



**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YENİDOĞAN YOĞUNBAKIM ÜNİTESİNDEN GÖNDERİLEN
ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL VE FUNGAL
ETKENLERİN TANIMLANMASI, ANTİMİKROBİYAL
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ VE OLASI DİRENÇ
GENLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ**

Ergin KARACAN

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Fatih BÜYÜK

İkinci Danışman

Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

2023-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YENİDOĞAN YOĞUNBAKIM ÜNİTESİNDEN GÖNDERİLEN
ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİYEL VE FUNGAL
ETKENLERİN TANIMLANMASI, ANTİMİKROBİYAL
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ VE OLASI DİRENÇ
GENLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ**

Ergin KARACAN

DOKTORA TEZİ

Danışmanlar
Prof. Dr. Fatih BÜYÜK
Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

2023-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Ergin KARACAN tarafından hazırlanmış olan “**Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinden Gönderilen Örneklerden İzole Edilen Bakteriyel ve Fungal Etkenlerin Tanımlanması, Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi ve Olası Direnç Genlerinin Moleküler Analizi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy ile edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03/02/2023

Adı Soyadı:

İmza:

Başkan:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Üye:

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../ .../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programında yapılmıştır.

Çalışmada “Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinden Gönderilen Örneklerden İzole Edilen Bakteriyel ve Fungal Etkenlerin Tanımlanması, Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi ve Olası Direnç Genlerinin Moleküler Analizi” gerçekleştirilmiştir. İki basamaklı gerçekleştirilen bu çalışmanın ilk basamağı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yapılmıştır. Burada yapılan çalışmalar, tür identifikasyonunu ve antibiyogram uygulamalarını kapsamıştır. İkinci basamakta ise Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda moleküler yöntemler ile direnç gen tayini yapılmıştır.

Çalışmanın her basamağında yanımda olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, değerli bilgilerinden faydalandığım birinci danışman hocam Prof.Dr. Fatih BÜYÜK’e sonsuz şükran ve minnetlerimi sunarım. Bütün desteklerinden dolayı ikinci danışman hocam sayın Prof.Dr. Yasemin BAYRAM’a, ders aşamasında ve daha sonraki dönemlerde engin bilgileri ve yardımları ile desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof.Dr. Salih OTLU, Prof.Dr. Mitat ŞAHİN, Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ, Doç.Dr. Aliye Gülmez SAĞLAM, Dr.Öğr. Üyesi Elif ÇELİK’e, tez çalışmam sırasında laboratuvar çalışmalarına desteklerini esirgemeyen Arş.Gör. Eray BÜYÜK, Arş.Gör. Seda DURHAN ve Doktora Öğrencisi Yaren ERSOY’a ve laboratuvar çalışmaları için sarf malzeme ve teknik destek veren Doç.Dr. Harun HIZLISOY ve Dr. Elif AYDIN’a en içten duygularla şükranlarımı sunarım. Bu tez çalışmasının yapılmasında desteklerini esirgemeyen Prof.Dr. Oğuz TUNCER, Prof.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU, Doç.Dr. Kamuran KAHRAMAN, Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Ünitesi ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına da ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

SİMGELER, FORMÜLLER ve KISALTMALAR.....	I
TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VII
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yenidoğan Sepsisi	4
2.1.1. Yenidoğan Sepsisinin Epidemiyolojisi	5
2.1.2. Yenidoğan Sepsisinde Klinik ve Laboratuvar Bulguları.....	6
2.1.3. Yenidoğan Sepsisinde Tanı ve Tedavi	7
2.2. Yenidoğan Menenjit	9
2.2.1. Yenidoğan Menenjitinde Klinik Bulgular	9
2.2.2. Yenidoğan Menenjitinde Tanı ve Tedavi	9
2.3. Yenidoğan Pnömonisi.....	11
2.3.1. Yenidoğan Pnömonisinde Klinik Bulgular	11
2.3.2. Yenidoğan Pnömonisinde Tanı ve Tedavi	12
2.4. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonları	12
2.4.1. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular	12
2.4.2. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Tanı ve Tedavi	13
2.5. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisit.....	13
2.5.1. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisitte Klinik Bulgular	13
2.5.2. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisitte Tanı ve Tedavi.....	14
2.6. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonları.....	14
2.6.1. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular.....	15
2.6.2. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonlarında Tanı ve Tedavi.....	15
2.7. Yenidoğanlarda Kateter Kaynaklı Enfeksiyonlar.....	15
2.7.1. Yenidoğanlarda Kateter Kaynaklı Enfeksiyonlarda Klinik Bulgular	16
2.7.2. Yenidoğanlarda Kateter Kaynaklı Enfeksiyonlarda Tanı ve Tedavi	16

2.8. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Tanı Yöntemleri.....	16
2.8.1. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı	16
2.8.1.1. Kan Kültürü	16
2.8.1.2. Beyin Omurilik Sıvısı Kültürü	17
2.8.1.3. İdrar Kültürü	17
2.8.1.4. Trakeal Aspirat Kültürü	18
2.8.1.5. Bakteri Genomunun Saptanması	18
2.8.2. Nonspesifik Tanı ve Tarama Testleri	18
2.8.2.1. Beyaz Kan Hücre Sayımı	18
2.8.2.2. Trombosit Sayımı	18
2.8.2.3. C-Reaktif Protein (CRP)	19
2.8.2.4. Prokalsitonin (PCT)	19
2.8.2.5. İnterlökin-6 (IL-6)	19
2.8.2.6. Radyolojik İncelemeler	20
2.9. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Akılcı Antibiyotik Kullanımı.....	20
2.9.1. Antimikrobiyallere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları	20
2.9.1.1. Doğal Direnç	21
2.9.1.2. Kazanılmış Direnç	21
2.9.1.3. Kazanılmış Direncin Ortaya Çıkmasında Rol Oynayan Fenotipik Mekanizmalar	21
2.9.1.3.1. Hedef Molekülün Değişimi Sonucu Gelişen Direnç	21
2.9.1.3.2. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç	23
2.9.1.3.3. Grup Transferi	25
2.9.1.3.4. Aktif Pompa Sistemleri ve Hücre Duvarı Permeabilite Değişimi Sonucu Şekillenen Direnç	25
2.9.2. Antifungallere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları	26
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1. Çalışma Materyali	27
3.1.1. Çalışma İzinleri	27
3.1.2. Etken İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Kullanılan Materyaller	27
3.1.2.1. %5 Koyun Kanlı Agar / EMB Agar	27
3.1.2.2. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)	28
3.1.2.3. Mueller Hinton Agar	28

3.1.2.4. Gram Boyama Seti.....	29
3.1.2.5. Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 İdentifikasyon Sistemi.....	29
3.1.2.6. Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Antibiyotik Duyarlılık Sistemi	30
3.1.2.7. E-TEST (Epsilometer Test) Şeritleri	30
3.1.2.8. İzolatların Saklanması İçin Gerekli Materyaller	30
3.1.2.9. PCR Analizi İçin Gerekli Olan Araç ve Gereçler	31
3.1.2.10. PCR Bileşenleri	31
3.1.2.11. Elektroforez Bileşenleri	31
3.1.2.12. Veri Analizi İçin Gerekli Materyal.....	32
3.2. Metot	32
3.2.1. Örneklem	32
3.2.2. Etken İzolasyon Yöntemi	32
3.2.3. Etken İdentifikasyon Yöntemleri.....	33
3.2.3.1. Gram Boyama Yöntemi	33
3.2.3.2. Otomatize Sistem ile İdentifikasyon.....	33
3.2.3.3. <i>Candida albicans</i> 'ın PCR ile İdentifikasyonu	34
3.2.3.4. Otomatize Sistem ile Antibiyotik Duyarlılık Analizi	35
3.2.3.5. E-TEST Antibiyotik Duyarlılık Testi	35
3.2.3.6. Tanımlanan İzolatların Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Analizi	35
3.2.3.7. DNA Ekstraksiyonu.....	36
3.2.3.8. Direnç Genlerinin Belirlenmesi ve PCR Analizleri	36
3.2.3.8.1. TEM-PCR Yöntemi.....	37
3.2.3.8.2. CTX-M-PCR Yöntemi	38
3.2.3.8.3. CMY-2-PCR Yöntemi.....	39
3.2.3.8.4. VIM, NDM ve KPC-PCR Yöntemi	40
3.2.3.8.5. SUL-2-PCR Yöntemi	41
3.2.3.8.6. MecA-PCR Yöntemi	42
3.2.3.8.7. VanA, VanB ve VanC-PCR Yöntemi	43
3.2.3.8.8. AaDB ve AaDA25-PCR Yöntemi.....	45
3.2.3.8.9. <i>ERG11</i> , <i>FUR1</i> ve <i>FKS1</i> Genleri için PCR Yöntemi	46
3.2.3.9. Elektroforez Yöntemi	47

3.2.4. Veri Analiz Yöntemi	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. Örnek Orijinleri ve Dağılımı	49
4.2. İzolasyon Bulguları.....	49
4.3. İdentifikasyon Bulguları.....	52
4.4. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları	55
4.5. Antibiyotik Direnç Genlerine ait PCR Bulguları	61
4.5.1. TEM, CTX-M ve CMY-2 PCR Bulguları.....	62
4.5.2. NDM, VIM ve KPC PCR Bulguları	70
4.5.3. SUL-2 PCR Bulguları	77
4.5.4. AaDA25 ve AaDB-PCR Bulguları	79
4.5.5. MecA-PCR Bulguları.....	84
4.5.6. VanA, VanB ve VanC-PCR Bulguları.....	88
4.5.7. <i>ERG11</i> , <i>FUR1</i> ve <i>FKS1</i> Genleri için PCR Sonuçları	91
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	93
KAYNAKLAR.....	107
EKLER.....	112

SİMGELER, FORMÜLLER ve KISALTMALAR

<u>Simge-Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
AAC	Asetil Transferazlar
AK	Amikasin
ANT	Adenil Transferazlar
APH	Fosfotransferazlar
CAZ	Seftazidim
CFM	Sefiksim
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CN	Gentamisin
CRP	C-reaktif protein
CTX	Sefotaksim
EMR	Erken Membran Ruptürü
ETP	Ertapenem
FEP	Sefepim
HSV	Herpes Simpleks Virüs
IL-6	İnterlökin-6
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokoklar
MNS	Mutlak Nötrofil Sayısı
PBP	Penisilin Bağlayan Proteinler
PCT	Prokalsitonin
TOB	Tobramisin
TPN	Toplam parenteral beslenme
TZP	Piperasilin/Tazobaktam
YYBÜ	Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 1. Yenidoğan döneminde sık görülen patojenler	3
Tablo 2. EMA sepsis protokolü skorlaması.....	7
Tablo 3. Beta-laktamazların sınıflandırılması	24
Tablo 4. Koyun kanlı agar ve EMB besiyeri içerikleri	28
Tablo 5. SDA besiyeri içerikleri	28
Tablo 6. Mueller Hinton Agar besiyeri içerikleri	29
Tablo 7. <i>C. albicans</i> 'ın identifikasyonunda kullanılan primer çifti.....	34
Tablo 8. <i>C. albicans</i> 'ın identifikasyonunda kullanılan PCR bileşenleri	34
Tablo 9. <i>C. albicans</i> 'ın identifikasyonu için uygulanan termal şartlar	34
Tablo 10. TEM-PCR için kullanılan primer çifti.....	37
Tablo 11. TEM-PCR için kullanılan bileşenler	37
Tablo 12. TEM-PCR için uygulanan termal şartlar	37
Tablo 13. CTX-M-PCR için kullanılan primer çifti.....	38
Tablo 14. CTX-M-PCR için kullanılan bileşenler	38
Tablo 15. CTX-M-PCR için uygulanan termal şartlar	39
Tablo 16. CMY-2-PCR için kullanılan primer çifti.....	39
Tablo 17. CMY-2-PCR için kullanılan bileşenler	39
Tablo 18. CMY-2-PCR için uygulanan termal şartlar	40
Tablo 19. VIM, NDM ve KPC-PCR için kullanılan primer çiftleri	40
Tablo 20. VIM, NDM, KPC-PCR için kullanılan bileşenler.....	41
Tablo 21. VIM, NDM ve KPC-PCR için uygulanan termal şartlar	41
Tablo 22. SUL-2-PCR için kullanılan primer çifti	41
Tablo 23. SUL-2-PCR için kullanılan bileşenler	42
Tablo 24. SUL-2-PCR için uygulanan termal şartlar	42
Tablo 25. MecA-PCR için kullanılan primer çifti	42
Tablo 26. MecA-PCR için kullanılan bileşenler.....	43
Tablo 27. MecA-PCR için uygulanan termal şartlar.....	43
Tablo 28. VanA, vanB ve vanC-PCR için kullanılan primer çiftleri	44
Tablo 29. VanA, vanB, vanC-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri	44
Tablo 30. VanA, vanB ve vanC-PCR için uygulanan termal şartlar	44
Tablo 31. AadB ve AadA25-PCR için kullanılan primer çifti.....	45

Tablo 32. AaDB ve AaDA25-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri	45
Tablo 33. AaDB ve AaDA25-PCR için uygulanan termal şartlar	45
Tablo 34. Antifungal direnci göstermek için PCR’de kullanılan primer çiftleri	46
Tablo 35. <i>ERG11</i> , <i>FUR1</i> ve <i>FKS1</i> genleri için oluşturulan PCR bileşenleri	47
Tablo 36. <i>ERG11</i> , <i>FUR1</i> ve <i>FKS1</i> -PCR için uygulanan termal şartlar	47
Tablo 37. Kültürel analiz için kullanılan örneklerin dağılımı ve kültür pozitifliği ...	51
Tablo 38. İzolatların tür ve örnek orijinlerine göre dağılımı	54
Tablo 39. Koagülaz (-) stafilokok, <i>S. aureus</i> ve <i>Enterococcus</i> spp. izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları.....	56
Tablo 40. <i>A. baumannii/ haemolyticus</i> , <i>Klebsiella</i> spp. ve <i>E. coli</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları.....	58
Tablo 41. <i>S. maltophilia</i> , <i>S. marcescens</i> ve <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları.....	60
Tablo 42. <i>C. albicans</i> izolatlarının antifungal duyarlılık/dirençlilik profilleri	61
Tablo 43. Bakteriyel izolatlarda saptanan direnç genlerinin dağılımı	62
Tablo 44. TEM, CTX-M ve CMY-2-PCR bulgularına göre gen dağılımı.....	64
Tablo 45. TEM, CTX-M ve CMY-2 gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	66
Tablo 46. NDM, VIM ve KPC-PCR bulgularına göre gen dağılımı	71
Tablo 47. NDM, VIM ve KPC gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	73
Tablo 48. SUL-2-PCR bulgularına göre gen dağılımı	77
Tablo 49. SUL-2 gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	78
Tablo 50. AaDA25 ve AaDB-PCR bulgularına göre gen dağılımı.....	80
Tablo 51. AaDA25 ve AaDB gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	82
Tablo 52. MecA-PCR bulgularına göre gen dağılımı	84
Tablo 53. MecA gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	85
Tablo 54. VanA, vanB ve vanC-PCR bulgularına göre gen dağılımı.....	89
Tablo 55. VanA, vanB ve vanC gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	90
Tablo 56. FUR1, ERG11 ve FKS1-PCR gen bölgeleri sonuçları ve izolatların antibiyotik duyarlılıkları.....	92

ŞEKİL LİSTESİ**Sayfa No:**

Şekil 1. <i>TEM</i> , <i>CTX-M</i> , <i>CMY-2</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	63
Şekil 2. <i>NDM</i> , <i>VIM</i> ve <i>KPC</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	70
Şekil 3. <i>SUL-2</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	77
Şekil 4. <i>AaDA25</i> ve <i>AaDB</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	80
Şekil 5. <i>MecA</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	84
Şekil 6. <i>VanA</i> , <i>vanB</i> ve <i>vanC</i> gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi.....	88



ÖZET

Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinden Gönderilen Örneklerden İzole Edilen Bakteriyel ve Fungal Etkenlerin Tanımlanması, Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi ve Olası Direnç Genlerinin Moleküler Analizi

İnsanlarda, doğumdan itibaren ilk 28 güne (0-28) kadar geçen süreye “yenidoğan dönemi” denir. Yenidoğan enfeksiyonları tüm dünyada ve ülkemizde önemli bir morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’ne göre her yıl 600.000 yenidoğanın ciddi enfeksiyonlardan öldüğü tahmin edilmektedir. Bunların çoğu bakım ve tedavi ile önlenilebileceği bilinmektedir. Miadında doğmuş (term), sağlıklı bebeklerde hastanede anne yanında yatmakta iken daha çok omfalit, konjunktivit, dermatit ve moniliyazis gibi yüzeysel enfeksiyonlar görülmektedir. Oysa yoğun bakım ünitesinde yatan genellikle preterm bebeklerin enfeksiyonları pnömoni, sepsis, menenjit gibi ağır sistemik enfeksiyonlardır. Enfeksiyondan sorumlu olan türler yıllara göre değişmektedir. Önceki yıllarda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve Grup B Streptokoklar yaygın iken, daha sonraki yıllarda ve halen Gram negatif mikroorganizmalar ve koagülaz negatif stafilokoklar en sık saptanan patojenler olmaya başlamıştır. Çoklu ilaç direnci olan yeni suşların neden olduğu geleneksel antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen yeni enfeksiyonlar dünya genelinde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmuştur. Bu çalışmada, 2020-2022 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım ünitesinde sepsis belirtileri ile yatan 0-28 gün yaş aralıklı hastalardan rutin tanı için alınan mikrobiyolojik örnekler kullanıldı. Bu kapsamda 647 kan, 133 idrar, 70 beyin omurilik sıvısı (BOS), 56 kateter, 27 total parenteral nütrisyon (TPN), 3 apse, 2 parasentez, 1 kulak ve 1 burun kültürü örneği olmak üzere toplam 940 örnek incelendi. Bu örneklerin 105’i bakteriyel etken ve 8’i fungal etken yönünden pozitif saptandı. Kültür pozitifliği, bakteriyel etkenler için %11,17 ve fungal etkenler için %0,85 olarak belirlendi. Kültürel analizi sonrası Gram boyanma özellikleri belirlenen 105 adet bakteri izolatının identifikasyonu Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Otomatize Sisteminin Gram negatif veya Gram pozitif paneli ile gerçekleştirildi. MicroScan WalkAway Plus 96 ile yapılan identifikasyon sonrası tanımlanan bakteri izolatlarının dağılımı; 28 adet Koagülaz (-) stafilokok, 22 adet *Acinetobacter baumannii/ haemolyticus*, 16 adet *Klebsiella* spp., 10 adet *Escherichia coli*, 10 adet *Enterococcus* spp., 6 adet *Stenotrophomonas maltophilia*, 5 adet *Serratia marcescens*, 5 adet *Staphylococcus aureus* ve 3 adet *Pseudomonas aeruginosa* şeklindeydi. Konvansiyonel yöntemlerle *Candida* spp. olarak tanımlanan 8 adet izolatın tür PCR analizi sonrası tümü *Candida albicans* olarak identifiye edildi. Çalışmada tanımlanan bakteriyel izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları MicroScan WalkAway ile *C. albicans* izolatının ise E-Test yöntemi ile belirlendi. Bakteriyel izolatların betalaktamlara %89,4, karbapenemlere %65,1, aminoglikozidlere %81,6, glikopetidlere %7,6 ve sülfonamid bileşiklerine %56,8 oranda dirençli oldukları tespit edildi. Gram negatif bakterilerde en yüksek direnç %86,7 ile betalaktam antibiyotiklere karşı gelişirken, en düşük direnç ise %65,1 ile karbapenem grubu antibiyotiklerde görüldü. Gram pozitif bakterilerde ise en yüksek direnç %93,9 ile penisilin grubu antibiyotiklere karşı gelişirken, en düşük direnç %6,7 ile glikopeptidlere karşı saptandı. *C. albicans* izolatlarının en duyarlı oldukları

antifungaller ekinokandin ve amfoterisin B iken, en düşük duyarlılık flusitozin ve azol grubu antimikrobiyallere karşı saptandı. Çalışmada, identifikasyonu gerçekleştirilen ve antimikrobiyal duyarlılıkları belirlenen izolatların çeşitli antibiyotik ve antifungallere karşı direnç gelişiminde rol oynayan yaygın direnç genleri PCR ile belirlendi. PCR analizleri sonucu, bakterilerde en sık rastlanan direnç geni *TEM* (%70,91) olurken, en az rastlanan ise *vanA* (%6,25) ve *vanB* (%6,25) direnç genleriydi. Gram negatif bakteriler arasında yaygın *TEM* gen pozitifliği varken, *KPC* gen pozitifliği düşüktü. Gram pozitif bakterilerde *AaDA25* gen pozitifliği görülmezken, en yaygın direnç geni *MecA* ve en az saptananlar ise *vanA*, *vanB* ve *vanC* genleriydi. *C. albicans* izolatları arasında en yaygın direnç geni *FUR1* iken, *FKS1* geni pozitifliği oldukça düşüktü. Sonuç olarak, daha önce yapılmış çalışmalara benzer şekilde tanımlanan mikroorganizmalar arasında antimikrobiyal direncin acil ve büyük bir sorun haline geldiği görülmektedir. Geniş spektrumlu antimikrobiyallerin sık ve düzensiz kullanımının, profilaksi ve ampirik tedavilerin yaygınlığının, antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Tedavi rejimleri planlanırken antimikrobiyallerin etken spesifik olması ve güncel duyarlılık/dirençlilik durumlarının göz önünde bulundurulması eradikasyon başarısına olumlu katkılar sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: Bakteri, Enfeksiyon, Gen, Mantar, MDR, PCR, Yenidoğan

SUMMARY

Description Of Bacterial And Fungal Agents Isolated From The Samples Sent From The Newborn Intensive Care Unit, Determination Of Their Antimicrobial Sensitivity, And Molecular Analysis Of Possible Resistance Genes

In humans, the period from birth to the first 28 days (0-28) is called as "neonatal period". Neonatal infections cause significant morbidity and mortality all over the world and in our country. According to the World Health Organization, it is estimated that 600000 newborns die from serious infections each year. Most of these are known to be preventable with care and treatment. Superficial infections such as omphalitis, conjunctivitis, dermatitis, and moniliasis are more common in term, healthy babies while they are hospitalized with their mothers. However, infections of preterm infants hospitalized in the intensive care unit are severe systemic infections such as pneumonia, sepsis, and meningitis. The species responsible for the infection vary from year to year. While *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and Group B Streptococci were prevalent in the previous years, Gram-negative microorganisms and Coagulase-Negative Staphylococci started to be the most frequently detected pathogens in the following years and currently. New infections caused by new strains with multidrug resistance that do not respond to conventional antibiotic therapy have resulted in high morbidity and mortality worldwide. In this study, microbiological samples taken for routine diagnosis from patients aged 0-28 days with sepsis symptoms in the Neonatal Intensive Care Unit of Van Yüzüncü Yıl University Dursun Odabaş Medical Center (Türkiye) between 2020-2022 have been used. In this context, a total of 940 samples were analyzed, including 647 blood, 133 urine, 70 cerebrospinal fluid (CSF), 56 catheters, 27 total parenteral nutrition (TPN), 3 abscesses, 2 paracentesis, 1 ear, and 1 nose culture. Of these samples, 105 were found to be positive for bacterial agents and 8 for fungal agents. Culture positivity was determined as 11.17% for bacterial agents and 0.85% for fungal agents. Identification of 105 bacterial isolates, whose Gram staining characteristics were determined after the cultural analysis, was performed with a Gram-negative or Gram-positive panel of the Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Automated System. Distribution of the bacterial isolates identified after the MicroScan WalkAway Plus 96 was 28 Coagulase (-) staphylococci, 22 *Acinetobacter baumannii/haemolyticus*, 16 *Klebsiella* spp., 10 *Escherichia coli*, 10 *Enterococcus* spp., 6 *Stenotrophomonas maltophilia*, 5 *Serratia marcescens*, 5 *Staphylococcus aureus* and 3 *Pseudomonas aeruginosa*. All 8 isolates identified as *Candida* spp. by conventional methods were identified as *Candida albicans* after species-specific PCR. Antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates identified in the study were determined by MicroScan WalkAway and *C. albicans* isolates were determined by E-Test method. Antibacterial resistance rates of the bacterial isolates were found to be 89.4% to betalactams, 65.1% to carbapenems, 81.6% to aminoglycosides, 7.6% to glycopeptides and 56.8% to sulfonamide compounds. Among the Gram-negative bacteria, the highest resistance was 86.7% to betalactam antibiotics, while the lowest resistance was 65.1% to carbapenem group antibiotics. In Gram positive bacteria, the highest resistance was found against penicillin group antibiotics with 93.9% and the lowest resistance was found against glycopeptides with 6.7%. The antifungals to

which *C. albicans* isolates were most sensitive were echinocandin and amphotericin B, while the lowest sensitivity was determined against flucytosine and azole group antimicrobials. In the study, common resistance genes that play a role in the development of resistance to various antibiotics and antifungals of the isolates, whose antimicrobial susceptibility was determined, were determined by PCR. As a result of PCR analysis, the most common resistance gene in bacteria was *TEM* (70.91%), while the least common resistance genes were *vanA* (6.25%) and *vanB* (6.25%). While there was widespread *TEM* gene positivity among the Gram-negative bacteria, *KPC* gene positivity was low. While *AaDA25* gene positivity was not observed in the Gram positive bacteria, the most common resistance gene was *MecA* and the least detected were *vanA*, *vanB*, and *vanC* genes. Among the *C. albicans* isolates, the most common resistance gene was *FUR1*, while *FKS1* gene positivity was quite low. In conclusion, similar to previous studies, antimicrobial resistance among the microorganisms identified has become an urgent and major problem. It is known that the frequent and irregular use of broad-spectrum antimicrobials, prophylaxis and empirical treatments play an important role in the emergence of antimicrobial resistance. When planning treatment regimens, causative agent specific antimicrobials and taking into account current susceptibility/resistance status will contribute positively to eradication success.

Key words: Bacteria, Fungi, Gene, Infection, MDR, Newborn, PCR

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlarda, doğumdan itibaren ilk 28 güne (0-28) kadar geçen süreye “yenidoğan dönemi” denir. Yenidoğan enfeksiyonları tüm dünyada ve ülkemizde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü’ne göre her yıl 600.000 yenidoğanın ciddi enfeksiyonlardan öldüğü tahmin edilmektedir. Bunların çoğu bakım ve tedavi ile önlenilebileceği bilinmektedir. Yenidoğan dönemi, immattür bağışıklık sistemleri nedeniyle enfeksiyonlara oldukça yatkın olunan bir süreci kapsamaktadır (Perk 2002, Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

Son dönemlerde yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki (YYBÜ) gelişmeler ile birlikte düşük doğum ağırlıklı, prematüre ve ağır sekelli bebeklerin yaşam sürelerinde artış olmuştur. Buna bağlı olarak ünitelerin kapasitesindeki artışlar bakım ile ilişkili enfeksiyonların oranında artışa yol açmıştır (Özkan 2010).

Antibiyotiklerin bulunmasıyla birlikte, bakterilerin bunlara karşı direnç geliştireceği ve uygun önlemlerin alınmaması durumunda günümüzde kullanılan antimikrobiyallerin enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde etkisini yitireceği, dolayısıyla tedavide herhangi bir seçenek kalmayacağı öngörülmüştür. Gram negatif bakteriler başta olmak üzere, Stafilokoklar ve enterokoklar gibi bakteriyel patojenler arasında direncin ortaya çıkması, dünya çapında insanları etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunu olmuştur. Bu dirençli bakteri suşlarının neden olduğu nozokomiyal, toplum ve hayvanlarda geleneksel antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen yeni enfeksiyonlar dünya genelinde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmuştur. Antibiyotik direnci sadece sık antibiyotik kullanımına bağlı değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında varlıklarını devam ettirmek için kullandığı bir savunma refleksi olarak da bilinmektedir (Çiftci ve Ersoy 2015, Kayış 2019).

Yenidoğan enfeksiyonlarında risk faktörleri; prematürite, düşük doğum ağırlığı, invazif girişimler (Mekanik ventilatör, kateterler, serebral şant (VP), ilaçlar; steroid, vs.), lipit kullanımı, beslenmede ticari mamaların tercih edilmesi, üniteye fazla hasta olmasına bağlı yer darlığı ve el yıkanmasına özen gösterilmemesi olarak sıralanabilir (Perk 2008).

Yenidoğan enfeksiyonlarına özel bir vurgu yapılması amacıyla yapılan bu çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezine ait yenidoğan ünitesindeki neonatal sepsis olgularında bakteriyel ve fungal etken dağılımının belirlenmesi, *in vitro* kültürel yöntemlerle elde edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık/dirençlilik durumlarının fenotipik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

Yenidoğan enfeksiyonlarına neden olan etkenlerin görülme sıklığı ülkeler, coğrafya ve hastanelere göre değişiklikler gösterebilir. Aynı hastanede dahi zamanla florada değişiklikler olabilir. Miadında doğmuş (term), sağlıklı bebeklerde hastanede anne yanında yatmakta iken daha çok omfalit, konjunktivit, dermatit ve moniliyazis gibi yüzeysel enfeksiyonlar görülmektedir. Oysa yoğun bakım ünitesinde yatan genellikle preterm bebeklerin enfeksiyonları pnömoni, sepsis, menenjit gibi ağır sistemik enfeksiyonlardır. Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu mikroorganizmaların çeşitliliği yıllara göre de değişiklikler göstermektedir. Yenidoğan döneminde enfeksiyonlara neden olan patojenler tablo 1’de gruplandırılmıştır. Enfeksiyondan sorumlu olan türler yıllara göre değişmektedir. 1950 ve 1980 yılları arasında *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve Grup B Streptokoklar iken, daha sonraki yıllarda ve halen Gram negatif mikroorganizmalar ve koagülaz negatif stafilocoklar en sık saptanan patojenlerdir (Perk 2008, Cengiz 2009, Annagür ve Örs 2013, Gülaşı ve Çelik 2016).

Tablo 1. Yenidoğan döneminde sık görülen patojenler

Gram pozitif aerobik bakteriler	Gram negatif aerobik bakteriler	Anerobik bakteriler	Mantarlar
Grup B streptokok Koagülaz-negatif stafilocok <i>S. aureus</i> Enterokoklar C, A, G, D streptokoklar <i>S. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i> <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. <i>Serratia</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>H. influenza</i> <i>Enterobacter</i> spp. <i>Salmonella</i> spp.	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Clostridium perfringes</i> <i>Clostridium septicum</i> <i>Clostridium sordelli</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida dublinensis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Malassezia furfur</i> <i>Aspergillus</i> spp.

Yenidoğan döneminde en sık görülen enfeksiyonlar sepsis, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, pnömoni, kateter ilişkili enfeksiyonlar, mantar enfeksiyonları konjunktivit omfalit-funisit olarak sıralanabilir (Mallika ve ark. 2008, Satar ve ark. 2018).

2.1. Yenidoğan Sepsisi

Yenidoğanın kanıtlanmış sepsisi, yaşamın ilk ayında enfeksiyona dair sistemik belirtilerin varlığı ve kan kültüründe özgül bir etkenin izole edildiği klinik tabloyu ifade eder (Satar ve ark. 2018). Bazı durumlarda beyin omurilik sıvısı (BOS) ve diğer organların da tutulumu görülebilirse de neonatal sepsis temel olarak dolaşım sistemi enfeksiyonudur (Arısoy 2010, Karacanoğlu 2016). Yenidoğan sepsisine dair spesifik bulguların olmayışı ve yenidoğan döneminde enfeksiyon dışı klinik durumlar ile benzer bulgular görülmesi erken tanı ve tedaviye başlanmasını geciktirmektedir (Satar ve ark. 2018).

Klinik semptomlar ile sepsisten şüphelenilen yenidoğan hastalarının birçoğunun kan kültür örneklerinde etkenlerin izole edilememesi ve enfeksiyon etkeninin kan dolaşımına geçişini sağlayacak bir odak bulunamaması sebebiyle neonatal sepsis için ayrıca klinik ve laboratuvara dayalı tanımlar da önerilmektedir. Sepsis tanısı klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesi ile konulmaktadır (Arısoy 2010, Satar ve ark. 2018, Karacanoğlu 2016).

Yenidoğan sepsisi çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır.

Kanıtlanmış sepsis: Klinik ve laboratuvar bulgularının sepsis ile uyumlu olduğu ve etkenin tanımlandığı tablodur. Erken sepsiste en sık karşılaşılan etkenler Grup B Streptokoklar (GBS) ve *E. coli* olmakla birlikte Gram negatif enterik çomak ve stafilokoklardır (Satar ve ark. 2018).

Klinik sepsis: Klinik ve laboratuvar bulgularının sepsis ile uyumlu olduğu ancak patojenin tanımlanmadığı sepsis türüdür (Satar ve ark. 2018).

Şüpheli sepsis: Klinik bulguların sepsisi düşündürdüğü; fakat laboratuvar bulguların olmadığı etkenin üretilmediği durumdur. Risk etmenlerinin ve izlemde sepsis düşündüren bulguların varlığında şüpheli sepsis akla gelmelidir. En sık karşılaşılan etkenler koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) özellikle *Staphylococcus epidermidis* olmak üzere *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* türleri en sık rastlanan etkenlerdir (Satar ve ark. 2018).

Erken başlangıçlı sepsis: Genellikle anneden bebeğe vertikal yolla bulaşan patojenlerle, doğumdan sonra ilk 72 saatte meydana gelen durumdur. Yenidoğanlar etkeni doğum sürecinde annenin genital bölgesinden alırlar. Erken başlangıçlı sepsis, fulminan seyreder ve multisistemik tutulum şekillenir. Bebeğe hızlı septik şok tablosu gelişir (Özdemir 2012).

Geç başlangıçlı sepsis: Yaşamın 4-30. günlerinde tanı konulan sepsis vakalarıdır. Etken, intrapartum dönemde annenin genital bölgesinden bulaşabileceği gibi genellikle postpartum dönemde insanlarla temas ya da kontamine eşyalarla da alınabilir (Özdemir 2012, Satar ve ark. 2018).

Çok geç başlangıçlı sepsis: 30. günden taburculuğa kadar geçen süreçte şekillenen enfeksiyon durumudur. Genellikle KNS, *Candida* spp. ve *S. aureus* sık görülen etkenlerdir. İnvazif girişimler ve intravenöz lipit solüsyonlarının verilmesi gibi hazırlayıcı faktörler de geç dönemde aracılık eder (Özdemir 2012, Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.1.1. Yenidoğan Sepsisinin Epidemiyolojisi

Yenidoğan sepsisinin insidansı 1000 canlı doğumda 1-8,1 arasında değişmektedir. Gelişmiş ülkelerde bu oran nispeten daha düşüktür. Erken başlangıçlı sepsis 1500 gramın altındaki düşük doğum ağırlıklı bebeklerde 10,96 saptanırken, 2500 gram üzerindeki doğum ağırlıklı bebeklerde bu oranın 0,57 olduğu bilinmektedir. Geç başlangıçlı sepsis insidansı ise 750 gram altı %51,2, 1500 gram altı bebeklerde %15-25 arasında bildirilirken, 2500 gram üzerinde %1,6 olarak saptanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelere insidansın 1000 canlı doğumda 49-170 arasında değişmekte olduğu görülmektedir (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

Yenidoğan sepsisinde tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak mortalite oranı son 10 yılda %30-40'lardan %5-10'lara düşmüştür. Prematüre bebeklerde ölüm daha yüksek oranlarda görülmektedir (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.1.2. Yenidoğan Sepsisinde Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Erken neonatal sepsiste genellikle birden fazla organ ya da sisteme ait belirtiler görülürken, geç sepsis ve çok geç sepsisli hastalarda enfeksiyon belirtileri multisistemiktir ya da menenjit, pnömoni, osteomyelit, septik artrit, omfalit gibi tek odaklı gelişebilir. Neonatal sepsiste bulgu ve semptomlar genellikle özgül değildir (Cengiz 2009, Satar ve ark. 2018).

Solunum sisteminde apne, inleme, solunum sayısının artması, burun kanadı solunumu, çekilme, siyanoz, emmeme; dolaşım sisteminde taşikardi ya da bradikardi, hipotansiyon, periferik dolaşım bozukluğu, kapiller geri dolum süresinde uzama; sindirim sisteminde beslenme intoleransı, kusma, distansiyon, ishal, sarılık, hepatomegali, nekrotizan enterokolit (NEK); kan sisteminde peteşi, purpura, sarılık, kanama; deride püstül, apse, omfalit, cilt dokusunun sertleşmesi veya mermer görünümü, merkezi sinir sistemine ait huzursuzluk, emmeme, hipoaktivite, uykuya eğilim, tonus azalması, nöbet ve ısı düzensizliği yenidoğan sepsisinde en sık görülen bulgulardır (Cengiz 2009, Satar ve ark. 2018).

Tanı için klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte kullanıldığı Töllner ve Avrupa İlaç Kurumu (European Medicines Agency, EMA) skorlamasını göz önünde bulundurmakta fayda vardır. Bu skorlamada 6 klinik kategoriden en az ikisinde ve 6 laboratuvar kategorisinden en az ikisinde pozitiflik saptanması durumunda klinik sepsis tanısı konulabilir. Bu skorlama, doğumdan sonra 44 haftaya kadar dikkate alınabilir. Bu sepsis skorlamasına ait bilgilere tablo 2’de yer verilmiştir (Satar ve ark. 2018).

Tablo 2. EMA sepsis protokolü skorlaması

Sistem-Doku	Klinik bulgular
Vücut ısı	> 38,5 °C veya < 36 °C'den az olması veya ısı düzensizliği
Kardiyovasküler	Taşikardi, bradikardi ya da aritmi İdrar <1 ml/kg/saat Hipotansiyon Bozulmuş periferik perfüzyon
Solunum	Apne, takipne, artmış oksijen ve ventilasyon ihtiyacı
Gastrointestinal	Beslenme intoleransı, emmede güçlük, karın distansiyonu
Cilt ve ciltaltı lezyonlar	Peteşi, sklerem
Spesifik olmayan bulgular	Huzursuzluk, letarji, hipotonisite
Laboratuvar bulguları	
Lökosit sayısı: <4000/ mm ³ veya >20.000/ mm ³	
İmmatür/total nötrofil oranı: ≥0,2	
Trombosit sayısı: <100.000/ mm ³	
CRP >15mg/L (1,5 mg/dL) ya da PCT ≥2 ng/mL	
Kan şekeri takibi (en az 2 kez): Hiperglisemi (>180 mg/dL veya 10 mMol/L) veya Hipoglisemi (<45 mg/dL veya 2,5 mMol/L)	
Metabolik asidoz: Baz açığı > 10 mEq/L veya serum laktat > 2 mMol/L	

Bulgu ve semptomları sebebiyle sepsis olabileceği düşünülen bir yenidoğanda, tam kan sayımı, C-reaktif protein (CRP), kültür örnekleri alınmalı, lomber ponksiyon yapılmalı, solunum sıkıntısı varsa akciğer grafisi istenmeli ve düşünülen etkenlere yönelik tedaviye başlanmalıdır (Satar ve ark. 2018).

2.1.3. Yenidoğan Sepsisinde Tanı ve Tedavi

Sepsis tanısı için en önemli parametre patojenin kültür örneklerinde saptanmasıdır. Bu nedenle kan, idrar ve BOS örneklerinin mikrobiyolojik açıdan incelenmesi enfeksiyonun yaygınlığının değerlendirilmesi ve etkene yönelik tedavi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, neonatal sepsis olasılığında, antibiyotik tedavisi başlamadan önce tam kan sayımı ve periferik yayma, BOS ve idrar biyokimyasal olarak incelenmelidir (Arısoy 2010).

Erken sepsis veya geç başlangıçlı sepsis klinik belirtisi olan bebeğe yaklaşımda tam tanısal değerlendirme (kan, BOS, idrar kültürleri, tam kan sayımı, Lomber Ponksiyon, CRP/Prokalsitonin) yapılmalıdır. Bebek klinik açıdan ve laboratuvar bulgularına göre izlenir. Hasta iyi, laboratuvar değerleri normal veya semptom ve bulguları açıklayan sepsis dışı bir neden varlığında ve kültür örneklerinde üreme tespit edilmemiş ise sepsis ekarte edilir. Antimikrobiyal tedavi sonlandırılır. Hasta klinik açıdan iyi değil veya laboratuvar değerleri anormal ve kültür örneklerinde üreme yoksa klinik sepsis olarak değerlendirilir. Klinik ve laboratuvar bulgularına göre tedaviye 7-10 gün süreyle devam edilir. Kültürde üreme var ise kanıtlanmış sepsis olarak değerlendirilir ve antibiyotik tedavisi etkene göre Gram pozitiflerde 10-14 gün, Gram negatiflerde 14-21 güne tamamlanır (Satar ve ark. 2018).

Sepsisin tedavisinde erken veya geç başlangıçlı ya da semptom başlangıcından sonra hastaneye yatırılma gibi durumlar antimikrobiyal tedavi seçimini etkiler. Etkili tedavi için iyi bir fiziksel muayene ve eksiksiz bir öykünün alınması ile birlikte klinik örneklerden kültür hazırlanması önemlidir. Tedaviye başlamak için kültür sonuçlarının beklenmesi tercih edilmesine rağmen ağır septik şoktaki hastalarda ve gecikmeye sebep olacak durumlarda kültür sonuçlarının beklenmesi önerilmez (Shane ve ark. 2017).

Yenidoğan enfeksiyonlarının tedavisi, deneysel (ampirik) veya bilinen (kesin) patojenlere yönelik antimikrobiyal tedavi olarak ikiye ayrılabilir. Yenidoğan sepsisi ampirik tedavisinde kullanılacak antimikrobiyaller bebeğin belirti ve bulgularının başlangıç zamanı, enfeksiyon etkeninin alındığı ortam ve yere (hastane ya da toplum, doğumda vertikal) ve varsa enfeksiyon odağı göz önünde bulundurularak olası etkenlere yönelik önerilen antimikrobiyal duyarlılıklarına göre düzenlenmelidir (Annagür ve Örs 2013, Shane ve ark. 2017).

Patojenler tanımlanıp ve bunların duyarlılıkları bilindikten sonra enfeksiyon bölgesi veya bölgelerine göre en uygun antimikrobiyaller uygulanmalıdır.

2.2. Yenidoğan Menenjit

Menenjit ve bıraktığı sekeller, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olarak öne çıkmaktadır. Menenjit, en sık yenidoğan döneminde görülmektedir. Dünyada yenidoğan menenjitinin görülme sıklığının belirlenmesi tam olarak mümkün değildir. Bunun sebepleri ise, sosyo-ekonomik durum, eksik bildirimler ve hastaların sağlık hizmetlerine erişim kısıtlılığı gibi durumlardır (Öncel 2011).

Yenidoğan bakteri menenjitlerinin %70'inden B grubu streptokoklar, dörtte birinden ise *E. coli* sorumludur. Bunları sırasıyla *L. monocytogenes* veya diğer Gram negatif basiller, *Streptococcus pneumoniae*, A grubu Streptokoklar ve *H. influenzae* takip etmektedir. Geç başlangıçlı menenjit olgularında KNS, *S. aureus*, *Klebsiella* spp. *E. coli* ve *Candida* türleri daha sık izole edilen etkenlerdir (Öncel 2011, Satar ve ark. 2018).

Yaşayan bebeklerin %21-38'inde hafif hasarlar (hipotoni, tek taraflı işitme kaybı, davranış bozuklukları), %24-29'unda ağır nörolojik hasarlar (zekâ geriliği, nöbet, işitme kaybı) ve hidrosefali gelişmektedir (Satar ve ark. 2018).

2.2.1. Yenidoğan Menenjitinde Klinik Bulgular

Yenidoğan döneminde menenjit olgularının %15-38'inde kan kültüründe etken tespit edilmemektedir. Emmeme, hipoaktivite, letarji, apne, nöbet, fontanel bombeliği, kusma, solunum sıkıntısı ve vücut ısı değişiklikleri gibi nonspesifik bulgular görülmektedir. Fiziki muayeneye bebeklerde sepsis, menenjit veya her iki bulguyu tespit etmek mümkün değildir. Yüksek mortalite ve sekel oranı olması ve sepsise %20-25 oranında menenjitin eşlik etmesi nedeniyle menenjite yönelik gerekli tetkikler öncelikli yapılmalıdır (Öncel 2011, Satar ve ark. 2018).

2.2.2. Yenidoğan Menenjitinde Tanı ve Tedavi

Tanı açısından anamnezde, erken membran rüptürü (EMR), uzamış doğum eylemi, travmatik doğum veya maternal peripartum enfeksiyon öyküsü bulunması önemli faktörlerdir. Tanıda, tam kan sayımı ile periferik yayma öncelikle yapılmalı ve kan ve idrar kültürleri alınmalıdır. Yenidoğan menenjitinde en önemli tanısal

girişim, lomber ponksiyondur. Lomber ponksiyonla alınan BOS örneğine, direkt mikroskopi, Gram ve Giemsa boyama yaymaları, biyokimyasal testler ve kültür yapılmalıdır. Antibiyotik verilmeden önce BOS örneklerinin alınması kültürel analiz için daha idealdir (Öncel 2011).

Neonatal menenjitin BOS biyokimyasal özellikleri şunlardır (Satar ve ark. 2018):

- Beyaz kan hücre sayısında artış ($>20-30$ hücre/mm³) görülür. Gram negatif bakteriyel etken kaynaklı menenjitlerde artış daha fazla gözlenir.
- Protein derişimi artmakla birlikte bu değerler, pretermelerde >150 mg/dL ve termelerde >100 mg/dL şeklinde gözlemlenir. Parameningeal enfeksiyonlar, intrakranial kanama sonrası ve konjenital enfeksiyonlarda da yüksek protein değerleri görülür.
- Glukoz derişimi azalmaktadır. Bu değerler, pretermelerde <20 mg/dL ve termelerde <30 mg/dL şeklinde veya eş zamanlı kan şekeri değeri %70-80'den daha düşük olarak seyretmektedir.

Erken ve geç neonatal menenjitte ampirik tedavide ampisilinle birlikte sefotaksim ya da vankomisin ile sefotaksim eş zamanlı verilebilir. Bunlara bir aminoglikozit grubu da eklenebilir. Gram negatif basillerde çoklu ilaç direnci varsa meropenem verilmelidir. Gram pozitif etkenler için en az 14 gün; Gram negatif basiller için ise 21 gün ya da kültür negatifliğinden sonra 14 gün şeklinde tedavi süresi planlanmalıdır. Beyin apsesi ve ventrikülitte tedavi süresi 6-8 haftaya uzatılmalıdır (Satar ve ark. 2018).

Tedaviyi takiben 24-48 saat sonra Lomber ponksiyon tekrarlanmalıdır. Komplike olmayan yenidoğan menenjitlerinde BOS'un 24-48 saat içerisinde bakteriyel etken yönünden steril hale gelmesi beklenir. Polimeraz zincir reaksiyonu ile kanıtlanmış Herpes Simplex Virüs (HSV) menenjitleri için 21 günlük antiviral tedavi sonrasında yapılan tetkiklerin negatif çıkması tedavideki başarıyı gösterir (Öncel 2011).

2.3. Yenidoğan Pnömonisi

Yenidoğanlarda pnömoninin ortaya çıkmasında aspirasyon, inhalasyon ve hematojen yayılım olmak üzere başlıca üç yol etkili olmaktadır. Yenidoğanlar başta Gram negatif bakteriler olmak üzere nozokomiyal patojenler ile orofarenks ve gastrointestinal sistem kolonizasyonu geliştirmeye yatkınlık gösterirler. Bu bölgelere yerleşen bakterilerin aspirasyon yoluyla akciğer parankimine ulaşması pnömonin şekillenmesinde önemli rol oynar. Yenidoğanların cilt ve müköz membranlarının daha geçirgen olması, olgunlaşmamış immün sistemleri, solunum savunma mekanizmaların yetersizliği, invaziv girişimler ve hastanede enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersizliği gibi etkenler bu tür enfeksiyonların ortaya çıkmasında etkili olurlar. Patojen kolonizasyonun gelişmesi, orofarengeal muhtevanın aspirasyonu ve bozulmuş akciğer savunma mekanizmaları pnömoni gelişiminin başlıca nedenleridir (Kılıç 2012).

2.3.1. Yenidoğan Pnömonisinde Klinik Bulgular

Yenidoğanlarda erken başlangıçlı pnömoni için maternal koriyoamniyonit, erken membran rüptürü, fetal taşikardi, annede doğum sırasında ateş ve prematürite; geç başlangıçlı pnömoni için ise solunum yolu anomallileri, mekanik ventilasyon, hava yollarında anomali, hastanede uzun süre yatış ve mide içeriğinin aspirasyonu hazırlayıcı etkenlerdir. Gelişmiş ülkelerde erken başlangıçlı pnömoninin en önemli etkeni B grup Streptokoklardır. Neonatal pnömonide ilk belirti postpartum sonrasında başlayan solunum sıkıntısına enfeksiyonun diğer septomları eşlik eder. GBS'nin etken olduğu pnömonin akciğer grafisinde Respiratuvar Distres Sendromu (RDS, Solunum Sıkıntısı Sendromu) benzeri görüntü izlenir. Yenidoğan pnömonilerinde diğer etkenler *E. coli*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *Klebsiella* türleridir. Ayrıca Herpes simpleks virüs ve *Candida* türleri pnömoni nedeni olabilirler (Barnett ve Klein 2015, Satar ve ark. 2018).

Geç neonatal pnömonide spesifik olmayan semptomlara ek olarak hastada ventilatör ayarlarının ve oksijen ihtiyacının artması, trakeal sekresyonun artması veya pürülan nitelik kazanması, akciğer grafisinde yeni şekillenen bulgular gözlenebilir. *S. aureus*, pnömokoklar ve A grubu Streptokoklar dışında, Gram negatif

basiller, viral etkenler, *Candida* türleri pnömoni yapıcı etkenler arasında yer alabilir (Satar ve ark. 2018).

2.3.2. Yenidoğan Pnömonisinde Tanı ve Tedavi

Trakeal aspirattan yapılan Gram boyama, kültür ve akciğer grafisi tanıya yardımcı olur. Tanıda, akciğer grafisinde plörezi görülmesi erken başlangıçlı pnömoninin RDS'den ayırt edilmesinde önemli rol oynar (Satar ve ark. 2018).

Yenidoğan pnömonisinde tanı konup kültür örnekleri alındıktan sonra olası etkene yönelik ampirik antimikrobiyal tedavi verilir. Genellikle neonatal pnömoni etkenleri neonatal sepsise benzer olduğundan, tedavi de benzerlik gösterir. Tedavide, erken başlangıçlı pnömoninin ilk haftasında ampisilin ile birlikte bir aminoglikozit veya sefotaksim; hastanede izlenirken ortaya çıkarsa ünitenin özellikleri dikkate alınarak vankomisine ek olarak aminoglikozit ya da 3. kuşak sefalosporin (sefotaksim, seftazidim) önerilmektedir. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre etkene yönelik en az 10 gün antibiyotik tedavisi verilir (Kılıç 2012, Satar ve ark. 2018).

2.4. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonları

Yenidoğanlarda üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni *E. coli*'dir. *Klebsiella* ve *Enterobacter* gibi diğer Gram negatif bakteriler ve *Candida* türleri de sıklıkla görülmektedir. Renal anomaliler ve anneye ait idrar yolu enfeksiyonu öyküsü yenidoğanlarda idrar yolu enfeksiyonlarının görülme sıklığını arttırmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonları şekillenen yenidoğanlarda menenjit ve bakteriyemi gelişme olasılığı da vardır (Arshad ve Seed 2015).

2.4.1. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE) şekillenen term bebeklerde sıklıkla ateş, emmenin bozulması, kusma, ishal ve letarji gözlenmektedir. Prematüre bebeklerde klinik bulgular benzerdir. Erken doğan bebeklerin yarısından fazlasında apne, hipoksi veya taşipne gibi solunum problemleri gözlemlenir (Arshad ve Seed 2015).

2.4.2. Yenidoğanlarda Üriner Sistem Enfeksiyonlarında Tanı ve Tedavi

Alınan idrar örneklerinde santrifüj sonrası hazırlanan preparatlarda her sahada >5 lökosit varlığı enfeksiyonu düşündürürken, bakteriyemi varsa lökosit sayısı ≥ 10 saptanabilir. Mikroskopide tomurcuklu iplikçikler (hifa) görülmesi sistemik mantar enfeksiyonlarının varlığına işaret eder. Koloni sayısının doğru yorumlanması önem arz etmektedir. Tanı koymada en uygun yöntem kateterizasyon (>10.000 cfu/mL) ya da suprapubik aspirasyon (>1000 cfu/mL) ile alınmış idrar kültürü örneklerinde mikroorganizmanın üretilmesidir (Satar ve ark. 2018).

Yenidoğanlardaki üriner sistem enfeksiyonları, aksi ispatlanıncaya kadar komplike üriner sistem enfeksiyonu olarak kabul edilip parenteral tedavi uygulanmalıdır. Yenidoğanlarda İYE ve sepsis için ampirik tedavi ortak etiyoloji nedeniyle benzerdir. Genellikle uygun kültür örnekleri alındıktan sonra ampicilin ve gentamisin gibi parenteral antibiyotiklerle tedaviye başlanır. Tedavide, sefalekssin, seftriakson veya sefotaksim de kullanılabilir. Enfeksiyon etkeni mantar ise flukonazol ya da amfoterisin B tedavisi verilir. Tedavi 7-10 gün uygulandıktan sonra idrar mikroskopisi ve idrar kültürü sonucuna göre kontrol planlanır (Kılıç 2012, Arshad ve Seed 2015, Satar ve ark. 2018).

2.5. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisit

Göbek kordonunun düşmesi sonrasında birkaç gün içinde ortaya çıkan göbek kordonunun yangısı funisit ve göbek kordonu kökünün yangısı omfalit olarak adlandırılır. Ayrıca göbek bölgesindeki yangıya eritem ve seröz veya pürülan akıntı da eşlik eder. Enfeksiyona sıklıkla *S. aureus*, *E. coli* ya da diğer Gram negatif bakteriler neden olmaktadır (Demirtola ve Özen 2005, Satar ve ark. 2018).

2.5.1. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisitte Klinik Bulgular

Seröz, irinli ya da kanlı akıntılar erken dönem bir omfalitin ilk bulgusu olabileceği gibi deride ısı artışı ve hiperemi de gözlenebilir. Enfeksiyon, göbek kordonunda sınırlı kalabileceği gibi, çevre dokuya yayılarak eritem ve koriyoamniyot gelişimine yol açabilir. Enfeksiyon, göbek kateterizasyonu nedeniyle açık kalabilen damarlar yoluyla, hızla sepsis ve sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir.

Portal vene yayılarak portal hipertansiyon oluşabilmektedir (Demirtola ve Özen 2005, Satar ve ark. 2018).

2.5.2. Yenidoğanlarda Omfalit ve Funisitte Tanı ve Tedavi

Portal vene yayılım sonucunda gelişebilen portal hipertansiyon nedeniyle tedaviye ivedilikle başlanmalıdır. Klostridial etkenlerin neden olduğu subkutan yağ doku ve fasyalarda nekroz ile seyreden fulminant omfalitlerde mortalite ihtimali yükselir. Parenteral antimikrobiyal tedaviye ek cerrahi tedavi gerekebilmektedir. Tedavide, ampisilin ve gentamisin ile başlanması önerilir. Vankomisin ve sefalosporinler kültürde üretilen etkene göre önerilebilmektedir. Bunlara ek olarak mupirosin ve nitrofurazon gibi topikal antibiyotiklerin kullanımı da mevcuttur (Demirtola ve Özen 2005, Satar ve ark. 2018).

2.6. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonları

Mantar enfeksiyonları, yenidoğanlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden önemli enfeksiyonlardır. Fungal sepsis, geç başlangıçlı sepsis tipidir ve uzun yatış süresi olan ve uzun süreli antibiyotik tedavisi gören yenidoğanlarda önem taşımaktadır. Mantar enfeksiyonları insidansı, 1000 canlı doğumda 0,4 ila 2 vaka arasında ve çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde %3,8 ile %12,9 arasında değişmektedir (Gülaşı ve Çelik 2016, Shabaan ve ark. 2017).

Mantar enfeksiyonu için en sık bildirilen risk faktörleri; geniş spektrumlu antibiyotiklere maruz kalma, prematürite doğum, yoğunbakımda uzun süre kalma, santral venöz kateterler, endotrakeal entübasyon, cerrahi girişim, postnatal steroidler, uzamış parenteral nütrisyon, gecikmiş enteral beslemeler, düşük doğum ağırlığı ve majör konjenital malformasyonlar olarak sıralanabilir (Gülaşı ve Çelik 2016).

Son yıllarda gelişmeler sayesinde prematüre bebeklerin yaşam sınırı daha düşük gebelik haftalarına inmiştir. Bununla birlikte YYBÜ'lerinde invaziv girişimlerin, mekanik ventilasyon uygulamalarının, santral kateterlerin ve antibiyotiklerin daha sık kullanımı başta *Candida* türleri olmak üzere *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp. gibi fungal etkenlerin sıklığında da artışa neden olmuştur (Gülaşı ve Çelik 2016).

2.6.1. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular

Yenidoğanlarda mantar enfeksiyonlarında beslenme intoleransı, letarji, apne, ateş gibi klinik bulgular ile birlikte trombositopeni, lökopeni, lökositoz, glukoz intoleransı, CRP ve PCT yüksekliği gibi laboratuvar analiz bulguları da gözlenebilir (Satar ve ark. 2018).

2.6.2. Yenidoğanlarda Mantar Enfeksiyonlarında Tanı ve Tedavi

Prematüre yenidoğanlar, konjenital kandidiyazisin sistemik enfeksiyonuna oldukça duyarlıdır. Bu nedenle kan, BOS ve idrar örneklerinin kültür sonuçları elde edilinceye kadar sistemik antifungal tedavi uygulaması önerilir. *Candida* türlerinin etken olduğu deri ve müköz membranların tutulumu ile şekillenen mukokütanöz kandidiazis tanısı, deriden alınan kazıntılarda sporlarının veya psödohifaların potasyum hidroksit preparatında gösterilmesi ile konur (Gülaşı ve Çelik 2016).

Sistemik kandidiyazis tedavisinde ilk tercih edilen antimikrobiyal amfoterisin B deoksilat'tır. Hipokalemi, böbrek yetmezliği ve kemik iliği depresyonu oluştuğunda lipozomal amfoterisin B ya da amfoterisin B lipit kompleksi ile tedaviye geçilmelidir. Son yıllarda sistemik kandidiyazis tedavisinde geniş spektrumlu ve iyi tolere edilmesinden dolayı bir ekinokandin olan mikafunginin kullanımı artmıştır. Antifungal profilakside intravenöz flukonazol kullanımı da tercih edilmektedir (Satar ve ark. 2018).

2.7. Yenidoğanlarda Kateter Kaynaklı Enfeksiyonlar

Yenidoğanlarda, katater kaynaklı enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan patojen KNS iken, *Candida* türleri ve *S. aureus* diğer yaygın etkenlerdir. Kateter takıldıktan 48 saat sonra veya kateter çıkarıldıktan 24 saat içerisinde şekillenen enfeksiyon tablosu başka bir odak yok ise kateter ilişkili enfeksiyonlar söz konusu olabilir. Uzun süreli kateterizasyon *Candida* enfeksiyonunun gelişme olasılığını arttırmaktadır (Gülaşı ve Çelik 2016, Satar ve ark. 2018).

2.7.1. Yenidoğanlarda Katater Kaynaklı Enfeksiyonlarda Klinik Bulgular

Candida enfeksiyonlarında hastanın klinik tablosunda sepsise özgül olmayan semtomlar vardır. En sık karşılaşılan bulgu trombositopenidir. Enfekte trombüs kateter ucuna yerleşip trombosit tüketimine ve septik emboliye neden olabilir. Periferik damardan alınan kan ve kateter ucunun kültürlerinde aynı etkenin üremesi, tanı için önemli bir kriterdir (Gülaşı ve Çelik 2016, Satar ve ark. 2018).

2.7.2. Yenidoğanlarda Katater Kaynaklı Enfeksiyonlarda Tanı ve Tedavi

Ampirik tedavide vankomisin ve gentamisin/amikasin verilmesi daha çok tercih edilmektedir. Yenidoğanlarda katater kaynaklı enfeksiyonların tedavi süresi 10-14 gün kadardır. Klinik semptomların olmadığı durumda, kateter ucundan yapılan kültür pozitifliği ve eş zamanlı alınan periferik kan kültür negatifliği saptanan vakalarda sistemik tedavi önerilmez (Satar ve ark. 2018).

2.8. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Tanı Yöntemleri

Yenidoğan enfeksiyonlarının teşhisinde başvuru test ve yöntemlerin hiç birisi tam olarak özgün, duyarlı ve güvenilirliğe sahip değildir. Spesifik tanı testleri vücut sıvılarında bir etkenin varlığını saptamak için kullanılırken, nonspesifik tarama testleri enfeksiyon riskinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Topuzoğlu 2009, Karacanoğlu 2016).

2.8.1. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı

2.8.1.1. Kan Kültürü

Tanıda altın standart, kan kültüründe *in vitro* kültüre edilebilen patojen mikroorganizmanın izole edilmesidir. Kan kültürü örneklerinde üremelerin büyük çoğunluğu (%90) ilk 48 saat içinde gerçekleşir. Mantarlar, *L. monocytogenes* ve *H. influenzae* için bu süre daha uzun olabilmektedir. Radyometrik Bactec yönteminin kullanıldığı örnek kültürlerinde en erken 8 saat içinde olmak üzere genellikle ilk 24-48 saatte üreme görülmektedir. Kan kültürünün duyarlılığı %50-80 oranlarındadır. Kan kültüründe pozitiflik belirlenmesi direkt tanı amaçlı değerlendirilebilir iken,

negatif kan kültürü sepsisin olmadığı anlamına gelmez. Aralıklı bakteriyemi olgularında, dolaşımda az yoğunlukta etken varlığında, kan kültürü için alınan kanın yetersiz olması, kanın kültürde dilüe olması ve anneye doğum sürecinde antibiyotik verilmesi gibi olgularda kültür olabilmektedir. Bu gibi durumlarda farklı yerlerden birden fazla kan örneği alınarak yeniden kültüre edilmesi önerilmektedir. Mikrobiyolojik (kültürel) analiz için ideal bir kan örneği, antiseptik bir solüsyonla temizlenmiş periferik bir venden alınmış olmalıdır. Bu amaçla, alkol ile klorheksidin ya da iyodin içeren solüsyonlar tercih edilmektedir. Yenidoğanlarda kültür örneği için en uygun kan hacmi 0,5-1 ml olmalıdır (Gürsu 2005, Topuzoğlu 2009, Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.1.2. Beyin Omurilik Sıvısı Kültürü

Kan kültüründe etken saptanan, sepsis kliniği olan ya da menenjit bulguları (apne, letarji, fontanel bombeliği, konvülsiyon, hipo-hipertoni) sergileyen hastalara lomber ponksiyon yapılmalıdır. Neonatal Sepsisli olguların yaklaşık %20-25'ine menenjit eşlik eder. Patojen mikroorganizmalar beyin omurilik sıvısının (BOS) kültürü sonrası izole edilebileceği gibi, BOS yayma preparatlarında Gram boyama sonrası etkenin Gram özelliği de saptanabilir. BOS'ta hücre sayımı, hücre tipi tayini, biyokimyasal değerlendirmeler de yapılabilmektedir. BOS'ta polimorfnükleer hücre sayısı $30/\text{mm}^3$ 'ten fazla saptanması çoğunlukla menenjit lehine olur. BOS'un kültürü menenjit tanısında güvenilir olup 72 saat içinde kültür sonucu alınabilmektedir (Topuzoğlu 2009, Karacanoğlu 2016).

2.8.1.3. İdrar Kültürü

Yenidoğanlarda yaşamın ilk üç gününde idrar yolu enfeksiyonu oldukça nadir olduğundan dolayı idrar kültürü alınması önerilmez. Yenidoğanlarda üretral kateterizasyon ya da suprapubik mesane aspirasyonu ile idrar kültürü örneği alınması daha uygundur. Uygun şartlarda kateter ya da suprapubik aspirasyonla alınmış idrar örneklerinde lökositlerin ve bakterilerin görülmesi üriner sistem enfeksiyonu olarak değerlendirilmektedir (Cengiz 2009, Topuzoğlu 2009).

2.8.1.4. Trakeal Aspirat Kültürü

Ventilatör ilişkili pnömoniden şüphelenilen yenidoğan bebeklerde ya da sekresyon miktarı ve özelliğinde değişiklik olduğunda trakeal aspirasyon kültür örneği alınmalıdır. Sepsisi şüpheli, pnömoni ya da solunum yetmezliği nedeniyle entübasyon ve ventilasyon ihtiyacı olan bebeklerde trakeal aspirasyon kültürleri tanı için yararlıdır (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.1.5. Bakteri Genomunun Saptanması

16S rRNA genine dayalı PCR ile kandan birkaç saat içinde sonuç alınabilmektedir (Karacanoğlu 2016).

2.8.2. Nonspesifik Tanı ve Tarama Testleri

2.8.2.1. Beyaz Kan Hücre Sayımı

Beyaz kan hücre (WBC) göstergelerinden, total WBC sayısı, periferik yayma incelemesinde mutlak nötrofil sayısı (MNS), immatür nötrofil sayısının total nötrofil sayısına oranı (İ/T) ve immatür nötrofil sayısı bu amaçla en sık yapılan testlerdir. Beyaz kan hücre sayısının spesifitesi sepsiste oldukça düşüktür. Kanıtlanmış sepsis olgularının %50'sinde beyaz kan hücre sayısı normal aralıkta seyrederek. Bu tür vakalarda, nötropeni varlığı nötrofiliden daha önemlidir. İ/T oranı neonatal sepsis için en iyi kriterdir. Sepsisin tanısında İ/T oranının 0,2 veya daha yüksek olması anormal beyaz kan hücre sayıları ile birlikte neonatal sepsis için göreceli olarak daha duyarlı bir indikatördür. İ/T oranı normal ise enfeksiyon olasılığı oldukça düşüktür. Diğer taraftan İ/T oranının 0,8 veya daha yüksek oluşu, kemik iliği nötrofil yedeğinin tükendiğini gösterir. Bu durum kötü prognoz göstergesidir (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.2.2. Trombosit Sayımı

Mekonyum aspirasyonu, asfiksi, mekanik ventilasyon, umbilikal kateterler kan değişimi ve nekrotizan enterokolit gibi sepsise hazırlayıcı faktörlerin olması durumunda kültürler negatif olsa dahi tek başına trombositopeni gelişebilir. Bakteri

ile enfekte yenidoğanların %50'sinde trombosit sayısı $100.000/\text{mm}^3$ 'ün altında gözlenir (Topuzoğlu 2009, Satar ve ark. 2018).

2.8.2.3. C-Reaktif Protein (CRP)

Enfeksiyon veya doku hasarına karşı hızlı yangısal yanıtın bir parçası olarak başlıca karaciğerde üretilen C-reaktif protein (CRP) endojen bir peptittir. Aralıklı ölçümlerde (12-24 saat) CRP artışının izlenmesi, enfeksiyon tanısını koymada önemli bir faktördür. Yenidoğanlarda CRP'nin normal konsantrasyonu 1 mg/dl'nin altındadır. Enfeksiyon başlangıcından 4-18 saat sonra saptanır düzeye erişen CRP konsantrasyonu 8-60 saatte pik yapar. Tedaviye cevap olarak 5-10 günde normal düzeye düşer ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Maternal ateş, erken membran rüptürü, güç doğum, perinatal asfiksi, geçirilmiş cerrahi operasyon, steroid kullanımı gibi durumlarda kandaki CRP düzeyi etkilenir. CRP'nin pozitif öngörüsül doğruluk değeri %97,8, duyarlılığı %61,5, özgüllüğü ise %75 oranındadır. (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.2.4. Prokalsitonin (PCT)

Poliipeptit yapısında bir hormon olan prokalsitonin (PCT), 116 aminoasitten oluşur. Moleküler ağırlığı yaklaşık 13 kilodaltondur. Postpartumun 24'üncü saatinde pik yapar (ortalama 1,5-2,5 ng/ml), doğumdan sonra 48-72. saatte 0,5 ng/ml'nin altına iner. Endotoksinle karşılaşma sonrası 2-4 saat içinde yükselir, 6-8. saatlerde pik değerine ulaşır ve en az 24 saat aynı seviyede seyredir. PCT'nin 72. saatten sonra 2-2,5 ng/ml üzerinde olması enfeksiyon lehine yorumlanmalıdır. PCT'nin doğuma bağlı olarak fizyolojik olarak artışı, doğum asfiksisi, hipoksi ve kafa içi kanamada yükselmesi tanısall kullanımı sınırlandırmaktadır (Topuzoğlu 2009, Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.2.5. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, 212 aminoasit içeren bir poliipeptittir. Endotoksinle karşılaşma sonrasında CRP'den önce hızla artar. Antibiyotik tedavisine başlanıp inflamatuvar cevap azaldıkça hızla ve genellikle 24 saatte normal seviyeye iner. IL-6'nın eşik değeri 10-500 pg/ml aralığında bilinmektedir. Postnatal dönemde fizyolojik

dalgalanma göstermesi ve gebelik yaşından etkilenmesi sebebiyle IL-6'nın neonatal sepsis için duyarlılığı zayıftır (Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

2.8.2.6. Radyolojik İncelemeler

Neonatal sepsis ve pnömoni olarak değerlendirilen her bebek için akciğer grafisinin çekilmesi gereklidir. Abdominal semptom varlığında ya da üriner sistem enfeksiyonundan şüphelenilen bebeklere karın grafisi ve abdominal ultrasonografi çekilmelidir. Erken fazdaki kemik ve eklem enfeksiyonları için kemik grafileri önerilmemektedir (Topuzoğlu 2009).

2.9. Yenidoğan Enfeksiyonlarında Akılcı Antibiyotik Kullanımı

Yenidoğan bebeklerde, bilinen antibiyotiklerin çoğuna dirençli bakteriyel enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Bu enfeksiyonlara bağlı oldukça fazla oranda yenidoğan ölümleri gerçekleşmektedir. Yenidoğan sepsisine bağlı ölümlerin, yaklaşık %30'unun nedeninin antibiyotik direncine bağlı olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar antibiyotiklere maruz kalmanın doğal bakteri florasını bozarak oluşturacağı olumsuz etkileri endişeler uyandırmaktadır. Antibiyotikler YYBÜ'lerinde en sık kullanılan ilaçların başında gelmektedir. Tedavide doğru tercih edilmeyen antibiyotik kullanımı direncinin ortaya çıkmasına yol açabilecektir. Bu direnç, tedavi edilemeyen enfeksiyonların ortaya çıkması, ölüm ve kalıcı hasar oranında artış, hastanede yatış süresinin uzaması, çoklu ilaç dirençli enfeksiyonların yayılması ve maliyet artışı anlamına gelmektedir. Antibiyotik tedavisi başlanan tüm yenidoğanlarda doğru endikasyon, uygun antibiyotik, uygun doz ve süre, uygun uygulama şekli ile akılcı antibiyotik kullanımı sağlanması önem arz etmektedir (Soll ve ark. 2015, Satar ve ark. 2018).

2.9.1. Antimikrobiyallere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

Direnç, mikroorganizmaların bir savunma mekanizması olup, patojen mikroorganizma ya da etkenin, kemoterapötik ilacın kullanıldığı doz aralığında serumda meydana getirdiği yoğunluk düzeyinde, ilaç ile etkilenmemesi şeklinde ifade edilmektedir. Direnci diğer bir ifadeyle mikroorganizmaların olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı özellik olarak tanımlayabiliriz.

Direnç doğal ve kazanılmış (mutasyonel ve aktarılabilir) direnç olmak üzere iki başlık altında toplanır. Bir ilaca dirençli olan bir bakteri türü benzer yapı veya etki şekline sahip diğer bir ilaca da direnç geliştirebilir. Bu duruma çapraz direnç adı verilir (Yüce 2001, Ekici ve Yarsan 2008).

2.9.1.1. Doğal Direnç

Bazı antibiyotikler bakterinin genetik özelliği nedeniyle bakteriyi etkilemez; bu durum doğal direnç olarak ifade edilir. Bu olayın temelinde bakterilerin metabolik olarak inaktif durumda olmaları ya da ilacın etki mekanizmasına uygun hedef yapıların bulunmaması yatar. Bu durum hücre duvarı bulunmayan *Mycoplasma* türlerinin betalaktam antibiyotiklere olan direnci ve *Mycoplasma* türlerinin kalsifiye odaklarda metabolizması yavaşlamış olarak uzun süre canlı kalabilmesi ve bunun sonucunda ilaçlara dirençli olması ile açıklanabilir (Ekici ve Yarsan 2008, Kayış 2019).

2.9.1.2. Kazanılmış Direnç

Antimikrobiyallere duyarlı olan bir mikroorganizmanın çeşitli yollarla antibiyotiklerden etkilenmeyecek hale gelmesi kazanılmış direnç olarak tanımlanmaktadır. Kazanılmış direnç mekanizmaları başlıca biyokimyasal ve genetik olarak ikiye ayrılır. Kazanılmış direnç, bakterinin kromozomlarında meydana gelen mutasyon sonucu ya da bakterinin ortamdan veya diğer bakterilerden, transdüksiyon, transformasyon ve konjugasyon olaylarından biri sırasında R plazmidleri ya da transpozonlar ile direnç genlerini kazanmaları sonucu ortaya çıkabilir (Ekici ve Yarsan 2008, Çiftçi ve Ersoy 2015).

2.9.1.3. Kazanılmış Direncin Ortaya Çıkmasında Rol Oynayan Fenotipik Mekanizmalar

2.9.1.3.1. Hedef Molekülün Değişimi Sonucu Gelişen Direnç

Etki mekanizması ne olursa olsun bir antibiyotiğin etkili olabilmesi için bakteride belli hedef bölgelerde değişiklikler meydana getirmesi ve onların fizyolojik fonksiyonlarını engelleyebilmelidir. İlaçların hedef bölgeleri çeşitli olup bunlar

ribozomlar ve çeşitli enzimler olabilir. Bakteri hücreesindeki bu hedef bölgelerin yapısında oluşan değişiklikler antibiyotiğe affiniteyi düşürür ve bu durum da bakterinin antibiyotik varlığında bile üremesi söz konusudur (Yüce 2001, Ekici ve Yarsan 2008, Çiftci ve Ersoy 2015, Kayış 2019). Aşağıda hedef bölgelere göre etkili antibiyotikler ve etki mekanizmaları ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Ribozomal hedef yerinde değişiklik: Aerob ve anaerob Gram pozitif bakteriler arasında en yaygın tespit edilen direnç mekanizması olarak bilinir. Bu bölgedeki değişiklik, makrolid, tetrasiklin, streptogramin ve linkozamidler gibi bazı antibiyotiklere karşı belirgindir (Yüce 2001, Ekici ve Yarsan 2008).

Hücre duvarı prekürsörlerinde değişiklik: Glikopeptid antibiyotikler peptidoglikan prekürsörlerinin ucunda bulunan D-alanil-D-alanin'e bağlanarak hücre duvarı prekürsörlerinin hücre duvarı ile birleşmesini engeller. Direnç ise bu hedef bölgede D-ala-D-ala'ninin D-alanil-D-laktat ya da D-alanil- D-serin'e dönüşümü ile ortaya çıkar. Vankomisin gibi glikopeptitlere direnç doğal (VanC tipi direnç) veya kazanılmış (VanA, B, C, D, E ve G tipi direnç) olabilmektedir (Ekici ve Yarsan 2008, Çiftci ve Ersoy 2015).

Hedef enzim değişikliği: Betalaktam antibiyotikler kovalent olarak sitoplazmik membranda bulunan penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak peptidoglikan sentezini engellerler. Bu sebeple PBP'lerde ortaya değişiklikler betalaktam direncine neden olur (Ekici ve Yarsan 2008).

Trimetoprim ve Sülfonamidler: Sülfonamidin bağlanmasına dirençli dihidropteroat, trimetoprimin bağlanmasına dirençli dihidrofolat redüktaz enziminin üretimi ile şekillenir (Ekici ve Yarsan 2008).

Kinolonlar: DNA giraz enzimlerinde ortaya çıkan hedef nokta değişimleri sonucunda kinolon grubu antibiyotiklere direnç gelişir. Günümüzde en çok bilinen kromozomal mutasyonlar *gyrA* alt ünitesinde meydana gelen değişimlerdir (Kayış 2019).

Rifampin: Bakterilerde bu ilaca dayanıklı duyarsız bir RNA polimeraz çeşidinin sentezlenmesiyle direnç ortaya çıkar (Ekici ve Yarsan 2008, Kayış 2019).

2.9.1.3.2. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç

Bu mekanizma antibiyotiğin etkisini değiştiren veya bozan enzim üretimine bağlı olarak ortaya çıkar. Antibiyotik inaktivasyonu; hidrolitik enzimler, grup transferi ve redoks mekanizması ile meydana gelmektedir. Antibiyotiğin yıkımı veya inaktivasyonu sonucu kazanılan direnç en çok β -laktam antibiyotikler ve kloramfenikole karşı gelişmektedir (Çiftci ve Ersoy 2015).

Hidroliz: Antibiyotiklerin birçoğu hidrolize duyarlı kimyasal bağlar (örn; esterler ve amidler) içermektedir. Bu duyarlı bağları yıkımlayan enzimler antibiyotik etkinin ortadan kalkmasını sağlarlar (Ekici ve Yarsan 2008).

β -Laktamazlar, β -laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağını bozarak direnç gelişimini sağlarlar. 4 farklı sınıf (A, B, C, D) β -laktamaz tanımlanmış olup A, C ve D sınıfı β -laktamazlar serin-ester aracılığı ile etkili olan enzim grubudur. B sınıfı ise çinko iyonuna gereksinim duyan bir betalaktamaz enzim türüdür (Yüce 2001).

A Sınıfı β -laktamazlar penisilinlere, birinci kuşak sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı etkilidir. Sefotaksim, seftazidim, aztreonam gibi geniş spektrumlu β -laktamlara etkileri azdır. Bu sınıfta *S. aureus* (Grup 2a), Gram-negatif bakterilerin TEM, SHV (Grup 2b, 2br, 2c, 2e, 2f) enzimleri yer almaktadır. β -laktam ajanların yaygın kullanımı sonucunda bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak geniş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) enzimler ortaya çıkmıştır. GSBL enzimleri en çok *K. pneumoniae* ve *E. coli*'de mevcuttur (Yüce 2001, Çiftci ve Ersoy 2015).

Sınıf B β -laktamazlar *Stenotrophomonas maltophilia*, *B. fragilis*, *Legionella* ve *Aeromonas* türlerinde bulunan enzimler penisilin ve sefalosporinler ile birlikte karbapenemleri de hidrolize ederler (Yüce 2001).

Sınıf C β -laktamazlar genel olarak sefalosporinaz (Grup I, AmpC, MIR-I) olup sadece Gram-negatif bakterilerde (*P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *S. marcescens*) bulunurlar ve klavulanik asid ile inhibe olmazlar (Yüce 2001).

Sınıf D β -laktamazlar (Grup 2d) oksasilinleri hidrolize eden (oksasilinaz) enzimlerdir. β -laktamazların genel sınıflandırılmasına Tablo 3’de yer verilmiştir (Yüce 2001).

Tablo 3. Beta-laktamazların sınıflandırılması (Gördebil 2011)

Beta Laktamaz Grubu	Alt Grup	Moleküler Sınıf (Ambler)	Substrat	Özellikler
1		C	Sefalosporinler	Çoğunlukla Gram-negatif bakterilerdeki kromozomal enzimler. Klavulanik asitle inhibe olmaz
2		A, D		Birçoğu klavulanik asitle inhibe olur
	2a	A	Penisilinler	Stafilokok ve enterokoklardaki penisilinazlar
	2b	A	Penisilinler Sefalosporinler	Çoğunlukla Gram-negatif bakterilerdeki geniş spektrumlu betalaktamazlar
	2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu Sefalosporinler	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar
	2br	A	Penisilinler	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar
	2c	A	Penisilinler	Karbenisilini hidroliz eden enzimler
	2d	D	Penisilin, oksasilin	Oksasilini hidroliz eden Klavulanik asit ile az inhibe olurlar
	2e	A	Sefalosporinler	Klavulanik asit ile inhibe olan Sefalosporinazlar
	2f	A	Penisilin, Sefalosporin, Karbapenemler	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler
3	3a, 3b, 3c	B	Karbapenemler dâhil birçok beta-laktam	Metallo-beta-laktamazlar
4		?	Penisilinler	Diğer gruplara girmeyen enzimler

Eritromisin ve diğer makrolidleri etkisiz hale getirerek dirençte rol oynayan çeşitli enzimler de bulunmaktadır. Enterik bakteri türlerinde tespit edilen eritromisin

esteraz ve 2'fosfotransferaz enzimleri antibiyotiğin lakton halkasını hidrolize ederek makrolidleri etkisizleştirir (Yüce 2001).

2.9.1.3.3. Grup Transferi

Grup transferazlar, enzimatik çeşitliliği ve etkinliği en fazla olan enzimlerdir. O-asilasyon ve N- asilasyon, O-fosforilasyon, O-nükleotidilasyon, O-ribozilasyon, O-glikozilasyon gibi önemli reaksiyonlardan sorumludurlar. Bu genel reaksiyonların her biri için çeşitli enzim grupları vardır. Bunlardan başlıcaları asetil transferazlar (AAC), adenil transferazlar (ANT) ve fosfotransferazlar (APH) olarak bilinmektedir. Bunlardan ANT ve APH hidroksil gruplarını, AAC ise amino gruplarını etkiler ve antibiyotik moleküllerinin asetil, adenil ve fosforil gruplarını ekleyerek antimikrobiyal etkinliğin kaybolmasını sağlar. Antibiyotiklerin yapısında meydana gelen bu değişimler onların hücre içine alınmalarını ve protein sentezini önleme işlevlerini engeller (Yüce 2001, Yarsan 2008).

2.9.1.3.4. Aktif Pompa Sistemleri ve Hücre Duvarı Permeabilite Değişimi Sonucu Şekillenen Direnç

Antibiyotiklerin hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemleri membran proteinleridir. Bu sistemler antibiyotiklerin hücre içi düzeylerini minimize ederler. Dışa atım pompa proteinleri, yapısal düzeyde sentezlendiklerinde bakterinin doğal direncine katkıda bulunurlar. Yüksek oranda üretilmeleri ise birçok antimikrobiyal, dezenfektan ve boyaları da kapsayan çok sayıda bileşiğe karşı yüksek düzey çoklu ilaç direnci gelişimini sağlar. Gram negatif bakterilerde periplazmik membran füzyon proteini (MFP) ile dış membran proteini (OMP) birlikte çalışır. Gram negatif bakterilerde gelişen tetrasiklin direncinin esas nedeni bu mekanizmadır. Bu direnç genlerince özgül membran proteinleri (Tet proteini) sentezlenmekte ve katyonlarla birlikte tetrasiklin hücre dışına çıkarılmaktadır. Pek çok bakteride aktif pompa sistemleri bulunmakla birlikte kinolonlar, makrolidler, azalid ve streptograminler, kloramfenikol ve β -laktamlara dirençte pompa sistemleri etkin rol oynar. Bu yolla kinolon direnci *S. aureus*'un *norA* geni ile sağlanırken, *E. coli*'de norfloksasin direnci aynı mekanizma ile kazanılmaktadır (Yüce 2001, Yarsan 2008, Çiftci ve Ersoy 2015, Kayış 2019).

Antibiyotiklerin etkili olabilmesi için öncelikle hedef bölgelere ulaşması gerekmektedir. Örneğin, β -laktamların PBP'lere bağlanabilmesi için sitoplazmik zarın dış yüzüne penetre olması zorunludur. Geniş aralıkları olması sebebiyle peptidoglikan tabaka antimikrobiyallerin bakteri hücrelerine girişine engel oluşturmaz. Gram negatif bakterilerde antimikrobiyal ajanların hücre içine geçişi, dış membrandaki porinler aracılığı ile sağlanır. Dış membran porinlerindeki mutasyonlar sonucu geçirgenlik azalır ve dirençli suşlar oluşur. Beta laktamlar, aminoglikozidler ve florokinolonlar gibi antibiyotikler Gram negatif bakterilerin dış membranlarına porinler aracılığıyla alınır. Örneğin, *P. aeruginosa* suşlarında özel bir porin olan OprD'nin kaybıyla karbapenem sınıfı antibiyotiklere karşı direnç gelişir. Aynı şekilde *E. coli* suşlarında dış membran porinlerinden OmpF ve OmpC'nin kaybıyla β -laktamlara dirençte artış görülmektedir. Porin proteinlerindeki değişimlerin beta-laktam duyarlılığında azalmaya yol açması özellikle *P. aeruginosa* ve diğer nonfermentatif basil şekilli bakteriler (*Acinetobacter baumannii*, *S. maltophilia*, *Burkholderia cepacia*) açısından önemli olduğu bilinmektedir (Çiftci ve Ersoy 2015, Kayış 2019).

2.9.2. Antifungallere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

Antifungallere karşı direnç primer (doğal) veya sekonder (kazanılmış) direnç olmak üzere iki şekilde ortaya çıktığı bilinmektedir. *C. albicans* için flusitozin (5-FC) direncinin, *FCY1* veya *FUR1* genlerindeki mutasyon sonucu şekillenen sitozin deaminaz veya UPRTaz aktivitesindeki azalma ile ortaya çıktığı bildirilmiştir. Flukonazol direnci ise, ilacı hücre dışına pompalayan (atılım pompaları) ve “majör facilitator transporter” olarak adlandırılan *MDR1* ve “ATP-binding cassette” olarak adlandırılan *CDR1* ve *CDR2* genlerinin artmış ekspresyonu ile şekillenir. Azol grubu antifungallere direnç, 14 alfa demetilaz (14DM) enzimini kodlayan gen *ERG11* geninde meydana gelen mutasyon neticesinde şekillenir. Ekinokandinlere karşı oluşan dirençte *FKS1* ve *FKS2* genindeki mutasyonların ortaya çıktığı görülmüştür. Kaspofungin direnci bu yolla ortaya çıkmaktadır (Park ve Perlin 2005, Koç 2007, Gopinathan ve ark. 2013).

3. MATERYAL VE METOD

Bu bölümde, örneklerden bakteriyel ve fungal etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu, elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi ve moleküler yöntemlerle direnç gen analizinde kullanılan materyal ve metotlara ve çalışmanın yapılabilmesi için alınmış olan izinlere yer verilmiştir.

3.1. Çalışma Materyali

Bu çalışmada, 2020-2022 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım ünitesinde sepsis belirtileri ile yatan 0-28 gün yaş aralıklı hastalardan rutin tanı için alınan mikrobiyolojik örnekler kullanıldı. Bu kapsamda 647 kan, 133 idrar, 70 BOS, 56 kateter, 27 TPN, 3 apse, 2 parasentez, 1 kulak ve 1 burun kültürü örneği olmak üzere toplam 940 örnek incelendi.

3.1.1. Çalışma İzinleri

Çalışmanın yapılabilmesi için kurum izni, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığının 22/11/2019 tarihli oluru ile alındı.

Çalışmaya ait Etik Kurul Kararı; Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 17/01/2020 tarihindeki oturumunda incelendi ve 2020/01-19 karar numarası ile alındı.

3.1.2. Etken İzolasyonu ve İdentifikasyonu İçin Kullanılan Materyaller

3.1.2.1. %5 Koyun Kanlı Agar / EMB Agar

Etken izolasyonu için kullanılan bu iki besiyeri bölmeli petride hazır olarak temin edildi (RTA, Türkiye). %5 Koyun kanlı agar, standart mikrobiyolojik analizlerde, mikroorganizmaların üretilmesinde ve hemoliz reaksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanıldı. EMB agar ise enterik Gram negatif bakteriler için

seçici katı besiyeri olarak kullanıldı. Besiyerleri Tablo 4'te verilen bileşenleri içermekteydi.

Tablo 4. Koyun kanlı agar ve EMB besiyeri içerikleri

%5 Koyun Kanlı Agar		EMB Agar	
Bileşenler	g/L	Bileşenler	g/L
Pepton	23 gr	Pepton	10 gr
Nişasta	1 gr	Laktoz	10 gr
Sodyum klorit	5 gr	Dipotasyum hidrojen fosfat	2 gr
Koyun kanı	50 ml	Eosin Y	0,4 gr
Agar	10 gr	Metilen mavisi	0,065 gr
		Agar	15 gr

3.1.2.2. Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)

Maya ve küflerin izolasyonu amacıyla kullanılan katı besiyeri olup hazır olarak temin edildi (RTA, Türkiye) (Tablo 5).

Tablo 5. SDA besiyeri içerikleri

Bileşenler	g/L
Tripton (Pancreatic Digest of Casein)	5 gr
Pepton A (peptic digest of animal tissue)	5 gr
Dekstroz	40 gr
Kloramfenikol	0,05 gr
Gentamisin	0,05
Agar	15 gr

3.1.2.3. Mueller Hinton Agar

Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla kullanılan bu besiyeri hazır olarak temin edilmiş olup suşların antimikrobiyal duyarlılıklarının analizi için kullanıldı (RTA, Türkiye) (Tablo 6).

Tablo 6. Mueller Hinton Agar besiyeri içerikleri

Bileşenler	g/L
Sığır eti infüzyonu (beef, dehydrated infusion from)	2 gr
Kazein hidrolizati	17,5 gr
Nişasta	1,5 gr
Agar	17 gr

3.1.2.4. Gram Boyama Seti

Çalışmada, izole edilen bakteri izolatlarının Gram pozitif ve Gram negatif özelliklerinin belirlenmesinde kullanıldı. Gram boyama seti ticari olarak temin edildi (RTA, Türkiye).

3.1.2.5. Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 İdentifikasyon Sistemi

Çalışmada izole edilen bakterilerin tanımlanması amacıyla otomatize identifikasyon sistemi olarak Siemens MicroScan WalkAway 96 plus cihazı kullanıldı.

MicroScan WalkAway (Siemens Healthcare Diagnostics), inkübatör/okuyucu bir cihazdır. WalkAway, hidratlı ve manuel olarak inkübe edilen ve daha sonra cihazdaki inkübatör yuvalarından birine yerleştirilen standart boyutlu mikrodilüsyon panelleri kullanır. Cihaz, bakteriyel üremeyi belirlemek için bir fotometre veya florometre ile panelleri periyodik olarak inceleyerek uygun süre boyunca inkübe eder. Florojenik substratlar içeren Gram negatif duyarlılık test panelleri 3,5-7 saat içinde okunabilir. Türbidimetrik bitiş noktaları kullanılarak okunan Gram-pozitif ve Gram-negatif paneller 4,5–18 saat içinde hazır olur. Maya tanımlaması için MicroScan sisteminde, 27 susuz kromojenik substrat içeren 96 oyuklu bir mikrodilüsyon paneli kullanılır (Reller ve ark. 2009).

Her izolatın enzim aktivitesi renk değişimi ile belirlenir. Biyokimyasal reaksiyonlar, organizmaları tanımlamak için bir veri tabanı ile karşılaştırılan sayısal profiller oluşturur (Reller ve ark. 2009).

3.1.2.6. Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Antibiyotik Duyarlılık Sistemi

Bu çalışmada, identifiye edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde MicroScan WalkAway AST paneli kullanıldı.

Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılan bu otomatize sistemlerin mikroorganizmaların üreme hızlarını ve antibiyotik duyarlılıklarına ait MİK değerlerini analiz etmek için geliştirilmiş yazılım programları mevcuttur. Mikroorganizmaların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için çeşitli ticari paneller bulunmaktadır. Panel ve kartlar Gram-pozitif, Gram-negatif ve fungal paneller olarak gruplandırılmıştır. MicroScan WalkAway sistemi, uç noktaların okunmasını standartlaştırabilir ve hassas optik algılama sistemleri bakteri üremesindeki ince değişikliklerin saptanmasına izin verdiği için, genellikle manuel okumalardan daha kısa sürede duyarlılık testi sonuçları üretebilir (Reller ve ark. 2009, Hasdemir 2013).

3.1.2.7. E-TEST (Epsilometer Test) Şeritleri

Gittikçe artan konsantrasyonlarda antibiyotik içeren 5mm genişliğinde, 60mm uzunluğunda plastik şeritlerdir. Bu çalışmada, elde edilen ve tanımlanmış maya izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının analizi ve MİK değerlerinin belirlenmesinde E-test şeritleri kullanıldı. Bu işlem için flukonazol (FLU, 0.016-256 µg/ml), vorikonazol (VO, 0.002-32 µg/ml), amfoterisin B (AMB, 0.002-32 µg/ml) ve kaspofungin (CAS, 0.002-32 µg/ml) E-test şeritleri (BM Bioanalyse, Turkey) kullanıldı.

3.1.2.8. İzolatların Saklanması İçin Gerekli Materyaller

Çalışmanın moleküler analiz basamağında kullanılacak bakteri ve maya izolatları saf olarak 750µl %15 gliserollü Brucella broth içeren tüplerin içerisinde ve -80°C’de saklandı.

3.1.2.9. PCR Analizi İçin Gerekli Olan Araç ve Gereçler

- ✓ Termal cyclers (Bio- Rad, MJ Mini Gradient Thermal Cyclers, PTC- 1148)
- ✓ Elektroforezis ünitesi (Bio- Rad, Mini- sub cell gt)
- ✓ Soğutmalı eppendorf santrifüjü (Eppendorf, Centrifuge- 5417R)
- ✓ Otomatik Pipet Seti (labopette) (10, 20, 100, 200, 1000 µl'lik)
- ✓ Jel dokümantasyon sistemi (Vilber-Lourmat, Fransa)
- ✓ Laminar flow kabin (Nüve, LN120)
- ✓ Derin dondurucu (SANYO)
- ✓ DNA ekstraksiyon buffer: Fenol/Kloroform lizis tamponu (10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 100 mM NaCl, 25 mM EDTA, %0,5 SDS ve 1 mg/ml proteinaz-K)

3.1.2.10. PCR Bileşenleri

- ✓ Taq DNA Polimeraz Seti (Thermo Fisher, EP0401)
- ✓ dNTP Miks (10 mM) (Sigma, D7295)
- ✓ Nuclease-Free Water (Thermo Fisher, AM9932)
- ✓ Mineral Oil (Bioshop-Canada MIN444)
- ✓ Bakteri Direnç Genleri Primerleri (CTX-M, TEM, VIM, NDM, KPC, CMY-2, AadB, AadA25, SUL-2, MecA, VanA, VanB, VanC) (Sentegen)
- ✓ Maya Direnç Genleri Primerleri (FUR1, ERG11 (JD1, JD2) ve FKS1) (Sentegen)

3.1.2.11. Elektroforez Bileşenleri

- ✓ Agaroz (Sigma, 17850)
- ✓ Tris- Borik Asit- EDTA (TBA) Buffer (Sigma, TB0421)
- ✓ DNA Ladder (Thermo Fisher GeneRuler 100 bp, SM0241, HyperLadder 1 kb DNA ladder, BIO-33053, Bioline)
- ✓ Etidyum bromür (SRL, 16201 – 10ML)

3.1.2.12. Veri Analizi İçin Gerekli Materyal

Çalışmada verilerin istatistiksel analizi için IBM SPSS versiyon 25.0 paket programı kullanıldı (SPSS 2017).

3.2. Metot

3.2.1. Örneklem

Çalışmanın örnekleri, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinde yatan hastalardan steril koşullarda alındı. Bu kapsamda, kan, idrar, BOS, kateter, apse, kulak, burun, parasentez ve total parenteral beslenme (TPN) örnekleri alındı ve steril numune kaplarına veya kültür şişelerine aktarıldı. Örnekler, bakteriyel ve fungal etken izolasyonu ve identifikasyonu için Dursun Odabaş Tıp Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderildi. Bu kapsamda bireylere ait toplam 940 adet örnek alınmıştır. Bu örneklerin dağılımı 647 kan, 133 idrar, 70 BOS, 56 kateter, 27 TPN, 3 apse, 2 parasentez, 1 kulak ve 1 burun kültür örneği şeklindeydi.

3.2.2. Etken İzolasyon Yöntemi

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen klinik örnekler rutin olarak kullanılan %5 koyun kanlı/EMB agara (bölmeli) ekim yapıldıktan sonra aerobik olarak 37°C'de, 24-48 saatlik inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda saf koloni varlığı ile kültür pozitif olarak nitelendirilen örneklerden preparat hazırlandı. Preparatlar, Gram boyama yöntemi ile boyanarak Gram özellikleri ortaya konuldu. Sonrasında bakterilere ait koloniler tanımlanmak üzere Siemens Microscan Walkaway 96 plus cihazının uygun panelinde (Gram pozitif veya Gram negatif panel) analiz edildi. %5 koyun kanlı/EMB agarda üreyen ve fungal etken olabileceği düşünülen kolonilerden SDA besiyerine ekim yapıldı. Direkt SDA besiyerine ekilen ve burada üreyen fungal etkenler ise aynı besiyerinde pasajlanarak identifikasyon amaçlı saklandı. Çalışmanın PCR aşamaları için kullanılacak izolatlar saf olarak 750µl %15 gliserollü Brucella broth içeren tüplere aktararak -80°C'de saklandı.

3.2.3. Etken İdentifikasyon Yöntemleri

3.2.3.1. Gram Boyama Yöntemi

Gram boyanma özellikleri incelenecek bakteri izolatlarına ait saf ve taze hazırlanmış katı besiyerindeki kolonilerden öze yardımı ile alınıp daha önce orta kısmına bir damla serum fizyolojik damlatılan lama dairesel hareketlerle yayıldı. Oda ısısında kurutulan preparatlar bir pens yardımıyla tutulup bek alevinden 3-4 kez geçirilerek fıkse edildi. Preparat önce kristal viyole ile 2 dk süre ile boyandıktan sonra distile su ile yıkandı. Ardından lugol solüsyonu ile 1 dk boyanıp yıkandı. Preparat, 10-15 sn boyunca %96'lık etil alkol ile yıkanarak renk giderme işlemi yapıldı ve müteakiben yıkandı. Daha sonra sulu füksin ile 20 sn boyunca boyanıp distile su ile yıkandı. Kurutma kâğıdı ile kurutulan preparata bir damla immersiyon yağı damlatılarak x100 objektifte incelendi. Mikroskop sahasında kırmızı-pembe boyanan etkenler Gram (-), mor renkte görüntülenen etkenler ise Gram (+) bakteriler olarak değerlendirildi (Arda, 2011).

Fungal etkenlerin tanımlanmasında ise koloni görünümü ve rengi, 45°C'de üreme ve hifa gibi morfolojik özellikler dikkate alındı. Koyun kanlı agarda yıldız şeklinde saçaklı kenarları olan koloniler *Candida* spp. yönünden değerlendirildi. SDA besiyerinde beyaz-krem renkli, düzgün yüzeyli, 1-2 mm çapında koloniler değerlendirildi ve Gram morfolojisi incelendikten sonra *Candida* spp. olarak tanımlandı (Yarar, 2014).

3.2.3.2. Otomatize Sistem ile İdentifikasyon

Çalışmada, %5 koyun kanlı agar / EMB agar yüzeyindeki saf üç bakteri kolonisi bir öze yardımıyla alınarak inokülasyon şişesine aktarıldı ve şişe kuvvetlice çalkalandı. 30 ml süspansiyon, MicroScan inokülasyon paneline dökülerek ID/MIC panellerine inokülasyonu sağlandı ve transfer kapağı kapatıldı ve MicroScan paneline yerleştirildi. Daha sonra örnek barkodu MicroScan WalkAway (Siemens Healthcare Diagnostics) cihazına okutularak mikrodilüsyon paneli cihazdaki inkübatör yuvalarından birine yerleştirildi. Sonuçları 16-24 saat içinde tamamlanan testlerin çıktısı alınarak süreç tamamlandı.

3.2.3.3. *Candida albicans*'ın PCR ile İdentifikasyonu

Çalışmada, *C. albicans*'ın PCR yöntemi ile identifikasyonu; Li ve ark. (2003) ile Makene'nın (2014) uyguladığı yöntemler modifiye edilerek gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektoroforezi sonucu 402 bp büyüklüğündeki ürünler *C. albicans* olarak tanımlandı. *C. albicans*'ın identifikasyonu için Tablo 7'de bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 7. *C. albicans*'ın identifikasyonunda kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>C. albicans</i>	F-5'-TCAACTTGTCACACCAGATTATT-3'	402
	R-5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	

C. albicans'ın PCR ile identifikasyonu için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 8'de gösterildi.

Tablo 8. *C. albicans*'ın identifikasyonunda kullanılan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	2,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,5
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,20
Primer R (10 pmol)	0,20
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

C. albicans'ın PCR ile identifikasyonu için Tablo 9'da bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 9. *C. albicans*'ın identifikasyonu için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	96 °C'de 5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C'de 1 dakika	30
Bağlanma	50 °C'de 1 dakika	
Uzama	72 °C'de 2 dakika	
Son uzama	72 °C'de 10 dakika	1

3.2.3.4. Otomatize Sistem ile Antibiyotik Duyarlılık Analizi

Çalışmada izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarına ait MİK değerlerini belirlemek için MicroScan WalkAway (Siemens Healthcare Diagnostics) kullanıldı. İnokülasyon şişesi 0,5 Mc Farland bulanıklıkları MicroScan WalkAway identifikasyon yöntemindeki gibi 0,48-0,52 konsantrasyonlarda hazırlanarak MicroScan paneline döküldü. Daha sonra örnek barkodu okutularak mikrodilüsyon paneli cihazdaki inkübatör yuvalarından birine yerleştirildi. Duyarlılık test sonuçları bu sistemle ortalama 20 saatte (16-24 saat) elde edildi (Hasdemir 2013). Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 otomatize sistemi antibiyogram sonucu ortaya çıkan metsilin, sülfonamid, glikopeptid, aminoglikozid, karbapenem ve betalaktam gibi çoklu ilaç dirençli (MDR) bakteriyel etkenlerin olası ve yaygın direnç gen analizleri PCR tabanlı moleküler yöntem ile gerçekleştirildi.

3.2.3.5. E-TEST Antibiyotik Duyarlılık Testi

Fungal izolatların antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için E-TEST yöntemi kullanıldı. Bu test Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, M44-A2) önerileri doğrultusunda yapıldı (CLSI, 2009). SDA besiyerinde taze kültürü hazırlandıktan sonra bir eküvyon çubuğu yardımıyla alınan saf maya kolonileri 0.5 McFarland yoğunluğa getirilip homojen bir süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan 100µl alınarak Muller Hinton agara yayma yöntemi ile ekildi. Flukonazol (FLU), vorikonazol (VO), amfoterisin B (AMB) ve kaspofungin (CAS) emdirilmiş E-test şeritleri steril bir pens aracılığıyla agar yüzüne düzgün bir şekilde yerleştirildi. Daha sonra aerobik olarak 35°C’de, 24-48 saatlik inkübasyona bırakıldı. Elips şeklinde oluşan inhibisyon alanının şerit üzerindeki ölçekle kesiştiği noktaya göre MİK değerleri belirlendi.

3.2.3.6. Tanımlanan İzolatların Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Analizi

Bu çalışmada identifiye edilen ve sırasıyla MicroScan WalkAway AST paneli ve E-Test şeritleri ile antimikrobiyal aktiviteleri belirlenen bakteriyel ve fungal izolatların yaygın antibiyotik direnç genleri yönünden analizleri PCR yöntemleri ile

gerçekleştirildi. Çalışmada, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonuna ait tanımlanmış suşlar pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol için nükleaz ari su kullanıldı.

3.2.3.7. DNA Ekstraksiyonu

Çalışmada tanımlanan bakteri ve maya izolatlarından DNA ekstraksiyonu Saran ve ark. (2008) tarafından esas alınan fenol-kloroform-izoamil alkol yöntemi modifiye edilerek kullanıldı.

Kanlı agar besiyerinden alınan bakteri ve maya kolonileri 100µl steril distile su içerisinde yıkanıp 7000 rpm 3 dk santrifüj edildi. Oluşan tortuya 200µl erime tamponu [10mM Tris-HCl (pH= 8), 1mM EDTA, 100mM NaCl, %2 (wt/vol) Triton X-100, %1 SDS (wt/vol)] ilave edilip 30 sn kuvvetlice vorteksenerek 95°C'de 5 dakika bekletildi. Süspansiyona 200µl fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1 oranla) ve 200µl TE tamponu [10 mM Tris-HCl (pH= 8) ve 1 mM disodyum EDTA] eklenip 15000 devirde (rpm) 10 dk santrifüj edildi. Üst faz alınıp üzerine 1:1 oranında kloroform ilave edildikten sonra süspansiyon vorteksenip santrifüj edildi. Üst fazlar alınarak steril tüplere bu hacmin iki misli kadar soğuk %96 etanol ilave edildi. Karışım %70'lik soğuk etanol ile yıkandıktan sonra santrifüj edilip çöktelinin üst kısmı atıldı. Üzerine 1µg RNaz içeren 100µl TE tamponu eklenip tüpler ağzı açık şekilde bir süre (37°C'de 30 dk) bekletildi. Elde edilen kalıp DNA ekstraktlarının üzerine 100µl steril distile su eklenip PCR işlemlerinde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

3.2.3.8. Direnç Genlerinin Belirlenmesi ve PCR Analizleri

Bu çalışmada, PCR kapsamında, penisilin, betalaktam, sefalosporin, karbapenem, sülfonamid, aminoglikozid, glikopeptid antibiyotiklere ve azol, ekinokandin, flusitozin gibi antifungal ilaçlara karşı gelişen klinik öneme sahip direnç genleri içerisinde günümüze kadar tanımlanmış, dünyada ve ülkemizde yaygın olan genler seçilmiştir. Ayrıca, antibiyogram sonuçlarına göre dirençli çıkan suşların direnç profilleri göz önüne alınarak ilgili antibiyotik grubuna karşı gelişen direnç genlerini temsilen yaygın genler seçilerek direnç gen analizleri yapılmıştır.

3.2.3.8.1. TEM-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteriyel izolatlar arasında Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) direncini gösteren *TEM* direnç geninin PCR ile belirlenmesi amacıyla Monstein ve ark. (2007) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. TEM-PCR için Tablo 10’da bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 10. TEM-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>bla_{TEM}</i>	F-5’-ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3’	861
	R-5’-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3’	

TEM-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 11’de gösterildi.

Tablo 11. TEM-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

TEM-PCR için Tablo 12’de bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 12. TEM-PCR için uygulanan termal şartlar

PCR protokolü		Siklus Sayısı
İlk denatürasyon	95°C’de 5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C’de 1 dakika	35
Bağlanma	55 °C’de 1 dakika	
Uzama	72 °C’de 1 dakika	
Son uzama	72 °C’de 10 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 861 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı, *TEM* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.2. CTX-M-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteriyel izolatlar arasında GSBL direncini gösteren *CTX-M* direnç geninin PCR ile belirlenmesi amacıyla Boyd ve ark. (2004) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. CTX-M-PCR için Tablo 13'te bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 13. CTX-M-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>bla</i> _{CTX-M}	F-5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3'	544
	R-5'-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3'	

CTX-M-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 14'te gösterildi.

Tablo 14. CTX-M-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

CTX-M-PCR için Tablo 15'te bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 15. CTX-M-PCR için uygulanan termal şartlar

PCR protokolü		Siklus Sayısı
İlk denatürasyon	94°C'de 5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C'de 1 dakika	35
Bağlanma	57 °C'de 1 dakika	
Uzama	72 °C'de 1 dakika	
Son uzama	72 °C'de 10 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 593 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı, *CTX-M* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.3. CMY-2-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteriyel izolatlar arasında AmpC tipi betalaktamaz direncini gösteren *CMY-2* direnç geninin PCR ile belirlenmesi amacıyla Zhao ve ark. (2001) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. *CMY-2*-PCR için Tablo 16'da bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 16. *CMY-2*-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>CMY-2</i>	F- 5'-GACAGCCTCTTTCTCCACA-3'	1000
	R- 5'-TGGAACGAAGGCTACGTA-3'	

CMY-2-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 17'de gösterildi.

Tablo 17. *CMY-2*-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

CMY-2-PCR için Tablo 18’de bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 18. CMY-2-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	96 °C’de 5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C’de 1 dakika	30
Bağlanma	50 °C’de 1 dakika	
Uzama	72 °C’de 2 dakika	
Son uzama	72 °C’de 10 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5’lik agaroz jel elektroforezi sonucu 1000 bp’lik amplifiye ürünlerin varlığı, *CMY-2* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.4. VIM, NDM ve KPC-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteriyel izolatlar arasında karbapenemaz direncini gösteren *VIM*, *NDM* ve *KPC* direnç genlerinin PCR ile belirlenmesi amacıyla Poirel ve ark. (2011) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. *VIM*, *NDM* ve *KPC*-PCR için tablo 19’da bildirilen primer çiftlerinden yararlanıldı.

Tablo 19. *VIM*, *NDM* ve *KPC*-PCR için kullanılan primer çiftleri

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>VIM</i>	F-5'-GATGGTGTTTGGTCGCATA-3'	390
	R-5'-CGAATGCGCAGCACCAG-3'	
<i>NDM</i>	F-5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3'	621
	R-5'-GAATGGCTCATCACGATC-3'	
<i>KPC</i>	F-5'-ATGTCACGTATCGCCGTCT-3'	893
	R-5'-TTTTCAGAGCCTTACTGCCC-3'	

VIM, *NDM* ve *KPC* genleri için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 20’de gösterildi.

Tablo 20. VIM, NDM, KPC-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

VIM, NDM ve KPC PCR için Tablo 21’de bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 21. VIM, NDM ve KPC-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94 °C’de 5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C’de 1 dakika	30
Bağlanma	54 °C’de 1 dakika	
Uzama	72 °C’de 1,5 dakika	
Son uzama	72 °C’de 10 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5’lik agaroz jel elektroforezi sonucu 390 bp’lik amplifiye ürünlerin varlığı *VIM* pozitifliği, 621 bp’lik ürünlerin varlığı *NDM* pozitifliği ve 798 bp’lik ürünlerin varlığı *KPC* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.5. SUL-2-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteri izolatları arasında sülfonamid direncini gösteren *SUL-2* direnç geninin PCR ile belirlenmesi amacıyla Klima ve ark. (2020) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. *SUL-2*-PCR için Tablo 22’de bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 22. *SUL-2*-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>SUL-2</i>	F- 5'-CCAATACCGCCAGCCCGTCG-3'	489
	R- 5'-TGCCTTGTCGCGTGGTGTGG-3'	

SUL-2-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 23'te gösterildi.

Tablo 23. SUL-2-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

SUL-2-PCR için Tablo 24'te bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 24. SUL-2-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95 °C'de 5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C'de 30 saniye	30
Bağlanma	56 °C'de 1 dakika	
Uzama	72°C'de 1 dakika	
Son uzama	72°C'de 8 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 489 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı, *SUL-2* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.6. MecA-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteri izolatlar arasında metisilin direncini gösteren *MecA* direnç geninin PCR ile belirlenmesi amacıyla Choi ve ark. (2003) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. MecA-PCR için Tablo 25'te bildirilen primer çiftinden yararlanıldı.

Tablo 25. MecA-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>MecA</i>	F- 5'-CCTAGTAAAGCTCCGGAA-3'	314
	R- 5'-CTAGTCCATTCCGGTCCA-3'	

MecA-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 26’da gösterildi.

Tablo 26. MecA-PCR için kullanılan bileşenler

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	2
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	12,75
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,25
Primer F (10 pmol)	1
Primer R (10 pmol)	1
Kalıp DNA (100ng/µl)	5

MecA-PCR için Tablo 27’de bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 27. MecA-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95 °C’de 1 dakika	1
Denatürasyon	94 °C’de 1 dakika	40
Bağlanma	60 °C’de 1 dakika	
Uzama	72 °C’de 3 dakika	
Son uzama	72 °C’de 15 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5’lik agaroz jel elektroforezi sonucu 314 bp’lik amplifiye ürünlerin varlığı *MecA* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.7. VanA, VanB ve VanC-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteri izolatları arasında glikopeptid direncini gösteren *vanA*, *vanB* ve *vanC* direnç genlerinin PCR ile belirlenmesi amacıyla George ve ark. (2021) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. VanA, vanB ve vanC-PCR için Tablo 28’de bildirilen primer çiftlerinden yararlanıldı.

Tablo 28. VanA, vanB ve vanC-PCR için kullanılan primer çiftleri

Gen	Primerler	Ürün (bp)
vanA	F-5'-GGGAAAACGACAATTGC-3'	732
	R-5'-GTACAATGCGGCCGTTA-3'	
vanB	F-5'-ATGGGAAGCCGATAGTC-3'	647
	R-5'-GATTTTCGTTCTCGACC-3'	
vanC	F-5'-GAAAGACAACAGGAAGACCGC-3'	796
	R-5'-ATCGCATCACAAGCACCAATC-3'	

VanA, vanB ve vanC genleri için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 29'da gösterildi.

Tablo 29. VanA, vanB ve vanC-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,12
PCR Su	19,52
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,12
Primer F (10 pmol)	0,12
Primer R (10 pmol)	0,12
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

VanA, vanB ve vanC-PCR'ler için Tablo 30'da bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 30. VanA, vanB ve vanC-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95 °C'de 15 dakika	1
Denatürasyon	94 °C'de 1 dakika	35
Bağlanma	54 °C'de 30 saniye	
Uzama	72 °C'de 1 dakika	
Son uzama	72 °C'de 10 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 1030 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı vanA pozitifliği, 433 bp'lik ürünlerin varlığı vanB pozitifliği ve 796 bp'lik ürünlerin varlığı ise vanC pozitifliği olarak yorumlandı.

3.2.3.8.8. AaDB ve AaDA25-PCR Yöntemi

Tanımlanan bakteri izolatları arasında aminoglikozid direncini gösteren *AaDB* ve *AaDA25* direnç genlerinin PCR ile belirlenmesi amacıyla Klima ve ark. (2020) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. *AaDB* ve *AaDA25*-PCR için Tablo 31’de bildirilen primer çiftlerinden yararlanıldı.

Tablo 31. *AaDB* ve *AaDA25*-PCR için kullanılan primer çifti

Gen	Primerler	Ürün (bp)
<i>AaDB</i>	5'-TTACGCAGCAGGGCAGTCGC-3'	551
	5'-GCGGCACGCAAGACCTCAAC-3'	
<i>AaDA25</i>	5'-GCAGTGGATGGCGGCCTGAA-3'	503
	5'-TCGGCGCGATTTTGCCGGTT-3'	

AaDB ve *AaDA25*-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 32’de gösterildi.

Tablo 32. *AaDB* ve *AaDA25*-PCR için oluşturulan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP mix (10 mM)	0,5
PCR Su	18,9
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,25
Primer R (10 pmol)	0,25
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

AaDB ve *AaDA25*-PCR için Tablo 33’te bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 33. *AaDB* ve *AaDA25*-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95 °C’de 5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C’de 30 saniye	30
Bağlanma	56 °C’de 1 dakika	
Uzama	72°C’de 1 dakika	
Son uzama	72°C’de 8 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 551 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı *AaDB* pozitifliği ve 503 bp'lik ürünlerin varlığı *AaDA25* pozitifliği olarak değerlendirildi.

3.2.3.8.9. *ERG11*, *FUR1* ve *FKS1* Genleri için PCR Yöntemi

Candida albicans izolatlarının flukonazole karşı direncini gösteren *ERG11* geninin belirlenmesi için Makene ve ark. (2013) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek uygulandı. Bu protokole JD1 ve JD2 primerleri ile ayrı ve JD3 ve JD4 primerleri ile de ayrı olmak üzere iki farklı Single Step PCR yapıldı. *C. albicans* izolatlarının flusitozine karşı dirençliliğinde rol oynayan *FUR1* geninin gösterilmesi için Gopinathan ve ark. (2013) uyguladığı yöntem ve kaspofungine karşı dirençliliğinde rol oynayan *FKS1* geninin gösterilmesi için Baixench ve ark. (2007)'nin uyguladığı yöntem kullanıldı. Bu genlere ait primer dizilimlerine Tablo 34'te yer verildi.

Tablo 34. Antifungal direnci göstermek için PCR'de kullanılan primer çiftleri

Gen	Primerler	Primerler	Ürün (bp)
<i>ERG11</i>	JD1 F	5'-CATAACTCAAATATGGCTATT-3'	245 bp
	JD2 R	5'-CTTTTGACGACATGATTCTGA-3'	
	JD3 F	5'-TTGAAACTGTCATTGATGGC-3'	193 bp
	JD4 R	5'-GGTTGTTGACCATATGAAGC-3'	
<i>FUR1</i>	Fur1 F1	5'-CGCAACCTGATTTTGTCCATA-3'	340 bp
	Fur1 R1	5'-ATCGGAAGAATATCATGAAAATCC-3'	
<i>FKS1</i>	CaFKS F	5'-GAAATCGGCATATGCTGTGTC-3'	450 bp
	CaFKS R	5'-AATGAACGACCAATGGAGAAG-3'	

ERG11, *FUR1* ve *FKS1* genleri için oluşturulan PCR bileşenleri Tablo 35'te gösterildi.

Tablo 35. *ERG11*, *FUR1* ve *FKS1* genleri için oluşturulan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	1X İçin Hacim (25 µl)
PCR Buffer (10X)	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	2,5
dNTP mix (10 mM)	0,1
PCR Su	18,4
Taq Polimeraz (5 U/µl)	0,1
Primer F (10 pmol)	0,20
Primer R (10 pmol)	0,20
Kalıp DNA (100ng/µl)	1

ERG11, *FUR1* ve *FKS1* PCR için Tablo 36’da bildirilen termal şartlar uygulandı.

Tablo 36. *ERG11*, *FUR1* ve *FKS1*-PCR için uygulanan termal şartlar

Termal döngü	Koşul	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94°C’de 5 dakika	1
Denatürasyon	94°C’de 30 saniye	30
Bağlanma	50°C’de 1 dakika	
Uzama	72°C’de 2 dakika	
Son uzama	72°C’de 8 dakika	1

PCR ürünlerinin %1,5’lik agaroz jel elektroforezi sonucu 245 ve 193 bp’lik amplifiye ürünlerin varlığı *ERG11* pozitifliği, 340 bp’lik ürünlerin varlığı *FUR1* pozitifliği ve 450 bp’lik ürünlerin varlığı *FKS1* pozitifliği olarak yorumlandı.

3.2.3.9. Elektroforez Yöntemi

PCR analizleri sonrası elde edilen amplifiye ürünlerin görüntülenmesi ve analizi amacıyla %1,5 agaroz jel içeren yatay agaroz jel elektroforez yöntemi kullanıldı. Bu kapsamda, 60ml 1xTBE buffer içerisine 0,9gr agaroz eklenerek mikrodalga fırında agarozun tam erimesi sağlandı. Soğutulan karışıma 1,2µl etidyum bromür (10 mg/ml) eklendi. Elektroforez kasetine taraklar yerleştirilip agaroz jel tanka dolduruldu ve 30 dk soğumaya bırakıldı. Katılan jel kuyucuklarına 7,5µl PCR amplifiye ürünleri ve 1,5µl loading dye konularak, 1,5µl DNA marker eşliğinde

elektroforezi gerçekleştirildi. Elektroforez, 100 volt ve 400 miliamperde 40 dakika şeklinde gerçekleştirildi ve elde edilen DNA bantları jel dokümantasyon sistemi (Vilber Lourmat V03 8464) ile görüntülendi. Kullanılan primer çiftlerine ait bant boyutları DNA Ladder ile karşılaştırılıp görüntüler kaydedildi.

3.2.4. Veri Analiz Yöntemi

Çalışma kapsamında elde edilen veriler frekans ve yüzdelik değerleri üzerinden yorumlandı. Verilerin istatistiksel analizi için IBM SPSS Versiyon 25.0 paket programı kullanıldı (SPSS 2017). Anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

4.1. Örnek Orijinleri ve Dağılımı

Bu çalışmada, 2020-2022 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinden Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 647 kan, 133 idrar, 70 BOS, 56 kateter, 27 TPN, 3 apse, 2 parasentez, 1 kulak ve 1 burun örneği olmak üzere toplam 940 örnek değerlendirildi.

4.2. İzolasyon Bulguları

Çalışmada incelenen 940 örneğin kültürel analiz sonuçları 105'i bakteriyel ve 8'i fungal etken yönünden pozitif olarak tespit edildi. Kültür pozitifliği, bakteriyel etkenler için %11,17 ve fungal etkenler için %0,85 olarak belirlendi. Bakteri kültür pozitifliği kulak, burun, parasentez, apse, kateter, idrar, kan, BOS ve TPN örneklerinde sırasıyla %100, %100, %50, %33,33, %28,57, %12,03, %10,05, %4,28, %3,7 olarak hesaplandı. Fungal etkenler yönünden ise kateter, idrar, BOS, kan örneklerinde kültür pozitifliği %1,78, %1,5, %1,43, %0,62 olarak belirlendi (Tablo 37).

Çalışmada kullanılan bu örnekler yenidoğan sepsisi başta olmak üzere, menenjit, idrar, kateter ilişkili ve lokal (apse, kulak, burun vb.) yenidoğan enfeksiyonlarının etken profillerinin ortaya koyulması için alınmıştır.

Yapılan çalışmada, cinsiyete göre dağılım; 72 (%63,7) erkek ve 41 (%36,3) kız şeklinde olmuştur. Bakteriyel etkenlerde cinsiyete göre kültür pozitifliği erkekler için 66 (%7,02), kızlarda 39 (%4,15) olarak belirlendi. Erkeklerin örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 40 (%6,20), kateter örneklerinde 12 (%21,43), idrar örneklerinde 8 (%6,01), BOS örneklerinde 3 (%4,28), apse örneklerinde 1 (%33,33), burun örneklerinde 1 (%100) ve TPN örneklerinde 1 (%100) şeklindeydi. Parasentez ve kulak örneklerinde erkeklere dair pozitiflik saptanmadı. Kızların örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 25 (%3,85), idrar örneklerinde 8 (%6,01), kateter örneklerinde 4 (%7,14), parasentez örneklerinde 1 (%100) ve kulak örneklerinde 1

(%100) şeklindeydi. BOS, apse, burun ve TPN örneklerinde kızlara dair pozitiflik saptanmadı (Tablo 37).

Fungal etkenlerde cinsiyete göre kültür pozitifliği erkekler için 6 (%64), kızlarda 2 (%21) olarak belirlendi. Erkeklerin örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 2 (%31), kateter örneklerinde 1 (%178), idrar örneklerinde 2 (%15) ve BOS örneklerinde 1 (%143) şeklindeydi. Parasentez, apse, burun, TPN ve kulak örneklerinde erkeklere dair pozitiflik saptanmadı. Kızların örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 2 (%31) şeklinde iken, BOS, kateter, idrar, parasentez, kulak apse, burun ve TPN örneklerinde kızlara dair pozitiflik saptanmadı (Tablo 37).

Kültür pozitif 105 bakteri izolatının Gram yöntemiyle boyanması sonucu 43 (%40,95)'ü Gram pozitif ve 62 (%59,05)'si Gram negatif etken olarak saptandı. Örnek orijinlerine göre dağılımları Gram pozitif bakteriler 44 (%46,8), Gram negatif bakterilerin 61 (%64,9) olarak tespit edildi. Gram pozitif bakterilerin örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 32 (%49,5), kateter örneklerinde 6 (%10,70), idrar örneklerinde 3 (%2,26) ve BOS örneklerinde 1 (%1,43), parasentez örneklerinde 1 (%50), burun örneklerinde 1 (%100) şeklindeydi. Aps, TPN ve kulak örneklerinde Gram pozitif bakteri saptanmadı. Gram negatif bakterilerin örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde 33 (%53,1), kateter örneklerinde 10 (%17,87), idrar örneklerinde 13 (%9,77) ve BOS örneklerinde 2 (%2,85), apse örneklerinde 1 (%33,33), burun örneklerinde 1 (%100), kulak örneklerinde 1 (%100), TPN örneklerinde 1 (%100) şeklindeydi. Parasentez ve burun kültür örneğinde Gram negatif bakteri saptanmadı (Tablo 37).

Tablo 37. Kültürel analiz için kullanılan örneklerin dağılımı ve kültür pozitifliği

Örnek türü	Toplam örnek	Kültür pozitif örnek sayısı		Kültür pozitifliği (%)		Bakteriyel etkenlerin cinsiyete örnek dağılımı				Fungal etkenlerin cinsiyete örnek dağılımı				Bakteri Gram özelliği	
		Bakteri	Fungal etken	Bakteri	Fungal etken	Erkek	(%)	Kız	(%)	Erkek	(%)	Kız	(%)	Gram(+)	Gram(-)
Kan kültürü	647	65	4	10,05	0,62	40	6,20	25	3,85	2	0,31	2	0,31	32 (%4,95)	33 (%5,1)
İdrar kültürü	133	16	2	12,03	1,5	8	6,01	8	6,01	2	1,5	0	0	3 (%2,26)	13 (%9,77)
Kateter kültürü	56	16	1	28,57	1,78	12	21,43	4	7,14	1	1,78	0	0	6 (%10,70)	10 (%17,87)
BOS kültürü	70	3	1	4,28	1,43	3	4,28	0	0	1	1,43	0	0	1 (%1,43)	2 (%2,85)
Apse kültürü	3	1	0	33,33	0,00	1	33,33	0	0	0	0	0	0	0 (%0)	1 (%33,33)
Parasentez kültürü	2	1	0	50	0,00	0	0	1	100	0	0	0	0	1 (%50)	0 (%0)
Kulak kültürü	1	1	0	100	0,00	0	0	1	100	0	0	0	0	0 (%0)	1 (%100)
Burun kültürü	1	1	0	100	0,00	1	100	0	0	0	0	0	0	1 (%100)	0 (%0)
TPN kültürü	27	1	0	3,7	0,00	1	100	0	0	0	0	0	0	0 (%0)	1 (%100)
Toplam	940	105	8	11,17	0,85	66	7,02	39	4,15	6	0,64	2	0,21	44 (%4,68)	61 (%6,49)

4.3. İdentifikasyon Bulguları

Kültürel analiz sonrası Gram boyanma özellikleri belirlenen 105 adet bakteri izolatının identifikasyonu Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Otomatize Sisteminin Gram negatif veya Gram pozitif paneli ile gerçekleştirildi. MicroScan WalkAway Plus 96 ile yapılan identifikasyon sonrası tanımlanan bakteri izolatlarının dağılımı Tablo 38’de verildi. İzolatların dağılımı; 28 adet Koagülaz (-) stafilokok, 22 adet *Acinetobacter baumannii/ haemolyticus*, 16 adet *Klebsiella* spp., 10 adet *Escherichia coli*, 10 adet *Enterococcus* spp., 6 adet *Stenotrophomonas maltophilia*, 5 adet *Serratia marcescens*, 5 adet *Staphylococcus aureus* ve 3 adet *Pseudomonas aeruginosa* şeklindedir. Koagülaz (-) stafilokoklar, en yaygın %26,67 saptanan izolatlar olurken, bunu *A. baumannii/ haemolyticus* %20,95 ve *Klebsiella* spp. %15,24 takip etti. Bakteriyel etkenler arasında en düşük pozitiflik %2,86 ile *P. aeruginosa* için elde edildi (Tablo 38).

Koagülaz (-) stafilokokların örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %21,24, kateter örneklerinde %2,65, BOS örneklerinde %0,88 şeklindeydi. İdrar, apse, parasentez, kulak, burun ve TPN örneklerinden koagülaz (-) stafilokok pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

A. baumannii/ haemolyticus’un örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %13,27, idrar örneklerinde %1,77, kateter örneklerinde %0,88, BOS örneklerinde %1,77, parasentez örneklerinde %0,88 ve TPN örneklerinde %0,88 şeklindeydi. Aps, kulak ve burun örneklerinden *A. baumannii/ haemolyticus* kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

Klebsiella spp.’nin örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %7,96, idrar örneklerinde %3,54, kateter örneklerinde %2,65 şeklindeydi. BOS, apse, parasentez, kulak, burun ve TPN örneklerinde *Klebsiella* spp. kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

E. coli’nin örnek türlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %2,65, idrar örneklerinde %5,31 ve kateter örneklerinde %0,88 şeklindeydi. BOS, apse,

parasentez, kulak, burun ve TPN örneklerinde *E. coli* kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

Enterococcus spp.'nin örnek türlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %5,31, idrar örneklerinde %2,65, kateter örneklerinde %0,88 iken, BOS, apse, parasetez, kulak, burun ve TPN örneklerinde kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

S. maltophilia'nın örnek orijinlerine göre dağılımda; kan örneklerinde %0,88, kateter örneklerinde %3,54 ve apse örneklerinde %0,88 şeklindeydi. BOS, idrar, parasetez, kulak, burun ve TPN örneklerinde *S. maltophilia* kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

S. marcescens'ın örnek orijinlerine göre dağılımı; kan örneklerinde %3,54 ve idrar örneklerinde %0,88 şeklindeydi. Kateter, BOS, apse, parasetez, kulak, burun ve TPN örneklerinde *S. marcescens* kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

S. aureus'un örnek orijinlerine göre dağılımı; kan ve kateter örneklerinde %1,77 oranında iken, burun örneklerinde %0,88 şeklindeydi. BOS, apse, parasetez, kulak, idrar ve TPN örneklerde *S. aureus* kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

P. aeruginosa 'nın kültür pozitifliği; kan, kateter ve kulak örneklerinde eşit oranda olup %0,88 olarak tespit edilirken, diğer örneklerde kültür pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

Tablo 38. İzolatların tür ve örnek orijinlerine göre dağılımı

Mikroorganizma	İzolat sayısı (n=113)	Kan kültürü	İdrar Kültürü	Kateter kültürü	BOS kültürü	Apse kültürü	Parasen tez kültürü	Kulak kültürü	Burun kültürü	TPN kültürü
Koagülaz (-) stafilokoklar	28 (%24,78)	24 (%21,24)	0 (%0)	3 (%2,65)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>A. baumannii/ haemolyticus</i>	22 (%19,47)	15 (%13,27)	2 (%1,77)	1 (%0,88)	2 (%1,77)	0 (%0)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%0,88)
<i>Klebsiella</i> spp.	16 (%14,16)	9 (%7,96)	4 (%3,54)	3 (%2,65)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>E. coli</i>	10 (%8,85)	3 (%2,65)	6 (%5,31)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>Enterococcus</i> spp.	10 (%8,85)	6 (%5,31)	3 (%2,65)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>S. maltophilia</i>	6 (%5,31)	1 (%0,88)	0 (%0)	4 (%3,54)	0 (%0)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>S. marcescens</i>	5 (%4,42)	4 (%3,54)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>S. aureus</i>	5 (%4,42)	2 (%1,77)	0 (%0)	2 (%1,77)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%0,88)	0 (%0)
<i>P. aeruginosa</i>	3 (%2,65)	1 (%0,88)	0 (%0)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)
<i>C. albicans</i>	8 (%7,08)	4 (%3,54)	2 (%1,77)	1 (%0,88)	1 (%0,88)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)

Konvansiyonel yöntemlerle *Candida* spp. olarak tanımlanan 8 adet izolatın tür PCR analizi sonrası tümü *Candida albicans* olarak tanımlanmıştır (PCR'ye ait elektoroforez görüntüsü eklenmemiştir). *C. albicans* pozitifliği kan örneklerinde %3,54, idrar örneklerinde %1,77, kateter örneklerinde %0,88, BOS örneklerinde %0,88 olarak saptandı. Apse, parasentez, kulak, burun ve TPN örneklerinde ise *C. albicans* pozitifliği saptanmadı (Tablo 38).

4.4. İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

Çalışma kapsamında 105 adet bakteriyel izolat ve 8 adet fungal izolat olmak üzere toplam 113 izolatın antibiyotik duyarlılıkları analiz edildi. Bakteriyel izolatların antibiyotik duyarlılık analizleri Siemens MicroScan WalkAway Plus 96 Otomatize Sisteme ait AST paneli ile yapıldı. Gram pozitif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıklarına ait bulgular Tablo 39'da, Gram negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıklarına ait bulgular ise Tablo 40 ve Tablo 41'de gösterildi.

Çalışmada tanımlanan 28 Koagülaz (-) stafilokok izolatının penisilin dirençliliği %100 saptanırken, amoksisilin-klavulanat, ampisilin ve oksasiline karşı dirençlilikleri ise %96,4 olarak belirlendi. Bu izolatların tobramisin dirençliliği %92,9, siprofloksasin dirençliliği %85,7, sefoksitin dirençliliği %84,6 ve mupirosine dirençliliği %70,4 olarak belirlendi. 28 Koagülaz (-) stafilokok izolatının tamamı linezolid, vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulundu (Tablo 39).

Çalışmada tanımlanan 5 adet *S. aureus* izolatının oksasilin ve amoksisilin-klavulanat dirençlilikleri %60, penisilin, ampisilin ve sefoksitin dirençlilikleri %80 iken, siprofloksasin duyarlılıkları %60 olarak saptandı. Bu izolatların tamamı linezolid, vankomisin, teikoplanin, tobramisin ve mupirosine duyarlı bulundu (Tablo 39).

Çalışmada tanımlanan 10 *Enterococcus* spp. izolatının sefoksitin ve penisiline tamamı dirençli iken, izolatların ampisilin ve siprofloksasin dirençliliği %50 olarak tespit edildi. Bu izolatların linezolide duyarlılığı %90 ve glikopeptid grubu (vankomisin ve teikoplanin) antibiyotiklere duyarlılığı ise %80 olarak saptandı (Tablo 39).

Tablo 39. Koagülaz (-) stafilokok, *S. aureus* ve *Enterococcus* spp. izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları

Antibiyotik	Koagülaz (-) stafilokoklar				<i>S. aureus</i>				<i>Enterococcus</i> spp.			
	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam
Amoksisilin-Klavulanat	1 (%3,6)	0 (%0)	27 (%96,4)	28	2 (%40)	0 (%0)	3 (%60)	5	Yapılmadı			0
Ampisilin	1 (%3,6)	0 (%0)	27 (%96,4)	28	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	4 (%40)	1 (%10)	5 (%50)	10
Oksasilin	1 (%3,6)	0 (%0)	27 (%96,4)	28	2 (%40)	0 (%0)	3 (%60)	5	Yapılmadı			0
Penisilin	0 (%0)	0 (%0)	28 (%100)	28	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	0 (%0)	0 (%0)	10 (%100)	10
Sefoksitin	2 (%7,7)	2 (%7,7)	22 (%84,6)	26	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	0 (%0)	0 (%0)	9 (%100)	9
Siprofloksasin	2 (%7,15)	2 (%7,15)	24 (%85,7)	28	2 (%40)	3 (%60)	0 (%0)	5	4 (%40)	1 (%10)	5 (%50)	10
Linezolid	28 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	28	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5	9 (%90)	0 (%0)	1 (%10)	10
Vankomisin	28 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	28	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5	8 (%80)	0 (%0)	2 (%20)	10
Teikoplanin	28 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	28	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5	8 (%80)	0 (%0)	2 (%20)	10
Tobramisin	2 (%7,1)	0 (%0)	26 (%92,9)	28	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5	Yapılmadı			0
Mupirosin	8 (%29,6)	0 (%0)	19 (%70,4)	27	5 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	5	Yapılmadı			0

*S: Duyarlı, I: orta derecede duyarlı, R: dirençli.

Çalışmada tanımlanan 22 *A. baumannii/ haemolyticus* izolatının tamamı amikasin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin, aztreonam, sefepim, sefotaksim, seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, piperasilin/tazobaktam, tigesiklin ve tobramisin dirençli saptandı. Bu izolatların trimetoprim/sülfametoksazole dirençliliği %95,5 iken kolistin duyarlılığı %90,9 olarak belirlendi (Tablo 40).

Çalışmada tanımlanan 16 *Klebsiella* spp. izolatının tamamı ampisilin, aztreonam ve sefepime dirençliydi. İzolatların sefotaksim dirençliliği %93,3, amoksisilin-klavulanat dirençliliği %75 ve amikasin dirençliliği %43,75 olarak belirlendi. İzolatların gentamisin direnci %62,5, siprofloksasin direnci %43,75, meropenem direnci %37,5, levofloksasin direnci %31,25 ve imipenem direnci %25 olarak belirlendi. Antimikrobiyal aktivitesi test edilen 9 izolatın tamamı seftazidime dirençli iken, test edilen 3 izolattan 1 (%33,3)'i kolistin direnci sergiledi (Tablo 40). İzolatların tobramisin direnci %,81,25 ve trimetoprim/sülfametoksazol direnci %68,75, piperasilin/tazobaktam direnci %50, tigesiklin direnci %12,5 olarak saptandı (Tablo 40).

Çalışmada tanımlanan 10 *E. coli* izolatının tamamının kolistin, imipenem ve tigesikline duyarlı olduğu belirlendi. İzolatların ampisiline %90, sefepime ve sefotaksime %70, siprofloksasine %60, trimetoprim/sülfametoksazole %60 oranında dirençli oldukları saptandı. İzolatların meropenem ve piperasilin/tazobaktam duyarlılığı %80, amikasin duyarlılığı %70, gentamisin duyarlılığı ise %60 olarak belirlendi (Tablo 40).

Tablo 40. *A. baumannii/ haemolyticus*, *Klebsiella* spp. ve *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları

Antibiyotik	<i>A. baumannii/haemolyticus</i>				<i>Klebsiella</i> spp.				<i>E. coli</i>			
	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam
Amikasin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	9 (%56,25)	0 (%)	7 (%43,75)	16	7 (%70)	1 (%10)	2 (%20)	10
Amoksisilin-Klavulanat	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	4 (%25)	0 (%)	12 (%75)	16	5 (%50)	0 (%)	5 (%50)	10
Ampisilin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	0 (%)	0 (%)	16 (%100)	16	1 (%10)	0 (%)	9 (%90)	10
Aztreonam	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	0 (%)	0 (%)	16 (%100)	16	3 (%30)	2 (%20)	5 (%50)	10
Sefepim	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	0 (%)	0 (%)	16 (%100)	16	3 (%30)	0 (%)	7 (%70)	10
Sefotaksim	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	1 (%6,7)	0 (%)	14 (%93,3)	15	3 (%30)	0 (%)	7 (%70)	10
Seftazidim	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	0 (%)	0 (%)	9 (%100)	9	3 (%30)	3 (%10)	4 (%40)	10
Kolistin	20 (%90,9)	0 (%)	2 (%9,1)	22	2 (%66,7)	0 (%)	1(%33,3)	3	3 (%100)	0 (%)	0 (%)	3
Siprofloksasin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	7 (%43,75)	2 (%12,5)	7(%43,75)	16	2 (%20)	2 (%10)	6 (%60)	10
Gentamisin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	6 (%37,5)	0 (%)	10 (%62,5)	16	6 (%60)	1 (%10)	3 (%30)	10
İmipenem	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	11 (%68,75)	1 (%6,25)	4 (%25)	16	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	10
Levofloksasin	0 (%)	0 (%)	18 (%100)	22	10 (%62,5)	1 (%6,25)	5 (%31,25)	16	3 (%30)	2 (%20)	5 (%50)	10
Meropenem	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	9 (%56,25)	1 (%6,25)	6 (%37,5)	16	8 (%80)	2 (%20)	0 (%)	10
Piperasilin/ Tazobaktam	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	8 (%50)	0 (%)	8 (%50)	16	8 (%80)	1 (%10)	1 (%10)	10
Tigesiklin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	12 (%75)	2 (%12,5)	2 (%12,5)	16	10 (%100)	0 (%)	0 (%)	10
Tobramisin	0 (%)	0 (%)	22 (%100)	22	3 (%18,75)	0 (%)	13(%81,25)	16	5 (%50)	1 (%10)	4 (%40)	10
Trimetoprim/Sülfametoksazol	1 (%4,5)	0 (%)	21 (%95,5)	22	4 (%25)	1 (%6,25)	11 (%68,75)	16	4 (%40)	0 (%)	6 (%60)	10

*S: Duyarlı, I: orta derecede duyarlı, R: dirençli.

Çalışmada tanımlanan 6 *S. maltophilia* izolatının tamamı levofloksasine duyarlı iken, trimetoprim/sülfametoksazole %83,3 duyarlılık gösterdiği belirlendi (Tablo 41).

Çalışmada tanımlanan 6 *P. aeruginosa* izolatının tamamı seftazidim, kolistin ve levofloksasine duyarlı iken, piperasilin/ tazobaktam ve gentamisine %50 dirençli bulundu. Amikasin, sefepim, siprofloksasin, meropenem ve tobramisine duyarlılıkları %66,7 oranında belirlendi (Tablo 41).

Çalışmada tanımlanan 5 *S. marcescens* izolatının tamamı amoksisilin-klavulanat, ampisilin ve sefotaksime dirençli olduğu saptandı. İzolatların amikasin, imipenem, meropenem, piperasilin/tazobaktam ve tobramisine direnci %40, aztreonam, sefepim ve seftazidim direnci %80 olarak belirlendi. İzolatlar arasında gentamisin direnci %60 olarak belirlenirken, tigesiklin duyarlılığı %60, trimetoprim/sülfametoksazol ve siprofloksasin duyarlılığı ise %80 olarak belirlendi (Tablo 41).

Tablo 41. *S. maltophilia*, *S. marcescens* ve *P. aeruginosa* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları

Antibiyotik	<i>S. maltophilia</i>				<i>S. marcescens</i>				<i>P. aeruginosa</i>			
	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam	S	I	R	Toplam
Amikasin				0	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5	2 (%66,7)	0 (%0)	1 (%33,3)	3
Amoksisilin-Klavulanat				0	0 (%0)	0 (%0)	5 (%100)	5				0
Ampisilin				0	0 (%0)	0 (%0)	5 (%100)	5				0
Aztreonam				0	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	0 (%0)	2 (%100)	0 (%0)	2
Sefepim				0	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	2 (%66,7)	0 (%0)	1 (%33,3)	3
Sefotaksim				0	0 (%0)	0 (%0)	5	5				0
Seftazidim	0 (%0)	0 (%0)	6 (%100)	6	1 (%20)	0 (%0)	4 (%80)	5	3 (%100)	0 (%0)	0	3
Kolistin				0	0 (%0)	0 (%0)	0	0	2 (%100)	0 (%0)	0	2
Siprofloksasin				0	4 (%80)	0 (%0)	1 (%20)	5	2 (%66,7)	0 (%0)	1 (%33,3)	3
Gentamisin				0	2 (%40)	0 (%0)	3 (%60)	5	1 (%50)	0 (%0)	1 (%50)	2
İmipenem				0	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5	1 (%50)	1 (%50)	0	2
Levofloksasin	6 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	6	3 (%60)	1 (%20)	1 (%20)	5	2 (%100)	0	0	2
Meropenem				0	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5	2 (%66,7)	1 (%33,3)	0	3
Piperasilin/ Tazobaktam				0	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5	1 (%50)	0 (%0)	1 (%50)	2
Tigesiklin				0	3 (%60)	2 (%40)	0 (%0)	5				0
Tobramisin				0	3 (%60)	0 (%0)	2 (%40)	5	2 (%66,7)	0 (%0)	1 (%33,3)	3
Trimetoprim/Sülfametoksazol	5 (%83,3)	1 (%16,7)	0 (%0)	6	4 (%80)	0 (%0)	1 (%20)	5				0

*S: Duyarlı, I: orta derecede duyarlı, dirençli.

Çalışmada tanımlanan 8 *C. albicans* izolatının antimikrobiyal duyarlılıkları E-Test yöntemi ile yapılmıştır. Antifungal duyarlılık/dirençlilik profilleri Tablo 42’de verilmiştir.

Tablo 42. *C. albicans* izolatlarının antifungal duyarlılık/dirençlilik profilleri

Antibiyotik	<i>C. albicans</i>			
	S	I	R	Toplam
Flukonazol	4 (%50)	0 (%0)	4 (%50)	8
Vorikonazol	4 (%50)	0 (%0)	4 (%50)	8
Kaspofungin	5 (%62,5)	1 (%12,5)	2 (%25)	8
Amfoterisin B	8 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	8

*S: Duyarlı, I: orta derecede duyarlı, R: dirençli.

Çalışmada tanımlanan 8 *C. albicans* izolatının tamamının amfoterisin B’ye duyarlı olduğu görüldü. İzolatların flukonazol ve vorikonazol dirençliliği ise %50 oranındaydı. *C. albicans* izolatlarının kaspofungin duyarlılığı %62,5 oranında tespit edildi (Tablo 42).

4.5. Antibiyotik Direnç Genlerine ait PCR Bulguları

Çalışmada, tanımlanan 28 Koagülaz (-) Stafilokok, 22 *A. baumannii/haemolyticus*, 16 *Klebsiella* spp., 10 *E. coli*, 10 *Enterococcus* spp., 8 *C. albicans*, 6 *S. maltophilia*, 5 *S. marcescens*, 5 *S. aureus* ve 3 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 113 izolatın PCR ile antimikrobiyal direnç gen varlığı analiz edildi. 105 bakteriyel izolatın 91 (%86,67)’inde en az 1 direnç geni bulunurken, 8 fungal etkenin 7’sinde (%87,5) en az 1 direnç geni tespit edildi.

Tablo 43. Bakteriyeel izolatlarda saptanan direnç genlerinin dağılımı

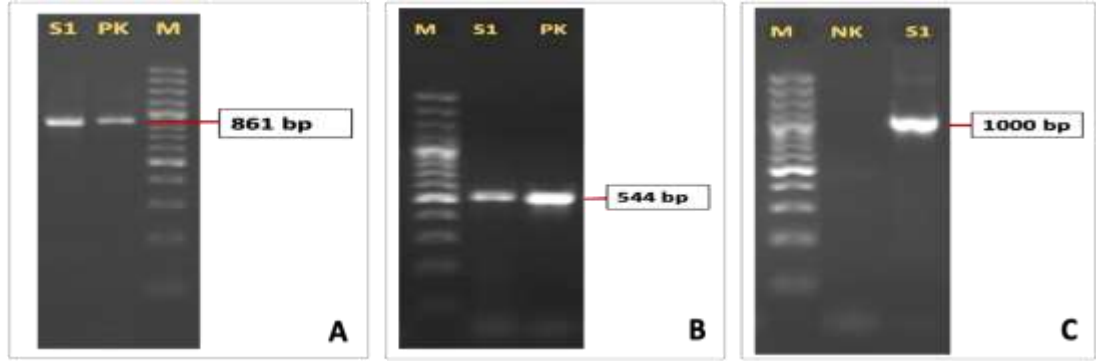
Gen	İzolat sayısı				
	Pozitif	Yüzde (%)	Negatif	Yüzde (%)	Toplam
<i>TEM</i>	39	70,9	16	29,1	55
<i>CTX-M</i>	16	31,4	35	68,6	51
<i>CMY-2</i>	12	23,1	40	76,9	52
<i>KPC</i>	4	21,1	15	78,9	19
<i>NDM</i>	11	21,2	41	78,8	52
<i>VIM</i>	21	42,9	28	57,1	49
<i>SUL-2</i>	20	69,0	9	31	29
<i>AaDB</i>	7	24,1	22	75,9	29
<i>AaDA25</i>	10	34,5	19	65,5	29
<i>MecA</i>	28	65,1	15	34,9	43
<i>vanA</i>	6	37,5	10	62,5	16
<i>vanB</i>	1	6,3	15	93,8	16
<i>vanC</i>	1	6,3	15	93,8	16

Çalışmada tanımlanan 105 bakteriyeel izolat arasında en yaygın antibiyotik direnç geni 39 izolatta (%70,9) saptanan *TEM* geni idi. Bunu 20 (%69) izolatta saptanan *SUL-2* geni, 28 (%65,1) izolatta saptanan *MecA* geni ve 21 (%42,9) izolatta saptanan *VIM* geni izledi. Bunların haricinde izolatların 6 (%37,5)'sında *vanA*, 10 (%34,5)'unda *AaDA25*, 16 (%31,4)'sında *CTX-M*, 7 (%24,1)'sinde *AaDB*, 12 (%23,1)'sinde *CMY-2*, 11 (%21,2)'inde *NDM*, 4 (%21,1)'ünde *KPC*, 1 (%6,3)'inde *vanB* ve 1 (%6,3)'inde *vanC* tespit edildi (Tablo 43).

4.5.1. *TEM*, *CTX-M* ve *CMY-2* PCR Bulguları

Çalışmada, GSBL pozitifliğinden sorumlu yaygın genlerden olan *TEM* ve *CTX-M* ve *AmpC* tipi betalaktamaz olan *CMY-2* gen bölgeleri için PCR analizleri gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektoroforezi sonucu 861 bp büyüklüğündeki ürünler *TEM*, 544 bp büyüklüğündeki ürünler *CTX-M* ve 1000 bp büyüklüğündeki ürünler *CMY-2* direnç gen varlığına yorumlandı (Şekil 1). PCR

analizleri sonrası *TEM* pozitifliği %70,9, *CTX-M* pozitifliği %31,4 ve *CMY-2* pozitifliği %23,1 olarak saptandı (Tablo 44).



Şekil 1. *TEM* (A), *CTX-M* (B), *CMY-2* (C) gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi. S1: Saha suşları, PK: Pozitif kontrol, M: DNA ladder (GeneRuler 100 bp plus DNA ladder, SM0321, Thermo Fisher Sci.)

TEM direnç gen pozitifliği, *Klebsiella* spp. izolatları arasında %93,3, *S. marcescens* izolatları arasında %80, *E. coli* izolatları arasında %75, *S. maltophilia* izolatları arasında %66,7, *A. baumannii/ haemolyticus* izolatları arasında %55,6 ve *P. aeruginosa* izolatları arasında %33,3 oranında saptandı (Tablo 44).

CTX-M direnç gen pozitifliği, *E. coli* izolatları arasında %83,3, *Klebsiella* spp. izolatları arasında %66,7 ve *A. baumannii/ haemolyticus* izolatları arasında %6,25 oranında saptandı. *S. marcescens*, *S. maltophilia* ve *P. aeruginosa* izolatları arasında *CTX-M* gen pozitifliğine rastlanılmadı (Tablo 44).

CMY-2 gen pozitifliği, *Klebsiella* spp. izolatları arasında %46,7, *S. marcescens* izolatları arasında %20, *A. baumannii/ haemolyticus* izolatları arasında %17,65 ve *E. coli* izolatları arasında %16,7 oranında saptanırken, *S. maltophilia* ve *P. aeruginosa* izolatlarına ait pozitiflik bulunamadı (Tablo 44).

Tablo 44. TEM, CTX-M ve CMY-2 PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	Genler								
	TEM			CTX-M			CMY-2		
	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam
<i>A. baumannii/ haemolyticus</i>	10 (%55,6)	8 (%44,4)	18	1 (%6,25)	15 (%93,75)	16	3 (%17,65)	14 (%82,35)	17
<i>Klebsiella spp.</i>	14 (%93,3)	1 (%6,7)	15	10 (%66,7)	5 (%33,3)	15	7 (%46,7)	8 (%53,3)	15
<i>E. coli</i>	6 (%75)	2 (%25)	8	5 (%83,3)	1 (%16,7)	6	1 (%16,7)	5 (%83,3)	6
<i>S. marcescens</i>	4 (%80)	1 (%20)	5	0 (%0)	5 (%100)	5	1 (%20)	4 (%80)	5
<i>S. maltophilia</i>	4 (%66,7)	2 (%33,3)	6	0 (%0)	6 (%100)	6	0 (%0)	6 (%100)	6
<i>P. aeruginosa</i>	1 (%33,3)	2 (%66,7)	3	0 (%0)	3 (%100)	3	0 (%0)	3 (%100)	3
Toplam	39 (%70,9)	16 (%29,1)	55	16 (%31,4)	35 (%68,6)	51	12 (%23,1)	40 (%76,9)	52

MicroScan WalkAway antimikrobiyal aktivite test sonuçları (fenotipik) ile PCR bulguları karşılaştırıldığında, fenotipik olarak B-laktam antibiyotiklere dirençli olan 5 *S. marcescens* izolatın 4'ünde *TEM* pozitifliği saptandı. GSBL pozitif 2 *S. marcescens* izolatının da *TEM* pozitifliği mevcuttu. *S. marcescens* izolatları arasında *CTX-M* için gen pozitifliği saptanmadı. Aynı şekilde sefalosporin grubu antibiyotiklere direnci olan 1 *S. marcescens* izolatı için *CMY-2* pozitifliği belirlendi (Tablo 45).

Çalışmada, 6 adet *S. maltophilia* izolatının 4'ünde *TEM* pozitifliği saptandı. Bu 4 izolattan 2'sinin seftazidime dirençli olduğu görüldü. Bu izolatlara β -laktam grubu için antimikrobiyal testi uygulanmadı (Tablo 45).

Çalışmada, PCR ile direnç geni saptanan 3 adet *P. aeruginosa* izolatının 1'inde *TEM* pozitifliği görüldü. Fenotipik olarak B-laktamlara dirençli GSBL pozitif 1 izolatta *TEM* pozitifliği belirlendi. Seftazidime ve aztreonama duyarlı 1 izolatta ve sefepim, seftazidim, siprofloksasin, piperasilin/tazobaktam dirençli 1 izolatta direnç genine rastlanılmadı (Tablo 45).

Çalışmada, 15 *Klebsiella* spp. izolatında en az 1 direnç gen pozitifliği saptandı. İzolatların 14'ünde *TEM*, 10'unda *CTX-M* ve 7'sinde *CMY-2* gen pozitifliği saptandı. *Klebsiella* spp. izolatlarının penisilin, sefalosporin grubu antibiyotiklere ve B-laktam bileşiklerine yaygın direnç geliştirdikleri görüldü. 15 izolatın 8'inde GSBL pozitifliği saptandı (Tablo 45).

Çalışmada, 18 *Acinetobacter* spp. izolatının 12'sinde en az 1 direnç gen pozitifliği saptandı. İzolatların 10'unda *TEM*, 1'inde *CTX-M* ve 3'ünde *CMY-2* gen pozitifliği belirlendi. *Acinetobacter* spp. izolatları arasında çoklu ilaç direnci (MDR) yaygın olarak belirlendi (Tablo 45).

Çalışmada, 8 *E. coli* izolatının tamamı için en az 1 direnç gen pozitifliği saptandı. İzolatların 6'sında *TEM*, 5'inde *CTX-M* ve 1'inde *CMY-2* gen pozitiflik saptandı. *E. coli* izolatlarının penisin, sefolosporin ve B-laktam grubu antibiyotiklere yaygın direnç geliştirdikleri görüldü. 8 izolattan 5 tanesinde GSBL pozitifliği saptandı (Tablo 45).

Tablo 45. TEM, CTX-M ve CMY-2 gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyotik			GSBL
		TEM	CTX-M	CMY-2	S	I	R	
1	<i>S. marcescens</i>	+	-	-	AK, MEM, TZP, IMP, TZP		AMP, FEP, AMC, ETP	+
3	<i>S. marcescens</i>	+	-	+			AK, AMC, AMP, AZT, FEP, ETP, IMP, MEM, TZP	
64	<i>S. marcescens</i>	+	-	-	AK, IMP		AMP, AMC, AZT, FEP, CAZ	+
77	<i>S. marcescens</i>	+	-	-	AK, FEP, IMP		AMP, AMC	
115	<i>S. marcescens</i>	-	-	-			AK, AMC, AMP, AZT, FEP ETP, IMP, MEM, TZP	
9	<i>S. maltophilia</i>	-	-	-	SXT		CAZ	
84	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-	SXT		CAZ	
87	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-	SXT		CAZ	
120	<i>S. maltophilia</i>	-	-	-	SXT			
123	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-	SXT			
124	<i>S. maltophilia</i>	+	-	-		SXT		
94	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-		İMP, MEM	AK, FEP, CAZ, CIP, TZP	
116	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	CAZ, TOB	AZT		
141	<i>P. aeruginosa</i>	+	-	-	AK, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP		AMP, AMC, FEP	+

*AK: Amikasin, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, İPM: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, TOB: Tobramisin. SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Tablo 45. TEM, CTX-M ve CMY-2 PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyotik			GSBL
		TEM	CTX-M	CMY-2	S	I	R	
5	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	-	AMC, IMP, TZP	MEM	AMP, AZT, FEP, CAZ, MEM	+
8	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	+			AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
16	<i>Klebsiella</i> spp.	-	+	-	IMP		AMC, AMP, AZT, FEP, CIP, ETP, MEM, TZP	
23	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	+			AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
27	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	+		CIP	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, ETP, IMP, MEM, TZP	
29	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	+			AMC, AMP, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
36	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	-	IMP		AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, MEM, TZP	
38	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	+	TZP		AMC, AMP, FEP	+
58	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-	IMP, MEM		AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CAZ, CIP, TZP	+
69	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	+	IMP, TZP		AMC, AMP, FEP	+
70	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	+	IMP, TZP	CIP	AMC, AMP, FEP	+
80	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	-	IMP, TZP		AMC, AMP, FEP, ETP	+
122	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-	MEM	IMP	AMC, AMP, AZT, FEP, CAZ, CIP, ETP, TZP	
132	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	-	MEM, TZP		AMP, FEP, CAZ	+
140	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	-	AMC, ETP, İMP, MEM, TZP		AMP, FEP, CAZ	+

* AK: Amikasin, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, İPM: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, TOB: Tobramisin. SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Tablo 45. TEM, CTX-M ve CMY-2 PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyoik			MDR
		TEM	CTX-M	CMY-2	S	I	R	
25	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, CIP, IMP, MEM, TZP	+
35	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
41	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP	+
42	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
43	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	+			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
45	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
50	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
53	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	+			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
55	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
57	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
60	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
73	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
75	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	+			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
83	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+

* FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CTX: Sefotaksim, IMP: Imipenem, MEM: Meropenem, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

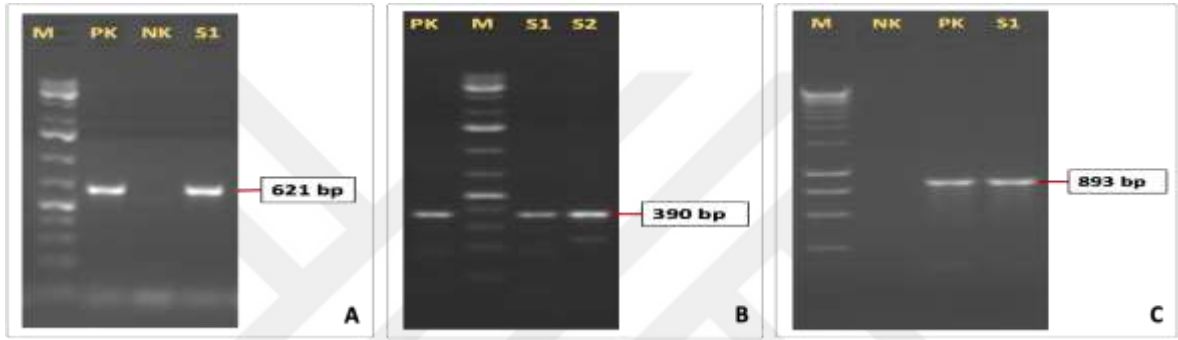
Tablo 45. TEM, CTX-M ve CMY-2 PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyoik			MDR
		TEM	CTX-M	CMY-2	S	I	R	
92	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			IMP, MEM	-
93	<i>Acinetobacter</i> spp.	+		-			IMP, MEM	+
99	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	-	-			IMP, MEM	+
104	<i>Acinetobacter</i> spp.	+					IMP, MEM	-
İzolat no	Bakteri	TEM	CTX-M	CMY-2	S	I	R	GSBL
11	<i>E. coli</i>	+	+	-	MEM, ETP	TZP	AMC, AMP, FEP, CIP, IMP	+
33	<i>E. coli</i>	+	+	-	IMP, TZP	MEM	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP	
51	<i>E. coli</i>	+	+	-	ETP, IMP, MEM		AMC, AMP, FEP, CIP, TZP	+
56	<i>E. coli</i>	-	+	-	AMC, MEM, TZP		AMP, FEP, CIP	+
67	<i>E. coli</i>	-	-	+	IMP, TZP	CIP, MEM	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, ETP	
100	<i>E. coli</i>	+			AMC		AMP	
130	<i>E. coli</i>	+			AMC, ETP, IMP, MEM, TZP		AMP, FEP, CTX, CIP	+
133	<i>E. coli</i>	+	+	-			AMC, AMP, FEP CTX,	+

* AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CTX: Sefotaksim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, IMP: Imipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

4.5.2. NDM, VIM ve KPC PCR Bulguları

Çalışmada, karbapenemaz pozitifliğinden sorumlu olan yaygın genlerden olan *NDM*, *VIM* ve *KPC* gen bölgeleri için PCR analizleri gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektoroforezi sonucu 621 bp büyüklüğündeki ürünler *NDM*, 390 bp büyüklüğündeki ürünler *VIM* ve 893 bp büyüklüğündeki ürünler *KPC* direnç gen varlığına yorumlandı (Şekil 2). PCR analizleri sonrası *VIM* pozitifliği %42,9, *NDM* pozitifliği %21,2 ve *KPC* pozitifliği %21,1 saptandı (Tablo 46).



Şekil 2. *NDM* (A), *VIM* (B) ve *KPC* (C) gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi. PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, S1-S2: Saha suşu, M: DNA ladder (GeneRuler 1 kb Plus DNA ladder, SM1331, Thermo Fisher Sci. (A), GeneRuler 1 kb Plus DNA ladder, SM1331, Thermo Fisher Sci. (B) ve HyperLadder 1 kb DNA ladder, BIO-33053, Bioline (C)).

NDM direnç gen pozitifliği *S. marcescens* izolatları arasında %80, *Klebsiella* spp. izolatları arasında %33,3 ve *A. baumannii/haemolyticus* izolatları arasında %11,8 saptanırken, *E. coli*, *S. maltophilia* ve *P. aeruginosa* izolatları arasında *NDM* gen pozitifliği saptanmadı (Tablo 46).

VIM direnç gen pozitifliği *S. maltophilia* izolatları arasında %100 iken, *E. coli*, *S. marcescens* ve *P. aeruginosa* izolatları arasında *VIM* pozitifliği saptanmadı. *VIM* pozitifliği *A. baumannii/ haemolyticus* ve *Klebsiella* spp. izolatları için ise sırasıyla %88,2 ve %7,1 olarak belirlendi (Tablo 46).

KPC direnç gen pozitifliği *Klebsiella* spp. izolatları arasında %23,1 ve *E. coli* izolatları arasında %16,7 saptandı. *KPC* pozitifliği *A. baumannii/ haemolyticus*, *S. marcescens*, *S. maltophilia* ve *P. aeruginosa* izolatlarında saptanmadı (Tablo 46).

Tablo 46. NDM, VIM ve KPC-PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	Genler								
	NDM			VIM			KPC		
	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam
<i>A. baumannii/ haemolyticus</i>	2 (%11,8)	15 (%88,2)	17	15 (%88,2)	2 (%11,8)	17			
<i>Klebsiella spp.</i>	5 (%33,3)	10 (%66,7)	15	1 (%7,1)	13 (%92,9)	14	3 (%23,1)	10 (%76,9)	13
<i>E. coli</i>	0 (%0)	6 (%100)	6	0 (%0)	5 (%100)	5	1 (%16,7)	5 (%83,3)	6
<i>S. marcescens</i>	4 (%80)	1 (%20)	5	0 (%0)	5 (%100)	5			
<i>S. maltophilia</i>	0 (%0)	6 (%100)	6	5 (%100)	0 (%0)	5			
<i>P. aeruginosa</i>	0 (%0)	3 (%100)	3	0 (%0)	3 (%100)	3			
Toplam	11 (%21,2)	41 (%78,8)	52	21 (%42,9)	28 (%57,1)	49	4 (%21,1)	15 (%78,9)	19

Yapılan çalışmada, β -laktam antibiyotiklere dirençli olan 5 *S. marcescens* izolatının 4'ünde *NDM* pozitifliği saptandı. GSBL pozitif olan 2 *S. marcescens* izolatının 1'inde *NDM* pozitifliği belirlendi. İzolatlar arasında *VIM* gen pozitifliği saptanmadı. *S. marcescens* izolatları *KPC* gen pozitifliği yönünden analiz edilmedi (Tablo 47).

Bu çalışmada, 6 *S. maltophilia* izolatının 5'inde *VIM* pozitifliği belirlendi. Bu 5 izolattan 3'ünün seftazidime dirençli olduğu görüldü. İzolatlar arasında *NDM* gen bölgesi için pozitiflik saptanmazken, *KPC* gen bölgesi için analiz yapılmadı. İzolatların karbapenem antimikrobiyal duyarlılık/dirençlilik testi yapılmadı (Tablo 47).

Çalışmada, 3 *P. aeruginosa* izolatının hiçbirinde *NDM* ve *VIM* pozitifliği görülmedi. *KPC* gen bölgesi için çalışma yapılmadı (Tablo 47).

Bu çalışmada, ayrıca 15 *Klebsiella* spp. izolatının 5'inde *NDM*, 1'inde *VIM*, 3'ünde *KPC* gen pozitifliği saptandı. İzolatlar arasında karbapenem grubu antibiyotiklere yaygın direnç görüldü. *NDM* pozitif 5 izolatın 4'ünde karbapenem direnci görüldü. *VIM* pozitif izolatın ise meropenem duyarlılığı mevcuttu. *KPC* pozitif izolatların ise karbapenemlere dirençli olmadıkları görüldü (Tablo 47).

Tablo 47. NDM, VIM ve KPC PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyotik			GSBL
		NDM	VIM	KPC	S	I	R	
1	<i>S. marcescens</i>	-	-	X	AK, MEM, TZP, IMP, TZP		AMP, FEP, AMC, ETP	+
3	<i>S. marcescens</i>	+	-	X			AK, AMC, AMP, AZT, FEP, ETP, IMP, MEM, TZP	
64	<i>S. marcescens</i>	+	-	X	AK, IMP		AMP, AMC, AZT, FEP, CAZ	+
77	<i>S. marcescens</i>	+	-	X	AK, FEP, IMP		AMP, AMC	
115	<i>S. marcescens</i>	+	-	X			AK, AMC, AMP, AZT, FEP ETP, IMP, MEM, TZP	
9	<i>S. maltophilia</i>	-	+	X	SXT		CAZ	
84	<i>S. maltophilia</i>	-	+	X	SXT		CAZ	
87	<i>S. maltophilia</i>	-	+	X	SXT		CAZ	
120	<i>S. maltophilia</i>	-	+	X	SXT			
123	<i>S. maltophilia</i>	-	+	X	SXT			
124	<i>S. maltophilia</i>	-	X	X		SXT		
94	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	X		IMP, MEM	AK, FEP, CAZ, CIP, TZP	
116	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	X	CAZ, TOB	AZT		
141	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	X	AK, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP		AMP, AMC, FEP	+

* AK: Amikasin, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, TOB: Tobramisin. SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif, X: Yapılmadı olarak gösterilmiştir.

Tablo 47. NDM, VIM ve KPC PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyotik			GSBL
		NDM	VIM	KPC	S	I	R	
5	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	AMC, IMP, TZP	MEM	AMP, AZT, FEP, CAZ	+
8	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-			AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
16	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	X	IMP		AMC, AMP, AZT, FEP, CIP, ETP, MEM, TZP	
23	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-			AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
27	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-		CIP	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, ETP, IMP, MEM, TZP	
29	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	-			AMC, AMP, FEP, CTX, CIP, ETP, IMP, MEM, TZP	
36	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	X	IMP		AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP, MEM, TZP	
38	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	+	TZP		AMC, AMP, FEP	+
58	<i>Klebsiella</i> spp.	+	X	-	IMP, MEM		AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CAZ, CIP, TZP	+
69	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	IMP, TZP		AMC, AMP, FEP	+
70	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	IMP, TZP	CIP	AMC, AMP, FEP	+
80	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	IMP, TZP		AMC, AMP, FEP, ETP	+
122	<i>Klebsiella</i> spp.	-	+	+	MEM	IMP	AMC, AMP, AZT, FEP, CAZ, CIP, ETP, TZP	
132	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	+	MEM, TZP		AMP, FEP, CAZ	+
140	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	AMC, ETP, İMP, MEM, TZP		AMP, FEP, CAZ	+

* AK: Amikasin, AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, İPM: İmipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, TOB: Tobramisin. SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif, X: Yapılmadı olarak gösterilmiştir.

Tablo 47. NDM, VIM ve KPC-PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyoik			MDR
		NDM	VIM	KPC	S	I	R	
25	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	+	X			FEP, CTX, CAZ, CIP, IMP, MEM, TZP	+
35	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
41	<i>Acinetobacter</i> spp.	+	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP	+
42	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
43	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
45	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
50	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
53	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
55	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
57	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
60	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
73	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
75	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+
83	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	X			FEP, CTX, CAZ, IMP, MEM	+

* FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif, X: Yapılmadı olarak gösterilmiştir.

Tablo 47. NDM, VIM ve KPC-PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyoik			MDR
		NDM	VIM	KPC	S	I	R	
92	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			IMP, MEM	-
93	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			IMP, MEM	+
99	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	+	X			IMP, MEM	+
İzolat no	Bakteri	NDM	VIM	KPC	S	I	R	GSBL
11	<i>E. coli</i>	-	-	-	MEM, ETP	TZP	AMC, AMP, FEP, CIP, IMP	+
33	<i>E. coli</i>	-	-	-	IMP, TZP	MEM	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, CIP, ETP	
51	<i>E. coli</i>	-	-	-	ETP, IMP, MEM		AMC, AMP, FEP, CIP, TZP	+
56	<i>E. coli</i>	-	-	-	AMC, MEM, TZP		AMP, FEP, CIP	+
67	<i>E. coli</i>	-	-	X	IMP, TZP	CIP, MEM	AMC, AMP, AZT, FEP, CTX, ETP	
128	<i>E. coli</i>	X	X	-	AMC, CTX, MEM, TZP		AMP, CIP	
133	<i>E. coli</i>	-	X	+			AMC, AMP, FEP, CTX	+

* AMP: Ampisilin, AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AZT: Aztreonam, FEP: Sefepim, CIP: Siprofloksasin, ETP: Ertapenem, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, TZP: Piperasilin/Tazobaktam, SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif, X: Yapılmadı olarak gösterilmiştir.

Çalışmada, 17 *Acinetobacter* spp. izolatının 15'i için en az 1 direnç gen pozitifliği saptandı. İzolatların 15'inde *VIM* ve 2'sinde *NDM* pozitifliği saptandı. İzolatların *KPC* geni yönünden PCR analizi yapılmadı. Fenotipik testler sonucu *Acinetobacter* izolatlarının antibiyotiklere karşı yaygın çoklu ilaç direnci (MDR) geliştirdikleri görüldü (Tablo 47).

Çalışmada, 6 *E. coli* izolatının 1'inde *KPC* gen pozitifliği saptandı. Bu izolatın çalışmada test edilen β -laktam ve sefalosporin grubu antibiyotiklere dirençli olduğu görüldü.

4.5.3. SUL-2 PCR Bulguları

Çalışmada, sülfonamid grubu ilaçlara karşı gelişen dirençten sorumlu yaygın genlerden biri olan *SUL-2* gen bölgesi için PCR analizi gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektorforezi sonucu 489 bp büyüklüğündeki ürünler *SUL-2* direnç gen varlığına yorumlandı (Şekil 3).



Şekil 3. *SUL-2* gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi. S1, S2: Saha suşları, PK: Pozitif kontrol, M: DNA ladder (GeneRuler 100 bp plus DNA ladder, SM0321, Thermo Fisher Sci.)

Tablo 48. *SUL-2*-PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	<i>SUL-2</i>				
	Pozitif	Yüzde (%)	Negatif	Yüzde (%)	Toplam
<i>A. baumannii/ haemolyticus</i>	17	94,4	1	5,6	18
<i>S. maltophilia</i>	0	0	6	100	6
<i>E. coli</i>	3	60	2	40	5
Toplam	20	69	9	31	29

SUL-2 geni için toplam pozitiflik %69 iken, bu oran *A. baumannii*/*haemolyticus* izolatları için %94,4 ve *E. coli* izolatları için %60 oranında saptandı. *S. maltophilia* izolatları arasında *SUL-2* pozitifliği saptanmadı (Tablo 48).

Tablo 49. *SUL-2* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği	Antibiyotik			Direnç türü
		<i>SUL-2</i>	S	I	R	
25	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
35	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
43	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
45	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
50	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
53	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
55	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
57	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
60	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
73	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
75	<i>Acinetobacter</i> spp.	-			SXT	MDR (+)
76	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
81	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
82	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
83	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
89	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
92	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	
99	<i>Acinetobacter</i> spp.	+			SXT	MDR (+)
9	<i>S. maltophilia</i>	-	SXT			
84	<i>S. maltophilia</i>	-	SXT			
87	<i>S. maltophilia</i>	-	SXT			
120	<i>S. maltophilia</i>	-	SXT			
123	<i>S. maltophilia</i>	-	SXT			
124	<i>S. maltophilia</i>	-		SXT		

* SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Tablo 49. *SUL-2* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği	Antibiyotik			Direnç türü
		<i>SUL-2</i>	S	I	R	
11	<i>E. coli</i>	+			SXT	GSBL (+)
33	<i>E. coli</i>	+			SXT	
51	<i>E. coli</i>	-			SXT	GSBL (+)
56	<i>E. coli</i>	+			SXT	GSBL (+)
128	<i>E. coli</i>	-			SXT	

* SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

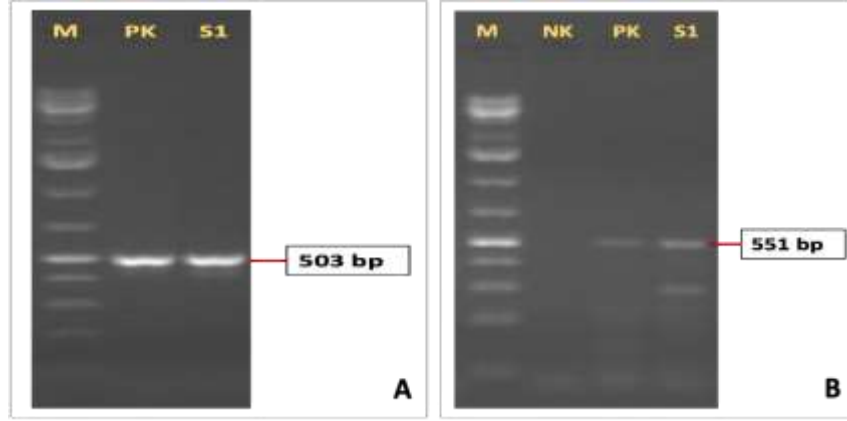
Çalışmada, 18 *Acinetobacter* spp. izolatının 17'sinde *SUL-2* direnç gen pozitifliği saptandı. İzolatlar arasında yaygın çoklu ilaç direnci (MDR) saptandı. İzolatların sülfonamid bileşiği olan trimetoprim/sülfametoksazole dirençli oldukları görüldü (Tablo 49).

Çalışmada, *SUL-2* pozitif olan 6 *S. maltophilia* izolatının 5'inin sülfonamid bileşiği olan trimetoprim/sülfametoksazole duyarlı olduğu saptandı (Tablo 49).

Yine bu çalışmada, 5 *E. coli* izolatının 3'ünde *SUL-2* direnç gen pozitifliği saptandı. Bu 4 izolatın tamamı sülfonamid bileşiği olan trimetoprim/sülfametoksazole dirençli bulundu (Tablo 49).

4.5.4. AaDA25 ve AaDB-PCR Bulguları

Çalışmada, aminoglikozid grubu ilaçlara karşı gelişen dirençten sorumlu olan yaygın genlerden olan *AaDA25* ve *AaDB* gen bölgeleri için PCR analizleri gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektroforezi sonucu 503 bp büyüklüğündeki ürünler *AaDA25* ve 551 bp büyüklüğündeki ürünler *AaDB* direnç gen varlığı olarak yorumlandı (Şekil 4).



Şekil 4. *AaDA25* (A) ve *AaDB* (B) gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi. S1: Saha suşu, PK: Pozitif kontrol, M: DNA ladder (GeneRuler 1 kb Plus DNA ladder, SM1331, Thermo Fisher Sci.).

Çalışma kapsamında, *AaDA25* gen pozitifliği %34,5 oranında saptanırken, bu oran *AaDB* için %24,1 olarak bulunmuştur. *AaDA25* gen pozitifliği *Klebsiella* spp. için %60, *E. coli* için %50 ve *P. aeruginosa* için %33,3 olarak saptandı. *Enterococcus* izolatları arasında *AaDA25* gen pozitifliği saptanmadı (Tablo 50). *AaDB* gen pozitifliği *Klebsiella* spp. için %60 ve *Enterococcus* spp. için %10 olarak saptanırken, *E. coli* ve *P. aeruginosa* izolatları arasında *AaDB* gen pozitifliğine rastlanılmadı (Tablo 50).

Tablo 50. *AaDA25* ve *AaDB*-PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	Genler					
	<i>AaDA25</i>			<i>AaDB</i>		
	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam
<i>Enterococcus</i> spp.	0 (%0)	10 (%100)	10	1 (%10)	9 (%90)	10
<i>Klebsiella</i> spp.	6 (%60)	4 (%40)	10	6 (%60)	4 (%40)	10
<i>E. coli</i>	3 (%50)	3 (%50)	6	0 (%0)	6 (%100)	6
<i>P. aeruginosa</i>	1 (%33,3)	2 (%66,7)	3	0 (%0)	3 (%100)	3
Toplam	10 (%34,5)	18 (%65,5)	29	7 (%24,1)	21 (%75,9)	29

Çalışmada, 10 *Klebsiella* spp. izolatının 7'sinde en az bir gen (*AaDA25* ve *AaDB*) pozitifliği saptandı. Bu izolatların 6'sında *AaDA25* ve 6'sında *AaDB* pozitifliği tespit edildi. İzolatlar arasında aminoglikozid grubu antibiyotiklere yaygın direnç saptandı. *AaDA25* pozitif 6 izolatın 3'ü amikasin, gentamisin ve tobramisine dirençli iken, 1'i gentamisin ve tobramisine dirençli, diğeri ise gentamisin ve tobramisine duyarlıydı. *AaDB* pozitif 6 izolatın ise 3'ü amikasin, gentamisin ve tobramisine dirençli iken, 2'si amikasına duyarlı, gentamisin ve tobramisine dirençli bulunurken diğeri izolat ise amikasin ve tobramisine dirençli iken gentamisine duyarlı saptandı (Tablo 51).

Çalışmada, 6 *E. coli* izolatının 3'ünde *AaDA25* pozitifliği saptanırken, *AaDB* pozitifliği saptanmadı. *AaDA25* pozitif 3 izolatın 1'i amikasin, gentamisin ve tobramisine dirençli iken, 1 izolat amikasına duyarlı, gentamisine orta derecede duyarlı ve tobramisine dirençli bulundu. Diğeri izolat ise gentamisin ve tobramisine dirençli, amikasına duyarlı bulundu (Tablo 51).

Çalışmada, 3 *P. aeruginosa* izolatının 1'inde *AaDA25* pozitifliği saptanırken, *AaDB* pozitifliği saptanmadı. *AaDB* pozitif olan izolat tobramisine duyarlı idi (Tablo 51).

Çalışmada, 10 *Enterococcus* izolatının 1'inde *AaDB* pozitifliği saptanırken, *AaDA25* pozitifliği saptanmadı (Tablo 51).

Tablo 51. *AaDA25* ve *AaDB* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği		Antibiyotik			Direnç türü
		<i>AaDA25</i>	<i>AaDB</i>	S	I	R	
7	<i>Klebsiella</i> spp.	+	-	CN, TOB			
8	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	CN		AK, TOB	
16	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-			AK, CN, TOB	
23	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-			AK, CN, TOB	
27	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+			AK, CN, TOB	
29	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+			AK, CN, TOB	
36	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+			AK, CN, TOB	
38	<i>Klebsiella</i> spp.	-	+	AK		CN, TOB	GSBL (+)
80	<i>Klebsiella</i> spp.	+	+	AK		CN, TOB	GSBL (+)
122	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-			AK, CN, TOB	
11	<i>E. coli</i>	+	-	AK		CN, TOB	GSBL (+)
30	<i>E. coli</i>	-	-	CN	AK, TOB		
33	<i>E. coli</i>	+	-			AK, CN, TOB	
51	<i>E. coli</i>	+	-	AK	CN	TOB	GSBL (+)
56	<i>E. coli</i>	-	-	CN, TOB			GSBL (+)
67	<i>E. coli</i>	-	-			AK, CN, TOB	
94	<i>P. aeruginosa</i>	-	-			AK, CN, TOB	
116	<i>P. aeruginosa</i>	+	-	TOB			
141	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	AK, CN			GSBL (+)

* AK: Amikasin, CN: Gentamisin, TOB: Tobramisin, GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, MDR: Çoklu İlaç Direnci, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

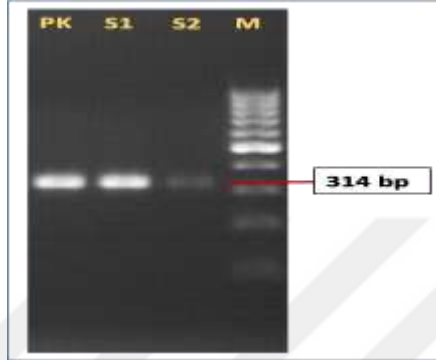
Tablo 51. *AaDA25* ve *AaDB* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolot no	İzolot türü	PCR pozitifliği		Antibiyotik			Direnç türü
		<i>AaDA25</i>	<i>AaDB</i>	S	I	R	
28	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	AMP, CN- Syn		CN	
59	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	AMP, CIP, CN- Syn, TEC, VA		CN, P	
74	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	CN-Syn, AMP		P	
102	<i>Enterococcus</i> spp.	-	+	CN-Syn, AMP		P	
114	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	CN-Syn	AMP, CIP	P, TEC, VA	VRE (+)
78	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-			CN-Syn, AMP, CIP, P, TEC, VA	VRE (+)
85	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
103	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
112	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
143	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	

* AMP: Ampisilin, CIP: Siprofloksasin, CN: Gentamisin, CN-Syn: Gentamisin-Sinerji, P: Penisilin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, VRE: Vankomisine Dirençli Enterokok, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

4.5.5. MecA-PCR Bulguları

Çalışmada, metisilin direncinden sorumlu olan yaygın gen bölgelerinden *MecA* gen bölgesi için PCR analizi gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektoroforezi sonucu 314 bp büyüklüğündeki ürünler *MecA* direnç gen varlığına yorumlandı (Şekil 5).



Şekil 5. *MecA* gen spesifik PCR ürünlerinin elektroforezi. S1, S2: Saha suşları, PK: Pozitif kontrol, M: DNA ladder (GeneRuler 100 bp DNA ladder, SM0241, Thermo Fisher Sci.).

Tablo 52. *MecA*-PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	<i>MecA</i>				
	Pozitif	Yüzde (%)	Negatif	Yüzde (%)	Toplam
KNS	26	92,9	2	7,1	28
<i>S. aureus</i>	2	40	3	60	5
<i>Enterococcus</i> spp.	0	0	10	100	10
Toplam	28	65,1	15	34,9	43

Çalışmada, izolatlar arasında *MecA* gen pozitifliği %65,1 olarak saptandı. *MecA* pozitifliği KNS izolatları arasında %92,9 ve *S. aureus* izolatları arasında %40 olarak saptanırken, *Enterococcus* izolatları arasında *MecA* pozitifliği saptanmadı (Tablo 52).

Çalışmada, 28 KNS izolatının 26'sında *MecA* saptandı. Bu izolatların tamamı amoksisilin-klavulanat, ampicilin, oksasilin ve penisiline dirençli teikoplanin ve vankomisine duyarlı bulundu (Tablo 53).

Çalışmada, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) olarak belirlenen 2 izolatta *MecA* gen pozitifliği saptandı (Tablo 53).

Tablo 53. *MecA* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği	Antibiyotik			Direnç türü
		<i>MecA</i>	S	I	R	
17	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
24	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
34	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
46	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
47	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
48	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
52	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
61	KNS	+	VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
62	KNS	+	CIP, TEC, VA		AMC, AMP, OX, P	
90	KNS	+	VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
97	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
101	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
39	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
63	KNS	+			AMC, AMP, CIP, OX, P	
96	KNS	-			AMP, CIP, OX, P	
98	KNS	-	TEC, VA		AMP, P	

* AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AMP: Ampisilin, CIP: Siprofloksasin, OX: Oksasilin, P: Penisilin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Tablo 53. *MecA* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği	Antibiyotik			Direnç türü
		<i>MecA</i>	S	I	R	
14	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
106	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
107	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
108	KNS	+	VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
110	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
111	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
118	KNS	+	VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
121	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
126	KNS	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
131	KNS	+	TEC, VA	CIP	AMC, AMP, OX, P	
138	KNS	+	TEC, VA		AMP, CIP, OX, P	
139	KNS	+	TEC, VA	CIP	AMC, AMP, OX, P	
91	<i>S. aureus</i>	+	TEC, VA		AMC, AMP, OX, P	MRSA(+)
117	<i>S. aureus</i>	+		CIP	AMC, AMP, OX, P	MRSA(+)
127	<i>S. aureus</i>	-	AMC	CIP	AMP, P	
137	<i>S. aureus</i>	-				
142	<i>S. aureus</i>	-	AMP, P			

* AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AMP: Ampisilin, CIP: Siprofloksasin, OX: Oksasilin, P: Penisilin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, MRSA: Metsilin Dirençli *S. aureus*, S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Tablo 53. *MecA* gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları (Devamı)

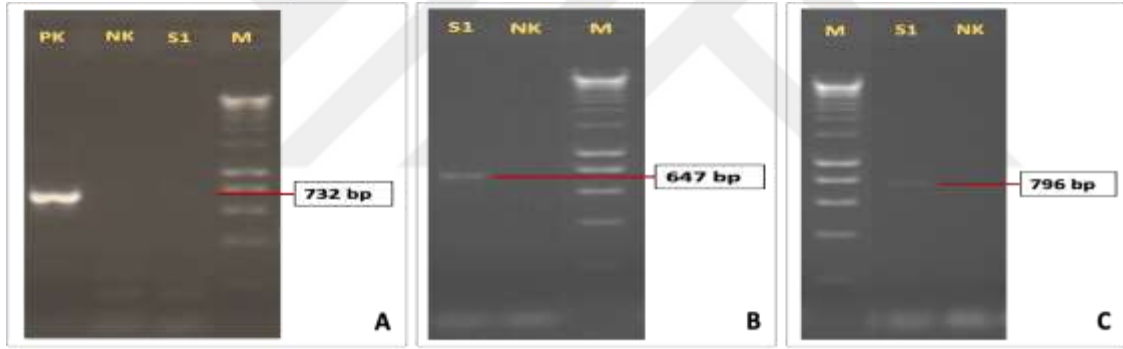
İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği	Antibiyotik			Direnç türü
		<i>MecA</i>	S	I	R	
28	<i>Enterococcus</i> spp.	-	AMP, CN- Syn		CN	
59	<i>Enterococcus</i> spp.	-	AMP, CIP, CN- Syn, TEC, VA		CN, P	
74	<i>Enterococcus</i> spp.	-	CN-Syn, AMP		P	
102	<i>Enterococcus</i> spp.	-	CN-Syn, AMP		P	
114	<i>Enterococcus</i> spp.	-	CN-Syn	AMP, CIP	P, TEC, VA	VRE (+)
78	<i>Enterococcus</i> spp.	-			CN-Syn, AMP, CIP, P, TEC, VA	VRE (+)
85	<i>Enterococcus</i> spp.	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
103	<i>Enterococcus</i> spp.	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
112	<i>Enterococcus</i> spp.	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	
143	<i>Enterococcus</i> spp.	-	TEC, VA		CN-Syn, AMP, CIP, P	

* CN: Gentamisin, CN-Syn: Gentamisin-Sinerji, AMP: Ampisilin, CIP: Siprofloksasin, P: Penisilin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE), S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

Çalışmada, 10 *Enterococcus* izolatının hiçbirinde *MecA* gen pozitifliği saptanmadı. Bu izolatların 9'u penisiline, 5'i siprofloksasine ve 4'ü ise ampisiline dirençli saptandı. Diğer taraftan 2 *Enterococcus* izolatının teikoplanin ve vankomisine dirençli olduğu belirlendi (Tablo 53).

4.5.6. VanA, VanB ve VanC-PCR Bulguları

Çalışmada, glikopeptid grubu ilaçlara karşı gelişen dirençten sorumlu olan yaygın gen bölgelerinden *vanA*, *vanB* ve *vanC* gen bölgeleri için PCR analizleri gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jelde elektorforezi sonucu 732 bp büyüklüğündeki ürünler *vanA*, 647 bp büyüklüğündeki ürünler *vanB* ve 796 bp büyüklüğündeki ürünler *vanC* direnç gen varlığı olarak yorumlandı (Şekil 6).



Şekil 6. *VanA* (A), *vanB* (B) ve *vanC* (C) gen spesifik PCR ürünlerinin elektorezi. S1: Saha suşu, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol M: DNA ladder (HyperLadder 1 kb DNA ladder, BIO-33053, Bioline).

Çalışmada, *vanA* gen pozitifliği %37,5, *vanB* ve *vanC* gen pozitifliği %6,3 olarak saptandı (Tablo 54).

VanA, yalnızca 1 KNS izolatı için analiz edildi ve pozitif (%100) olarak saptandı. *VanA* pozitifliği *S. aureus* izolatları için %40 ve *Enterococcus* izolatları için %30 oranında saptandı (Tablo 54).

VanB, *S. aureus* izolatlarının %20'sinde saptanırken, *Enterococcus* spp. ve KNS izolatları için pozitiflik saptanmadı (Tablo 54).

VanC, yalnızca 1 KNS izolatı için analiz edildi ve pozitif (%100) olarak saptandı. *S. aureus* ve *Enterococcus* izolatları arasında *vanC* pozitifliği saptanmadı (Tablo 54).

Tablo 54. VanA, vanB ve vanC-PCR bulgularına göre gen dağılımı

İzolat adı	Genler								
	<i>vanA</i>			<i>vanB</i>			<i>vanC</i>		
	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam	Pozitif	Negatif	Toplam
<i>S. aureus</i>	2 (%40)	3 (%60)	5	1 (%20)	4 (%80)	5	0 (%0)	5 (%100)	5
<i>Enterococcus</i> spp.	3 (%30)	7 (%70)	10	0 (%0)	10 (%100)	10	0 (%0)	10 (%100)	10
KNS	1 (%100)	0 (%0)	1	0 (%0)	1 (%100)	1	1 (%100)	0 (%0)	1
Toplam	6 (%37,5)	10 (%62,5)	16	1 (%6,3)	15 (%93,8)	16	1 (%6,3)	15 (%93,8)	16

Çalışmada, 10 *Enterococcus* izolatının 3'ünde ve VRE olarak tanımlanan 2 *Enterococcus* izolatının 1'inde *vanA* saptandı. *VanA* pozitif 2 izolat penisiline dirençli iken diğer izolat, ampisilin, siprofloksasin, penisilin, teikoplanin ve vankomisine dirençliydi. *Enterococcus* izolatlarında *vanB* ve *vanC* pozitifliği ise saptanmadı (Tablo 55).

VanA ve *vanC* pozitif olan KNS izolatının, ampisilin, siprofloksasin, oksasilin ve penisiline dirençli olduğu, teikoplanin ve vankomisine ise duyarlı olduğu belirlendi (Tablo 55).

Çalışmada, MRSA olarak tanımlanan 2 *S. aureus* izolatın birinin *vanA*, diğerinin ise *vanB* tespit edildi. Bu izolatların amoksisilin-klavulanat, ampisilin, oksasilin ve penisiline dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 55).

Tablo 55. VanA, vanB ve vanC-PCR gen pozitifliği olan izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

İzolat no	Bakteri	PCR pozitifliği			Antibiyotik			Direnç türü
		vanA	vanB	vanC	S	I	R	
39	KNS	+	-	+	TEC, VA		AMC, AMP, CIP, OX, P	
91	<i>S. aureus</i>	-	+	-	TEC, VA		AMC, AMP, OX, P	MRSA(+)
117	<i>S. aureus</i>	+	-	-		CIP	AMC, AMP, OX, P	MRSA(+)
127	<i>S. aureus</i>	-	-	-	AMC	CIP	AMP, P	
137	<i>S. aureus</i>	-	-	-		CIP	AMC, AMP, P	
142	<i>S. aureus</i>	-	-	-	AMP, P			
28	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	AMP			
59	<i>Enterococcus</i> spp.	+	-	-	AMP, CIP, TEC, VA		P	
74	<i>Enterococcus</i> spp.	+	-	-	AMP		P	
102	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	AMP		P	
114	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-		AMP, CIP	P, TEC, VA	VRE (+)
78	<i>Enterococcus</i> spp.	+	-	-			AMP, CIP, P, TEC, VA	VRE (+)
85	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	TEC, VA		AMP, CIP, P	
103	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	TEC, VA		AMP, CIP, P	
112	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	TEC, VA		AMP, CIP, P	
143	<i>Enterococcus</i> spp.	-	-	-	TEC, VA		AMP, CIP, P	

* AMC: Amoksisilin-Klavulanat, AMP: Ampisilin, CIP: Siprofloksasin, OX: Oksasilin, P: Penisilin, TEC: Teikoplanin, VA: Vankomisin, MRSA: Metsilin dirençli *S. aureus*, Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE), S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

4.5.7. *ERG11*, *FUR1* ve *FKS1* Genleri için PCR Sonuçları

Çalışmada, antifungal ilaçlara karşı gelişen dirençten sorumlu olan yaygın gen bölgelerinden *FUR1*, *ERG11* ve *FKS1* gen bölgeleri için PCR analizleri gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin %1,5'lik agaroz jel elektroforezi sonucu 245 ve 193 bp'lik amplifiye ürünlerin varlığı *ERG11* pozitifliğine, 340 bp'lik ürünlerin varlığı *FUR1* pozitifliğine ve 450 bp'lik ürünlerin varlığı *FKS1* pozitifliğine yorumlandı (DNA bant görüntüsü verilmemiştir).

PCR analizi sonucu 8 *C. albicans* izolatının 7'sinde en az bir direnç geni saptandı. İzolatlar arasında *FUR1* pozitifliği %75, *ERG11* pozitifliği %62,5 ve *FKS1* pozitifliği %50 olarak saptandı (Tablo 56).

FKS1 geni saptanan 4 izolattan 3'ü flukonazol ve vorikonazole dirençli ve kaspofungin ve amfoterisin B'ye duyarlı saptandı. Diğer izolat ise antifungallere duyarlı bulundu (Tablo 56).

FUR1 geni saptanan 6 izolattan 3'ü flukonazol ve vorikonazole dirençli iken, kaspofungin ve amfoterisin B'ye duyarlı saptandı. Diğer 3 izolatın 2'si flukonazol ve vorikonazole duyarlı iken, birinin ise kaspofungine orta derecede duyarlı olduğu belirlendi. *ERG11* gen pozitifliği bulunan 5 izolattan 4'ünün flukonazol ve vorikonazole dirençli, kaspofungin ve amfoterisin B'ye duyarlı oldukları saptanırken, diğer izolatın bu antifungallere duyarlı olduğu belirlendi (Tablo 56).

Tablo 56. FUR1, ERG11 ve FKS1-PCR gen bölgeleri sonuçları ve izolatların antibiyotik duyarlılıkları

İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği			Antifungal			
		FUR1	ERG11	FKS1	Flukonazol	Vorikonazol	Kaspofungin	Amfoterisin B
1C	<i>C. albicans</i>	+	-	-	S	S	S	S
2C	<i>C. albicans</i>	-	+	+	R	R	S	S
3C	<i>C. albicans</i>	+	+	-	R	R	S	S
5C	<i>C. albicans</i>	-	-	-	S	S	S	S
6C	<i>C. albicans</i>	+	-	-	S	S	I	S
7C	<i>C. albicans</i>	+	+	+	S	S	S	S
8C	<i>C. albicans</i>	+	+	+	R	R	S	S
9C	<i>C. albicans</i>	+	+	+	R	R	S	S
Toplam (n=8)	Pozitif	6 (%75)	5 (%62,5)	4 (%50)	S= 4 (%50)	S= 4 (%50)	S= 7 (%87,5)	S= 8 (%100)
	Negatif	2 (%25)	3(%37,5)	4 (%50)	R= 4 (%50)	R= 4 (%50)	R= 4 (%0)	R= 4 (%0)

* S: Duyarlı, I: Orta Derecede Duyarlı, R: Dirençli, (+): Pozitif, (-): Negatif olarak gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İnsanlar yenidoğan döneminde, enfeksiyöz hastalıklara oldukça yatkındır. Yenidoğan enfeksiyonları, bebeklerde oldukça yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Son yıllardaki gelişmelerle birlikte YYBÜ'lerinde prematüre bebeklerin yaşam sürelerinin uzaması, hasta sayısı ve kapasitesinin artması, özellikle bakım ilişkili yenidoğan enfeksiyonlarında artışa yol açmıştır. Ancak, son dönemlerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla birlikte Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde gelişen çoklu ilaç dirençleri tedavilerde büyük sorunlar doğurmaktadır (Özkan 2010, Karacanoğlu 2016, Satar ve ark. 2018).

Bu çalışma ile 2020-2022 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinde sepsis belirtileri ile yatan hastalardan rutin tanı için alınan örneklerden bakteriyel ve fungal etken izolasyonu, izole edilen etkenlerin tanımlanması, antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi ve olası direnç genlerinin moleküler analizinin yapılarak sonuçların değerlendirilmesi amaçlandı.

Yenidoğan enfeksiyonlarına yol açan etkenlerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesinde konvansiyonel yöntemlerin uygulanabilirliği ve belirli standartlarının olması tüm dünyada bu yöntemlere yaygın kullanım alanı sağlamıştır. Ancak, tanısal üstünlükleri ve uygulama kolaylıkları gibi avantajları nedeniyle otomatize sistemler ve PCR temelli teşhis yöntemleri son yıllarda daha çok tercih edilmeye başlanmıştır (Tekin 2014). En çok tercih edilen otomatize sistemler arasında MicroScan WalkAway, Phoenix, Vitek ve Sensititre başta gelmektedir. MicroScan WalkAway sisteminde bir gecelik inkübasyona ihtiyaç duyan ya da daha hızlı identifikasyon-antibiyotik duyarlılık sonucu veren paneller bulunmaktadır (Snyder ve ark. 2008, Reller ve ark. 2009, Hasdemir 2013). Bu otomatize sistemlerinin avantajları kısa zamanda tanımlama yapması ve duyarlılık testlerini tamamlayarak erken ve doğru tedaviye imkân sağlamalarıdır. Testlerin kolay tekrarlanabilirliği sayesinde iş yükünü büyük oranda azaltmaları bir başka avantajlarıdır. Fakat bu sistemlerin pahalı olması ve manuel olarak inokülüm hazırlığı gibi ön işlem aşamalarının olması kontaminasyona ve yanlış sonuçların elde

edilmesine neden olabilmektedir. Ayrıca bu otomatize sistemlerin metsilin, GSBL, karbapenemaz direnci gibi çoklu ilaç direnci aktivitelerinin belirlenmesindeki yeri referans metod olmamaları dolayısıyla ayrı bir tartışma konusudur (Hasdemir 2013). Çalışmamızda *in vitro* kültüre edilen örneklerden izole edilen bakteriyel etkenlerin tanımlanması ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için Siemens MicroScan WalkAway 96 plus otomatize sistemi kullanıldı. McGregor ve ark. (1995) tarafından yapılan çalışmada MicroScan sonuçları, CLSI yönergelerine uygun olarak geleneksel biyokimyasal tanımlama ve antibiyotik mikrodilüsyon testi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. MicroScan ve referans tanımlamaları, Gram negatif organizmaların %93'ü için uyumlu iken, Gram pozitif organizmalar için bu uyum %90 şeklinde tespit edilmiştir.

Yenidoğanlarda enfeksiyonlardan sorumlu olan etkenler 1950-1980 yılları arasında *S. aureus*, *E. coli* ve Grup B Streptokoklar iken son yıllarda Gram negatif bakteriler ve koagülaz negatif stafilocoklar en sık saptanan patojenler olmaya başlamıştır (Annagür ve Örs 2013). Erken sepsiste en sık karşılaşılan etkenler Grup B Streptokoklar ve *E. coli* olmakla birlikte, *Klebsiella* spp. ve stafilocoklar da sıklıkla rastlanılan etkenlerdir. Şüpheli sepsiste en sık rastlanılan etken KNS özellikle de *S. epidermidis* iken, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* türleri de bildirilmektedir. Geç sepsiste ise daha çok *Candida* türleri, KNS ve *S. aureus* bakterileri bildirilmiştir (Cengiz 2009, Sağlam ve ark. 2015, Gülaşı ve Çelik 2016, Satar ve ark. 2018).

Kavuncuoğlu ve ark. (2011), İstanbul ilinde yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 4250 örnek incelemiş ve kan, BOS, idrar kültürü örnekleri için kültür pozitifliğini sırasıyla %8,8, %7,3 ve %0,14 olarak belirlemişlerdir. Bu örneklerde en sık KNS olmak üzere, *S. aureus*, GBS ve *K. pneumoniae* saptanmıştır. Yapılan bu tez çalışmasında, bakteri kültür pozitifliği kulak örneğinde %100, burun örneğinde %100, parasentezde %50, apsede %33,33, kateter örneklerinde %28,57, idrarda %12,03, kanda %10,05, BOS'da %4,28 ve TPN'de %3,7 olarak saptandı. Aynı çalışmada fungal etkenler yönünden kateter, idrar, BOS, kan örneklerinde kültür pozitifliği %1,78, %1,5, %1,43, %0,62 olarak belirlendi. Bu iki çalışmada kan ve BOS kültür pozitifliği arasında paralellik

belirlenirken, idrar örneklerindeki kültür pozitifliği değişkenlik göstermiştir. Bu durum birçok nedenle ilişkilendirilebilse de, anneye ait flora, kolonizasyon oranları, uygulanan tedavi protokolü ve üniteler arası etken profillerinin değişimiyle ilintili olabileceğini düşündürdü (Sağlam ve ark. 2015). Bununla birlikte tez çalışmasında, apse, parasentez ve kulak kültürünün pozitiflik oranlarının yüksek olması örnek sayısının çok az olmasından dolayı anlamlandırılmamıştır.

Sağlam ve ark. (2015), Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerindeki hastalardan alınan 6116 kan örneğinin %5,2'sinden bakteri izole etmişler ve izolatların %78,7'sinden Gram pozitif bakterileri ve %18,4'sinden de Gram negatif bakterileri izole etmişlerdir. En sık tanımlanan mikroorganizma %70,8 ile KNS olurken, Gram pozitif bakterilerin %4,4'ünde *S. aureus* saptanmıştır. Gram negatif bakterilerden *E. coli* ve *K. pneumoniae* ise eşit oranda (%6,7) saptanmıştır. %0,3 ile *H. influenzae* ve %2,5 *Candida* spp. pozitifliği de elde edilmiştir.

Tanrıverdi Çaycı ve ark. (2017), Samsun yöresinde 297 örneği değerlendirdikleri bir çalışmada kültür pozitifliğini kan örnekleri için %38, trakeal aspirat örnekleri için %18,5, konjunktival örnekler için %16,2, idrar örnekleri için %10,4, BOS için %8, yara örnekleri için %4, kateter örnekleri için %3 ve steril vücut sıvısı örnekleri için %1,7 oranında saptanmıştır. Çalışmada tanımlanan en yaygın etken %28,6 ile *K. pneumoniae* olurken, *Enterobacteriaceae* %67,7, *Acinetobacter* spp. % 23,9, *S. maltophilia* %4,4, *P. aeruginosa* %3,8 ve *H. influenzae* %0,34 oranında tespit edilmiştir.

Benzer bir çalışmada, Kaynak Türkmen ve ark. (2010) erken neonatal sepsiste %58,82 ile KNS ve %17,64 ile *S. aureus*, geç neonatal sepsiste ise %37,5 KNS'den sonra %18,75 ile *Candida* spp.'nin en sık saptanan mikroorganizmalar olduğunu bildirilmişlerdir. Tanımlanan diğer etkenleri ise %8,16 *Acinetobacter* spp., %8,16 *Enterobacter* spp., %4,08 *E. coli*, %4,08 *Klebsiella* spp., %4,08 *Pseudomonas* spp., %4,08 *Enterococcus* spp., ve %2,04 *Serratia* spp. olarak bildirmişlerdir.

Bu çalışmada incelenen 940 örneğin 105'inde bakteri ve 8'inde fungal etken yönünden izolasyonu yapıldı. İzole edilen etkenlerin, 28 (%24,78)'i KNS, 22

(%19,47)'si *A. baumannii/ haemolyticus*, 16 (%14,16)'sı *Klebsiella* spp., 10 (%8,85)'u *E. coli*, 10 (%8,85)'u *Enterococcus* spp., 8 (%7,08)'i *C. albicans*, 6 (%5,31)'sı *S. maltophilia*, 5 (%4,42)'i *S. marcescens*, 5 (%4,42)'i *S. aureus* ve 3 (%2,65)'ü *P. aeruginosa* olarak tanımlandı.

Olukman ve ark. (2009) VITEK-2 otomatize sistem kullanarak yaptıkları bir çalışmada en sık izole edilen etkenleri %20'lik oranla *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Candida* türleri olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında, Gram negatif bakteriyel etkenlerin oranını %44, Gram pozitiflerin oranını ise %36 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada Gram negatif bakteriler %54,87, Gram pozitifler %38,05, *Candida* spp. ise %7,08 oranında saptandı. En sık tespit edilen bakteriler olarak ilk sırada KNS, ikinci sırada *A. baumannii/ haemolyticus*, üçüncü sırada ise *Klebsiella* izole edilmiştir. Diğer etkenler *E. coli*, *Enterococcus* spp., *C. albicans*, *S. maltophilia*, *S. marcescens*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* olarak belirlendi. Çalışmamız, saptanan türler bakımından diğer çalışmalara benzerlik göstermiştir. Ancak bu çalışma ile belirlenen *Candida* türlerinin oranı Olukman ve ark.'nın (2009) belirlediği orandan düşük kalmıştır. *Candida* türlerinin daha çok geç başlangıçlı nozokomiyal neonatal enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir (Annagür ve Örs 2013, Satar ve ark. 2018). Bu iki çalışma arasındaki farkın, hastane kaynaklı ve bakım ilişkili enfeksiyon oranlarının arasındaki farklılık ile ilintili olabileceği düşünüldü.

Antibiyotik direncinin araştırıldığı bir çalışmada, Tanrıverdi Çaycı ve ark. (2017) yenidoğan ünitesinde yatan hastalardan alınan örneklerle yaptığı çalışmada, *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde ampisilin direncini %96,5 belirlerken, bu bakterilerde en düşük direnci meropenem (%7,5) karşı saptamışlardır. İzolatlarda amikasin direnci %10,5, ertapenem direnci %14,8, imipenem direnci %11,6, seftazidim direnci %41,9, siprofloksasin direnci %15,1 ve trimetoprim/sulfamethoxazol direnci %20,01 olarak saptanmıştır. Çalışmada elde edilen *Acinetobacter* spp. izolatları kolistine tamamen duyarlı iken, en düşük duyarlılık ampisilin-sulbaktam, sefepim ve seftazidime karşı belirlenirken direnç oranı %87,3 olarak belirlenmiştir. İzolatlarda meropenem direnci %84,5, amikasin direnci %77,5, ertapenem direnci %14,8, imipenem direnci %85,7, seftazidim ve

siprofloksasin direnci %84,5, trimethoprim/sulfamethoxazol direnci %5,6 belirlenmiştir. *S. maltophilia* izolatları arasında levofloksasin ve trimetoprim-sulfametaksazol dirençli saptanmazken, seftazidim direnci %71,4 bulunmuştur. *P. aereginosa* izolatlarında amikasin, kolistin ve siprofloksasin duyarlılığı %100 iken, meropenem ve imipenem direnci %45,5 ve sefepim ve seftazidim direnci %27,3 saptanmıştır. Tez çalışmasında *S. maltophilia* izolatlarında levofloksasin ve trimetoprim/sülfametoksazol direnci saptanmazken, izolatların tamamı seftazidime dirençli bulundu. Olukman ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada ise Gram negatif etkenlerde ampisilin ve aminoglikozid direncini %100, sefalosporin direncini %92 olarak saptamışlardı. Çalışmada, *Pseudomonas* İzole edilen 3 hastada yüksek düzey betalaktam ve karbapenem direnci, stafilokoklar arasında %80 oranında metisilin direnci belirlenirken, glikopeptidlere ise duyarlı oldukları bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise metisilin direnci %93,75 olarak belirlendi.

Kaynak Türkmen ve ark.'nın (2010) antibiyotik direncini araştırdığı bir çalışmada, KNS'ler glikopeptidlere %100 duyarlı saptanırken, penisiline %96 ve metisiline %90 dirençli bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarının tamamı glikopeptidlere ve metisiline duyarlı iken, penisiline %71,4 direnç tespit edilmiştir. *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. izolatlarının tamamı piperasiline dirençli, *Klebsiella* spp. suşlarının tamamı karbapenemlere, kinolonlara ve aminoglikozidlere duyarlı bulunmuştur. *Serratia* spp., *E. coli* ve *Enterococcus* spp. suşlarının ise test edilen antibiyotiklere dirençli olmadıkları belirlenmiştir. Tez çalışmamızda ise KNS'ler oksasilin ve penisiline tamamı dirençli iken, linezolid, vankomisin ve teikoplanine KNS'lerin tamamı duyarlı bulundu. *S. aureus* izolatları, penisiline %80, metisiline %40 oranında dirençliyken, linezolid, vankomisin ve teikoplanine izolatların tamamı duyarlı olarak belirlendi. *Enterococcus* spp. izolatlarının tamamının penisiline dirençli olduğu görülürken, ampisilin, siprofloksasine %50 ve teikoplanin ve vankomisine ise %20 dirençli oldukları tespit edildi. *A. baumannii/haemolyticus* izolatları kolistine %9,1 ve trimetoprim/sülfametoksazole %95,5 dirençli iken, test edilen diğer antibiyotiklere %100 dirençli bulundu. *Klebsiella* spp. izolatlarının tamamı ampisilin, aztreonam, sefepime ve seftazidime dirençli iken, imipenem, meropenem ve piperasilin/tazobaktam duyarlılık oranları sırasıyla %75, %68.75 ve %50 olarak belirlendi.

Genişlemiş spektrumlu betalaktamaz üreten enfeksiyon etkenleri, hastanelerde tedavi ve enfeksiyon kontrolü açısından büyük bir sorun haline gelmiştir. Ayrıca karbapenemaz ve sefalosprinazların laboratuvar koşullarında belirlenmesi uzun süren bir süreç sonucunda zaman kaybına ve yanlış sonuçlar elde edilmesine yol açmaktadır. Bu durum tedavinin gecikmesi veya geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımına bağlı direnç gelişimlerini tetikleyebilmektedir. Bu açıdan etkenlerin identifikasyonu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için gelişmiş otomatize sistemler ve PCR temelli yöntemlerin kullanımı daha avantajlı olmaktadır (Drieux ve ark. 2008). Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında kültürel yöntemlerle elde edilen izolatların identifikasyonu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için Siemens MicroScan WalkAway plus 96 otomatize sistemi kullanıldı.

Yine antibiyotik dirençliliğinin araştırıldığı bir çalışmada, Olukman ve ark. (2009), Gram negatif enterik basillerde GSBL pozitifliğini %100 olarak tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise *S. aureus* için %54,5 metisilin direnci saptanırken, *E. coli*'lerin %61,9'unda, *K. pneumoniae*'ların %52,4'ünde GSBL pozitifliği tespit edilmiştir (Sağlam ve ark. 2015). Yalaz ve ark. (2006), metisilin direncini KNS için %92,3 ve *S. aureus* için %72,7 olarak saptamışlardır. Özçerezci ve Savcı (2019) ise toplam 115 GSBL izolatında, GSBL'yi *K. pneumoniae* için %59,1, *E. coli* için %36,5 ve *K. oxytoca* için %4,3 oranında belirlemişlerdir. İzole edilen bakterilerin tamamı amoksisilin-klavulonat, ampisilin, ampisilin-sulbaktam, piperasilin ve bir *K. oxytoca* izolatı hariç sefalosporin grubu antibiyotiklere dirençli iken, izolatların tamamı imipenem ve ertapeneme duyarlı saptanmıştır.

Çoklu ilaç direnci, yenidoğan enfeksiyonları da dahil birçok alanda tedavide güçlükler neden olmaktadır. Stafilokoklarda metisilin direncinin vankomisin duyarlılığını azalttığı bilinmektedir (Avcıoğlu 2020). Yenidoğan enfeksiyonlarının en önemli patojenlerini bu KNS grubu mikroorganizmalar oluşturur. Vankomisin dirençli *S. aureus* suşlarından dolayı hastane enfeksiyonlarında salgın ataklarının olacağı düşünülmektedir. Ayrıca vankomisin dirençli Enterokoklar hastane enfeksiyonlarında önemli bir morbidite ve mortalite sebebi olmuştur (Kacar ve ark. 2022). Gram negatif bakterilerden olan *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *E. coli*,

P. aeruginosa ve *S. marcescens* kaynaklı enfeksiyonlarda GSBL pozitifliği ve karbapenem direnci mortalite ve morbidite oranlarında büyük artışlara neden olmuştur. Bu anlamda *Acinetobacter* spp.'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tigesiklin ve kolistin dışında kullanılacak antibiyotik seçeneğinin kalmadığı görülmektedir (Akman ve Sağıroğlu 2022).

Bu çalışmada, 8'i *Klebsiella* spp., 6'sı *E. coli*, 2'si *S. marcescens* ve 1'i *P. aeruginosa* olmak üzere tanımlanmış 17 izolatta GSBL pozitifliği ve 20 *A. baumannii/ haemolyticus* izolatta ise MDR pozitifliği tespit edildi. *A. baumannii/ haemolyticus* izolatları karbapenemler dahil, penisilin, betalaktam ve sefalosporinlere dirençli olarak bulundu. GSBL pozitif diğer 17 izolat, amoksisilin-klavulonat, ampisilin, sefalosporin grubu antibiyotiklere dirençli piperasilin/tazobaktam ve karbapenemlere genel olarak duyarlı bulundu.

Mevcut çalışmada, MicroScan WalkAway otomatize sistemi tarafından GSBL pozitif belirlenen *Klebsiella* spp, *E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* ve MDR pozitif *A. baumannii/ haemolyticus* izolatlarının %98,04'ünde PCR ile betalaktamaz veya karbapenemaz geni tespit edildi. Ancak MicroScan WalkAway otomatize sistemi ile GSBL negatif bulunan 12 izolatta da PCR yöntemi ile en az 1 direnç geni belirlendi. Aynı şekilde MDR pozitif bulunan 1 izolat için PCR ile direnç geni belirlenemedi. Yine MicroScan WalkAway otomatize sistemi ile sülfonamid bileşiklerine direnci bulunan 22 izolatın %90,91'inde *SUL-2* direnç geni belirlendi. MicroScan WalkAway otomatize sistemi ile Gram negatif bakterilerde (*Klebsiella* spp., *E. coli* ve *P. aeruginosa*) aminoglikozid direnci %93,75 olarak belirlendi. Buna karşın bu izolatlarda PCR yöntemi ile %68,75 oranında direnç geni tespit edildi. MicroScan WalkAway otomatize sistemi ile metisilin direnci belirlenen izolatların %96,55'inde *MecA* direnç geni bulundu. MicroScan WalkAway ile glikopeptid direnci olan 2 *Enterococcus* spp. izolatının birinde *vanA* geni tespit edilirken, glikopeptidlere (vankomisin, teikoplanin) duyarlı olan 1 *Enterococcus* spp. izolatında *vanA* geni belirlendi. Ayrıca metisiline direnci bulunan 3 stafilokok izolatında *vanA*, *vanB* ve *vanC* direnç genlerinden en az biri tespit edildi.

Dünyada ve ülkemizde ilaç direncinin fenotipik olarak belirlenmesine yönelik birçok çalışma olmasına rağmen (Olukman ve ark. 2009, Kaynak Türkmen ve ark.

2010, Kacar ve ark. 2022, Akman ve Sağıroğlu 2022), PCR temelli moleküler yöntemlerle bu ilaç dirençlerini ortaya koyan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Neonatal enfeksiyon etkenlerine dair PCR tabanlı antimikrobiyal direnç çalışmaları yok denecek kadar az sayıdadır. Tekin (2014) tarafından yapılan çalışmada, Vitek-2 otomatize sistemi ile identifiye edilmiş ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş olan karbapenem dirençli 43 *Enterobacteriaceae* izolatının 7'sinde OXA-48 ve 1'inde NDM-1 geni bulunmuş, izolatlar arasında IMP, VIM ve KPC direnç genleri ise tespit edilememiştir. Bayram ve ark.'nın (2016) *Enterobacteriaceae* klinik izolatları ile yaptığı çalışmada izolatların %85,5'inde CTX-M, %32,1'inde TEM ve %32,8'inde OXA tipi direnç tanımlamıştır. İzolatların %23,6'sında hem TEM hem de OXA geni mevcut iken, %0,76'sında hem TEM hem de SHV tipi direnç ve %0,75'inde VIM tipi beta-laktamaz saptanmıştır. Bizim çalışmamızda GSBL tipi TEM pozitifliği %70,91 ve CTX-M pozitifliği %31,37 iken, AmpC tipi beta-laktamaz olan CMY-2 pozitifliği %23,08, aynı zamanda birer karbapenemaz olan VIM pozitifliği ise %42,86 saptandı. İzolatlar arasında NDM pozitifliği %21,15 ve KPC pozitifliği %21,05 şeklindeydi. Küçükbaşmacı (2009) tarafından yapılan bir çalışmada GSBL pozitif 32 *Enterobacteriaceae* üyesi izolat incelenmiş ve bunların 29 (%90,6)'unda CTX-M, 22 (%68,7)'sinde TEM ve 11 (%34,3)'inde SHV saptanmıştır. Okalin ve ark. (2021)'nin 45 *K. pneumoniae* izolatı ve 3 *E. coli* izolatı dahil toplam 48 izolat ile yaptıkları bir çalışmada, 1 *E. coli* izolatında KPC geni ve 2 *K. pneumoniae* izolatında yalnızca NDM geni saptanmıştır. *K. pneumoniae* izolatlarının 7'sinde hem OXA-48 hem de NDM genleri tanımlanırken, 6 *K. pneumoniae* izolatında ise yalnızca KPC gen pozitifliği tespit edilmiştir. Okalin ve ark. (2021)'nin yaptığı çalışmada karbapenemaz genleri olan IMP ve VIM'e ait pozitiflik saptanmamıştır. Yapılan bu çalışmalar ile bizim çalışmamız arasındaki farkların her hastanenin kullandığı antibiyotik profilaksi prosedürüne göre oluşan farklı floralarından kaynaklı olabileceği söylenebilir.

Bektaş ve ark. (2018) tarafından GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının direnç genlerinin araştırıldığı bir çalışmada *K. pneumoniae* suşlarının beta-laktamaz gen pozitifliği sırasıyla CTX-M için %99, SHV için %91, TEM için %71, OXA-10 için %10 ve OXA-2 için %5 olarak saptanmıştır. *E. coli* suşlarında CTX-M pozitifliği %92, TEM pozitifliği %70, SHV pozitifliği %21 ve OXA-2 pozitifliği %3

oranında bulunmuştur. GSBL direnç geni saptanan 98 *E. coli* izolatında CTX-M pozitifliği %25,5, TEM pozitifliği %2 ve SHV pozitifliği %2 saptanmıştır. GSBL pozitif 100 *K. pneumoniae* izolatında ise CTX-M pozitifliği %3 saptanmıştır (Bektaş ve ark 2018). Bu tez çalışmasında TEM geni *Kebsiella* spp. izolatlarının %93,3'ünde ve *E. coli* izolatlarının %75'inde, CTX-M geni *Kebsiella* izolatlarının %66,7'sinde ve *E. coli* izolatlarının %83,3'ünde saptandı. Gentamisin dışında kullanılan tüm antibiyotiklere karşı direnç gösteren *P. aeruginosa* izolatları ile sefalosporinlere dirençli ancak karbapenemlere duyarlı *E. coli* izolatlarının kullanıldığı bir çalışmada (Özad Düzgün ve Saral 2018) 4 izolatın 3'ünde CTX-M-1 sınıfı beta-laktamaz genleri tespit edilmiştir. Bu suşlarda GES, KPC, IMP, VIM, GIM, SPM ve NDM-1 genleri ile ampC sınıfı beta-laktamaz ise saptanmamıştır. Bu tez çalışmasında *E. coli* izolatlarında TEM pozitifliği %75, CTX-M pozitifliği %83,3, CMY-2 pozitifliği %16,7, KPC pozitifliği %16,7 oranında saptanırken, izolatlarda NDM ve VIM geni tespit edilmedi. *P. aeruginosa* izolatlarında TEM pozitifliği %33,3 iken, CTX-M, CMY-2, NDM, VIM ve KPC genlerine rastlanılmadı. Çalışmada bu iki tür için belirlenen antibiyotik duyarlılıkları ise şu şekilde idi. *E. coli* izolatlarının tamamı kolistin, imipenem ve tigesikline duyarlı, ancak izolatların %90'ı ampiciline, %80'i meropenem ve piperasilin/tazobaktama, %70'i sefepim ve sefotaksime, %60'ı siprofloksasine yüksek oranlarda dirençli saptandı. *P. aeruginosa* izolatları seftazidime duyarlı iken, piperasilin/ tazobaktama %50, sefepime %33,3 ve siprofloksasine %33,3 dirençli bulundu.

Özkaya ve ark.'nın (2014) klinik örneklerden izole ettikleri 32 *S. maltophilia* izolatı ile yaptıkları bir çalışmada otomatize sistem ve agar dilüsyon yöntemi ile 32 izolatta trimetoprim/sülfametoksazol direnci saptanmıştır. Bir izolatta SUL-1 geni belirlenirken, SUL-2 gen saptanmamıştır. Bu tez çalışmasında 5'i trimetoprim/sülfametoksazole duyarlı 1'i ise orta derecede duyarlı olan toplam 6 *S. maltophilia* izolatı belirlendi. Bu izolatlarda SUL-2 gen pozitifliği saptanmadı. Ayrıca 18 *A. baumannii/ haemolyticus* ve 5 *E. coli* izolatı için yapılan SUL-2 gen varlığı analizinde *A. baumannii/ haemolyticus* izolatlarının %94,4'ünde ve *E. coli* izolatlarının %60'ında pozitiflik saptandı.

Stafilokoklarda, metisilin başta olmak üzere betalaktam antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu olan gen *MecA* genidir. Çoklu ilaç direncine neden olan bu geni taşıyan MRSA pozitif *S. aureus*, uzun yıllardır hastane enfeksiyonlarında ataklara neden olan mikroorganizma olarak bilinmektedir (Annagür ve Örs 2013). Klinik örneklerden izole edilen ve %79,3'ünü *S. aureus* ve %20,7'sini KNS'nin oluşturduğu bir çalışmada, disk difüzyon yöntemiyle ile toplam 193 izolatın 141'inde metisilin direnci saptanırken, izolatların 144'ünde *MecA* gen varlığı bildirilmiştir (Çiftci ve ark. 2009). Toplam 371 *Staphylococcus* spp. izolatı ile yapılan başka bir çalışmada 225 (78,7%)'inde *MecA* gen pozitifliği belirlenmiştir. *S. aureus*'ların %50,6'sında, KNS'lerin %78,7'sinde *MecA* gen varlığı tespit edilmiştir (Rocchetti ve ark. 2018). Tez çalışmasında MicroScan WalkAway sistemi ile duyarlılıkları belirlenen ve %15,15'i *S. aureus*, %84,85'i KNS olan toplam 33 izolatın 28'inde metisilin direnci saptandı. Metisilin dirençli 28 izolatın tamamında *MecA* geni tespit edildi. Bu çalışmalar ile elde edilen pozitiflik oranları tez çalışmasında tespit edilen oranlara yakın çıkmıştır.

Yenidoğanlarda sepsis ve menenjitte neden olan ve çoklu ilaç direnci geliştiren VRE pozitif *Enterococcus* spp.'ler hastanelerde ve toplumda yaygın olarak enfeksiyonlara yol açmaktadır (Erbek ve Özakın, 2002). Hastanelerde glikopeptid, sefalosporin ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak bu antibiyotik gruplarına dirençlerde artış olduğu bildirilmiştir (Yıldırım 2007). Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci ile betalaktamaz üretiminin ilişkili olabileceği ve penisilinler ile aralarındaki sinerjik etkinin kalkmasının penisilin grubu ilaçlara direnç gelişimini etkileyeceğine dair çalışmalar mevcuttur. Yazgı ve ark.'nın (2003) yaptığı çalışmada yüksek düzey aminoglikozid direnci gösteren ve göstermeyen enterokok türlerinde betalaktamaz üreten izolat tespit edilmemiştir. Rizk ve Abou El-Khier (2019) tarafından yapılan çalışmada, *Acinetobacter* spp. suşlarında %42 *AaDB* geni, %18 *AaDA1* gen pozitifliği elde edilmiştir. Çalışmamızda *AaDA25* gen pozitifliği %34,5 oranında saptanırken, bu oran *AaDB* için %24,1 olarak bulunmuştur. *AaDA25* gen pozitifliği *Klebsiella* spp. için %60, *E. coli* için %50 ve *P. aeruginosa* için %33,3 olarak saptandı. Penisiline dirençli, ampicilin ve gentamisine duyarlı 1 *Enterococcus* spp. izolatında *AaDB* gen pozitifliği tespit edildi. Bu çalışmalardaki pozitiflik oranları yakın çıkmıştır.

Glikopeptid direncinden sorumlu en yaygın gen bölgeleri *vanA*, *vanB* ve *vanC* olarak bilinmektedir (Işık Baytar 2019). Coşkun ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda hem vankomisin hem de teikoplanine dirençli 30 suş ve vankomisine dirençli, teikoplanine duyarlı 8 suş olmak üzere toplam 38 izolat VITEK2 otomatize sistemi kullanılarak *E. faecium* olarak bildirilmiştir. PCR yöntemi kullanılarak 30 suşun *vanA* geni taşıdığı tespit edilirken, 5 izolatın *vanB* geni taşıdığı belirlenmiştir. Toplam 83 enterokok izolatı ile yapılan başka bir çalışmada *vanA*, *vanB*, *vanC* genleri sırasıyla 6 (%7.23), 0 (%0), 0 (%0) şeklinde tespit edilmiştir (Işık Baytar 2019). Bilen ve ark. (2021) tarafından yapılan ve MicroScan WalkAway 96 Plus otomatize sistemi kullanılarak identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenen vankomisin dirençli 30 *Enterococcus* spp. izolatının %90'ında *vanA*, %3,3'ünde *vanB* geni bulunurken, *vanC* geni ise tespit edilmemiştir. Tez çalışmamızda *vanA* gen pozitifliği %37,5, *vanB* gen pozitifliği %6,3 iken ve *vanC* gen pozitifliği %6,3 saptandı. *Enterococcus* izolatlarında %30 oranında *vanA* gen pozitifliği saptandı. VRE pozitif bulunan 2 *Enterococcus* spp. izolatının 1'inde *vanA* geni bulundu. Bilen ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada *vanA* gen pozitifliğinin yüksek oranda tespit edilmesi bütün suşların VRE pozitif olmasından kaynaklanmaktadır.

Yenidoğan ünitelerinde sepsis, menenjit ve pnömoni gibi enfeksiyonlara neden olan *Candida* türleri arasında en sık rastlanan etken *C. albicans*'dır. Yenidoğan ünitelerinde özellikle prematüre bebeklere uygulanan antifungal profilaksisi ve tedavide uzun süreli antifungal kullanımının direnç gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Jabban 2012). Altuncu ve ark.'nın (2010) neonatal *Candida* etkenlerini incelediği çalışmada *C. albicans* izolatlarının flukonazole direnci %2,8 tespit edilirken, bütün izolatlar amfoterisin B'ye duyarlı bulunmuştur. Belet (2010) tarafından 35 *Candida* spp. izolatı ile yapılan bir çalışmada en etkili antifungal ilaç kaspofungin olarak bildirilmiştir. *Candida* izolatlarının flukonazol direnci %8,5, vorikonazol direnci %5,7 ve amfoterisin B direnci %2,8 olarak bildirilmiştir. Tez çalışmasında *C. albicans* izolatlarının flukonazol ve vorikonazol direnci bu çalışmaya göre oldukça yüksek saptandı. Tez çalışmasında tanımlanan 8 *C. albicans* izolatının tamamı amfoterisin B'ye duyarlı iken, flukonazol ve vorikonazole %50, kaspofungine ise %25 oranında direnç

belirlendi. Bu durumun tez çalışmasının daha az sayıda *C. albicans* izolatı ile yapılmasından kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Her iki çalışmanın ortak yönü ise kaspofungin duyarlılığının benzer oranda olmasıydı. Ayrıca çalışmamızda en etkili antifungal, amfoterisin B olarak belirlendi.

Çalışmamızda, PCR yöntemi ile *C. albicans* izolatlarının genel antifungal direnç gen pozitifliği %87,5 belirlendi. İzolatların *FUR1* gen direnci %75, *ERG11* gen direnci %62,5 ve *FKS1* gen direnci %50 olarak tespit edildi. E-test yöntemi ile kaspofungin duyarlılığı belirlenen 8 izolatın 4'ünde kaspofungin direncinden sorumlu olan *FKS1* gen pozitifliği saptandı. Gopinathan ve ark. (2013) tarafından yapılan ve 72 *Candida* spp. izolatının incelendiği çalışmada flusitozine dirençli tüm suşlarda (%41,66) *FUR1* gen varlığı bulunmuştur. Dovo ve ark. (2022) tarafından yapılan başka bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen 157 *C. albicans* izolatının flukonazol direnci %59.54 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada Azollere dirençli 92 *C. albicans* suşunun %9,79'unda *ERG11* geni tespit edilmiştir. Tez çalışmasında belirlenen direnç gen oranları bu çalışmalara göre oldukça yüksek tespit edilmiştir. Bu durumun çalışmanın daha az sayıda izolat ile yapılması ve antifungallere daha fazla maruz kalınması ile ilintili olabileceği varsayılmaktadır.

Bu çalışmanın konusu, 2020-2022 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesinde sepsis belirtileri ile yatan hastalardan rutin tanı için alınan mikrobiyolojik örneklerden oluşmuştur. Toplam 940 mikrobiyolojik örnekten 105'i bakteri ve 8'i fungal etken yönünden kültür pozitif olarak saptanmış, böylece kültür pozitifliği, bakteriler için %11,17 ve fungal etkenler için %0,85 olarak belirlenmiştir. Çalışmada MicroScan WalkAway otomatize ile tanımlanan etken sayısı 28 adet KNS, 22 adet *A. baumannii/haemolyticus*, 16 adet *Kebsiella* spp., 10 adet *E. coli*, 10 adet *Enterococcus* spp., 8 adet *C. albicans*, 6 adet *S. maltophilia*, 5 adet *S. marcescens*, 5 adet *S. aureus* ve 3 adet *P. aeruginosa* izolatı şeklinde olmuştur.

MicroScan WalkAway otomatize sistemi ile bakteriyel etkenlerin antibiyotik duyarlılık analizlerinde izolatların betalaktam %89,4, aminoglikozid %81,6, karbapenem %65,1, glikopetid %7,6 ve sülfonamid bileşiklerine %56,8 oranda dirençli oldukları tespit edilmiştir. Gram negatif bakterilerde en yüksek direnç %86,7

betalaktam antibiyotiklere karşı gelişirken, en düşük direnç ise %65,1 karbapenem grubu antibiyotiklerde görülmüştür. Gram pozitif bakterilerde ise en yüksek direnç %93,9 penisilin grubu antibiyotiklere karşı gelişirken en düşük direnç %6,7 glikopeptidlere karşı saptanmıştır. *C. albicans* izolatlarının en duyarlı oldukları antifungaller ekinokandin ve amfoterisin B iken, en düşük duyarlılık flusitozin ve azol grubu antimikrobiallere karşı saptanmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada, identifikasyonu gerçekleştirilen ve antimikrobiyal duyarlılıkları belirlenen izolatların çeşitli antibiyotik ve antifungallere karşı direnç gelişiminde rol oynayan yaygın direnç genleri PCR ile belirlendi. PCR analizleri sonucunda, bakterilerde en sık rastlanan direnç geni *TEM* (%70,9) geni olurken, en az rastlanan direnç geni ise *vanA* (%6,3) ve *vanB* (%6,3) genleri olarak tespit edildi. Gram negatif bakteriler arasında yaygın *TEM* gen pozitifliği varken, *KPC* gen pozitifliği düşüktü. Gram pozitif bakterilerde *AaDA25* gen pozitifliği görülmezken, en yaygın direnç geni *MecA* ve en az saptananlar ise *vanA*, *vanB* ve *vanC* genleriydi. *C. albicans* izolatları arasında en yaygın direnç geni *FUR1* iken, *FKS1* geni pozitifliği oldukça düşüktü.

Sonuç olarak, yenidoğan sepsisi genelde dolaşım sistemi enfeksiyon hastalığı olarak bilinse de aynı zamanda solunum sistemi enfeksiyonları, sindirim sistemi enfeksiyonları, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonları da sepsis kapsamında değerlendirilmektedir. Bu çalışmada kan, idrar, BOS, kateter ve apse gibi örneklerden kültürel analiz sonrası 105'i bakteri (43 Gram pozitif, 62 Gram negatif) ve 8'i *C. albicans* olmak üzere toplam 113 patojen mikroorganizma izole edildi. Bu etkenlerin antimikrobiyal duyarlılıkları, kullanılan antibiyotik ve antifungallere karşı geliştirdikleri direnç genleri ortaya çıkarıldı. Farklı enfeksiyon etkenlerinin elde edilmesi, sayılan bu etkenlerin benzer klinik tablolara neden olduğunu bir kez daha göstermektedir.

Daha önce yapılmış çalışmalara benzer şekilde tanımlanan mikroorganizmalar arasında antimikrobiyal direncin acil ve büyük bir sorun haline geldiği görülmektedir. Geniş spektrumlu antimikrobiallerin sık ve düzensiz kullanımının, profilaksi ve ampirik tedavilerin yaygınlığının, antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Tedavi rejimleri planlanırken

antimikrobiyallerin etken spesifik olması ve güncel duyarlılık/dirençlilik durumlarının göz önünde bulundurulması eradikasyon başarısına olumlu katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada olduğu gibi antimikrobiyal direncin gelişmiş otomatize sistemler ve PCR ile gen spesifik amplifikasyon sonucu etkili bir şekilde ortaya çıkarılabileceği de görülmüştür.

Yapılan bu tez çalışması da göstermiştir ki, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde belli aralıklarla bu tür sürveyans çalışmaları yapılmalı ve PCR yöntemleri ile direnç gen profilleri belirlenmelidir. Bu çalışmamızın daha sonraki çalışmalara kaynak olacağı ve literatürel katkı sağlayacağı öngörülmektedir.



KAYNAKLAR

- Akman N, Sağıroğlu P: Mikrobiyolog gözüyle yenidoğan sepsisinin tanısında laboratuvarın rolü. Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi, 27(2): 227-242, 2022.
- Altuncu E, Bilgen H, Çerikçioğlu N, İlki A, Ülger N, Bakır M, Akman İ, Özek E: Neonatal kandida enfeksiyonları ve etkenlerinin antifungal duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul, 44: 593-603, 2010.
- Annagür A, Örs R: Yenidoğan sepsisi. Selçuk Pediatri, 1(1): 1-11, 2013.
- Arda M: Temel Mikrobiyoloji. 4. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 2011.
- Arısoy ES: Yenidoğan sepsisi: tanı ve tedavi yaklaşımları. ANKEM Derg, 24(2): 168-75, 2010.
- Arshad M, Seed PC: Urinary tract infections in the infant. Clin Perinatol, 42(1): 17- 28, 2015.
- Avcıoğlu F, Öztürk CE, Şahin İ, Öksüz Ş, Kızıllırmak A, Akar N: Metisiline dirençli stafilokoklarda azalmış vankomisin duyarlılığının araştırılması. DÜ Sağlık Bil Enst Derg, 10(1): 81-86, 2020.
- Barnett E, Klein J: Bacterial Infections Of The Respiratory Tract. **in:** Wilson C, Nizet V, Maldonado Y, Remington J, Klein J (eds): Infectious Dseases Of The Fetus And Newborn Infant. p. 278-296, 8nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015.
- Bektaş A, Güdücüoğlu H, Gürsoy NC, Berktaş M, Gültepe BS, Parlak M, Otlı B, Tekerekoğlu MS: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının gsbl genlerinin araştırılması. Flora Derg, 23(3):116-123, 2018.
- Belet N: Çocuklarda Steril Bölge Kültürlerinden izole Edilen Kandida Suşlarının Tiplendirilmesi ve Antifungallere Duyarlılıklarının Araştırılması. T.C. Ankara Üniv, Tıp Fakültesi, Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara, 2010.
- Bilen S, Parlak M, Yakupoğulları Y, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Rağbetli C, Uyanık Parlak A, İrden Ş: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının fenotipik ve genotipik değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg, 51(2): 143-9, 2021.
- Boyd DA, Tyler S, Christianson S, Allison M, Matthew PM, Barbara MW, Elizabeth B, Michael G, Patrice N, Michael RM: Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. Antimicrob Agents Chemother. 48(10):3758–3764, 2004.
- Cengiz AB: Yenidoğan Sepsisi. Çocuk Enf Derg, 3: 174-81, 2009.
- Choi SM, Kim SH, Kim HJ, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, Kang JH, Shin WS, Kang MW: Multiplex PCR for the detection of genes encoding aminoglycoside modifying enzymes and methicillin resistance among *Staphylococcus* species. J Korean Med Sci, 18, 631-6, 2003.
- CLSI. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts. CLSI document M44-A2. Wayne PA, 2009.
- Coşkun FA, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Karahan ZC, Us E, Tekeli FA, Baran I, Kanyılmaz D, Kurşun Ş: Bir devlet hastanesinde vankomisine dirençli enterokok suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi: ilk vanB-pozitif *Enterococcus faecium* izolatları. Mikrobiyol Bul, 46(2): 276-282, 2012.

Çiftci A, Ersoy A: Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics. 1(2), 2015.

Çiftci İH, Altındış M, Çetinkaya Z, Aşık G, Aktepe OC: Klinik örneklerden izole edilen stafilokoklarda *mecA* varlığının araştırılması. The Med J Kocatepe, 10: 17-20, 2009.

Demirtola A, Özen İO: Göbek ve göbek kordonu anomalileri. Sted Derg, 14(3): 47-49, 2005.

Dovo EE, Zohoncon TM, Tovo SF, Soubeiga ST, Kiendrebeogo IT, Yonli AT, Ouedraogo RA, Dabire AM, Djigma FW, Nadembega CW, Belemgnegre M, Ouedraogo P, Obiri-Yeboah D, Simporé J: First detection of mutated *ERG11* gene in vulvovaginal *Candida albicans* isolates at Ouagadougou/Burkina Faso. BMC Infect Dis, 22(1):678, 2022.

Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V: Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae*: Review and bench guide. Clin Microbiol Infect, 14 (Suppl 1): 90-103, 2008.

Ekici H, Yarsan E: Antibiyotiklere direnç ve dirençliliğin boyutlarının çok yönlü değerlendirilmesi. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, 8(3-4):85-93, 2008.

Erbek S, Özakin C, Gedikoğlu S: Enterokok suşlarında saptanan yüksek düzeyli aminoglikozid ve glikopeptid direnci. Hastane infeksiyonları Derg, 6(3): 142-149, 2002.

George SK, Suseela MR, El Safi S, Elnagi EA, Al-Naam YA, Adam AAM, Jacob AM, Al Maqati T, Kumar H: Molecular determination of van genes among clinical isolates of enterococci at a hospital setting. Saudi Journal of Biological Sci, 28(5):2895-2899, 2021

Gopinathan S, Janagond AB, Agatha D, Thenmozhi Valli PR: Detection of *FUR1* gene in 5-flucytosine resistant *Candida* isolates in vaginal candidiasis patients. J Clin Diagn Res, 7(11): 2452-5, 2013.

Gördebil S: Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Direnç Genlerinin PCR ile Araştırılması ve PFGE Yöntemiyle Genotip Tayini. Çukurova Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2011.

Gülaşı S, Çelik Ü: Fungal infections in newborn. J Pediatr Inf, 10: 143-50, 2016.

Gürsu HA: Yenidoğan Sepsisi Tanısında Serum Amiloid A (Saa)'nın Önemi ve CRP ile Karşılaştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005.

Hasdemir MU: Antibiyotik Duyarlılık Sonuçlarının Yorumlanması. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı, Antalya, 2013.

<https://rtalabs.com.tr/urunler/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/sda>. Erşim tarihi: 14.10.2022.

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/boyama-setleri/gram-jensen-boyama-kiti-250-ml/>. Erşim tarihi: 14.10.2022.

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/5-sheep-blood-agar-emb-agar/>. Erşim tarihi: 14.10.2022.

<https://rtalabs.com.tr/urunlerimiz/mikrobiyoloji/petride-besiyeri/mueller-hinton-agar/>. Erşim tarihi: 14.10.2022.

Işık Baytar Ş: Yoğun Bakım Hastalarından İzole Edilen Enterokok İzolatlarında Çeşitli Virulans Ve Direnç Genlerinin Varlığının Araştırılması. T.C. Muş Alparslan Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Muş, 2019.

Jabban İİK: Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida Albicans* Kökenleri Arasında Antifungal Direnç Genlerinin Aktarımı. T.C. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2012.

Kacar F, Eroğlu E, Tarakçı A, Çölkesen FD, Özdemir Armağan Ş, Can S: Vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonlarının irdelenmesi. J Turk Soc Intens Care, 20(1):44-50, 2022.

Karacanoğlu D: Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde İzlenen Kültürle Kanıtlanmış Neonatal Sepsis Vakalarının Retrospektif İncelenmesi. Bezmialem Vakıf Üniv, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2016.

Kavuncuoğlu S, Kazancı S, Yıldız H, Aldemir E, Türel E: Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan kültür pozitif sepsisli olguların sıklık, etiyolojik faktörler, etken mikroorganizmalar ve antibiyotik direnci yönünden incelenmesi. JOPP Derg, 3(3):129-138, 2011.

Kayış U: Antimikrobiyal direnç mekanizmaları. Aydın Sağlık Dergisi. 5(1):1-12, 2019.

Kaynak Türkmen M, Telli M, Erişen S, Güzünler M, Eyigör M: Neonatal sepsisli olguların değerlendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. ADÜ Tıp Fakültesi Derg, 11(3) : 15-20, 2010.

Kılıç A: Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesindeki Nozokomiyal Enfeksiyonların Uluslararası Standartlarla İzleminin Değerlendirilmesi. Ankara Üniv, Tıp Fakültesi, Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara, 2012.

Klima CL, Zaheer R, Cook SR, Booker CW, Hendrick S, Alexander TW, McAllister TA: Pathogens of bovine respiratory disease in North American feedlots conferring multidrug resistance via integrative conjugative elements. J Clin Microbiol, 52(2):438–448, 2014.

Koç AN: Mikozların laboratuvar tanısı, etken mantarın tür tanısı ve antifungal direnç analizinde moleküler yöntemlerin yeri. İnf Derg, 21: 165-72, 2007.

Küçükbaşmacı Ö: Dışkıda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin prevalansının araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg, 39(3-4):85-88, 2009.

Makene VA, Hosea KMM, Kivaisi AK: Rapid screening of *Candida albicans* yeasts associated with vulvovaginal candidiasis in Tanzania using Nested PCR. IJRBS, 3(3): 136-40, 2013.

Mallika PS, Asok T, Faisal H, Aziz S, Tan A, Intan G: Neonatal conjunctivitis - a review. Malays Fam Physician, 31(3):77-81, 2008.

Marmur J: A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. J Mol Biol, 3, 208-218, 1961.

McGregor A, Schio F, Beaton S, Boulton V, Perman M, Gilbert G: The MicroScan WalkAway diagnostic microbiology system--an evaluation. Pathology, 27(2): 172-6, 1995.

Monstein Ö, Nilsson M, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson L: Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX- M genes in Enterobacteriaceae. APMIS, 115(12):1400–1408, 2007.

Mozioğlu E: Elektroforezin temelleri ve türleri. Tüm boyutları ile elektroforez sempozyumu ve kursu, İstanbul, 27-29 Haziran 2019.

Okalin ŞŞ, Sarı Kaygısız AN, Ergon MC, Öktem İMA: Karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatlarında karbapenemaz genlerinin araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nden ilk KPC bildirimi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg, 51(4):375-81, 2021.

Olukman Ö, Atlıhan F, Gülfidan G, Çalkavur Ş, Öztürk İC: Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal infeksiyon etkenleri ve antibiyotik direnç özellikleri: son bir yıllık deneyim. J Exp Clin Med, 26: 72-76, 2009.

Ouellette M, Bissonnette L, Roy PH: Precise insertion of antibiotic resistance determinants into Tn21-like transposons: nucleotide sequence of the OXA-1 beta-lactamase gene. Proc Natl Acad Sci, 84: 7378-7382, 1987.

Öncel S: Yenidoğan menenjit. Türkiye Klinikleri Journal Of Pediatric Sciences, 7(4); 14-9, 2011.

Özad Düzgün A, Saral A: Investigation of antibiotic resistance genes and class 1 integron in multidrug resistant *P. aeruginosa* and *E. coli* strains. Cumhuriyet Sci J, 39(4): 1063-1068, 2018.

Özçerezci Ö, Savcı S: Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde preterm ve term bebeklerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten gram-negatif bakteri enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. J Pediatr Emerg Intensive Care Med, 6: 91-97, 2019.

Özdemir B: Preterm Bebeklerde İlk Hafta Mikroalbuminürinin Erken Neonatal Sepsis Ve Respiratuar Distres Sendromu İle İlişkisi. Başkent Üniv, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2012.

Özkan A: Yenidoğan Döneminde Geçirilen Sağlık Bakımı İlişkili Enfeksiyonların Ve Antibiyotik Kullanımının Erken Çocukluk Döneminde Atopik Hastalıkların Gelişimi Üzerine Etkisi. Çukurova Üniv, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Adana, 2010.

Park S, Perlin DS: Establishing surrogate markers for fluconazole resistance in *Candida albicans*. Microb Drug Resist, 11(3): 232-8, 2005.

Parlak E, Kahveci H, Alay HK: Yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki hastane enfeksiyonları. Güncel Pediatri, 1: 1-8, 2014.

Perk Y: Yenidoğan yoğunbakım enfeksiyonları; korunma ve kontrol. İstanbul Üniv, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi, 60: 137-141, 2008.

Perk Y: Yenidoğanda akılcı antibiyotik kullanımı. İstanbul Üniv, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi, 33: 9-17, 2002.

Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P: Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagnostic Microbiol Infect Dis, 70: 119-123, 2011.

Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ: Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clinical Infect Dis, 49(11):1749-1755, 2009.

Rizk MA, Abou El-Khier NT: Aminoglycoside resistance genes in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Clin Lab, 65(7): 1, 2019.

Rocchetti TT, Martins KB, Martins PYF, Oliveira RA, Mondelli AL, Fortaleza CMCB, Cunha MLRSD: Detection of the *mecA* gene and identification of *Staphylococcus* directly from blood culture bottles by multiplex polymerase chain reaction. Braz J Infect Dis, 22(2): 99-105, 2018.

Sağlam D, Erçal BD, Yağmur G, Hörmet Öz HT, Akın MA, Berk E: Kayseri eğitim araştırma hastanesi yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı. Abant Med J, 4(3):255-260, 2015.

Saran B, Karahan ZC, Ağırbaşı H, Tekeli A, Aksoy AM: *Candida albicans* klinik izolatlarının “Randomly Amplified Polymorphic DNA” yöntemiyle genotiplendirmesinde kullanılan farklı primerlerin karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 42: 645-654, 2008.

Satar M, Arısoy AE, Çelik İH: Turkish neonatal society guideline on neonatal infections-diagnosis and treatment. Turk Arch Pediatr, 53(1): 88-100, 2018.

Shabaan AE, Elbaz LM, El-Emshaty WM, Shouman B: Role of serum 1,3 β -D-glucan assay in early diagnosis of invasive fungal infections in a neonatal intensive care unit. J Pediatr, 94(5):559-565, 2018.

Shane AL, Sánchez PJ, Stoll BJ: Neonatal sepsis. The Lancet, 390(10104): 1770-1780, 2017.

Snyder JW, Munier GK, Johnson CL: Direct comparison of the BD Phoenix System with the MicroScan WalkAway System for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* and nonfermentative Gram-negative organisms. J Clin Microbiol, 46 (7): 2327-2333, 2008.

Soll RF, Edwards WH: Antibiotic use in neonatal intensive care. Pediatrics, 135: 928-9, 2015.

Tanrıverdi Çaycı Y, Hacıeminoğlu K, Birinci A: Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinden izole edilen gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılığındaki iki yıllık değişim (2014-2015). Turk J Clin Lab, 8(2): 65-69, 2017.

Tekin A: Enterobacteriaceae Suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik Ve Genotipik Olarak Tanımlanması. İstanbul Üniv, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2014.

Topuzoğlu S: Yenidoğan Sepsisinin Tanı Ve İzleminde C-Reaktif Protein İle Prokalsitonin Değerlerinin Karşılaştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2009.

UNICEF: Operationalizing management of sick young infants with possible serious bacterial infection (PSBI) when referral is not feasible in the context of existing maternal, newborn, and child health programmes, 2017.

Yalaz M, Cetin H, Akisu M, Aydemir S, Tunger A, Kültürsay N: Neonatal nosocomial sepsis in a level-III NICU: evaluation of the causative agents and antimicrobial susceptibilities. Turk J Pediatr, 48(1):13-8, 2006.

Yarar M: Klinik Materyallerden İzole Edilen *Candida albicans* Suşlarında SAP Genlerinin Araştırılması. Pamukkale Üniv. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2014.

Yazgı H, Ertek M, Uslu H, Kadanalı A: Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ile beta laktamaz üretimi ilişkisi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg, 33: 333-336, 2003.

Yıldırım M: Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg, 2: 46-52, 2007.

Yüce a: Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. Klimik Derg, 14(2):41-46, 2001.

Zhao S, White DG, McDermott PF, Friedman S, English L, Ayers S, Meng J, Maurer JJ, Holland R, and Walker RD: Identification and expression of cephamycinase *bla*_{CMY} genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and ground meat. Antimicrob Agents Chemother, 45: 3647-3650, 2001.

EKLER

Ek-1. Örneklerden izole edilen bakteriyel etkenlerin PCR ile saptanan direnç gen dağılımı.

[illegible]

18.	89	<i>Acinetobacter</i> spp.	-	-	-	-	-	-	Pozitif
19.	92	<i>Acinetobacter</i> spp.	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Pozitif
20.	93	<i>Acinetobacter</i> spp.	Pozitif	-	Negatif	Negatif	Pozitif	-	-
21.	99	<i>Acinetobacter</i> spp.	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	-	Pozitif
22.	104	<i>Acinetobacter</i> spp.	Pozitif	-	-	-	-	-	-
23.	9	<i>S. maltophilia</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif
24.	84	<i>S. maltophilia</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif
25.	87	<i>S. maltophilia</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif
26.	120	<i>S. maltophilia</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif
27.	123	<i>S. maltophilia</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif
28.	124	<i>S. maltophilia</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-	Negatif
29.	11	<i>E. coli</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif
30.	30	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
31.	33	<i>E. coli</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif
32.	51	<i>E. coli</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
33.	56	<i>E. coli</i>	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif
34.	67	<i>E. coli</i>	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	-	-
35.	100	<i>E. coli</i>	Pozitif	-	-	-	-	-	-
36.	128	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
37.	130	<i>E. coli</i>	Pozitif	-	-	-	-	-	-
38.	133	<i>E. coli</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-	Pozitif	
39.	1	<i>S. marcescens</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
40.	3	<i>S. marcescens</i>	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	-	-
41.	64	<i>S. marcescens</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	-	-

42.	77	<i>S. marcescens</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	-	-
43.	115	<i>S. marcescens</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	-	-
44.	94	<i>P. aeruginosa</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
45.	116	<i>P. aeruginosa</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
46.	141	<i>P. aeruginosa</i>	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
47.	5	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
48.	7	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-
49.	8	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-
50.	16	<i>Klebsiella</i> spp.	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
51.	23	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-
52.	27	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-
53.	29	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-
54.	36	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
55.	38	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
56.	58	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	-	Negatif	-
57.	69	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	-
58.	70	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	-
59.	80	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
60.	122	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	-
61.	132	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
62.	140	<i>Klebsiella</i> spp.	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-

-. Yapılmadı.

Ek-2. Örneklerden izole edilen bakteriyel etkenlerin PCR ile saptanan direnç gen dağılımı.

Sıra no	İzolot no	İzolot türü	PCR pozitifliği					
			<i>MecA</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>vanC</i>	<i>AaDA25</i>	<i>AaDB</i>
1.	17	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
2.	24	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
3.	34	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
4.	46	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
5.	47	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
6.	48	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
7.	52	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
8.	61	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
9.	62	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
10.	90	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
11.	97	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
12.	101	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
13.	39	KNS	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	-	-
14.	63	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
15.	96	KNS	Negatif	-	-	-	-	-
16.	98	KNS	Negatif	-	-	-	-	-

17.	14	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
18.	106	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
19.	107	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
20.	108	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
21.	110	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
22.	111	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
23.	118	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
24.	121	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
25.	126	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
26.	131	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
27.	138	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
28.	139	KNS	Pozitif	-	-	-	-	-
29.	91	<i>S. aureus</i>	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	-	-
30.	117	<i>S. aureus</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	-	-
31.	127	<i>S. aureus</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
32.	137	<i>S. aureus</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
33.	142	<i>S. aureus</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-	-
34.	28	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
35.	59	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
36.	74	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
37.	102	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif
38.	114	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
39.	78	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
40.	85	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

41.	103	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
42.	112	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
43.	143	<i>Enterococcus</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
44.	7	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Negatif
45.	8	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Pozitif
46.	16	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Negatif	Negatif
47.	23	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Negatif	Negatif
48.	27	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Pozitif
49.	29	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Pozitif
50.	36	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Pozitif
51.	38	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Negatif	Pozitif
52.	80	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Pozitif	Pozitif
53.	122	<i>Klebsiella</i> spp.	-	-	-	-	Negatif	Negatif
54.	11	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Pozitif	Negatif
55.	30	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Negatif	Negatif
56.	33	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Pozitif	Negatif
57.	51	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Pozitif	Negatif
58.	56	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Negatif	Negatif
59.	67	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	Negatif	Negatif
60.	94	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	Negatif	Negatif
61.	116	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	Pozitif	Negatif
62.	141	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	Negatif	Negatif

KNS: Koagülaz negatif stafilokok, -: Yapılmadı.

Ek-3. Örneklerden izole edilen fungal etkenlerden PCR ile saptanan direnç gen dağılımı.

Sıra no	İzolat no	İzolat türü	PCR pozitifliği		
			<i>FUR1</i>	<i>ERG11</i>	<i>FKS1</i>
1.	1C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Negatif	Negatif
2.	2C	<i>C. albicans</i>	Negatif	Pozitif	Pozitif
3.	3C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Pozitif	Negatif
4.	5C	<i>C. albicans</i>	Negatif	Negatif	Negatif
5.	6C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Negatif	Negatif
6.	7C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Pozitif	Pozitif
7.	8C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Pozitif	Pozitif
8.	9C	<i>C. albicans</i>	Pozitif	Pozitif	Pozitif

