlarda e-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılığı tekrar çalışıldı.

3.3.2. Karbapenemaz Geninin Saptanması

3.3.2.1. Deoksiribo nükleik asit (DNA) ekstraksiyonu

EUCAST standartlarına göre en az bir karbapeneme direnç saptanan ve çalışma gününe kadar boncuklu bakteri tüplerinde -80 °C’de muhafaza edilen KDE izolatları çalışma günü direnç genlerinin tespiti için kanlı agara pasajlanarak 24 saat 37°C etüvde bekletildi. Kanlı agarda yeniden elde edilen suşlar 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlandıktan sonra Brain-heart infusion agara alınarak 24 saat etüvde bekletildi.

Brain-heart infusion agarda homojen şekilde hazırlanan 1000 ml bakteri süspansiyonu ependorf tüpüne alınarak dakikada devir sayısı [Revolutions Per Minute (rpm)] 50x10 dakika santrifüj edildi. Dipte kalan süpernatant üzerine 180 ml ATL tamponu (QIamp DNA Mini Kit) ve 20 ml Protein kinaz (QIamp DNA Mini Kit) eklenerek elde edilen 200 ml çözelti 56 °C’de bir saat bekletildikten sonra 200 ml AL tamponu (QIamp DNA Mini Kit) eklenerek örnekler 15 saniye vortekslendi. Örnekler 70 °C ‘de 10 dakika bekletildi. Elde edilen örneklere 200 ml %100 Etanol eklendikten sonra QIAamp DNA mini kit spin column tüplerine aktarılarak 8000 rpm’de bir dakika santrifüj edildi. Column üstünde kalan kısım 500 ml buffer AW1 (QIamp DNA Mini Kit) ile yıkandı ve 8000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildi. Daha sonra 500 ml AW2 (QIamp DNA Mini Kit) tamponu ile tekrar yıkandı ve 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi. Columna 200 ml AE (QIamp DNA Mini Kit) tamponu eklenip 8000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildi ve sonrası dipte kalan elüat 1,5 ml ependorf tüplerine aktarıldı. Numunelerin DNA miktarı ve kalitesi spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

3.3.2.2. PCR ürünlerinin analizi

Karbapenemaz genleri çalışılmak üzere DNA ekstraksiyonu yapılan bakteri örnekleri üretici firmanın talimatları doğrultusunda QIAGEN Rotor-Gene Q cihazında mastermix kullanılarak qPCR reaksiyonuna tabi tutuldu.

Mikrobal DNA qPCR assay kit protokolüne göre öncelikle mikrobiyolojik örnekten <250 ng (25 ul test başına ~5 ng) DNA örneği alındı. Ardından DNA Mikrobal qPCR mastermix ve mikrobiyal DNA içermeyen su ile karıştırıldı. Reaksiyon karışımının içeriği **Tablo 2'** de ayrıntılı şekilde belirtilmiştir.

Karışım daha önce hazırlanmış olan gen spesifik primerleri ve hidroliz prob setleri içeren kuyucuklara paylaştırıldı. Negatif kontrol için genomik DNA yerine Microbal DNA-free water ve pozitif kontrol için Microbal DNA Positive Control V2 karışımı eklendi. Her örnek için PCR protokolü **Tablo 3** 'de belirtilen şekilde uygulandı.

Tablo 2. Mikrobiyal DNA QPCR Karışımı

Bileşen	Miktar
Mikrobiyal Qpcr Mastermix	12.5 µl
Mikrobiyal DNA Qpcr Assay	1 µl
Genomik DNA Örneği	5 ng
Mikrobiyal DNA-Free Water	Genomik DNA örneğine göre değişken
Toplam Örnek Hacmi	25 µl

Tablo 3. Real-time PCR Reaksiyon Aşamaları

Aşama	Süre	Sıcaklık	Döngü
PCR aktivasyon basamağı	10 dk	95 °C	1
2 basamaklı döngü:			
Denatürasyon	15 sn	95 °C	
Annealing ve extension	2 dk	60 °C	40

PCR çalışmasının döngü eşik değerleri [Cycle Threshold (CT)] numunenin pozitif olup olmadığını otomatik olarak belirleyecek olan veri analiz yazılımına

aktarıldı. Veri analiz yazılımı kullanılarak mikrobiyal profillemeye tamamlandı. CT değerleri 31 ve üzeri olan suşlar negatif kabul edildi.

3.3.3. Dirençli Suşlarda Seftalozan-tazobaktam ve Meropenem-vaborbaktam Duyarlılığının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen ve karbapenem direnci saptanan *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarında yeni tedavi seçeneklerinden olan seftalozan-tazobaktam ve meropenem-vaborbaktam antibiyotiklerine duyarlılık disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Çalışma günü yeniden canlandırılan bakteriler Mueller-Hinton agar ekilerek antibiyotik diskleri yerleştirildi. 24 saat etüvde inkübasyon sonucu zon çapları ölçüldü. EUCAST rehberine göre direnç sınır zon çapı değerleri seftalozan-tazobaktam için <22 mm ve meropenem-vaborbaktam için <20 mm olarak tanımlanmış olup bu değerler baz alınarak duyarlılık sonuçları belirlendi.

3.4. ÇALIŞMANIN İZİNİ VE FİNANS KAYNAĞI

Bu çalışma PAÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 23.06.2021 tarihinde 60116787-020-67086 nolu etik kurul kararıyla onaylanmıştır. 21/01/2022 tarihinde 60116787-020-159498 nolu etik kurul kararıyla çalışmada değişiklik yapılmıştır. Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2022TIPF009 numaralı proje ile desteklenmiştir.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada G*Power programı (versiyon 3.1.9.7) kullanılarak örneklem hesabı yapılmıştır (99). Bu çalışma için gerekli örnek hesabı için daha önce Hsu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma baz alınarak gerekli etki büyüklüğü belirlenmiştir (100). $\alpha:0,05$, güç %95, parametreleri kullanılarak t her bir grup için 37 kişi olmak üzere toplam örneklem büyüklüğü en az 74 kişi olarak bulunmuştur.

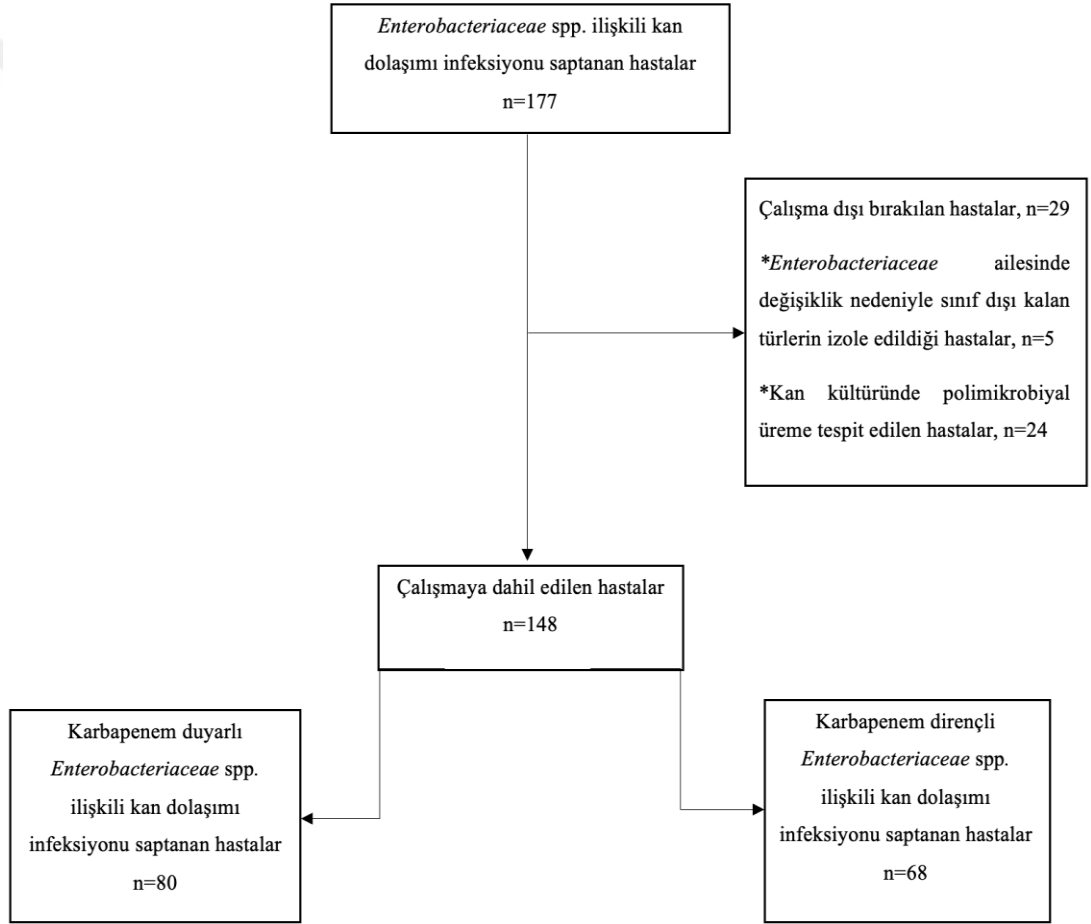
3.5.1. İstatistiksel Yöntem

Sürekli değişken verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri, nominal değişkenler ise olgu sayısı ve yüzde (%) olarak gösterildi. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov testi ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde mann-whitney u testi kullanıldı.

Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare testi, ki-kare test koşulları sağlanmadığında fischer test kullanıldı. KDE ve mortalite değişkenlerine etki eden risk faktörlerinin belirlenmesinde tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizleri kullanıldı. Tek değişkenli lojistik regresyon analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenler çoklu lojistik regresyon analizine alınarak Odds oranı (OR) ve %95 güven aralığı (GA) belirlendi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi, verilerin analizi SPSS 28.0 istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

Çalışma süresince Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatarak takip edilen ve kan kültüründen *Enterobacteriaceae* spp. izole edilen 177 hasta saptandı. Karbapenem direnci saptanan *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarında Real-Time PCR yöntemi ile *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} karbapenemaz direnç genleri araştırıldı. *Enterobacteriaceae* aile tanımlamasında yapılan değişiklik nedeniyle sınıf dışı kalan beş türün izole edildiği hastalar ve polimikrobiyal üreme saptanan 24 hasta değerlendirme dışı bırakılarak geri kalan 148 hastada karbapenem direnci ve mortalite ile ilişkili risk faktörleri belirlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışmanın akış şeması

KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan 68 (%46) ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan 80 (%54) hasta saptandı. İki grup karbapenem direnç risk faktörleri açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldı (**Tablo 4**).

Çalışmaya alınan 148 hastanın yaş ortalaması $65,9 \pm 13,9$ yıl olup, 90 (%60,8)'ı erkekti. Yaş ortalaması KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda $65,8 \pm 13,7$ yıl ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda $65 \pm 12,9$ yıl idi. Yaş ortalaması açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,651$). Gruplarda cinsiyet dağılımında da istatistiksel olarak anlamlı oranda fark görülmedi ($p=0,371$).

Hastaların 75 (%50,7)'inde yataklı servislerde 73 (%49,3)'ünde yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı infeksiyonu saptandı. Bakteriyemi saptandığı sırada 31 (%20,9) olgunun Anestezi ve Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde (YBÜ), 26 (%17,6) olgunun Hematoloji servisinde ve 19 (%12,8) olgunun Dahiliye YBÜ'de olduğu belirlendi. Kan kültür üremeleri, karbapenem duyarlı olan hastaların %45'inde ve karbapenem dirençli olan hastaların %54,4'ünde yoğun bakım ünitesinde takipleri sırasında saptandı ($p=0,254$). KDE izole edilen hastaların kan kültürü alımı sırasında yatmakta oldukları klinikler değerlendirildiğinde gastroenteroloji servisinde hasta yatış oranları ($n=12$ %17,6) istatistiksel olarak daha yüksek (**$p=0,03$**), hematoloji servisinde ($n=4$ %5,9) ise istatistiksel olarak daha düşüktü (**$p=0,01$**).

Yatış tanıları arasında en fazla oranda hematolojik (%20,3 $n=30$) ve onkolojik maligniteler (%18,2 $n=27$) görüldü. Karbapenem dirençli ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar karşılaştırıldığında KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda hematolojik malignite tanısı istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptandı (**$p=0,001$**) (**Tablo 4**).

Hastaların hastaneye yatışından izolataın üreme tarihine kadar geçen ortalama süre yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar için $17,1 \pm 36,2$ gün, servislerde takipli hastalar için $8,3 \pm 15,3$ gün olarak saptandı. Karbapenem dirençli ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar karşılaştırıldığında bu süreler istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı bulunmadı.

Tablo 4. Hastaların demografik özelliklerinin *Enterobacteriaceae* izolatlarında karbapenem direncine etkisi

		Karbapenem Duyarlı, n=80		Karbapenem Dirençli, n=68		p
		n-%	Medyan	n-%	Medyan	
Yaş (yıl) (ort±SS) ¹		65,0 ± 12,9	66,0	65,8 ± 13,7	68,0	0,651
Cinsiyet	Erkek	46	57,5	44	64,7	0,371
	Kadın	34	42,5	24	35,3	
VKİ ² (kg/m ²) (ort±SS)		25,7 ± 6,1	24,3	25,4 ± 6,0	24,2	0,555
Kan grubu	A Rh (+)	32	42,1	23	34,8	0,376
	A Rh (-)	3	3,9	3	4,5	0,860
	B Rh (+)	11	14,5	11	16,7	0,719
	B Rh (-)	1	1,3	0	0	1,000
	AB Rh (+)	6	7,9	10	15,2	0,173
	0 Rh (+)	21	27,6	18	27,3	0,962
	0 Rh (-)	2	2,6	1	1,5	1,000
Yattığı Servis	Servis	44	55	31	45,6	0,254
	YBÜ ³	36	45	37	54,4	
YBÜ yatış süresi gün (ort±SS)		8,5 ± 18,6	0,0	23,1 ± 46,3	1,0	0,095
Servis yatış süresi gün(ort±SS)		10,0 ± 14,6	3,5	7,6 ± 17,1	2,0	0,078
Hastanede kalış süresi gün(ort±SS)		44,2 ± 44,1	30,5	52,8 ± 60,0	30,0	0,840
Yattığı Klinik						
Anestezi ve Reanimasyon YBÜ		14	17,5	17	25	0,264
Dahiliye YBÜ		10	12,5	9	13,2	0,894
Nöroloji YBÜ		1	1,3	3	4,4	0,334
Covid-19 YBÜ		5	6,3	2	2,9	0,455
NRŞ ⁴ YBÜ		5	6,3	2	2,9	0,451
KVC ⁵ YBÜ		1	1,3	4	5,9	0,180
Hematoloji Servisi		22	27,5	4	5,9	0,010
Onkoloji Servis		3	3,8	6	8,8	0,302
Gastroenteroloji Servisi		5	6,3	12	17,6	0,030
Nefroloji Servisi		2	2,5	3	4,4	0,661
Diğer birimler ⁶		12	15	6	8,8	0,252
Yatış Tanısı						
Hematolojik malignite		24	30	6	8,8	0,001
Onkolojik malignite		15	18	12	17,6	0,863
Santral patolojiler		7	8,8	5	7,4	0,756
İnfeksiyöz nedenler		4	5	8	11,8	0,133
Covid-19 pnömonisi		4	5	2	2,9	0,687
İntraabdominal patolojiler		9	11,3	15	22,1	0,075
Pulmoner patolojiler		4	5	4	5,9	1,000
Kardiyak patolojiler		4	5	5	7,4	0,733
Renal patolojiler		2	2,5	6	8,8	0,143
Travma		4	5	1	1,5	0,375
Diğer nedenler		3	3,8	4	5,9	0,703

(¹ Ort: ortalama SS: standart sapma ² VKİ: vücut kitle indeksi ³ YBÜ: yoğun bakım ünitesi ⁴ NRŞ: nöroşirurji ⁵ KVC: kalp damar cerrahi ⁶ Diğer birimler: romatoloji servisi, genel cerrahi servisi, üroloji servisi, göğüs hastalıkları servisi, enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji servisi, kardiyoloji servisi, ortopedi servisi, göğüs cerrahi servisi, dermatoloji servisi, fizik tedavi ve rehabilitasyon servisi)

Hastaların hastanede toplam yatış süresi ortalama 51,4±53,6 gün olarak bulundu. Bu süre, KDE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastalarda 52,8±60 gün, karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olanlarda 44,2±44,1 gün olarak saptandı. Her iki grup arasında hastanede yatış süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Hastaların 144 (%97,3)'ünün eşlik eden kronik hastalığı mevcuttu. Hipertansiyon (%48,0 n=71), solid malignite (%38,5 n=57), koroner arter hastalığı (KAH) (%33,8 n=50) ve diyabetes mellitus (DM) (%31,1 n=46) en yaygın görülen komorbiditelerdi. KDE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastaların %98,5'inde ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan gruptaki hastaların %96,3'ünde en az bir ek hastalık mevcuttu (p=0,625). İki grup görülen ek hastalıklar açısından karşılaştırıldığında KDE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastalarda kronik böbrek yetmezliği (KBY) görülme oranı (%22,1) istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek (**p=0,023**) ve akut myeloid lösemi (AML) görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşüktü (**p=0,021**) (**Tablo 5**).

Hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonu saptanması öncesi 90 gün içinde hastane yatış öyküsü KDE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastaların %50'sinde karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olanların ise %58,8'inde mevcuttu. İki grup arasında hastane yatış öyküsü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p=0,283).

İki grup kan kültürü örneklerinin alımı öncesindeki 30 gün içinde antibiyotik kullanımını açısından değerlendirildiğinde, antibiyotik kullanımı KDE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu (%97,1 n=66) olan grupta istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu (**p=0,002**).

Tablo 5. Ek hastalıklar ve antibiyotik kullanımının direnç gelişimine etkisi

	Karbapenem Duyarlı, n=80		Karbapenem Dirençli, n=68		p
	(n-%)		(n-%)		
Ek hastalık varlığı	77	96,3	67	98,5	0,625
Diyabetes Mellitus	22	27,5	24	35,3	0,307
Hipertansiyon	35	43,8	36	52,9	0,265
KAH ¹	28	35	22	32,4	0,734
KKY ²	12	15	13	19,1	0,505
KBY ³	7	8,8	15	22,1	0,023
Hemodiyaliz	6	7,5	9	13,2	0,249
Akciğer Hastalığı	4	5	2	2,9	0,527
KOAH ⁴	10	12,5	4	5,9	0,17
Splenektomi	1	1,3	4	5,9	0,12
Karaciğer Sirozu	0	0	2	2,9	0,209
Nörolojik Hastalık	17	21,3	14	20,6	0,921
AML ⁵	13	16,3	3	4,4	0,021
ALL ⁶	1	1,3	0	0	1,00
MDS ⁷	3	3,8	2	2,9	0,786
Lenfoma	9	11,3	3	4,4	0,129
Solid malignite	26	32,5	31	45,6	0,103
Son 90 günde hastane yatışı	40	50	40	58,8	0,283
Son 90 günde YBÜ ⁸ yatışı	13	16,3	14	20,6	0,496
Son 30 gün içinde antibiyotik kullanımı	64	80	66	97,1	0,002
Karbapenem	21	26,3	37	54,4	<0,001
Sefalosporin	37	46,3	36	52,9	0,417
Florokinolonlar	10	12,5	6	8,8	0,473
Metronidazol	0	0	1	1,5	0,459
Klindamisin	1	1,3	2	2,9	0,594
Glikopeptit	18	22,5	26	38,2	0,037
Betalaktam-betalaktamaz inhibitörü	28	35	31	45,6	0,190
Tigesiklin	16	20	16	23,5	0,603
Kolistin	1	1,3	5	7,4	0,061
TMP-SMX ⁹	8	10	6	8,8	0,807
Aminoglikozit	1	1,3	3	4,4	0,334

¹KAH: koroner arter hastalığı, ²KKY: konjestif kalp yetmezliği, ³KBY: kronik böbrek yetmezliği,

⁴KOAH: kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ⁵AML: akut myeloid lösemi, ⁶ALL: akut lenfoblastik lösemi, ⁷MDS: myelodisplastik sendrom, ⁸YBÜ: yoğun bakım ünitesi ⁹TMP/SMX: trimetoprim sulfometaksazol

Gruplar, kullanılan her bir antibiyotik sınıfı için karşılaştırıldığında, kan kültürü örneklerinin alımı öncesindeki 30 gün içinde karbapenem sınıfı (%54,4 n=37) ($p<0,001$) ve glikopeptit sınıfı (%38,2 n=26) ($p=0,037$) antibiyotiklerin kullanımı KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu (**Tablo 5**).

Kan kültürü örneklerinin alımı öncesi 30 gün içinde geçirilen invaziv işlemler, KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda (%75 n=51) karbapenem duyarlı kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalara göre (%52,5 n=42) istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti ($p=0,005$). Kan kültürü örneklerinin alımı öncesi 90 gün içinde geçirilen cerrahi işlem ve bakteriyeminin saptandığı hastane yatışında geçirilen acil cerrahi işlem iki grupta benzer oranlarda saptandı ($p>0,05$).

Hastalar kullanılan invaziv tıbbi cihazlar açısından değerlendirildiğinde KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastaların 60 (%88,2)'ında üriner katater, 40 (%58,8)'ında santral venöz katater mevcuttu. Santral venöz katateri bulunan hastaların kan kültür örneklerinin alındığı gün kataterizasyon süresi ortalama $79\pm335,0$ gün idi. İki grup karşılaştırıldığında üriner ve santral venöz katater varlığı ve katater günü, ürostomi ve kolostomi varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı oranda fark saptanmadı ($p>0,05$) (**Tablo 6**).

Hastalarda üreme saptanan kan kültürü örneklerinin alınması öncesi mekanik ventilatör desteği uygulanma oranlarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,373$).

Hastalar kan kültürü alınmadan önce verilen tedaviler açısından karşılaştırıldığında KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan hastaların 15 (%22,1)'i karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan hastaların 14 (%17,5)'ü parenteral beslenme desteği almakta idi ($p=0,486$). Kan kültürü alınması öncesi 14 gün içinde kan ürünü transfüzyonu sıklığı açısından KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar (%52,9 n=36) ile karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar (%55 n=44) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda fark saptanmadı ($p=0,802$).

Tablo 6. İnvaziv işlem geçirmenin, invaziv alet kullanımının ve laboratuvar bulgularının karbapenem direncine etkisi

	Karbapenem Duyarlı n=80		Karbapenem Dirençli n=68		p
	(n-%)	Medyan	(n-%)	Medyan	
Acil cerrahi	9	11,3	8	11,8	0,922
Son 90 gün içinde cerrahi öyküsü	27	33,8	21	30,9	0,71
Son 30 gün içinde invaziv işlem öyküsü ¹	42	52,5	51	75	0,05
İnvaziv cihaz varlığı					
Üriner katater	62	77,5	60	88,2	0,087
Ürostomi	2	2,5	2	2,9	1,00
Kolostomi	5	6,3	7	10,3	0,369
Santral venöz katater	43	53,8	40	58,8	0,535
Katater günü (ort±SS ²)	51,1 ± 117,6	12,5	79,0 ± 335,0	15,0	0,874
Mekanik ventilasyon	25	31,3	26	38,2	0,373
Antibiyotik dışı tedaviler					
Son 14 günde kan ürünü transfüzyonu	44	55	36	52,9	0,802
30 günden uzun süre > 5 mg prednizolon	10	12,5	2	2,9	0,034
30 günden uzun süre >20 mg prednizolon	10	12,5	4	5,9	0,170
Son 30 günde kemoterapi	29	36,3	13	19,1	0,021
Son 30 günde radyoterapi	9	11,3	0	0	1,000
Parenteral beslenme	14	17,5	15	22,1	0,486
Dekübit	5	6,3	11	16,2	0,053
Laboratuvar bulguları					
Nötropeni	24	30	10	14,7	0,028
Prokalsitonin (ng/ml) (ort±SS)	24,4 ± 35,9	6,1	18,9 ± 27,3	4,9	0,952
CRP ³ (mg/dl) (ort±SS)	153,0 ± 80,7	153,0	178,2 ± 99,2	163,0	0,162

(¹İnvaziv işlemler: endoskopik retrograd kolanjiyo pankreatografi (ERCP), endoskopi, kolonoskopi, katater takılması, perkütan endoskopik gastrotomi (PEG) açılması, trakeostomi, double j stent, nefrostomi açılması, ²ort: ortalama, SS: standart sapma, ³CRP: C-Reaktif protein)

KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda kültür alınmasından önceki 30 gün içinde 5 miligram/gün ve üzeri prednizolon ve eş değeri kortikosteroid tedavisini bir aydan daha uzun süre kullanan iki hasta (%2,9) (**p=0,034**) ve kemoterapötik ilaç uygulanan 13 hasta (%19,1) (**p=0,021**) mevcuttu. Karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalar ile karşılaştırıldığında bu tedavilerin uygulanma sıklığı KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda istatistiksel olarak düşük oranlarda saptandı.

Hastaların laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptananlarda ortalama CRP değeri 178,2±99,2 mg/dl ve ortalama prokalsitonin değeri 18,9±27,3 ng/ml olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda farklılık saptanmadı (**Tablo 6**). Laboratuvar sonuçlarında nötropeni görülme sıklığı KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastaların %14,7'sinde mevcut olup karbapenem duyarlı gruba göre istatistiksel olarak düşük oranlarda saptandı (**p=0,028**).

Hastalarda kan kültür üremesi tespit edildiği gün hesaplanan GKS, SOFA, PİTT bakteriyemi ve APACHEII skoru ve CKİ iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı olmayıp bu skorlar karbapenem direnç gelişimi ile ilişkilendirilmemiştir (**Tablo 7**).

Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde KDE ile kan dolaşımı infeksiyonlarının gelişimi ile ilişkili üç bağımsız risk faktörü saptandı. Bunlar KBY varlığı (**OR= 3,24; %95 GA= 1,09-9,66; p=0,035**), kan kültür örneklerinin alımı öncesi 30 gün içinde karbapenem sınıfı antibiyotiklerin kullanımı (**OR=4,12; %95 GA=1,91-8,92; p<0,001**) ve invaziv işlem öyküsünün olması (**OR=2,81; %95 GA=1,28-6,20; p=0,01**) idi (**Tablo 8**).

Çalışma döneminde kan dolaşımı infeksiyonu nedeniyle takip edilen hastalarda 14 günlük mortalite oranı 50/148 (%33,8) olarak bulundu. Karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* spp. ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta 14 günlük mortalite oranı 22/80 (%27,5), KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta ise 28/68 (%41,2) olarak saptandı. İzolatlarda karbapenem direncinin varlığı ve 14 günlük mortalite gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi (**p=0,08**).

Tablo 7. Olgularda prognoz takibinde kullanılan skorlamaların değerlendirilmesi

	Karbapenem Duyarlı n=80		Karbapenem Dirençli n=68		p	
	Ort±SS ¹	Medyan	Ort±SS	Medyan		
Glaskow Koma Skoru	11,1 ± 5,5	15,0	10,4 ± 5,6	15,0	0,397	
SOFA Skoru ²	5,6 ± 3,2	5,0	6,6 ± 3,8	6,0	0,220	
PİTT Skoru	2,7 ± 3,6	0,5	3,3 ± 3,7	2,0	0,274	
PİTT skoru <4	55	68,8	44	64,7	0,602	
(n-%) >4	25	31,3	24	35,3		
APACHEII Skoru ³	20,0 ± 9,3	17,5	22,1 ± 9,3	22,0	0,108	
APACHEII Skoru (n-%)	0-9	7	8,8	3	4,4	0,172
	10-19	40	50	27	39,7	
	>20	33	41,3	38	55,9	
CKİ ⁴	5,9 ± 2,9	5,0	5,9 ± 2,8	6,0	0,743	
CKİ (n-%)	1-2	7	8,8	7	10,3	0,517
	3-4	23	28,8	14	20,6	
	≥ 5	50	62,5	47	69,1	

¹Ort: ortalama, SS: standart sapma, ²SOFA: Ardışık organ yetmezliği değerlendirme skoru, ³APACHEII: Akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirilmesi, ⁴CKİ: Charlson komorbidite indeksi

Tablo 8. Karbapenem direnç gelişiminde risk faktörleri

	Tek Değişkenli Analiz			Çok Değişkenli Analiz		
	OR ¹	%95 GA ²	p	OR	%95 GA	p
KBY³	2,95	1,13 - 7,74	0,028	3,24	1,09 - 9,66	0,035
AML ⁴	0,24	0,06 - 0,87	0,031			
Son 30 gün içinde antibiyotik kullanımı	8,25	1,82 - 37,33	0,006			
Karbapenem kullanımı	3,35	1,68 - 6,68	0,001	4,12	1,91 - 8,92	<0,001
Glikopeptit kullanımı	2,13	1,04 - 4,37	0,039			
Son 30 gün içinde invaziv işlem öyküsü	2,71	1,34 - 5,48	0,005	2,81	1,28 - 6,20	0,010
Son 30 günde kemoterapötik kullanımı	0,42	0,19 - 0,89	0,023			
30 günden uzun süre >5 mg Prednizolon kullanımı	0,212	0,045 - 1,004	0,051			
Nötropeni	0,40	0,18 - 0,92	0,030			

¹OR: Odds oranı, ²GA: güven aralığı, ³KBY: kronik böbrek yetmezliği, ⁴AML: akut myeloid lösemi

Hastalarda 28 günlük mortalite oranı ise 72/148 (%48,6) olarak saptandı. Bakteriemi saptanması sonrası 28 gün içinde ölen ve sağ kalan hastalar mortalite ile ilişkili risk faktörleri açısından karşılaştırıldı (**Tablo 9**).

Tablo 9. Demografik özelliklerin mortaliteye etkisi

	Sağkalm (n=76)		Ölüm (n=72)		P
	n-%	Medyan	n-%	Medyan	
Yaş (yıl) (ort±SS)	63,5 ± 13,0	66,0	67,3 ± 13,3	70,0	0,056
Cinsiyet	Erkek	39 51,3	51 70,8		0,015
	Kadın	37 48,7	21 29,2		
VKİ (kg/m ²) (ort±SS)	26,1 ± 6,2	24,5	25,0 ± 5,8	24,2	0,344
Kan grubu	A Rh (+)	33 47,1	22 30,6		0,043
	A Rh (-)	2 2,9	4 5,6		0,424
	B Rh (+)	9 12,9	13 18,1		0,392
	B Rh (-)	1 1,4	0 0		0,493
	AB Rh (+)	9 12,9	7 9,7		0,555
	0 Rh (+)	15 21,4	24 33,3		0,112
	0 Rh (-)	1 1,4	2 2,8		1,000
	Takip edilen klinik	Servis	51 67,1	24 33,3	
YBÜ		25 32,9	48 66,7		
Servis yatış süresi gün(ort±SS)	10,2 ± 15,4	5,5	7,6 ± 16,2	0,0	0,004
YBÜ yatış süresi gün (ort±SS)	10,8 ± 27,9	0,0	19,9 ± 40,7	6,5	<0,001
Hastanede kalış süresi gün (ort±SS)	55,9 ± 58,1	35,0	39,9 ± 43,6	27,5	0,043

*ort: ortalama, SS: standart sapma, VKİ: vücut kitle indeksi, YBÜ: yoğun bakım ünitesi

Mortalite oranı KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta %60,3, karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta ise %38,8 olarak saptandı. İzolatlarda karbapenem direncinin bulunması 28 günlük mortalite ile ilişkili bulundu (**p=0,009**).

Ölen hastaların %70,8 (51)'i, sağ kalan hastaların ise %51,3 (39)'ü erkek olup, erkek cinsiyetin 28 günlük mortalite gelişimi ile istatistiksel olarak ilişkili olduğu saptandı (**p=0,015**). Ölen ve sağ kalan hastalar arasında yaş ortalaması ise anlamlı oranda farklı değildi.

Hastaların kan grubu dağılımlarına bakıldığında ölen hastalarda A Rh (+) kan grubu görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptandı (**p=0,043**) (**Tablo 9**).

Kan kültürü örneklerinin alınması sonrası 28 gün içinde ölen hastaların %66,7 (48)'si yoğun bakım ünitesinde takip edilmekte idi ve bu hastaların kan kültürü örneği alımı sırasında yoğun bakım yatış süresi ortalama $19,9 \pm 40,7$ gün olarak saptandı. Yoğun bakım ünitesinde takip edilen (**p<0,001**) ve kan kültürleri alınması sırasında yoğun bakım yatış süresi uzayan (**p<0,001**) hastalarda mortalite oranı istatistiksel olarak yüksek bulundu. Serviste takip edilen ve kan kültür örneği alımı sonrası 28 gün içinde ölen hastaların kültürleri alındığı sırada yatış süresi ortalama $7,6 \pm 16,2$ gün saptanmış olup servis yatış süresinin kısa olması mortalite gelişimi ile istatistiksel olarak ilişkili saptandı (**p=0,004**). Hastanede toplam yatış süresinin daha kısa olması da 28 günlük mortalite gelişimi ile ilişkili bulundu (**p=0,043**) (**Tablo 9**).

Ölen hastaların tümünde, sağ kalan hastaların ise %94,7'sinde en az bir ek hastalık mevcuttu. *Enterobacteriaceae* spp. ilişkili kan dolaşımı infeksiyonlarında ek hastalıkların varlığı 28 günlük mortalite gelişimi ile istatistiksel olarak ilişkili saptanmadı.

Ölen ve sağ kalan hastalarda kan kültürlerinin alınması öncesi 90 gün içinde hastane ve YBÜ yatış öyküsü benzer oranlarda görüldü.

Kan kültürlerinin alımı öncesi 30 gün içinde antibiyotik kullanım oranı ölen hastalarda %86,8 sağ kalan hastalarda ise %88,9 olarak saptandı (**p=0,703**) Kullanılan antibiyotik sınıflarına bakıldığında ise ölen hastalarda %37,5 (27) oranda glikopeptit sınıfı antibiyotik kullanımı olup sağ kalan hastalar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptandı (**p=0,044**) (**Tablo 10**).

Tablo 10. Ek hastalıklar ve antibiyotik kullanımının mortaliteye etkisi

	Sağkalım, n=76		Ölüm, n=72		p
	n	%	n	%	
Ek hastalık varlığı	72	94,7	72	100	0,120
Diyabetes mellitus	25	32,9	21	29,2	0,624
Hipertansiyon	36	47,4	35	48,6	0,880
KAH ¹	23	30,3	27	37,5	0,352
KKY ²	12	15,8	13	18,1	0,713
KBY ³	10	13,2	12	16,7	0,549
Hemodiyaliz	6	7,9	9	12,5	0,353
Akciğer Hastalığı	3	3,9	3	4,2	0,946
KOAH ⁴	6	7,9	8	11,1	0,504
Splenektomi	2	2,6	3	4,2	0,605
Karaciğer Sirozu	1	1,3	1	1,4	1,000
Nörolojik Hastalık	14	18,4	17	23,6	0,438
AML ⁵	10	13,2	6	8,3	0,345
ALL ⁶	0	0	1	1,4	0,486
MDS ⁷	1	1,3	4	5,6	0,154
Lenfoma	7	9,2	5	6,9	0,614
Solid malignite	27	35,5	30	41,7	0,443
Son 90 günde hastane yatışı	42	55,3	38	52,8	0,762
Son 90 günde YBÜ ⁸ yatışı	14	18,4	13	18,1	0,954
Son 30 gün içinde antibiyotik kullanımı	66	86,8	64	88,9	0,703
Karbapenem	27	35,5	31	43,1	0,348
Sefalosporin	39	51,3	34	47,2	0,619
Kinolon	9	11,8	7	9,7	0,678
Metronidazol	0	0	1	1,4	0,486
Klindamisin	1	1,3	2	2,8	0,612
Glikopeptit	17	22,4	27	37,5	0,044
Betalaktam-Laktamaz	27	35,5	32	44,4	0,268
Tigesiklin	12	15,8	20	27,8	0,077
Kolistin	3	3,9	3	4,2	0,946
Trimetoprim-sulfometaksazol	5	6,6	9	12,5	0,219
Aminoglikozit	2	2,6	2	2,8	1,000

¹KAH: koroner arter hastalığı, ²KKY: konjestif kalp yetmezliği, ³KBY: kronik böbrek yetmezliği, ⁴KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ⁵AML:akut myeloid lösemi, ⁶ALL:akut lenfoblastik lösemi, ⁷MDS: myelodisplastik sendrom, ⁸YBÜ:yoğun bakım ünitesi

Ölen hastalarda kan kültürlerinin alınması öncesi acil cerrahi işlem %15,3, 90 gün öncesi elektif cerrahi işlem öyküsü %36,1 ve kan kültürlerinin alınması öncesi 30 gün içinde invaziv işlem geçirme öyküsü %66,7 oranda saptandı ve bu faktörler ile mortalite arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmadı (**Tablo 11**).

Tablo 11. İnvaziv işlem geçirmenin, invaziv alet kullanımının ve uygulanan tedavilerin mortaliteye etkisi

	Sağkalım, n=76		Ölüm, n=72		p
	(n-%)	Medyan	(n-%)	Medyan	
Acil cerrahi	6	7,9	11	15,3	0,159
Son 90 gün içinde cerrahi öyküsü	22	28,9	26	36,1	0,352
Son 30 gün içinde invaziv işlem öyküsü	45	59,2	48	66,7	0,348
İnvaziv cihaz varlığı					
Üriner katater	55	72,4	67	93,1	0,001
Ürostomi	73	96,1	71	98,6	0,62
Kolostomi	8	10,5	4	5,6	0,268
Santral venöz katater	39	51,3	44	61,1	0,230
Katater günü(ort±SS ¹)	98,9 ± 349,9	14,0	32,6 ± 50,6	14,5	0,335
Mekanik Ventilasyon	16	21,1	35	48,6	<0,001
Antibiyotik dışı tedaviler					
Son 14 günde kan ürünü transfüzyonu	39	51,3	41	52,9	0,492
30 günden uzun süre > 5 mg prednizolon	5	6,6	7	9,7	0,484
30 günden uzun süre >20 mg prednizolon	6	7,9	8	11,1	0,504
Son 30 günde kemoterapi	26	34,2	16	22,2	0,106
Son 30 günde radyoterapi	0	0	1	1,4	0,486
Parenteral beslenme	9	11,8	20	27,8	0,015
Dekübit	6	7,9	10	13,9	0,240
Laboratuvar bulguları					
Nötropeni	18	23,7	16	22,2	0,833
Prokalsitonin (ng/ml) (ort±SS)	22,1 ± 34,3	4,6	22,2 ± 31,0	8,4	0,446
CRP ² (mg/dl) (ort±SS)	151,5 ± 77,8	153,0	178,4 ± 100,5	168,5	0,108
Bakteriyemi saptanması sonrası üç gün içinde etkin ampirik tedavi	66	86,8	52	72,2	0,027

¹ort: ortalama, SS: standart sapma, ²CRP: C-Reaktif protein

Ölen hastaların %93,1 (67)'i bakteriyemi saptandığı sırada üriner katater ile takip edilmekte olup istatistiksel olarak üriner katater 28 günlük mortalite ile ilişkili saptandı (**p=0,001**). Ürostomi, kolostomi ve santral venöz katater her iki grupta da benzer oranlarda mevcuttu.

Bakteriyemi saptandığı sırada mekanik ventilatör desteği verilme oranı ölen hastalarda %48,6 (35/72) olarak saptanmış olup mekanik ventilatör desteği ve mortalite ilişkili bulundu (**p<0,001**) (**Tablo 11**).

Parenteral beslenme oranı ölen hastalarda (%27,8) istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti (**p=0,015**). Hastalarda kan ürünü transfüzyon sıklığı, sistemik steroid tedavisi alma oranı, kemoterapötiklerin uygulanma oranı ve radyoterapi uygulanma oranı ölen ve sağ kalan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı değildi.

Bakteriyemi tespit edilen kan kültürlerinin alınması sonrası üç gün içerisinde etkin ampirik tedavi başlanma oranı ölen hastalarda %72,2 (52) olarak saptanmış olup sağ kalan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptandı (**p<0,001**) (**Tablo 11**).

Hastaların bakteriyemi saptandığı gün ilk değerlendirmeleri sırasında hesaplanan GKS'si ölen hasta grubunda ortalama $8,8\pm 5,7$ olup sağ kalan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük değerde olduğu görüldü (**p<0,001**). Ölen hastalarda ortalama Fio2 $\%42\pm 12$, ortalama SOFA skoru $7,9\pm 3,6$, ortalama PİTT bakteriyemi skoru $4,3\pm 4,1$ ve ortalama APACHEII skoru $25\pm 9,2$ olarak hesaplandı. Bu skorlar sağ kalan hastalara göre ölen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek değerlerde hesaplandı (**p<0,001**) Pitt bakteriyemi skorunun >4 olması ve APACHEII skorunun >20 olması 28 günlük mortalite ile ilişkili saptandı (**Tablo 12**).

Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde *Enterobacteriaceae* ile kan dolaşımı enfeksiyonlarında 28 günlük mortalite gelişimi açısından tek bağımsız risk faktörü yüksek SOFA skoru (**OR= 1,48; %95 GA= 1,29-1,70; p<0,001**) olarak bulundu (**Tablo 13**).

Tablo 12. Prognoz takibinde kullanılan parametrelerin mortaliteye etkisi

	Sağkalım (n=76)		Ölüm (n=72)		p	
	Ort±SS ¹	Medyan	Ort±SS	Medyan		
Glaskow Koma Skoru	12,7 ± 4,7	15.0	8,8 ± 5,7	8.5	<0,001	
SOFA Skoru ²	4,3 ± 2,4	4.0	7,9 ± 3,6	8.0	<0,001	
PİTT Skoru	1,7 ± 2,6	0.0	4,3 ± 4,1	3.0	<0,001	
PİTT Skoru (n-%)	<4	61	80,3	38	52,8	<0,001
	>4	15	19,7	34	47,2	
APACHEII ³ Skoru	17,1 ± 7,8	14.0	25,0 ± 9,2	24.0	<0,001	
APACHEII Skoru (n-%)	0-9	9	11,8	1	1,4	<0,001
	10-19	46	60,5	21	29,2	
	> 20	21	27,6	50	69,4	
Charlson komorbidite indeksi	5,5 ± 2,8	5.0	6,3 ± 2,9	6.0	0,075	

¹Ort: ortalama, SS: standart sapma, ²SOFA: Ardışık organ yetmezliği değerlendirme skoru, ³APACHEII: Akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirmesi

Tablo 13. Mortalite risk faktörlerinin değerlendirilmesi

	Tek Değişkenli Analiz			Çok Değişkenli Analiz		
	OR ¹	% 95 GA ²	p	OR	% 95 GA	p
Erkek cinsiyet	0,43	0,22 - 0,86	0,016			
YBÜ' de ³ takip	0,85	0,78 - 0,92	< 0,001			
Ertapenem direnci	2,40	1,24 - 4,65	0,010			
Meropenem direnci	2,93	1,53 - 5,62	0,001			
İmipenem direnci	2,70	1,53 - 4,77	0,001			
Glikopeptit kullanımı	2,08	1,01 - 4,28	0,046			
Üriner katater varlığı	5,12	1,81 - 14,45	0,002			
Mekanik Ventilasyon desteği	3,55	1,73 - 7,28	0,001			
Parenteral beslenme	2,86	1,20 - 6,81	0,017			
FİO ₂	3628	124 - 106147	< 0,001			
GKS ⁴	0,87	0,82 - 0,93	< 0,001			
SOFA Skoru⁵	1,48	1,29 - 1,70	< 0,001	1,48	1,29 - 1,70	< 0,01
PİTT bakteriyemi skoru	3,64	1,75 - 7,55	0,001			
APACHEII skoru ⁶	5,05	2,63 - 9,69	< 0,001			
Bakteriyemi saptanması sonrası üç gün içinde etkin ampirik tedavi	0,39	0,17 - 0,91	0,030			

¹OR: Odds oranı, ²GA: güven aralığı, ³YBÜ: yoğun bakım ünitesi, ⁴GKS: Glaskow koma skoru, ⁵SOFA: Ardışık organ yetmezliği değerlendirme skoru, ⁶APACHEII: Akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirmesi

Çalışmaya alınan hastalardan izole edilen etkenlerin mikrobiyolojik özellikleri incelendiğinde etkenlerden 75'inin *K. pneumoniae*, 59'unun *E. coli*, dokuzunun *E. cloacae*, ikisinin *E. aerogenes* ve üçünün *K. oxytoca* olduğu görüldü. *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarında karbapenem direnç oranı %46 olarak saptandı.

KDE izolatlarının 48 (%70,6)'i *K. pneumoniae*, 15 (%22,1)'i *E. coli*, üçü (%4,4) *E. cloacae*, biri *K. oxytoca* ve biri *E. aerogenes* olarak saptandı. Karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarının ise 44 (%55)'ü *E. coli*, 27 (%33,8)'si *K. pneumoniae*, altısı (%7,5) *E. cloacae*, ikisi *K. oxytoca* ve biri *E. aerogenes* olarak saptandı. KDE ile kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda karbapenem duyarlı gruba göre *K. pneumoniae* suşları istatistiksel olarak yüksek oranda ($p<0,001$) ve *E. coli* suşları istatistiksel olarak düşük oranda ($p<0,001$) görüldü. *K. pneumoniae* izolatları arasında karbapenem direnç oranı %64, *E. coli* izolatlarında ise %25,4 idi (**Tablo 14**).

Tablo 14. *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarının tür düzeyinde dağılımı

	Karbapenem duyarlı (n-%)		Karbapenem dirençli (n-%)		p değeri
<i>K. pneumoniae</i>	27	33,8	48	70,6	<0,001
<i>E. coli</i>	44	55	15	22,1	<0,001
<i>E. cloacae</i>	6	7,5	3	4,4	1,000
<i>E. aerogenes</i>	1	1,3	1	1,5	0,908
<i>K. oxytoca</i>	2	2,5	1	1,5	1,000

EUCAST MİK sınır değerlerine göre belirlenen antibiyogram sonuçlarında KDE izolatlarının tümü (%100) ertapeneme, 47 (%69,1)'si meropeneme, 46 (%67,6)'sı imipeneme dirençli saptandı (**Tablo 15**). KDE izolatlarında duyarlılık oranı en yüksek antibiyotikler sırayla kolistin (%92,6), amikasin (%73,5), trimetoprim sulfometaksazol (%39,7) olarak, direnç oranı en yüksek antibiyotikler ise sıra ile ertapenem (%100), sefepim (%95,6), seftazidim (%92,6) olarak saptandı.

Karbapenem direnci saptanan 82 izolat incelendiğinde en fazla oranda *K. pneumoniae* (%72 n=59) saptandı. Kan kültüründen, KDE ile birlikte birden fazla etken izole edilen 14 (%17) hasta mevcuttu. Bu etkenlerin %42,9 (6)'u *P. aeruginosa*, %14,3 (2)'ü *Candida Albicans*, %14,3 (2)'ü *Enterococcus faecium* idi (**Tablo 16**).

Tablo 15. *Enterobacteriaceae* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları

		Karbapenem Duyarlı, n=80		Karbapenem Dirençli, n=68		P değeri
		(n-%)	(n-%)	(n-%)	(n-%)	
Ertapenem	Duyarlı	80	100	0	0	<0,001
	Dirençli	0	0	68	100	
Meropenem	Duyarlı	80	100	16	23,5	<0,001
	Dirençli	0	0	47	69,1	
	YDD*	0	0	5	7,4	
İmipenem	Duyarlı	76	95	14	20,6	<0,001
	Dirençli	0	0	46	67,6	
	YDD	4	5	8	11,8	
Levofloksasin	Duyarlı	37	46,3	7	10,3	<0,001
	Dirençli	33	41,3	59	86,8	
	YDD	10	12,5	2	2,9	
Kolistin	Duyarlı	80	100	63	92,6	0,014
	Dirençli	0	0	5	7,4	
Amikasin	Duyarlı	78	97,5	50	73,5	<0,001
	Dirençli	2	2,5	18	26,5	
Trimetoprim/Sulfometaksazol	Duyarlı	37	46,3	27	39,7	0,423
	Dirençli	43	53,8	41	60,3	
Siprofloksasin	Duyarlı	31	38,8	6	8,8	<0,001
	Dirençli	39	48,8	61	89,7	
	YDD	10	12,5	1	1,5	
Sefepim	Duyarlı	39	48,8	1	1,5	<0,001
	Dirençli	30	37,5	65	95,6	
	YDD	11	13,8	2	2,9	
Seftazidim	Duyarlı	37	46,3	1	1,5	<0,001
	Dirençli	33	41,3	63	92,6	
	YDD	10	12,5	4	5,9	

*YDD: yüksek dozda duyarlı

KDE izolatlarının %35,4 (29) 'ünde tek başına *bla*_{OXA-48}, %15,9 (13) 'unda tek başına *bla*_{NDM-1} ve %30,5 (25)'inde *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif saptandı. İzolatların %18,2 (15)'sinde her iki karbapenemaz geni de saptanmadı. İzolatlardan elde edilen Real-Time PCR analizleri, pozitif ve negatif kontrollerin sigmoidal eğrileri **şekil 2**'de belirtilmiştir.

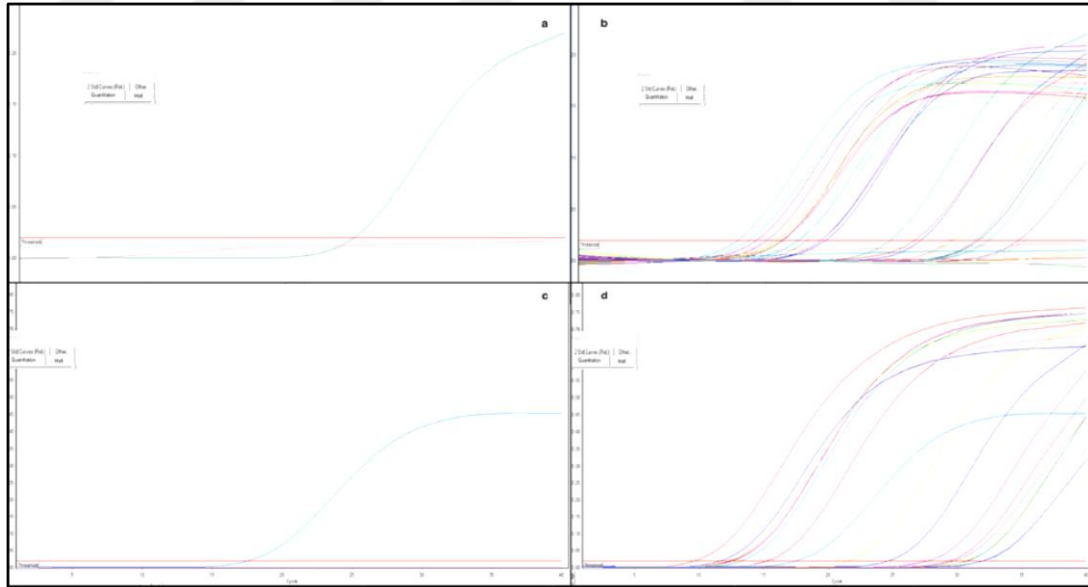
Enterobacteriaceae türlerinde karbapenemaz direnç genlerinin dağılımına bakıldığında *K. pneumoniae* izolatlarında en fazla oranda (n=23 %39) *bla*_{OXA-48} ve *bla*

NDM-1 birlikte pozitif, *E. coli* izolatlarında ise en fazla oranda (n=10 %58,8) *bla*_{OXA-48} pozitif olduğu görüldü (**Tablo 17**).

Tablo 16. KDE izolatlarının tür düzeyinde dağılımı

	n	%	
Etken	<i>K. pneumoniae</i>	59	72
	<i>E. coli</i>	17	20,7
	<i>E. cloacea</i>	4	4,9
	<i>K. oxytoca</i>	1	1,2
	<i>E. aerogenes</i>	1	1,2
Eş zamanlı üreme	(yok)	68	82,9
	(var)	14	17,1
	<i>Candida albicans</i>	2	14,3
	<i>Candida parapsilosis</i>	1	7,1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	7,1
	<i>Enterococcus faecium</i>	2	14,3
	<i>Enterococcus spp.</i>	1	7,1
	<i>GSBL+E. coli</i>	1	7,1
	<i>P. aeruginosa</i>	6	42,9

*GSBL: Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar



Şekil 2. Real-time PCR ile elde edilen döngü eşik değerlerinin (CT) sigmoidal eğrileri

a: *bla*_{OXA-48} pozitif kontrol ve negatif kontrol b: Real-time PCR çalışılan izolatların *bla*_{OXA-48} için mikrobiyal profilleri c: *bla*_{NDM-1} için pozitif ve negatif kontrol d: Real-time PCR çalışılan izolatların *bla*_{NDM-1} için mikrobiyal profilleri

Tablo 17. Karbapenemaz direnç genlerinin etkenlere göre dağılımı

	Toplam sayı	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>bla</i> _{OXA-48+} <i>bla</i> _{NDM-1}	Gen saptanmayan
<i>K.pneumoniae</i> (n-%)	59	19 (32,2)	8 (13,6)	23 (39)	9 (15,3)
<i>E. coli</i> (n-%)	17	10 (58,8)	2 (2,7)	1 (5,9)	4 (23,5)
<i>E. cloacae</i> (n-%)	4	-	3 (75)	1 (25)	-
<i>E. aerogenes</i> (n-%)	1	-	-	-	1 (100)
<i>K. oxytoca.</i> (n-%)	1	-	-	-	1 (100)

KDE izolatları saptanan genlere göre gruplandırılarak antibiyotik duyarlılıkları karşılaştırıldı (**Tablo 18**).

Amikasin direnci *bla*_{OXA-48} geni pozitif olan suşların birinde (%3,4) görülmüş olup diğer KDE izolatlarına göre istatistiksel olarak düşük oranda saptandı (**p=0,001**).

Seftazidim direnci *bla*_{OXA-48} pozitif izolatların %82,8'inde, *bla*_{NDM-1} pozitif ve gen saptanmayan izolatların tümünde ve her iki gen birlikte pozitif saptanan izolatların %96'sında görüldü. *bla*_{OXA-48} pozitif izolatlarda diğer KDE izolatlarına göre seftazidim direncinin istatistiksel olarak daha düşük oranda olduğu görüldü (**p=0,036**). Tek başına *bla*_{NDM-1} pozitif saptanan izolatlarla diğer KDE izolatları karşılaştırıldığında antibiyotik duyarlılık oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

*bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif saptanan izolatlar diğer KDE izolatları ile karşılaştırıldığında amikasin, trimetoprim-sulfometaksazol, seftalozan-tazobaktam, meropenem-vaborbaktam direnç oranlarında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} pozitif izolatlar (n=12 %48) diğer KDE izolatları ile karşılaştırıldığında (n=9 %15,8) amikasin direnç oranları istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptandı (**p=0,002**).

Trimetoprim-sulfometaksazol direnci her iki karbapenemaz geninin saptandığı izolatların 21 (%84)'inde görülmüş olup diğer KDE izolatlarına göre istatistiksel olarak yüksek oranda direnç saptandı (**p=0,005**).

Tablo 18. İzolatlarda karbapenemaz genlerine göre antibiyotik duyarlılıkları

		<i>bla</i> _{OXA-48} n=29		<i>bla</i> _{NDM-1} n=13		<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM-1} n=25		Gen saptanmayan n=15	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Ertapenem	Duyarlı	0	0	0	0	0	0	0	0
	Dirençli	29	100	13	100	25	100	15	100
Meropenem	Duyarlı	9	31	2	15,4	3	12	4	27
	YDD ¹	4	13,8	0	0	1	4	1	7
	Dirençli	16	55	11	84,6	21	84	10	67
İmipenem	Duyarlı	7	24,1	2	15,4	2	2	5	33
	YDD	5	17,2	0	0	3	12	1	7
	Dirençli	17	58,6	11	84,6	20	80	9	60
Levofloksasin	Duyarlı	2	6,9	2	15,4	1	4	2	13
	YDD	0	0	1	7,7	0	0	1	7
	Dirençli	27	93,1	10	76,9	24	96	12	80
Siprofloksasin	Duyarlı	1	3,4	2	15,4	1	4	2	13,3
	YDD	1	3,4	0	0	0	0	0	0
	Dirençli	27	93,1	11	85	24	96	13	86,7
Kolistin	Duyarlı	27	93,1	12	92,3	21	84	15	0
	Dirençli	2	6,9	1	7,7	4	16	0	0
Amikasin	Duyarlı	28	96,6	7	53,8	13	52	13	86,7
	Dirençli	1	3,4	6	46,2	12	48	2	13,3
TMP/SMX ²	Duyarlı	15	51,7	5	38,5	4	16	8	53,3
	Dirençli	14	48,3	8	61,5	21	84	7	46,7
Sefepim	Duyarlı	1	3,4	0	0	0	0	0	0
	YDD	0	0	1	7,7	1	4	0	0
	Dirençli	28	96,6	12	92,3	24	96	15	100
Seftazidim	Duyarlı	1	3,4	0	0	0	0	0	0
	YDD	4	13,8	0	0	1	4	0	0
	Dirençli	24	82,8	13	100	24	96	15	100
Seftalozan-tazobaktam	Duyarlı	5	17,2	1	7,7	0	0	5	33,3
	Dirençli	24	82,8	12	92,3	25	100	10	66,7
Meropenem-vaborbaktam	Duyarlı	15	51,7	7	53,8	6	24	13	86,7
	Dirençli	14	48,3	6	46,2	19	76	2	13,3

¹YDD: yüksek dozda duyarlı, ²TMP/SMX: trimetoprim sulfometaksazol

KDE infeksiyonlarında güncel tedavi seçeneklerinden olan seftalozan tazobaktam ve meropenem vaborbaktam duyarlılıkları saptanan karbapenemaz direnç genlerine göre incelendi. KDE izolatlarında seftalozan-tazobaktam direnç oranı %86,5 olarak saptandı. Seftalozan-tazobaktam direnci tek başına *bla*_{OXA-48} geni pozitif olan izolatların 24 (%82,8)'ünde saptanmış olup diğer izolatlar ile karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu (p=0,507). Her iki karbapenemaz geninin birlikte pozitif saptandığı suşların ise tümünde (%100, n=25) seftalozan-tazobaktam

direnci görülmüş olup diğer suşlara göre istatistiksel olarak yüksek oranda saptandı (**p=0,016**).

Meropenem-vaborbaktam direnci KDE izolatlarının %50'sinde görüldü. Saptanan genlere göre değerlendirildiğinde ise tek başına *bla*_{OXA-48} pozitif saptanan izolatların 14 (%48,3)'ünde meropenem-vaborbaktam direnci görülmüş olup diğer KDE izolatları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak fark yoktu (p=0,817). Her iki gen birlikte pozitif saptanan izolatların 19 (%76)'unda meropenem-vaborbaktam direnci görülmüş olup diğer KDE izolatlarına göre istatistiksel olarak yüksek oranda direnç mevcuttu (**p=0,002**). Duyarlılık oranı en yüksek olan izolatlar ise *bla*_{OXA-48} veya *bla*_{NDM-1} karbapenemaz genleri saptanmayanlar (%86,7) idi.

İzolatlarda saptanan genler karbapenem duyarlılıklarına göre değerlendirildi. Tek başına *bla*_{OXA-48} pozitif saptananların %41,4'ü, tek başına *bla*_{NDM-1} pozitif saptananların %15,4'ü, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif saptananların %16'sı sadece ertapenem dirençli idi. Gen saptanmayanların ise %60'ı üç karbapeneme de dirençliydi (**Tablo 19**).

Tablo 19. İzolatlarda saptanan karbapenem dirençlerine göre karbapenemazların dağılımı

	<i>bla</i> _{OXA-48}			<i>bla</i> _{NDM-1}			<i>bla</i> _{OXA-48+bla} _{NDM-1}			Gen saptanmayan		
	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%	p
Ertapenem dirençli	12	41,4	0,05	2	15,4	0,33	4	16	0,108	5	33,2	0,75
Ertapenem ve meropenem/imipenem dirençli	1	3,4	1,00	0	0	1,00	1	4	1,00	1	6,7	0,46
Üç karbapeneme de dirençli	16	55,2	0,06	11	84,6	0,21	20	80	0,131	9	60	0,54

Kan kültüründe KDE izole edilen hastalar saptanan gen profiline göre gruplandırılarak mortalite oranları karşılaştırıldı. Gruplar arasında bakteri izolasyonu sonrası 14 ve 28 gün içinde görülen mortalite oranları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (**Tablo 20**).

Tablo 20. KDE izole edilen hastalarda karbapenemaz gen profillerine göre mortalite oranları

	<i>bla</i> _{OXA-48}			<i>bla</i> _{NDM-1}			<i>bla</i> _{OXA-48+} <i>bla</i> _{NDM-1}			Gen saptanmayanlar		
	n	%	p	n	%	p	n	%	p	n	%	p
14 günlük mortalite	11	38	0,852	5	39	0,878	9	36	0,942	5	33	0,772
28 günlük mortalite	15	52	0,555	7	54	0,858	15	60	0,637	9	60	0,736

5. TARTIŞMA

KDE ilişkili infeksiyonlar son yıllarda giderek artmaktadır. KDE izolatlarında direncin yayılmasında en önemli mekanizma ise mobil genetik elemanlar ile karbapenamaz enzim genlerinin aktarılmasıdır (63). Karbapenam direncinin özellikle karbapenamaz genleri ile yayılmasının önlenmesinde infeksiyon kontrolü önem arz etmektedir. Sınırlı tedavi seçeneği bulunan bu etkenler aynı zamanda yüksek oranda mortaliteye neden olmaktadır (100). Bu çalışmada, bir üniversite hastanesinde 17 aylık süreçte *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu tanısıyla takip edilen hastalar prospektif olarak izlendi. Hastalarda karbapenam direnç gelişimi ve mortalite açısından risk faktörleri değerlendirildi ve Real-time PCR ile *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} karbapenamaz genleri belirlendi.

Türkiye’de 2015 yılında yapılan benzer bir çalışmada *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenam direnç oranı %4,62 oranında saptanırken, 2019-2020 yıllarında yapılan çalışmalarda sırasıyla %49,7 ve %46,1 olarak bulunmuştur (6,101,102). Bu çalışmada da benzer şekilde karbapenam direnç oranı %46 olarak saptandı. Bu durum son beş yıl içinde Türkiye’ de *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenam direncinin arttığını ve önemli bir sorun haline geldiğini göstermektedir.

Türkiye’de yapılan diğer çalışmalar ile benzer şekilde bu çalışmada *K. pneumoniae* izolatlarında (48/75, %64), *E.coli* izolatlarına göre (15/59, %25,4) daha yüksek oranda karbapenam direnci tespit edilmiştir (101,103). Türkiye’de 2013-2014 yılları arasında *K. pneumoniae* izolatlarında %3,1-%7,5 oranında karbapenam direnci saptanırken, 2016 ve 2020 yıllarında bu oranın sıra ile %29,5 ve %48,2 olduğu görülmüştür. *E. coli* izolatlarında ise 2016 yılında %3,1 ve 2020 yılında %3,7 oranında karbapenam direnci saptanmıştır (102,104). Bu çalışmadaki veriler Türkiye’de karbapenam direncinin *K. pneumoniae* izolatlarında arttığını gösteren önceki sonuçları destekler niteliktedir.

Kan kültürlerinden izole edilen suşlar antimikrobiyal duyarlılık profilleri açısından incelendiğinde KDE izolatlarında daha önceki çalışmalar ile tutarlı olarak duyarlılık oranı en yüksek antibiyotikler sırası ile kolistin (%92,6), amikasin (%73,5), trimetoprim sulfometaksazol (%39,7) olarak saptandı (100,105). KDE ilişkili

infeksiyonların tedavisinde önerilen birçok güncel antibiyotik seçeneği bulunmaktadır. Bununla birlikte bu antibiyotikler yaygın olarak kullanılamamakta ve halen kolistin, amikasin, trimetoprim sulfometaksazol, fosfomisin, tigesiklin gibi ajanlar temel tedavide tercih edilmektedir (106).

Çalışmadaki hastalar karbapenem direncine etki eden demografik özellikler açısından değerlendirildiğinde; karbapenem direnci saptanan hastalar ile saptanmayan hastalar arasında literatürle uyumlu olarak cinsiyet, yaş dağılımı ve yaş ortalaması açısından anlamlı fark bulunmadı (100,105).

Çalışmalarda hastaların yatmakta oldukları klinikler ve yatış süreleri değerlendirildiğinde yoğun bakım ünitesinde yatmakta olan hastalarda ve yatış süresi uzayanlarda daha yüksek oranda karbapenem direnci görülmüştür (107,108). Bu çalışmada da benzer şekilde yoğun bakım ünitesinde yatmakta olan hastalarda karbapenem direnci daha yüksek oranda (37/68, %54,4) görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı zamanda hastaların hastaneye kabulünden karbapenem dirençli izolatların tespitine kadar geçen süre ve hastanede toplam kalış süresi karbapenem direnci ile ilişkili saptanmamıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların yüksek oranda komorbid hastalıklarının bulunması ve yaş ortalamalarının yüksek (65,9±13,9 yıl) olmasının infeksiyondan bağımsız şekilde hastane ve yoğun bakım ünitesine yatışa neden olabileceği ayrıca hastanede kalış süresini etkileyebileceği düşünülmüştür.

Yoğun bakım ünitesi dışında yataklı servislerde yatmakta olan hastalar değerlendirildiğinde; gastroenteroloji servisinde yatan hastalarda anlamlı oranda yüksek karbapenem direnci (12/68, %17,6) saptanmıştır. Literatürde de benzer şekilde hepatobiliyer cerrahi kliniğinde karbapenem direnci yüksek oranlarda (%17) saptanmış, ERCP ve endoskopi yapılması ve pankreatit gibi intraabdominal patolojilerin bulunması KDE infeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur (108–110). Bu durumun *Enterobacteriaceae* üyelerinin safra yolu florasında bulunması, ayrıca bu hasta grubunda sık antibiyotik kullanımı ve sık hastane yatışı olması sonucu bu suşların direnç kazanmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Daha önceki çalışmalarda hematolojik malignitelerin bulunması karbapenem direnci için bir risk

faktörü olarak tanımlanmış olmakla birlikte, bu çalışmada hematoloji servisinde yatış oranı, hematolojik malignite varlığı, AML bulunması ve kemoterapötik alma öyküsü KDE izole edilen hastalarda istatistiksel olarak düşük oranlarda saptanmıştır (105,111). Çok değişkenli regresyon analizinde ise bu değişkenler karbapenem direnci ile ilişkili saptanmamıştır. Bu durumun merkezimizde hematolojik malignite ile takipli hastalarda temas ve izolasyon önlemlerine daha çok dikkat edilmesi nedeni ile olabileceği düşünülmüştür.

Enterobacteriaceae infeksiyonlarında hematolojik maligniteler, kronik böbrek yetmezliği, karaciğer siroz öyküsü, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar gibi birçok komorbid hastalık direnç risk faktörü olarak tanımlanmıştır (100,108,112). Hastaların %94,7' si gibi yüksek bir oranında en az bir ek hastalık mevcut olması nedeni ile tanımlanan bu risk faktörlerinin bu çalışmada anlamlı fark oluşturmadığı düşünülmüştür. Ancak kronik böbrek yetmezliği varlığı KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde diğer çalışmalara benzer olarak karbapenem direnci için bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır (111,113). Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda kalıcı vasküler ve üriner kataterlerin varlığı, hemodiyaliz, renal transplantasyon, sık antibiyotik kullanımı ve hastane yatışının bulunması gibi antibiyotiklere dirençli etkenler ile kolonizasyon ve infeksiyon riskini artıran birçok faktör bulunmaktadır (114). Bu çalışma ile de kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda KDE ilişkili infeksiyonlara yakınlık olduğu gösterilmiştir.

KDE'ler hastane ortamında daha fazla oranda bulunması ve infeksiyon kontrol önlemlerine uyulmaması durumunda hızla yayılabilmeleri nedeni ile nozokomiyal etkenler arasında önemli bir yere sahiptir. Literatürde infeksiyon saptanması öncesi yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü karbapenem direnci için bağımsız bir risk faktörü olarak saptanmıştır (111,115,116). Bu çalışmada hastane ve yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsünün olması karbapenem direnci ile ilişkili bulunmamıştır.

Çalışmalarda antibiyotik kullanımı karbapenem direnci için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Antibiyotik sınıflarına ayrı ayrı bakıldığında karbapenemlerin, sefalosporinlerin, betalaktam-betalaktamaz inhibitörlerinin, florokinolonlar ve

aminoglikozitlerin kullanımının karbapenem direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (108,112,117,118). Ayrıca bazı çalışmalarda glikopeptitlerin kullanımı da bağımsız risk faktörü olarak bildirilmiştir (113,115,119). Bu çalışmada KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda kan kültür örneklerinin alımı öncesi antibiyotik kullanım oranı %97,1 olarak saptanmıştır. Bu durum karbapenem direnç gelişimi için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kullanılan antibiyotikler ayrı ayrı değerlendirildiğinde karbapenem ve glikopeptit sınıfı antibiyotiklerin kullanımı tek değişkenli analizde karbapenem direnci ile ilişkili bulunmuştur. Çok değişkenli regresyon analizinde karbapenem sınıfı antibiyotiklerin kullanımı karbapenem direnç gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak saptanmıştır. Bu durum, giderek artan KDE infeksiyonlarının önlenmesinde akılcı antimikrobiyal kullanımının önemli olduğunu düşündürmüştür.

Literatürde invaziv işlem öyküsü bulunması karbapenem direnç gelişimi için risk faktörü olarak tanımlanmış olup benzer şekilde bu çalışmada da karbapenem dirençli izolatların tespit edildiği hastalarda invaziv işlem oranları istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptandı (108,113,120). Çok değişkenli regresyon analizi sonucunda da invaziv işlem öyküsü karbapenem direnci için bağımsız risk faktörü olarak bulundu. Yapılan bir çalışmada karbapenem direnci için tanımlanan diğer bir risk faktörü olan cerrahi işlem öyküsü ise bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (105). *Enterobacteriaceae* ilişkili infeksiyonların kontrolünde, gereksiz invaziv işlemlerden kaçınılması, yapılan işlemlerde steriliteye dikkat edilmesi ve horizontal yayılımın önlenmesinde sağlık personelinin bilgilendirilmesi önemlidir.

Çalışmalarda üriner katater ve santral venöz katater varlığı, mekanik ventilasyon desteği gibi invaziv tıbbi cihazların kullanımı, kan kültürü alımı öncesinde kan ürünü transfüzyonu, sistemik steroid tedavisi ve parenteral beslenme, karbapenem direnci için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır (113,117,121). Bu çalışmada ise kullanılan invaziv tıbbi cihazlar ve uygulanan tedaviler ile karbapenem direnci gelişimi arasında direkt bir ilişki saptanmamıştır. Sistemik steroid tedavisi benzer çalışmaların aksine KDE ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu bulunan hastalarda istatistiksel olarak düşük oranda saptanmıştır (112,117). Sistemik steroid tedavilerinin karbapenem direnci ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte bu

ajanların infeksiyon kontrolünde olumsuz etkisi bulunan immün yanıtı inhibe ettiği bilinmektedir (105). Bu ajanlar kılavuzlar tarafından sepsis tedavisinde de önerilmektedir (122). Bununla birlikte KDE ilişkili sepsis tablosunda steroid kullanımı ile ilgili veriler kısıtlıdır.

Enterobacteriaceae ilişkili infeksiyonlarda hastalık ciddiyeti ve mortalite öngörücüsü olarak anlamlı saptanan Charlson komorbidite indeksi, GKS, SOFA, APACHE II ve Pitt bakteriyemi skorlarının karbapenem direnci ile ilişkili bulunduğu çalışmalar mevcuttur (108,123,124). Bu çalışmada ise bu skorların KDE ile kan dolaşımı infeksiyonu olan grupta istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür. Çalışmada her iki gruptaki hastalarda bu skorların benzer sonuçlarda olması nedeni ile karbapenem direnci için anlamlı saptanmadığı düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalarda *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında karbapenem direnci infeksiyon tespiti sonrası 14 ve 28 günlük mortalite için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (100,111). Bu çalışmada bakteriyeminin tespit edilmesinden sonra 14 günlük mortalite oranı KDE ve karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında istatistiksel olarak farklı saptanmamıştır. Bakteriyeminin tespit edilmesinden sonra 28 günlük mortalite oranı ise KDE ilişkili infeksiyonu olan hastalarda %60,3, karbapenem duyarlı *Enterobacteriaceae* ilişkili infeksiyonu olan hastalarda %38,8 olarak saptanmıştır. Tek değişkenli analiz sonucunda karbapenem direncinin 28 günlük mortaliteyi artırdığı görülmüştür. Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde karbapenem direnci mortalite ile ilişkili saptanmamıştır. KDE'lerde görülen yüksek mortalite oranlarının bu patojenlerin sınırlı tedavi seçeneği bulunması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada *Enterobacteriaceae* ilişkili infeksiyonlarda demografik ve klinik özelliklerin mortaliteye katkısı değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada ileri yaşın mortaliteyi artırdığı saptanmış ancak çok değişkenli analizde yaş ve mortalite ilişkilendirilmemiştir (111). Bu çalışmada da yaşın mortaliteye etkisi görülmemiştir. Yapılan çalışmalara benzer şekilde *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında erkek cinsiyette olmanın mortaliteyi artırdığı görülmüştür (111,125).

Çalışmamızda kan gruplarının mortalite üzerine olan etkisine bakıldığında A Rh+ kan grubu anlamlı oranda yüksek saptandı. Geçmişte kan grubu ve enfeksiyon ilişkisini değerlendiren birçok makale olup 0 kan grubu sıtma ve *helicobacter pylori* ile A kan grubu Sars-Cov-2 enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiş ve Ebola virüs enfeksiyonlarının B kan grubu olan hastalarda daha kötü seyirli olduğu görülmüştür (126–128). Kan gruplarının enfeksiyon ve mortalite üzerine olan etkisi ile ilgili net bir sonuç elde edilememiş olup bu konuda yapılacak yeni çalışmalar faydalı olabilir.

Yapılan çalışmalarda *Enterobacteriaceae* enfeksiyonu nedeni ile takip edilmekte olan hastalar arasında yoğun bakım ünitesinde takip edilen hastalarda serviste takip edilenlere göre daha yüksek oranda mortalite görülmüştür (105,117,129). Bu çalışmada da yapılan tek değişkenli analiz sonucunda yoğun bakım ünitesinde takip edilmekte olan hastalarda ölüm daha yüksek oranlarda saptanmış çok değişkenli analizde ise anlamlı bulunmamıştır. Ölen hastaların hastaneye kabulünden bakteriyeminin tespit edilmesine kadar geçen süre yoğun bakım ünitesinde takip edilen hastalarda anlamlı oranda uzun, serviste takip edilen hastalarda ise anlamlı oranda kısa saptanmıştır. Yoğun bakım ünitesinde yüksek oranlarda görülen mortalitede, ciddi ve komorbidite oranı yüksek hasta grubunun takip edilmesi aynı zamanda bu hastalarda mortalite riskini artırabilecek olan mekanik ventilasyon desteği, parenteral beslenme gibi faktörlerin ve artan karbapenem direnç riskinin varlığı sorumlu tutulabilir. Yoğun bakım ünitesinde ölen hastalarda hastane kabulünden bakteriyemi tespitine kadar geçen sürenin daha uzun saptanması, bu hasta grubunda sağlık bakım hizmetiyle ilişkili olarak artan karbapenem direnç riski ve enfeksiyon dışı komplikasyonların sık görülmesi nedeni ile olabilir

Yapılan çalışmalarda mortal seyreden *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarında toplam hastanede kalış süresi istatistiksel olarak anlamlı oranda kısa saptanmış olup bu çalışmada da benzer sonuca varılmıştır (117,130).

K. pneumoniae ile enfeksiyonu bulunan hastalarda mortalitenin irdelendiği çalışmalarda hematolojik maligniteler, böbrek yetmezliği, kronik akciğer hastalığı bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır (111,117,125). Bu çalışmada ise ek hastalık varlığı ve ayrı ayrı komorbiditeler değerlendirildiğinde mortalite ile ilişkili

bulunmamıştır. Bu durum ölen ve sağ kalan hastalarda ek hastalık oranlarının benzer olması ile açıklanabilir.

Enterobacteriaceae ilişkili infeksiyonların saptandığı hastalarda kan kültürü örneklerinin alımı öncesi antibiyotik kullanımı mortalite riski açısından değerlendirilmiş olup ölen hastalarda glikopeptit sınıfı antibiyotiklerin kullanımı daha yüksek oranda saptanmıştır. Çok değişkenli regresyon analizinde ise aynı sonuca varılmamıştır. Ölen hastalarda glikopeptit sınıfı antibiyotik kullanımının yüksek oranda saptanması KDE izole edilen hastalarda da bu antibiyotiklerin yüksek oranda kullanımı ile ilişkili olabilir. Literatürde *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında mortalite ile glikopeptitlerin kullanımını ilişkili bulan bir çalışmaya rastlanamamakla birlikte sefalosporinlerin ve kolistin kullanım oranlarının yüksek olmasının mortalite gelişiminde anlamlı saptandığı görülmüştür (118). Ayrıca benzer başka bir çalışmada kinolon kullanımının da mortaliteyi artırdığı saptanmıştır (131).

Literatürde mekanik ventilasyon desteği, vasküler ve üriner katater, nazogastrik sonda gibi invaziv tıbbi cihazların kullanımı *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında mortalite ile ilişkili bulunmuştur (117,120). Bu çalışmada da benzer şekilde mekanik ventilasyon ve üriner katater kullanımı ölen hastalarda anlamlı oranda yüksek saptanmış olup santral venöz katater varlığı anlamlı oranda farklılık göstermemiştir. Merkezimizde özellikle yoğun bakım ünitelerinde santral venöz kateterin sık kullanımı ve yoğun bakım ünitesinde takipli hasta oranlarının daha yüksek olması nedeni ile santral venöz katater kullanımının bu çalışmada anlamlı fark oluşturmadığı düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada parenteral beslenmenin gastrointestinal sistem mikrobiyatası üzerine etkisi ve *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarına yatkınlık oluşturduğu ayrıca başka bir çalışmada mortalite gelişiminde olumsuz etkisi gösterilmiştir (132,133). Enteral beslenme yerine parenteral beslenmenin tercih edilmesinin bu çalışmada da benzer şekilde mortaliteyi artırdığı görülmüştür. Çok değişkenli regresyon analizinde ise parenteral beslenme mortalite için risk faktörü olarak saptanmamıştır. Mortalite risk faktörü olarak tanımlanan kemoterapötikler, radyoterapi alma öyküsü, sistemik steroidlerin kullanımı bu çalışma sonucunda farklı olarak mortalite riski ile ilişkili bulunmamıştır (105).

Sağlık bakım ilişkili *K. pneumoniae* infeksiyonlarında yapılan bir çalışmada infeksiyon saptanması sonrası üç gün içinde etkin tedavi başlanmaması 14 gün içinde mortalite gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır (100). Benzer şekilde bu çalışmada bakteriyemi saptanması sonrası üç gün içinde etkin ampirik antibiyotik tedavi başlanma oranı ölen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptanmıştır. Çok değişkenli regresyon analizinde ise mortalite risk faktörü olarak bulunmamıştır. Mortalitesi daha yüksek olan KDE infeksiyonlarında sınırlı tedavi seçeneği bulunmaktadır ve etkenin antibiyotik duyarlılık sonuçlarının belirlenmesi öncesi başlanacak ampirik tedaviler çoğu zaman bu infeksiyonlarda yetersiz kalmaktadır. Karbapenem direnci için risk faktörlerinin belirlenmesinin bu hasta gruplarında daha erken etkin antibiyotik tedavisinin verilmesine ve mortalite oranlarının azalmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Hastaların ciddiyetinin belirlenmesi amacı ile bakteriyeminin tespit edildiği gün hesaplanan Pitt bakteriyemi skorunun >4 olması, APACHEII skorunun >20 olması, SOFA skorunun >4 olması ve hastaların GKS'sinin düşük, Fio2 düzeylerinin yüksek olması mortalite açısından anlamlı saptanmıştır. Çok değişkenli regresyon analizinde ise yüksek SOFA skoru mortalite için bağımsız risk faktörü olarak bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda mortalite için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanan bu skorların kötü prognoz ve mortalite öngörüsünde anlamlı olduğu bu çalışma ile de desteklenmiştir (100,134,135).

Karbapenem direnci saptanan 82 izolatın %81,7'sinde *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} karbapenemaz direnç genlerinden en az biri saptanmıştır. İzolatlarda tek başına *bla*_{OXA-48} %35,4 oranda olup Türkiye' de yapılan çalışmalar ile benzer şekilde *bla*_{OXA-48} (%47,5-%90,2) en baskın gen olarak görülmüş ancak diğer çalışmalardan daha düşük oranlarda saptanmıştır. Çalışmalarda *bla*_{NDM-1} %0-%15 oranlarda ve *bla*_{NDM-1} ile *bla*_{OXA-48} birlikte %0,6-%46,7 oranlarda saptanmıştır. Yıllara göre bakıldığında *bla*_{NDM-1} gen oranının özellikle *bla*_{NDM-1} ve *bla*_{OXA-48} gen birlikteliğinin arttığı görülmüştür (5,6,42,101,136–141). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Türkiye'de yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında *bla*_{NDM-1} gen oranlarının (%15,9) özellikle *bla*_{NDM-1} ile birlikte *bla*_{OXA-48} gen pozitifliği oranlarının (%30,5) arttığını desteklemektedir. Bu durum oldukça sınırlı tedavi seçeneği bulunan *bla*_{NDM-1} geninin giderek daha çok

yayıldığını ve infeksiyon kontrol önlemlerinin önemini göstermiştir. Özellikle Türkiye’den bazı çalışmalarda yüksek oranda bildirilen *bla*_{KPC} ve diğer karbapenemaz direnç genleri bu çalışmada bakılamamış olup bu açıdan veri bildirilememiştir

Literatürde *Enterobacteriaceae* türleri arasında karbapenemaz üretimi en yaygın olarak *K. pneumoniae*’da görülmüştür. *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarından en yaygın olarak *bla*_{OXA-48} geni pozitif saptanmıştır (101,137). Benzer şekilde bu çalışmada da en yaygın olarak *K. pneumoniae*’da karbapenemaz üretimi görülmüş ve *E. coli* izolatlarında en fazla oranda *bla*_{OXA-48} geni tespit edilmiştir, ancak *K. pneumoniae* izolatlarında farklı olarak en fazla oranda *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} genleri birlikte pozitif saptanmıştır.

Saptanan karbapenemaz gen profilleri ve antibiyotik duyarlılıkları birlikte değerlendirildiğinde sadece ertapenem direnci saptanan izolatlarda en fazla oranda *bla*_{OXA-48} pozitif olduğu ve ertapenem, meropenem ve imipenem direnci saptanan izolatlarda ise en fazla oranda *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} genlerinin birlikte pozitif olduğu görülmüştür. Literatürde *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenem sınıfı antibiyotiklere direnç profillerine göre karbapenemaz genlerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bununla birlikte Tunus’da yapılan bir çalışmada ertapenem direnci saptanan izolatlarda en fazla oranda *bla*_{OXA-48} geni pozitif olduğu görülmüştür (142).

Diğer antimikrobialerin duyarlılıklarına bakıldığında yapılan bir meta-analiz çalışmasına benzer olarak *bla*_{OXA-48} taşıyan *Enterobacteriaceae* ’lara karşı seftazidim ve amikasinin invitro duyarlılığı yüksek oranlarda saptanmıştır (143).

*bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif saptanan suşlar diğer KDE suşları ile karşılaştırıldığında amikasin, trimetoprim-sulfometaksazol, seftalozan-tazobaktam, meropenem-vaborbaktam direnç oranları anlamlı oranda yüksek görülmüştür. Yapılan benzer bir çalışmada da *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte saptanan izolatlarda trimetoprim-sulfometaksazol direnç oranlarının tek başına *bla*_{OXA-48} saptanan izolatlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (144). Bu durumun *bla*_{NDM-1} taşıyan suşların birbiriyle ilişkisiz birçok direnç genini eksprese edebilme özelliğine sahip olması nedeni ile olduğu düşünülebilir (76,145).

Bu çalışmada ayrıca KDE izolatlarında güncel tedavi seçeneklerinden olan seftalozan-tazobaktam ve meropenem-vaborbaktam duyarlılığı araştırılmıştır. Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'da ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'larda da oldukça etkili olduğu gösterilen seftalozan-tazobaktamın KDE izolatlarında etkinliği kısıtlıdır (146). Yapılan bir çalışmada OXA-48 üreten KDE suşlarında seftalozan-tazobaktam duyarlılık oranı %30 olarak görülmüştür ve benzer çalışmalarda seftazidim-avibaktam ile karşılaştırıldığında seftalozan-tazobaktamın KDE izolatlarına etkinliği daha düşük saptanmıştır (147,148). Benzer olarak bu çalışma sonucunda da seftalozan-tazobaktam duyarlılığı KDE izolatları arasında oldukça düşük (%13,4) oranda görülmüştür.

Dirençli gram negatif bakteriyel infeksiyonlarda diğer bir güncel tedavi seçeneği olan özellikle KPC ve sınıf C karbapenemaz enzimi üreten *Enterobacteriaceae*'larda iyi etkinlik gösteren meropenem-vaborbaktamın sınıf B ve sınıf D karbapenemaz üreten izolatlarda etkinliği yoktur (149,150). Verilerle uyumlu olarak bu çalışmada da özellikle *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif izolatlarda meropenem-vaborbaktama yüksek oranda direnç görülmüş olup karbapenemaz geni saptanmayan izolatlarda ise % 86,7 oranda duyarlılık saptanmıştır. *bla*_{OXA-48} veya *bla*_{NDM-1} genleri saptanmayan izolatlardaki yüksek duyarlılık oranları bu antibiyotik ile KDE izolatlarının tedavisinde umut vaatmektedir.

KDE izole edilen hastaların saptanan karbapenemaz genlerine göre mortalite oranları değerlendirildiğinde daha önce yapılan benzer bir çalışma ile uyumlu olarak 14 ve 28 günlük mortalite gelişimi açısından gruplar arasında fark görülmemiştir (144).

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları mevcuttu. Bu konu ile ilgili Türkiye epidemiyolojisini, karbapenem direnç risk faktörlerini belirleme adına çok merkezli, çalışmalara ihtiyaç olup bu çalışmada veriler tek bir merkeze aitti. Ayrıca maddi açıdan yetersizlik nedeni ile karbapenem dirençli izolatlarda KPC gibi diğer karbapenemaz genlerine ve seftazidim-avibaktam, imipenem-relebaktam gibi diğer güncel tedavi seçeneklerinin duyarlılık oranlarına bakılamamıştır. Daha geniş kapsamlı epidemiyolojik ve mikrobiyolojik veriler elde etmek için tüm karbapenemaz genlerinin ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlendiği çalışmalar gerekmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada *Enterobacteriaceae* ilişkili kan dolaşımı infeksiyonu saptanan olgularda karbapenem direnç ve mortalite risk faktörlerinin aynı zamanda merkezimizdeki karbapenemaz gen epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlandı.

Yoğun bakım ünitesinde ve yataklı servislerde takip edilmekte olan hastaların kan kültürü örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* spp. izolatları değerlendirmeye alındı. Çalışmada izolatların %46'sında karbapenem direnci saptandı. KDE izolatlarının Real-time PCR yöntemi ile değerlendirilmesi sonucu, izolatların %35,4 (n=29)'ünde *bla*_{OXA-48}, %15,9 (n=13)'unda *bla*_{NDM-1} ve %30,5 (n=25)'inde *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} karbapenemaz genleri birlikte pozitif saptandı. KDE izolatlarının %18,2 (n=15)'sinde ise araştırılan her iki karbapenemaz geni de saptanmadı.

İzolatlarda karbapenemler dışında diğer grup antibiyotiklere de yüksek oranda direnç olduğu görüldü. *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} birlikte pozitif saptanan izolatlarda amikasin, trimetoprim-sülfometaksazol, seftalozan-tazobaktam, meropenem-vaborbaktam direnç oranları anlamlı oranda yüksek saptandı. *bla*_{OXA-48} pozitifliği saptanan izolatlarda ise seftazidim ve amikasin direnç oranları diğer KDE izolatlarına göre anlamlı oranda düşük saptandı.

Dirençli gram negatif infeksiyonların tedavisinde güncel seçeneklerden olan seftalozan-tazobaktam ve meropenem-vaborbaktam duyarlılıkları ise KDE izolatlarında oldukça düşük oranlarda görüldü. Karbapenemaz geni saptanmayan KDE izolatları bu antibiyotiklere duyarlılığın en yüksek oranda görüldüğü grup olarak saptandı.

Kan kültüründe KDE izole edilen hastalar demografik ve klinik özellikler açısından değerlendirildiğinde kronik böbrek yetmezliğinin bulunması, bakteriyemi saptanan kan kültürlerinin alımı öncesi karbapenem sınıfı antibiyotiklerin kullanımı ve invaziv işlem geçirme öyküsünün olması karbapenem direnç gelişiminde bağımsız risk faktörü olarak bulundu. Antibiyotik kullanım oranı ve glikopeptit sınıfı antibiyotiklerin kullanımı da KDE izolatlarının saptandığı hastalarda istatistiksel olarak yüksek oranlarda saptandı. KDE izole edilen hastaların kliniklerdeki dağılımına bakıldığında gastroenteroloji servisinde istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti.

Kan kültüründe *Enterobacteriaceae* spp. izole edilen ve infeksiyon saptanması sonrası 28 gün içinde ölen hastaların demografik ve klinik özellikleri değerlendirildi. Yüksek SOFA skoru mortalite için bağımsız risk faktörü olarak bulundu. İzolatlarda karbapenem direnci saptanması, erkek cinsiyette olmak, yoğun bakım ünitesinde yatış, infeksiyon tespit edilmeden önce glikopeptid sınıfı antibiyotiklerin kullanımı, üretral katater varlığı, mekanik ventilasyon ve parenteral beslenme desteği mortalite gelişenlerde istatistiksel olarak yüksek oranda saptandı. Ölen hastaların FiO₂, SOFA skoru, Pitt bakteriyemi skoru, APACHEII skoru anlamlı oranda yüksek ve GKS'leri anlamlı oranda düşüktü. Hastalara bakteriyeminin tespit edilmesi sonrası üç gün içinde etkin ampirik antibiyotik tedavisi uygulanmamasının mortaliteyi artırdığı görüldü.

Bu çalışmada elde edilen epidemiyolojik ve klinik sonuçların merkezimiz ve Türkiye verilerine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Belirlenen karbapenem direnç risk faktörleri erken etkin tedavi başlanmasında ve antibiyotik direncinin önlenmesinde başarıyı artıracaktır. Mortaliteyi öngörücü faktörler ise hastaların takip ve tedavisinde faydalı olacaktır. KDE izolatlarında belirlenen karbapenemaz genleri horizontal yayılımın engellenmesinde, gen profiline göre tedavi yaklaşımında ayrıca hastane temelli politikaların belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Chaïbi EB, Sirot D, Paul G, Labia R. Inhibitor-resistant TEM β -lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999;43(4):447–58.
2. Korzeniewska E, Harnisz M. Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital effluents. *J Environ Manage*. 2013;123:1–7.
3. Pascale R, Giannella M, Bartoletti M, Viale P, Pea F. Use of meropenem in treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *2019;17(10):819–27*.
4. 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*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(4):1151–61.
5. Grundmann H, Glasner C, Albigler B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(2):153–63.
6. Süzük Yildiz S, Şimşek H, Bakkaloğlu Z, Numanoğlu Çevik Y, Hekimoğlu CH, Kiliç S, et al. The epidemiology of carbapenemases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in 2019 in Turkey. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(1):1–16.
7. Thomson KS. Extended-spectrum- β -lactamase, AmpC, and carbapenemase issues. *J Clin Microbiol* . 2010;48(4):1019–25.
8. Iovleva A, Doi Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Clin Lab Med*. 2017;37(2):303–15.
9. Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and future of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) infections. *Antibiotics*. 2019;8(3).

10. Soutar CD, Stavrinos J. Phylogenetic analysis supporting the taxonomic revision of eight genera within the bacterial order enterobacterales. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020;70(12):6524–30.
11. Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacterales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016;66(12):5575–99.
12. Janda JM, Abbott SL. The changing face of the family enterobacteriaceae (Order: Enterobacterales): New members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(2):1–45.
13. George E. Nelson and Matthew H. Enterobacteriaceae. In: Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Philadelphia: PA: Elsevier 2023; p. 2669–85.
14. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *2016;8(4):460–9.*
15. Michael Janda J, Abbott SL, McIver CJ. *Plesiomonas shigelloides* revisited. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29(2):349–74.
16. Wilke Topçu A SGDM (eds). Enterobacteriaceae. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 4. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi; 2017. p. 1853–96.
17. Rai AK, Mitchell AM. Enterobacterial common antigen: Synthesis and function of an enigmatic molecule. *mBio.* 2020;11(4):1–19.
18. Navasa N, Rodríguez-Aparicio L, Martínez-Blanco H, Arcos M, Ferrero MÁ. Temperature has reciprocal effects on colanic acid and polysialic acid biosynthesis in *E. coli* K92. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2009;82(4):721–9.

19. Eckhard U, Bandukwala H, Mansfield MJ, Marino G, Cheng J, Wallace I, et al. Discovery of a proteolytic flagellin family in diverse bacterial phyla that assembles enzymatically active flagella. *Nature Communication*.2017;8(1):1–9.
20. Han R, Niu M, Liu S, Mao J, Yu Y, Du Y. The effect of siderophore virulence genes *entB* and *ybtS* on the virulence of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Pathog*. 2022;171.
21. Jones CH, Pinkner JS, Roth R, Heuser J, Nicholes A v., Abraham SN, et al. FimH adhesin of type 1 pili is assembled into a fibrillar tip structure in the Enterobacteriaceae. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Mar 14;92(6):2081–5.
22. Struve C, Bojer M, Krogfelt KA. Identification of a conserved chromosomal region encoding *Klebsiella pneumoniae* type 1 and type 3 fimbriae and assessment of the role of fimbriae in pathogenicity. *Infect Immun*.2009;77(11):5016–24.
23. Emody L, Kerényi M, Nagy G. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;22(SUPPL. 2):29–33.
24. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(4):589–603.
25. Raymond, K. N., Dertz, E. A., Kim, S. S. Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2003; 100(7), 3584-3588.
26. Economou A, Christie PJ, Fernandez RC, Palmer T, Plano G v., Pugsley AP. Secretion by numbers: protein traffic in prokaryotes. *Mol Microbiol*. 2006;62(2):308–19.
27. Dautin N. Serine Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae (SPATEs): Biogenesis and Function. *Toxins (Basel)*.2010;2:1179–206.

28. Jacob J. T., Klein E., Laxminarayan R., Beldavs Z., Lynfield R., Kallen A. J., Cardo D. et al. Vital signs: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Morbidity and mortality weekly report*, 2013;62(9), 165.
29. Peirano G, Pitout JDD. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. *Drugs* . 2019;79(14):1529–41.
30. Satlin MJ, Chen L, Patel G, Gomez-Simmonds A, Weston G, Kim AC, et al. Multicenter clinical and molecular epidemiological analysis of bacteremia due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) in the CRE epicenter of the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(4).
31. Brolund, A., Lagerqvist, N., Byfors, S., Struelens, M. J., Monnet, D. L., Albiger, B., et al. European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network (EURGen-Net) Capacity Survey Group. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Eurosurveillance*, 2019; 24(9), 1900123.
32. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL, Koraqi A, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: Assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Eurosurveillance*. 2015;20(45):30062.
33. Kuskucu MA, Karakullukcu A, Ailiken M, Otlu B, Mete B, Aygun G. Investigation of carbapenem resistance and the first identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzyme among *Escherichia coli* isolates in Turkey: A prospective study. *Travel Med Infect Dis*. 2016;14(6):572–6.
34. Labarca J, Poirel L, Özdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes New Infect*. 2014;2(2):50–1.

35. Okalin ŞŞ, Sarı Kaygısız AN, Ergon MC, Öktem İMA. Investigation of Carbapenemase Genes in Carbapenem Resistant Enterobacterales Isolates: First KPC Report From Dokuz Eylül University Hospital. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2021;51(4):375-81
36. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, bla NDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5046–54.
37. Nordmann, P., Poirel, L., Toleman, M. A., Walsh, T. R. Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2011;66(4), 689-692.
38. Poirel L, Fortineau N, Nordmann P. International transfer of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from Iraq to France. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2011 Apr [cited 2022 Nov 14];55(4):1821–2. Available from: <https://journals.asm.org/journal/aac>
39. Sahin K, Tekin A, Ozdas S, Akin D, Yapislar H, Dilek AR, et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015;14:44.
40. Kilic A, Baysallar M. The first *Klebsiella pneumoniae* isolate co-producing OXA-48 and NDM-1 in Turkey. *Ann Lab Med.* 2015 May 1;35(3):382–3.
41. Cizmeci Z, Aktas E, Otlu B, Acikgoz O, Ordekci S. Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae yields increasing rates of NDM-1 carbapenemases and colistin resistance in an OXA-48-endemic area. *Journal of Chemotherapy* . 2017;29(6).
42. Çalık Ş, Kansak N, Aksaray S. Phenotypic detection of carbapenemase production in carbapenem-resistant isolates with the rapid

- carbapenemase detection method (rCDM). *J Microbiol Methods*. 2022;200.
43. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67(7):1597–606.
 44. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(8):a025247.
 45. Pandey N, Cascella M. Beta Lactam Antibiotics. *Antibiotic Discovery and Development*. 2022; 9781461414001:79–117.
 46. Bassetti M, Merelli M, Temperoni C, Astilean A. New antibiotics for bad bugs: Where are we? *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2013;12(1).
 47. El-Gamal MI, Brahim I, Hisham N, Aladdin R, Mohammed H, Bahaaeldin A. Recent updates of carbapenem antibiotics. *Eur J Med Chem*. 2017;131:185–95.
 48. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943–60.
 49. Majiduddin FK, Materon IC, Palzkill TG. Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. *International Journal of Medical Microbiology*. 2002 Jan 1;292(2):127–37.
 50. De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in Enterobacteriaceae. *International journal of molecular sciences*, 2020;21(14), 5090.
 51. Poole K. Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 2004 61:17. 2004;61(17):2200–23.

52. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, et al. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol.* 2019;431(18):3472–500.
53. Bush, K. The ABCD's of β -lactamase nomenclature. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2013;19(4), 549-559.
54. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969–76.
55. Hall, B. G., & Barlow, M. Revised Ambler classification of β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005;55(6), 1050-1051.
56. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440–58.
57. Thomson KS, Smith Moland E. Version 2000: the new β -lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect.* 2000;2(10):1225–35.
58. Evans BA, Amyes SGB. OXA β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(2):241–63.
59. Pages, J. M., James, C. E., & Winterhalter, M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 2008; 6(12), 893-903.
60. Vergalli J, Bodrenko I v., Masi M, Moynié L, Acosta-Gutiérrez S, Naismith JH, et al. Porins and small-molecule translocation across the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology.* 2019;18(3):164–76.
61. Weston N, Sharma P, Ricci V, Piddock LJV. Regulation of the AcrAB-TolC efflux pump in Enterobacteriaceae. *Res Microbiol.* 2018;169(7–8):425–31.

62. Li XZ, Nikaido H. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. *Drugs*. 2009;69(12):1555.
63. David S, Cohen V, Reuter S, Sheppard AE, Giani T, Parkhill J, et al. Integrated chromosomal and plasmid sequence analyses reveal diverse modes of carbapenemase gene spread among *Klebsiella pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(40):25043–54.
64. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clinical Microbiology and Infection*. 2002;8(6):321–31.
65. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(2).
66. Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann P. GES-2, a class A β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(9):2598–603.
67. Palzkill T. Metallo- β -lactamase structure and function. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1277(1):91–104.
68. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- β -lactamases: The quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(2):306–25.
69. Zhao WH, Hu ZQ. IMP-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons. 2011;37(3):214–26.
70. Matsumura Y, Peirano G, Motyl MR, Adams MD, Chen L, Kreiswirth B, et al. Global molecular epidemiology of IMP-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(4).
71. Gacar GG, Midilli K, Kolayli F, Ergen K, Gundes S, Hosoglu S, et al. Genetic and enzymatic properties of metallo- β -lactamase VIM-5 from a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(10):4400–3.

72. Makena A, Düzgün A, Brem J, McDonough MA, Rydzik AM, Abboud MI, et al. Comparison of verona integron-borne metallo- β -lactamase (VIM) variants reveals differences in stability and inhibition profiles. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(3):1377–84.
73. Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z. NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2).
74. Findlay J, Poirel L, Kessler J, Kronenberg A, Nordmann P. New Delhi Metallo- β -Lactamase–Producing Enterobacterales Bacteria, Switzerland, 2019–2020- Volume 27, Number 10, 2021 - *Emerging Infectious Diseases journal - CDC*. *Emerg Infect Dis* 2021;27(10):2628–37.
75. Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):1–12.
76. Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2014). Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *BioMed research international*, 2014.
77. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom KA, Matsumura Y. The global ascendancy of OXA-48-type carbapenemases. *Clin Microbiol Rev* . 2020;33(1).
78. Antunes NT, Lamoureaux TL, Toth M, Stewart NK, Frase H, Vakulenko SB. Class D β -lactamases: Are they all carbapenemases? *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(4):2119–25.
79. Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006;57:373–83.
80. Rozwandowicz M, Brouwer MSM, Fischer J, Wagenaar JA, Gonzalez-Zorn B, Guerra B, et al. Plasmids carrying antimicrobial resistance genes

- in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;73(5):1121–37.
81. Carattoli A, Seiffert SN, Schwendener S, Perreten V, Endimiani A. Differentiation of IncL and IncM Plasmids Associated with the Spread of Clinically Relevant Antimicrobial Resistance. *PLoS One*. 2015;10(5):e0123063.
 82. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Derepressed transfer properties leading to the efficient spread of the plasmid encoding carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):467–71.
 83. Kasap, M., Torol, S., Kolayli, F., Dundar, D., & Vahaboglu, H. (2013). OXA-162, a novel variant of OXA-48 displays extended hydrolytic activity towards imipenem, meropenem and doripenem. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 28(5), 990-996.
 84. Poirel L, Castanheira M, Carrer A, Rodriguez CP, Jones RN, Smayevsky J, et al. OXA-163, an OXA-48-related class D β -lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(6):2546–51.
 85. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN, Mendes RE. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(3):1274–8.
 86. Oueslati S, Nordmann P, Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2015;70(4):1059–63.
 87. Rood IGH, Li Q. Review: Molecular detection of extended spectrum- β -lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a clinical setting. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017 Nov 1;89(3):245–50.

88. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (EUCAST): MIC and Zone Diameter Distributions and ECOFFs. https://www.eucast.org/mic_and_zone_distributions_and_ecoffs Erişim Tarihi: 15 Ekim 2022
89. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/> Erişim Tarihi: 16 Nisan 2023
90. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: Detection and surveillance issues. *Clinical Microbiology and Infection*. 2010;16(2):112–22.
91. Osei Sekyere J, Govinden U, Essack SY. Review of established and innovative detection methods for carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *J Appl Microbiol*. 2015;119(5):1219–33.
92. Hammoudi D, Ayoub Moubareck C, Karam Sarkis D. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *J Microbiol Methods*. 2014;107:106–18.
93. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *J Clin Microbiol*. 2018;56(11).
94. Aguirre-Quiñonero A, Martínez-Martínez L. Non-molecular detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae clinical isolates. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2017;23(1):1–11.
95. Bernabeu S, Poirel L, Nordmann P. Spectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74(1):88–90.

96. Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* . 2013;68(3):487–9.
97. Official Journal Of the International Society Of Nephrology KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. www.publicationethics.org Erişim Tarihi: 2 Mayıs 2023
98. Center for Disease Control and Prevention (CDC) Healthcare associated infections (HAIs)/Carbapenem Rezistant Enterobacterales (CRE) <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-clinicians.html#CDCDefinition> Erişim Tarihi: 31 Mart 2023
99. Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., & Buchner, A. G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior research methods*, 2007;39(2), 175-191.
100. Hsu JY, Chuang YC, Wang JT, Chen YC, Hsieh SM. Healthcare-associated carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: Risk factors, mortality, and antimicrobial susceptibility, 2017–2019. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2021;120(11):1994–2002.
101. Su HR, Turhan Ö, Daloglu CAE, Ögünç MD, Özhak B, Öngüt G, et al. Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacterales Strains Isolated from Blood Cultures in Antalya, Turkey. *Lab Med*. 2020;51(6):601–5.
102. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022-2020 data. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2022-2020-data> Erişim Tarihi: 18 Mart 2023

103. Tanrıverdi Çaycı Y, Bıyık İ, Çınar C, Birinci A. Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae izolatlarının 2015-2018 yılları arasındaki antibiyotik direnci. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2020;50(3):134–40.
104. Davarcı I., Şenbayrak S., Aksaray S., Koçoğlu M. E., Kuşkucu M. A., Samasti M. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences*, 2019; 24(1), 1-7.
105. Chen J, Ma H, Huang X, Cui Y, Peng W, Zhu F, et al. Risk factors and mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in a tertiary-care hospital in China: an eight-year retrospective study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2022;11(1).
106. Tilahun M, Kassa Y, Gedefie A, Ashagire M. Emerging carbapenem-resistant enterobacteriaceae infection, its epidemiology and novel treatment options: A review. *Infect Drug Resist.* 2021;14:4363–74.
107. Hu Y, Liu C, Shen Z, Zhou H, Cao J, Chen S, et al. Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in patients from Zhejiang, China, 2008–2018. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1771.
108. Pan H., Lou Y., Zeng L., Wang L., Zhang J., Yu W., et al. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics and risk factors. *Microbial Drug Resistance*, 2019; 25(2), 287-296.
109. Wu D, Xiao J, Ding J, Jia Y, Guo Z, Liu H, et al. Predictors of Mortality and Drug Resistance Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae-Infected Pancreatic Necrosis Patients. *Infect Dis Ther.* 2021;10(3):1665.
110. Alrabaa SF, Nguyen P, Sanderson R, Baluch A, Sandin RL, Kelker D, et al. Early identification and control of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, originating from contaminated endoscopic equipment. *Am J Infect Control.* 2013;41(6):562–4.

111. Zhang G, Zhang M, Sun F, Zhou J, Wang Y, Zhu D, et al. Epidemiology, mortality and risk factors for patients with *K. pneumoniae* bloodstream infections: Clinical impact of carbapenem resistance in a tertiary university teaching hospital of Beijing. *J Infect Public Health*. 2020;13(11):1710–4.
112. Chen Y, Chen Y, Liu P, Guo P, Wu Z, Peng Y, et al. Risk factors and mortality for elderly patients with bloodstream infection of carbapenem resistance *Klebsiella pneumoniae*: a 10-year longitudinal study. *BMC Geriatr*. 2022;22(1).
113. Pérez-Galera S, Bravo-Ferrer JM, Paniagua M, Kostyanov T, de Kraker MEA, Feifel J, et al. Risk factors for infections caused by carbapenem-resistant Enterobacterales: an international matched case-control-control study (EURECA). *EClinicalMedicine*. 2023;57.
114. Wang TZ, Priya Kodiyanplakkal RL, Calfee DP. Antimicrobial resistance in nephrology. *Nat. Rev.Nephrol*. 2019;15(8):463-481.
115. Akgul F, Bozkurt I, Sunbul M, Esen S, Leblebicioglu H. Risk factors and mortality in the Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: case control study. *Pathog Glob Health*. 2016;110(8).
116. Palacios-Baena ZR, Giannella M, Manissero D, Rodríguez-Baño J, Viale P, Lopes S, et al. Risk factors for carbapenem-resistant Gram-negative bacterial infections: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27(2):228–35.
117. Wang Z, Qin RR, Huang L, Sun LY. Risk Factors for Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and Mortality of *Klebsiella pneumoniae* Infection. *Chin Med J (Engl)*.2018;131:56.
118. Büyüktuna SA, Hasbek M, Çelik C, Ünlüsavuran M, Avcı O, Baltacı S, et al. *Klebsiella pneumoniae* infections in the intensive care unit: Risk factors related to carbapenem resistance and patient mortality. *Mikrobiyol Bul*. 2021;54(3):378–91.

119. Jiao, Y., Qin, Y., Liu, J., Li, Q., Dong, Y., Shang, Y., et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization and predictors of mortality: a retrospective study. *Pathogens and global health*, 2015; 109(2), 68-74.
120. Álvarez-Marín R, Navarro-Amuedo D, Gasch-Blasi O, Rodríguez-Martínez JM, Calvo-Montes J, Lara-Contreras R, et al. A prospective, multicenter case control study of risk factors for acquisition and mortality in *Enterobacter* species bacteremia. *Journal of Infection*. 2020;80(2):174–81.
121. Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, Arend LN, Dias CH, Leite TM, et al. The Brazilian Journal of Infectious Diseases Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2012;16:416–9.
122. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Medicine*. 2021;47(11):1181–247.
123. Nasir N, Ahmed S, Razi S, Awan S, Mahmood SF. Risk factors for mortality of patients with ceftriaxone resistant *E. coli* bacteremia receiving carbapenem versus beta lactam/beta lactamase inhibitor therapy. *BMC Res Notes*. 2019;12(1).
124. Battle SE, Augustine MR, Watson CM, Bookstaver PB, Kohn J, Owens WB, et al. Derivation of a quick Pitt bacteremia score to predict mortality in patients with Gram-negative bloodstream infection. *Infection*. 2019 Aug;47(4):571–8.
125. Chang H, Wei J, Zhou W, Yan X, Cao X, Zuo L, et al. Risk factors and mortality for patients with Bloodstream infections of *Klebsiella pneumoniae* during 2014–2018: Clinical impact of carbapenem resistance in a large tertiary hospital of China. *J Infect Public Health*. 2020;13(5):784–90.

126. Nasiri M, Khodadadi J, Hajrezaei Z, Bizhani N. The Probable Association between Blood Groups and Prognosis of COVID-19. *Iran J Public Health*. 2021;50(4):825.
127. Fry, A. E., Griffiths, M. J., Auburn, S., Diakite, M., Forton, J. T., Green, A. et al. Common variation in the ABO glycosyltransferase is associated with susceptibility to severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Human molecular genetics*, 2008;17(4), 567-576.
128. Conton, B., Gevao, S., Sahr, F., Kargbo, O., & Philip, K. (2017). Do ABO and Rhesus blood groups affect susceptibility to, and prognosis of Ebola virus infection. *J Virol Antivir Res*, 6(1), 2.
129. Tian L, Tan R, Chen Y, Sun J, Liu J, Qu H, et al. Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in a teaching hospital: factors related to the carbapenem resistance and patient mortality. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016;5(1).
130. Meng, H., Han, L., Niu, M., Xu, L., Xu, M., An, Q., et al. Risk Factors for Mortality and Outcomes in Hematological Malignancy Patients with Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Infection and Drug Resistance*, 2022; 4241-4251.
131. Oka K, Matsumoto A, Tetsuka N, Morioka H, Iguchi M, Ishiguro N, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of carbapenem-resistant Enterobacterales infections in Japan. *J Glob Antimicrob Resist*. 2022 Jun 1;29:247–52.
132. Cerdó T, García-Santos JA, Rodríguez-Pöhnlein A, García-Ricobaraza M, Nieto-Ruíz A, G. Bermúdez M, et al. Impact of Total Parenteral Nutrition on Gut Microbiota in Pediatric Population Suffering Intestinal Disorders. *Nutrients* 2022, Vol 14, Page 4691. 2022;14(21):4691.
133. Hussein K, Raz-Pasteur A, Finkelstein R, Neuberger A, Shachor-Meyouhas Y, Oren I, et al. Impact of carbapenem resistance on the outcome of patients' hospital-acquired bacteraemia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Hospital Infection*. 2013;83(4):307–13.

134. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, Tal I, Marzel A, Gal-Mor O, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(1):54–60.
135. Tran TN, Vu DH, Nguyen HA, Abrams S, Bruyndonckx R, Nguyen TT, et al. Predicting mortality in intensive care unit patients infected with *Klebsiella pneumoniae*: A retrospective cohort study. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2022 ;28(1):10–8.
136. Çakar A, Akyön Y, Gür D, Karatuna O, Öğünç D, Özhak Baysan B, et al. Türkiye’de 2014 Yılı içinde izole edilen karbapeneme dirençli *Escherichia coli* ve *klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(1):21–33.
137. Zarakolu, P., Eser, Ö. K., Otlı, B., Gürpınar, Ö., Özakin, C., Akalın, H., et al. In-vitro activity of fosfomicin against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates and frequency of OXA-48, NDM, KPC, VIM, IMP types of carbapenemases in the carbapenem-resistant groups. *Journal of Chemotherapy*, 2022; 34(4), 235-240.
138. Baran I, Aksu N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016;15(1).
139. Köle M, Sesli Çetin E, Cem ŞİRİN M, Cicioğlu Aridoğan B. Evaluation of In Vitro Efficacy of Ceftazidime-Avibactam, Meropenem, and Colistin Single and Binary Combinations Against Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Various Clinical Specimens. *Mikrobiyol Bul*. 2022;56(2):230-250.
140. Hoşbul T, Nur AYDOĞAN C, Kaya S, Bedir O, Gümral R, Albay A, et al. In Vitro Activity of Ceftazidime-avibactam and Colistin Against Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates. *Mikrobiyol Bul*. 2022;56(2):218-229.
141. 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 and Infectious Diseases*. 2022;41(5):841–7.
142. Kollenda H, Frickmann H, Helal R Ben, Wiemer DF, Naija H, Asli MS El, et al. Screening for Carbapenemases in Ertapenem-Resistant Enterobacteriaceae Collected at a Tunisian Hospital Between 2014 and 2018. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2019;9(1):9.
 143. Stewart A, Harris P, Henderson A, Paterson D. Treatment of Infections by OXA-48-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(11).
 144. Verma A, Jain P, Tripathi P, Kalyan RK, Verma S, Venkatesh V, et al. Outcomes in Oxacillinases β -Lactamases (OXA-48) and New Delhi Metallo- β -Lactamase (NDM-1)-Producing, Carbapenem-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* Isolates Obtained From Bloodstream Infections. *Cureus*. 2022;14(7).
 145. Xiang T, Chen C, Wen J, Liu Y, Zhang Q, Cheng N, et al. Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Strains Carrying blaNDM–1 Gene and the Genetic Environment of blaNDM–1. *Front Microbiol*. 2020 Apr 30;11:700.
 146. Viala, B., Zaidi, F. Z., Bastide, M., Dumont, Y., Le Moing, V., Jean-Pierre, H., et al. Assessment of the in vitro activities of ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam in a collection of beta-lactam-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates at Montpellier University Hospital, France. *Microbial Drug Resistance*, 2019; 25(9), 1325-1329.
 147. Guzel M, Ocal D, Toker Onder I, Akdogan D, Bahar Erdem G, Akpınar O, et al. Comparison of in Vitro Antimicrobial Efficacy of Ceftolozane-Tazobactam and Ceftazidime-Avibactam Combination Against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Species Isolated from

Various Clinical Specimens. *Konuralp Medical Journal*. 2022;14(1):75–80.

148. Candel FJ, Del Castillo JG, Jiménez AJ, Matesanz M. Ceftolozane-tazobactam in nosocomial pneumonia. *Revista Española de Quimioterapia*. 2022;35(Suppl 1):35.
149. Lomovskaya O, Sun D, Rubio-Aparicio D, Nelson K, Tsivkovski R, Griffith DC, et al. Vaborbactam: Spectrum of beta-lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(11).
150. Tompkins K, van Duin D. Treatment for carbapenem-resistant Enterobacterales infections: recent advances and future directions. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2021;40(10):2053–68.