ESCHERICHIA COLI VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA KARBAPENEM DİRENCİ VE DİRENÇTEN SORUMLU ENZİMLERİN ARAŞTIRILMASI

Özlem ALBAYRAK

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Beytullah KENAR

Tez No: 2018- 004

2018-AFYONKARAHİSAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ESCHERICHIA COLI VE*KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA KARBAPENEM DİRENCİ VE DİRENÇTEN SORUMLU ENZİMLERİN ARAŞTIRILMASI

Özlem ALBAYRAK

TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Beytullah KENAR

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16.SAĞ.BİL.10 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Tez No: 2018- 004
2018-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/04/2018

Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Recep KEŞLİ
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Raportör

Doç. Dr. Beytullah KENAR
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Özlem ALBAYRAK'ın "Escherichiae coli ve Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Karbapenem Direnci ve Dirençten Sorumlu Enzimlerin Araştırılması" başlıklı tezi..... günü saat.....'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince büyük katkı ve emeği olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Beytullah KENAR'a, beni her konuda teşvik ederek iyi bir eğitim almamı sağlayan desteğini hiçbirzaman esirgemeyen sayın Prof. Dr. Recep KEŞLİ'ye, yalnızca eğitim sürecinde değil bu zamana kadar olan her dönemde desteğini, sevgisini, şefkatini gördüğüm, dürüstlüğü, yardımseverliği ve çalışma azmini örnek aldığım üzerimde çok büyük emeği olan, büyük sevgi ve saygı duyduğum amcam sayın Prof. Dr. Selehattin ÇELEBİ'ye,

En zor anlarımda kapısını çaldığım, yapıcı eleştirileri ile yardımını hiçbir zaman esirgemeyen sayın Prof.Dr. Sefa ÇELİK'e, çalışmalarım sırasında büyük yardım ve desteğini gördüğüm sayın Doç. Dr. Metin ERDOĞAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Hakan AYDIN'a, birlikte çalıştığımız, bilgi paylaşımında bulunduğumuz asistan arkadaşlarıma,sıcak bir çalışma ortamı içinde çalışmaktan mutluluk duyduğum laboratuvar çalışanlarımıza,

Hayatımın her döneminde bitmek tükenmek bilmeyen desteklerini, sevgilerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan, kendileriyle gurur duyduğum çok değerli babam Seyfullah ÇELEBİ ve rahmetli annem Hafize ÇELEBİ'ye, bu süreçte beni hiçbirzaman yalnız bırakmayan, desteğini, sevgisini, esirgemeyen, yol göstericim, mutluluk sebebim sevgili eşim Mustafa ALBAYRAK'a varlıklarıyla hayatıma sevinç ve güzellik katan, iyi ve kötü günümde yanımdaolan, canım ablalarım İpek DEMİR, Rahime ŞAHİN, Çiçek ÇELİK ve Nihan AYDIN'a, canım kardeşim Oğuzhan ÇELEBİ'ye, sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Özlem ALBAYRAK

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....ii
Önsöz ve Teşekkür.....iii
İçindekiler iv
Simgeler ve Kısaltmalar.....vi
Şekiller Listesi.....ix
Tablolar Listesi.....x
1.GİRİŞ VE AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER.....3
2.1.Enterobacteriaceae 3
2.1.1.*Escherichia*.....5
2.1.1.1. Morfoloji ve Yapı.....5
2.1.1.2. Üreme ve Biyokimyasal özellikler.....6
2.1.1.3. Antijenik yapı.....6
2.1.1.4. Patogenez ve Virulans Faktörleri.....7
2.1.1.5.Epidemiyoloji.....9
2.1.1.6. Klinik 11
2.1.1.7. Tedavi.....13
2.1.2. *Klebsiella* 14
2.1.2.1. Morfoloji ve Yapı.....14
2.1.2.2.Antijenik yapı.....15
2.1.2.3. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri.....15
2.1.2.4. Patogenez ve Virulans Faktörleri.....16
2.1.2.5.Epidemiyoloji.....16
2.1.2.6.Klinik 17
2.1.2.7. Tedavi.....17
2.2. Beta Laktam Antibiyotikleri 18
2.2.1. Karbapenemler.....18
2.2.2. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları 20
2.2.2.1. Hedef PBP Değişimleri.....20
2.2.2.2. İlacın Hücre İçinde Etkin Konsantrasyona Ulaşmaması.....20
2.2.2.3. Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimlerin Varlığı (Beta-Laktamazlar).....22

3. MATERYAL ve METOT.....27
3.1. İzolatların Toplanması 27
3.2. Besiyerlerin Hazıranması.....27
3.3. Suşların İdentifikasyonu.....27
3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....28
3.5. Karbapenemazların Genotipik Yöntemle Araştırılması.....30
3.5.1. Bakteriyel DNA'nın Ekstraksiyonu.....30
3.5.2. Primerlerin Hazırlanışı.....30
3.5.3. PZR Optimizasyonu.....32
3.5.4.PZR ile VIM Gen Bölgesinin Amplifikasyonu.....32
3.5.5.PZR ile NDM Gen Bölgesinin Amplifikasyonu.....33
3.5.6.PZR ile IMP Gen Bölgesinin Amplifikasyonu 34
3.5.7.PZR ile KPC Gen Bölgesinin Amplifikasyonu.....34
3.5.8.PZR ile OXA-48 Gen Bölgesinin Amplifikasyonu 35
3.5.9.PZR ile OXA-58 Gen Bölgesinin Amplifikasyonu 35
3.5.10. Agaroz-Jel Elektroforez. 36
4. BULGULAR.....38
5.TARTIŞMA 45
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....55
ÖZET.....57
SUMMARY 58
KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ.....70

SİMGELER ve KISALTMALAR

AK: Amikasin

AMC:Amoksisilin-Klavulanik Asit

AMP: Ampisilin

ARMRL : Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory

BHI:Brain Heart İnfüzyon

CAZ: Seftazidim

CFA : Kolonizan Faktör Antijen

CIP: Siprofloksasin

CN: Gentamisin

CRO: Seftriakson

CTX: Sefotaksim

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DNTp : Deoksiribonükleotit Trifosfatlar

DHP-1 : Dihidropeptidaz enzim 1

EAEC: Enteroagregatif *E.coli*

ECA : Enterobacteriaceae Common Antigen

EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit

EHEC: Enterohemorajik *E.coli*

EIEC: Enteroinvaziv *E.coli*

EMB: Eozin Metilen Blue

EPEC: Enteropatojenik*E.coli*

ETEC: Enterotoksijenik*E.coli*

ETP: Ertapenem

EUCAST : European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing

FEP: Sefepim

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz

GM-1 : Gangliosidosis Tip-1

HUS: Hemolitik Üremik Sendromu

IMI : İmipenem Hydrolyzing Beta Lactamase

IPM: İmipenem

ISAba1 : Promoter Bölge Varlığı

KPC: *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

KCN : Potasyum Siyanür

LEV: Levofloksasin

LPS: Lipopolisakkarit

LT : Labil Toksin

MBL: Metallo-Beta-Laktamaz

MEM: Meropenem

Mex : Sitoplazmik Membran Protein

MFP : Membran Füzyon Protein

$MgCI_2$: Mağnezyum Klorür

mm : Milimetre

µl : Mikrolitre

MIC: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

NCM : Not Metalloenzyme Carbapenemas

NDM: New-Delhi Metallo-Beta-Laktamaz

NHSN: National Healthcare Safety Network

NNIS : Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyans Sistemi

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA: Ribo Nükleik Asit

RND : Resistance Nodulation Division

OXA : Oksasilinaz

ONPG : O-Nitrophenyl Beta -D Galactosid

Omp : Dış Membran Protein

Opr : Por Oluşturan Protein

SME : Serratia Marcescens Enzyme

ST : Stabil Toksin

STEC : Shiga Benzeri Toksin

Stx : Shiga Toksin

SSS: Santral Sinir Sistemi

TAE Buffer: Tris-Acetate-EDTA

TBE Buffer: Tris-Borate-EDTA

TOB: Tobramisin

TZP:Tazobaktam-Piperasilin

VIM : Verona İntegron Encoded

VTEC : Verotoksijenik*E. coli*

VT : Verotoksin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1 Örneklerin Kliniklere Göre Dağılımı 38

Şekil 1.2 Suşların İzole Edildiği Örneklere Göre Dağılımı 39

Şekil 1.3 İzolatların Ekspre Ettikleri Karbapenemaz Genleri 41

Şekil 1.4 Direnç Genlerinin Jel Elektroforez Görüntüsü 42

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 22
Beta Laktamazların Sınıflandırılması
Tablo 2.3 24
Enterobacteriaceae Ailesinde Görülen Beta-Laktamaz Enzimler
Tablo 3.1 29
K. pneumoniae İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Profilleri.
Tablo 3.2 29
E. coli İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Profilleri.
Tablo 3.3 31
Karbapenem Direncini Kodlayan Genlerin Araştırılmasında Kullanılan Primerler
Tablo 3.4 32
PZR Reaksiyon Karışımı
Tablo 3.5 33
VIM Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.6 33
NDM Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.7 34
IMP Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.8 35
KPC Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.9 35
OXA-48 Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.10 36
OXA-58 Gen Bölgesi PZR Protokolü
Tablo 3.11 40
Bakteri Türlerinin Klinik/Poliklinik ve İzole Edilen Materyallere Göre Dağılımı.

Tablo 3.12 43-44
İzolatların Genotipik ve Vitek Yöntemlere Göre Dağılımı.
Tablo 3.13. 48
Enterobacteriaceae Türlerinde Karbapenemaz Genlerinin Dağılımı ile İlgili Yapılan Çalışmaların Verileri.

GİRİŞ VE AMAÇ

Gram negatif bakteriler beta laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirmektedir. Gelişen bu direnç birçok enfeksiyonunözellikle de hastane enfeksiyonlarının tedavisinde büyük sorun haline gelmiştir.Son yıllardaEnterobacteriaceae ailesi üyelerinde sürekli değişim gösteren ve hız kazanan direnç çeşitlerinde artış olduğu gösterilmektedir(Chang, 2011). Bu nedenle Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi klinisyenler açısından sorun haline gelmiştir. Direnç mekanizmaların giderek artması ve buna bağlı olarak çeşitlilik göstermesi, çabuk yayılması ve oluşan bu direnç biçimlerinin farklı bakteriler arasında rahatlıkla aktarılması olağan tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır.Bu şekilde dirençli olan Gram negatif basillerin etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde karbapenem grubu antibiyotikler AmpC, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerine ve antibakteriyel spektrumlarının genişliği,dayanıklı olmaları sebebiyle ilk sırada tercih edilen ve kullanılan antibiyotiklerdir(Taşova, 2011). GSBL'lerin dünyanın heryerinde olduğu gibi ülkemiz hastanelerinde de prevelansının %50'nin üzerine çıkmış olması, karbapenem grubu antibiyotiklerin kullanımının artığına ve buna bağlı olarak karbapenemlere direnç gelişiminin oluştuğunu göstermektedir (Gülay, 2014). Ülkemizde karbapenem direncinin 2011 Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) verileri dikkate alındığında %20'nin üzerinde değerlere ulaştığı bildirilmektedir (Jones, 2014).

Karbapenemazlar,Enterobacteriaceae üyelerininde yer aldığı Gram negatif mikroorganizmalar arasında artmakta olan ve sıklıkla karşımıza çıkan direnç mekanizmalarındandır.Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci, GSBL üretimi, yüksek düzey AmpC ve porin kaybı gibi birleşik mekanizmalarla oluşabildiği gibi, temel mekanizmalarla da karbapenemaz üretimi olduğu bildirilmiştir(Sarı, 2005; Gülay, 2014).

Ülkemizde VIM, IMP gibi metallo beta laktamazların bulunmasının yanı sıra daha yüksek oranlarda OXA karbapenemazların bulunduğu da bildirilmiştir.Son bir yıldır ülkemizden KPC-2 gen varlığının bildirilmiş olması ve NDM'nin yayılımının gözlenmesi ile birlikte Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnç sorununun daha da artacağını düşündürmektedir (Karatuna, 2014).

Karbapenemaz üreten organizmaların belirlenmesi,enfeksiyonların kontrolü ve bölgemizdeki dirençli olan izolatların yayılımı açısından çok önemlidir. Bu düşüncedenhareketle çalışmamızda, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında son bir yıl içerisinde izole edilen, karbapenemlerden en az birine dirençli ya da orta duyarlı olan, enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen türleri içeren Enterobacteriaceae üyelerinde (*Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*)karbapenem grubu antibiyotiklere direnç oranlarının belirlenmesi ve bu dirençten sorumlu enzimlerin araştırılması amaçlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceaeailesi, tıbbi önemi olan çok sayıda Gram negatif bakterinin bir araya geldiği,en heterojen ve en geniş bakteri topluluğudur.Bu ailedeki bakterilerin birçoğu bitkilerde, toprakta, suda,insan ve hayvanların barsak dışı floralarında; kommensal, patojen ve saprofit olarak bulunmaktadır(Bilgehan, 2004).İnsanda gastroenterit ve enterokolit, idrar yolu enfeksiyonu, pnömoni, menenjit, septisemi, yara enfeksiyonu ve abse gibi hemen her doku ve organı tutan enfeksiyonlarda, bu ailenin bir bakteri türü etken olarak izole edilebilmektedir. Bu ailede 40'dan fazla cins ve 150'den fazla tür yer almaktadır.Bu ailedeki türler biyokimyasal özelliklerine, DNA-DNA hibridizasyon ve 16sRNA dizilimlerine ve antijenik yapılarınagöre sınıflandırılmaktadır(Gür, 2009).Enterobacteriaceae ailesinin adlandırma ve sınıflandırmasında son zamanlara kadar antijenik, fenotipik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri kullanılmaktaydı (Wu Q, 2009); ancak günümüzde fenotipik özelliklerini desteklemek için DNA benzerlik verileri de kullanılmaktadır.Enterobacteriaceae ailesindeki önemli cinsler: *Klebsiella,Escherichia,Shigella,Salmonella, Proteus, Citrobacter, Enterobacter, Morganella, Serratia, Yersinia, Providencia*'dır.(Ustaçelebi, 1999). Bu ailedeki üyeler;Gram negatif, genellikle homojen boyanan, 2-3 µm boyunda, 0,3-1,0 µm eninde, çomak şeklinde bakterilerdir. Aside dirençli boyanmazlar ve spor oluşturmazlar.Ortak bir antijenik yapıya sahiptirler, ya hareketsizdirler ya da peritrişöz flagella ile hareketlidirler.Tüm üyeleri fakültatif anaerobikve aerobik ortamda birçok seçici ya da seçici olmayan besiyerinde hızla üreyebilirler.Optimum üreme sıcaklıkları 37°C'dir. Çoğu pigmentsiz olmasına rağmen, bazıları kırmızı veya sarı pigment yapmaktadır.Enterobacteriaceae türlerinin tümü glukozu fermente eder (diğer şeker gruplarının fermentasyonu değişiklik gösterebilir) ve enerji üretim süreçlerinin bir bölümünde nitratı nitrite indirgerler,oksidaz negatif, katalaz pozitif'tirler (Bilgehan, 2004).

Sitokrom oksidaz aktivitelerinin bulunmamasıEnterobacteriaceaeailesi üyelerinin diğer birçok fermentatif olmayan Gram negatif çomaklardan ayırt edilmesine yardımcı olmaktadır (Ustaçelebi, 1999).Enterobacteriaceae türlerinin çoğu eritrositleri eritebilen hemolizin salgılamaktadır. Hemolizin, lökositleri ve diğer hücreleri de etkileyebilme özelliği taşımaktadır. D-glukozu ve diğer karbonhidratları gaz oluşturarak veya gaz oluşturmadan da fermente edebilirler.Enterobacteriaceae ailesinde bulunan bakterilerin hücre yüzeylerinde başlıca üç temel yapı bulunur.Bunlar dış zar,peptidoglikan tabaka ve sitoplazma zarıdır. Ayrıcahücre yüzeyinde hareketi sağlayan flagellaları ve mukoza yüzeylerine tutunmayı sağlayan pilus yapısıvardır.LPS (lipopolisakkarit),fosfolipidler ve peptidoglikan sitoplazma zarı tarafından sentezlenmektedir. LPS tabakasıkor oligosakkarit, tekrarlayan oligosakkarityan zincirler ve lipid Aolmaküzere üç bölümden oluşmaktadır (Özkuyumcu, 2009).

Tekrarlayan oligosakkarit zinciri oldukça heterojen bir yapıya sahiptir. Aynı tür içerisinde ve türler arasında da değişiklik göstermektedir. Bu yapının bulunup bulunmamasına göre koloni şekli düzensiz (R: rough) veya düzgündür (S: smooth).Kapsül bulunduran türler M (mukoid) koloni yaparlar.Kapsüllerinde K ve M olmak üzere iki çeşit poligosakkarit yapı bulunmaktadır.K poligosakkarit antijeni bakteriyi fagositozdan korur veserotipe özeldir. O antijeni ile aglütinasyonu engellediğinden ısıtılarak bakteriden uzaklaştırılmaktadır. Bakteriyi kurumaya karşı koruyan M antijeni veyakolanik asit de cinsler arasında ortaktır ve çaprazreaksiyona sebep olur(Özkuyumcu, 2009).Gram negatif çomakların büyük bir grubunda kor oligosakkaritiortaktır. Kor bölgesinin bir tarafı lipid A'ya diğer tarafı poligosakkarit zincirine bağlıdır. Lipid A bölümü disakkarit yapıda ve endotoksin aktivitesinden sorumlu kısımdır.Enterobacteriaceaetürlerinde somatik (O), flagella (H), kapsül (K) antijenleri olmak üzere üç yüzey antijeni bulunmaktadır. Bunlar dışında bakteri hücresinin dış yüzeyinde bulunan ECA(EnterobacteriaceaeCommon Antigen) tüm enterobakterilerde bulunan ortak antijendir. Enterobacteriaceaeüyelerinin antijenleri epidemiyolojik ve klinik araştırmalarda tiplendirme için kullanılmaktadır.Virülanslarında fimbriya, enterotoksin, kapsül, flagella, toksin, siderofor ve diğer faktörler rol oynamaktadır (Işık, 2007).

Enterobacteriaceae üyeleri nozokomiyal enfeksiyonlarının oluşmasında en büyük etken olarak gösterilmektedir. National Healthcare Safety Network (NHSN)(2009-2010) yılındakiraporları dikkate alındığında nozokomiyal ilişkili enfeksiyonların oluşmasında etkili olan Gram negatif bakteriler arasında en çok izole edilen türler *Klebsiella* spp.(%8), *Escherichia coli* (%11,5), *Enterobacter* spp.*(%*4,7)'dir (Sievert, 2013).

2.1.1.*Escherichia*

E. coli'ye 1885'de *Escherich* tarafından *Bacterium colicommune* adı verilmiş, daha sonra barsak dışı enfeksiyonlarda dapatojen olduğu bildirilmiştir. Chalmer ve Castellani*Escherichia* cins adı önerilenekadar *Bacterium coli* adı kullanılmıştır (Topçu, 2002). *Escherichia* cinsinde tıbbi önemi olan bir türdür.*E. coli* diğer koliform bakteriler ile birlikte insan ve hayvanların aerop barsak florasındaen sık bulunan bakteridir. Doğada fekal kontaminasyonun olduğu her yerde bulunur. Ancak diğer koliform bakterilerin aksine doğada kısa ya da uzun süre canlı kalsada çoğalamaz ve varlığı dışkı ile kontaminasyonunun işareti olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle çeşitli su kaynakları, içme suyu ve besinlerin sağlığa uygun olup olmadığının araştırılmasında indikatör bakteri olarak *E. coli*kullanılır.*E. coli* toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu gibi nozokomiyal enfeksiyonlara da neden olan fırsatçıve patojen bir türdür (Özkuyumcu, 2009).

2.1.1.1. Morfoloji ve Yapı

E.coli'ler Gram negatif, 2-6 µm boyunda,1-1,5 µm eninde düz, uçları yuvarlak çomak şeklinde bakterilerdir.*E. coli* suşlarının çoğunda fimbria bulunmaktadır. Fimbriaların hücrelere tutunma özelliği bulunur veprotein yapıdadırlar. Tutunma özelliği sayesinde yardımcı virülans faktör olarak rol oynamaktadır. Çoğu suş peritriş flagella ile hareketlidir (Özkuyumcu, 2009).

Mikroskopta kapsül oluşumu çok az görülür, fakat birçok suşta polisakkarit yapıda K antijeni içeren slime tabaka veya polisakkarit yapıda M antijeni içeren bir mikrokapsül bulunabilmektedir.Bu yapılar mikroskopta farkedilmeyebilir ama bu antijenlere karşı hazırlanmış bağışık serumlar ile yapılan serolojik deneylerle görülebilmektedir (Topçu, 2002).

2.1.1.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikler

Bu bakteriler genel besiyerlerinde rahatlıkla ürerler.Üreme ısı aralığı oldukça geniştir(15-45°C). Optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Fakültatif anaerop üreyen bir bakteridir.*E. coli*'lerbasit besiyerlerinde 18-24 saatte 3-4 mm çapında S tipi koloni,kapsüliçeren türleri ise M tipi koloni yapar. Mac Conkey gibi laktoz içeren bir besiyerinde koyu pembe ya da kırmızı renkte S şeklinde koloni oluştururlar. Eozin Metilen Blue (EMB) agarda suşların çoğu, metalik refle veren yeşil-siyah koloni oluşturmaktadır.Bazı suşlar kanlı agarda β-hemoliz yaparlar.Glukoz ve diğer karbonhidratlara etki ederek asit ve gaz oluşturmaktadırlar (Özkuyumcu, 2009).Bu bakteriler inositol, arabitol, adonitol ve sellobiozufermente edemezken, laktoz, mannitol, sorbitol, trehaloz, arabinoz, maltoz, ksiloz ve mannozu fermente ederler.*E.coli* suşlarının, laktozu fermente etmeyen, hareketsiz ve glukozdan gaz oluşturmayan suşları inaktif *E.coli* olarak tanımlanır. *E.coli*'lerinVoges-Prauskauer reaksiyonu, sitrat kullanımı, H_2Soluşumu, üre ve jelatin hidrolizi, fenilalanin deaminaz, lipaz, DNaz, KCN (Potasyum siyanür)'de üreme ve malonat kullanımı testleri negatif,indol, O-nitrophenyl-beta-D-galactoside (ONPG), metil-red testi, lizin dekarboksilaz ve hareket testleri ise pozitiftir(Bilgehan, 2004; Bozkaya, 2005).

2.1.1.3. Antijenik Yapı

E. coli suşlarının somatik O, flagellar H, kapsüler K ve fimbrial (Pilus) antijenleri bulunur. Enteropatojenik *E. coli*'lerde bulunanpilus antijenleri etkenin hemaglutinasyon özelliğini belirlemektedir.

O antijenleri LPS'ninpolisakkarit kısmında bulunur. Bu antijenler birçok farklı Enterobacteriaceae cinslerinin üyelerinde ortak olabilir, aynı zamanda da sıcağa dayanıklıdırlar. H antijenleri aynı zamanda flagella antijenleridir. Bu sebeple *E.coli* gibi sadece flagella bulunduranEnterobacteriaceae üyelerinde vardır. K antijenleri genellikle kapsülle veya daha az oranla fimbriyalarla ilişkili antijenlerdir. *E.coli* üyeleri içinde serolojik olarak farklı pek çok O, H, K antijenleri vardır ve spesifik serotiplerin belirli hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir (Bulut, 2014).

2.1.1.4. Patogenez ve Virülans Faktörleri

E.coli'nin virülans faktörleri enterotoksin, kapsül ve salgıladığı enzimlerden oluşur. Fimbriyalarıkonak hücrelere tutunmayı sağlamakta ve bu yapılar fonksiyonel ve antijenik özellik göstermektedir.Kolonizasyon faktörleri antijenik özelliğe sahip olup, gastroenteritten sorumludur. Enfeksiyonun oluştuğu bölge tutunma özelliğine göre farklılık göstermektedir.*E. coli* suşlarının bazıları hemolizin salgılamaktadır.Bir diğer virülans faktörü ise sideroforlardır. Bu faktörler, ihtiyaç duyulan demiri konak organizmadaki laktoferinvetransferin gibi demir bağlayan moleküllerden sağlamaktadır (Bozkaya, 2005).

Gastroenterit ve Neonatalmenenjit dışındaki tüm enfeksiyonlar endojendir.Gastroenterit'e neden olan*E.coli* suşları 5 büyük gruba ayrılır. Bunlar;enteropatojenik *E.coli* (EPEC), enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC), enteroinvaziv *E.coli* (EIEC), enteroagregatif*E.coli* (EAEC)'dir. Bunların bir kısmı ince bağırsağı tutan sekretuvar diyareye sebep olurken, bir kısmı da primer olarak kalın bağırsağı tutmaktadır(Murray, 2009).

ETEC: Enterotoksijenik *E.coli*'nin sebep olduğuenfeksiyonların patogenezinde enterotoksinve adezinolmak üzere iki önemli virülans faktörü rol almaktadır. Bu bakterilerdeplazmid tarafından kodlanan ve aynı zamanda ince barsaktaki mikrovilluslarda bulunan özel reseptörlere bağlanan adezyon molekülleri bulunmaktadır.

Kolonizan faktör (CFA-I ve CFA-II) antijenleri ise sadece ETEC üyelerinde bulunmaktadır. ETEC suşlarında ısıya dirençli stabil toksin (ST) ve ısıya duyarlı labil toksin (LT) olmak üzere iki toksin bulunur.ST-I/STa ve ST-II/STb olmak üzere iki tipi vardır. STb farklı bir etki mekanizmasına sahip ve domuzlardan izole edilen suşlarda rastlanmıştır. STa ise enterosit apikal membranında guanil siklaz C'ye bağlanmaktadır. Reseptörü aktive etmekte ve siklik guanozin monofosfatı meydana getirerek sıvı kaybına neden olmakta ve insanlarda oluşan ETEC enfeksiyonlarında STa veLT-I toksinleri rol oynamaktadır.LT'nin LT-I ve LT-II olmak üzere iki tip toksini vardır. Bu toksinlerin ikisi de aynı etki ve yapımekanizmasına sahiptir. Ancak LT-II ETEC üyeleri tarafından daha az üretilmektedir(Topçu, 2002). Gangliosidosis tip-1 (GM-1) gangliyosidlere bağlanan B alt ünitesi toksinin A alt ünitesinin hücre içine girmesini sağlamaktadır. A alt ünitesi girmiş olduğu hücrede adenilat siklaz aktivitesini uyarıpklorun hücreden çıkışını artırır, aynı zamanda sodyumun da hücre içine girişini azaltır. Bunların sonucu olarakta barsağa fazla sıvı salgılanır vesekretuar diyare meydana gelmektedir (Özkuyumcu, 2009).

EHEC:*E.coli*'nin Vero hücrelerine sitotoksik etki gösterdikleri için verotoksijenik *E.coli* (VTEC) olarak adlandırılırlar.Ayrıca *Shigella dysenteriae* tipI'in oluşturduğu toksine benzerlik gösterdiği için bu toksinler Shiga benzeri toksinler (STEC) olarak da bilinmektedir. Verotoksin 1(VT-1) ve Verotoksin 2 (VT-2) olmak üzere iki tipi vardır. Bu iki toksinde bir profaj tarafından kodlanır (lizojenik konversiyon).Toksinin A alt ünitesi hücrede protein sentezini inhibe ederek hücrenin ölümüne sebep olurken,B alt ünitesi ise konak hücrede var olanspesifik bir glikolipide bağlanmaktadır. Bu glikolipid yapısı ise böbrek endotelyal hücrelerinde ve barsak villuslarında bulunmaktadır. Bulaş yollarından en önemlisi bakteri ile kontamine olan sığır etlerinin tüketilmesidir. Ayrıca kontamine süt, su, sebze, meyve ile bulaşma da olmaktadır. Verotoksin üreten *E.coli* serotipleri arasında O157: H7 en sık rastlanandır (Topçu, 2002; Özkuyumcu, 2009).

EAEC: Hücre kültürlerinde hücrelere agregativ (kümeleşen) tarzda ya da tuğla yığını şeklinde tutunduklarından dolayı enteroagregativ *E.coli* olarak adlandırılmışlardır(Topçu, 2002).

Hep-2 ve HeLa adlı hücrelere adherans gösterirler.Yüzeyleri adheranstan sorumlu olan çok ince fibriler yapı ile kaplıdır. ST benzeri toksin ve hemolizin benzeri toksin oluştururlar (Bulut, 2014).

EPEC:*E.coli* suşlarından barsak infeksiyonlarında ilk tanımlananenteropatojenik *E.coli* (EPEC)'dir. EPEC suşları *Shigella*'lar gibi gerçek hücre içi patojeni değillerdir, LT ve ST toksini oluşturmazlar. EPEC suşları barsak hücrelerine EspA filamanları ile tutunup tipIII sekresyon sistemini kullanarak epitel hücrelere intimin reseptör molekülünü enjekte ederler. İntimin reseptörüdış membranda eksprese olmaktadır.Bu reseptöre bakteride bulunan ve önemli bir virülans faktörü olan intiminin bağlanması ile hücrede bir dizi olayının başlamasına sebep olur. Hücre yüzeyinde bakterinin tutunmadığı bölgelerde mikroviluslar uzar, tutunduğu bölgelerde mikrovilus proteini işlev göremez hale gelir ve mikrovillus harabiyetine yol açar. Sonuç olarak barsakta emilim bozulur ve diyare meydana gelir (Murray, 2009; Özkuyumcu, 2009).

EIEC: Bakteri kolon epiteline tutunur veendositozla bir vakuol içinde hücre içine alınmaktadır. Bakteri etrafını saran vakuolü eritir ve sitoplazma içine yayılarak epitel hücresi içinde çoğalmaktadır. Bu durum bakterinin virulansında önemli bir özelliktir. Daha sonra hücrenin aktin filamanlarını tekrar düzenleyerek komşu hücreye geçiş yapmaktadır. Epitel hücrede hasarmeydana gelmesiyle birlikte kolonda ülserler oluşmaktadır. (Özkuyumcu, 2009).

2.1.1.5. Epidemiyoloji

E.coli insan yaşamının ilk saatlerinde yenidoğan sindirim sisteminde kolonize olur, daha sonra bakteri ve konakçı mutual bir yaşam sürmektedir. İmmün sistem bozukluklarında ya da sindirim sistemi savunma mekanizmalarının buzulduğu durumlarda nonpatojen *E.coli*'ler bile enfeksiyon etkeni olabilir.*E.coli* suşlarının sebep olduğu enfeksiyonlar dünyanın heryerindecinsiyet veyaş ayrımı yapmadan görülebilmektedir.

E. coli'lerin oluşturduğu gastrointestinal enfeksiyonlar, virotip özelliğine göre konak veendemik bölge farkı gösterebilmektedir(Ustaçelebi, 1999). EPEC suşlarında bulaşın temel yolu insandan insana bulaştır, kontamine yiyeceklerle olan salgınlar nadirdir. Annne sütü almama EPEC enfeksiyonu için önemli bir risk faktörüdür. Bu olguların büyük bir çoğunluğu 2-3 yaşından küçük çocuklar da görüldüğü gibi erişkinlerde de nadir olarak görülür. Salgın hastalıklarda ölüm oranı %0 ile %70 arasında olabilmektedir.Sporadik olarak hastane enfeksiyonu olgularınada rastlanır, ancak daha çok çocuk klinikleri ve gündüz bakım evlerinde salgınlar görülmektedir. EPEC suşları dünyada yaygın olarak görülebilmektedir. Fakat yaz aylarında daha sık görülmektedir (Topçu, 2002; Kiraz, 2011).

EHEC için sığırlar uzun yıllar başlıca rezervuar kabul edilmiş ancak epidemiyolojik çalışmalarda kedi, köpek, keçi ve koyunlarında barsaklarında kolonize olabildikleri anlaşılmıştır.EHEC üyelerinde bulaş çoğuzaman bu bakteriyi taşıyan sığırların dışkısı ile kontamine olmuş etli besin maddelerinin tüketilmesiyle, arasıra da kontamine süt, meyve, sebze, su tüketilmesiyle olmaktadır.Genellikle okullar, bakımevlerigibi toplu yaşanılan yerlerde salgınlar görülebilmektedir. Beş yaşından küçük çocuklarda ve 65 yaş üzerinde erişkinlerde daha sık görülmektedir.Gelişmiş ülkelerde (ABD, Kanada, Avrupa) daha sık görülmektedir.ETEC suşlarında ise kontamine su ve besinlerle ve fekal-oral yolla bulaş olmaktadır. Bu enfeksiyonageri kalmış ülkelerde ve bu ülkelere seyahat eden kişilerde daha sık rastlanır. Bu yüzden turist diyaresi olarak da adlandırılır. Enfeksiyonun endemik olduğu yerlerde daha çok çocuklarda, dışarıdan gelenlerde ise her yaşta görülebilmektedir. Mevsimsel özellik göstermemektedir.EAEC'lerin neden olduğu ishalin epidemiyolojisi tam açıklanamamıştır. Gelişmekte olan ülkelerde uzun süren ishallerden gelişmiş ülkelerde ise akut ishallerden sorumlu olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.Gelişmiş ülkelerde ishalli çocuklardan izole edildiği, diğer ülkelerde ise bazı olguların seyahatle ilişkilendirildiği bildirilmiştir.EIEC suşları dahaçok kontamine besinlerle bulaşmaktadır. Epidemik veya endemik olarak görülür. EIEC ile bağırsak enfeksiyonlarına bütün dünyada seyrek rastlanmaktadır. (Kiraz, 2011)

2.1.1.6. Klinik

A. Gastrointestinal Enfeksiyonlar

Gastrointestinal enfeksiyonlara sebep olan *E. coli* türleri;

EAEC: Kronik diyare etkenidir. Küçük çocuklarda büyüme geriliğine sebep olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde uzun süren ishallerden gelişmiş ülkelerde iseakut ishallerden sorumlu olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. İnfantlarda dehidratasyona neden olmaktadır (Murray, 2009; Kiraz, 2011).

EHEC: EHEC enfeksiyonu sulu ishalle başlayıp ağır seyirli kanlı ishale (hemorajik kolit)kadar ilerlemektedir. Enfeksiyona sıcak mevsimlerde ve 5 yaşın altındaki çocuklarda daha sık rastlanır. O157: H7 serotipi ile enfekte olanların % 5-10'unda HUS (hemolitik üremik sendrom) komplikasyonu gelişir ve bu durum küçük çocuklarda daha sıktır.HUS'un neden olduğu komplikasyonlar; trombositopeni, akut böbrek yetmezliği, ve mikroanjiopatik hemolitik anemidir. HUS'da %12 ölüm riski vardır, %30 daböbrek fonksiyon bozukluğu ve hipertansiyongelişebilmektedir.EHEC için esas rezervuar sığırlardır. Bu nedenle enfeksiyon olasılığı etlerin iyi pişirilmesi ve sütlerin pastörize edilmesiyle önlenebilmektedir(Özkuyumcu, 2009).

ETEC: Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı ishallerinin önemli bir nedenidir ve ölümlere neden olabilmektedir.Genellikle turist diyarelerinin etkenidir. Hijyen koşularının kötü olduğu yerlerde kontamine besinler ve sularla bulaştığı gösterilmiştir.ETEC ince bağırsakta kolonize olmakta ve. ishale enterotoksini neden olmaktadır (Topçu,2008). Bu toksinin yönlendirdiği mekanizma sayesinde ETEC barsak mukoza hücrelerince klorid iyonlarının ve suyun artmış miktarlarda salgılanmasına neden olurken, sodyum reabsorbsiyonunu inhibe etmektedir. Barsaklarda sıvı artışı ile birlikte birkaç gün süren diyare oluşmaktadır(Özkuyumcu, 2009).

EIEC: Gelişmekte olan ülkelerde endemik enfeksiyonlara gelişmiş ülkelerde ise ara sıra salgınlara neden olmaktadır.Birçok salgın kontamine su ve yiyeceklerle ilişkilidir.İnsandan insana bulaş daha azdır. Kalın bağırsak mukozasının tutulması yaygın kolite neden olur. Ateş ve kanlı dışkılamayla seyreden dizanteri benzeri sendromun etkenidir. EIEC ile bağırsak enfeksiynlarına bütün dünyada seyrek rastlanmaktadır(Kiraz, 2011).

EPEC:Tüm dünyada fakir özellikle de hijyen koşullarının kötü olduğu yerlerde süt çocuğu diyarelerinin önemli etkenlerindendir. Yeni doğanlarda bulaşma doğum sırasında veya uterusta gerçekleşir. EPEC ince barsak mukoza hücrelerini infekte eder ve mikrovilluslarda yapısal bozukluklara ve karakteristik lezyonların oluşumuna neden olur. Sulu diyare gelişir ve nadiren kronikleşmektedir. Sulu diyarede kusma ile birlikte ishal görülür. Dışkıda kan ve mukus nadir görülür, ateş çok yükselmez veya hiç yoktur.Genellikle 1 hafta içinde kendini sınırlamaktadır. EPEC gelişmekte olan ülkelerde çocuk ve bebeklerde, özelliklede bebeklerin ilk aylarında O111 serogrubu ile meydana gelen enfeksiyonlar ölümcül olabildiğinden önemli bir patojendir (Özkuyumcu, 2009).

B. Ekstraintestinal Enfeksiyonlar

Neonatal Menenjit

Neonatal dönemdeki bakteriyemi, menenjit ve sepsiste *E. coli* etken olarak *Streptecoccus agalactiae*'dan sonra gelir.*E.coli* suşlarının çoğunda K1 kapsüler antijeni bulundurur. Bu serogrup hamile kadınlarda ve yeni doğmuş infantların gastrointestinal sistemlerinde sık görülmektedir.Bu durum yenidoğan için bir risk faktörüolarak kabul edilmiş olsada tam kesinleşmemiştir (Topçu, 2008; Murray, 2009; Özkuyumcu, 2009).

Septisemi

E. coli septisemisi tüm yaşlarda bir problemdir. Sindirim sistemi perforasyonu, apandisit veya cerrahi girişimler sırasında gelişir.*E.coli*'nin sebep olduğu septisemiler genellikle gastrointestinal kanal ya da idrar yolu kökenlidir. İmmün yetmezliği olan kişilerde ve primer enfeksiyonu abdomende oluşan vakalarda *E.coli* septisemisinin mortalitesi yüksektir (Topçu, 2008; Murray, 2009).

Üriner Sistem Enfeksiyonu

E.coli'lerin en sık rastlandığı enfeksiyon üriner sistem enfeksiyonudur. Nozokomiyal ya da toplumdan kazanılmış(%85) enfeksiyonlara sebep olurlar.Üriner sistem enfeksiyonlarının insidansında kadın ve erkekler arasında farklılık vardır. Bunun bir nedeni üropatojenik bakterilerin kolonda kolonize olmaları ve buradan üretraya ulaşmaları, diğer bir nedeni ise mesane enfeksiyonu sırasında üropatojen *E. coli*hücrelerinin mesane üroepiteliyal hücrelerine yerleşmesi ve antibiyotiklerin etkisinden kurtularak daha sonra enfeksiyona neden olmalarıdır (Murray, 2009).

2.1.1.7. Tedavi

*E.coli*suşlarının sebep olduğu enfeksiyonlarının tedavisi enfeksiyon merkezine ve özgül izolatın gösterdiği direnç profiline bağlı olduğu bilinmektedir.*E.coli* suşlarının çoğu TEM-1 beta-laktamazı oluştururlar vekarboksipenisilinlere, üreidopenisilinlere ve aminopenisilinlerekarşı dirençli olurlar.*E.coli*enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler şunlardır;*E.coli* sepsisi için parenteral antibiyotik tedavisi gerekirken,komplikasyonsuz idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde trimetoprim-sulfametoksazol veya ampisilin düşünülmektedir, gentamisin gibi bir aminoglikozidle birlikte ya da tek başına kullanılan üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılmaktadır. Neonatal menenjit tedavisi için ampisilin ile sefotaksim kombinasyonu tavsiye edilir. *E.coli*'nin sebep olduğu gastrointestinal

enfeksiyonlarda iseantibiyotik tedavisi genel olarak endike değildir. Diyarelerinin tedavisinde esas olan hastanın kaybettiği sıvının geri verilmesidir. Bununla beraber trimetoprim-sulfametoksazol ya da löperamid kullanılması beklenen süreyi kısaltabilmektedir (Topçu, 2002).

2.1.2. *Klebsiella*

Klebsiella cins adı 19. yy sonlarında Alman bakteriyolog Edwin Klebs onuruna oluşturulmuştur. Sonralarda Carl Friedlander adlı araştırmacı tarafından tanımlanmış olan *Klebsiellapneumoniae*'nin yaptığı ağır, sıklıkla öldürücü pnömoni tablosu ile bakteri uzun yıllar Friedlander basili olarak anılmıştır (Topçu, 2002).*Klebsiella* türleri Enterobacteriaceae ailesinin *Klebsillea* cinsinde*Enterobacter, Citrobacter* ve *Serratia* ile birlikte yer almaktadır.*K.pneumoniae* tıbbi açıdan en önemli olan türdür. Doğada yaygın olarak bulunabildiği gibi, insan ve hayvan gastrointestinal sistem florasında da yer alırlar.Üriner sistem enfeksiyonu, pnömoni, bakteriyemi gibi çok çeşitli infeksiyonlara neden olurlar.*Klebsiella* türleri; *Klebsiella pneumoniae,Klebsiellaoxytoca,Klebsiella rhinoscleromatis, Klebsiella ornithinolytica, Klebsiella ozaenae,Klebsiella granulomatis,Klebsiella planticola, Klebsiellatrevisanii* ve *Klebsiellaterrigens'dir. Klebsiella*cinsi içerisinde hastalık oluşturan türler şunlardır; *K. pneumoniae, K.oxytoca* ve *K.granulomatis*'dir.

2.1.2.1. Morfoloji ve Yapı

Klebsiella türleri 0,7-1,5 µm eninde, 2-5 µm boyunda Gram negatif, sporsuz, kapsüllü, hareketsiz bakterilerdir.Tek tek, ikili veya kısa zincir şeklinde görülebirler.*Klebsiella*suşlarının çoğu ilk izolasyonda, karbonhidrat bakımından zengin venemli besiyerlerinde yapılan kültürlerde bakteri çevresinde geniş bir kapsül oluşturmaktadır. Genellikle bukapsülnormal Gram preparatlarında şekilsiz bir bölge gibi görülsede, çini mürekkebi ile hazırlanan preparatlarda daha şekilli ve düzgün görülür.

Kapsül oluşturmayan suşlar görüldüğü gibi slime tabakası gibi az kapsüloluşturan suşlarda görülebilmektedir. Bu bakteriler flagella bulundurmaz. Solunum yollarından izole edilen *K.pneumoniae*suşları genellikle tipI fimbria bulundururken, diğer kaynaklardan izole edilen*K. pneumoniae* suşları tipIII fimbria bulundururlar. *K.pneumoniae*'nın bazı suşları, *K.ozaenae* ve *K.rhinoscleromatis*'in bütün suşları fimbriasızdır (Topçu, 2002; Bilgehan, 2004).

2.1.2.2. Antijenik Yapı

Klebsiella cinsinin en ayırıcı özelliklerinden birisi katı besiyerinde büyük mukoid koloniler oluşturmasına neden olan polisakkarit kapsülünün bulunmasıdır. Bu kapsülün 80'den fazla antijenik yapısı vardır ve *Klebsiella*'larda kapsül (K) antijenine göre yapılan tiplendirme, somatik (O) antijenine göre yapılan tiplendirmeden daha önemlidir. Aynı zamanda K antijenleri fagositozu ve enfeksiyon bölgesine fagositlerin göçünü engelleyen virülans faktörüdür. O antijenleri ise bakterinin endotoksinini oluşturmaktadır (Kiraz, 2011).

2.1.2.3. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Klebsiella türleri fakültatif anaerop'tur. Optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. *K.pneumoniae* hariç diğer türler 4-44°C aralığında ürerler. Basit besiyerlerinde kapsülsüz suşları 18-24 saatte S tipi koloni, kapsüllü suşları ise M tipinde koloni oluşturur.*Klebsiella* metabolik olarak aktif bir bakteri türüdür. Potasyum siyanür (KCN) varlığında üreyebilirler. Birçok karbonhidratı asit ve gaz oluşturarak fermente edebilirler.H_2Süretmez, fenilalanini deamine etmezler (Ustaçelebi, 1999; Bilgehan, 2004). *K.pneumoniae* eskulini ve üreyi hidrolize eder. Voges-Prauskauer reaksiyonu pozitif, metil kırmızısı reaksiyonu negatiftir. Tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanabilirler. İndol testi ile*K.pneumoniae* ve *K.oxytoca*'nın ayrımı yapılır. Bu test, *K.oxytoca*'da pozitif,*K.pneumoniae*'de ise negatiftir(Ustaçelebi, 1999;Bilgehan, 2004).

2.1.2.4. Patogenez ve Virülans Faktörleri

Klebsiella, insanlarda üst solunum yollarında, deride ve barsakta düşük oranlarda kommensal olarak bulunurken, doğada cansız ortamlarda ve hayvan floralarında yaygın bir şekilde bulunmaktadır.Boğaz, deri ve kolonda hızla kolonize olup immün sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyona yol açabilmekteler. Hastanede yatan hastalarda antibiyotik kullanımına bağlı olarak bakteri sayısı ve kolonizasyon oranı hızla artmaktadır. Çoklu ilaç direncine sahip olması, çevre koşullarına ve kuruluğa dayanıklı olması sebebiyle hastane ortamında kolaylıkla yayılırlar.Hastane ortamında kaynak, hem endojen hemde ekzojen odaklıdır. Bu nedenle nozokomiyal enfeksiyonlar, toplum kaynaklıenfeksiyonlara göredaha sık görülmektedir.Bu bakterilerEnterobacteriaceae ailesinin ortak virülans faktörlerine sahiptirler. Sahip oldukları kapsülleri bakteriyi, serumun öldürücü etkisine ve fagositoza karşı dirençli kılmaktadır. Bazı suşları enterotoksin salgılamaktadır. Bu toksin *E.coli*'nin ısıya duyarlı LTve ısıya dayanıklı ST ile benzerlik göstermektedir. Suşların birçoğu beta-laktamaz salgılayarak beta-laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirirler (Özkuyumcu, 2009).

2.1.2.5. Epidemiyoloji

Nozokomiyal enfeksiyonlarda*K.pneumoniae* enfeksiyonu ilk sırada yer almaktadır.Özellikle de gelişmekte olan ülkelerde çoklu direnç gözlenmektedir. Değişik direnç mekanizmaları ile birçok antibiyotiğe karşı dirençlidir, bununla birlikte dış koşullara ve kuruluğa direnci hastane ortamında daha kolay yayılmasına sebep olmaktadır. Hastane enfeksiyonları endojen ve ekzojen kaynaklıdır. *K.rhinoscleromatis* ve *K.ozaenae* Afrika, Güney Amerika, Doğu Avrupa,Uzak Doğu ve Akdeniz ülkelerinde çok nadir rastlanabilen rinosklerom ve ozene hastalıklarına yol açmaktadır (Topçu, 2002; Murray, 2009).*K.oxytoca* ve *K.pneumoniae*epidemiyolojileri benzerdir.

İkisi de ileri yaşlılar, infantlar, özellikle solunum sisteminde olmak üzere sistemik diğer bir hastalığı olan, damar içi katater ve idrar sondası uygulananlar, yoğun bakımda yatanlar ve geniş spektrumlu antibiyotikler ile tedavi gören hastalar için daha büyükenfeksiyon riski oluşturmaktadırlar (Topçu, 2002; Murray, 2009).

2.1.2.6. Klinik

K.pneumoniae ve daha az sıklıkta da *K.oytoca*toplum ve nozokomiyal kaynaklı lober pnömoniye sebep olan ve en sık izole edilen türlerdir. *Klebsiella* türlerininneden olduğu hastalığın, nekrotik, inflamatuvarve hemorajik yapısınedeniylebalgam kanlı ve çoğu kez jölemsi görünümündedir.Abse, kavite oluşumu ve plevraya geçme eğilimi fazladır.*K.pneumoniae*, pnömoni dışında yara enfeksiyonlarına, üriner yolenfeksiyonları, bakteriyemiler, safra yolu enfeksiyonları, peritonit, menenjit, damar içi ve diğer invaziv cihazlara bağlı enfeksiyonlarada neden olmaktadır. *K.rhinoscleromatis* burun ve farenkste destrüktif bir granülomaya neden olur.*K. ozaenae* burun mukozasında yeşil-sarı, atrofi ve çok kötü kokulu burun akıntısı ile seyreden ozene olgularında saptanmaktadır.*K.granulomatis*tropikal bölgelerde granuloma inguinale (donovanoz) sebebidir.Kültürde üretilmesi zor olduğundan, genital ülserlerden hazırlanan preparatların giemsa boyamasındahistiyositler içinde donovan cisimciklerinin ya da mononükleer hücreler görülmesiyle tanı konulmaktadır (Murray, 2009; Kiraz, 2011).

2.1.2.7. Tedavi

Bu bakteriler birçok antibiyotiğe karşı çeşitli dirençler geliştirdikleri için antibiyotik seçimi duyarlılık testleri sonucuna göre belirlenmelidir.Nozokomiyalenfeksiyonlara sebep olan bakterilersıklıkla çok sayıda antibiyotiğe direnç göstermektedir. *Klebsiella*, amino ve karboksipenisilinlere doğal dirençlidir.Kromozomal direnç ile birlikte direnç plazmidlerine de rastlanılmaktadır. Birçok suş GSBL üretebilmektedir. Bu oran ülkemizde de hızla artmaktadır. Bu sebeple çoklu ilaç

direncine sahip suşların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde birinci kuşak sefalosporinler, beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları ile penisilin, trimethoprim-sulfametaksazol, florokinolonlar, veaminoglikozidler kullanılması tavsiye edilir. Çoklu ilaç direncine sahip suşların, özellikle de GSBL üreten suşların tedavisinde isekarbapenemler ve dördüncü kuşak sefalosporinler kullanılmalıdır (Topçu, 2002).

2.2. Beta Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam ajanlar, kimyasal yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşımaktadır. Bu antibiyotikler hücre duvarı sentezini inhibe eder ve bakterisidal etki gösterirler. Bu antibiyotikler; Karbapenemler, sefalosporinler, penisilinler, monobaktamlar, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri olmak üzere 5 gruba ayrılır (Bulut, 2014).

2.2.1. Karbapenemler

Karbapenem antibiyotik grubu ilk olarak 1976 yılında *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen ve "thienamycin adı verilen bileşiğin bir türevidir.Günümüzde bulunan antibiyotikler içinde en geniş spektrumlu gruptur. Karbapenemler tüm beta-laktamlar gibi beta-laktam halkası içerir ancak 6. pozisyonda trans bağlantılı hidroksietil yan zincirinin varlığı sebebiyle diğer beta-laktam antibiyortiklerden ayrılmaktadır.Bu özelliğinden dolayı karbapenemler, metallo-β-laktamaz (MBL) dışında diğer beta-laktamaz enzimlerine son derece dayanıklıdır.Beta laktam antibiyotikler gibi peptidoglikan biyosentezi üzerine etki göstermektedir.Mikobakteriler, hücre duvarı bulunmayan organizmalar (*Mycoplasma*, *Sphaeroplast*'lar,*Protoplast*), bazı nonfermentatifler, *Aeromonas* dışında Gram pozitif, Gram negatif ve anaerop mikroorganizmalarla oluşan nozokomiyal enfeksiyonlar ve toplumdan kazanılmış olan patojenlere etkilidirler. Karbapanemler içerisinde ilk bulunan antibiyotik grubu İmipenem'dir.Bu antibiyotikmonoterapötik özellik gösteren,hücre duvar sentezini inhibe eden ve

bakterisidial etki gösteren antibiyotiktir. Klinik olarak önem taşıyan bakterilerin çoğuna etkilidir (Sarı, 2005).

Bu antibiyotik Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin çeperindeki penisilin bağlayan protein'lerine (PBP-1 ve PBP-2) yüksek bir afinite gösterip bağlanmaktadır. Bağlanma ilk olarak PBP-2'ye ve ardından PBP-1'e olmaktadır (Sarı, 2005).İmipenem Gram pozitif bakterilere daha etkilidir ve böbreklerden salgılanan dehidropeptidaz enzimi (DHP-1) ile inaktive olmaktadır bundan dolayı bu enzimin inhibitörü olan silasitatin ile birlikte kullanılmalı (Sarı, 2005).

1996 yılından sonra ise karbapenem grubunun ikinci üyesi olan meropenem kullanıma dahil edilmiştir. Bu antibiyotik karbapenem halkasına 1-β-metil grubu eklenmesiyle elde edilmiştir. Meropenem, dihidropeptidaz enzimine dayanıklı olduğundan tek başına parenteral kullanılabilir. İmipenem antibiyotiğine göre etki süresi daha uzundur. Gram pozitif, Gram negatif ve anaerop bakterilere karşı etkindir. Meropenem ise Gram negatiflere özellikle de *Pseudomonas aeruginosa*'ya daha etkilidir (Keskin, 1998; Öncül, 2002).

Ertapenem yapısında bulundurduğu 1β-metil grubu DHP-1 enzimine karşı dayanıklılığı sağlar. Ertapenem 2001'de yetişkinler de, 2005'de ise 3 aydan büyük çocuklar için kullanıma dahil edilmiştir (Alhan, 2011). İmipenem ve meropeneme benzer şekilde 6-hidroksietil grubu betalaktamazlara karşı stabiliteyi sağlar. Ertapenem betalaktam antibiyotikler gibi hucre duvar sentezini engelleyerek bakterisidal etki gosterir. Enterobacteriaceae'ye ve anaeroblara etkilidir, ancak*P.aeruginosa, Acinetobacter, Enterokoklar* ve penisilin dirençli pnömokoklara etkili değildir (Özmen, 2013).

Karbapenemlerin en yeni bir üyesi doripenem'dir.ABD'de 2007 yılındakullanılmaya başlanmıştır. PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini inhibe ederek etki göstermekteler.DHP-1 enzimine karşıstabildir. Doripenemin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkinliği imipenem ve meropeneme benzer şekildedir (Özmen, 2013).

2.2.2. Karbapemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler bakteriyel membranlardan hızla geçebilme özelliklerinin, antibakteriyel spektrumlarının geniş olması,GSBL ve AmpC enzimlerine dayanıklı olmalarından dolayı çoklu dirençli Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotik grubu arasındadırlar. Fakat, karbapenemlerin yaygın olarak kullanılması sonucunda, bu antibiyotikleredirenç gelişimi meydana gelmiştir. Karbapenemlere karşı gelişen direnç mekanizmaları üç şekilde oluşmaktadır (Bulut, 2014).

2.2.2.1. Hedef PBP değişimleri

Gram negatif bakterilerin sitoplazmik membranında bulunan PBP'lerin yapısında meydana gelen değişiklik nedeniyle antibiyotiğin bağlanmasının tamamen engellenmesiyle veya afinitesinde azalma olacak şekilde meydana gelen bir olaydır. Örneğin; *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus'* da penisiline karşı gözlenen direnç gelişimi. PBP'lerdeki bu değişiklikler kromozomal mutasyonlara bağlı olarak gelişmektedir (Bulut, 2014).

2.2.2.2. İlacın Hücre İçinde Etkin Konsantrasyona Ulaşmaması

Aktif Pompalama Sistemlerinin İndüklenmesi

Aktif pompalama sistemi antibiyotiklere dirençli ve duyarlı olan bütün mikroorganizmalarda bulunmakta ve mutasyonların meydana gelmesi ile antibiyotiklere direnç geliştirmektedirler (Topçu, 2008).Son birkaç yıldır bir çok bakteride çoklu antibiyotik direncine neden olan kromozom ve plazmid kaynaklı

çeşitli atım pompaları bildirilmiştir. Gram negatif bakterilere özgü olan RND (resistance-nodulation-division) üç bileşenlidir (Topçu, 2008).

Bu pompada, sitoplazmaya yerleşmiş bir pompa protein, membran füzyon proteini (MFP) adında periplazmik protein ve bir dış membran proteini (Omp) bulunur. Atım pompalarının en çok çalışıldığı bakterilerden biri *P.aeruginosa*'dır. Bu bakteridebulunan atım pompa sistemlerinden, stoplazmik membran proteini (MexB, MexD veya MexF) enerjiye bağlı pompa olarak iş görür, dış membranda bulunan ve por oluşturan protein (OprN, OprM veya OprJ) dış membranda bir çıkış yolu sağlar, (MexA, MexC veya MexE) periplazmik boşlukta bulunur ve diğer iki protein arasındaki bağlantıyı sağlar.Yüksek oranda aktif pompa üreten bakterilerin sebep olduğuenfeksiyonlarıntedavisi bilinmemektedir. RND tipi aktif pompa proteinlerine örnek olarak;*E.coli*'de AcrA-AcrB-TolC, *K.pneumoniae*'da ise Ram A verilebilir (Topçu, 2008).

Porin değişimleri

Beta-laktam antibiyotiklerin çoğu hidrofilik yan zincirler içerdikleri için porin proteinlerdeki değişimlerden etkilenmektedir. Örneğin,*P. aeruginosa*suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı sonucunda bu antibiyotik sınıfına karşı direnç gelişmekte,*Escherichia coli*suşlarında ise dış membran porinlerinden OmpF ve OmpC'nin kaybı sonucunda beta-laktam minimal inhibitör konsantrasyon (MİK)'larında 8-16 kat artış görülmektedir.Bu mekanizma meropenem, penisilin, sefalosporin, kinolon, tetrasiklin ve kloramfenikol için geçerli fakat imipenem için geçersizdir (Kohler, 1999).*K.pneumoniae*'nın karbapenem direnci plazmid aracılığı ile AmpC beta-laktamaz varlığı veporin kaybının varlığında gelişmektedir (Bradfor, 1997).*P.aeruginosa*'daki imipenem direnci porin kaybı ile oluşmakta fakat bu durum sadece kromozomal AmpC beta-laktamaztanımlandığı vekorunduğu zamanişlevini göstermektedir. İn vitro koşullarda porinlerini kaybetmiş mutantların kısa sürede elde edilebilmesine karşın porin eksikliği olan Gram negatif bakteri mutantları klinikte nadirdir (Lee, 1991).

2.2.2.3. Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin varlığı (Beta-laktamazlar)

Gram negatif bakterilerde beta-laktamazlar, sitoplazmik membran ve dış membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerde bu enzimleri kodlayan genler kromozom, plazmid veya transpozonlarda bulunurlar. Bugüne kadar 600'den fazla farklı beta-laktamaz enzimi vardır. Ambler 1980'de, Bush, Jacoby ve Medeiros 1995'de beta-laktamaz enzimlerinimoleküler ve biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırmışlardır. (Rpzenfe'd, 1980).Tablo 2.1'de beta-laktamazlarınsınıflandırması gösterilmektedir.

Tablo 1.1 Beta Laktamazların Sınıflandırılması (Bulut, 2014)

Bush-Jacoby	Ambler	Temel Alt Gruplar	Temel Özellikler
Grup 1 Sefalosporinazlar (klavulanik asit ile inhibe olmaz	C	1e	Çoğunlukla Gr (-) bakterilerdeki kromozomal enzimler (Amp C) Karbapenem hariç tüm beta -laktamlara dirençli, Seftazidime yüksek afinite
Grup 2 Penisilinazlar (klavulanik asit ile inhibe olur)	A	2a	Gram (+) bakterilerdeki penisilinazlar
	A	2b	Çoğunlukla Gr (-) bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1) Ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin direnci
	A	2be	Genişletilmiş spektrumlu (TEM, SHV türevi enzimler, PER-1, CTX-M, VEB-1, GES-1) Ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin direncine ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci
	A	2br	Klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam dirençli (TEM-30, SHV-10)
	A	2ber	Klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam direncine ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam dirençli (TEM-50)
	A	2c	Karbenisilini hidrolize eden enzimler (PSE-1, CARB-3)
	A	2ce	Karbenisiline ek olarak, sefepim, sefpirom hidrolize eden enzimler (RTG-4: CARB-10)
	D	2d	Oksasilin ve kloksasilin hidrolize eden enzimler (OXA-1, OXA-10)
	D	2de	Kloksasilin veya oksasilin hidrolizine ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci (OXA-11, OXA15)
	D	2df	Kloksasilin veya oksasilin hidrolizine ek olarak karbapenem hidrolizi (OXA-23, OXA-48, OXA-58)
	A	2e	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar (CEP A)
	A	2f	Karbapenem, seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci, sefamisin hidrolizi (KPC)
Grup 3 Metallo-betalaktamazlar	B	3a	Çinko-bağımlı karbapenemazlar Karbapenem hidrolizleri yüksek, monobaktam hidrolizleri zayıf Klavulanik asit ve tazobaktam ile inhibe olmazlar Metal iyonu şelatörleri ile inhibe olurlar (IMP, VIM)
NI	Sınıflanmamış		Dizileri bilinmeyen çeşitli enzimler

Karbapenemazlar, karbapenemlerin hidrolizine ve bunun sonucunda karbapenem MİK değerlerinde yükselmeye neden olan betalaktamazlardır. Karbapenem direncinde, karbapenemazlara göre daha kısıtlı olan diğer mekanizmalar, efluks (aktif pompa) sistemleri, impermeabilite ve buna eşlik eden AmpC veya GSBL üretimidir.1990 öncesinde tanımlanan karbapenem hidroliz eden enzimlerin tümü kromozomal olarak bilinmektedir, fakat yakın geçmişte Japonya'dan plazmid aracılıklı metallo-β-laktamaz varlığı da bildirilmiştir (Amyes, 1997; Nordman, 2007).

Kromozomal (Doğal) Karbapenemazlar

Moleküler sınıflandırmada ambler sınıf B içerisinde yer alan karbapenemazlar bu grup içinde incelenmektedir. *Myroides* (*Flavobacterium*) *odoratum*, *Legionella gormanii*,*Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hidrophila*, *Aeromonas sobria* ve *Bacillus cereus* gibi bakterilerin kromozomları tarafından kodlanmaktadır.Doğal karbapenemazların tamamında görülen katalitik aktivite çinko iyonlarına bağlıdır ve EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) ile birleştiklerinde bu etkilerini kaybederler (Livermore, 2000).

Kazanılmış Karbapenemazlar

Bu karbapenemazlar karbapenemler ile birlikte diğer beta-laktam grubu antibiyotikleri de hidroliz edebilir.Bu karbapenemazlar ambler moleküler sınıf A, B ve D grubunda bulunan enzimleri içermektedir. Sınıf A SME (*Serratia marcescens* enzyme), NMC(not metalloenzyme carbapenemas), IMI (imipenem-hydrolyzing betalactamase) enzimleri, sınıf D'de OXA tipi enzimler (çoğunlukla *Acinetobacter*spp.'de) bulunur. Sınıf B ise metalloproteinazlar olarak adlandırılmaktadır. Kazanılmışsınıf B karbapenemazlar Entrobacteriaceae üyelerinde,*P. aeruginosa* ve*Acinetobacter* spp.'de *görülür*, sınıf A karbapenemazlar birkaç Entrobacteriaceae üyesinde görülür.

Sınıf D karbapenemazlar iseEnterobacteriaceaetürleri,*Acinetobacterbaumannii, P.aeruginosa* gibi bakterilerde görülür.Enterobacteriaceae'nın bazı türlerinde kromozomal (doğal) enzimlerbazı türlerinde iseplazmid aracılı kazanılmış beta-laktamazlargörülmektedir (Bulut, 2014). Enterobacteriaceae ailesinde sık görülen betalaktamaz enzimler Tablo 2.2'de sunulmuştur.

Tablo 2.2Enterobacteriaceae ailesinde görülen betalaktamaz enzimler (Bulut,2014)

Moleküler sınıf (fonksiyonel grup)	Enzimler	Gen Bölgesi	EDTA	ATM	CLA	Organizmalar
A (2f)	Sme-I,Sme-3, IMI-I, IMI-3, NmcA, SFC-I,	Kromozomal	-	R	±	*S.marcescens* ve *E.cloacae* Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa, A.baumannii*
	KPC-2, KPC-13,	Plazmid	-	R	±	Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa, A.baumannii*
	GES-I, GES-20	Plazmid	-	S/R	+	
B (3)	IMP-1, IMP-33, VIM-1, VIM-33, NDM-1, NDM-6, SPM-1, SIM, GIM, IND-1, IND-7, AIM, DIM, KHM	Kromozomal/ Plazmid	+	S	-	Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa* ve diğer GNNFB
D (2df)	OXA-23 grup (OXA-23, OXA-27, OXA-49) OXA-24 grup (OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-40, OXA-72) OXA-40 grup (OXA-40, OXA-143, OXA-58) OXA-48 grup (OXA-48, OXA-54, OXA-181)	Kromozomal/ Plazmid	-	S	±	Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* ve diğer GNNFB

Sınıf A Karbapenamazlar

Beta-laktamlar üzerinde geniş hidrolitik aktiviteye sahip olan sınıf A karbapenemazlar, serin karbapenemazlar grubuna aittirler vekarbapenemlere ek olarak aztreonam (monobaktam), penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize edebilirler. Klavulanik asit ve tazobaktam ile kısmen inhibe olabilirler. Bu sınıfta plazmidle kodlanan KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) vekromozomal kodlanan NMC/IMI ile SME olmak üzere üç majör enzim grubu tanımlanmıştır.KPC üreten suşlar, bu grubun çoğunluğunu oluşturmaktadırlar. KPC beta-laktamazlar özellikle *K. pneumoniae*'da sık görülmekle birlikte*E. coli*,*Enterobactercloaca*, *Citrobacter freundii*, ve *Salmonella* spp.'de de görülmektedir. KPC varyantı olan KPC-2 ilk kez 1996'da Amerika'da bir *K.pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir. Ardından KPC-3 (KPC-1/KPC-2'den tek bir aminoasit farkı olan) taşıyan *K.pneumoniae* ile New York şehrinde bir salgın bildirilmiştir. Güney Amerika ve Çin'de rapor edilen olgularla KPC dünyada büyükbir problem haline gelmiştir.SME-1 ilk kez 1982'de İngiltere'de *Serratia marcescens* türünde bulunmuştur. SME-1 beta-laktamazı ile birlikte SME-2 ve SME-3 ABD'nin çoğu bölgesinde sporadik olarak bildirilmektedir. NMC ve IMI enzimleri ABD, Fransa ve Arjantin'de *E. cloaca*'da nadir olarak tespit edilmiştirler(Queenan, 2006; Pottumarthy, 2003).

Sınıf B Karbapenemazlar

MBL'ler belirgin aminoasit sekans farklılıklarına rağmen üç farklı fonksiyonel özellik paylaşan bir enzim sınıfını (moleküler sınıf B) oluştururlar. Bu özellikler; karbapenemleri hidrolize etme yeteneği, beta-laktamaz inhibitörlerine direnç ve EDTA'ya, duyarlılıktır.Bu enzimlerin en önemli özellikleri monobaktamlar dışındaki tüm betalaktamları ve karbapenemleri hidroliz edebilme yeteneğinde olmalarıdır. İlk olarak Gram pozitif bakterilerde, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Bacteroides fragilis*'de tespit edilmişlerdir.Enterobacteriaceaesuşlarında yaygın görülen MBL enzimleri, Verona integron-encoded (VIM), Imipenemase (IMP) ve New Delhi MBL-1 (NDM-1) tip enzimlerdir.

IMP ve VIM Yunanistan,Tayvan veJaponya'da endemik olarak rapor edilmiştir. NDM-1 enzimi ilk kez2007 yılında İsveç'ten, Hindistan'a sıkça seyahat edenbir hastada tesbit edilmiştir(Yong, 2009).

Sınıf D Karbapenemazlar

Bir diğer serin beta-laktamaz olan oksasilinazlar, fonksiyonel olarak oksasilin ve kloksasilini hidrolize edebilen penisilinazlar olarak tanımlanmaktadır. Bu enzim grubunda karbapenemaz aktivitesi ilk olarak 1993 yılında *Acinetobacter baumannii* suşunda tanımlanmıştır. HeterojenOXA grubu arasında farklı derecelerde karbapenem hidrolizeetme yeteneklerine göre 4 alt gurup belirtilmiştir; OXA-58 OXA-23 OXA-24, ve OXA-51. İlk 3 grup aktarılabilir plazmidler tarafından kodlanırken, OXA-51 kromozomlar tarafından kodlanır ve *A.baumannii* suşlarında bulunmaktadır.OXA-51 ve OXA-23'de promoter bölge varlığı (ISAba1) karbapenem direncine katkıda bulunmaktadır.Enterobacteriaceae ailesinde karbapenemaz aktivitesi ön planda olan başlıca OXA tipi enzim ise OXA-48 enzimidir. OXA-48 tipi karbapenemaz, ilk olarak 2001 yılında Türkiye'de bir hastadan izole edilen *K.pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir. Karbapenemleri hidroliz etme yetenekleri azdır.EDTA ve klavulanik asit ile zayıf bir inhibisyon göstermektedirler(Yan, 2001).

3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 16.SAĞ.BİL.10 numaralı proje ile desteklenip Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. İzolatların Toplanması

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı arşivinde muhafaza edilen 207*K.pneumoniae,* ve 57*E.coli* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların izole edildiği örnekler; % 47,3 idrar, % 11,7 yara, % 19,3 kan, % 10,6 trakeal aspirat, % 4,3 diğer örnekler, % 6,8 balgamdır.*Klebsiella pneumoniae* suşlarının % 43'ü ve *E.coli* suşlarının % 65'i idrar örneklerinden elde edilmiştir. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırma Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır (2012-KAEK-15/1152).

3.2. Besiyerlerin Hazırlanması

Çalışma süresinde toplanan *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının üretimi rutin kullanımda yer alan Kanlı Agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) Agar (Oxoid, England) ile gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin yeniden canlandırılması işleminde Brain Heart İnfüzyon Buyyon (BHI) (Oxoid, England) kullanılmıştır. Çalışma esnasında kullanılan tüm besiyerleri üretici firma tarafından tarafımıza sağlanmıştır.

3.3. Suşların İdentifikasyonu

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen örneklerEMB ve kanlı agara ekimleri yapıldı.Kanlı agarda düzgün 2-3 mm çapında laktoz pozitif ve EMB agarda metalik röfle yapan kolonilerin *E.coli,* EMB agarda 3-4 mm çapında pembe mukoid, kanlı agarda mukoid 3-4 mm çapında laktoz pozitifkolonilerin *Klebsiella* türü bakteri olduğu düşünülen suşların Gram boyaması yapılmıştır.

Gram Boyama

Gram boyama, bakterileri hücre duvarlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre iki büyük gruba (Gram-pozitif, Gram-negatif) ayırmak için kullanılandeneysel bir yöntemdir. Gram boyama yapmak için elimizde bulunan hasta numuneleri lama sürülüp kurutularak hazırlanan preparatların üzerine kristal viyole boyası damlatılıp 1 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. Sonrasında preparata lugol çözeltisi damlatılıp 1 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanarak lugol çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Ardından Preparatın üzerine %96'lık etil alkol dökülerek 30 saniye bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. En son olarak sulu fuksin damlatılıp ve 30 saniye bekletilmiş ve preparat distile su ile yıkanarak havada kendi halinde kurumaya bırakılmıştır. Preparata immersiyon yağı damlatılıp, 100'lük objektifle incelenmiştir. Gram negatif bakteriler pembe-kırmızı renkli ve çomak şeklinde değerlendirilmiştir.

3.4. Antibiytik Duyarlılık Testi

İzole edilen bakterilerin tümünün Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde, otomatize sistemler (Vitek 2, BioMerieux, USA) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2018) kriterlerinegöre "duyarlı", "orta duyarlı" ve dirençli" olarak yorumlanmıştır. (Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.)

Tablo 3.1. *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sınır değeri profili

Klebsiella pneumoniae	**MIC değeri (mg/L)**		**Disk içeriği (µg)**	**Zone çapı değeri(mm)**	
	S≤	**R>**		**S≥**	**R<**
Amoksisilin/Klavunat	8	8	20-10	19	19
Piperasilin/Tazobaktam	8	16	30-6	20	17
Seftazidim	1	4	10	22	19
Sefotaksim	1	2	5	20	17
Seftriakson	1	2	30	25	22
İmipenem	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16
Ertapenem	0,5	1	10	25	22
Gentamisin	2	4	10	17	14
Amikasin	8	16	30	18	15
Tobramisin	2	4	10	17	14
Siprofloksasin	0,25	0,5	5	26	24
Levofloksasin	0,5	1	5	23	19

Tablo 3.2.*E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sınır değeri profilleri

Escherichia coli	**MIC değeri (mg/L)**		**Disk içeriği (µg)**	**Zone çapı değeri(mm)**	
	S≤	**R>**		**S≥**	**R<**
Amoksisilin/Klavunat	8	8	20-10	19	19
Piperasilin/Tazobaktam	8	16	30-6	20	17
Seftazidim	1	4	10	22	19
Sefotaksim	1	2	5	20	17
Seftriakson	1	2	30	25	22
İmipenem	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16
Ertapenem	0,5	1	10	25	22
Gentamisin	2	4	10	17	14
Amikasin	8	16	30	18	15
Tobramisin	2	4	10	17	14
Siprofloksasin	0,25	0,5	5	26	24
Levofloksasin	0,5	1	5	23	19
Ampisilin	8	8	10	14	14

3.5. Karbapenemazların Genotipik Yöntemle Araştırılması

Elde edilen izolatların DNA izolasyonu gerçekleştirilip, inhouse PZR ile optimizasyon çalışmaları yapılmış, ardından moleküler çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

3.5.1 Bakteriyel DNA'nın Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için kaynatma yöntemi kullanılmıştır.DNA izolasyonunda kullanmak üzere, çalışmadan bir gün önce suşların tamamı -80°C'den çıkarılmış ardındanBHI buyyonda bir gece inkübe edilerek yeniden canlandırılmış, kanlı ve EMB agara subkültürleri yapılmıştır.Her bir örnek için steril ependorf tüplerine 100µl dH_2O ilave edilerek üzerlerine steril öze ile 4-5 koloni süspanse edilmiştir. Kaynamış 100˚C'lik saf suda 15 dakika kaynatılmıştır. Oda sıcaklığında soğuması için beklenmiş ve soğuma işleminden sonra 14000 rpm'de bir dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant kısmından 30µl alınarak PZR işlemi için ayrılmıştır.

3.5.2. Primerlerin Hazırlanışı

Gen bölgelerinin amplifikasyonları için altı farklı primer seti kullanılmıştır.Hedeflenen DNA dizilimleri Gen bankası verileri yardımı ile tarama yapılarak bulunmuştur. Seçilen primerlerin belirlenen hedef DNA'ya özgün olup olmadığını saptamak için primer-3 plus programı kullanılmıştır. NDM, VIM, OXA-48, IMP OXA-58, KPC için yaklaşık olarak 20-30 basepair (bp) uzunluğundareverse ve forward primerler belirlenmiştir.Primer dizilerinin uygunluğunu diğer yayınlar yardımı ileliteratür taraması yapılmış ve primer dizaynına karar verilmiştir. Liyofilize halde bulunan primerlerin (ThermoScientific, ABD) sulandırma işlemi üretici firma talimatları doğrultusunda protokole uygun olarak yapılmış ve 100 pmol/µl konsantrasyonda stok primerler oluşturulmuştur.

Çalışmamız için kullanılacak primerlerin konsantrasyonu 10 pmol/µl olarak belirlenmiştir. Bunun için 100 pmol/µl konsantrasyonda stok primerden 10 µl alınarak 90 µl distile su ile toplam hacim 100 µl olacak şekilde tekrar sulandırılmış, ependorflara ayrılıp -20°C'de saklanmıştır (Tablo 3.3.).

Tablo 3.3. Karbapenem direncini kodlayan genlerin araştırılmasında kullanılan primerler

Primer	**Sekans (5'-3')**	**Ürün uzunluğu (bp*)**	**Referans**	**Genbank erişim no**
VIM-F	ATTGGTCTATTTGACCGCGTC	380	Yum, 2002	DQ489717
VIM-R	TGCTACTCAAGGACTGAGCG			
NDM-F	CAATATTATGCACCCGGTCG	726	Kaase, 2012	KC539432
NDM-R	ATCATGCTGGCCTTGGGGAA			
IMP-F	CATGGTTTGGTGGTTCTTGT	448	Suzuki, 2017	LC190726.1
IMP-R	ATAATTTGGCGGACTTTGGC			
OXA48-F	TTGGTGGCATCG ATTATCGG	744	Queenan, 2007	AY236073
OXA48-R	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC			
OXA58-F	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599	Gao, 2013	JX968506
OXA58-R	CCC CTCTGCGCTCTACATAC			
KPC-F	TGTCACTGTATCGCCGTC	331	Mosca, 2013	JX430448
KPC-R	TATTTTTCCGAGATGGGTGAC			

3.5.3. PZR Optimizasyonu

PZR çalışmaları için kullandığımız primerlerin bağlanma sıcaklıklarını belirlemek için inhouse PZR ile farklı sıcaklıklarda optimizasyon çalışmaları yapıldı.Primerlerin bağlanma sıcaklıkları Tm= 4 (G+C) + 2 (A+T) formülü ile hesaplanmıştır. Çalışmada VIM, KPC, OXA-48, OXA-58, IMP, NDM gen bölgelerinin belirlenmesi için altı ayrı primer seti kullanılmıştır. Toplam volum 30 µl olacak şekilde reaksiyon mixi hazırlandı. İnhouse PZR ile optimizasyonu sonrasında ilgili gen bölgelerini saptamak için moleküler çalışmalar yapılmış ve pozitif bulunan örnekler agaroz jel elektroforez yöntemi ile görüntüleme yapılmıştır. Çalışmada kullanılan PZR reaksiyon mixi Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4 PZR reaksiyon karışımı

10X Buffer (Thermo Scientific)	3µl
$MgCI_2$ (Thermo Scientific)	2,4 µl
$DNTP_5$(Thermo Scientific)	0,5 µl
Primer Forwad (Thermo)	0,5 µl
Primer Reverse (Thermo)	0,5 µl
DNA Taq Polimeraz(Thermo Scientific)	0,25 µl
Distile Su	18 µl
DNA	4,85 µl
Toplam	30 µl

3.5.4. PZR ile VIM Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

*K.pneumoniae*ve *E.coli*izolatlarında karbapenem direncinden sorumlu metallo beta laktamaz enzimi olan VIM gen bölgesinin belirlenmesi için VIM R 5' TGC TAC TCA AGG ACT GAG CG 3' ve F 5' ATT GGT CTA TTT GAC CGC GTC 3'

primerleri kullanıldı, PZR calışması sonucunda 380 bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo 3.5'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5VIM gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	4 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35siklus
57˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.5. PZR ile NDM Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

K.pneumoniae ve *E.coli*izolatlarında NDM gen bölgesinin belirlenmesi için R 5’ ATC ATG CTG GCC TTG GGG AA 3’ve F 5’ CAA TAT TAT GCA CCC GGT CG 3’ primerleri kullanıldı ve 726 bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo 3.6’de gösterilmiştir.

Tablo 3.6 NDM gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	4 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35 siklus
55˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.6. PZR ile IMP Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

K.pneumoniae ve *E.coli* izolatlarında karbapenem direncinden sorumlu metallo beta laktamaz enzimi olan IMP gen bölgesinin belirlenebilmesi için R 5’ ATA ATT TGG CGG ACT TTG GC 3’ve F 5’ CAT GGT TTG GTG GTT CTT GT 3’ primerleri kullanılmıştır. IMP için 448 bp büyüklüğünde PZR ürünleri elde edilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7 IMP gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	4 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35 siklus
55˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.7. PZR ile KPC Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

K.pneumoniae ve *E.coli* izolatlarında KPC gen bölgesinin belirlenebilmesi için R 5’ TAT TTT TCC GAG ATG GGT GAC 3’veF 5’ TGT CAC TGT ATC GCC GTC 3’ primerleri kullanılarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve 331 bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo 3.8’da gösterilmiştir.

Tablo 3.8. KPC gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	5 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35 siklus
52˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.8. PZR ile OXA-48 Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

*K.pneumoniae*ve *E.coli*izolatlarında OXA gen bölgesinin belirlenmesi için OXA-48 R 5’ GAG CAC TTC TTT TGT GAT GGC 3’ ve F 5’ TTG GTG GCA TCG ATT ATC GG 3’ primerleri kullanılarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve 744 bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo 3.9’de gösterilmiştir.

Tablo 3.9. OXA-48 gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	4 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35 siklus
55˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.9. PZR ile OXA-58 Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

K.pneumoniae ve *E.coli*izolatlarında OXA gen bölgesinin belirlenmesi için OXA-58 R 5’ CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC 3’ ve F 5’AAG TAT TGG GGC TTG

TGC TG 3’ primerleri kullanılarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi ve 599 bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edildi. PZR çalışmasında kullanılan sıcaklık döngüleri Tablo 3.10’de gösterilmiştir.

Tablo 3.10 OXA-58 gen bölgesi PZR protokolü

94˚C	4 dakika	1 siklus
94˚C	1 dakika	35 siklus
55˚C	1 dakika	
72˚C	1 dakika	
72˚C	7 dakika	1 siklus
4˚C	∞	

3.5.10. Agaroz-Jel Elektroforez

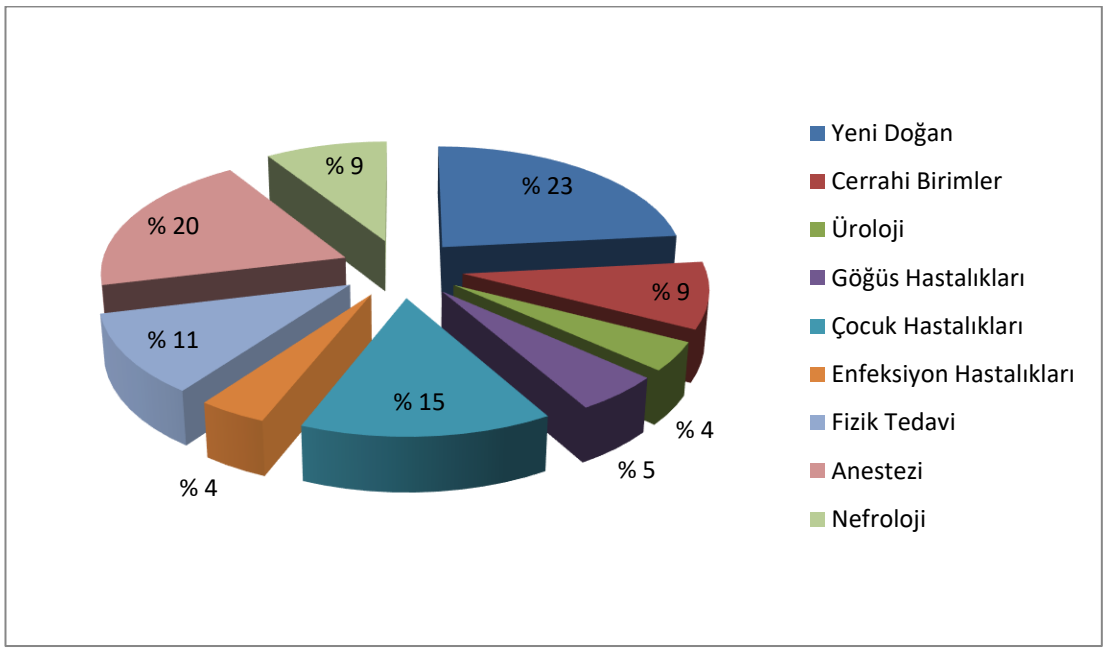
PZR çalışmaları yapıldıktan sonra elde edilen ürünler jel elektroforezde incelenmiştir. Çalışma için %10'luk agaroz jel kullanılmıştır. %10'luk jel hazırlamak için 5 gr agaroz tartılıp 100µl TAE buffer (tris-acetate-EDTA) ilave edilmiş ve mikrodalga fırında 2-3 dk kaynatılmıştır. Biraz soğuması beklenilmiş ve bu arada yatay jel elektroforez tablasına yükleme kuyucuklarını oluşturacak taraklar düzenli bir şekilde yerleştirilmiştir.Soğumuş olan karışım içerisine 5µl etidyum bromite ilave edilmiş ve bu karışım jel elektroforez tablasına yavaşça kabarcık oluşmayacak şekilde dökülüp katılaşması beklenmiştir.

Katılaşan jel içerisinden taraklar çıkarılmış ve jel, içerisinde 250 mL 1X TBE (tris-borate-EDTA) tampon konulan elektoforez tankının (Thermo minicell EC 320 Electrophoretic Gel System, ABD) içerisine yerleştirilmiştir. Her bir örnek için 3µl yükleme boyasını (DNA Loading) parafilm üzerine damlattık ve çoğaltılmış olan PZR ürünlerinden 5µl alınıp yükleme solisyonu ile karıştırılıp jelin ikinci kuyucuğundan başlamak üzere kuyucuklara yükleme yapılmıştır.Jelin başındaki ve sonundaki kuyucuklarına 5µl merdiven (DNA Ladder) yüklendikten sonra yürütme

tankının kapağı kapatılarak jel elektroforez 120 voltta 25-30 dk yürütülmüştür. Yürütme işleminin ardından jel transluminatör cihazındaki (Herolab UVT-20M, Almanya) uygun odacığayerleştirilerek ultraviyole ışık altında incelenmiştir. PZR sonucu oluşan ürünler, marker (ThermoScientific, 1kb ladder) ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Yaklaşık olarak, 599 bp'lik bant OXA-58, 380 bp'lik bant VIM, 448 bp'lik bantIMP, 744 bp'lik bant OXA-48, 331 bp'lik bantKPC, 726 bp'lik bantNDM gen bölgesinin varlığını göstermiştir.

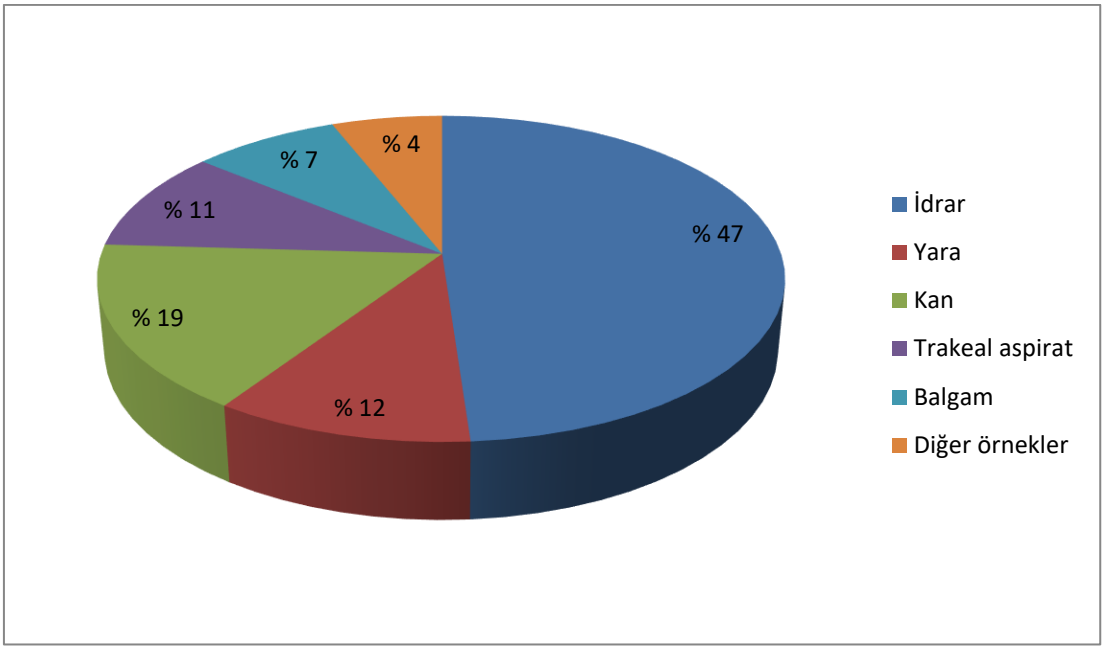
4. BULGULAR

Toplam 264 Enterobacteriaceae ailesinden 207 *Klebsiella pneumoniae* ve 57 *E.coli* suşu çalışmamıza dahil edilmiştir. İzolatlarımızın 150'si (%56,8) erkek hastalardan, 114'ü (%43,2) kadın hastalardan izole edilmiştir.İzole edilen örneklerin %65,5 'i yatan hastalardan, %34,5'i polikliniğe başvuran hastalardan alınmıştır.İzolatların kliniklere göre dağılımı şekil 1.1 gösterilmiştir.



Şekil.1.1.Örneklerin kliniklere göre dağılımı

Suşların izole edildiği örneklere bakıldığında %47,3 idrar, %11,7 yara, %19,3 kan, %10,6 trakeal aspirat, %6,8 balgam, %4,3 diğer örnekler olduğu gözlenmiştir (Şekil 1.2).



Şekil 1.1. Suşların izole edildiği örneklere göre dağılımı

Klebsiella pneumoniae suşlarının %43'ü ve *E.coli* suşlarının %65'i idrar örneklerinden elde edilmiştir.Her iki bakterininde izole edildiği örnek ve kliniklere göre dağılımı Tablo 3.11.'da gösterilmiştir.

Tablo 3.11. Bakteri türlerinin poliklinik/klinik ve izole edilen örneklere göre dağılımı

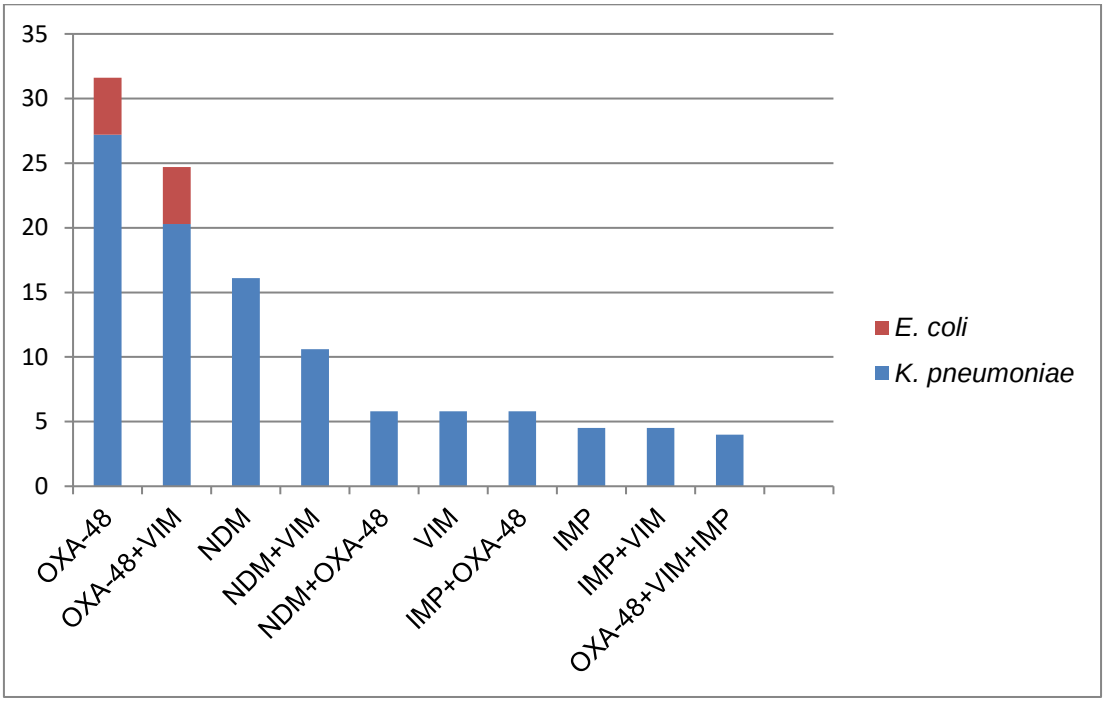
Gönderilen klinik örnekler	*E.coli*		*K.pneumoniae*		TOPLAM
	Poliklinik hastası	**Yatan hasta**	**Poliklinik hastası**	**Yatan hasta**	
İdrar	25	12	45	44	126
Yara	4	5	7	17	33
Balgam	-	5	1	13	19
Kan	-	5	2	45	52
Trakeal Aspirat	-	1	1	26	28
TOPLAM	29	28	56	151	264

K.pneumoniae suşlarının %38,6'da, *E.coli* suşlarının %21'de meropenem, ertapenem ve imipenemden enaz birine azalmış duyarlılık ya da direnç gözlenmiştir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz tüm suşlarda karbapenemlere direnç oranı %43,1 olarak belirlenmiştir.Karbapenemlerden enazbirine direnç ya da azalmış duyarlılık saptanan toplam 114 izolatın (102 *K.pneumoniae*, 12 *E.coli*) %88,5'inde karbapenemaz kodlayan gen bölgelerinden en azbiri saptanmıştır.*K. pneumoniae* izolatlarının % 36,2'sinde, *E. coli* izolatlarının % 87,7'sinde GSBL gözlenmiştir.

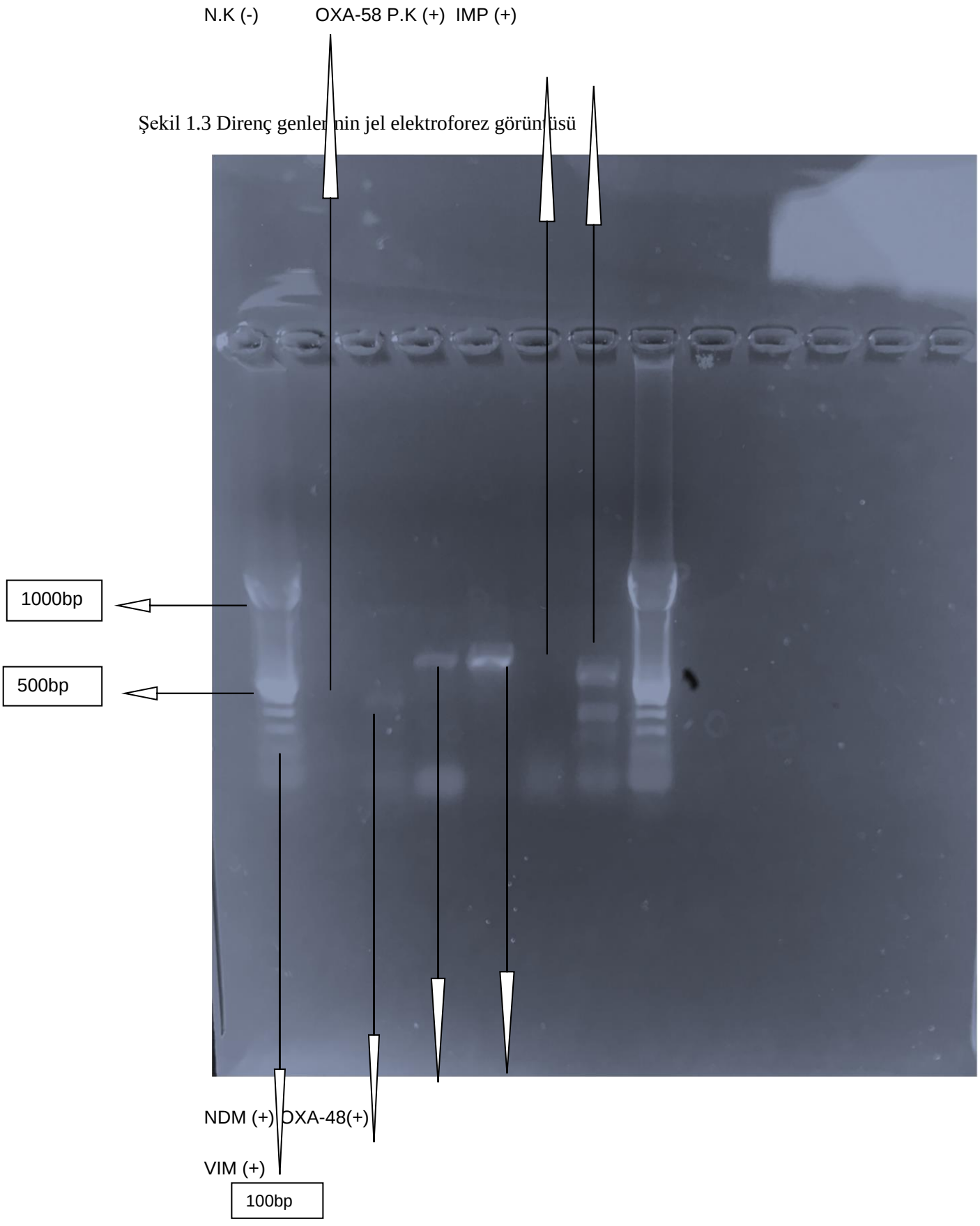
Çalışmamız için kültürü yapılmış olan örneklerin nükleik asit izolasyonu için distile su (Thermo scientific) kullanılmıştır. Konvansiyonel PZR yöntemi ile NDM, VIM, KPC, OXA-48, OXA-58, IMP gen bölgeleri için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu gen bölgeleri için en uygun bağlanma sıçaklıklarını gradiyent uygulamak şartı ile optimize edilmiş ve OXA-48 için 55 ℃, VIM için 57℃, NDM için 55 ℃, OXA-58 için 55 ℃, IMP için 55 ℃, KPC için 52 ℃ olmak üzere ilgili primerlerin bağlanabilmesi için en uygun sıcaklıklar saptanmıştır.Uygun bağlanma sıcaklıkları oluşturulduktan sonra elde edilen tüm izolatlar PZR yöntemi ile amplifiye edilmiş ve elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezde yürütülerek görüntüleme yapılmıştır.

PZR yöntemi ile karbapenemaz gen varlığı araştırılan toplam 264 suşun %26,8'de OXA-48 (63 *K.pneumoniae*, 5 *E.coli*), %4,9'unda IMP (12 *K.pneumoniae*), %18,5'inde VIM (45 *K.pneumoniae*, 1 *E.coli*), %10,2'de NDM-1 (27 *K.pneumoniae*) geni saptanmıştır.*K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarının hiçbirinde KPC ve OXA-58 gen bölgelerinin varlığı saptanmamıştır.

Karbapenem dirençli*K.pneumoniae* izolatlarının 12'sinde IMP pozitif, 45'inde VIM pozitif, 63'ünde OXA-48 pozitif ve 27'sinde NDM-1 geni tespit edilmiştir.Karbapenem dirençli bulunan 12 *E.coli* suşunun sadece 5'inde OXA-48 geni saptanmıştır.*K.pneumoniae* izolatlarının %48'inde tek gen varlığı gözlenirken, %52'sinde iki ya da üç gen varlığı gözlenmiştir.*E.coli* izolatlarının %33,3'ünde tek gen varlığı gözlenmiştir. (Şekil 1.3.)



Şekil 1.2. İzolatların ekspre ettikleri karbapenemaz genleri



Şekil 1.3 Direnç genlerinin jel elektroforez görüntüsü

Tablo 3.12. İzolatların Vitek ve Genotipik yöntemlere göre dağılımı

Suş no	Karbapenemaz Geni (PZR)						Karbapenem Direnci (Vitek)		
	VIM	NDM	OXA-48	OXA-58	IMP	KPC	MEM	ETP	IPM
K.P. 1	+	-	+	-	-	-	S	I	S
K.P. 2	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 3	-	-	-	-	+	-	S	R	S
K.P. 4	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 5	+	-	+	-	-	-	I	S	I
K.P. 6	-	-	+	-	-	-	S	I	I
K.P. 7	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 8	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 9	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 10	-	+	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 11	-	-	-	-	+	-	R	R	R
K.P. 12	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 13	-	-	-	-	+	-	R	S	R
K.P. 14	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 15	-	-	+	-	-	-	S	I	S
K.P. 16	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 17	+	-	+	-	-	-	S	R	S
K.P. 18	-	+	-	-	-	-	I	R	I
K.P. 19	+	-	-	-	-	-	I	S	I
K.P. 20	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 21	-	-	+	-	+	-	R	S	R
K.P. 22	-	-	-	-	-	-	I	R	I
K.P. 23	+	-	+	-	-	-	I	S	I
K.P. 24	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 25	+	-	+	-	-	-	R	S	R
K.P. 26	+	-	+	-	-	-	I	S	I
K.P. 27	+	-	+	-	-	-	R	S	R
K.P. 28	+	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 29	+	-	+	-	+	-	R	S	R
K.P. 30	+	+	-	-	-	-	I	R	I
K.P. 31	-	-	+	-	+	-	R	S	R
K.P. 32	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 33	+	-	-	-	-	-	R	S	R
K.P. 34	+	-	+	-	-	-	I	I	I
K.P. 35	-	-	+	-	-	-	R	S	R
K.P. 36	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 37	-	-	+	-	-	-	R	S	R
K.P. 38	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 39	+	-	+	-	-	-	R	I	R
K.P. 40	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 41	+	-	+	-	+	-	R	I	R
K.P. 42	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 43	+	-	-	-	-	-	I	I	R
K.P. 44	-	-	-	-	-	-	I	I	I
K.P. 45	-	-	+	-	-	-	S	S	R
K.P. 46	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 47	-	+	-	-	-	-	R	I	R
K.P. 48	-	-	+	-	-	-	S	R	S
K.P.49	-	-	+	-	+	-	R	S	R
K.P. 50	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 51	+	-	-	-	-	-	I	S	R
K.P. 52	-	+	+	-	-	-	I	R	R
K.P. 53	+	-	-	-	+	-	R	S	R
K.P. 54	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 55	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 56	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 57	+	-	+	-	+	-	R	I	R
K.P. 58	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 59	+	-	-	-	-	-	R	I	R
K.P. 60	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 61	+	-	-	-	-	-	I	I	R
K.P. 62	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 63	+	-	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 64	+	+	-	-	-	-	R	R	R

K.P. 65	-	-	+	-	-	-	S	I	S
K.P. 66	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 67	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 68	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 69	+	+	+	-	-	-	R	R	R
K.P.70	-	-	+	-	+	-	I	S	I
K.P.71	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 72	-	-	+	-	-	-	S	R	S
K.P. 73	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 74	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 75	+	-	+	-	-	-	I	I	I
K.P. 76	+	+	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 77	-	-	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 78	-	-	-	-	-	-	S	S	I
K.P. 79	+	-	+	-	-	-	I	I	I
K.P. 80	+	-	-	-	-	-	S	R	S
K.P. 81	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 82	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 83	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 84	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 85	+	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 86	-	-	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 87	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 88	-	+	-	-	-	-	R	R	I
K.P. 89	+	+	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 90	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 91	+	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 92	-	+	-	-	-	-	R	R	R
K.P. 93	-	-	+	-	-	-	I	R	I
K.P. 94	-	-	-	-	-	-	R	I	I
K.P. 95	-	+	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 96	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 97	-	+	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 98	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P. 99	-	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P.100	+	-	+	-	-	-	R	R	R
K.P.101	-	-	-	-	+	-	R	S	S
K.P.102	+	-	+	-	-	-	R	R	R
E.C.103	-	-	-	-	-	-	S	R	S
E.C.104	-	-	-	-	-	-	S	S	I
E.C.105	-	-	-	-	-	-	S	R	S
E.C.106	+	-	+	-	-	-	I	R	I
E.C.107	-	-	-	-	-	-	S	S	R
E.C.108	-	-	+	-	-	-	I	R	I
E.C.109	-	-	-	-	-	-	S	S	I
E.C.110	-	-	-	-	-	-	R	I	I
E.C.111	-	-	-	-	-	-	R	S	S
E.C.112	-	-	+	-	-	-	R	S	S
E.C.113	-	-	+	-	-	-	R	I	R
E.C.114	-	-	+	-	-	-	R	S	S

K P: *K.pneumoniae,* E C: *E.coli*, IMP: İmipenem, MEM: Meropenem, ERT: Ertapenem, S: Duyarlı, I:Orta duyarlı, R: Dirençli

TARTIŞMA

Enterobacteriaceae ailesi hem toplum hem denozokomiyal kaynaklıenfeksiyonların(idrar yolu, intraabdominal, deriyumuşak doku enfeksiyonları ve pnömoni gibi) en önemli etkenlerindendir. Enterobacteriaceae üyeleri, antibiyotiklerin seçici baskısından ve genetik madde aktarımından dolayı çoklu direnç özelliği kazanmıştırlar (Gülay, 2005). Antibiyotiklere karşı dirençli olmalarıenfeksiyonlarıntedavisinde yaşanan en önemli sorunlardan biridir. Özellikle beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin yanı sıra karbapenem grubu antibiyotiklere de direncin artmasıyla birlikte tedavide de sorunlar artmaktadır.Amerikan Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyans Sistemi (NNIS) verilerine göre Gram negatif bakterilerin sebep olduğu hastane enfeksiyonu insidansında artış olduğu gözlenmektedir.Gram negatiflerin sebep olduğu nozokomiyal enfeksiyonlarının oranı 1975 yılında %67,8 iken 2003 yılında bu oran %73,6'ya yükselmiştir (Gür, 1997).NHSN 2009-2010 yılları arasındaki raporlara bakıldığında nozokomiyal kaynaklıenfeksiyonlarda,Gram negatif bakteriler arasında en çok izole edilen türlerin, *Klebsiella* spp. (%8), *E.coli* (%11,5), *Enterobacter* spp. (%4,7) olduğu gözlenmektedir (Sievert, 2013).

Hastane kaynaklı enfeksiyonların etkeni olan Gram negatif mikroorganizmaların değerlendirildiği çalışmaların birçoğunda etkenlerin genellikle yoğun bakım üniteleri, dahili ve cerrahi birimlerden gönderilen örneklerden izole edildiği bildirilmektedir.Buna bağlı olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde; Tikveşli ve ark. 2006-2007 tarihleri arasında Denizli'de yapmış oldukları çalışmalarında 217 *K.pneumoniae* suşunun, % 54,3'üdahili ve % 45,7'si de cerrahi servislerinden izole edilmiştir (Tikveşli, 2009). Özmen ve ark. 2003-2005 tarihleri arasında yapmış oldukları çalışmalarına 898 Gram negatif bakteriyidahil edilmiştir. Bu suşların %41,1'i cerrahi, %58,9'u da dahili servislerinden elde edilmiştir (Özmen, 2010). Duman ve ark.2009'da yaptıkları çalışmada, kan kültürlerinden elde ettikleri 257 Gram negatif suşlarının %67,2'si dahili, %32,8'i de cerrahi servislerinden izole etmişlerdir (Duman, 2011).

Yapılmış olan bu çalışmalara uyumlu olarak bizim çalışmamızda değerlendirmeye alınan 264*K.pneumoniae* ve *E.coli*izolatlarının %64'ü cerrahi, %36'sı dadahili birimlerden gönderilen klinik materyallerden izole edilmiştir.

Gram negatif bakterilerin izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılık gösterebilmektedir. Yapılan çalışmaları incelediğimizde;Özmen ve ark. Diyarbakır'da yaptıkları çalışmaya*Klebsiella spp, E.coli, Enterobacter spp,Acinetobacter spp, S.maltophilia* ve *P.aeruginosa* izolatlarını dahil etmişlerdir. Çalışmaya dahil edilen izolatların %31'i idrar, %30'u kan ve %21'i yara şeklindeki örneklerden izole ettiklerini bildirmişlerdir (Özmen, 2010).Kuzucu ve ark. yapmış oldukları çalışmada 278 *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarının %74,9'u idrar, %5,8'i kan, %9,5'i yara, %6,2'si steril vücut sıvısı, %3,6'sı diğer örneklerden izole etmişlerdir(Kuzucu, 2011). Giani ve ark. 2011 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmalarına 23 farklı şehirde 25 farklı mikrobiyoloji laboratuvarından izole ettikleri 1346 Enterobacteriaceae suşlarını dahil etmişlerdir. Bu suşların %16,2'sini alt solunum yolu, %48,6'sını idrar ve %13,2'sini kanörneklerinden izole ettiklerini bildirmişlerdir(Giani, 2013).Doğantekin ve ark.yapmış oldukları çalışmada 100 Gram negatif bakterilerin %49'u idrar, %23'ü kan, %18'i yara, %7'si balgam, %3'ü periton sıvı gibi örneklerden izole edildiği bildirilmiştir (Doğantekin, 2010).

Bizim çalışmamızda bu verilerle uyumlu olarak izolatlarımızın %47,3'ü idrar, %11,7'si yara, %19,3'ü kan, %10,6'sı trakeal aspirat, %6,8'i balgam ve %4,3'ü diğerörneklerinden izole edilmiştir.*E.coli*'nin üriner sistem enfeksiyonlarının%80-90'ınından sorumlu etken olduğu düşünüldüğünde bizim çalışmamızda da bakterilerin idrar örneklerinden daha fazla oranda izole edilmesinin nedeni olabileceği düşünülebilir.

Enterobacteriaceae üyelerinin sebep olduğuenfeksiyonlarda karbapenemler, beta-laktamaz enzimlerine dayanıklı olmaları, antibakteriyel spektrumlarının genişliği nedeniyle GSBL üreten Gram-negatif bakterilerinneden olduğu enfeksiyonların ve sepsislerin tedavisinde ilk sırada tercih edilmektedir.

Geçen yıllar içerisinde GSBL artışı beraberinde karbapenem kullanımının da artmasına sebep olmuştur.Böylelikle bu ajanlara karşı direnç gelişimi meydana gelmiş ve bu durum tedavide ciddi problemlere sebep olmuştur. Karbapenem antibiyotiklerin bir üyesi olan ertapenem non-fermentatif bakterilere karşı sınırlı etkinliğe sahiptir ve son yıllarda tedavilerde kullanılmaya başlanan bir karbapenemdir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; Aral ve ark.*K.pneumoniae*'nın klinik ve poliklinikizolatlarında toplamda %24,7 oranında direnç saptarken,*E.coli*'de ise %0,3 ertapenem direnci tespit etmişlerdir (Aral, 2011). Baroud ve ark.*K.pneumoniae*'de %2,4, *E.coli*'de %1,1oranında ertapenem direnci bulmuşlar, ayrıca bu izolatlar içerisinde 5 *K.pneumoniae*ve 3 *E.coli*izolatlarının da ertapenem, meropenem veimipeneme dirençli olduğunu belirtmişlerdir (Baroud, 2013).Kuzucu ve ark.2007-2008 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada *E.coli*'de %0,8, *K.pneumoniae*'de %3,6 oranında ertapenem direnci bildirmişler (Kuzucu, 2011). Eser ve ark. 2005-2009 tarihleri arasında yaptıkları çalışmalarında*K.pneumoniae* suşlarında %2,4 oranında ertapenem direnci bulmuşlardır (Eser, 2014).Bizim çalışmamızda; *K.pneumoniae*'de %64,7, *E.coli*'de %33,3 oranında diğer çalışmalara oranla daha yüksek ertapenem direnci tespit edilmiştir.

Diğer karbapenem üyeleri olan imipenem ve meropeneme karşı direnç oranları değerlendirildiğinde; Kuzucu ve ark. 2007-2008 yılları arasında *E.coli*'de imipenem ve meropenemde direnç saptamamıştır,*K.pneumoniae*'de ise %3,6 oranında direnç tespit etmişlerdir(Kuzucu, 2011). Aral ve ark.2008-2011 tarihleri arasında yaptıkları çalışmalarına idrar örneklerinden elde ettikleri*K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatlarını çalışmaya dahil etmişlerdir.Ancak *K. pneumoniae* izolatlarının %12,5'inde karbapenem direnci saptarken,*E. coli* izolatlarının hiçbirinde karbapenem direnci saptamamışlardır (Aral, 2011).Baroud ve ark. 2008-2011 tarihleri arasında Amerikan Üniversitesi Beurit Tıp Merkezinde yapmış oldukları çalışmalarına GSBL üreten 2243 *E.coli* ve 572 *K.pneumoniae* izolatlarını dahil etmişlerdir.*E.coli*suşlarının%0,5'inde meropenem, %0,3'ünde imipenemdirenci bulurken, *K.pneumoniae* suşlarının %1,3'ünde imipenem, %1,9'unda meropenem direnci bulmuşlardır (Baroud, 2013).

Bizim çalışmamızda ise; *E.coli* izolatlarının% 41,6'sında meropenem, % 16,6'sında imipenem direnci saptanırken,*K.pneumoniae* izolatlarının % 63,7'sinde meropenem, % 67,6'sında imipenem direnci saptanmıştır. İmipenem, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine karşı yapmış olduğumuz bu çalışmada yüksek oranda direnç gözlenmesinin sebebinin, hastanemizde ampirik tedavilerde genelde bu antibiyotiklerin kullanılmasıyla ilgili olabileceğini göstermektedir.

Tablo 3.13.Enterobacteriaceae türlerinde karbapenemaz genlerinin dağılımı ile ilgili yapılan çalışmaların verileri

Kaynak	Yıl	Yer	Suş Sayısı	VIM%	NDM%	OXA-48 %	IMP%	KPC%	OXA-58%
Çalışmamız	2017	Afyon	264	18,5	10,2	26,8	4,9	-	-
Bulut ve ark.	2014	Afyon	237	8,9	0,4	11	4,7	-	-
Woodford ve ark.	2012	Hindistan	55	5,4	-	38,1	1,8	14,5	-
Girlich ve ark.	2013	Fransa	133	14,2	12,7	-	13,5	36,1	-
Alp ve ark.	2013	Kayseri	94	-	4,3	91,5	3,2	-	-
Karatuna ve ark.	2014	İstanbul	190	0,7	16,7	74,3	-	0,7	-
Helvacı ve ark.	2014	Ankara	2078	0,9	-	57,4	5,5	-	-
Drev	2013	İngiltere	421	-	16,6	-	-	12,5	-
Aşık ve ark.	2014	Afyon	22	27,2	-	100	18,1	-	-
Tekin ve ark.	2014	İstanbul	43	-	2,3	16,3	-	-	- -
Dolye	2012	Amerika	142	13,3	19,1	9,8	3,5	34,5	

Enterobacteriaceae ailesinde karbapenemleri hidrolize eden oksasilinazlar (OXA) betalaktamazlar, MBL ve serin karbapenemazlardır.MBL'ler içerisinde en baskın olan direnç genlerinin IMP ve VIM olduğu bildirilmiştir. Enterobacteriaceae türlerinde en fazla VIM-1 direnç genibulunduğu bildirilmiştir (Hamança, 2009; Ho, 2010;Taşova, 2011).VIM-1 enzimi ilk kez 1997 yılında İtalya'da bir *P.aeruginosa*'da saptanmış ve kromozomal kaynaklı olduğu bildirilmiştir.VIM tipi enzimler (VIM-1, VIM-2, VIM-7) *P. aeruginosa*'dan izole edilmiş olmasına rağmen, sonrasında Enterobacteriaceae üyelerinden de izole edilmişlerdir.

Woodford ve ark. 2012 yılındayapmış olduğu calışmada karbapenem dirençli olan 55 Enterobacteriaceae suşundan, sadece 3 *K.pneumoniae* (%5,4) suşunda VIM enzimini tespit etmişlerdir.Helvacı ve ark.Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2012 yılları arasında yapmış olduğu çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri2078 EnterobacteriaceaeüyelerindenPZR çalışması yapılan 11 *E. coli* suşundan 7'sinde (%63,6) ve 36 *Klebsiella* spp. suşundan 28'inde (%77) karbapenemaz geni tespit edilmiş ve*Klebsiella* spp.'lerinde % 0,9'unda VIM gen bölgesi saptanmıştır (Helvacı, 2014).Tekin ve ark.2014 yılında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli 43 Enterobacteriaceae üyesinin hiçbirinde VIM gen bölgesine rastlanmamıştır.Girlich ve ark. Fransa'da 2013 yılında 133 Enterobacteriaceaeizolatı dahil ettikleri çalışmada MBL'lara ait 19 izolatın %14,2'sinde VIM gen bölgesine rastlamışlardır. Karatuna ve ark. 2011-2014 yıllarında İstanbul'daki çalışmalarında 190 izolatın 43'ü*E.coli* ve 147'si ise *Klebsiella* spp.olarak belirlenmiş,*K.pneumoniae*'ye ait sadece 1 (%0,7) izolatta VIM gen bölgesi bulunmuştur.Bulut ve ark. 2013 yılında yapmış oldukları çalışmada 138'i *K.pneumoniae*, 52'si*E.coli*, izolatlarından*K.pneumoniae'ye* ait 19 (%13,8) izolatta VIM gen bölgesi saptanmıştır (Bulut, 2014).Aşık ve ark. 2013-2014 yılları arasında yaptıkları çalışmada 22 Karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarının 6'sında (%13,6) VIM gen bölgesi saptamışlardır.

Bizim çalışmamızda kullanılan 207*K.pneumoniae'*nın 46 (%22,2) izolatında ve 57*E.coli*'nin sadece 1(%1,7) izolatında VIM gen bölgesi saptanmıştır.Yapılan çalışmalarda ve bu çalışmalara uyumlu olarak bizim çalışmamızda da Enterobacteriaceae üyelerinde görülen MBL enzimlerindenVIM gen bölgesinin IMP ve NDM gen bölgelerine oranla daha yüksek değerlerde bulunmuştur.

NDM-1geni ilk kez 2008 yılında Yeni Delhi'de bir hastanede yatan hastanın İsveç'e transfer edilmesi ile bu hastadan izole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarından saptanmıştır.Drew ve ark. 2013 yılında İngiltere'de yapmış oldukları çalışmada 17 *K.pneumoniae* suşundan sadece 4'ünde NDM-1 gen bölgesi saptmışlardır.

Helvacı ve ark.Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2012 yılları arasında yapmış oldukları çalışmada kan kültürlerinden izole ettikleri 2078Enterobacteriaceae üyelerinin hiçbirinde NDM gen bölgesi saptanmamıştır (Helvacı, 2014). Dolye ve ark. 2012 yılında Amerika'da yapmış oldukları çalışmada 142 Enterobacteriaceae izolatlarının %19,1'inde NDM-1 geni tespit etmişlerdir.Bulut ve ark.2013 yılında Afyon'da yapmış oldukları çalışmasında 138*K.pneumoniae* izolatının sadece 1'inde NDM-1geni saptamıştır (Bulut, 2014).Karatuna ve ark. 2011-2014 yılları arasında yaptıkları çalışmada 190 *K.pneumoniae* ve *E.coli* izolatlarının 24'ünde (%16,7) NDM-1 geni tespit etmişlerdir.Alp ve ark.2010-2011 yılında Kayseri'de yapmış oldukları çalışmada 94 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının 4'ünde NDM-1 geni, sadece 1'inde de hem OXA-48 hem de NDM-1 genisaptamışlardır (Alp, 2013). Aşık ve ark. 2013-2014 tarihlerinde Afyon'da yaptıkları çalışmada 22 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının hiçbirinde NDM-1 gen bölgesi tespit edilmemiştir (Aşık, 2014).Tekin ve ark.2014 yılında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli 43 Enterobacteriaceae üyelerinden % 2,3'ünde NDM gen bölgesi saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda 207 *K.pneumoniae* suşlarının 27'sinde (%10,2) NDM-1 geni saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi henüz NDM-1 geni çok yaygın olmasada, NDM-1 plazmid ile kodlanan bir enzim olması diğer taraftan farklı ülkeler arası insan seyehatlerinin giderek artması bu direncinde ülkemizdeki bakteriler arasında yayılma riskini artıracak ve ciddi sorunların oluşmasına yol açabilecektir.

Enterobacteriaceae, *P.aeruginosa* ve diğer Gram negatif nonfermentatif bakterilerden izole edilen ilk metallo-betalaktamazlardan IMP tipi enzimlerdir. İlk IMP geni 1991'de Japonya'da*S.marcescens* türünde bulunmuştur (Lynch, 2013).Woodford ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada 55 karbapenem dirençli Enterobacteriaceaesuşlarından *K.pneumoniae'*yeait izolatların%12,7'sinde ve *E.coli*'ye ait izolatların %1,8'inde IMP geni tespit etmişlerdir (Woodfor, 2012).

Girlich ve ark. 2013 yılında Fransa'da yapmış oldukları çalışmada 133Enterobacteriaceaesuşlarının 54'ünde MBL'ler saptamışlar, bu suşların%12,7'sinde de IMP türü MBL olduğunu bildirmişlerdir(Girlich, 2013).Ülkemizdekisporadik vakalarda en çok bu enzimlerden bahsedilmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; Helvacı ve ark. Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2012 yılları arasında kan kültürlerinden izole ettikleri 2078Enterobacteriaceaetürlerinden PZR çalışması yapılan 11 *E. coli* izolatının 7'sinde (%63.6) ve 36 *Klebsiella* spp. izolatının28'inde (%77) karbapenemaz geni saptanmiştır.*Klebsiella* spp. ait izolatında% 5,5'inde IMP gen bölgesi tespit edilmiştir. Alp ve ark.2013 yılında Kayseri'de yapmış oldukları çalışmada94 karbapenem direncli *K. pneumoniae* suşlarının, 3'ünde (%3,2) IMP geni tespit etmişlerdir(Alp, 2013).Bulut ve ark.2013 yılında Afyon'da yapmış oldukları çalışmada MBL geni saptadığı 33 suşunun 11'inde (%4,7) IMP türü MBL olduğunu bildirmiştir (Bulut, 2014).Tekin ve ark.2014 yılında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli 43 Enterobacteriaceae üyesinin hiçbirinde IMP gen bölgesi saptanmamıştır.Aşık ve ark. 2013-2014 yıllarında Afyon'da yapmış oldukları çalışmada 22 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının 4'ünde MBL'lara ait IMP gen bölgesi tespit edilmiştir (Aşık, 2014).Karatuna ve ark. 2011-2014 tarihleri arasında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada 190Enterobacteriaceae üyelerinin hiçbirinde IMP gen bölgesi tespit edilmemiştir (Karatuna, 2014).Bizim çalışmamızda 207 *K.pneumoniae* izolatın 102'sinde MBL karbapenemaz geni tespit edilmiştir.Bu suşlarında 12'si (%4,9) IMP türü MBL olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalar ile uyumlu olarak IMP geninin VIM geninden daha düşük oranda görüldüğü bildirilmiştir.

OXA beta-laktamazlardan OXA-48 ülkemizden en fazla *K.pneumoniae* ve daha az oranda da *E.coli*'de bulunduğu bildirilmiştir(Carrer, 2008). OXA-48 ilk kez 2001 yılında Türkiye'de*K.pneumoniae* suşlarından izoleedilen bir suşta bulunmuştur (Canton, 2012).Woodford ve ark. Health Protection Agency's Antibiotic Resistance Monitoring and Referance Laboratory (ARML) tarafından yapılan çalımada 55 karbapenem dirençli Enterobacteriaceae suşlarından*K.pneumoniae*'ye ait olan

izolatların 10'unda, *E.coli*'ye ait olan izolatların 11'inde OXA-48 gen bölgesi tespit edilmiştir (Woodfor, 2012).

Biçmen ve ark.2012 yılında yaptıkları çalışmadaEnterobacteriaceae üyelerinde karbapenem dirençli 197 izolatın %93,4'ünde OXA-48 gen bölgesi tespit edilmiş ve bu izolatların 161'i*K.pneumoniae,* 5'ide *E.coli* olduğu bildirilmiştir.Bulut ve ark. 2013 yılında Afyonda yapmış oldukları çalışmada 138 *K.pneumoniae* suşunun 21'inde, 52 *E.coli* suşunun da sadece 2'sinde OXA-48 geni saptanmıştır (Bulut, 2014).Helvacı ve ark.Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2012 yılları arasında yapmış oldukları çalışmadakan kültürlerinden izole ettikleri 2078Enterobacteriaceaeüyelerinden PZR çalışması yapılan 11 *E.coli* suşundan 7'sinde (%63.6) ve 36 *Klebsiella* spp. suşundan 28'inde (%77) karbapenemaz geni saptamıştır.*Klebsiella* spp. izolatlarının 22'sinde OXA-48,bir izolatta OXA-48 ve VIM eş zamanlı pozitif olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* izolatlarınında 5'inde OXA-48, 2'sinde ise OXA-48 ve VIM eş zamanlı pozitif olduğu tespit edilmiştir.Tekin ve ark.2014 yılında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli 43 Enterobacteriaceaeüyesinin % 16,3'ünde OXA-48 gen bölgesi saptanmıştır.Aşık ve ark.2012 yılında Afyon'da yapmış oldukları çalışmada 118 *K.pneumoniae*'ye ait suşların 22'sinde (%18,6) OXA-48 gen bölgesi tespit edilmiştir (Aşık, 2012). Alp ve ark.2010-2011'de Kayseri'de yapmış oldukları çalışmada 94 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının 86'sında (%91,5) OXA-48 geni saptamışlardır.Karatuna ve ark. 2011-2014 yılları arasında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada 190 *K.pneumoniae* ve *E.coli*suşunun 107'sinde (%74,3) OXA-48 gen bölgesi tespit edilmiştir (Karatuna, 2014).Bizim çalışmamızda 207 *K.pneumoniae*suşunun 65'inde, 57 *E.coli* suşunun 5'inde OXA-48 gen bölgesi tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde karbapenemaz üreten izolatların sebep olduğu enfeksiyonlarda önemli ölçüde artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu artışın sebebi özelliklede OXA-48'in toplum kaynaklı yayılmalara bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Plazmid kökenli karbapenemazlardan biri de KPC genidir. Bu gen ilk kez 1996 yılında ABD'de bildirilmiştir (Yiğit, 2001; Woodfor, 2003).Woodford ve ark. 2010

yılında ARMRL tarafından yapılan çalışmalarda kullanılan 55 karbapenem dirençli izolatın 8'inde (%14,5) KPC geni tespit edilmiştir (Woodfor, 2012).

Fontana ve ark. 2009 yılında İtalya'da bir üniversite hastanesinde yapmış oldukları çalışmada 2 *K.pneumoniae* suşunda KPC geni tespit edilmiştir(Fontana, 2010). Karatuna ve ark. 2011-2014 yılları arasında İstanbul'da yaptıkları çalışmada 190 Enterobacteriaceae suşundan sadece 1'inde (%0,7) KPC geni saptamışlar (2014). Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Bulut ve ark. 2013 yılında Afyon'da yapmış oldukları çalışmada 237 Enterobacteriaceae üyesinin karbapenem dirençli olan 114 suşlarının hiçbirinde KPC gen bölgesi tespit edilmemiştir (Bulut, 2014).Helvacı ve ark.Hacettepe Üniversitesi erişkin hastanesinde 2004-2012 yılları arasında yapmış oldukları çalışmada, kan kültürlerinden izole ettikleri2078 Enterobacteriaceae üyelerinin hiçbirinde KPC gen bölgesi tespit edilmemiştir.Tekin ve ark.2014 yılında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada karbapenem dirençli 43 Enterobacteriaceae üyesinin hiçbirinde KPC gen bölgesi saptanmamıştır. Çiftci ve ark. 2011-2012 yılları arasında Sakarya Üniversitesi Hastanesi'nde yapmış oldukları çalışmada 273 *K.pneumoniae* izolatının karbapenem dirençli olan izolatta KPC gen bölgesi saptanmamıştır. Aşık ve ark. 2013-2014'de Afyon'da yaptıkları çalışmada 22 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatı tespit edilmiştir, fakat bu izolatların hiçbirinde KPC gen bölgesi tespit edilmemiştir.Bizim çalışmamızda 264 Enterobacteriaceae izolatlarının hiçbirinde KPC gen bölgesi saptanmamıştır. Avrupada önemli ölçüde yaygın olmasına karşın günümüze kadar ülkemizde 2014 yılında istanbulda yapılmış olan çalışmada Bursa kaynaklı olan *K.pneumoniae* izolatında tespit edilmiştir. Ayrıca DNA dizileme yöntemi ile KPC-2 gen bölgesine uyumlu olduğu bildirilmiştir.OXA-58 geni ilk kez Fransa'da *A.baumannii* suşunda tespit edilmiştir (Poirel, 2005). OXA-58 geni Fransa, İngiltere, Arjantin, İspanya, Türkiye, Romanya, Yunanistan, Avusturya gibi farklı coğrafik bölgelerden rapor edilmiştir. (Özdemir, 2011). Yazıcı ve ark. 2011 yılında ülkemizde yapmış oldukları bir çalışmada32 *Klebsiella* suşlarından dördünde karbapenem direnci saptamışlar, bu suşlarında sadece birinde OXA-58-like, OXA-48like, OXA-51-like gen bölgeleri tespit edilmiştir (2014). Tablo 3.13.'de göstermiş olduğumuz çalışmaların hiçbirinde

OXA-58 gen bölgesi saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da 264 Enterobacteriaceae suşlarının hiçbirinde OXA-58 gen bölgesi saptanmamıştır.

Enterobacteriaceae ailesinde OXA-58 gen bölgesinin belirlenmesi yönünde yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Fakat yapılan çalışmalar değerlendirilmeye alındığında ise OXA-58 gen bölgesinin artık sadece *A.baumannii* türlerinde görülmediğinin kanıtı olabilmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda; 264 Enterobacteriaceae izolatlarının 114'ünde (%43,1) karbapenem direnci saptanmıştır. Bu suşlarında 101'inde(%88,5) karbapenemaz geni tespit edilmiştir. Karbapenemaz direnci saptanmış ancak herhangi bir direnç gen varlığına rastlanamayan 13 suşta karbapenem direncinden sorumlu mekanizmadaki porin kaybının yanı sıra GSBLya da yüksek düzeyde AmpC varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen materyallerden izole edilen 207 *K.pneumoniae*, 57 *E.coli*, izolatında otomatize sistemler(Vitek 2, BioMerieux, USA) ve genotipik yöntemlerle karbapenem direnci ve bu dirençten sorumlu karbapenemaz enzimleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Çalışmamızda Enterobacteriaceaeüyesi izolatlar en sık anestezi yoğun bakım bölümü başta olmak üzere cerrahi birimlerden (%64), ve idrar örneklerinden (%47,3) izole edilmiştir.

2. Otomatize sistem (Vitek 2)kullanılarak yapılan çalışmayadahil edilen 207 *K.pneumoniae* suşlarının %38,6' sında, 57 *E.coli* suşlarının %21'inde meropenem, ertapenem veya imipenemden en az birine direnç ya da azalmış duyarlılık saptanmıştır. Suşların tamamında karbapenemlere direnç oranı %43,1 olarak tespit edilmiştir.

3.Genotipik olarak suşlarda karbapenemaz enzimlerinde NDM, VIM, IMP, OXA-48, KPC, OXA-58 tipi karbapenemazları kodlayan gen bölgeleri moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatların hiçbirinde OXA-58 ve KPC gen bölgesinin varlığı saptanmamıştır. Suşların %10,2'sinin NDM-1, %18,5'inin VIM, %4,9'unun IMP, %26,8'inin OXA-48 geni olduğu saptanmıştır.

4. Karbapenem direnci özellikle yoğun bakım ünitelerinde büyük önem kazanmıştır. Direnç yayılımının engellenebilmesi için enfeksiyon hastalıklarına yönelik kontrol önlemlerinin alınması, antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre primer ilaçlarla tedaviye başlanması, ampirik tedaviye bölgesel ya da ulusal sürveyans verilerine göre karar verilmesi ve direnç gelişimi açısından tedavi sürecinin antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının takip edilmesi ve sonuçlara göre önemli tedbirler alınması gerekmektedir.

5. Antibiyotiklere olan direnç durumları belirlenmeli böylece antibiyotiklerin daha etkili ve doğru şekilde seçilmesi sağlanabilecektir. Bu sayede doğru planlanmış tedavi ile süreç azaltılmış olacak ve aynı zamanda da ekonomik kaybın önüne geçilmişolacaktır.

6. Doğru karbapenemin gerçek endikasyonda, uygun karbapenem seçimi, doğru dozaj ve sürede, doğru uygulama şekli ile optimizasyonu sağlanmalı ve aynı zamanda gereksiz kullanımının sınırlandırılması tartışılmalı, aksi takdirde direnç sorununun yayılması kaçınılmaz bir sonuç doğuracaktır.

7. Kullanılmakta olan antibiyotiklerin direnç sorunu nedeniyle etkisinin azaldığının, dirençli bakterilere yönelik etkili yeni antimikrobiyal geliştirme çabalarının sonuçsuz kaldığı günümüz dünyasında, global bir sorun haline gelen karbapenem direncinin önüne geçilebilmesi için dirençten sorumlu mekanizmaların daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Bu nedenle direnç mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik daha kapsamlı ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

ÖZET

Escherichia coli ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Karbapenem Direnci ve Dirençten Sorumlu Enzimlerin Araştırılması

Karbapenemler çoklu ilaç direncine sahip Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yere sahiptirler. Fakat günümüzde karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin ortaya çıkmasıyla birlikte karbapenemlerin de antimikrobiyal etkinliklerinin de azalmasına sebep olmuştur. Karbapenemazlar en güçlü hidrolitik aktiviteye sahip bete-laktamazlardır. Enterobacteriaceae ailesi için karbapenem direncinden en sık OXA-48, OXA-58, KPC karbapenemazları ve IMP, NDM, VIM gibi beta-laktamazların sorumlu tutulduğu bilinmektedir. Bu çalışmada enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen 2 Enterobacteriaceae üyesinde karbapenemaz gen bölgelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince, çeşitli klinik örneklerden izole edilen, 207 *Klebsiella pneumoniae*, 57 *Escherichia coli* olmak üzere Enterobacteriaceae üyesi toplam 264 ait suş çalışmaya dahil edilmiştir. Karbapenemlerden herhangi birine direnç ya da azalmış duyarlılık gösteren klinik

izolatlarında sorumlu gen bölgeleri araştırılmıştır. Bakteri tanımlanması ve antibiyotik testleri, geleneksel yöntemler ve otomatize sistemler (Vitek 2, BioMerieux, USA) gerçekleştirilmiştir. IMP, NDM, OXA-58, OXA-48, KPC ve VIM, karbapenemazlarını kodlayan gen bölgeleri Polimeraz zincir reaksiyon yöntemi (PZR) kullanılarak araştırılması yapılmıştır. Suşların çoğu Anestezi yoğun bakım ünitesi başta olmak üzere cerrahi tıp birimlerinde yatarak tedavi gören hastalardan (% 65,5) ve idrar (% 47,3), kan (% 19,3), yara (% 11,7), trakeal aspirat (% 10,6), balgam (% 6,8) ve diğer örnekler (% 4,3) olmak üzere izole edilmişlerdir. İzolatların % 43'ünde (102 *K. pneumoniae*, 12 *E. coli*) imipenem, ertapenem ve meropenemden en az birine direnç veya azalmış duyarlılık tespit edilmiştir. Karbapenem dirençli izolatların % 88'inde, karbapenemaz kodlayan gen bölgelerinden en az birinin varlığı saptanmıştır. Karbapenemaz kodlayan genlerden en sık OXA-48 gözlenmiştir (63 *K. pneumoniae*, 5 *E. coli*).Bunu takip eden diğer genler IMP (12 *K. pneumoniae*) ve VIM (45 *K. pneumoniae*), NDM-1 (27 *K. pneumoniae*) şeklinde belirlenmiştir. 264 Enterobacteriaceae Suşlarının hiçbirinde KPC ve OXA-58 genleri saptanmamıştır. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceaeüyelerinin dünya çapındaki yayılımı, bu suşlarla oluşan enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerinin oldukça sınırlı olması nedeniyle evrensel boyutta önemli bir sağlık sorununu oluşturmaktadır.Bu çalışmanın sonuçlarına bakıldığında karbapenem direncinin özellikle *K. pneumoniae* suşlarında daha yüksek olduğu ve karbapenem direncinden sorumlu primer enzimin OXA-48 olduğu fakat metallo-beta-laktamazlarında oldukça sık saptandığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Enterobacteriaceae, direnç.karbapenemler, karbapenemaz.

SUMMARY

Investigation of Carbapenem Resistance and Responsible Enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates

Carbapenems have an important role in thetreatment of infections caused by Gram-negative bacteria with multiple drug resistance. However, with the emergence of enzymes that hydrolyze carbapenems cause decrease of the antimicrobial activity of carbapenems recently. Carbapenemases are beta-lactamases with the strongest hydrolytic activity. For the Enterobacteriaceae family carbapenemases like OXA-48, OXA-58, KPC and beta-lactamases such as IMP, NDM, VIM are mostly responsible for carbapenem resistance. In the study, it was aimed to investigate the carbapenemase gene regions of two the most frequently isolated infection agent of Enterobacteriaceae family.

The study was carried out between January and December 2017 at Afyon Kocatepe University Hospital. During the study period, 264 Enterobacteriaceaestrains including 207 *Klebsiella pneumoniae*and 57 *Escherichia coli* which were isolated from various clinical specimens included in the study.

Genetic regions of clinical isolates responsible showing resistance or reduced susceptibility to any of the carbapenems have been investigated.

Bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing was carried out with conventional and otomated systems (Vitek 2, bioMerieux, USA). Gene regions coding for carbapenemases such as IMP, NDM, OXA-58, OXA-48, KPC and VIM have been investigated using the polymerase chain reaction method (PCR). Most of the strains isolated from anesthesi aintensive care unit and hospitalised surgical medicine unit patient and sample like urine (47,3 %), blood (19,3 %), wound (11,7%), tracheal aspirate (10,6%), sputum (6,8%) and other samples (4,3%).In 43% of isolates(102 *K. pneumoniae*, 12 *E. coli*) were detected at least one resistance or decreased susceptibility from imipenem, ertapenem and meropenem. In 88 % of carbapenem resistant isolates, the presence of at least one of the genes encoding carbapenemase was detected.OXA-48 was most frequently observed in carbapenemase-encoding genes (63 *K. pneumoniae*, 5 *E. coli*). Other following genes were identified as IMP (12 *K. pneumoniae*) and VIM (45 *K. pneumoniae*), NDM-1 (27 *K. pneumoniae*). No KPC and OXA-58 genes were detected in any of the 264 Enterobacteriaceae strains. The global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceaeconstitutes an important health problem on a universal scale due to the very limited treatment options available for infections with these strains. The results of this study show that carbapenem resistance is higher in *K. Pneumoniae* strains and that the primary enzyme responsible for carbapenem resistance is OXA-48 but is found frequently in metallo-beta-lactamases.

Keywords: Enterobacteriaceae, resistance, Carbapenems, carbapenemase.

KAYNAKLAR

ALHAN, E. (2011). Yeni karbapenemler. J Pediatr Inf. 25(Suppl 1); 90-94.

ALP, E. PERÇİN, D. ÇOLAKOĞLU, S. DURMAZ, S. KÜRKCÜ, CA. EKİNCİOĞLU, P. GÜNEŞ, T. (2013). Molecular Characterization of carbapenem-resistant K.pneumoniae in a tertiary university hospital in Turkey. Journal of Hospital Infection; (84):178-180.

AMYES, SGB. (1997). Carbapenemases. ANKEM Derg, 11(2); 221-225.

ANDERSON, KF. L.D., RASHEED, JK. (2007). Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae. Journal of clinical microbiology, 45 (2723).

ARAL, M. KİREÇCİ, E. DOĞAN, ŞS. (2011). İdrar örneklerinden izole edilen Gram negatif bakteriler ve antibiyotiklere direnç oranlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg., 41(49, 139-142.

AŞIK, G. ER, H. ŞAHİN, M. ÜNAL, Z. DEMİRÖRS, A. ALTINDİŞ, M. (2012). Klebsiella pneumoniae izolatlarında OXA-48 geninin varlığının araştırılması. 10. Antimikrobik kemoterapi günleri kitabı, İstanbul, P16.

AŞIK, G. KEŞLİ, R. DEMİR, C. YOLDAŞ, Ö. ÇETİNKAYA, Ö. (2014). Karbapenem dirençli K.penumoniae izolatlarının genotipik özlliklerinin araştırılması. 11. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Bildiri Özeti Kitabı. İstanbul, PP-43, 165.

AYDIN, E. GÖKBOLAT, E. ÖZ, S. (2013). E. Enterobacteriaceae klinik izolatlarında karbapenemaz varlığının fenotipik yöntemlerle araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir, 10-43.

BAROUD, M. DANDACHE, I. ARAJ, GF. WAKİM, R. KANJ, S. KANAFANİ, Z. KHAİRALLAH, M. SaBRA, A. SHEHAB, M. DBAİBO, G. MATAR, GM. (2013). Underlying mechanisms ofcarbapenem resistance in extended-spectrum β-lactamase-producing K.pneumoniae ve E.coli isolates at a tertiary care centre in Lebanon: role of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases. International Journal of Antimicrobial Agents; (41), 75-79.

BİLAVSKY E, SCHWABER MJ, CARMELİ Y. How to stem the tide of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae?: proactive versus reactive strategies. Curr Opin Infect Dis. 2010;23(4):327-31

BILGEHAN, H. (2004). Klinik Mikrobiyoloji Tanı. Enterobacteriaceae. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. İzmir, 425-54.

BİÇMEN, M. SARI, A. GÜLAY, Z. (2012). OXA-48 karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae üyelerinin klonal ilişkilerinin araştırılması. 10. Antimikrobik kemoterapi günleri kitabı, İstanbul, P48.

BOZKAYA, E. (2005). Tıbbi Mikrobiyoloji-2. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 51-70. (İstanbul Üniv. Tıp Fakültesi, Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları). Bölüm yazarı Berkiten, R)

BRADFORD, PA. URBAN, C. MARİANO, N. PROJAN, SJ. RAHAL, JJ. BUSH, K. (1997) Imipenem resistance in Klebsiella pneumoniae is associated with the combination of ACT-1,a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the foss of an outer membrane protein. Antimicrobial agents and chemotherapy, 41 (3), 563-69.

BULUT, A.AŞIK, G. DEMİR, C. (2014). Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci ve dirençten sorumlu enzimlerin varlığının araştırılması.Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon.

BUDAK S, AKTAŞ Z, ERDEM H. Enterik Gram-negatif bakterilerde laboratuvardan kliniğe karbapenemazlar. Mediterr J Infect Microb Antimicrob. 2012;1:1.

CANTON, R. AKOVA, M. CARMELİ, Y. GİSKE, CG. GLUPCZYNSKİ, Y. GNİADKOWSKİ, M. LİVERMORE, DM. MİRİAGOU, V. NAAS, T. ROSSOLİNİ, GM. SAMUELSEN, Q. SEİFERT, H. WOODFORD, N. NORDMANN, P. (2012). Rapid Evolution and spread of

carbapenemases amaong Enterobacteriaceae in Europe: Clinical Microbiology and İnfection; 18(5): 413-431.

CAGNACCİ S, GUALCO L, ROVETA S, MANNELLİ S, BORGİANNİ L, DOCQUİER JD, DODİ F, CENTANARO M, DEBBİA E, MARCHESE A, ROSSOLİNİ GM.Bloodstream infections caused by multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae producing the carbapenem-hydrolysing VIM-1 metallo-beta-lactamase: first Italian outbreak. J Antimicrob Chemother. 2008;61(2): 296-300.

CARRER A. POİREL, L. ERAKSOY, H. ÇAĞATAY, A. BADUR, S. NORDMANN, P. (2008). Spread of OXA-48 positive carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae isolates in İstanbul, Turkey. Antimicrob Agents Chemother; 52(8): 2950-4.

CDC, C.f.D.c.a.P. (2011). Update: detection of a verona integron-encoded metallo-beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 59 (1212).

CHANG, H.J., HSU, P.C., YANG, C.C., KUO, A.J., CHİA, J.H., WU, T.L. (2011). Risk factors and outcomes of carbapenem-nonsusceptible Escherichia coli bacteremia: a matched case-control study. Journal of microbiology, immunology, and infection. Wei mian yu gan ran za zhi, 44 (2), 125-130.

ÇİFTÇİ, İH. KARAKEÇE, E. AŞIK, G. DEMİRAY, T. ER, H. (2013). Karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae suşlarında OXA-48 ve KPC varlığının araştırılması. Ankem Derg; 27(2): 4954.

CLİNİCAL and LABORATORY STANDARDS INSTİTUTE. (2012) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty-first Informational Supplement, CLSI Document M100S20, CLSI, Wayne PA.

COHEN, S.J. LEVERSTEİN, VH, MA. (2010). Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. Int J Antimicrob Agents. 36(3):205-10.

CRESPO, MP. WOODFORD, N. SİNCLAİR, A. KAUFMANN, ME. TURTON, J. GLOVER, J. (2004) Outbreak of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa producing VIM-8, a novelmetallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. Journal of clinical microbiology, 42 (11), 5094-5101.

CUZON G, NAAS T, LESENNE A, BENHAMOU M, NORDMANN P. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolysing OXA-48 beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae from Tunisia. Int J Antimicrob Agents. 2010;36(1):91-3.

DEMİR. Y, ZER. Y, (2013) Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae üyesi bakterilerde VIM, IMP, NDM-1,KPC ve OXA-48 Enzimlerinin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi

DEMİRTÜRK N, DEMİRDAL T. Antibiyotiklerde direnç sorunu.Kocatepe Tıp Dergisi. 2004;5(2):17-21

DESHPANDE, P. SHETTY, A. KAPADİA, F. HEDGE, A. SOMAN, R. Rodrigues, C. (2010). New Delhi metallo 1: have carbapenems met their doom? Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 51 (10), 1222.

DOCQUİER JD, CALDERONE V, DE LUCA F, BENVENUTİ M, GİULİANİ F, BELLUCCİ L, TAFİ A, NORDMANN P, BOTTA M, ROSSOLİNİ GM, MANGANİ S. Crystal structure of the OXA-48 beta-lactamase reveals mechanistic diversity among class D carbapenemases. Chem Biol. 2009;16(5):540-7.

DOĞANTEKİN E. (2010). Gram negatif basillerde tigesiklinin invitro aktivitesinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Elazığ.

DOYLE, D. PEİRANO, G. LASCOLS, C. LLOYD, T. CHURCH, DL. PİTOUT, JDD. (2012). Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. Journal of Clinical Microbiology; 50(12): 3877-80.

DREW, RJ. TURTON, JF. HİLL, RLR. LİVERMORE, DM. WOODFORD, N. PAULUS, S. CUNLİFFE, NA. (2013). Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a UK paediatric hospital. Journal of Hospital Infection; 84: 300-304.

DUMAN, Y. KUZUCU, Ç. ÇUĞLAN, SS. (2011). Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları, Erciyes Tıp Derg, 33(3): 189-196.

ENDİMİANİ, A. PEREZ, F. BAJAKSOUZİAN, S. WİNDAU, AR. GOOD, CE. CHOUDHARY, Y. HUJER, AM. BETHEL, CR. BONOMO, RA. JACOBS, MR. (2010). Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing Klebsiella pneumoniae with reduced carbapenem susceptibility. J Clin Microbiol. 48(12):4417-25.

ESER, KÖ. ULUDAĞ, HA. ERGİN, A. BORAL, B. ŞENER, B. HASÇELİK, G. (2014). İnvazif enfeksiyonlara neden olan GSBL pozitif Enterobacteriaceae izolatlarında karbapenem direnci. Mikrobiyol Bul., 48 (1), 59-69.

FARRA, A. ISLAM, S. STRALFORS, A. SÖRBERG, M. WRETLİND, B. (2008). Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of Pseudomonas aeruginosa to imipenem and meropenem. Int J Antimicrob Agents, 31(5): 427-33.

FONTANA, C. FAVARO, M. SARMATI, L. NATOLİ, S. ALTIERİ, A. BOSSA, MC. MİNELLİ, S. LEONARDİS, F. FAVALLİ, C. (2010). Emergence of KPC-producing Klebsiella pneumoniae in İtaly. BMC research notes; 3: 40.

FRANKLİN, C. LİOLİOS, L. PELEG, AY. (2006) Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in the clinical laboratory. Journal of clinical microbiology, 44 (9), 3139-3144.

GALANİ, I. REKATSİNA, PD. HATZAKİ, D. PLACHOURAS, D. SOULİ, M. GİAMARELLOU, H. (2008). Evaluation of different laboratory tests for the detection ofmetallo-beta-lactamase production in Enterobacteriaceae. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 61 (3), 548-553.

GAO, J. ZHAO, X. BAO, Y. RUİHUA, M. ZHOU, Y. XİNXİAN, L. TONGJİE, C. YUMEİ, C. (2013). Antibiotic resistance and OXA-type carbapenemases-encoding genes in airborne Acinetobacter baumannii isolated from burn wards. JBurns-4064, 5.

GİANİ, T. PİNİ, B. ARENA, F. CONTE, V. BRACCO, S. MİGLİAVACCA, R. the AMCLI-CRE Survey Participants. PANTOSTİ, A. PAGANİ, L. LUZZARO, F. ROSSOLİNİ, GM. (2013). Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in Italy: results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. Surveillance ande outbreaks reports.

GİRLİCH, D. BOUİHAT, N. POİREL, L. BENOUDA, A. NORDMANN, P. (2013). High rate of faecal carriage of extended-spectrum β-lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterbacteriaceae at a University hospital in Morocco. Clin Microbiol Infect, 5.

GİRLİCH, D. HALİMİ, D. ZAMBARDİ, G. NORDMANN, P. (2013). Evaluation of E-test strips for detection of KPC and metallo-carbapenemases in Enterobacteriaceae. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.

GİSKE CG, GEZELİUS L, SAMUELSEN O, WARNER M, SUNDSFJORD A, WOODFORD N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-βlactamases and KPC in Klebsiella pneumoniae with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect. 2011; 17 (4): 552-6.

GİAKKOUPİ P, PAPPA O, POLEMİS M, VATOPOULOS AC, MİRİAGOU V, ZİOGA A, PAPAGİANNİTSİS CC, TZOUVELEKİS LS.Emerging Klebsiella pneumoniae isolates coproducing KPC-2 and VIM-1 carbapenemases. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(9):4048-50.

GURUPTA N, LİMBAGO BM, PATEL JB, KALLEN AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and prevention. Clin Infect Dis. 2011;53(1):60-7.

GÜLAY, Z. (2001) Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Betalaktamlara ve karbapenemlere direnç. Hastane Ġnfeksiyonları Dergisi,;5:210-229.

GÜLAY, Z. (2005). Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. Ankem derg, 19(Ek-2), 66-77.

GÜLAY, Z. (2014). ‘‘Karbapenemazların başarısı: plazmidler ve klonlar’’. 11. Antimikrobik kemoterapi günleri program ve bildiri özeti kitabı. 18-22. Nisan, İstanbul.

GÜR, D. (1997). Hastane Enfeksiyonlarında önem kazanan Gram olumsuz bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, (1): 38-45.

HAMANÇA, Ö. (2009). Enterobacteriaceae ailesi üyelerinde OXA tipi genişlemiş spektrumlu betalaktamazların araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp fakültesi, Mikrobiyoloji, İstanbul.

HASHİZUME T, ISHİNO F, NAKAGAVA J, TAMAKİ S, MATSUHASHİ M. STUDİES on the mechanism of action of imipenem (n-formimidoylthienamycin) in vitro: binding to thepenicillin-binding proteins (PBPs) in Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa, and inhibition of enzyme activities due to the PBPs in E. coli. J Antibiot (Tokyo). 1984;37(4):394-400.

HAUSER, AR. Antibiotic basics for clinicians: Choosing the right antibacterial agent. 2nd ed. Baltimore: Lippincott Williams &Wilkins; 2013.

HELVACI, Ö. AKOVA, M. YILMAZ, Y. A. (2014).Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesinde 2004-2012 yılları arasında kan kültürlerinde üreyen Enterobacteriaceae üyelerininGenişletilmiş Spektrumlu Betalaktamaz ve Karbapenemaz pozitifliklerinin değerlendirilmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi. Ankara, 16-23.

HERİTAGE J, M'ZALİ FH, GASCOYNE-BİNZİ D, HAWKEY PM. Evolution and spread of SHV extended-spectrum beta-lactamases in Gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother. 1999;44(3):309-18.

HO, J. TAMBYAH, PA. PATERSON, DL. (2010). Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective, Curr Opin Infect Dis; 23(6): 546-5

IŞIK, F. (2007). Kan kültürlerinden izole edilen Klebsiella pneumoniae suşlarında geniş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanmasında üç yöntemin (Çift Disk Sinerji, Kombine Disk ve E-test) karşılaştırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniv. Meram Tıp Fak.

JACOBY GA. Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino-beta-lactams. Infect Dis Clin North Am. 1997;11(4):875-87

JONES, RN. GÜRLER, N. CEPPARULA, M (2014). Resistance surveillance program report for selected European isolates. Diagn Microbiol Infect Dis (78); 429-36.

KAASE, M. SZABADOS, F. WASSİLL, L. GATERMANN, GS. (2012) Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae by a Commercial Multiplex PCR. J.Clin. Microbiol.;50(9): 3315-19.

KARATUNA, O. AKYAR, I. OKULLU, ÖS. ÜNÜBOL, N. KAYA, DE. GÜNGÖRÜRLER, E. KOCAGÖZ, S. KOCAGÖZ, T. (2014). E.coli ve Klebsiella kökenlerinde karbapenem direncine neden olan mekanizmaların araştırılması: NDM-1'in sessiz yayılımı. 11. Antimikrobik kemoterapi günleri program ve bildiri özeti kitabı. 27-28. Nisan, İstanbul.

KATTAN JN, VİLLEGAS MV, QUİNN JP. New developments in carbapenems. Clin Microbiol Infect. 2008;14:1102-1111.

KESKİN, K. ÖZSOY, FM. KOÇAK, N. ÇAVUŞOĞLU, Ş. ÇAKICI, N. ALTUNAY, H. YENEN, ŞO. (1998). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Staphylococcus aureus, Escherichia coli ve Pseudomonas aeruginosa şuslarına karşı meropenemin etkinliği. Klimik Derg, 11(1): 26-29.

KİM, YS. SHİN, J. SHİN, SY, KO, SK. (2013). Characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates from Korea. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; 76: 486-90.

KİRAZ, N. SAMASTI, M. AYGÜN, G. (2011). Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı Cilt-II. İstanbul Üni. Basım ve Yayınevi Müd. İstanbul, 887-916.

KOHLER, T. MİCHEA-HAMZEHPOUR, M, EPP, S.F. PECHERE, J.C. (1999). Carbapenem activities against Pseudomonas aeruginosa: respective contributions of OprD and efflux systems. Antimicrobial agents and chemotherapy, 43 (2), 424-27.

KORTEN, V. ULUSOY, S. ZARAKOLU, P. METE, B. (2007). Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in turkey: results of the mystic program. Diagn Microbiol Infect Dis. 59: 453-457.

KUMARASAMY, KK. TOLEMAN, MA. WALSH, TR. BAGARİA, J. BUTT, F. BALAKRİSHNAN, R. (2010) Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. The Lancet infectious diseases, 10 (9), 597-602.

KUYUCU N. Antibiyotik direnci. Çocuk Enf Derg. 2007;1: özel sayı 1;33-8

KUZUCU, Ç. YETKİN, F. GÖRGEÇ, S. ERSOY, Y. (2011). Genişlemiş spektrumlu bet-laktamaz üreten Klebsiella spp.ve E.coli suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. Mikrobiyol Bul., 45(1), 28-35.

LANDMAN D, BRATU S, QUALE J. Contribution of OmpK36 to carbapenem susceptibility in KPC-producing Klebsiella pneumoniae. J Med Microbiol. 2009;58: 1303-8.

LEE, EH. NİCOLAS, MH. KİTZİS, MD. PİALOUX, G. COLLATZ, E. GUTMANN, L. (1991). Association of two resistance mechanisms in a clinical isolate of Enterobacter cloacae with high-level resistance to imipenem. Antimicrobial agents and chemotherapy, 35 (6), 1093-98.

LEE, K. CHONG, Y. SHİN, HB. (2001). Modified Hodge test and EDTA synergy tests to screen metallo-beta-lactamase-producing strains of Pseudomonas and Acinetobacter spp., Clin Microbiol Infect, (7):88-91.

LEE, K. LIM, YS. YONG, D. YUM, JH. CHONG, Y. (2003). Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase producing isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp., J Clin Microbiol, 41(10):4623-9.

LEE K, KİM CK, YONG D, JEONG SH, YUM JH, SEO YH, DOCQUİER JD, CHONG Y. Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. J Microbiol Methods. 2010;83(2):149-52.

LİVERMORE, DM. WOODFORD, N. (2000). Carbapenemases: a problem in waiting? Curr Opin Microbiol, 3(5): 489-95.

LOLİ A, TZOUVELEKİS LS, TZELEPİ E, CARATTOLİ A, VATOPOULOS AC, TASSİOS PT, MİRİAGOU V.Sources of diversity of carbapenem resistance levels in Klebsiella pneumoniae carrying blaVIM-1. J Antimicrob Chemother. 2006;58 (3):669-72.

LYNCH, PJ. CLARK, MN. ZHANEL, GG. (2013). Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum β-Lactamases and carbapenemases). Expert Opin. Pharmacother, 14(2): 199-210.

MANDELL L. Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection. Clin Infect Dis. 2009;49 Suppl 1:S1-3.

MİRİAGOU V, CORNAGLİA G, EDELSTEİN M, GALANİ I, GİSKE CG, GNİADKOWSKİ M, MALAMOU-LADA E, MARTİNEZ-MARTİNEZ L, NAVARRO F, NORDMANN P, PEİXE L, POURNARAS S, ROSSOLİNİ GM, TSAKRİS A, VATOPOULOS A, CANTON R. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. Clin Microbiol Infect. 2010;16(2):112-22.

MURRAY, PR. ROSENTHAL, KS. PFALLER, MA. (2009). Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. Çeviri Editörü: Başustaoğlu A. Atlas Kitapçılık. Ankara, 301-09, 313-14.

MUNOZ-PRİCE LS, DE LA CUESTA C, ADAMS S, WYCKOFF M, CLEARY T, MCCURDY SP, HUBAND MD, LEMMON MM, LESCOE M, DİBHAJJ FB, HAYDEN MK, LOLANS K, QUİNN JP. Successful eradication of a monoclonal strain of Klebsiella pneumoniae during a K. pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae outbreak in a surgical intensive care unit in Miami, Florida.Infect Control Hosp Epidemiol. 2010;31(10): 1074-7. 191

NAAS, T. NORDMANN, P. VEDEL, G. POYART, C. (2005) Plasmid-mediated carbapenemhydrolyzing beta-lactamase KPC in a Klebsiella pneumoniae isolate from France. Antimicrobial agents and chemotherapy, 49 (10), 4423-4424.

NORDMANN, P. POİREL, L. (2007). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 8 (6), 321-331.

NUKAGA M, TSUKAMOTO K, YAMAGUCHİ H, SAWAİ T. Interaction of oxyimino beta-lactams with a class C beta-lactamase and a mutant with a spectrum extended to beta-lactams. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1994;38: 1374-1377.

OVERTURF GD. Carbapenemases: a brief review for pediatric infectious disease specialists. Pediatr Infect Dis J. 2010;29(1):68-70.

ÖCAL, D. (2012). Gram negatif bakterilerde antibakteriyel direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi, Ankem Derg, 26(3):154-164.

ÖNCÜL, O. (2002). Antibiyotikler I. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi. (31); 23-28.

ÖZDEMİR, D. (2011). Acinetobacter enfeksiyonları: Direnç Epidemiyolojisi. 3. Türkiye EKMUD Bilimsel Platformu, İstanbul. 249-252.

ÖZKUYUMCU, C. DÜRDAL, US. SANCAK, B. ALP, A. SARIBAŞ Z, ÇAKAR, A. (2009). Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi-1, Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. Enterobacteriaceae. Editör: Özkuyumcu C. Güneş Kitabevi. Ankara, 103-121.

ÖZMEN, E. (2013). Klinik örneklerden izole edilen Gram negatif bakterilerde doripenem ve diğer karbapenemlerin in vitro etkinliklerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üni. Tıp Fak. Tıbbi Mikro. AD.

ÖZMEN, E. GEYİK, MF. ULUĞ, M. ÇELEN, MK. HOŞOĞLU, S. AYAZ, C. (2010). Yatan hastalarda izole edilen Gram negatif bakteriler ve antibiyotik dirençlerinin değerlendirilmesi, Düzce Tıp Derg, 12(3): 32-39.

PATEL, JB. RASHEED, JK. KİTCHEL, B. (2009) Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Activity, Epidemiology, and Laboratory Detection. Clinical Microbiology Newsletter. 31(8):55-62.

PAPP-WALLACE KM, ENDİMİANİ A, TARACİLA MA, BONOMO RA. Carbapenems: past, present, and future. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(11):494360.

PELEG, AY. FRANKLİN, C. BELL, JM. SPELMAN, DW. (2005) Dissemination of the metallobeta-lactamase gene blaIMP-4 among Gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. Clinical infectious diseases an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 41 (11), 1549-1556.

POİREL, L. MARQUÉ, S. HÉRİTİER, C. SEGONDS, C. CHABANON, G. NORDMAN, P. (2005). OXA-58, a novel class D β-lactamase involved in resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii, Antimicrobial Agents and Chemotherapy; P. 202–208.

POTTUMARTHY, S. MOLAND, ES. JURETSCHKO, S. SWANZY, SR. THOMSON, KS.,FRİTSCHE, TR. (2003). NmcA carbapenem-hydrolyzing enzyme in Enterobacter cloacae in North America. Emerging infectious diseases, 9 (8): 999-1002.

PSİCHOGİOU M, TASSİOS PT, AVLAMİS A, STEFANOU I, KOSMİDİS C, PLATSOUKA E, PANİARA O, XANTHAKİ A, TOUTOUZA M, DAİKOS GL, TZOUVELEKİS LS. Ongoing epidemic of blaVIM-1-positive Klebsiella pneumoniae in Athens, Greece: a prospective survey. J Antimicrob Chemother. 2008;61(1):59-63.

QUEENAN, AM. SHANG, W. SCHRECKENBERGER, P. LOLANS, K. BUSH, K. QUİNN, J. (2006) SME-3, a novel member of the Serratia marcescens SME family of carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy, 50 (10): 3485-87.

QUEENAN, MA. BUSH, K. (2007). Carbapenemases: the versatile β-lactamases. Clinical Microbiology Reviews, 20(3), 440-58.

QUEENAN AM, SHANG W, FLAMM R, BUSH K. Hydrolysis and inhibition profiles of beta-lactamases from molecular classes A to D with doripenem,imipenem, and meropenem. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):5659

RPZENFE'D, LG. (1980). The structure of β-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 289, 321-331.

SARI, H. (2005). Karbapenemlere dirençli Gram negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA/ meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge test ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması Uzmanlık Tezi. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul.

SCOULİCA, EV. NEONAKİS, IK. GİKAS, AI. TSELENTİS, YJ. (2004) Spread of blaVIM-1 producing E. coli in a university hospital in Greece. Genetic analysis of the integron carrying the blaVIM-1 metallo-beta-lactamase gene. Diagnostic microbiology and infectious disease, 48 (3), 167-172.

SİEVERT, DM. RİCKS, P. EDWARDS, JR. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. Infect Control Hosp Epidemiol, (34)1–14.

TAŞOVA, Y. (2011). Gram negatif enterik bakteri infeksiyonlarının yönetimi, Ankem Derg.,25(2):33-44.

TENOVER, FC. KALSİ, RK. WİLLİAMS PP. (2006). Carbapenem resistance in Klebsiella pneumoniae not detected by automated susceptibility testing. Emerging infectious diseases, 12 (1209).

TEKİN, A. SÖNMEZ, E. KES, N. U. (2014) Enterobacterıaceae suşlarında karbapenem direncinin fenotipik ve genotipik olarak tanımlanması. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul, 42 (41).

TEKİN, A. DEVECİ, Ö. DAL, T. TEKİN, R. BACALAN, F. AKPOLAT, N. Klinik örneklerden izole edilen Escherichia coli suşlarında ertapenemin in vitro etkinliği. Anatol J Clin Investig. 2013;7(1):10-13.

THOMSON, KS. Extended-spectrum-β-lactamase, AmpC, and carbapenemase issues. Journal of Clinical Microbiology. 2010;48:1019-1025.

TOMASZ, AL. BANGURA, U. JIMMY, DH. ANSUMANA, R. LIZEWSKİ, SE. Lİ, RW. STENGER, DA. TAİTT, CR. VORA, GJ. (2013). Identification of blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaDIM-1, blaVIM carbapenemase genes in hospital Enterobacteriaceae isolates from Sierra Leone. Journal of Clinical Mikrobiology; (51)7: 2435-38.

TOPÇU AW, SÖYLETİR, G. DOĞANAY, M. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt-2. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 1555-82.

TOPÇU AW, SÖYLETİR, G. DOĞANAY, M. (2008). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt-1, Cilt-2. Nobel Tıp Kitabevi.3.Baskı. İstanbul, sy 266-294; 2126-2150.

TURTON, JF. WARD, ME. WOODFORD, N. KAUFMANN, ME. PİKE, R. LİVERMORE, DM. (2006). The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii. FEMS microbiology letters, 258 (1), 72-77.

TZOUVELEKİS LS, MARKOGİANNAKİS A, PSİKHOGİOU M, TASSİOS PT, DAİKOS GL. Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. Clin Microbiol Rev. 2012;25(4):682707.

USTAÇELEBİ, Ş. MUTLU, G. İMİR, T. CENGİZ, AT. TÜMBAY, E. METE, O. Edit. (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Çeviri Editörü: Ustaçelebi Ş. Güneş Kitabevi. Ankara, 471-517.

WALSH, TR. TOLEMAN, MA. POİREL, L. NORDMANN, P. (2005) Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clinical microbiology reviews, 18 (2), 306-325.

WEBBER, MA. PİDDOCK, LJ. (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 51 (1); 9-11.

WOODFORD, N. EASTAWAY, AT. FORD, M. LENORD, A. KEANE, C. QUAYLE R,M. STEER, AJ. ZHANG, J. LİVERMORE D,M. (2010). Comparison of BD Phoenix, Vitek-2, and MicroScan Automated Systems for Detection and Inference of Mechanisms Responsible for Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae. J.Clin. Microbiol; 48(8): 2999-3002.

WOODFORD, N. TURTON, JF. LİVERMORE, DM. (2011). Multiresistant Gram negative bacteria: the rol of high risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev (35); 35736.

YAN, JJ. HSUEH, PR. KO, WC. LUH, KT. TSAİ, SH. WU, HM. (2001). Metallo-beta-lactamases in clinical Pseudomonas isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. Antimicrobial agents and chemotherapy, 45 (8), 2224-2228.

YAN, JJ. KO, WC. TSAİ, SH. WU, HM. WU, JJ. (2001) Outbreak of infection with multidrugresistant Klebsiella pneumoniae carrying blaIMP-8'in a university medical center in Taiwan. Journal of clinical microbiology, 39 (12), 4433-4439.

YİĞİT, H. QUEENAN, AM. ANDERSON, GJ. DOMENECH-SANCHEZ, A. BİDDLE, JW., STEWARD, CD. ve diğerleri. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae. Antimicrobial agents and chemotherapy, 45 (4): 1151-61.

YONG, D. TOLEMAN, MA. GİSKE, CG. (2009). Characterization of a new metallo- β-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in K.pneumoniae sequence type 14 from India, Antimicrob Agents Chemother; 53(12): 5046-54.

YUM, JH. YI, K. LEE, H. YOND, D. LEE, K. Kim, MJ. ROSSOLİNİ, GM. CHONG, Y. (2002). Moleculer characterization of metallo- β-lactamase producing Acinetobacter baumannii and Acinetobacter genom species 3 from Korea: Idendification of two new integrons carrying the blaVIM-2 gene cassettes. The Journal of antimicrobial chemotherapy, (49), 837-40.

ÖZGEÇMİŞ

Adı soyadı : Özlem ALBAYRAK

Doğum tarihi : 10 Mart 1987

Doğum yeri : Oltu/Erzurum

Yabancı Dil : İngilizce

e-mail : ozlem_24.biyolog@hotmail.com

ÖĞRENİM

Yüksek Lisans : (2015-2018) Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp FakültesiTıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

Üniversite : (2008-2012) Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji.

Lise : (2001-2003) Oltu Lisesi.