



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ESBL pozitif ve Karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında
Karbapenem Direncinin Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması**

Büşra KAYIN

Danışman

Doç. Dr. Yavuz UYAR

**İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı**

Nisan 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

Büşra KAYIN tarafından,Doç. Dr. Yavuz UYAR danışmanlığında hazırlanan " ESB^L pozitif ve Karbapenemaz üreten Klebsiella pneumoniae suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 08/04/2025 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Doç. Dr. Yavuz UYAR	☒
	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI	☒
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Turan ASLAN	☒
	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	Kabul
	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Büşra KAYIN

Kıymetli kardeşim Esra KAYIN başta olmak üzere aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

ESBL pozitif ve Karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TYL-2024-37881

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bana her türlü desteği sağlayan, yol gösteren, rehberlik eden ve eğitim sürecimde göstermiş olduğu ilgi, sabır, katkı ve ilham verici önerileri için değerli Tez Danışmanı hocam Doç. Dr. Yavuz UYAR'a,

Eğitim sürecinde bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, üzerimde emekleri olan değerli hocalarım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya ve Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Nuri KİRAZ, Prof. Dr. Murat HÖKELEK, Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Prof. Dr. Sevgi ERGİN, Prof. Dr. Erdal POLAT, Doç. Dr. Suat SARIBAŞ ve Doç. Dr. Emine KÜÇÜKATEŞ'e,

YBÜ'lerinden örneklerin sağlanmasında, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Gökhan AYGÜN başta olmak üzere Anabilim Dalı Başkanı ve tüm öğretim üyelerine, ayrıca PhD. Bio. Hatice YAŞAR ARSU'na,

İstatistiklerin yapılmasında Halk Sağlığı ABD'dan Prof. Dr. Günay CAN'a,

Tez çalışması sırasında sağladıkları ortam ve yardımları için Prof. Dr. Murat Dilmener Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın tüm çalışanlarına,

Yüksek Lisans eğitiminde birlikte çalıştığımız arkadaşlarım MSc. Aytaj SÜLEYMANLI, MSc. Aynure ALİSHOVA, MSc. Hatice NARİMANOVA, MSc. Sevinç HAJİYEVA, MSc Elif ÇAVUŞOĞLU'na,

Benim için en kıymetli arkadaş olan, fikirleri ve manevi desteğiyle kendimi iyi hissetmemi sağlayan ve her daim yanımda olan biricik kardeşim Esra KAYIN'a,

Beni yetiştiren, maddi manevi her türlü yardımı esirgemeyen, yol gösterip hedeflerime ulaşmama yardımcı olan, benim için kıymeti ölçülemeyen canım annem Kadriye KAYIN ve canım babam Orhan KAYIN'a, en kıymetli teşekkürlerimi sunuyorum...

Nisan 2025

Büşra KAYIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	ii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. KLEBSIELLA PNEUMONIAE	3
2.1.1. Etimoloji ve Taksonomisi	3
2.1.2. Morfoloji ve Mikrobiyolojisi	3
2.1.3. Virülans Faktörleri	4
2.1.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nın Neden Olduğu Hastalıklar ve Hastane Enfeksiyonları	6
2.1.5. Epidemiyolojisi	7
2.1.6. Tedavisi ve Antibiyotik direnci.....	7
2.2. ANTİBAKTERİYEL İLAÇLAR.....	9
2.2.1. Beta-Laktam Antibiyotikler	9
2.2.2. Karbapenemler	11
2.3. ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE DİRENÇ MEKANİZMALARI.....	14
2.3.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Direnç Mekanizmaları	15
2.3.2. GSBL Direncinin Saptanması	16
2.3.3. Karbapenem Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Direnç Mekanizmaları.....	17
2.4. KARBAPENEMLERİN TESPİT YÖNTEMLERİ	21
2.4.1. Fenotipik Tespit Yöntemleri	21
2.4.2. Genotipik Tespit Yöntemleri.....	23
3. YÖNTEM	25
3.1. ÇALIŞMANIN ÖRNEKLEMİ.....	25
3.2. ÇALIŞMA ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI.....	25
3.3. ÖRNEKLERİN TANIMLANMASI.....	26
3.3.1. Fenotipik Tanımlama Yöntemleri	26

3.3.2. Otomatize Tanımlama Yöntemleri	27
3.4. ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI	27
3.4.1. Fenotipik Yöntemlerle Antibiyotik Direncinin Saptanması.....	27
3.4.2. Moleküler Yöntemlerle Antibiyotik Direncinin Saptanması	29
3.5. İstatistiksel Çalışma	33
4. BULGULAR	34
4.1. KLEBSIELLA PNEUMONIAE'NİN KONVANSİYONEL VE OTOMATİZE SİSTEMLERLE BELİRLENMESİ	34
4.2. K. PNEUMONIAE ANTİBİYOTİK DUYARLILIK PROFİLLERİ	35
4.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENEN DİRENÇ GENLERİ PROFİLLERİ	39
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR.....	54
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	61
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>Klebsiella pneumoniae</i> mikroskop görüntüsü	4
Şekil 2.2: <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin virülans faktörleri	5
Şekil 2.3: Karbapenemlerin kimyasal yapısı	12
Şekil 3.1: Kromojenik agarda üreyen <i>K. pneumoniae</i> suşu	26
Şekil 3.2: MİO tüp besiyerlerinde üreyen <i>K. pneumoniae</i> suşlarının hareket, indol ve ornitin dekarboksilaz reaksiyonları	27
Şekil 3.3: <i>Klebsiella pneumoniae</i> izolatında AMC diski etrafında GSBL pozitifliği.	29
Şekil 4.1: KPC enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü.....	46
Şekil 4.2: OXA-48 enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü.....	46
Şekil 4.3: NDM enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü	47
Şekil 4.4: VIM enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü	47

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>K. pneumoniae</i> taksonomisi	3
Tablo 3.1: <i>Enterobacteriaceae</i> için EUCAST'e göre GSBL disk difüzyon yöntemi	28
Tablo 3.2: Karbapenemaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i> için klinik sınır değer ve tarama eşik değeri tablosu	29
Tablo 3.3: Primerlerin gen bölgelerine özgü çalışma standartları	31
Tablo 3.4: RT-PCR mix karışımları	32
Tablo 3.5: PCR çalışma protokolü	33
Tablo 4.1: GSBL ve Karbapenemaz pozitif <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının antibiyotik duyarlılık yüzde (%) dağılımı.	36
Tablo 4.2: GSBL ve karbapenemaz pozitif <i>K.pneumoniae</i> suşlarının antibiyotik duyarlılıkları.	37
Tablo 4.3: GSBL pozitif ve karbapenem dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarında karbapenemaz enzimlerinin yüzdelik (%) dağılımı	39
Tablo 4.4: <i>K. pnueumoniae</i> izolatlarında karbapenemaz enzimlerinin birlikte veya tek başına bulunma durumları.	40
Tablo 4.5: <i>K. pnueumoniae</i> izolatlarında karbapenemaz enzimlerinin (KPC, OXA-48, NDM, VIM ve IMP) varlığı	41
Tablo 4.6: Cinsiyete göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)	43
Tablo 4.7: 60 yaş alt ve üstüne göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)	43

Tablo 4.8: YBÜ'lerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (Sadi Sun ve İç Hastalıkları YBÜ alınmıştır)	44
Tablo 4.9: Örnek türlerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)	44
Tablo 4.10: Solunum yolu örneklerinin kendi içinde istatistiksel olarak karşılaştırılması (ETA ve diğerleri) (n:75).....	45



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
bç	: Baz çifti
β	: Beta
°C	: Santigrat Derece
Ct	: Döngü eşiği
g	: Yer çekimi (santrifüjün bağıl kuvvet göstergesi)
H ₂ O	: Su
I	: Intermediate
mm	: Milimetre
μ g	: Mikrogram
μ g/L	: Mikrogram bölü litre
μ L	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar
nM	: Nanomolar
pH	: Hidrojen gücü
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
xg	: Yer çekimi (santrifüjün bağıl kuvvet göstergesi)
Zn ⁺²	: Çinko iyonu

Kısaltmalar	Açıklama
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AK	: Amikasin
AM	: Ampisilin
AMC	: Amoksisilin/Klavulanik asit
AmpC	: Ampisilin sınıf C β -laktamaz
Ar-Ge	: Araştırma ve Geliştirme
BÖPL	: Bakteriyel Öncelikli Patojenler Listesi
CAESAR	: Asya ve Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Merkezi

CAZ	: Seftazidim
CIP	: Sipprofloksasin
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CN	: Gentamisin
CT	: Kolistin
CTF	: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
CTX	: Sefotaksim
CTX-M	: Cefotaxime-Mediated β -laktamaz
CXM	: Sefuroksim
DHP-I	: Dehidropeptidaz I
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilen-Diamin-Tetra-Asetik asit
EMA	: The European Medicines Agency (Avrupa İlaç Ajansı)
ESBL	: Genişlemiş (Extended) Spektrumlu β -Laktamaz
ESKAPE	: <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> türleri
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FEP	: Sefepim
FOX	: Sefoksitin
GES	: Guiana Genişlemiş Spektrumlu β -laktamaz
GIM	: Geneve İmipenemase
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz
IMI-1	: İmipenem hidrolizleyen β -laktamaz-1
IMP	: İmipenemaz Metallo- β -laktamaz
IPM	: İmipenem
İÜC	: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemazları
LEV	: Levofloksasin
LFIAs	: Lateral Flow İmmünoassays
LPS	: Lipopolisakkarit
MALDI-TOF MS	: Matriks-destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyonu Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi
MBL	: Metallo- β -Laktamaz

MEM	: Meropenem
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MİO	: Motility (hareket), İndol, Ornitin
NDM	: New Delhi Metallo- β -laktamaz
NmcA	: Non-metallo enzim karbapenemaz A
OMP	: Dış zar proteinleri
OXA-48	: Oksasilinazlar-48
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Proteinler
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Rekombinant Deoksiribo Nükleik Asit
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SFC-1	: Serratia fonticola karbapenemaz-1
SHV	: Sulfhydryl Variable β -laktamazlar
SIM	: Serratia Imipenamase
SME	: Serratia mercescens enzimi
SPM	: Sao Paulo Metallo- β -laktamaz
SXT	: Trimetoprim/Sülfametoksazol
TEM	: Temoniera β -laktamaz
TPZ	: Piperasilin/Tazobaktam
TSB	: Tryptic Soy Broth
VIM	: Verona İntegron kodlu Metallo- β -laktamaz
YBÜ	: Yoğun Bakım Üniteleri

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[ESBL pozitif ve Karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Saptanması]

[Büşra KAYIN]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

[Danışman: Doç. Dr. Yavuz UYAR]

[Antimikrobiyal direnç, dünyada ve ülkemizde ciddi bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2024 yılı listesinde ilk sırada karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* yer almaktadır. *K.pneumoniae*, YBÜ hastalarında önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan enfeksiyon etkenidir. Bu tez çalışmasına, YBÜ'lerinde yatan hastaların solunum yolu ve kan örneklerinde üreyen Karbapenemlere dirençli ve ESBL pozitif olan *K.pneumoniae* suşları alındı. PCR yöntemiyle direnç oluşturan KPC, NDM, OXA-48 ve VIM enzimlerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya, 2023 yılı içinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde yatan 75 hastanın solunum yolu (endotrakeal aspirat, bronko-alveolar lavaj, balgam) ve hemokültür örnekleri dahil edildi. Bu örneklerden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının tanımlaması için konvansiyonel kültür yöntemlerinin (Kanlı agar, chromoagar, MİO besiyeri) yanı sıra Vitek2 Compact (Biomerieux) ve Maldi-Tof (Bruker) otomatize sistemleri de kullanıldı. Üreyen bakteriler çalışmanın yapılacağı güne kadar -80 °C derin dondurucuda triptik soy broth agar besiyeri içinde saklandı. Daha sonra, saklanan bu örnekler pasajlandı ve

üreyen *K.pneumoniae* izolatları önce ekstraksiyona tabi tutuldu, ardından direnç oluşturan KPC, NDM, OXA-48 ve VIM enzimleri her biri ayrı bir deneyde Real Time PCR yöntemiyle araştırıldı.

75 hastanın 47'si (%62,7) erkek ve 28'i (%37,3) kadındı. Hastaların yaş aralığı 20 yaş ile 93 (62,56 $\pm$ 18,29) yaş arasında değişmekteydi. Numunelerin 42'si (%56) solunum yolu örneği (BAL, ETA, balgam, vb.) ve 33'ü (%44) ise hemokültür örneğinden oluşmaktaydı. Karbapenem grubundan imipeneme %52,0 dirençli, %48,0 duyarlı; meropeneme %90,7 dirençli, %9,3 duyarlı olarak belirlendi. Karbapenemaz enzimlerinin bulunma oranları; NDM %92, OXA-48 %84, KPC %81,3 ve VIM %78,7 olarak belirlendi. Karbapenemaz enzimlerinin birlikte olarak bulunma durumları; KPC+OXA-48+NDM+VIM varlığı %70,7, OXA-48 + NDM varlığı %8,0, KPC+OXA-48+NDM varlığı %5,3, KPC+NDM+VIM varlığı %5,3 olarak bulunmuştur. VIM %2,7 ve NDM tek başına %2,7 olarak bulunmuştur. Dört örnekte araştırılan enzimlerin hiçbirisi saptanmadı (%5,3). Cinsiyet, 60 yaş altı ve üstünde olmak ve hastanın yattığı YBÜ'ne göre incelendiğinde; karbapenemaz enzim varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Karbapenemaz üreten bakterilerin neden olduğu YBÜ enfeksiyonları konusunda dikkatli olmak gereklidir. Hastanelerin aralıklı olarak karbapenemaz üreten bakteriler yönünden kesitsel süveyans yapmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz. |

Nisan 2025 , |86,| sayfa.

Anahtar kelimeler: | karbapenem direnci, karbapenemaz enzimi, ESBL üretimi, *Klebsiella pneumoniae*, yoğun bakım ünitesi

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

[Detection of Carbapenem Resistance in ESBL-positive and Carbapenemase-producing
Klebsiella pneumonia strains using Phenotypic and Molecular Methods]

[Büşra KAYIN]

İstanbul University-Cerrahpaşa
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Microbiology Programme

[Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yavuz UYAR]

[Antimicrobial resistance is a serious health problem in the world and in our country. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* is at the top of the World Health Organization's 2024 list. *K. pneumoniae* is an infectious agent that causes significant mortality and morbidity in ICU patients. Carbapenem-resistant and ESBL-positive *K. pneumoniae* strains grown in respiratory tract and blood samples of patients hospitalized in ICUs were included in this thesis study. It was aimed to investigate the resistance-inducing enzymes KPC, NDM, OXA-48 and VIM by PCR method.

The study included respiratory tract (endotracheal aspirate, broncho-alveolar lavage, sputum, etc) and hemoculture samples of 75 patients hospitalized in the Intensive Care Units of Cerrahpaşa Medical Faculty Hospital in 2023. In addition, to conventional culture methods (Blood agar, chromoagar, MIO medium), Vitek 2 Compact (Biomérieux) and Maldi-Tof (Bruker) automated systems were also used to identify of *K. pneumoniae* isolates. The grown bacteria were stored in tryptic soy broth agar medium in a -80 ° C deep freezer until the day of the study. Then, these storage samples were passaged and the grown *K. pneumoniae* isolates

were first subjected to extraction. Then, the resistance-inducing KPC, NDM, OXA-48 and VIM enzymes were investigated by Real Time PCR method in each separate experiment.

Of 75 patients, 47 (62.7%) were male and 28 (37.3%) were female. The age range of the patients ranged from 20 to 93 (62.56 ± 18.29) years. 42 (56%) of the samples were respiratory tract samples (BAL, ETA, sputum, etc.) and 33 (44%) were hemoculture samples. From the carbapenem group, imipenem was determined as 52.0% resistant, 48.0% susceptible; meropenem was determined as 90.7% resistant, 9.3% susceptible. The rates of carbapenemase enzymes were determined as NDM 92%, OXA-48 84%, KPC 81.3% and VIM 78.7%. The co-occurrence of carbapenemase enzymes; The presence of KPC+OXA-48+NDM+VIM was found to be 70.7%, OXA-48 + NDM was found to be 8.0%, KPC+OXA-48+NDM was found to be 5.3%, KPC+NDM+VIM was found to be 5.3%. VIM was found to be 2,7% and NDM alone was found to be 2,7%. None of the enzymes investigated were detected in the four samples (5.3%). When examined according to gender, being under and over 60 years of age and the ICU where the patient was admitted; no statistically significant difference was found in terms of the presence of carbapenemase enzyme ($p>0.05$).

It is necessary to be careful about ICU infections caused by carbapenemase-producing bacteria. We believe that it is important for hospitals to conduct cross-sectional surveillance for carbapenemase-producing bacteria at regular intervals.

April 2025, 86. pages.

Keywords: carbapenem resistance, carbapenemase enzyme, ESBL production, *Klebsiella pneumoniae*, intensive care unit

1. GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç, bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de ciddi bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) yeni antibiyotiklerin Ar-Ge yatırımlarını yönlendirmek amacıyla halk sağlığını tehdit eden organizmalardan oluşan Bakteriyel Öncelikli Patojenler Listesi (BÖPL)'ni 2017 yılında yayınlanmıştır. Bununla birlikte, bakteriyel direncin hızlı bir şekilde gelişmesi BÖPL'nin güncellenmesini gerektirmiştir. 2024 yılında güncellenen ve listede "ilk sırada" karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumonia*) yer almaktadır ¹.

K. pneumoniae, Enterobacterales takımında yer alan Gram negatif bir çomaktır. Esasen sağlıklı insan mikrobiyomunun bir parçası olan bu mikroorganizma bağırsakta ve vücudun diğer bazı bölgelerinde kolonize halde bulunmaktadır ². İnsanda *Klebsiella* cinsinin oluşturduğu enfeksiyonların %70'inden sorumlu türdür ³. Nekrotizan pnömoni, piyojenik karaciğer apsesi, endolftami ve üriner sistem enfeksiyonu gibi ciddi toplum kaynaklı enfeksiyonlar ve özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde, sepsis, kateter ilişkili enfeksiyonlar ve cerrahi alan enfeksiyonları gibi komplike ve tedavisi zor nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumludur ^{3 4}.

Karbapenemler, geniş spektrumlu antibakteriyel etkinlik gösteren ve metallo- β -laktamaz (MBL) ve geniş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) gibi çoğu β -laktamazlara karşı korumada kanıtlanmış etkinliğe sahip bakterisidal özellik gösteren β -laktam antimikrobiyallerdir⁵. Son yıllarda, GSBL üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde, az sayıdaki etkili ajanlar arasında en güvenilir seçenek olarak karbapenemlerin kullanılması bu ilaç grubuna da direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının görülmeye başlamasıyla birlikte tedavi seçenekleri kısıtlanmış ve ne yazık ki, morbidite ve mortalitede de artışlar görülmüştür ^{6 7}.

Yoğun bakım üniteleri (YBÜ) hayati tehlike oluşturan durumlarda hastalara ciddi destek sağlayan birimlerdir. YBÜ, kataterler ve ventilatörler gibi invaziv tıbbi cihazların geniş ölçüde kullanımını gerektirmektedir. Bu tip invaziv işlemler, YBÜ hastalarını hastane ortamındaki patojenlere maruz bırakmaktadır. *K. pneumoniae*, YBÜ hastalarında enfeksiyon etkeni patojenler arasında yer alan önemli mikroorganizmalardan birisidir. *K. pneumoniae*'nin

karbapenemlere karşı direnç geliştirmesiyle birlikte, özellikle YBÜ hastalarında hastanede ortalama kalış süresinin uzaması ve yüksek mortalite ve morbidite ile ilişkisi dünya genelinde ciddi bir sağlık tehdidi olarak görölmektedir ⁸.

K. pneumoniae'da karbapenem antibiyotiklere karşı direnç gelişimi; a) eflüks pompalarının aşırı üretimi, b) porin proteinlerinde meydana gelen mutasyonlar ve c) enzim üretimi şeklinde görölmektedir. Enzim üretimi, aralarında en sık rastlanan direnç mekanizmasıdır. Karbapenemaz enzimleri, moleküler sınıflandırma birimi olan Ambler sınıflandırmasına göre sınıf A'da KPC, sınıf B'de NDM, IMP ve VIM ve sınıf D'de OXA-48 olarak sınıflandırılmaktadır ⁶.

Yapılması hedeflenen bu tez çalışmasında, Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşları kullanılacak olup karbapenem grubu antibiyotikleri hidrolize ederek direnç gelişimine neden olan karbapenemaz enzimlerinin üretimini sağlayan genler araştırılacaktır. Çalışmada, İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Hastanesi YBÜ'nde, 2023 yılında yatan hastaların, solunum yolu ve kan kültürü (hemokültür) örneklerinden izole edilen 75 *Klebsiella pneumoniae* izolatu, enzim üretiminin tespiti için fenotipik yöntemlerden olan konvansiyonel kültür ve antibiyogram çalışmaları ile beraber moleküler yöntemler kullanılacaktır. Çalışmaya nozokomiyal enfeksiyon tanısı almış olan her yaş grubundan ve cinsiyetten hastaların kan ve solunum yolu örnekleri dahil edilecektir. Direncin oluşmasına neden olan ve en yaygın saptanan enzimler olan KPC, NDM, IMP, VIM, OXA-48 enzimleri bu tez çalışmasında incelenecektir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. KLEBSIELLA PNEUMONIAE

2.1.1. Etimoloji ve Taksonomisi

Klebsiella pneumoniae, ilk kez 1882 yılında Carl Friedlander tarafından zatürreden ölenlerin akciğerlerinden kapsüllü, basil türünde bir bakteri olarak tanımlandı. Önceleri Friedlander basili olarak adlandırılan bakteri 1886 yılında *Klebsiella* adını almıştır ⁹. *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan *K. pneumoniae* daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile 16S rDNA dizi analizine tabi tutulup incelenmiş ve homolog DNA'lara sahip farklı biyokimyasal özellikteki alt tipleri gösterilmiştir. Bu alt tipler; *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp. ozaenae*, *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*'tir ^{10 11}. *K. pneumoniae*'nin sınıflandırması Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

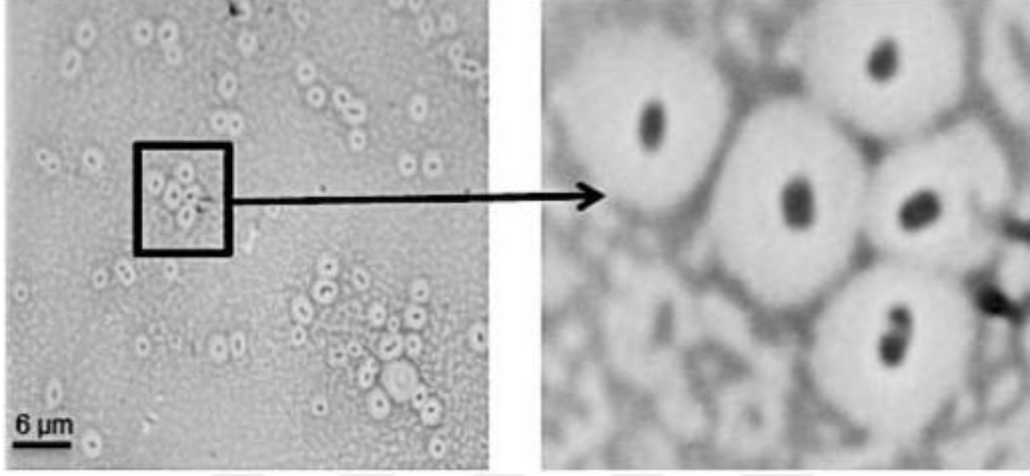
Tablo 2.1: *K. pneumoniae* taksonomisi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>)

Alem	Bacteria
Şube	Proteobacteria
Sınıf	Gammaproteobacteria
Takım	Enterobacterales
Aile	Enterobacteriaceae
Cins	Klebsiella
Tür	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

2.1.2. Morfoloji ve Mikrobiyolojisi

Klebsiella pneumoniae, Gram negatif, kapsüllü, hareketsiz ve spor oluşturmeyen bir bakteridir. Yaklaşık 1-2 µm × 0,5-0,8 µm boylarında kısa ve düz çubuk şeklindedir. Genelde

tek ya da çiftler halinde düzenlenmişlerdir. Yeni izole edilmiş suşların Gram boyalı preparatlarında, basillerin etrafında hale şeklinde görülebilen belirgin, bir polisakkarit kapsül yapısına sahiptir. Ekstraselüler polisakkaritlerin gevşek bir yapıda birikmesi, *Klebsiella* kolonilerine mukoid bir görünüm vermiştir ¹².



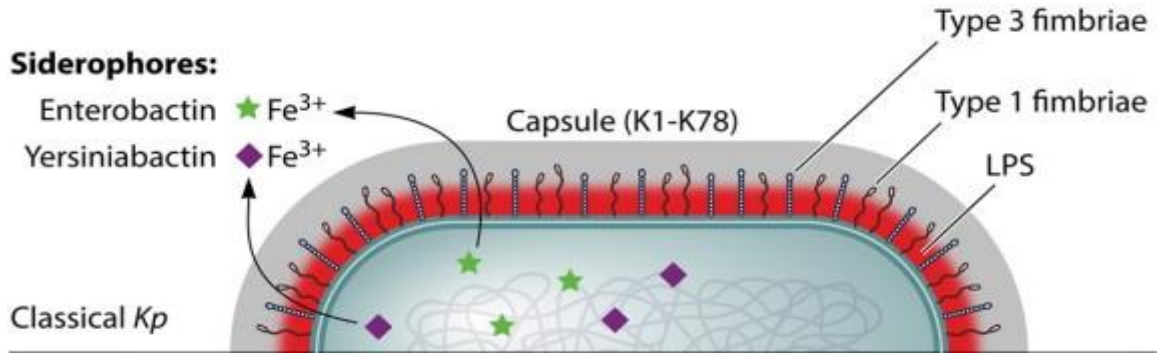
Şekil 2.1: *Klebsiella pneumoniae* mikroskop görüntüsü ¹³

Klebsiella türleri toprak, su, bitkiler, hayvanlar ve insanlar dahil olmak üzere doğada her yerde bulunan mikroorganizmalardır. İnsanlarda patolojiye neden olmadan mukozal yüzeylerde kolonize olan, fırsatçı patojen olarak bulunan bakteri, mukozalardan vücuda yayılıp pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları ve sepsis gibi yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlar genelde hastanede yatan veya bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülmektedir ^{14 15}.

Klebsiella pneumoniae, 37 °C’de besiyerlerinde iyi üreyen bir bakteridir. Genel üretici besiyerinde büyük, kubbe şeklinde, mukoid koloniler oluşturur. MacConkey Agarda laktozu fermente eden kırmızı koloniler üretir. Üreaz testi pozitif, indol testi negatif değerlidir ¹².

2.1.3. Virülans Faktörleri

Klebsiella pneumoniae, fırsatçı bir patojen olarak kabul edilmesine rağmen hem konakçısını enfekte etmesine hem de konakçının bağışıklık yanıtına karşı direnç göstermesine olanak tanıyan ve aynı zamanda şiddetli hastalıklara neden olan bir dizi virülans faktörüne sahiptir ¹⁶. Bu virülans faktörleri; kapsül, lipopolisakkarit, fimbria ve sideroforlarıdır.



Şekil 2.2: *Klebsiella pneumoniae*'nin virülans faktörleri ¹⁷

2.1.3.1. Kapsül

Kapsül, bakterinin etrafını saran ve kalın lifli bir yapı oluşturan, suş-spesifik polisakkaritlerden oluşan bir ekstraselüler matrikstir. *K. pneumoniae*'nin ürettiği kapsüller polisakkaritler K antijenleri olarak adlandırılmaktadır. Bu antijenler geleneksel olarak serolojik tekniklerle suşun tanımlanmasında kullanılmaktadır ¹⁶. K2 antijenleri insanları enfekte eden en yaygın serotip iken K1 ve K2 serotipleri ise bakteremi ile ilişkilendirilmektedir ¹².

2.1.3.2. Lipopolisakkarit (LPS)

Lipopolisakkarit yapısal olarak, O-antijeni, çekirdek polisakkariti ve lipid A olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır ¹⁸. LPS'nin *K. pneumoniae* enfeksiyonundaki esas rolü, O antijenin kompleman bileşeni C3b'yi bakteriyel membrandan uzaklaştırmak suretiyle membran saldırı kompleksi C5b-9'un oluşumunu engelleyerek bakteri hücrelerine kompleman aracılı lisise karşı koruma sağlamaktır ¹⁶.

2.1.3.3. Fimbria

Fimbria, bakteri hücresinin konak yüzeylerine bağlanmasını sağlayarak invazyonu kolaylaştıran, membranda bulunan iplikli yapılardır. *K. pneumoniae*'de iki tip fimbria bulunmaktadır. Filamentöz yapıda olan Tip1 fimbria ve heliks yapıda olan Tip3 fimbriadır. Tip1 fimbrialar mesane ve idrar yolunda eksprese edilirken gastrointestinal sistem ve akciğerlerde bulunmaz. Tip3 fimbrialar ekstraselüler matrikslere ve kateterlere bağlanırlar. Ayrıca biyofilm oluşumunda önemli rolleri bulunmaktadır ¹⁶.

2.1.3.4. Siderofor

K. pneumoniae gelişimini tamamlayıp çoğalabilmek için çevresinden demir almak zorundadır. Memeli konaklarındaki serbest demir miktarı çok az olduğundan, bakterinin sideroforları üretmesi gerekmektedir. Sideroforlar, transferrin gibi memelilerin demir taşıma

moleküllerine kıyasla demire çok daha yüksek bir afiniteye sahip olan moleküllerdir. Bu özellik, bakterinin hızlı büyümesi ve invazyon için gerekli olan demiri temin etmeyi sağlamaktadır. *K. pneumoniae* tarafından üretilen birincil siderofor enterobaktindir. Enterobaktin, patojenik suşların çoğundan eksprese edilmekle birlikte salmochelin, yersiniabactin, colibactin ve aerobactin de diğer üretilen sideroforlar arasında yer almaktadır¹⁶.

2.1.4. *Klebsiella pneumoniae*'nin Neden Olduğu Hastalıklar ve Hastane Enfeksiyonları

Enterobacteriaceae ailesi içerisinde yer alan *Klebsiella* spp., saprofit özellikle bir cinstir. Bu cinsin insanda oluşturduğu hastalıkların %70'inden sorumlu olan türü ise *K. pneumoniae*'dir. Bu bakteri, gastrointestinal sistemde, nazofarenkste ve deride kolonize halde bulunmaktadır³. *K. pneumoniae*, YBÜ'nden en sık izole edilen, solunum yolu enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, yara ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olan, ayrıca katater ilişkili enfeksiyonlar, cerrahi alan enfeksiyonları, sepsis gibi komplike ve tedavisi zor olan enfeksiyonlardan ve toplum kökenli pnömonilerden sorumlu bir bakteridir⁴. Hastanede yatan hastalarda görülen enfeksiyon etkenleri olarak bilinen ESKAPE patojenlerinden olan *K. pneumoniae*, sıklıkla çoklu ilaca dirençle ilişkilendirilmektedir¹⁹.

Hastane kaynaklı enfeksiyonlara, hastaların birbirleriyle teması sonucu kişiden kişiye bulaş, sağlık çalışanlarının elleriyle hastalar arasında bulaş, steril olmayan aletler ve kirlenmiş yüzeyler neden olmaktadır¹⁴. Hastane enfeksiyon etkeni bir bakteri olan *K. pneumoniae*, tipik olarak hastanede yatan veya bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde enfeksiyona neden olan fırsatçı bir patojen olarak bilinmektedir¹⁴. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de yapılan bir çalışmada, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak *Clostridium difficile* ve *Staphylococcus aureus*'un ardından üçüncü sırada %9,9 oranıyla tanımlanmıştır²⁰.

K. pneumoniae, *E. coli*'nin ardından Gram negatif bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarında ikinci öncelikte yer almakta, idrar yolu enfeksiyonlarında ise yaklaşık %6-17 oranında etkinlik göstermektedir^{21 14}. Hastaneye yatıştan 48 saat sonra ortaya çıkan hastane kaynaklı pnömoni etkenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. İdrar yolu enfeksiyonları ve katater ilişkili idrar yolu enfeksiyonları *K. pneumoniae*'nin en yaygın enfeksiyon bölgelerindendir. Ayrıca YBÜ'ndeki hastalarda ventilatör ilişkili pnömonilerin önde gelen nedenlerinden biridir¹⁴.

2.1.5. Epidemiyolojisi

K. pneumoniae için toprak, su ve bitkiler rezervuar görevi görürken, insanda kolonizasyonu ve enfeksiyon yoluyla edinilmesiyle birlikte insan da bu bakteri için ana rezervuar kaynağı olarak görülmektedir ¹⁴. Genel toplumda bireyler, organizmayı %5-38 oranında dışkılarında ve %1-6 oranında nazofarenkslerinde taşımaktadır ⁹. Hastanede yatan hastalarda *K. pneumoniae* taşıyıcılık oranı toplumdaki bireylerden çok daha yüksektir ⁹. Yapılan bir çalışmada, hastanede yatanların gastrointestinal kolonizasyonunun %20 civarında olduğu saptanmıştır ²².

Türkiye'de 24 hastanenin çeşitli klinik örneklerinin dahil edildiği çok merkezli bir çalışmada, sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonların antimikrobiyal direnç oranları ve 30 günlük ölüm oranları analiz edilmiştir. Bu analiz çalışmasında *K. pneumoniae* için 30 günlük ölüm oranı pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonu, 65 yaş üzeri olması ve karbapenem direnciyle ilişkili olduğu bulunmuştur ²³. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada, YBÜ'nde Gram negatif bakterilerin neden olduğu sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda *K. pneumoniae* %27 oranıyla ikinci en yaygın etken olduğu ve karbapenem direnç oranının %40 olduğu bulunmuştur ²⁴.

Türkiye'de Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı, Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnci'nin 2023 rapor bilgileri, *Klebsiella* cinsinin insanda görülen, tüm enfeksiyon etkenleri arasında %24,4'ünü, pnömonilerin %29,1'ini, ventilatör ilişkili pnömonilerin %25,2'sini, üriner sistem enfeksiyonlarının %33,6'sını, kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının %33,5'ini, kan dolaşımı enfeksiyonlarının %20,1'ini oluşturduğunu göstermektedir ²⁵.

CAESAR 2023 Antimikrobiyal Direnç Sürveyans raporunda, *K. pneumoniae*'da görülen karbapenem direnç oranlarının ülkelere göre dağılımı incelendiğinde, Türkiye'de *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncinin yaklaşık %25 olduğu görülmektedir. 2021 yılının verileriyle hazırlanan bu raporda, Türkiye'de YBÜ'nde yatan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının %58 oranında olduğu bildirilmiştir ²⁶.

2.1.6. Tedavisi ve Antibiyotik direnci

Karbapenemaz üreten Gram negatif bakteriler hemen hemen tüm β -laktamlara dirençli olmakla birlikte yaygın olarak florokinolonlara ve aminoglikozidlere karşı direnç mekanizmalarını kodlayan genlere de sahiptir. Klinisyen, laboratuvarın antimikrobiyal

duyarlılık raporuna göre şu şekilde tedavi seçenekleri sunabilmektedir: a) Polimiksin E (kolistin), gentamisin, tigesiklin ve fosfomisin gibi monoterapi uygulamaları, b) karbapenem içermeyen kombinasyon tedavisi, c) tercihen karbapenemin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri ≤ 4 mg/L olduğunda, en az bir karbapenem içeren iki veya daha fazla ilaçla kombinasyon tedavisidir. Son seçenek mevcut çalışmalara göre ölüm oranı açısından en etkili seçenek olarak kabul edilmektedir ²⁷.

Ampisiline doğal dirençli olduğu bilinen *K. pneumoniae*, antibiyotiklere karşı direnç geliştirme eğilimi yüksek olan bir bakteridir. *K. pneumoniae* infeksiyonlarının tedavisinde çoğunlukla aminoglikozid ve sefalosporin grubu antibiyotikler tercih edilmektedir. Fakat, *K. pneumoniae*'nın GSBL enzimleri üretmesiyle sefalosporinlere karşı direnç gelişimi görülmekte ve bu ajanların kullanımını sınırlamaktadır ²⁸. GSBL enzimleri çoğunlukla plazmidlerde kodlanmaktadır. Oksiimino sefalosporinlerden olan sefotaksim, seftriakson ve seftazidim ile aztreonam gibi monobaktamları hidrolize eden GSBL enzimleri, *K. pneumoniae*'da çokça üretilmekte olup β -laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmaktadır ²⁹.

Türkiye'de *K. pneumoniae* izolatlarındaki direnç oranları sırasıyla, üçüncü kuşak sefalosporinlere %75,4, kinolonlara %68, aminoglikozidlere %43,1 ve bu üç ilaç grubuna da dirençli izolatların oranı ise %38,7'dir. Çoklu ilaca direncin artması tedavi seçeneklerini kısıtlamakta ve karbapenemlerin son çare olarak kullanımına neden olmaktadır ³⁰. Karbapenemler 1990'lı yıllarda GSBL üreten *K. pneumoniae* tedavisinde tercih edilen ilaçlar olmuştur. Karbapenemlerin tedavide kullanılmasıyla birlikte karbapenem dirençli *K. pneumoniae* vakalarında artışlar dikkat çekici hale gelmiştir ³¹. Halk sağlığını tehdit eden mikroorganizmalardan biri olan karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*, 2024 yılında yayınlanan DSÖ'nün kritik öncelikli patojenler listesinde yer almaktadır ¹.

Son zamanlarda, alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak üçüncü nesil sefalosporin ile sentetik bir laktamaz inhibitörünün bir kombinasyonu olan seftazidim/avibaktam (CAZ-AVI), ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından tedavi için onay almıştır. *Enterobacteriaceae* gibi gram negatif bakterilere karşı etkinlik göstermektedir. Ayrıca GSBL üreten *K. pneumoniae* karbapenemazları ve Ampisilin sınıf C β -laktamaz (AmpC)'ı hedef almaktadır. Veriler, avibaktam eklenmesinin seftazidimin etkinliğinin (4 ila 1024 kat MİK düşüşü olduğu) çoğu *Enterobacteriaceae* türüne karşı genişlettiğini göstermiştir ³².

2.2. ANTİBAKTERİYEL İLAÇLAR

Antibiyotikler, mikroorganizmalar tarafından üretilen bakterisidal veya bakteriyostatik özellik gösteren kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır. 1928 yılında, Alexander Fleming *Penicillium notatum* adı verilen mantar türünün bakterilerin üremesini engellediğini keşfetmiştir. Ernst Boris Chain ve Lord Howard Florey, Fleming'in çalışmalarını devam ettirerek 1940 yılında penisilinin izolasyonunu ve endüstriyel ölçekte üretimini başarmışlardır³³. Antibiyotikler bakteride etki ettikleri bölgelere göre şu şekilde sınıflandırılmıştır³⁴:

- Hücre duvarı sentez inhibitörleri
 - Beta-Laktamlar, Glikopeptidler, Lipopeptidler, Polipeptidler, İzoniazid, Etiyonamid, Etambutol ve Sikloserin
- Protein sentez inhibitörleri
 - Aminoglikozidler, Tetrasiklinler, Glisilsiklinler, Oksazolidinonlar, Kloramfenikol, Makrolidler, Ketolidler, Klindamisin ve Streptograminler
- Nükleik asit sentez inhibitörleri
 - Kinolonlar, Rifampin ve Rifabutin, Metranidazol
- Antimetabolitler
 - Sülfonamidler, Dapson, Trimethoprim

Ayrıca bir de hücre membranının yapısını bozan antibiyotiklerin olduğu grup vardır. Kolistin antibiyotik ajanı bu grupta yer almaktadır. Kolistin katyonik bir deterjan etkisi göstererek hücre zarının ozmotik özelliklerini değiştirmektedir. Bunun sonucu olarak ozmotik dengesi bozulan hücre, hücre içi maddelerin dışarıya geçmesi ya da tersi durumunda ölümle sonuçlanmaktadır³⁵.

2.2.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-Laktam antibiyotikler, kimyasal yapılarında β -Laktam halkası içeren, yapısal olarak ilişkili ve bakterisidal (bakteri öldürücü) özellik gösteren bir ilaç grubudur. Beta-laktam antibiyotikler, hücre duvarı sentezi sırasında penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanıp hücre duvar yapısını bozarak bakteri hücresinin ölümüne neden olmaktadır. Bu antibiyotikler,

β -laktam farmakofor ünitesine bağlı olarak halkaların kimyasal yapısına ve halkaların non-koplanar bisiklik yapılar oluşturma durumuna göre alt sınıflara ayrılmıştır ³³. Bu sınıflandırma şu şekildedir ³⁶:

- Penisilinler
 - Penisilinlerin temel yapısı, laktam halkası ve tiazolidin halkasından oluşan 6-aminopenisillanik asit adı verilen bir bileşiktir. Bu temel yapının etrafında antibiyotiğin etkinlik spektrumunu belirleyen, farklı özelliklere sahip çeşitli yan zincirler bulunmaktadır.
 - Penisilinler, doğal penisilinler, β -laktamaz dirençli ajanlar, aminopenisilinler, karboksipenisilinler, üreidopenisilinler olarak alt sınıflara ayrılmıştır ³⁶.
- Sefalosporinler
 - Sefalosporinler, 7-aminosefalosporanik asit adı verilen bir bileşikten türetilmiştir. Antibiyotiğin bakteriyel hücre duvarı sentezine müdahale etmesini sağlayan β -laktam ve 3,6-dihidro-2H-1,3-tiyazan halkalarından oluşan yan zincirleri, antibiyotiğin etkinlik spektrumunu ve direnç özelliklerini belirlemektedir ³⁶.
- Karbapenemler
 - Karbapenemler, β -laktam halkasıyla karbapenem halkasının birleşmesiyle oluşan antibiyotiklerdir. Karbapenemlerin tanımlayıcı yapısı olan karbapenem halkası onları diğer β -laktam antibiyotiklerden ayıran önemli bir özelliktir. Bu özellik karbapenemleri β -laktamaz enzimlerine karşı oldukça etkili kılmıştır ³⁶.
- Monobaktamlar
 - Monobaktamların β -laktam halkasının tek başına durması ve diğer halkalarla birleşmemesi onu yapısal olarak diğer β -laktam antibiyotiklerden ayırır.
 - Bir monobaktam olan aztreonam, özellikle aerobik Gram negatif bakterilerde etkinlik gösteren geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Ancak Gram pozitif ve anaerobik bakterilere karşı etkili değildir ³⁶.

- Beta-Laktamaz inhibitörleri

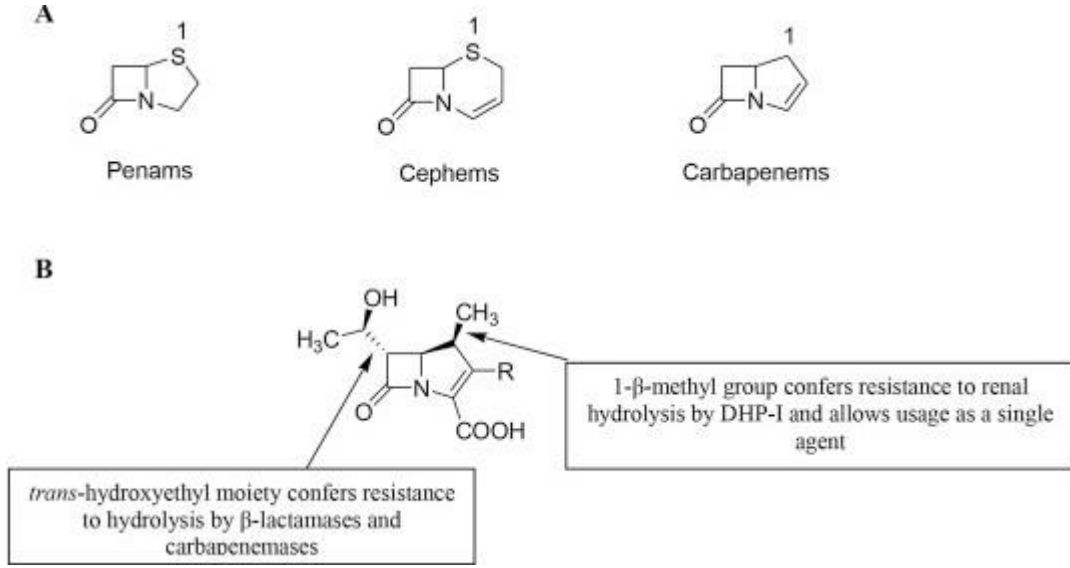
- Özellikle Gram negatif bakterilerde, öncelikli olarak β -laktam halkasını hidrolize ederek etkisiz hale getiren enzimler olan serin beta-laktamazların etkinliğini bozan bir grup ilaçtır.
- Bu ajanlar arasında birinci nesil beta-laktamaz inhibitörleri; klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam ve *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC) gibi karbapenemaza karşı aktif olan yeni nesil beta-laktamaz inhibitörleri; avibaktam ve varobaktam yer almaktadır ³⁶.

2.2.2. Karbapenemler

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin peptidoglikan sentezini inhibe eden bileşikler üretmek için toprak mikroorganizmalarının taranması sırasında, *Streptomyces cattleya* adı verilen bir bakterinin doğal olarak ürettiği thienamycin adlı bileşik ilk karbapenem olarak bildirilmiştir ³⁷. Tienamisin bileşiğinin suda karsız olması klinik olarak kullanımını sınırlandırmıştır. Bunun yerine, imipenem adı verilen N-formimidoil türevinin yarı sentetik üretilmesi sayesinde bu sorun aşılmıştır ³⁸.

Karbapenemler, yapısal olarak penisilinlere benzemektedir. 5 üyeli halka yapısından oluşan karbapenemler, β -laktam halkasıyla birleşmiş doymamış özellikte, çift bağ yapısından oluşmaktadır. Karbapenemlerin yapısında bulunan C1'deki sülfür atomunun yerini karbon atomu almıştır ve C2-C3 arasında çift bağ yapısı bulunmaktadır (Şekil 1A). Karbapenemlerin penisilinlerden ve sefalosporinlerden farklı olan bu yapısı, karbapenemlerin etkinliğini, etki spektrumunu ve β -laktamazlara karşı stabilitesini önemli ölçüde etkilemektedir ³⁹.

Karbapenemlerin β -laktam halkalarında asilamino yerine trans-1-hidroksietil grubu bulunmaktadır (Şekil 2.3 B). Bu yapı, β -laktamazlar ve karbapenemazlar tarafından hidrolize karşı direnç göstermede rol oynar ve stereokimyasının etkinliğinde kritik öneme sahiptir ³⁹.



Şekil 2.3: Karbapenemlerin kimyasal yapısı ³⁹.

Tienamisin bileşiğinden ilk geliştirilen ajan olan imipenem, böbrek tübüler dipeptidaz enzimi olan dehidropeptidaz I (DHP-I) tarafından parçalanmaktadır. Bu nedenle imipenem, böbreklerde parçalanmasını engelleyen, rekabetçi bir imipenem antagonisti olan silastatinle uygulanmaktadır ³⁸. Daha sonra geliştirilen ajanlarda yapıya eklenen 1- β -metil grubu, β -laktamın karbonil grubunu korumakta ve DHP-I tarafından hidrolizini engellemektedir (Şekil 2.3 B). Mevcut olarak klinikte kullanılan karbapenem antibiyotiklerin, C8'de R konfigürasyonuna sahip olması, potansiyellerinin artmasıyla ilişkilidir. C5-C6 pozisyonundaki trans konfigürasyon, β -laktamazlara karşı daha yüksek bir direnç göstermesine olanak tanımıştır ³⁸.

İmipenem/silastatin, meropenem, ertapenem ve doripenem gibi karbapenem antibiyotikler, mevcut olarak piyasada bulunan en son geliştirilen β -laktamlardır. Geniş bir aktivite spektrumuna sahip olan bu antibiyotikler genellikle çoklu ilaca dirençli patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadırlar ³⁸.

2.2.2.1. İmipenem

Streptomyces cattleya bakterisinden tienamisin bileşiğinin elde edilmesi ve takip eden süreçte bu bileşiğin suda kararsız yapısının gözlenmesiyle yeni bir bileşik olan yarı sentetik yapıdaki, N-formimidoil bileşiğinin türevi olan imipenem ilk olarak üretilen bir karbapenem antibiyotiktir ³⁸. İmipenemin yapısı, karbapenemlerin omurga yapısını içermektedir ancak 1- β -metil grubundan yoksundur. Bu yapısal farklılığı nedeniyle DHP-I enzimi tarafından hidroliz edilmektedir ki bunun için silastatin ile birlikte uygulanmaktadır ³⁹.

İmipenem sefalosporin dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar başta olmak üzere idrar yolu ve solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılan bir antibiyotiktir ³⁸. İmipenem özellikle karbapenemaz üretmeyen enterik bakterilerin tedavisinde, Gram pozitif, Gram negatif, nonfermentatif ve anaerobik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmıştır ⁴⁰.

2.2.2.2. Meropenem

Karbapenem iskeletine 1- β -metil grubunun eklenmesiyle DHP-I stabilitesinin *in vivo* artırılması ve anti-*Haemophilus influenza* etkinliğinin iyileştirilmesi sağlanmıştır ³⁹. Meropenem DHP-I enzimine karşı duyarlı olmadığından silastatin ile birlikte kullanımına gerek kalmamıştır. İmipenem ile karşılaştırıldığında, Gram pozitif bakterilere (özellikle *Enterococcus*) karşı daha az etkinlik gösterirken, Gram negatif bakterilere karşı ise daha fazla etkinlik göstermektedir. Meropenemin yan zincirinin 2. pozisyonunda bulunan pirolidinil ikamesi, Gram negatif bakterilere karşı gelişmiş aktiviteden ve DHP-I enzimine karşı stabiliteden sorumlu olduğu düşünülmektedir ³⁸.

Antibakteriyel etkinlik açısından meropenem, genellikle enterik bakterilere karşı imipenemden iki ila dört kat daha güçlüdür ayrıca *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkinliği de benzer durumdadır. Meropenem, meninkslerin içine mükemmel bir şekilde nüfuz etmesi nedeniyle menenjit tedavisinde onaylanan tek antibiyotiktir ⁴⁰.

2.2.2.3. Ertapenem

Ertapenem 2001 yılında geliştirilen parenteral, 1- β -metil yapısının bulunduğu bir karbapenemdir. Geniş spektrumlu bir β -laktam antibiyotiktir ve bakterisidal özellik göstermektedir. Ertapenem, diğer karbapenemlerde bulunan birçok faydalı yapıdaki özellikleri bulundurmamakla beraber meta-substitüe benzoik asit grubunu yapısında bulundurmasıyla diğer karbapenem üyelerinden farklılık göstermektedir. Bu ajan, penisilinazlar, sefalosporinazlar ve GSBL dahil olmak üzere çeşitli β -laktamazların hidrolizine karşı stabilite göstermektedir. Ayrıca, DHP-I enzimine karşı ise imipenemden daha dayanıklı olması, silastatin gibi bir inhibitörün kullanımını gerektirmez ⁴⁰.

Ertapenem, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*'ye karşı diğer karbapenemlere göre daha az aktiviteye sahip olmasına rağmen, toplum kökenli Gram pozitif koklar, Gram negatif basiller ve anaeroblara karşı yarılanma ömrünün uzun olması ve geniş spektrumlu aktivitesi nedeniyle özellikle ayaktan tedavilerde kullanılmaktadır ⁴¹. Ertapenem,

Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Derneğinin önerdiği üzere toplum kaynaklı intraabdominal hastalıkların ampirik tedavisinde birinci basamak tedavi seçeneklerinden biri olarak kabul edilmiştir ³⁸.

2.2.2.4. Doripenem

Doripenem, meropenem ile aynı yapıya sahip olup, meropenemdeki dimetil-karboksil zincirinin yerine sülfamoksil-aminometil zinciriyle yapılan küçük bir modifikasyonla farklılık göstermektedir. Doripenem, DHP-I karşı stabiliteye katkı sağlayan 1- β -metil grubunu yapısında bulundurmaktadır. Ayrıca doripenem, 6. pozisyonunda trans- α -1-hidroksietil sahip olup bu grup β -laktamazlara karşı stabilite sağlamaktadır ³⁹.

Doripenem, bu ilacı karbapenem sınıfının en üst sıralarına yerleştiren birçok benzersiz özellik barındıran yeni bir karbapenem antibiyotiktir. Gram pozitif bakterilere karşı imipenem kadar aktif olup, Gram negatif bakterilere karşı ise meropenemle benzer bir aktivite göstermektedir. Ayrıca 1- β -metil fonksiyonel grubunun varlığı nedeniyle silastatin ile birlikte uygulama gerektirmez. Doripenem, imipenem ve meropenemden daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir ³⁹. Doripenem, imipenem ve meropenem hastane kaynaklı yüksek risk taşıyan enfeksiyonlar ve toplum kaynaklı abdominal enfeksiyonlar için tercih edilmektedir ³⁸.

2.3. ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE DİRENÇ MEKANİZMALARI

Antimikrobiyal bileşiklerin keşfi, ticarileştirilmesi ve enfeksiyonları tedavi etmek için rutin kullanımı, modern tıbbi ve tedavi paradigmasını devrimsel bir şekilde değiştirmiştir. Antibiyotikler, ileri düzey cerrahi işlemler, organ nakilleri ve kanser tedavileri için en önemli tıbbi müdahalelerden biri haline gelmiştir. Fakat, yaygın bakteriyel patojenlerdeki antimikrobiyal dirençte gözlenen belirgin artış tedavi başarısını tehdit etmekte ve kritik hastaların başarılı tedavi sonuçlarını tehlikeye atmaktadır. Hatta öyle ki, DSÖ antibiyotik direncini 21. yüzyılın en önemli üç halk sağlığı tehdidinden biri olarak ilan etmiştir ⁴².

Evrimsel bir bakış açısıyla bakteriler antibiyotik saldırısına uyum sağlamak amacıyla iki temel genetik strateji kullanmaktadır. Bunlar, i) genellikle bileşiğin etki mekanizmasıyla ilişkili olan genlerdeki mutasyonlar ve ii) yatay gen transferi yoluyla direnç belirleyicilerini kodlayan yabancı DNA'nın edinilmesidir ⁴².

2.3.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Direnç Mekanizmaları

Beta-Laktamlar, diğer antimikrobiyal sınıflar gibi, etkinlik, etki spektrumu, farmakokinetik ve güvenlik profilleri gibi özellikleri iyileştirmek ve direnç gelişimini engellemek amacıyla ilk kez tanıtıldıkları andan itibaren sürekli bir geliştirme sürecinden geçmiştir. Bununla birlikte, diğer antimikrobiyal sınıflarında olduğu gibi β -laktamların yaygın bir şekilde kullanılması da direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur ⁴³. Gram pozitif bakterilerde β -laktamlara karşı direnç çoğunlukla hedef bölgelerdeki PBP'lerin modifikasyonları ile elde edilirken, Gram negatif bakterilerde görülen β -laktam direnci β -laktamaz üretimi ile sağlanmaktadır ⁴².

İlk keşfedilen β -laktam antibiyotik olan penisiline karşı doğal dirençli suşların izole edilmesi neredeyse penisilinin keşfiyle aynı döneme denk gelmektedir. Böyle bir direnç, bakteriyel evrim sırasında, diğer mikroorganizmalarla olan rekabetçi mücadelenin sonucunda koruyucu bir mekanizma olarak gelişmiştir. Klinik tıpta, veterinerlikte ve tarımda antibiyotiklerin sıklıkla ve kontrolsüz kullanımıyla mikroorganizmalar üzerinde oluşturulan baskı, çeşitli direnç mekanizmalarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu mekanizmalar, eflüks pompalarının ve porin proteinlerinin yapılarındaki değişiklikler ve antibiyotiklerin kendileri veya hedeflerinde meydana gelen değişikliklerden oluşmaktadır ⁴⁴.

Antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının tamamı bakteriyel enzimleri içermektedir. Beta-laktamlara karşı direnç mekanizmalarının en yaygın olanı, antibiyotiğin β -laktam halkasını hidrolize eden, özel hidrolazlardan olan β -laktamazların ifadesidir. İlk tanımlanan durumlardan biri Gram pozitif bakterilerde penisilinlerin hidrolizidir. Tüm β -laktamazların ortak özelliği, antibakteriyel aktiviteden sorumlu ana yapısal elaman olan β -laktam halkasındaki amid bağının hidrolizini katalize etme yeteneğidir ⁴⁴.

Beta-Laktamazlar, çeşitli bakteriyel kaynaklarda bulunan sınırlı bir moleküler yapı yelpazesiyile birlikte çok yönlü enzimlerdir ⁴⁵. Gelişmiş moleküler yaklaşımlar sayesinde, β -laktam dirençli klinik izolatlardaki bu enzimleri kodlayan nükleotid dizileri ve amino asit dizilerinin elde edilmesiyle, bu enzimlerin izlenmesi için sistematik bir süreç oluşturulmuştur. Beta-laktamazların sınıflandırılması geleneksel olarak, enzimlerin işlevsel özelliklerine veya birincil yapılarına dayanmaktadır. En basit sınıflandırma protein dizisine göre yapılmakta olup β -laktamazlar, korunmuş ve ayırt edici amino asit motiflerine dayanarak sınıf A, B, C ve D olmak üzere dört moleküler sınıfa ayrılmaktadır. A, C ve D sınıfları, aktif bölgesinde serin

kullanarak substratlarını bir asil enzim oluşturarak hidrolize eden enzimleri içerirken, B sınıfı β -laktamazlar, β -laktam hidrolizini kolaylaştırmak için en az bir aktif bölgede çinko iyonu kullanan metallo-enzimlerdir ⁴⁶.

Ambler sınıflandırma sistemine göre sınıf A, C ve D β -laktamazlar, GSBL enzimlerini içerirken, sınıf A, B ve D β -laktamazlar karbapenemaz enzimlerini içermektedir. A ve D sınıfı enzimler klavulanik asit ile inhibe olurken, B sınıfı enzimler etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) gibi şelatörler tarafından inhibe edilmektedir ⁴².

2.3.2. GSBL Direncinin Saptanması

Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL), *Enterobacteriaceae* ait birkaç Gram negatif bakteri tarafından salgılanan hidrolize edici enzimlerdir. Geniş spektrumlu oksimino-sefalosporin (üçüncü ve dördüncü nesil) ve monobaktamın (aztreonam) inaktivasyonuna neden olurlar ancak sefamisin veya karbapenemleri inaktive etmezler. Bu enzimler genellikle, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri tarafından nötralize edilmektedir. GSBL kodlayan genler çoğunlukla transpozonlarda veya plazmidlerin ekleme dizilerinde, diğer direnç genleriyle birlikte bulunmaktadır. Hızlı bir şekilde yayılma eğilimindedirler ve aminoglikozidler, trimetoprim, sülfonamidler, tetrasiklinler, kloramfenikol ve florokinolon gibi birden fazla antimikrobiyal maddeye karşı direnç oluşturabilmektedirler⁴⁷.

GSBL, hastane patojenleri olan *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Enterobakter* türleri tarafından üretilmektedir. GSBL genlerini barındıran farklı ailelerin çok çeşitli Gram negatif bakteri türleri arasında *E. coli* en yaygın konakçıdır ve bunu *K. pneumoniae* takip etmektedir. GSBL'ler β -laktamazların yapısal ve işlevsel olarak mutasyona uğramış versiyonlarıdır. GSBL kodlayan genler doğada oldukça çeşitlidir ve *bla*TEM, *bla*SHV ve *bla*CTX-M gibi benzersiz özelliklere sahip farklı ailelerde sınıflandırılmaktadır. GSBL'ler, β -laktamazların Ambler sınıflandırma sistemine göre, serinin enzim aktif merkezi olarak kullanıldığı A ve D sınıflarına aittir ⁴⁷.

GSBL'ler, plazmitlerde bulunan genler tarafından kodlanan bazı ana enzim ailelerini ve varyantlarını içermektedir. Kodlanan bu ana enzim aileleri içerisinde, Temoniera β -laktamaz (TEM), Sulfhydryl Variable β -laktamaz (SHV), Cefotaxime-Mediated β -laktamaz (CTX-M) ve Oxacillinase β -laktamaz (OXA) tipleri bulunmaktadır. CTX-M tipi β -laktamazlar, sefotaksimleri en iyi hidrolize eden enzimlerdir ⁴⁸. TEM türü β -laktamazlar, *K. pneumoniae*'da sıklıkla saptanmış olmakla birlikte diğer *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* türlerinde de

tespit edilmiştir. TEM-1, ampisilin başta olmak üzere karbenisilin, oksasilin ve sefalotini hidroliz edebilmekte ancak geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı ise zayıf afinite sergilemektedir. SHV-1 β -laktamazlar, *K. pneumoniae*'da bulunan en yaygın tür olarak bilinmektedir. OXA tipi β -laktamazlar, çoğunlukla *P. aeruginosa*'da bulunmasına karşın birçok Gram negatif bakteride görülmektedir. Guiana Extended Spectrum β -laktamaz (GES) direnç geni ise Fransa'da bir çocuk hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda ilk kez 1998'de tespit edilmiştir²⁹.

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), GSBL tespiti için iki adımlı bir süreç önermektedir. İkinci adım yalnızca ilk adım pozitifliğinden sonra gerçekleştirilmektedir. İlk adım sefotaksim, seftriakson, seftazidim veya aztreonam gibi yaygın olarak kullanılan bazı antibiyotiklere duyarlılığı tespit etmede ön tarama içermektedir. İkincisi, β -laktamaz inhibitörlerinin varlığında GSBL üreten organizmaları tanımlamak için doğrulayıcı test yöntemlerinden birini içermektedir. CLSI tarafından GSBL taraması için önerilen testler arasında Kirby-Bauer diskleri ve Vitek (duyarlılık %92-93) bulunmaktadır. Doğrulayıcı testler arasında ise çift diskli sinerji testi, kombinasyon disk yöntemi veya E-test GSBL şeritlerinin kullanılması önerilmektedir. Fenotipik doğrulama testlerine ek olarak genotipik doğrulama testleri olarak, PCR ve nükleotid dizilimi içeren yöntemlerle, GSBL enzimleri ve varyantlarının tespiti yapılmaktadır⁴⁷.

2.3.3. Karbapenem Antibiyotiklere Karşı Direnç ve Direnç Mekanizmaları

Bakteriyel hücre duvarları peptidoglikan polimerlerinden oluşan kompleks yapılardır. Peptidoglikanın sentezindeki son transpeptidasyon adımı, PBP'ler olan transpeptidaz enzimleri tarafından sağlanmaktadır. Karbapenemlerin (ve diğer β -laktamların) yapısı, peptidoglikanın terminal amino asit kalıntıları olan asile edilmiş D-alanil-D-alanin ile yakından ilişkilidir. Bu yapı benzerliği, karbapenemlerin, PBP'lerin aktif bölgesine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanmasını sağlamaktadır. Bu durumda, peptidoglikan katmanının çapraz bağlanma yoluyla transpeptidasyonun inhibe olmasına yol açar ve hücre duvarı sentezini bozar. Son olarak, bakteriyel yüzey enzimlerinden bir grup olan otolizinlerin sürekli etkinlik göstermesiyle birlikte hücre duvarı biyosentezinin inhibe edilmiş olması sayesinde, hipertonic ortama sahip olan hücrenin ozmotik şokla parçalanmasıyla bakteriyel hücre ölümü sağlanmaktadır³⁸.

Karbapenemlere karşı direnç gelişimi, doğal veya kazanılmış direnç mekanizmalarına ya da her ikisine birden bağlı olabilmektedir. Hem kommensal hem de patojen olan çok sayıda

bakteri, belirli antimikrobiyal ajan sınıflarına doğal olarak direnç gösterme eğilimindedir. Bu duyarsızlık, intrinsik direnç olarak kabul edilmekte olup bu durum ilaç seçimini sınırlandırarak tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır. Doğal direncin getirdiği sonuç kazanılmış direnç riskini de arttırabilmektedir. *Enterobacteriaceae* türlerinde bulunan çoğu kazanılmış karbapenem direnci, plazmid aracılı olup bakteri izolatları arasında çeşitli yollarla aktarılmaktadır. Bakteriler enzimatik inaktivasyon, hedef bölge mutasyonu ve eflüks pompaları gibi birçok direnç mekanizması kazanmıştır. Bunlar arasında, inaktive edici enzimlerin gelişimi ve ortaya çıkışı, β -laktam sınıfı antibiyotiklerin keşfi ve klinik kullanıma girmesinin hemen ardından tespit edilmiştir. Zaman içerisinde, β -laktam hidroliz edici enzimler etki spektrumlarını genişleterek, önce penisilinazlar, ardından sefalosporinazlar, daha sonra GSBL'ler ve en son olarak da MBL'ler ve diğer karbapenemazlar gelişmiştir ⁵.

İmipenem dirençli ilk *K. pneumoniae* olgusu, 1985'te ilk karbapenem piyasaya sürüldükten 11 yıl sonra bildirilmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncine yol açan mekanizmalar şu şekildedir ^{30 49}:

1. Beta-laktamazlar, karbapenemazlar gibi hidrolitik enzimlerin üretimi
2. Aşırı GSBL'lerin ve AmpC sefalosporinazların üretimiyle birlikte dış zar proteinlerinin (OMP) kaybı ya da azalmış ekspresyonunun geçirgenlik kusurlarına yol açması
3. Eflüks pompalarının aşırı ekspresyonu
4. Antimikrobiyal ajan hedefinin modifikasyonu

OMP eksikliği genellikle düşük seviyede direnç kazandıran ikincil bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. OmpA, OmpK35, OmpK36 ve OmpK37 *K. pneumoniae* suşlarında en önemli OMP'ler olup ve küresel bir endişe kaynağıdır. OmpK35 mutasyonları, OmpK36 mutasyonlarıyla birlikte genellikle karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarının ortaya çıkmasında direnç faktörü olarak yer almaktadır. Ayrıca, OmpK37 ekspresyonunun düşürülmesi de dirence katkı sağlamaktadır. Eflüks pompaları, antimikrobiyal ajanı genellikle enerji tüketen bir süreçle bakteriyel hücreden dışarı atmaya yardımcı olan transmembran proteinlerdir. Örneğin, KpnGH adı verilen bir eflüks pompası, *K. pneumoniae*'da antimikrobiyal dirence katkıda bulunmaktadır. Antimikrobiyal direnç genleri, plazmitler,

transpozonlar ve integronlar gibi mobil genetik elemanlar içinde yer almaktadır. Bu elemanlar son derece önemlidir, çünkü direnç genlerini sadece *K. pneumoniae* soyuna dikey geçişle aktarmakla kalmayıp bir suştan başka bir *K. pneumoniae* suşuna yatay geçişle aktarmada da rol almaktadırlar⁴⁹.

Karbapenem direncinin en önemli mekanizmalarından biri olan karbapenemaz enzimleri, karbapenemlerin hidrolizinde etkili olmaktadır. Bu enzimler genellikle plazmitlerde kodlanmaktadır ve yüksek derecede taşınabilirlik göstermektedirler. Ambler sınıflandırma sistemi, β -laktamaz enzimlerini dört grupta (A, B, C, D) sınıflandırmaktadır. Bu sınıflandırma, enzimlerin merkezi katalitik bölgesi ve substrat tercihine dayanmaktadır. Bunlardan A, B ve D sınıfları karbapenemazları hidrolize eden enzimleri içerirken, C sınıfı enzimler esas olarak sefalosporinleri hidrolize etmektedir. A, C ve D sınıfı enzimlerde aktif katalitik bölgede serin bulunurken, B sınıfı enzimler, aktif bölgede çinko içeren metallo- β -laktamazlardır. Yeni ajanlar arasında yer alan avibaktam, A sınıfı, C sınıfı ve yalnızca bazı D sınıfı serin β -laktamazlarını inhibe eder ancak B sınıfı MBL'lerin aktivitesini önemli ölçüde inhibe etmez. Benzer şekilde varobaktam, A ve C sınıfı enzimleri inhibe eder ancak B ve D sınıfı enzimleri inhibe etmez⁵⁰.

2.3.3.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Bu sınıftan tanımlanmış enzimlerin bazıları kromozomal olarak bazıları ise plazmitler tarafından kodlanmıştır. Non-metallo enzim karbapenemaz A (NmcA), *Serratia mercenscens* enzim (SME), Imipenemase β -laktamaz1 (IMI-1) ve *Serratia fonticola* karbapenemaz1 (SFC-1) enzimleri kromozomal olarak kodlanan enzimlerdir. KPC (KPC-2'den KPC-13'e kadar), IMI (IMI-1'den IMI-3'e kadar) ve GES'in türevleri (GES-1'den GES-20'ye kadar) plazmitler tarafından kodlanan enzimlerdir. Bu enzimlerin her biri aktif olarak karbapenemleri hidrolize eden enzimler olup kısmen klavulanik asit ile inhibe olmaktadır. Bu enzimler arasında KPC'ler en yaygın olanıdır ve keşfedildikten birkaç yıl sonra bu enzim dünya çapında yayılmaya başlamış, birçok Asya, Kuzey Amerika ve Avrupa ülkesinde ayrıca Afrika'da KPC pozitif *K. pneumoniae* salgınlarına neden olmuştur. KPC üreten mikroorganizmalar, β -laktamlara karşı çoklu ilaç direnci geliştirmiştir, bu da KPC ile ilişkili enfeksiyonların tedavisinde terapötik seçenekleri kısıtlamaktadır⁵.

İlk KPC enzimi 1996 yılında ABD'de keşfedildikten sonra, birbirlerinden tek amino asit değişikliğiyle ayrılan 13 KPC enzimi tanımlanmıştır. KPC karbapenemazları, en potansiyel şekilde nitrocefın, sefalotin, sefaloridin, benzilpenisilin, ampisilin ve piperasilini hidrolize ederken, imipenem, meropenem, sefotaksim ve aztreonamı 10 kat daha az etkide hidrolize

etmektedir. Ayrıca sefoksitin ve saftazidimin zayıf ancak ölçülebilir hidrolizi, KPC ailesinin geniş spektrumlu etkisini sağlamaktadır ³⁰.

2.3.3.2. Sınıf B Karbapenemazlar

Sınıf B β -laktamazlar, MBL'ler olarak bilinen karbapenemazları içermektedir. Bu enzimlerin etkisi çinko iyonları (Zn^{+2}) üzerine dayanmaktadır. Zn^{+2} ve diğer divalent katyonların şelatörü olan EDTA ile inhibe olmaya duyarlıdır. Hidroliz mekanizması, β -laktam ilaçlarının enzimdeki aktif bölgede bulunan Zn^{+2} ile etkileşimine dayanmaktadır. MBL'ler, monobaktamlar sınıfında bulunan aztreonam hariç tüm β -laktamları hidroliz etmektedir. En yaygın MBL aileleri arasında New Delhi metallo β -laktamaz (NDM), Imipenemaz metallo β -laktamaz (IMP) karbapenemazlar, Verona Integron-encoded metallo β -laktamaz (VIM), Guiana Integron-encoded metallo β -laktamaz (GIM) ve *Serratia mercenscens* Integron-encoded metallo β -laktamaz (SIM) bulunmaktadır. Bu enzimleri kodlayan genler genellikle çeşitli integron yapılarında yer almakta ve gen kasetlerine dahil edilmektedir ^{5 49}.

Sınıf B MBL'ler üç alt sınıfa ayrılmıştır: B1, B2 ve B3. Klinik açıdan önemli olan MBL'ler B1 alt sınıfında yer almaktadır. Bu sınıfın enzimleri, IMP, NDM, VIM, SPM ve GIM olarak bilinmektedir. NDM-1, 2008 yılında ilk kez İsveç'te bir Hintli hastadan izole edilmiştir ve 2010'larda turistlerin üzerinden Avrupa ve ABD'ye yayılmıştır. Son bulgular, Balkanlar, Afrika ve Orta Doğu ülkelerinin de bu enzimlerin rezervuarları olabileceğine işaret etmektedir. Türkiye'deki ilk rapor ise 2012 yılında bir Iraklı hastadan alınmıştır. NDM'nin en az 8 varyantı bulunmuştur. Bu enzim özellikle, *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında görülmektedir ³⁰.

IMP tipi karbapenemazlar ilk olarak 1990'lı yıllarda Japonya'da tanımlanmıştır. Bu enzimlerin çoğu, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türlerinde, ayrıca *Enterobacteriaceae*'da araştırılmıştır. IMP genleri 1997'de Avrupa'dan gelen ilk raporların ardından Brezilya ve Kanada'da da bulunmuştur. Bu gen tipleri önce Uzak Doğu'ya ve sonrasında ABD ve Avustralya'ya yayılmıştır ⁵.

VIM genleri, *Enterobacteriaceae*'da nadiren görülmekte ancak yaygın olarak *P. aeruginosa* ve *P. putida*'da görülmektedir. 1997 yılında İtalya'nın Verona şehrinde ilk kez başka bir büyüyen karbapenemaz ailesi izole edilmiştir ve ağırlıklı olarak integron ile ilişkili metallo- β -laktamazlar sergilemiştir. Bu aile 14 üyeden oluşmaktadır. VIM ve IMP aileleri, taşındıkları plazmitler ve integron ile ilişkili olmaları bakımından bazı benzerlikler göstermektedir. VIM ailesi amino asit dizisi bakımından %10'a kadar çeşitlilik gösterirken,

IMP için bu oran %15'tir ve iki aile arasında %70'e kadar farklılık bulunmaktadır. Her ikisinde monobaktamlar hariç tüm β -laktamları hidrolize eder ve tüm β -laktam inhibitörlerine duyarlıdırlar ⁵.

2.3.3.3. Sınıf D Karbapenemazlar

Oksasilinazlar (OXA) olarak bilinen serin bazlı enzimlerden oluşan β -laktamazlardır. Bu enzimler, yapı ve biyokimyasal özellikleri bakımından yüksek heterojenite ile karakterizedir. Bu nedenle, ait oldukları alt tipe bağlı olarak hidrolitik potansiyelleri açısından geniş bir çeşitlilik göstermektedirler. Beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilmezler. Bunların bazıları, diğer sınıftan karbapenemazlarla karşılaştırıldığında daha hafif bir hidrolitik kapasiteye sahip karbapenemazlar olarak etkinlik gösterirler. Bununla birlikte, diğer direnç mekanizmalarıyla birlikte var olduklarında yüksek düzeyde direnç sağlamaktadırlar ⁴⁹.

OXA β -laktamazları, ilk olarak 1970'lerin sonlarında tanımlanmış ve sadece penisilinaz aktivitesine sahip oldukları düşünülmüştür. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda mevcut 102'den fazla OXA varyantı keşfedilmiştir. Bu enzimlerden 9 tanesi GSBL ve 37 tanesi karbapenemazlar olarak sınıflandırılmıştır. OXA karbapenemazlarının önemli özelliklerinden biri, hızlı mutasyona uğrayıp etkinlik spektrumlarını genişletebilmeleridir. Karbapenemaz aktivitesine sahip ilk OXA β -laktamazı, 1993 yılında *Acinetobacter baumannii* türünde keşfedilmiştir. OXA-48 varyantı ise ilk olarak *K. pneumoniae* izolatlarında Türkiye'den rapor edilmiştir. Daha sonra Türkiye'de ilk OXA-48 üreten karbapenem dirençli *K. pneumoniae* salgını bildirilmiştir. OXA-48 plazmitler tarafından kodlanmakta olup diğer OXA varyantlarıyla %46'dan az amino asit benzerliğine sahip ve kinetik analizlere göre yüksek hidrolitik aktivite göstermektedir. Son dönemlerde OXA-48 direnci, Türkiye, Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinden giderek daha fazla rapor edilmektedir ³⁰.

2.4. KARBAPENEMLERİN TESPİT YÖNTEMLERİ

2.4.1. Fenotipik Tespit Yöntemleri

2.4.1.1. Modifiye Hodge Testi

“Yonca yaprağı tekniği” veya “Modifiye Hodge testi”, karbapenemaz aktivitesini tespit etmek için fenotipik bir yöntem olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu test, Hodge ve arkadaşları ⁵¹ tarafından penisilinaz üreten *Neisseria gonorrhea*'yı tespit etmek amacıyla tasarlanan orijinal basit bir testin modifikasyonudur. Modifiye Hodge testi, Mueller-Hinton agar besiyerinde yapılır. Testin temeli karbapenemaz üreten bir bakteri tarafından

karbapenemin enzimatik inaktivasyonuna dayanmaktadır. Genellikle indikatör mikroorganizma olarak *E. coli* ATCC 25922 standart suşu kullanılmaktadır. 0.5 McFarland standart bulanıklıkta hazırlanarak plağın yüzeyine inoküle edilir ve bir karbapenem diski plağın ortasına yerleştirilir. Standart test suşu, diskin merkezinden plağın kenarına kadar yoğun bir şekilde inoküle edilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra test suşunun, duyarlı gösterge suşu ile karşılaştırıldığında oluşturduğu yonca yaprağı şeklindeki büyüme girintisi, test edilen suş tarafından karbapenemaz üretiminin pozitif olduğu şeklinde yorumlanmaktadır⁵².

2.4.1.2. Carba NP Testi

Carba NP testi, bakteriyel ekstraktlarda imipenem hidrolizini ölçerek karbapenemazları tespit eder ve yaklaşık 2 saat içinde renk değişiklikleri oluşturur. İmipenem hidrolizi, karboksilik bir türev oluşturur, bu da pH'ı düşürür ve bunun sonucunda fenol kırmızı göstergenin renginin kırmızıdan sarıya kaymasına neden olmaktadır⁵³. Çoğu karbapenemazın tespiti için yüksek duyarlılığa sahiptir ve bildirilmiş olan duyarlılık aralığı %73 ile %100 arasındadır^{54 55}. Ancak, OXA-48 benzeri karbapenemazlar için duyarlılığı önemli ölçüde daha düşüktür ve bir çalışmada sadece %6 olarak bildirilmiştir^{56 53}.

2.4.1.3. Karbapenem İnaktivasyon Yöntemi

Bu yöntem ilk olarak 2015 yılında tanımlanmıştır. 10-µg'lık bir meropenem diskinin, 10 µl'lik bir karbapenemaz üreten izolatla 2 saat boyunca suda inkübe edilmesi durumunda meropenemin hidrolizine dayanmaktadır. Hidrolize olmayan meropenem, karbapenemazdan etkilenmeyen bir laboratuvar suşu olan *E. coli*'nin sürüldüğü agar plağına yerleştirilir ve gece boyu inkübasyondan sonra oluşan inhibisyon bölgesinin zon çapı ölçülür. İnhibisyon bölgesinin olmaması karbapenemaz varlığını göstermektedir. Bu yöntem, yaklaşık olarak %91-94 duyarlılık ve %99-100 özgüllük ile yüksek sonuçlar vermektedir⁵³.

2.4.1.4. Lateral Flow İmmünoassays (LFIs)

LFIs, karbapenemazların varlığını tespit etmek için kullanılan antikor tabanlı yöntemlerdir. Son zamanlarda bir dizi LFIA geliştirilmiş olsa da genellikle sadece epidemiyolojik olarak en önemli birkaç karbapenemazın tespitini sağlamaktadır. LFIs, NDM üretimi, IMP üretimi, OXA-48 benzeri üretim, KPC ve OXA-48 benzeri üretim ve KPC, NDM ve OXA-48 benzeri üretimi tespit etmek için geliştirilmiştir, mevcut veriler, LFIs'nin kültürlenmiş izolatlardan 15 dakika içinde doğru sonuçlar verdiğini göstermektedir⁵³.

2.4.1.5. MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS platformları, mikroorganizma cinsi ve türünü tanımlamak için kurulmuş olup klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında her geçen gün daha yaygın kullanılmaktadır. MALDI-TOF MS'nin karbapenemaz üretiminin hızlı tespiti için iki ana uygulaması geliştirilmektedir. Birinci uygulama (hidroliz yaklaşımı), bakteriyel protein ekstraktlarının bir karbapenem substratı ile inkübe edilmesi sonucu karbapenem bozulma ürünlerini tespit eder. İkinci yaklaşım (plazmidle ilgili pik yaklaşımı) ise bilinen bir karbapenemaz taşıyan plazmidle ilişkili protein piklerinin tespitini içermektedir ⁵³.

Mikroorganizma tanımlanmasında zaten mevcut bir MALDI-TOF MS cihazı varsa karbapenemaz tespiti için maliyet etkin bir yaklaşım olabilmektedir. Önemli bir nokta, hidroliz yöntemiyle karbapenemaz tespiti için MALDI-TOF MS kullanımının, FDA onaylı mikroorganizma tanımlamasında geleneksel olarak kullanılan cihaz ayarlarından farklı ayarlara ihtiyaç duyması ve bunun için de kurum içi doğrulama gerektirmesidir. Plazmidle ilgili pik yaklaşımı umut verici olmakla birlikte, yalnızca tek bir plazmidle ilişkili karbapenemaz geni için değerlendirilmiştir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanabilir bir yaklaşım haline gelmeden önce yaygın dolaşımdaki plazmidler ve ilişkili karbapenemaz genleri hakkında daha kapsamlı bir veri tabanının geliştirilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir ⁵³.

2.4.2. Genotipik Tespit Yöntemleri

2.4.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, Taq polimerazı olarak bilinen *Thermus aquaticus*'tan izole edilen DNA polimeraz I enzimini kullanarak DNA'nın kısa segmentlerini denatüre etmek ve renatüre etmek için kullanılan bir nükleik asit amplifikasyon tekniğidir. PCR, bir test tüpündeki DNA'nın çok küçük bir segmentine seçici olarak odaklanan bir moleküler yöntemdir. PCR, yüksek hassasiyeti nedeniyle bakteriyel ve viral enfeksiyonların teşhisinde ve genetik bozuklukların taranmasında yaygın olarak kullanılır ve bu da onu çok sayıda örnek için altın standart test prosedürü haline getirmektedir ⁵⁷.

2.4.2.2. Yeni Genlerin Klonlanması ve Dizilenmesi

PCR ile gen amplifikasyonu yalnızca önceden belirlenmiş dizilere sahip karbapenemaz genlerini tanımlayabildiğinden, yeni karbapenemaz genlerinin tanımlanması, başlangıçta gen klonlaması ve dizileme gerektirmektedir. Klonlama deneylerinde, bakteriyel suşlardan elde edilen genomik DNA, restriksiyon enzimleri ile kesilir ve ardından aynı enzim ile kesilmiş bir

plazmitle “yapışkan uçlar” oluşturacak şekilde hibridize edilmesine izin verilir. DNA fragmanı, klonlama vektörü ile birleştirildiğinde, karbapenemaz genini taşıyan ve bu genin, alıcı hücrenin DNA’sıyla birlikte çoğaltılabileceği ve dizileme öncesinde saflaştırılabileceği rekombinant DNA molekülü elde edilir. Birçok çalışma, yeni karbapenemaz genlerini tanımlamak için klonlama deneylerinden faydalanmıştır ⁵².



3. YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMANIN ÖRNEKLEMİ

Bu tez çalışmasında, 01.01.2023 ile 31.12.2023 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa (İÜC), Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (CTF) Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan 75 hastanın, CTF Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi, Hastane Enfeksiyonların Kontrol Komitesi Laboratuvarına gönderilen solunum yolu (balgam, endotrakeal aspirat, bronko-alveolar lavaj) ve hemokültür örneklerinden izole edilen ve GSBL pozitifliği saptanan *Klebsiella pneumoniae* suşlarında, karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enziminin varlığı, fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırıldı.

Örneklerin çalışmaya dahil edilme ölçütleri şunlardır; a) Hastanın YBÜ'nde yatan hasta olması, b) Gönderilen numunenin solunum yolu veya hemokültür örneği olması, c) üreyen *K. pneumoniae* izolatlarında GSBL pozitifliği ve karbapenem direncinin görülmesidir. Çalışmaya her yaş grubundan ve cinsiyet gözetmeksizin tüm hastalar dahil edilmiştir. Çalışmadan dışlanma ölçütleri şunlardır; a) YBÜ haricinde bir serviste yatıyor olması, b) numunenin solunum yolu ve hemokültür örnekleri dışında (örneğin yara, idrar vb.) bir örnek olması ve c) GSBL negatif ve karbapenemlere duyarlı olmasıdır.

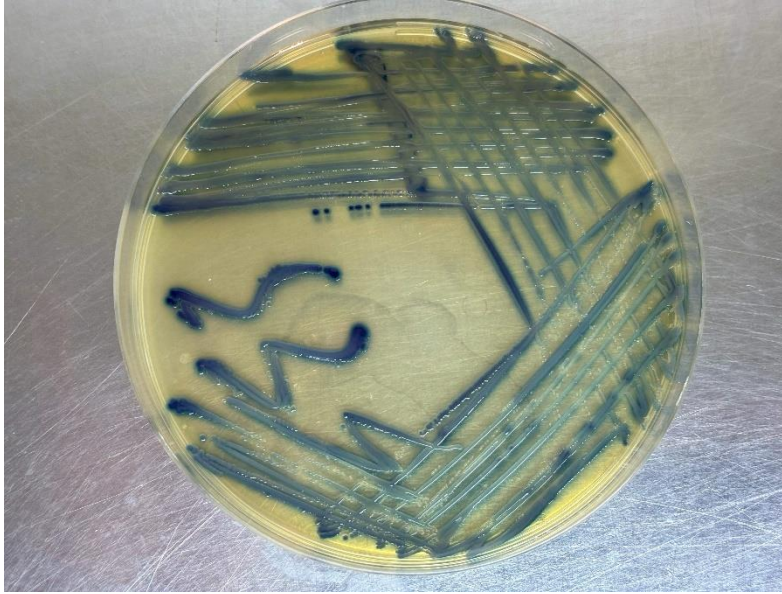
3.2. ÇALIŞMA ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

CTF Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi, Hastane Enfeksiyonları Kontrol Komitesi Laboratuvarı'na 2023 yılı içerisinde gönderilen, YBÜ hasta örnekleri (solunum yolu ve hemokültür) rutin mikrobiyolojik laboratuvar çalışmasına alındı. Çalışmaya, GSBL pozitifliği olan ve karbapenem direnci tespit edilmiş 75 adet *K. pneumoniae* suşları dahil edildi. Çalışmada kullanılan bu suşlar, Ependorff tüpler içerisinde %10 gliserinli Tryptic Soy Broth (TSB) (HiMedia, Hindistan) stok kültürüne alındı. Çalışmanın yapılacağı güne kadar, -80°C derin dondurucuda (NuAire Ultralow Freezer, ABD) saklandı.

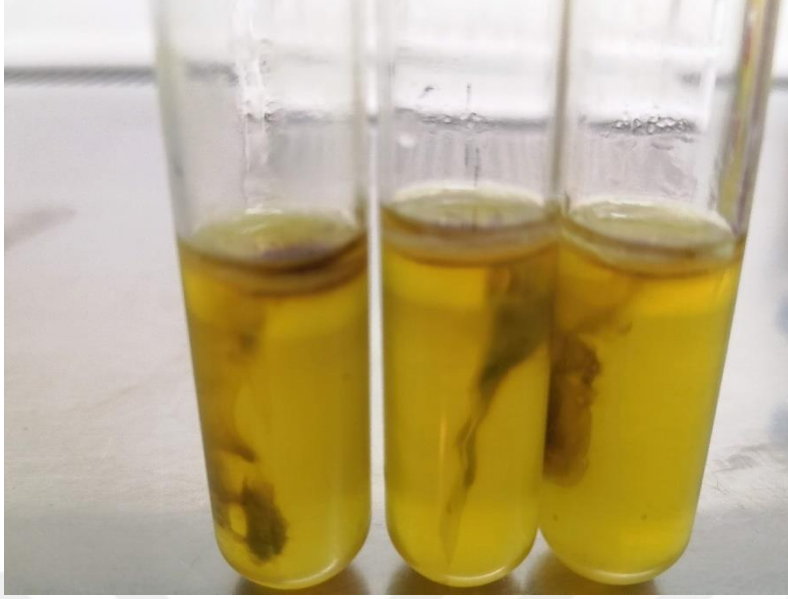
3.3. ÖRNEKLERİN TANIMLANMASI

3.3.1. Fenotipik Tanımlama Yöntemleri

Stok kültürde -80°C 'de saklanan örnekler, oda ısısında çözündürüldükten sonra, Chromogenic Agar (Across Bio, Türkiye) katı besiyerine bakterilerin pasajı yapıldı. Sonra, 37°C 'lik etüvde (Memmert, Almanya) 24 saat inkübe edildi. Ardından Şekil 3.1'de görüldüğü gibi Chromogenic Agarda metalik mavi renk ⁵⁸ üreme gösteren suşlar *K. pneumoniae* olarak saptandı. Mukoid koloni özelliği gösteren bu suşlar, %5 koyun kanlı agar (Laborlar Biyoteknoloji, Türkiye) besiyerine, pasaj alınarak etüvde 18-20 saat inkübasyon için bırakıldı. İnkübasyonun ardından, üreyen suşlardan Indole Motility Ornithine (MİO) (Biolab, Türkiye) yarı katı tüp besiyerine ekim yapılarak 18-20 saatlik inkübasyon için etüve kaldırıldı. MİO tüp besiyerlerinde üreme gösteren *K. pneumoniae* suşları, hareket negatifliği, ornitin negatifliği ve indol negatifliği yönünden konvansiyonel olarak incelenerek *K. pneumoniae* oldukları teyit edildi. İndol ayırıcı olarak Kovac's İndol (Norateks, Türkiye) kullanılmıştır.



Şekil 3.1: Kromojenik agarda üreyen *K. pneumoniae* suşu



Şekil 3.2: MİO tüp besiyerlerinde üreyen *K. pneumoniae* suşlarının hareket, indol ve ornitin dekarboksilaz reaksiyonları

3.3.2. Otomatize Tanımlama Yöntemleri

Ayrıca, %5 koyun kanlı agarda (Laborlar Biyoteknoloji, Türkiye) üreyen suşlar için otomatik bakteri identifikasyon yöntemi Vitek ® 2 Compact (Biomerieux, Fransa) cihazı ve MALDI-TOF MS cihazı (BRUKER MALDI Biotyper® Sirius, ABD) kullanılarak suşların *K. pneumoniae* olduğu tespit edildi.

3.4. ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

3.4.1. Fenotipik Yöntemlerle Antibiyotik Direncinin Saptanması

%5 koyun kanlı agarda *K. pneumoniae* olarak üreyen suşlardan 0,5 Mc Farland değerinde süspansiyon çözelti hazırlanarak Mueller-Hinton Agar (Biolab, Türkiye) besiyerine pasajlandı. Sonra, disk difüzyon yöntemi ile direnç tespiti için antibiyotik diskleri (Bioanalyse® Antimicrobial Susceptibility Test Disc, Türkiye) besiyerine yerleştirilerek 18-20 saat inkübasyon için 37°C'lik etüve kaldırıldı. Disk difüzyon yönteminde, EUCAST 2023 kriterleri dikkate alınarak antibiyotik disklerinin etrafında oluşan zon çapları mm cinsinden ölçülerek antibiyotik duyarlılıkları ve GSBL ile karbapenemaz direnç varlığı fenotipik olarak tespit edildi.

Çalışmada kullanılan 75 *K. pneumoniae* örneğinin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon testi yöntemi ile EUCAST kriterlerine göre belirlendi ⁵⁹. Antibiyotik duyarlılık yöntemiyle, aynı zamanda GSBL pozitif ve karbapenemaz varlığı da araştırıldı.

GSBL pozitifliği için sefalosporin antibiyotikler grubundan olan sefuroksim, sefoksitin, seftazidim, sefotaksim ve sefepim antibiyotik diskleri ve karbapenemaz pozitifliği için karbapenemler grubundan olan imipenem ve meropenem antibiyotik diskleri kullanıldı. Ayrıca, aminoglikozid grubundan amikasin ve gentamisin, kinolon grubundan siprofloksasin ve levofloksasin, beta laktam + beta laktamaz inhibitörlerinde piperasilin/tazobaktam ve amoksisilin/klavulanat ve diğer antibiyotik gruplarından kolistin, trimetoprim/sülfametoksazol, ampisilin kullanıldı.

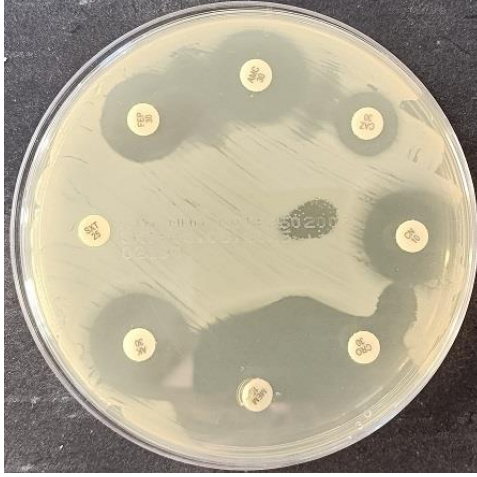
3.4.1.1. GSBL Direncinin Saptanması

EUCAST'in içinde *Klebsiella pneumoniae*'nin da bulunduğu Grup 1 *Enterobacteriaceae* için önerdiği GSBL tarama yöntemlerinden biri olan disk difüzyon yöntemi bu tez çalışmasında kullanıldı ⁶⁰. Bu tez çalışmasında kullanılan örneklerde GSBL varlığı, çift disk sinerji testi ile değerlendirilmiştir. Şekil 3.3'te AMC diski etrafında yer alan sefepim (FEP) ve Seftazidim (CAZ) (Bioanalyse® Antimicrobial Susceptibility Test Disc, Türkiye) disklerinin olduğu bölgede kelebek kanadı şeklinde görülen ve klavulanik asit etkisiyle oluşan zon, GSBL pozitifliğini göstermektedir. İndikatör sefalosporinler için inhibisyon zonu çapları Tablo 3.1'de yer almaktadır ^{60,59}.

Tablo 3.1: *Enterobacteriaceae* için EUCAST'e göre GSBL disk difüzyon yöntemi ⁶⁰.

Yöntem	Antibiyotik	GSBL testi şu durumlarda yapılmalı
Disk difüzyon testi ¹	Sefotaksim(5µg)	İnhibisyon zonu <21 mm
	Seftriakson(30µg) Seftazidim (10µg)	İnhibisyon zonu <23 mm İnhibisyon zonu <22 mm
	Sefpodoksim (10µg)	İnhibisyon zonu <21 mm

¹Tüm yöntemlerle i) sefotaksim veya seftriakson VE seftazidim; VEYA tek ajan olarak sefpodoksim test edilebilir.



Şekil 3.3: *Klebsiella pneumoniae* izolatında AMC diski etrafında GSBL pozitifliği.

3.4.1.2. Karbapenemaz Direncinin Saptanması

Meropenem, karbapenemaz saptanmasında duyarlılık ve özgüllük bakımından en iyi ajandır. Karbapenemaz varlığının saptanmasında EUCAST kriterlerine göre eşik sınır değerler Tablo 3.2’de gösterilmiştir ⁶⁰.

Tablo 3.2: Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için klinik sınır değer ve tarama eşik değeri tablosu ⁶⁰.

Karbapenem	Disk difüzyon zonları (mm) (10 µg disklerle)	
Meropenem	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri
	≥22	<28 ²

²Zon çapı 25-27 mm olan izolatlar ancak piperasilin/tazobaktam ve/veya temosiline dirençli ise (temosilin özgüllük açısından daha iyidir) çalışılmalıdır. Meropenem zonu <25 mm ise karbapenemazlar açısından mutlaka tarama yapılmalıdır.

3.4.2. Moleküler Yöntemlerle Antibiyotik Direncinin Saptanması

%5’lik koyun kanlı agarda (Laborlar Biyoteknoloji, Türkiye) üreyen *K. pneumoniae* kolonilerinin tek düşenlerinden, 1 ml serum fizyolojik (SF) eklenmiş Eppendorf tüplerine alınarak izolasyon için +4°C’de buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra DNA izolasyonu kiti

(MikroLine Pathogen DNA/RNA Purification Kit, Türkiye) ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. DNA izolasyon prosedürü aşağıdaki sıra ile yapıldı:

3.4.2.1. MikroLine Pathogen DNA/RNA Purification Kit İzolasyon Prosedürü (İstanbul/Türkiye):

1. 10.000 g'da 250 µl alınan bakteri kültürleri santrifüj edildi.
2. Süpernatant atıldı, ancak alt kısımda 50 µl sıvı bırakıldı.
3. 500 µl Elüsyon Tamponu eklendi ve vorteks ile yeniden süspanse edildi.
4. 10.000 g'da 2 dakika santrifüjlendi.
5. Süpernatant atıldı, ancak alt kısımda 50 µl sıvı bırakıldı.
6. 200 µl Patojen Lizis Tamponu ve 20 µl Proteinaz K eklendi ve vorteks ile yeniden süspanse edildi.
7. Tüpler bir termomiksere yerleştirildi ve 20 dakika boyunca sürekli çalkalayarak, 65°C'de inkübe edildi.
8. Tüpler santrifüjlendi ve 200 µl Binding-Buffer ile 250 µl %96-100 etanol (Moleküler Biyoloji sınıfı) eklenerek vorteks ile karıştırıldı.
9. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
10. Türler kısa süre santrifüjlenerek lizat, toplama tüpüne yerleştirilen Spin kolonuna aktarıldı.
11. 1 dakika boyunca 6.000 xg'da santrifüjlendi. Spin kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi.
12. Spin kolona 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 6.000 xg'da 1 dakika santrifüj edildi.
13. Spin kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi. Spin kolona 500 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 16.000 xg'da 1 dakika santrifüj edildi.
14. Spin kolon yeni toplama tüpüne yerleştirilerek 16.000 g'da 3 dakika santrifüj edildi.
15. Spin kolon 1.5 ml Elüsyon tüpüne yerleştirildi. Spin kolonun ortasına 100 µl Elüsyon Tamponu eklenerek kapakları kapatıldı.
16. Elüsyon tamponu eklenen tüpler oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
17. Ardından, 1 dakika boyunca 6.000 g'da santrifüjlendi ardından 16.000 g'da santrifüjlendi.

18. Elüsyon tüpüne aktarılan izolat çalışma zamanına dek -20°C’da saklandı.

3.4.2.2. Primerlerin Hazırlanması ve RT-PCR Koşulları:

Analiz edilen gen bölgeleri için gerekli primerlerin sulandırma miktarı, bağlanma sıcaklıkları ve gen bölgelerine ait erime sıcaklıkları tabloda belirtilmiştir. Primerler,⁶¹ araştırma makalesinden kaynak alınmıştır. Sentromer DNA Teknolojileri tarafından sentezlenmiştir.

Tablo 3.3: Primerlerin gen bölgelerine özgü çalışma standartları⁶¹.

Hedef Gen	Primer Adı	5’-3’ yönüne Primer dizi bölgeleri	Baz Boyutu	Batd Boyutu (bç)	Erime Sıcaklığı (°C)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	100 µM Stok (H ₂ O µL)
<i>blaOXA-48</i>	OXA-48-F	TGTTTTTGGTGGCATCGAT	19	177	81	60	767
	OXA-48-R	GTAAMRATGCTTGGTTCGC	19				819
<i>blaKPC</i>	KPC-F	TCGCTAAACTCGAACAGG	19	785	89	67	836
	KPC-R	TTACTGCCCCGTTGACGCCCAATCC	24				623
<i>blaNDM</i>	NDM-F	TTGGCCTTGCTGTCCTTG	18	82	79	60	838
	NDM-R	ACACCAGTGACAATATCACCG	21				715
<i>blaVIM</i>	VIM-F	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	20	382	86	60	747
	VIM-R	AATGCGCAGCACCAGGATAG	20				727

Yukarıdaki tabloya göre 100 µM ana stok olarak hazırlanan primerlerden 1/10 oranında sulandırılarak 10 µM ara stok hazırlandı. 10 µM primer ara stokları RT-PCR karışımının hazırlanmasında kullanıldı.

3.4.2.3. PCR çalışması için Pozitif ve Negatif Kontroller

Real time PCR çalışmalarında kullanılan pozitif kontroller şu şekilde oluşturulmuştur: disk difüzyon yöntemiyle karbapenem (imipenem ve meropenem) antibiyotik direnci olan ve

GSBL varlığı saptanmış olan iki adet klinik *K. pneumoniae* izolatu (60 ve 70 numara), ticari (IVD, CE onaylı) Antibakteriyel Direnç Paneli Real time PCR kiti (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA48, CTX-M) (Bioeksen, Türkiye) kitiyle çalışılarak tez projesinde araştırılacak olan 4 enzimin de (KPC, NDM, OXA48 ve VIM) pozitifliği gösterildi. Bu isolatlar çalışmada pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Negatif kontrol olarak, çalışmada *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşu kullanıldı.

3.4.2.4. Real Time PCR

RT-PCR reaksiyonu için qPCRBIO SyGreen® Blue Mix (PCRBIO SYSTEM, Birleşik Krallık) ve analiz için Gentaier 96E Real Time PCR cihazı (Tianlong, Çin) kullanıldı.

RT-PCR mix karışımı her bir enzim için (KPC, NDM, OXA48 ve VIM) aşağıdaki tabloya göre hazırlandı.

Tablo 3.4: RT-PCR mix karışımları

Reaksiyon içeriği	Reaksiyon miktarı (20 µL)	Son konsantrasyon
2x qPCRBIO SyGreen® Blue Mix	10 µL	1x
Forward primer (10 µM)	1 µL	500 nM
Reverse primer (10 µM)	1 µL	500 nM
PCR grade dH ₂ O	3 µL	
Template DNA	5 µL	

PCR çalışma protokolü aşağıdaki tabloya göre 40 döngü olarak hazırlandı:

Tablo 3.5: PCR çalışma protokolü

Döngü sayısı (cycle)	Sıcaklık (Temp)	Zaman (time)
1	95 °C	3 dakika
40	95 °C	5 saniye
	60 °C (<i>bla</i> OXA-48, <i>bla</i> NDM, <i>bla</i> VIM)	30 saniye
	65 °C (<i>bla</i> KPC)	
Erime analizi	60 ° C ramp (0,5 °C /sn) 95 °C	

PCR çalışması sonrası KPC, NDM, OXA48 ve VIM enzimlerinin varlığı, pozitif ve negatif kontroller değerlendirildikten sonra Ct (Cycle threshold) değerleri ve erime eğrileri kontrol edilerek belirlendi.

3.5. İstatistiksel Çalışma

Elde edilen verilerin analizi “SPSS for Windows 23” paket programında yapıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farkın anlamlılığı Pearson Ki-Kare, Fisher Exact testi ve Student t ile değerlendirildi. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasına, İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Prof. Dr. Murat Dilmener Hastanesi, Hastane Enfeksiyonları Kontrol Komitesi Laboratuvarı'na 01.01.2023 ile 31.12.2023 tarihleri arasında, YBÜ'de yatan hastalara ait 75 solunum yolu (n:42) ve hemokültür (n:33) örneğinde, *K. pneumoniae* üreyen ve karbapenemaz ve ESBL direnci pozitif saptanan hasta numune ve verileri dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen 75 hastanın 47'si (%62,7) erkek ve 28'i (%37,3) kadındı. Hastaların yaş aralığı 20 yaş ile 93 (ortalama değer 62.56 ± 18.29) yaş arasında değişmekteydi.

Çalışmaya dahil edilen 75 klinik örneğin 42'si (%56) solunum yolu örneği (BAL, ETA, balgam, vb) ve 33'ü (%44) ise hemokültür örneğinden oluşmaktaydı.

Klebsiella pneumoniae'nin, izole edildiği solunum yolu örneklerinin dağılımı sırasıyla; %64,3 (n:27)'ü endotrakeal aspirat, %16,7 (7)'si balgam, %14,3 (n:6)'ü bronko-alveolar lavaj ve %4,7 (n:2)'si plevra ponksiyon sıvısı şeklindeydi.

4.1. KLEBSIELLA PNEUMONIAE'NİN KONVANSİYONEL VE OTOMATİZE SİSTEMLERLE BELİRLENMESİ

Çalışmada kullanılan klinik izolatların *K. pneumoniae* tür tanımlaması, kromojenik agardaki koloni rengine bakılarak belirlendi. Kromojenik agarda koloni rengi metalik mavi renkte gözlendi. Ayrıca MİO besiyerine ekilen 75 suş tek tek incelenerek suşların tamamının hareket negatif, indol negatif ve ornitin negatif olduğu belirlendi. İndol testi için, tüp besiyerlerine indol ayırıcı damlatılarak indol test sonucunun negatif olduğu gözlendi.

Ayrıca bazı örnekler, İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan otomatize sistemlerden olan Vitek ® 2 Compact (Biomerieux, Fransa) cihazı ve MALDI-TOF MS cihazı (BRUKER MALDI Biotyper® Sirius, ABD) ile tür tanımlaması yapılarak da *K. pneumoniae* olduğu doğrulandı.

4.2. K. PNEUMONIAE ANTİBİYOTİK DUYARLILIK PROFİLLERİ

Yetmiş beş *K. pneumoniae* örneğinin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon testi yöntemi ile EUCAST kriterlerine göre belirlendi; izolatların GSBL pozitifliğini belirleyen sefalosporin grubu antibiyotiklerden dördüncü kuşak sefalosporinlerden olan sefepim %96,0 dirençli, %4,0 intermediate olarak belirlendi.

Karbapenem grubu antibiyotiklerden imipenem %52,0 dirençli, %48,0 duyarlı olarak belirlendi. Meropenem %90,7 dirençli, %9,3 duyarlı olarak belirlendi (Tablo.4.1).

Yetmiş beş *K. pneumoniae* örneğinin Kirby-Bauer disk difüzyon testi yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının gösterildiği detaylı bulgular Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.1: GSBL ve Karbapenemaz pozitif *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılık yüzde (%) dağılımı.

Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Intermediate (I)		Dirençli (R)	
	%	(n)	%	(n)	%	(n)
Amikasin (n:75)	16,0	12	4,0	3	80,0	60
Gentamisin (n:75)	17,3	13	2,7	2	80,0	60
Imipenem (n:75)	48,0	36	0,0	0	52,0	39
Meropenem (n:75)	9,3	7	0,0	0	90,7	68
Sefuroksim (n:75)	0,0	0	0,0	0	100	75
Sefoksitin (n:26)	3,8	1	0,0	0	96,2	25
Seftazidim (n:74)	1,35	1	1,35	1	97,3	72
Sefotaksim (n:75)	0,0	0	1,3	1	98,7	74
Sefepim (n:75)	0,0	0	4,0	3	96,0	72
Kolistin (n:75)	57,3	43	0,0	0	42,7	32
Siprofloksasin (n:74)	0,0	0	1,35	1	98,65	73
Levofloksasin (n:71)	1,4	1	1,4	1	97,2	69
Trimetoprim/Sülfametoksazol (n:75)	6,7	5	1,3	1	92,0	69
Ampisilin (n:74)	0,0	0	0,0	0	100	74
Piperasilin/Tazobaktam (n:75)	0,0	0	0,0	0	100	75
Amoksilin/Klavulanat (n:73)	1,4	1	0,0	0	98,6	72

Tablo 4.2: GSBL ve karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Örnek No	AK	CN	IPM	MEM	CXM	FOX	CAZ	CTX	FEP	CT	CIP	LEV	SXT	AM	TPZ	AMC
1	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R
2	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
4	R	I	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
5	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	R	R
7	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
8	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-
9	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	R	R	S	R	R	R
11	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
12	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
13	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
14	S	S	R	R	R	-	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R
15	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	-	S	R	R	R
16	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
17	I	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
18	I	I	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
20	R	S	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
21	S	S	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
22	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
23	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
24	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
25	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
26	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
27	S	S	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
28	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
29	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
30	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
31	I	S	S	S	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
32	R	S	S	S	R	-	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
34	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
35	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
36	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
38	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	-

Tablo 4.2 (devam): GSBL ve karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Örnek No	AK	CN	IPM	MEM	CXM	FOX	CAZ	CTX	FEP	CT	CIP	LEV	SXT	AM	TPZ	AMC
39	R	R	R	R	R	-	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R
40	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
41	S	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
42	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
43	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
44	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
45	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
46	S	R	S	S	R	-	R	-	R	S	R	R	R	R	R	R
47	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
48	S	R	S	S	R	-	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R
49	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
50	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
51	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
52	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
53	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
54	S	S	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
55	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	I	I	I	R	R	R
56	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
57	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
58	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
59	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
60	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
61	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
62	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
63	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
64	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
65	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
66	R	R	S	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
67	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
68	R	R	S	S	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
69	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
70	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
71	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
72	R	R	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
73	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
74	R	R	R	R	R	-	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
75	R	S	S	R	R	R	I	I	I	S	-	-	R	R	R	R

Kısaltmalar: AK: Amikasin, CN: Gentamisin, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, CXM: Sefuroksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CTX: Sefotaksim, FEP: Sefepim, CT: Kolistin, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, AM: Ampisilin, TPZ: Piperasilin/Tazobaktam, AMC: Amoksilin/Klavulanik asit, (-): Yapılmadı.

4.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENEN DİRENÇ GENLERİ PROFİLLERİ

Klebsiella pneumoniae izolatlarında araştırılan karbapenem direnç enzimlerinin (KPC, OXA-48, NDM, VIM ve IMP) varlığını tespit etmek için Tablo 3.3'te verilen PCR mix karışımları protokolüne uygun bir şekilde hazırlandı. Daha sonra Tablo 3.4'te verilen PCR çalışma protokolüne göre PCR çalışması yapıldı. PCR sonuçlarına göre, GSBL pozitif ve karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarının KPC, OXA-48, NDM ve VIM enzimlerini bulundurma yüzdeleri Tablo 4.3 gösterilmiştir.

Real-Time PCR çalışma sonuçlarına göre GSBL pozitif ve karbapenem dirençli 75 *K. pneumoniae* suşunda, karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enzimlerinin bulunma yüzdeleri; %92 NDM, %84 OXA-48, %81,3 KPC ve %78,7 VIM olarak belirlendi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: GSBL pozitif ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarında karbapenemaz enzimlerinin yüzdeler (%) dağılımı

Karbapenemaz enzimleri	Pozitiflik yüzdesi (%) / Suş sayısı (n:75)	Negatiflik yüzdesi (%) / Suş sayısı (n:75)
NDM	%92 / n:69	%8 / n:6
OXA-48	%84 / n:63	%16 / n:12
KPC	%81,3 / n:61	%18,7 / n:14
VIM	%78,7 / n:59	%21,3 / n:16

Real-Time PCR çalışma sonuçlarına göre *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enzimlerinin birlikte olarak bulunma durumları ise Tablo 4.4’de gösterildiği gibi; %70,7 oranla KPC+OXA-48+NDM+VIM olarak dört enzim birlikte, %8,0 oranla OXA-48+NDM olarak iki enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+OXA-48+NDM olarak üç enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+NDM+VIM olarak üç enzim birlikte, %2,7 oranla NDM tek başına, %2,7 oranla VIM tek başına ve %5,3 oranla hepsinin negatif olduğu toplamda 75 *K. pneumoniae* suşlarının karbapenemaz enzimleri çalışmada tespit edildi.

Araştırılan direnç genlerinin hepsinin negatif bulunduğu suşlar 12, 35, 47 ve 48 numaralı örnekler idi (Tablo 4.5).

Tablo 4.4: *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz enzimlerinin birlikte veya tek başına bulunma durumları.

Karbapenemaz enzimleri	Suş sayısı	Yüzdelik durumu
KPC+OXA-48+NDM+VIM	53	%70,7
OXA-48+NDM	6	%8,0
KPC+OXA-48+NDM	4	%5,3
KPC+NDM+VIM	4	%5,3
NDM	2	%2,7
VIM	2	%2,7
Hepsi Negatif bulunan	4	%5,3
Toplam	75	100

Tablo 4.5: *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz enzimlerinin (KPC, OXA-48, NDM ve VIM) varlığı

Örnek No	KPC	OXA-48	NDM	VIM
1	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
2	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
3	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
4	POZİTİF	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF
5	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
6	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
7	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
8	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
9	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	NEGATİF
10	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
11	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
12	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF
13	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
14	POZİTİF	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF
15	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
16	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
17	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
18	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
19	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
20	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
21	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
22	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	NEGATİF
23	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
24	POZİTİF	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF
25	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
26	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
27	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
28	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
29	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF
30	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
31	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
32	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
33	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
34	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
35	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF
36	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
37	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
38	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
39	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF

Tablo 4.5 (devam): *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz enzimlerinin (KPC, OXA-48, NDM ve VIM) varlığı

Örnek No	KPC	OXA-48	NDM	VIM
40	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
41	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF
42	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
43	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
44	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
45	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
46	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	NEGATİF
47	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF
48	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF	NEGATİF
49	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
50	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
51	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
52	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
53	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
54	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
55	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
56	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
57	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
58	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
59	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
60	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
61	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
62	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
63	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
64	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
65	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
66	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
67	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
68	POZİTİF	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF
69	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
70	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
71	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
72	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
73	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
74	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
75	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF

Karbapenemaz enzimlerinin cinsiyete göre, 60 yaş üstü ve altı, YBÜ servislerine ve ayrıca solunum yolu örneklerinin kendi içindeki dağılımlarına göre veriler Tablo 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10’da verilmiştir. Bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı olan sadece örnek dağılımında (solunum yolu ve hemokültür) KPC ($p=0,022$) ve VIM ($p=0,025$) enzimlerinin pozitif bulunma oranlarıdır (Tablo 4.9).

Tablo 4.6: Cinsiyete göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)

Karbapenemaz Enzimleri	KADIN		ERKEK		p Değeri*
	(n)	%	(n)	%	
NDM	27	96,4	42	89,4	0,401
OXA-48	25	89,3	38	80,9	0,517
KPC	25	89,3	36	76,6	0,172
VIM	24	85,7	35	74,5	0,250

*Ki kare testi anlamlılık düzeyi $p<0.050$.

Tablo 4.7: 60 yaş alt ve üstüne göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)

Karbapenemaz Enzimleri	YAŞ (60 üstü)		YAŞ (60 altı)		p Değeri*
	(n)	%	(n)	%	
NDM	40	93,0	29	90,6	0,705
OXA-48	35	81,4	28	87,5	0,476
KPC	37	86,0	24	75,0	0,225
VIM	34	79,1	25	78,1	0,921

*Ki kare testi anlamlılık düzeyi $p<0.050$.

Tablo 4.8: YBÜ'lerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (Sadi Sun ve İç Hastalıkları YBÜ alınmıştır)

Karbapenemaz Enzimleri	SADI SUN Yoğun Bakım Ünitesi		İÇ HASTALIKLARI Yoğun Bakım Ünitesi		p Değeri*
	(n)	%	(n)	%	
NDM	41	91,1	22	95,7	0,656
OXA-48	39	86,7	20	87,0	0,973
KPC	36	80,0	19	82,6	0,796
VIM	35	77,8	18	78,3	0,964

*Ki kare testi anlamlılık düzeyi $p < 0.050$.

Örnek türlerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı incelendiğinde (Tablo 4.9); solunum yolu örneklerinde KPC (%90,5) ve VIM (%88,1) enzimleri kan kültüründe saptanan KPC (%69,7) ve VIM (%66,7) oranlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Tablo 4.9: Örnek türlerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı (n:75)

Karbapenemaz Enzimleri	SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİ		HEMOKÜLTÜR (KAN)		p Değeri*
	(n)	%	(n)	%	
NDM	41	97,6	28	84,8	0,081
OXA-48	38	90,5	25	75,8	0,084
KPC	38	90,5	23	69,7	0,022*
VIM	37	88,1	22	66,7	0,025*

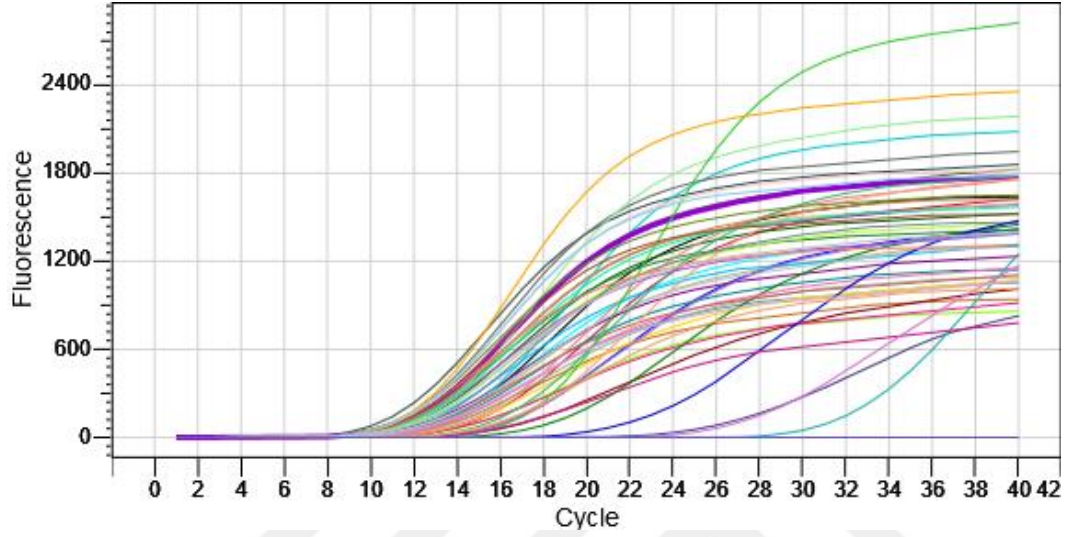
*Ki kare testi anlamlılık düzeyi $p < 0.050$.

Tablo 4.10: Solunum yolu örneklerinin kendi içinde istatistiksel olarak karşılaştırılması (ETA ve diğerleri) (n:75)

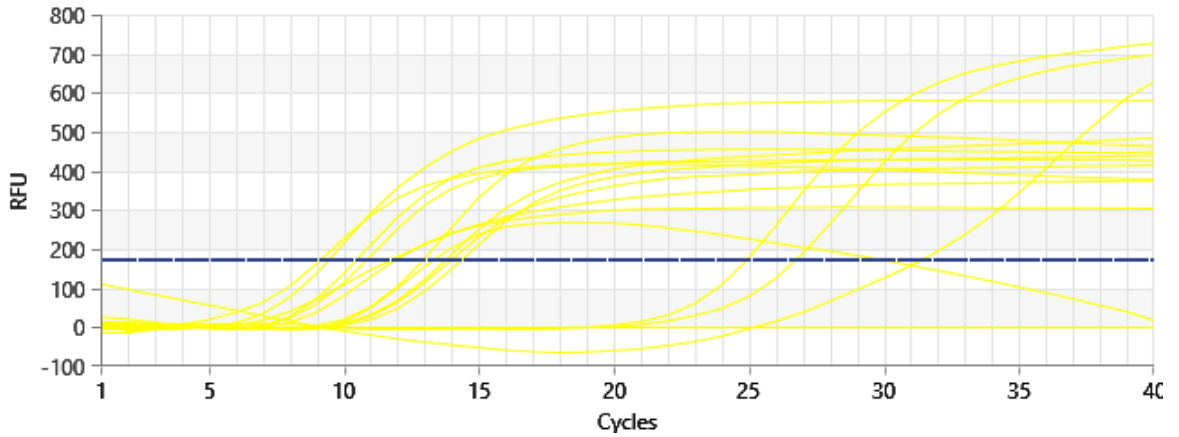
Karbapenemaz Enzimleri	SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİ				p Değeri*
	ETA		DİĞER		
	(Endotrakeal aspirat)		(BAL, Balgam, Plevra Ponksiyon sıvısı)		
	(n)	%	(n)	%	
NDM	27	100	14	93,3	0,357
OXA-48	25	92,6	13	86,7	0,608
KPC	24	88,9	14	93,3	0,638
VIM	23	85,2	14	93,3	0,639

*Ki kare testi anlamlılık düzeyi $p < 0.050$.

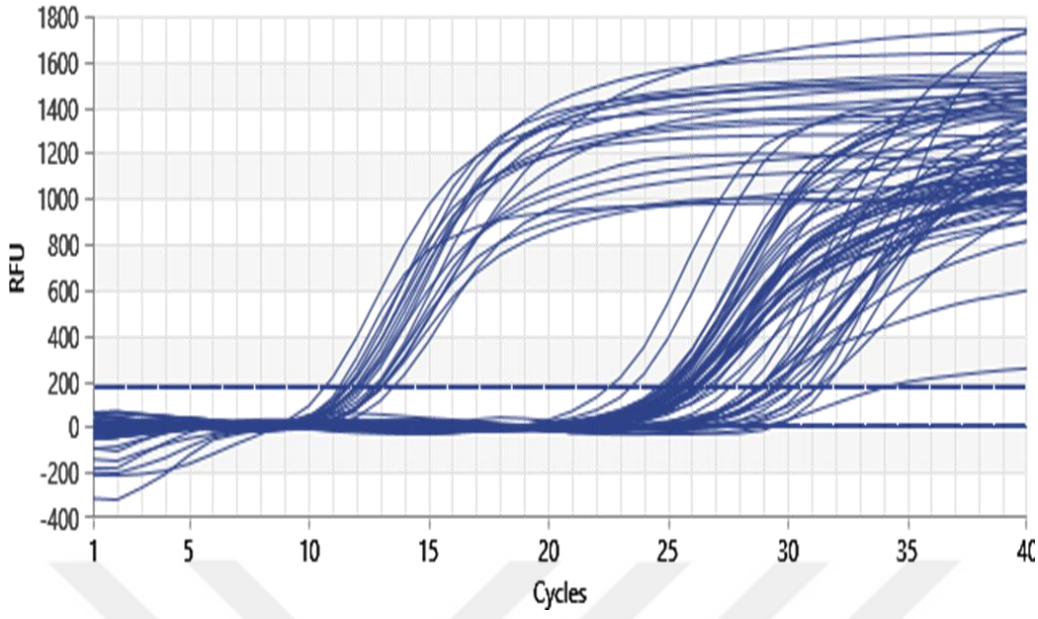
Real time PCR çalışması ile; KPC, OXA-48, NDM ve VIM enzimlerinin varlığı, pozitif ve negatif kontroller değerlendirildikten sonra Ct (Cycle threshold) değerleri kontrol edilerek belirlendi (Şekil 4.3, 4.4, 4.5. ve 4.6).



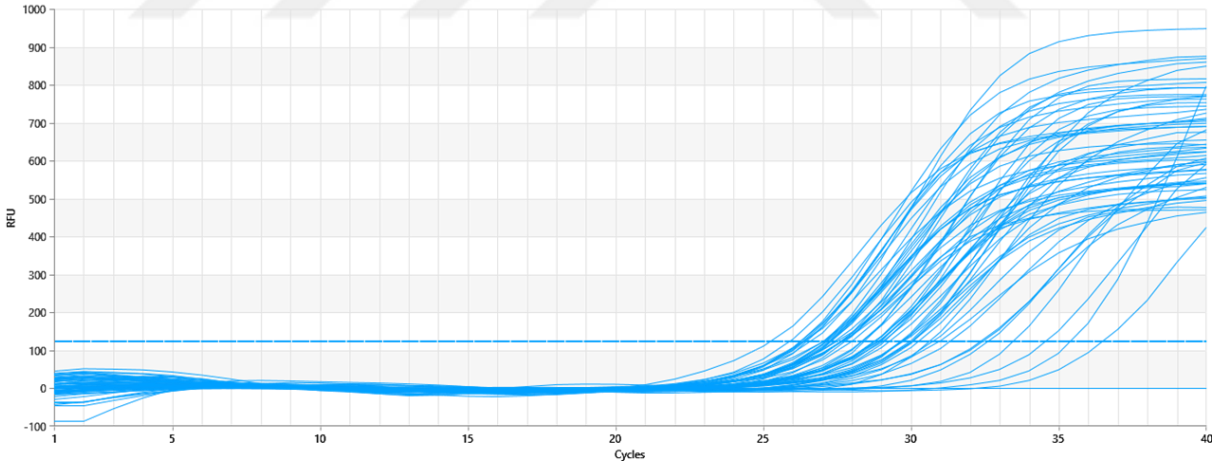
Şekil 4.1: KPC enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü.



Şekil 4.2: OXA-48 enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshold) değerini gösteren ekran görüntüsü.



Şekil 4.3: NDM enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshhold) değerini gösteren ekran görüntüsü.



Şekil 4.4: VIM enziminin Real time PCR ile çalışılan ve Ct (cycle treshhold) değerini gösteren ekran görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç, bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de ciddi bir sağlık sorunudur. Özellikle 1980'lerden sonra artış gösteren antibiyotiklere karşı direnç, enfeksiyonların tedavisinde büyük bir sorun haline gelmeye başlamıştır³. *Enterobacteriaceae* üyelerinden olan *Klebsiella pneumoniae*, yoğun bakım ünitelerinde sepsis, üriner sistem enfeksiyonu, kateter ilişkili enfeksiyonlar, pnömoni ve cerrahi alan enfeksiyonları gibi komplike ve tedavisi zor nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumludur. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (ESBL) üreten bakteriler arasında yer alan *K. pneumoniae* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonlardaki en büyük problem, çoklu antibiyotik direnci nedeniyle tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması ve buna bağlı olarak özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalar için geçerli olmakla birlikte, morbidite ve mortalitenin artmasıdır^{4 3}.

Ülkemizde 2010 yılından sonra görülmeye başlayan karbapeneme dirençli enterik bakteriler, 2013 yılına kadar sporadik hastane salgınları şeklindeyken 2014-2015 yıllarından sonra tüm ülkede endemik hale gelmiştir. Ülkemizin de yer aldığı "Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR)" sürveyans programının 2020 raporuna göre ülkemizde *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnç oranı %39'dur³.

Klinik izolatlarda GSBL varlığının saptanması ve antibiyotik direnç paternlerinin izlenmesi, bu izolatlarla oluşan hastane ve toplum kökenli enfeksiyonların önlenmesi ve uygun antibiyotik tedavisini yönlendirmede önem taşımaktadır⁶².

Karbapenemazlar; penisilinleri, sefalosporinlerin çoğunu, değişen derecelerde olmak üzere karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize eden beta-laktamazlardır. Karbapenemazların moleküler ailesi; New Delhi metallo β -laktamaz (NDM), çeşitli metallo beta laktamazlar [imipenemaz (IMP) ve Verona Integron Mediated metallo β -laktamaz (VIM)] ile serin karbapenemazlardan *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) ve OXA tipi karbapenemazlardan oluşmaktadır⁶³.

Bu çalışma, İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nin hem yoğun bakım servislerinde *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının geliştirdiği karbapenem grubu antibiyotik direncinin güncel tablosunu ortaya koymakta olup hem de dirence neden olan karbapenemaz

enzimlerinin dağılımını göstermektedir. Bu tez çalışmasında, antibiyotik direncinin en önemli mekanizmalarından biri olan enzimatik direnç dikkate alınmış olup *K. pneumoniae*'da direncin oluşmasına neden olan, horizontal gen aktarımıyla aktarılabilen⁶ ve en yaygın saptanan ve karbapenem direncine neden olan KPC, NDM, VIM ve OXA-48 karbapenemaz enzimleri incelenmiştir.

YBÜ'de yatan hastalara ait solunum yolu ve hemokültür için gönderilen ve karbapenemaz ve GSBL direnci pozitif saptanan 75 *K. pneumoniae* üreyen hasta numune ve verileri bu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen 75 hastanın 47'si (%62,7) erkek ve 28'i (%37,3) kadındı. Ülkemizde yapılan çalışmalarda benzer şekilde *K. pneumoniae* üreyen hastaların cinsiyet dağılımı erkeklerde; %38,8-59 arasında ve kadınlarda %41-60,2 arasında bulunmuştur^{64 2 4}. Hastaların yaş aralığı 20 yaş ile 93 (ortalama değer 62.56 ± 18.29) yaş arasında değişmekteydi. Çalışmada yer alan olguların %37,3'ü kadın idi. Veriler Tablo.4.6'da incelendiğinde kadınlarda dört enzimin tekil olarak pozitiflik (%) oranı erkeklere göre daha yüksek olarak bulunsa bile bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Yine araştırmamızda ilginç olarak YBÜ'nde yatan hastalardan alınan solunum yolu numunelerinde, karbapenemaz ve GSBL pozitifliği saptanan *K. pneumoniae* örneklerinin tamamı kadın cinsiyeti olarak saptandı. Ancak, Karbapenemaz enzimlerinin cinsiyete göre, 60 yaş üstü ve altı, YBÜ servislerine ve ayrıca solunum yolu örneklerinin kendi içindeki dağılımlarına (Tablo 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10) bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Çalışmamızda; antibiyotiklerden dördüncü kuşak sefalosporinlerden olan sefepim %96,0 dirençli olarak belirlendi. Karbapenem grubu antibiyotiklerden imipenem %52,0 dirençli, %48,0 duyarlı olarak belirlendi. Meropenem %90,7 dirençli, %9,3 duyarlı olarak belirlendi. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, YBÜ'lerinden izole edilen *K. pneumoniae*'nın direnç oranları ile ilgili bazı çalışmalardaki sonuçlar şöyledir: Genişel ve ark², 2021 yılında yaptıkları çalışmada; sefepim direncini %87,88; imipenem direncini %60,61; meropenem direncini %84,85 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar, hastanemiz YBÜ'nden izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının direnç oranları ile benzerlik göstermekteydi. Diğer bir çalışmada ise 2021 yılında Uyanık ve ark⁷, %46 GSBL pozitifliği ile birlikte imipenem direncini %26,0; meropenem direncini %24,4 olarak düşük oranda bulmuşlardır.

Real-Time PCR çalışma sonuçlarına göre GSBL pozitif ve karbapenem dirençli 75 *K. pneumoniae* suşunda, karbapenemaz enzimleri yüzdeleri sırasıyla; %92 NDM, %84 OXA-48, %81,3 KPC ve %78,7 VIM pozitifliği olarak bulundu. Telli ve arkadaşlarının³ yaptığı bir çalışmada direnç enzimlerinin dağılımı; sırasıyla OXA-48, NDM, KPC ve VIM sırasıyla, 113 (%38,8), 32 (%11,0), 7 (%2,4) ve 5 (%1,7) olarak bulunmuştur. Birden fazla direnç genine sahip suşların dağılımı; OXA-48 + NDM 123 (%42,3), OXA-48 + KPC iki adet, OXA-48 + VIM bir adet, NDM + KPC bir adet, NDM + IMP bir adet olarak bulunmuştur. Genç ve ark⁶⁵ yapmış oldukları bir çalışmada tek gen olarak, en sık OXA-48 (%81,05), ikinci sıklıkta NDM (%38,9) direnç genini bulmuşlar, çoklu direnç genlerini ise OXA-48+KPC ve KPC+NDM birlikte olarak bildirmişlerdir. Çalışmamıza, GSBL pozitif ve karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarını dahil ettiğimiz için direnç oluşturan karbapenemaz enzimlerinin varlığı beklenen bir sonuçtu. Bu çalışmada, direnç oluşturan ve sık görülen (OXA-48, NDM, KPC ve VIM) enzimlerin oranlarını saptamak ilk hedefimizdi. Bu nedenle, karbapenemaz enzimlerinin yüzde oran olarak varlığı beklendiği gibi yüksek oranlarda bulundu.

Çalışmamızda araştırdığımız NDM, OXA-48, KPC ve VIM enzimleri dört örnekte negatif olarak bulunmuştur. Bu örnekler 12, 35, 47 ve 48 numaralı numunelerdir (Tablo 4.5). Bu örneklerde antibiyogram tablosuna baktığımızda karbapenem direnci mevcut olduğundan (Tablo 4.2) muhtemelen araştırdığımız NDM, OXA-48, KPC ve VIM enzimleri haricinde başka enzimlerin (OXA-181, vb.) karbapenem direncine neden olabileceği şeklinde yorumlandı.

İlginç olarak, negatif olarak saptanan bu dört örneğin hepsinin hemokültür numunesi olduğu tespit edildi. Hemokültür ve solunum yolu örnekleri arasında istatistiksel olarak farklı bulunan karbapenemaz enzimleri ise; KPC ve VIM olarak bulundu (Tablo 4.9) ($p < 0.05$).

Yapılan çalışmalarda YBÜ'lerinden izole edilen *K. pneumoniae*'nin direnç genleri ile ilgili çalışmalarda şu sonuçlar bulunmuştur: Moussa ve ark⁶⁶, 2019-2022 yıllarında YBÜ'de yatan hastalardan izole ettikleri tüm *K. pneumoniae* suşlarında NDM, OXA-48 ve VIM enzimlerini sırasıyla %2,5; %81 ve %6,3 olarak bildirmişlerdir. Demir ve ark⁶⁸ ise 2021 yılında YBÜ'de yatan ve karbapenemaz varlığı saptanan *K. pneumoniae* suşlarında NDM ve OXA48 enzimlerini sırasıyla %43,2 ve %18,2 olarak bildirmişler, KPC ve VIM genlerini ise *K. pneumoniae*'da saptayamamışlardır. Ayrıca NDM ve OXA-48 genlerini birlikte %36,4 bulmuşlardır.

Bu çalışmada veriler incelendiğinde; araştırdığımız enzimlerin (NDM, OXA-48, KPC ve VIM) solunum yolu örneklerinde daha yüksek oranda olduğu tespit edildi. Solunum yolu örneklerinde sırasıyla, NDM %97,6; OXA-48 %90,5; KPC %90,5 ve VIM %88,1 bulunurken; kan örneklerinde ise NDM %84,8; OXA-48 %75,8; KPC %69,7 ve VIM %66,7 olarak bulundu. Solunum yolu örneklerinde KPC (%90,5) ve VIM (%88,1) enzimleri kan kültüründe saptanan KPC (%69,7) ve VIM (%66,7) oranlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Yine veriler incelendiğinde solunum yolu örneklerine göre kan örneklerinde aradığımız enzimlerin daha düşük oranda olduğu görüldü (Tablo 4.9).

Bu tez çalışmasında, IMP enziminin de araştırılması planlanmış ancak PCR için yapılan optimizasyon çalışmalarında, kullanılan iki farklı primer ^{61 69} için de standardizasyon sağlanamadığından IMP enzimi çalışma dışında bırakılmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, IMP enziminin saptanma olasılığı düşük hatta neredeyse saptanamadığı için ^{70 67 68 61} göz ardı edilebilir olduğunu düşünerek diğer daha az saptanan genlerin (OXA-181, vb.) de olduğu ve çalışmamızda Tablo 4.4 ve 4.5'te negatif olan grubun (n:4, %5,3) içinde yer alabileceğini düşünmekteyiz.

Real-Time PCR çalışma sonuçlarına göre *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enzimlerinin birlikte bulunma durumları ise Tablo 4.4'de gösterildiği gibi; %70,7 oranla KPC+OXA-48+NDM+VIM olarak dört enzim birlikte, %8,0 oranla OXA-48+NDM olarak iki enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+OXA-48+NDM olarak üç enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+NDM+VIM olarak üç enzim birlikte, %2,7 oranla NDM tek başına, %2,7 oranla VIM tek başına ve %5,3 oranla hepsinin negatif olduğu toplamda 75 *K. pneumoniae* suşlarının karbapenemaz enzimleri çalışmada tespit edildi.

Çalışmamızda, %70,7 oranla KPC+OXA-48+NDM+VIM olarak dört enzim birlikteliği oldukça yüksek oranda bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda, direnç geninin birlikte görüldüğü durumlar şu şekildedir: Demir ve ark ⁶⁸ yaptığı çalışmada NDM ve OXA-48 genleri birlikte %36,4; Telli ve ark³'ün çalışmasında, birden fazla direnç geninin birlikte bulunma oranları %42,3 oranında OXA-48 ve NDM; OXA-48+KPC iki adet, OXA-48+VIM bir adet, NDM+KPC bir adet, NDM+IMP bir adet olarak bulunmuştur. Okalin ve ark ⁶ yaptıkları bir çalışmada OXA-48 ve NDM'nin birlikte %15,5 oranında olduğunu saptamışlardır. Süzük Yıldız ve ark ⁷¹ yaptıkları çalışmada %12,6 oranla OXA-48 ve NDM-1 birlikte; %2,8 oranla KPC ve NDM-1 birlikte ve %0,5 oranla OXA-48 ve VIM enzimlerini birlikte bulmuşlardır.

Sonuç olarak, hastane enfeksiyonlarının önde gelen, morbidite ve mortalite ile seyreden *K. pneumoniae* suşlarının direnç profillerinin mikrobiyoloji ve hastane enfeksiyonu kontrol laboratuvarları tarafından takip ve sürveyansının yapılması, ayrıca direnç oluşturan enzimlerinin de takibi önem arz etmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, YBÜ’de yatan hastalara ait solunum yolu ve hemokültür için gönderilen ve karbapenemaz ve GSBL direnci pozitif saptanan 75 *K. pneumoniae* üreyen hasta numune ve verileri dahil edildi. *Klebsiella pneumoniae*’nın, izole edildiği solunum yolu örneklerinin dağılımı sırasıyla; %64,3 (n:27)’ü endotrakeal aspirat, %16,7 (7)’si balgam, %14,3 (n:6)’ü Antibiyotik duyarlılıkları olan sefepim’e %96,0 dirençli, %4,0 intermediate olarak belirlendi. İmipenem %52,0 dirençli, %48,0 duyarlı ve Meropenem %90,7 dirençli, %9,3 duyarlı olarak belirlendi.

Real-Time PCR sonuçlarına göre karbapenemaz enzimlerinin bulunma yüzdeleri; %92 NDM, %84 OXA-48, %81,3 KPC ve %78,7 VIM olarak belirlendi. Dört örnekte araştırılan enzimlerin hiçbirisi saptanmadı (%5,3). Cinsiyet, 60 yaş altı ve üstünde olmak ve hastanın yattığı YBÜ’ne göre incelendiğinde; karbapenemaz enzim varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Karbapenem direncine neden olan karbapenemaz enzimlerinin birlikte olarak bulunma durumları ise; %70,7 oranla KPC+OXA-48+NDM+VIM olarak dört enzim birlikte, %8,0 oranla OXA-48+NDM olarak iki enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+OXA-48+NDM olarak üç enzim birlikte, %5,3 oranla KPC+NDM+VIM olarak üç enzim birlikte, %2,7 oranla NDM tek başına, %2,7 oranla VIM tek başına ve %5,3 oranla hepsinin negatif olduğu toplamda 75 *K. pneumoniae* suşlarının karbapenemaz enzimleri çalışmada tespit edildi. Örnek türlerine göre karbapenemaz enzimlerinin dağılımı incelendiğinde; solunum yolu örneklerinde KPC (%90,5) ve VIM (%88,1) enzimlerinin kan kültüründe saptanan KPC (%69,7) ve VIM (%66,7) oranlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Sonuç olarak; Karbapenemaz üreten bakterilerin neden olduğu YBÜ enfeksiyonları dikkatle takip edilmelidir. Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* yönünden özellikle YBÜ’lerinde hastane enfeksiyon kontrolü açısından retrospektif ve prospektif kesitsel sürveyans çalışmalarının yapılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024. (n.d.). Retrieved December 2, 2024, from <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf>
2. Genişel, N., Özcan, N., Gül, K., Akpolat, N., Atmaca, S., Kenar, L., Altanlar, N., Dal, T., Kan, K. P., Karbapenem, İ., Direnç, K., Moleküler, M., & İncelenmesi, O. (2021). Molecular Investigation of Carbapenem and Colistin Resistance Mechanisms in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Isolates. In *J. Pharm. Sci* (Vol. 46).
3. Telli, M. (2022). *Klebsiella pneumoniae* Klinik Suşlarında, 2012-2020 Yılları Arasında Karbapenem Direnç Oranlarındaki Değişimin ve Direnç Genlerinin Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 52(2), 95–102. <https://doi.org/10.54453/tmcd.2022.05025>
4. Büyüktuna, S. A., Hasbek, M., Çelik, C., Ünlüsavuran, M., Avcı, O., Baltacı, S., Firtina Topcu, K., & Elaldi, N. (2021). *Klebsiella pneumoniae* infections in the intensive care unit: Risk factors related to carbapenem resistance and patient mortality. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 54(3), 378–391. <https://doi.org/10.5578/MB.69679>
5. Codjoe, F. S., & Donkor, E. S. (2017). Carbapenem Resistance: A Review. In *Medical sciences (Basel, Switzerland)* (Vol. 6, Issue 1). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/medsci6010001>
6. Okalin, Ş. Ş., Sarı Kaygısız, A. N., Ergon, M. C., & Öktem, İ. M. A. (2021). Investigation of Carbapenemase Genes in Carbapenem Resistant Enterobacterales Isolates: First KPC Report From Dokuz Eylül University Hospital. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2021.94899>
7. Uyanık Parlak, A., Güdücüoğlu, H., Parlak, M., Bayram, Y., & Otlı, B. (2021). The Investigation of OXA-48 and Sub-Derivatives in *Klebsiella pneumoniae* Strains and Phenotypic Reflection. *ANKEM DERGİSİ*. <https://doi.org/10.5222/ankem.2021.001>
8. Hu, Y., Zhang, H., Wei, L., Feng, Y., Wen, H., Li, J., Zhang, Z., Yang, Y., Moran, R. A., McNally, A., & Zong, Z. (2022). Competitive Transmission of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in a Newly Opened Intensive Care Unit. *MSystems*, 7(6). <https://doi.org/10.1128/msystems.00799-22>
9. Ashurst JV, Dawson A. *Klebsiella Pneumonia*. 2023 Jul 20. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 30085546.
10. Drancourt, M., Bollet, C., Carta, A., & Rousselier, P. (2001). Phylogenetic analyses of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella*

- planticola comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), 925–932. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-925>
11. Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors* (Vol. 11, Issue 4).
 12. Parija, S. C. (2023). Coliforms. In *Textbook of Microbiology and Immunology* (pp. 495–515). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-3315-8_35
 13. Singh, S., Wilksch, J. J., Dunstan, R. A., Mularski, A., Wang, N., Hocking, D., Jebeli, L., Cao, H., Clements, A., Jenney, A. W. J., Lithgow, T., & Strugnell, R. A. (2022). LPS O Antigen Plays a Key Role in *Klebsiella pneumoniae* Capsule Retention. *Microbiology Spectrum*, 10(4). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01517-21>
 14. Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 8, Issue JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
 15. Bengoechea, J. A., & Sa Pessoa, J. (2019). *Klebsiella pneumoniae* infection biology: Living to counteract host defences. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 43, Issue 2, pp. 123–144). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy043>
 16. Herridge, W. P., Shibu, P., O'Shea, J., Brook, T. C., & Hoyles, L. (2020). Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. In *Journal of Medical Microbiology* (Vol. 69, Issue 2, pp. 176–194). Microbiology Society. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001141>
 17. Paczosa, M. K., & Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–661. <https://doi.org/10.1128/mmb.00078-15>
 18. De Majumdar, S., Yu, J., Fookes, M., McAteer, S. P., Llobet, E., Finn, S., Spence, S., Monahan, A., Kissenpfennig, A., Ingram, R. J., Bengoechea, J., Gally, D. L., Fanning, S., Elborn, J. S., & Schneiders, T. (2015). Elucidation of the RamA Regulon in *Klebsiella pneumoniae* Reveals a Role in LPS Regulation. *PLoS Pathogens*, 11(1), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004627>
 19. Gorrie, C. L., Mirceta, M., Wick, R. R., Judd, L. M., Wyres, K. L., Thomson, N. R., Strugnell, R. A., Pratt, N. F., Garlick, J. S., Watson, K. M., Hunter, P. C., McGloughlin, S. A., Spelman, D. W., Jenney, A. W. J., & Holt, K. E. (2018). Antimicrobial-resistant *klebsiella pneumoniae* carriage and infection in specialized geriatric care wards linked to acquisition in the referring hospital. *Clinical Infectious Diseases*, 67(2), 161–170. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy027>
 20. Magill, S. S., Edwards, J. R., Bamberg, W., Beldavs, Z. G., Dumyati, G., Kainer, M. A., Lynfield, R., Maloney, M., McAllister-Hollod, L., Nadle, J., Ray, S. M., Thompson, D. L., Wilson, L. E., & Fridkin, S. K. (2014). Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine*, 370(13), 1198–1208. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1306801>

21. ŞEN, Ş., & HASDEMİR, U. (2024). Klebsiella pneumoniae İzolatlarının Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Profilinin Genotipik ve Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması. *Journal of Health Sciences and Management*, 4(4), 76–82. <https://doi.org/10.29228/JOHESAM.40>
22. Martin, R. M., Cao, J., Brisse, S., Passet, V., Wu, W., Zhao, L., Malani, P. N., Rao, K., & Bachman, M. A. (2016). Molecular Epidemiology of Colonizing and Infecting Isolates of Klebsiella pneumoniae. *MSphere*, 1(5). <https://doi.org/10.1128/msphere.00261-16>
23. Agyeman, A. A., Bergen, P. J., Rao, G. G., Nation, R. L., & Landersdorfer, C. B. (2020). A systematic review and meta-analysis of treatment outcomes following antibiotic therapy among patients with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 55, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.10.014>
24. Ergonul, O., Tokca, G., Keske, Ş., Donmez, E., Madran, B., Kömür, A., Gönen, M., & Can, F. (2022). Elimination of healthcare-associated Acinetobacter baumannii infection in a highly endemic region. *International Journal of Infectious Diseases*, 114, 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.10.011>
25. TC Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü: *Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHIESA), Etken Dağılımı ve Direnç Raporu 2023*. Ankara. Haziran2024.
26. European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization: *Antimicrobial resistance surveillance in Europe*. In 2023. <https://doi.org/10.2900/63495>
27. Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. In *Therapeutic Advances in Infectious Disease* (Vol. 3, Issue 1, pp. 15–21). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/2049936115621709>
28. Kahraman, E. P., Karakeçe, E., Erdoğan, F., Uluyurt, H., Köroğlu, M., & Çiftci, İ. H. (2017). The evaluation of antibiotic resistance status of Klebsiella pneumoniae. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9(1), 12–18. <https://doi.org/10.21601/ortadogutipdergisi.291133>
29. Bektaş, A., Güdücüoğlu, H., Gürsoy, N. C., Berktaş, M., Gültepe, B. S., Parlak, M., Otlı, B., & Tekerekoğlu, M. S. (2018). Investigation of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Genes in ESBL-Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains. *Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*, 23(3), 116–123. <https://doi.org/10.5578/flora.67296>
30. Gümüş, H. H., & Köksal, F. (2023). Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae: Resistance Mechanisms, Epidemiology, and Mortality. *Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*, 28(2), 131–143. <https://doi.org/10.5578/flora.20239913>
31. Arato, V., Raso, M. M., Gasperini, G., Scorza, F. B., & Micoli, F. (2021). Prophylaxis and treatment against klebsiella pneumoniae: Current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8). <https://doi.org/10.3390/ijms22084042>

32. Şenol, G. (2023). Yoğun Bakım Hastalarından Elde Edilen *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarının Seftazidim-Avibaktam Duyarlılığı. *Journal of İzmir Chest Hospital*. <https://doi.org/10.14744/igh.2023.85547>
33. Lima, L. M., Silva, B. N. M. da, Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 208). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>
34. Murray Patrick. *Klebsiella pneumoniae*. *Murray-Medical-Microbiology-8th-Edition*(Cafe Pezeshki.IR).
35. Ayfer Günalp: Antibiyotiklerin etkisi ve direnç meydana geliş mekanizmaları. Mikrobiyoloji Bülteni 1977; 11 (4): 577-589.
36. Pandey N, Cascella M. Beta-Lactam Antibiotics. 2023 Jun 4. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 31424895.
37. Kahan, J. S., Kahan, F. M., Goegelman, R., Currie, S. A., Jackson, M., Stapley, E. O., Miller, T. W., Miller, A. K., Hendlin, D., Mochalest, S., Hernandezt, S., Woodruff, H. B., & Birnbaum, J. (n.d.). *THIENAMYCIN, A NEW 8-LACTAM ANTIBIOTIC 1. DISCOVERY, TAXONOMY, ISOLATION AND PHYSICAL PROPERTIES**.
38. Elshamy, A. A., & Aboshanab, K. M. (2020). A review on bacterial resistance to carbapenems: Epidemiology, detection and treatment options. In *Future Science OA* (Vol. 6, Issue 3). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0098>
39. El-Gamal, M. I., Brahim, I., Hisham, N., Aladdin, R., Mohammed, H., & Bahaaeldin, A. (2017). Recent updates of carbapenem antibiotics. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 131, pp. 185–195). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.022>
40. Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -lactams and β -lactamase inhibitors: An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
41. Congeni, B. L. (2010). Ertapenem. In *Expert Opinion on Pharmacotherapy* (Vol. 11, Issue 4, pp. 669–672). <https://doi.org/10.1517/14656561003631397>
42. Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
43. Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. In *Journal of Molecular Biology* (Vol. 431, Issue 18, pp. 3472–3500). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
44. Egorov, A. M., Ulyashova, M. M., & Rubtsova, M. Y. (2020). Inhibitors of β -Lactamases. New Life of β -Lactam Antibiotics. *Biochemistry. Biokhimiia*, 85(11), 1292–1309. <https://doi.org/10.1134/S0006297920110024>

45. Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -lactamases. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 62, Issue 10). American Society for Microbiology.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
46. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 54, Issue 3, pp. 969–976).
<https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
47. Husna, A., Rahman, M. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, M. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. In *Biomedicines* (Vol. 11, Issue 11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>
48. ŞEN, Ş., & HASDEMİR, U. (2024). Klebsiella pneumoniae İzolatlarının Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Profilinin Genotipik ve Fenotipik Yöntemlerle Araştırılması. *Journal of Health Sciences and Management*, 4(4), 76–82.
<https://doi.org/10.29228/JOHESAM.40>
49. Karampatakis, T., Tsergouli, K., & Behzadi, P. (2023). Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae: Virulence Factors, Molecular Epidemiology and Latest Updates in Treatment Options. In *Antibiotics* (Vol. 12, Issue 2). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12020234>
50. Nordmann, P., & Poirel, L. (2019). Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 69, S521–S528.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciz824>
51. Hodge, W., Ciak, J., & Tramont, E. C. (1978). NOTES Simple Method for Detection of Penicillinase-Producing Neisseria gonorrhoeae. In *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* (Vol. 7, Issue 1). <https://journals.asm.org/journal/jcm>
52. Hammoudi, D., Ayoub Moubareck, C., & Karam Sarkis, D. (2014). How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. In *Journal of Microbiological Methods* (Vol. 107, pp. 106–118). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.09.009>
53. Tamma, P. D., & Simner, P. J. (2018). *Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates*.
www.cdc.gov/hai/organisms/cre/definition.html
54. Yusuf, E., Van Der Meeren, S., Schallier, A., & Piérard, D. (2014). Comparison of the Carba NP test with the Rapid CARB Screen Kit for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 33(12), 2237–2240.
<https://doi.org/10.1007/s10096-014-2199-3>
55. Tamma, P. D., Opene, B. N. A., Gluck, A., Chambers, K. K., Carroll, K. C., & Simner, P. J. (2017). Comparison of 11 phenotypic assays for accurate detection of carbapenemase-

- producing enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(4), 1046–1055.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02338-16>
56. Papagiannitsis, C. C., Študentová, V., Izdebski, R., Oikonomou, O., Pfeifer, Y., Petinaki, E., & Hrabáka, J. (2015). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry meropenem hydrolysis assay with NH_4HCO_3 , a reliable tool for direct detection of carbapenemase activity. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(5), 1731–1735. <https://doi.org/10.1128/JCM.03094-14>
 57. Khehra N, Padda IS, Swift CJ. Polymerase Chain Reaction (PCR) [Updated 2023 Mar 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/>
 58. Abdullah, A. M., Abdullah, R. M., & Salman, S. L. (2009). Use of chromogenic Agar in detection of urinary tract pathogens and Use of chromogenic Agar in detection of urinary tract pathogens and antimicrobial Susceptibility. In *J Fac Med Baghdad* (Vol. 51, Issue 1).
 59. Hoşgör M, Özkan F, Yapar N, Tünger A, Özinel MA. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Belirlenmesinde Çift Diskli Sinerji Testi ile Üç Boyutlu Yöntemin Karşılaştırılması. *Klimik Dergisi* 1998; 11 (2): 59-60.
 60. Martinez-Martinez, L., Cantón Spain, R., Stefani, S., Skov, R., Glupczynski, Y., Nordmann, P., Wootton, M., Miriagou, V., & Skov Simonsen, G. (2017). *EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance*.
 61. Dogan, M., & Ugrakli, S. (2023). Phenotypic and Genotypic Identification of Carbapenem-Resistant *Klebsiella Pneumoniae* and Determination of Antibiotic Susceptibility. *Selcuk Tip Dergisi*. <https://doi.org/10.30733/std.2023.01639>
 62. TEMİZ, H., ÖZBEK, E., GÜR VURAL, D., & ÖZEKİNCİ, T. (2016). Evaluation of Antimicrobial Resistance Rates of *Klebsiella* Isolates. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2015.068>
 63. Anıl SÜLEYMANOĞLU, A., Aksu, H., & Aydin, A. (n.d.). *Enterobacteriaceae Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz ile Karbapenem ve Kolistin Direnci*. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bozokvetsci>
 64. Yürek, M., & Cevahir, N. (2023). Investigation of Virulence Genes and Carbapenem Resistance Genes in Hypervirulent and Classical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Various Clinical Specimens. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 57(2), 188–206. <https://doi.org/10.5578/mb.20239915>
 65. Genç, S., Kolaylı, F., & Özçelik, E. Y. (2022). Molecular characterization of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains by multiplex PCR and PFGE methods: The first *K.pneumoniae* isolates co-producing OXA-48/KPC and KPC/NDM in Turkey. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 28(2), 192–198. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.10.009>

66. Moussa, B., Hmami, F., Arhoun, B., El Fakir, S., Massik, A. M., Belchkar, S., Hibaoui, L., & Oumokhtar, B. (2023). Intense Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Co-harboring OXA-48, KPC, VIM, and NDM Among Preterm Neonates in a Moroccan Neonatal Intensive Care Unit. *Cureus*.
<https://doi.org/10.7759/cureus.50095>
67. Kutlu, H. H., Us, E., & Tekeli, A. (2018). Bir Üniversite Hastanesinde 2010-2014 Yillari Arasında İzole Edilen Enterobacteriaceae Türlerinin Karbapenemaz Genlerinin Araştırılması ve Moleküler Epidemiyolojisinin Belirlenmesi. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 52(1), 1–12. <https://doi.org/10.5578/mb.66156>
68. Demir, H. K., & Nakipoglu, Y. (2023). Investigation of the prevalence of carbapenem resistance genes in faecal carriage of carbapenem resistant *Klebsiella* spp. isolates by multiplex real-time PCR method. *Journal of Infection in Developing Countries*, 17(11), 1606–1612. <https://doi.org/10.3855/jidc.17892>
69. Liao, Y., Gong, J., Yuan, X., Lu, H., & Jiang, L. (2023). Drug Resistance Genes and Molecular Epidemiological Characteristics of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, 16, 1511–1519.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S399142>
70. Cetinkol Y, Yildirim AA, Telli M, Calgin MK. The investigation of oxacillinase/metallo-beta-lactamase genes and clonal analysis in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infez Med*. 2016;24(1):48-53.
71. Süzük Yıldız, S., Şimşek, H., Bakkaloğlu, Z., Numanoğlu Çevik, Y., Hekimoğlu, C. H., Kiliç, S., Alp Meşe, E., Akçali, A., Karaca, A. U., Bayraktar, B., Eryildiz, C., Çelik, C., DüNDAR, D., Evren, E., Demirkan, E., Özkaya, E., Bağcı, F., Sezgin, F. M., Kibar, F., ... Karahan, Z. C. (2021). The epidemiology of carbapenemases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in 2019 in Turkey. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 55(1), 1–16.
<https://doi.org/10.5578/MB.20124>