

Klinik *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Karbapenemaz Üretimini Saptanmasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Fenotipik Yöntemlerin Karşılaştırılması

Comparison of Phenotypic Methods and Polymerase Chain Reaction for the Detection of Carbapenemase Production in Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates

Yamaç TEKİNTAŞ¹, Feriha ÇİLLİ², Bayrı ERAÇ³, Melike YAŞAR², Sabire Şöhret AYDEMİR², Mine HOŞGÖR LIMONCU³

¹ İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

¹ İzmir Kâtip Çelebi University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, İzmir, Turkey.

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İzmir, Turkey.

³ Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Ege University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, İzmir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 09.03.2017 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 09.06.2017

ÖZ

Klebsiella pneumoniae insan normal mikrobiyotasında yer alan, fırsatçı patojen olarak özellikle hastane enfeksiyonu yapan *Enterobacteriaceae* familyası üyesidir. Özellikle karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli *K.pneumoniae* izolatlarının ortaya çıkması nedeniyle hastanede yatış süreleri, mortalite ve morbidite artışları gözlenmektedir. Ülkeler, bölgeler hatta sağlık kuruluşları arasında bile farklı direnç oranları gözlenmekle birlikte, son 10 yıllık dönemde karbapenem dirençli suşların oranlarında hızlı bir artış görülmektedir. Karbapenem dirençli suşların hızlı ve doğru tespiti, etken oldukları enfeksiyonların tedavisinde, uygun antibiyotik ve kombinasyonların belirlenebilmesi, başarı oranının artırılması açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarındaki karbapenemaz varlığı ve tiplerini araştırarak, bu amaçla kullanılabilecek ticari bir ürün olan "MASTDISCS™ ID carbapenemase detection disc set" ve görece yeni bir yöntem olan "Carbapenem Inactivation Method (CIM)" yöntemlerinden elde edilecek sonuçların polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle karşılaştırmasının yapılmasıdır. Bu amaçla, ertapenem, meropenem ve imipenem antibiyotiklerinden

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Mine Hoşgör Limoncu, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bornova 35100, İzmir, Türkiye.

Tel (Phone): +90 232 311 3983, E-posta (E-mail): minehosgorlimoncu@yahoo.com.tr

herhangi birine dirençli olduğu saptanan 2015-2016 yılları arasında izole edilen 54 *K.pneumoniae* izolatu çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması VITEK MS ile yapılırken, antibiyotik duyarlılık testleri ise VITEK 2 Compact® otomatize sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Otomatize sistemde karbapenem dirençli olduğu saptanan izolatlarda gradiyent test yöntemiyle "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" önerileri doğrultusunda minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlenmiştir. Bu izolatlarda $bla_{OXA-48'}$, bla_{IMP} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{SIM} genleri PCR ile araştırılmıştır. Karbapenem dirençli izolatlarda fenotipik olarak enzim tiplendirilmesi "MASTDISC™ ID karbapenemase detection disc set" ve "Carbapenem Inactivation Method (CIM)" yöntemleriyle araştırılmış ve izolatların klonal ilişkisini saptamak için REP-PCR uygulanmıştır. Elli dört *K.pneumoniae* izolatu karbapenem dirençli olarak belirlenirken, imipenem, meropenem ve ertapenem MIC_{50} ve MIC_{90} değerleri 32 µg/ml olarak belirlenmiştir. İzolatların 33'ünde yalnız $bla_{OXA-48'}$ ikisinde yalnız bla_{NDM} belirlenirken, 19 izolatta her iki genin birlikte bulunduğu saptanmıştır. İzolatların hiçbirinde, bla_{IMP} , bla_{VIM} , bla_{SIM} genlerine rastlanmamıştır. İzolatlar REP-PCR yöntemiyle değerlendirildiğinde, altı ana klon gözlenmiştir. "MASTDISC™ ID karbapenemase detection disc set" karbapenemaz üreten izolatların tamamını saptayabilirken, metallo beta-laktamaz (MBL) ve OXA-48 enzim birlikteliği olan izolatlarda OXA-48 ayırımı yapmada yetersiz kaldığı gözlenmiştir. CIM yöntemi OXA-48 içeren izolatlarda oldukça düşük oranda (%46.15) pozitif sonuç verirken, bla_{NDM} içeren izolatlarda saptama oranı (%85.71) daha başarılı olarak bulunmuştur. Çalışmamız kapsamında, Mastdiscs-ID yönteminin, ülkemizde prevalansı yüksek olan bla_{OXA-48} varlığını saptamada başarıyla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Klebsiella pneumoniae*; fenotipik yöntemler; PCR; karbapenemaz.

ABSTRACT

Being a member of the *Enterobacteriaceae* family, *Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen that inhabits normal human microbiota and causes predominantly hospital-acquired infections. The emergence of *K.pneumoniae* isolates which are resistant particularly to the carbapenem group of antibiotics has led to an increase in hospitalization period, mortality and morbidity. Although different rates of resistance are observed between countries, regions and even healthcare facilities, there has been a rapid increase in the prevalence of carbapenem-resistant strains in the last 10 years. Fast and correct identification of carbapenem-resistant strains is important for the successful treatment of infections caused by these resistant bacteria. The objective of this study was to investigate the presence and the types of carbapenemases in carbapenem-resistant *K.pneumoniae* strains using "MASTDISC™ ID carbapenemase detection disc set", a commercial product that can be used for this purpose, and "Carbapenem Inactivation Method (CIM)", a relatively new method, and compare the results of these methods by polymerase chain reaction (PCR). For this purpose, we used 54 *K.pneumoniae* strains isolated in 2015-2016, that were resistant to any of the ertapenem, meropenem or imipenem antibiotics. The identification of the strains was performed using VITEK MS and their antibiotic susceptibility tests were carried out using the VITEK 2 Compact® automated system. For the strains that were found resistant to carbapenems in the automated system, the minimum inhibitor concentration (MIC) values were determined by the gradient testing method according to the recommendations of "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)". The $bla_{OXA-48'}$, bla_{IMP} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , and bla_{SIM} genes were investigated with PCR among these isolates. Phenotypic enzyme typing was performed in the carbapenem-resistant strains using the "MASTDISC™ ID carbapenemase detection disc set" and "Carbapenem Inactivation Method (CIM)". REP-PCR was used to reveal clonal relationship of the isolates. The 54 *K.pneumoniae* isolates were found as resistant to carbapenem and the MIC_{50} and MIC_{90} values of imipenem, meropenem and ertapenem were 32 µg/ml. Only 33 of the strains had bla_{OXA-48} and two of them had only bla_{NDM} , the remaining 19 strains had both of these two genes. The bla_{IMP} , bla_{VIM} and bla_{SIM} genes were not encountered in any of the isolates. When the isolates were assessed by the REP-PCR method, six main clones were detected. The "MASTDISC™ ID carbapenemase detection disc set" was able to detect all the carbapenemase producing strains and it remained incapable of distinguishing OXA-48 in the strains which had both OXA-48 and metallo beta lactamase (MBL) enzymes. The CIM

method showed a low rate of positivity (46.15%) in the strains containing *bla*_{OXA-48}, but was found much more successful in the strains containing *bla*_{NDM} with a detection rate of 85.71%. In this study, it was concluded that the Mastdiscs-ID method could be successfully used to detect the presence of *bla*_{OXA-48} which has a high prevalence in our country.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; PCR; phenotypic methods; carbapenemase.

GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesinin üyelerinden olan *Klebsiella pneumoniae*, sıklıkla üriner kateterizasyon, mekanik ventilasyon ve cerrahi girişimler, yoğun bakımda uzun süreli yatış gibi risk faktörleriyle ilişkili olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir¹. Birçok antibiyotiğe dirençli olabilen *K.pneumoniae* izolatları en fazla genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakteriler arasında yer almaktadır. Bu tür izolatların tedavisinde karbapenem grubu antibiyotikler öne çıkmakla birlikte, ülkemizde ve dünyada karbapenemleri de hidrolize edebilen enzimlerin varlığı geçtiğimiz 10 yıl içinde ciddi bir halk sağlığı tehdidi olarak ortaya çıkmıştır².

Karbapenem direncine neden olan en önemli mekanizma karbapenemaz enzimleridir³. *Enterobacteriaceae* üyelerinde Ambler sınıflandırmasına göre A, B ve D sınıfına ait enzimler karbapenem direncinden sorumludur⁴. Ülkemizde bu enzimlerin birçoğu bildirilmiş olmakla birlikte, ilk kez 2001 yılında ülkemizde tanımlanan ve en sık tespit edilen karbapenemaz OXA-48'dir. Bu enzimin prevalansı Akdeniz havzasındaki ülkelerde giderek artmaktadır⁵. Ancak, başta *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{NDM} gibi metallo beta-laktamazlar (MBL) olmak üzere farklı enzimlerin de ülkemizde tanımlandığı bilinmektedir. Karbapenem dirençli izolatların tedavisi tigesiklin, polimiksin, aminoglikozitler ve fosfomisin gibi antibiyotiklerin kullanımlarını gerektirse de, bu moleküllerin farmakokinetik özellikleri, toksisite ve gelişen direnç nedeniyle kısıtlılıklar yaşanması karbapenem direncinin taşıdığı riskleri göz önüne sermektedir⁶.

Bu çalışmanın amacı, karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının gösterilmesi ve PCR ile "MASTDISCS™ ID carbapenemase detection disc set" ve "Carbapenem Inactivation Method (CIM)" fenotipik yöntemlerinin karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ertapenem, meropenem ve imipenem antibiyotiklerinden herhangi birine dirençli olduğu saptanan, 2015-2016 yılları arasında izole edilen 54 *K.pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi (Tablo I). İzolatların tür düzeyinde tanımlanması "Matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry MALDITOF VITEK MS (BioMérieux, Fransa)", antibiyotik duyarlılık testleri "VITEK 2 Compact® (BioMérieux, Fransa)" otomatize sistemi ve gradiyent test ile "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" kriterlerine göre değerlendirildi⁷.

DNA izolasyonu kaynatma yöntemiyle yapılarak, izolatlar arasındaki epidemiyolojik ilişkisi REP-PCR ile belirlendi⁸. Elde edilen bant paternleri değerlendirildi ve %80'den az benzerlik gösteren izolatlar ayrı klonlar olarak yorumlandı. Karbapenem direncinden

Tablo I. Çalışmada Kullanılan İzolatların Özellikleri

Klinikler	BAL	DTA	Kan	İdrar	Apse	Doku	Yara	Rektal sürüntü
Nöroloji	1	15	1	-	-	-	-	-
Anestezi	-	6	3	1	-	-	-	2
Göğüs hastalıkları	1	-	1	1	1	-	-	1
Genel cerrahi	-	-	2	2	-	1	-	-
Kalp damar cerrahisi	-	1	-	1	-	-	1	-
Üroloji	-	-	-	1	-	-	-	-
Çocuk sağlığı	-	-	1	1	-	-	-	-
Çocuk acil	-	-	-	1	-	-	-	-
Nefroloji	-	-	-	1	-	-	-	-
Gastroenteroloji	-	-	1	-	-	-	-	-
İç hastalıkları	-	-	-	3	-	-	-	-
Acil servis	-	-	-	2	-	-	-	-
Fizik tedavi	-	-	-	1	-	-	-	-

BAL: Bronkoalveoler lavaj; DTA: Derin trakeal aspirat.

Tablo II. “MASTDISC™ ID carbapenemase (*Enterobacteriaceae*) detection disc set” içeriği ve Yorumlama Kriterleri

“MastDisc ID Carbapenemase”	Disk A	Disk B	Disk C	Disk D	Temosilin Diski (DiskE)
Disk içeriği	MEM	MEM + DP	MEM + BO	MEM + Kloksasilin	Temosilin
Yorumlama kriteri	-	$Z_b - Z_a \geq 5$ mm MBL (+)	$Z_c - Z_a \geq 4$ mm KPC (+)	$Z_d - Z_a \geq 5$ mm AmpC (+)	$Z_e \geq 12$ mm OXA-48 (+)

MEM: Meropenem; DP: Dipikolinik asit; BO: Boronik asit; MBL: Metallo beta-laktamaz; Z: Diskin etrafında oluşan zon.

sorumlu başlıca genler olan bla_{OXA-48} , bla_{VIM} , bla_{MP} , bla_{SIM} ve bla_{NDM} genlerinin varlığı, ilgili bölgeleri hedef alan primer dizileri kullanılarak PCR ile araştırıldı⁹⁻¹¹. Pozitif kontrol olarak, ilgili genleri (bla_{OXA-48} : 738 bp, bla_{VIM} : 382 bp, bla_{MP} : 188bp, bla_{SIM} : 569 bp ve bla_{NDM} : 758 bp) içeren izolatlar kullanıldı.

Karbapenem dirençli izolatlarda enzim tiplendirilmesi için, izolatların 0.5 McFarland bulanıklıkta süspansiyonları hazırlandı. Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine (BioMérieux, Fransa) ekim yapıldı. “MASTDISC™ ID carbapenemase” yönteminde kombine diskler besiyerine yerleştirildi. İzolatlar 18-24 saat inkübasyon sonunda Tablo II’deki gibi değerlendirildi. *Escherichia coli* ATCC 25922 kontrol suşu olarak kullanıldı. “Karbapenem Inactivation Method (CIM)” uygulaması ve sonuçların değerlendirilmesi ise Van Der Zwaluw ve arkadaşlarının¹² önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

BULGULAR

Otomatize sistem sonuçlarına göre 54 *K.pneumoniae* izolatının en az bir karbapenem dirençli olduğu saptanmıştır. İmipenem, meropenem ve ertapenem direnç oranları sırasıyla %88.9, %74 ve %100 olarak belirlenmiştir. Dirençli izolatlarda gradiyent test ile yapılan duyarlılık sonuçlarına göre Mik_{50} ve Mik_{90} değerleri her üç antibiyotik için 32 µg/ml olarak bulunmuştur. Ayrıca izolatların %96'sının (52 izolat) temosiline dirençli olduğu belirlenmiştir. PCR sonuçlarına göre izolatların 33 tanesinde sadece bla_{OXA-48} , iki tanesinde sadece bla_{NDM} genleri saptanırken, 19 izolatın her iki geni birlikte bulundurduğu belirlenmiştir. İzolatların hiçbirinde bla_{IMP} , bla_{VIM} ve bla_{SIM} genine rastlanmamıştır.

MASTDISCTM yöntemi, PCR ile uyumlu olarak tüm izolatlarda karbapenemaz varlığını belirlemiştir. KPC ve AmpC türü direnç mekanizmalarına hiç rastlanmazken, izolatlarda MBL ve bla_{OXA-48} varlığı gösterilmiştir. CIM yöntemi ile dirençli izolatların yalnızca 25 (%46)'inde karbapenemaz pozitifliği saptanmıştır (Tablo III). İzolatlar REP-PCR yöntemiyle ortaya çıkan amplikon farklılıklarıyla değerlendirildiğinde, %80'den daha az benzerlik gösteren altı ana klon gözlenmiştir. Tek başına bla_{OXA-48} içeren izolatların üç klonda yoğunlaştığı saptanırken, sadece bla_{NDM} içeren ve her iki geni beraber bulunduran izolatların diğer üç klonda bulundukları belirlenmiştir.

Tablo III. Fenotipik Yöntemlerin PCR ile Uyumluluğu

MASTDISC TM			CIM	
Karbapenemaz geni	Fenotip	İzolat sayısı	Fenotip	İzolat sayısı
bla_{OXA-48} n= 33	MBL	0	(+)	7 (%21)
	OXA-48	33 (%100)	(-)	26 (%79)
$bla_{OXA-48}+bla_{NDM}$ n= 19	MBL	18 (%95)	(+)	17 (%89)
	OXA-48	1 (%5)	(-)	2 (%11)
bla_{NDM} n= 2	MBL	2 (%100)	(+)	1 (%50)
	OXA-48	0	(-)	1 (%50)

MBL: Metallo beta-laktamaz, CIM: Carbapenemase Inactivation Method.

TARTIŞMA

K.pneumoniae hızlı direnç kazanabilme ve direncin izolatlar arasında yayılabilmesi nedeniyle önem kazanan bir bakteri türüdür. Yoğun GSBL üretimi nedeniyle karbapenemler tedavide önemli bir seçenek olarak kullanılmaya başlandıktan sonra karbapenem dirençli izolatlar farklı ülkelerde rastlanmaya başlamıştır. İzolatlardaki dirençten sorumlu temel mekanizmanın, karbapenem hidrolize eden enzimler olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinde farklı enzimlerin görüldüğü bilinmekle birlikte, ülkemizde ağırlıklı olarak dirençten bla_{OXA-48} geninin sorumlu olduğu bilinmektedir. Dünyada ilk kez ülkemizde izole edilen bu enzim, çalışmamıza dâhil ettiğimiz izolatlarda da ağırlıklı olarak (%61) saptanmıştır^{13,14}.

Günümüzde özellikle Uzakdoğu ülkelerinde görülen *bla*_{NDM} içeren izolatların artışı ciddi bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır¹⁵. Bu geni içeren izolatların neredeyse tüm beta-laktamlara, kinolonlara ve aminoglikozitlere de dirençli olması tedavi açısından büyük bir risk oluşturmaktadır. *bla*_{NDM} içeren izolatların Uzakdoğu ülkelerinden farklı bölgelerde tespit edilmeye başlanması da dikkat edilmesi gereken başka bir özellik olmuştur. Ülkemizde 2011 yılında izole edilen bir *K.pneumoniae* izolatında ilk defa *bla*_{NDM} geni belirlenmiştir¹⁶. Bizim çalışmamızda incelenen izolatlarda *bla*_{NDM} görülmesi dikkat çekici olmakla birlikte, daha önceki çalışmalar ve bizim çalışmamıza ait verilerin beraber yorumlanması, ülkenin farklı bölgelerinde bu enzimi taşıyan izolatlara rastlandığı gerçeğini ortaya koymaktadır¹⁷. 2015 yılında ülkemizde *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM} genlerini birlikte içeren ilk izolat bildirilmiştir¹⁸. Çalışmamızda 19 izolatta bu biriktelik saptanmış ve bu izolatlar REP-PCR sonuçlarına göre üç farklı klonda yer almıştır. Hastanemizde genotipik olarak birbirlerinden farklı ancak her iki geni birlikte içeren izolatların varlığı belirlenmiş olup, bu izolatların yayılımının dikkatle izlenmesi gerekmektedir. Bu bakterilerin dağılımlarının takip edilmesi ve uygun tedavinin sağlanabilmesi açısından karbapenemaz içeren izolatların saptanması oldukça önemlidir. Bu amaçla kullanılabilecek fenotipik yöntemlerden biri olan MASTDISC™ yöntemi ticari olarak kullanılan ve karbapenemaz varlığını ve enzim türünü ayırt edebilen disk difüzyon temelli bir yöntemdir. Sıklıkla rastlanan mekanizmaları inceleyen bu yöntemde testin, PCR ile karbapenemaz varlığı doğrulanmış tüm izolatları saptayabilmesi, önemli bir başarı olarak yorumlanmıştır. Kit içeriğinde bulunmayan temosilin diskinin çalışmaya dahil edilmesiyle *bla*_{OXA-48} varlığı da araştırılmış olmakla birlikte, temosilin direncinin MBL enziminden kaynaklanabileceği bilinmektedir. Dolayısıyla teste eklenen izolatlarda *bla*_{OXA-48} varlığı açısından kuvvetli bir gösterge olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, enzim türlerinin kesin tespiti için genotipik olarak doğrulanması gerekmektedir.

CIM, karbapenemaz varlığının saptanmasında basit ve hızla uygulanabilecek bir yöntemdir. Testin doğası gereği karbapenemaz türünü saptaması mümkün olmamakla birlikte, tarama amacıyla kullanımının uygun olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır¹². Bizim çalışmamızda incelediğimiz izolatlar açısından testin başarısı değerlendirildiğinde görece düşük kalmıştır. Çalışılan tüm izolatlarda %46 oranında karbapenemaz tespiti yapan bu yöntemin özellikle yalnız *bla*_{OXA-48} içeren izolatlarda düşük (%21) saptama kuvvetine sahip olduğu belirlenmiştir. *bla*_{NDM} içeren izolatlarda başarı oranının çok daha yüksek (%85.71) olduğu saptanmış olmakla birlikte *bla*_{OXA-48} geni içeren izolatlardaki düşük başarı oranının nedeninin, bu enzimi içeren izolatların, daha önce başka çalışmalarda¹⁹ belirtildiği ve bizim çalışmamızda da saptandığı gibi imipenem ve meropenem duyarlı olabilmeleri olduğunu düşünmekteyiz. *bla*_{NDM} içeren izolatların tamamı imipenem, meropenem ve ertapenem dirençli olarak saptanırken, *bla*_{OXA-48} içeren izolatlarda direnç oranı sırasıyla %82, 58% ve %100 olarak belirlenmiştir. EUCAST tarafından karbapenem direncinin tespitinde meropenem önerilmekle birlikte, OXA-48 enziminin ertapenem dışındaki karbapenemleri düşük hidrolize edebilme yeteneği nedeniyle *bla*_{OXA-48} içeren izolatların tespitinde meropenem yerine ertapenem kullanımını öneren çalışmalar bulunmaktadır²⁰. CIM, tarama anlamında faydalı olabilecek bir yöntem olmakla birlikte,

ülkemizde *bla*_{OXA-48} oldukça yaygın olduğu düşünüldüğünde yanlış negatif sonuçlar verebileceği bir gerçektir. Bu amaçla testin modifiye edilmesinin (ertapenem ve meropenemin birlikte kullanımı vb.) faydalı olabileceği inancını taşımaktayız.

Sonuç olarak; bu çalışmada hastanemizde, Türkiye’de yaygın olarak gözlenen *bla*_{OXA-48} yanında, MBL içeren izolatların sayısının arttığı gözlenmiştir. Çalışmamızda, MASTDISC yöntemi ile karbapenemaz üreten izolatların tamamı saptanabilirken, CIM yönteminin, özellikle OXA-48 içeren izolatlardaki başarısının sınırlı olduğu belirlenmiştir. Karbapenemaz sentezleyen izolatların dağılımlarının takip edilmesi ve uygun tedavinin sağlanabilmesi açısından bu izolatların saptanması oldukça önemlidir. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında karbapenemaz varlığının hızlı, tekrarlanabilir ve yüksek doğrulukla saptanması amacıyla uygulanabilecek yöntemlerin belirlenebilmesi amacıyla, farklı direnç genlerini ve daha fazla sayıda izolatı içeren çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Karbapenem direnç genleri için pozitif izolatların temininde yardımcı olan Paris Sud Üniversitesi’nden Dr. Nicolas Fortineau’ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Çetinkol Y, Yıldırım AA, Telli M, Çalgın MK. The investigation of oxacillinase/metallo-beta-lactamase genes and clonal analysis in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infez Med* 2016; 24(1): 48-53.
2. Semin-Pelletier B, Cazet L, Bourigault C, et al. Challenges of controlling a large outbreak of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a French university hospital. *J Hosp Infect* 2015; 89(4): 248-53.
3. Katsiari M, Panagiota G, Likousi S, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in a Greek intensive care unit: Molecular characterisation and treatment challenges. *J Glob Antimicrob Resist* 2015; 3(2): 123-7.
4. Haverkate MR, Dautzenberg MJD, Ossewaarde TJM, et al. Within-host and population transmission of *bla*_{OXA-48} in *K. pneumoniae* and *E. coli*. *PLoS ONE* 2015; 10(10): 4-6.
5. Pantel A, Richaud-Morel B, Cazaban M, Bouziges N, Sotto A, Lavigne JP. Environmental persistence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a French intensive care unit. *Am J Infect Control* 2016; 44(3): 366-8.
6. Campos AC, Albiero J, Ecker AB, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: A systematic review. *Am J Infect Control* 2016; 44(11): 1374-80.
7. Leclercq R, Cantón R, Brown DFJ, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(2): 141-60.
8. Azizi O, Shakibaie MR, Badmasti F, et al. Class 1 integrons in non-clonal multidrugresistant *Acinetobacter baumannii* from Iran, description of the new *bla*_{IMP-55} allele in In1243. *J Med Microbiol* 2016; 65(9): 928-36.
9. Sidjabat H, Nimmo GR, Walsh TR, et al. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* due to the new delhi metallo-beta-lactamase. *Clin Infect Dis* 2011; 52(4): 481-4.
10. Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J, et al. Rapid detection and identification of metallo- beta- lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *J Clin Microbiol* 2007; 45(2): 544-7.
11. Zarakolu P, Day KM, Sidjabat HE, et al. Evaluation of a new chromogenic medium, chromID OXA-48, for recovery of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from patients at a university hospital in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34(3): 519-25.

12. Van Der Zwaluw K, De Haan A, Pluister GN, et al. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a simple and low-cost alternative for the carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in Gram-negative rods. PLoS ONE 2015; 10(3): 1-13.
13. Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52(8): 2950-4.
14. Çakar A, Akyön Y, Gür D, et al. Investigation of carbapenemases in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2014 in Turkey. Mikrobiyol Bul 2016; 50(1): 21-33.
15. Bush K. Alarming beta-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. Curr Opin Microbiol 2010; 13(5): 558-64.
16. Poirel L, Özdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoglu S, Ozer UG, Nordmann P. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56(5): 2784-5.
17. Karabay O, Altindis M, Koroglu M, Karatuna O, Aydemir ÖA, Erdem AF. The carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2016; 15(1): 6.
18. Kilic A, Baysallar M. The first *Klebsiella pneumoniae* isolate co-producing OXA-48 and NDM-1 in Turkey. Ann Lab Med 2015; 35(3): 382-3.
19. Ellis C, Chung C, Tijet N, et al. OXA-48-like carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Ottawa, Canada. Diagn Microbiol Infect Dis 2013; 76(3): 399-400.
20. Potron A, Poirel L, Rondinaud E, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. Euro Surveill 2013; 18(31): 20549.