

Karbapenem Dirençli *Enterobacterales* İzolatlarında Karbapenemaz Genlerinin Araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nden İlk KPC Bildirimi

Investigation of Carbapenemase Genes in Carbapenem Resistant *Enterobacterales* Isolates: First KPC Report From Dokuz Eylul University Hospital

Şeyda Şilan Okalin*[Ⓜ], Ayşe Nur Sarı Kaygısız*[Ⓜ], Mahmut Cem Ergon**[Ⓜ], İbrahim Mehmet Ali Öktem**[Ⓜ]

* Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

** Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Atf/Cite as: Okalin ŞŞ, Sarı Kaygısız AN, Ergon MC, Öktem İMA. Karbapenem dirençli enterobacterales izolatlarında karbapenemaz genlerinin araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nden ilk KPC bildirimi, Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(4):375-81.

Öz

Amaç: Son yıllarda *Enterobacterales* bakterileri arasında artan karbapenem direnci tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlamaktadır. Bu direncin temel mekanizması karbapenemaz enzimlerinin üretimidir. Bu çalışmanın amacı; hastanemizde yatan hastalardan izole edilen karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatlarının karbapenemaz gen çeşitliliğinin araştırılması ve KPC geni bulunan izolatların klonal ilişkilerinin değerlendirilmesidir.

Yöntem: Ocak 2019-Mart 2019 tarihleri arasında; idrar, kan, trakeal aspirat, yara ve balgam örneklerinden izole edilmiş olan ve karbapenem grubundaki antibiyotiklerden en az birine dirençli, 48 *Enterobacterales* izolatı çalışmaya dâhil edilmiştir. *Enterobacterales* izolatlarının; üçü *Escherichia coli* ve 45'i *Klebsiella pneumoniae*'dir. Bu izolatlarda; OXA-48, NDM, KPC, IMP ve VIM karbapenemaz gen varlığı özgül primerler kullanılarak polimeraz zincir tepkimesi yöntemi ile araştırılmıştır. KPC geni taşıyan *K. pneumoniae* izolatları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla PFGE yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışma bulgularına göre üç *E. coli* izolatının ikisi blaOXA-48, biri blaKPC pozitif olarak tanımlanmıştır. Kırk beş *K. pneumoniae* izolatının ise 30'u yalnızca blaOXA-48, ikisi yalnızca blaNDM pozitif olarak bulunmuştur. *K. pneumoniae* izolatının yedisinde hem OXA-48 hem de NDM genleri tanımlanırken, geriye kalan altı *K. pneumoniae* izolatında yalnızca KPC gen pozitifliği bulunmuştur. IMP ve VIM karbapenemaz genleri çalışma izolatlarının hiçbirinde saptanmamıştır. KPC geni taşıyan *K. pneumoniae* izolatları arasındaki klonal ilişkinin araştırılması amacıyla yapılan PFGE analizinde dört izolatın aynı pulsotipe (A), diğer iki izolatın ise farklı pulsotiplere (B-C) ait olduğu görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma, yapılan literatür taramasından elde edilen verilere göre KPC karbapenemaz geninin, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nden bildirildiği ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Karbapenemaz, *Enterobacterales*, KPC

ABSTRACT

Objective: In recent years, increasing carbapenem resistance of *Enterobacterales* bacteria limits treatment options, considerably. The main mechanism of this resistance is the production of carbapenemase enzymes. The aim of this study is to determine carbapenemase gene types in *Enterobacterales* isolates from our hospitalized patients and assess the clonal associations of the isolates with KPC gene.

Method: A total of 48 clinical *Enterobacterales* isolates resistant to at least one carbapenem and received between January 2019 and March 2019 were included in the study. Sample types were consisted of urine, blood, tracheal aspirate, wound and sputum. Of these isolates, three were *Escherichia coli* while 45 were *Klebsiella pneumoniae*. Types of carbapenemases were investigated by polymerase chain reaction, using specific primers for VIM, IMP, NDM, KPC and OXA-48 genes. PFGE was performed to determine the clonal associations between blaKPC positive *K. pneumoniae* isolates.

Results: According to the results, blaOXA-48 (n=2) and blaKPC (n=1) were found to be present among *E. coli* isolates. Regarding 45 *K. pneumoniae* isolates; only blaOXA-48 and only blaNDM were present in 30 and two isolates, respectively. Seven *K. pneumoniae* isolates were found positive for both blaOXA-48 and blaNDM. Remaining *K. pneumoniae* isolates (n=6) harboured only blaKPC. None of the isolates were positive for blaIMP and blaVIM. PFGE analysis showed four isolates had the same pulsotype (A), while two had different pulsotypes (B-C).

Conclusion: To our knowledge, this is the first report of KPC gene isolated in Dokuz Eylul University Hospital.

Keywords: Carbapenemase, *Enterobacterales*, KPC

Alındığı tarih / Received:
21.06.2021 / 21.June.2021

Kabul tarihi / Accepted:
27.07.2021 / 27.July.2021

Erken çevrimiçi / First Published:
23.09.2021 / 23.September.2021

ORCID Kayıtları

Ş.Ş. Okalin 0000-0002-4249-8113
A.N. Sarı Kaygısız 0000-0002-3927-9921
M.C. Ergon 0000-0002-4847-987X
İ.M.A. Öktem 0000-0002-3185-8355

✉ ali.oktem@deu.edu.tr

GİRİŞ

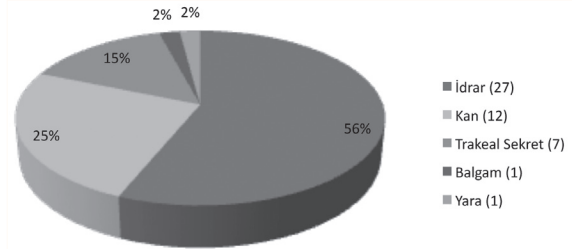
Gram negatif basil morfolojisindeki *Enterobacteriales* ailesi üyeleri kalın bağırsak mikrobiyotasında bulunmakta ve yaygın olarak insanda enfeksiyon etkeni olarak gözlenmektedir. Hem toplum kaynaklı hem de sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlara neden olan *Enterobacteriales* ailesi; idrar yolu enfeksiyonlarına, kan dolaşımı enfeksiyonlarına, pnömoniye, menenjitte ve tıbbi cihaz kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilmektedir⁽¹⁾. Son yıllarda geniş spektrumlu β-laktamaz üreten *Enterobacteriales* enfeksiyonlarının tedavisinde, son seçenek olarak karbapenemlerin kullanılması, bu ilaç grubuna karşı da direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur^(2,3). Bu bakteriler horizontal gen aktarımı yoluyla (plazmid ve transpozon aracılıklı) genetik materyal ve dolayısıyla direnç genleri kazanma eğilimindedirler⁽¹⁾. Bu nedenle gün geçtikçe karbapenemlere direnç artmakta, dirençle birlikte etkin tedavi seçenekleri kısıtlanmaktadır^(2,3).

Karbapenemlere karşı direnç genel olarak; enzim üretimi, atılım pompası kaynaklı ve/veya porin mutasyonu ile görülmektedir. Bunlar arasında, enzim üretimi en sık gözlenen direnç mekanizmasıdır. *Enterobacteriales* ailesinde görülen karbapenemazlar çeşitli sınıflara ait olabilirler. Bunlar Ambler sınıflandırmasına göre Sınıf A'dan *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC); Sınıf B'den New Delhi metallo-β-laktamaz (NDM), "Imipenem-resistant" *Pseudomonas* (IMP) ve Verona "integron-encoded" metallo-β-laktamaz (VIM); Sınıf D'den ise OXA-48-benzeri karbapenemazlar olarak gruplandırılmışlardır⁽⁴⁾. *Enterobacteriales* izolatlarındaki direnç oranları ve dirence neden olan karbapenemazlar bölgelere göre çeşitlilik göstermektedir⁽⁵⁾. Şimdiye kadar ülkemizde yapılan çalışmalarda, OXA-48, NDM, KPC, IMP, VIM tipi karbapenemazlar tanımlansa da en sık bildirilen karbapenemaz geni OXA-48 olmuştur⁽⁶⁻¹⁰⁾. Bu çalışmada amaç; hastanemizdeki yatan hastalardan izole edilen karbapenem dirençli *Enterobacteriales* izolatlarının karbapenemaz gen çeşitliliğinin araştırılması ve KPC geni bulunan izolatların klonal ilişkilerinin değerlendirilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (02.12.2019 tarih ve 2019/29-34 karar No.) onaylanmıştır.

İzolatlar: Çalışmaya, Ocak 2019–Mart 2019 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi, Hastanesi Bakterioloji laboratuvarına gelen; yatan hastalara ait idrar, kan, trakeal aspirat, yara ve balgam örneklerinden izole edilen, en az bir karbapenem karşı dirençli toplam 48 *Enterobacteriales* izolatı (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) alınmıştır. İzolatların tanımlamasında geleneksel yöntemler ve VITEK-2 otomatize sistemi kullanılmış olup, antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Tek hasta tek izolat olacak şekilde alınan klinik örneklerin dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Klinik örnek dağılımı.

Karbapenem Direnç Genlerinin Belirlenmesi:

İzolatlara ait karbapenemaz genleri (*bla*_{OXA-48-benzeri}, *bla*_{NDM-benzeri}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{IMP}) daha önce literatürde kullanılan ve Tablo 1'de belirtilen özgün primerler ile polimeraz zincir tepkimesi (PCR) yöntemiyle araştırılmıştır. Pozitif kontrol için daha önceden bu gen bölgeleri belirlenmiş ve sekans ile doğrulanmış izolatlar kullanılmıştır. PCR için %10 gliserol içeren Tryptic Soy Broth (TSB)'da -40°C'de saklanan izolatlar kanlı besiyerine ekilerek 37°C'de bir gecelik inkübas-yona bırakılmıştır. Kalıp DNA izolasyonu için 300 µl steril distile su içerisinde birkaç saf koloni homojenize edilmiş ve 100°C'de 10 dakikalık kaynatma işleminden sonra 100 RPM'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant kalıp DNA olarak kullanılmıştır. PCR için tepkime karışımları toplam hacim 50µl olacak şekil-

Tablo 1. Karbapenemaz genlerinin belirlenmesinde kullanılan öncüller.

Primer Dizisi	Ürün Büyüklüğü	Tepkime Şartları	Referans
NDM-F:5'-CAA TAT TAT GCA CCC GGT CG-3' NDM-R:5'-ATC ATG CTG GCC TTG GGG AA-3'	826 bp	94°C→5 dk, ön denatürasyon 94°C→1dk, denatürasyon 55°C→1 dk, birleşme 72°C→1,5 dk, uzama 72°C→10 dk, son uzama	(11)
OXA-48-A:5'-TTG GTG GCA TCG ATT ATC GG-3' OXA-48-B:5'-GAG CAC TTC TTT TGT GAT GGC-3'	438 bp	94°C→5 dk, ön denatürasyon 94°C→1dk, denatürasyon 53°C→1dk, birleşme 72°C→1 dk, uzama 72°C→10 dk, son uzama	(12)
IMP-A: 5'-GAA GGY GTT TAT GTT CAT AC-3' IMP-B: 5'-GTA MGT TTC AAG AGT GAT GC-3'	586 bp	94°C→5 dk, ön denatürasyon 94°C→1dk, denatürasyon 57°C→1dk, birleşme 72°C→1 dk, uzama 72°C→10 dk, son uzama	(13)
VIM-A: 5'-GTT TGG TCG CAT ATC GCA AC-3' VIM-B: 5'-TCG GTC GAA TGC GCA GCA CC-3'	388 bp	94°C→5 dk, ön denatürasyon 94°C→1dk, denatürasyon 57°C→1dk, birleşme 72°C→1 dk, uzama 72°C→10 dk, son uzama	(13)
KPC-F: 5'-TGTCAGTGTATCGCCGTC-3' KPC-R: 5'-TATTTTCCGAGATGGGTGAC-3'	331 bp	94°C→5 dk, ön denatürasyon 94°C→1dk, denatürasyon 54°C→1dk, birleşme 72°C→1 dk, uzama 72°C→10 dk, son uzama	(14)

de, bla_{OXA-48} öncüllerinden 25 pmol bla_{NDM} , bla_{KPC} , bla_{VIM} , bla_{IMP} öncüllerinden 20 pmol içerecek şekilde ve 5 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlanmıştır. PCR yürütme koşulları Tablo 1'de belirtilen şekilde yapılmıştır. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde görüntülenerek ürün büyüklükleri değerlendirilmiştir. İzolatlarda PCR ile belirlenen her bir farklı karbapenemaz gen bölgesi, doğrulama amacı ile dizi analize gönderilmiştir. DNA dizi analizi MacroGen firması (ABI 3730xl System) tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

“Pulsed Field” Jel Elektroforezi (PFGE): KPC geninin hastanemizdeki yayılımının klonal olup olmadığını anlamak üzere bla_{KPC} pozitif izolatları PFGE uygulanmıştır. PFGE çalışması, PulseNet *Escherichia coli* protokolüne göre yapılmıştır⁽¹⁵⁾. Elde edilen jel görüntüsü Tenover kriterlerine göre analiz edilerek her bir izolat için pulsotip atanmıştır⁽¹⁶⁾.

BULGULAR

Ocak 2019-Mart 2019 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve en az bir karbapenemaz dirençli bulunan 48 *Enterobacterales* izolatında (Üç *E. coli* ve 45 *K. pneumoniae* izolatı) araştırılan karbapenemaz genlerinin dağılımı şöyle bulunmuştur:

E. coli izolatlarının ikisi (%66.6) bla_{OXA-48} ve biri (%33.3) bla_{KPC} pozitifdir. 45 *K. pneumoniae* izolatının 30'u (%66.6) yalnızca bla_{OXA-48} , ikisi (%4) yalnızca bla_{NDM} , yedisi (%15.5) ise hem bla_{OXA-48} hem de bla_{NDM} pozitif olarak belirlenmiştir. Geriye kalan altı (%13.3) *K. pneumoniae* izolatında yalnızca bla_{KPC} pozitifliği bulunmuştur. *IMP* ve *VIM* karbapenemaz genleri hiçbir izolatta pozitif bulunmamıştır (Tablo 2). Aynı gen pozitifliğine sahip aynı tür izolatların antibiyogram paternleri çeşitlilik göstermektedir. *E. coli* izolatları için, bla_{OXA-48} pozitif izolat dağılımı çocuk hematoloji/onkoloji servisi (n=1) ve genel cerrahi servisi (n=1) şeklindedir. bla_{KPC} pozitif bulunan tek *E. coli* izolatı kök hücre nakil ünitesinden gönderilmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarında; yalnızca bla_{OXA-48} pozitif izolat dağılımı anestezi yoğun bakım (n=2), çocuk hastalıkları ve sağlığı servisi (n=1), çocuk hematoloji/

Tablo 2. Enterobacterales izolatlarının karbapenemaz dağılımı.

Karbapenemaz tipi	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Sayı (%)	<i>Escherichia coli</i> Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
OXA-48	30 (66.6)	2 (66.6)	32 (66.6)
NDM	2 (4.4)	0	2 (4.16)
OXA-48 + NDM	7 (15.5)	0	7 (14.5)
KPC	6 (13.3)	1 (33.3)	7 (14.5)
IMP	0	0	0
VIM	0	0	0
Toplam	45 (93.75)	3 (6.25)	48 (%100)

onkoloji servisi (n=1), dâhili yoğun bakım servisi (n=1), enfeksiyon servisi (n=1), gastroenteroloji servisi (n=1), genel cerrahi servisi (n=2), göğüs hastalıkları servisi (n=1), göğüs kalp damar yoğun bakım servisi (n=1), kardiyoloji servisi (n=2), kardiyoloji yoğun bakım (n=5), nefroloji servisi (n=5), onkoloji servisi (n=5), ortopedi servisi (n=1), üroloji servisi (n=3), sadece bla_{NDM} pozitif izolat dağılımı; hemoto-loji servisi (n=1) ve anestezi yoğun bakım (n=1) şeklidir. Hem bla_{OXA-48} hem de bla_{NDM} pozitif izolatlar; dâhili yoğun bakım servisi (n=3), nefroloji servisi (n=1), palyatif bakım servisi (n=1), göğüs hastalıkları servisi (n=1) ve onkoloji servisinden (n=1) gönderilirken, bla_{KPC} pozitif izolatlar; anestezi yoğun bakım (n=4), gastroenteroloji servisi (n=1) ve nöroşirurji servisinden (n=1) gönderilmiştir. Yapılan dizi analizinde, OXA-48 karbapenemaz geninin bla_{OXA-48} , NDM karbapenemaz geninin bla_{NDM-1} , KPC karbapenemaz geninin bla_{KPC-2} olduğu belirlenmiştir. KPC geni taşıyan altı *K. pneumoniae* izolatı için yapılan PFGE analizine göre üç farklı pulsotip (A-C) belirlenmiştir. Ocak ayında anestezi yoğun bakımdan izole edilen üç izolat ile gastroenteroloji servisinden izole edilen bir

izolatın aynı pulsotipte (A) olduğu görülmüştür. Anestezi yoğun bakımdan izole edilen diğer bir *K. pneumoniae* izolatı ile nöroşirurji servisinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatının farklı pulsotiplerde (B ve C) olduğu görülmüştür. PFGE görüntüsü Şekil 2'de gösterilmiştir.

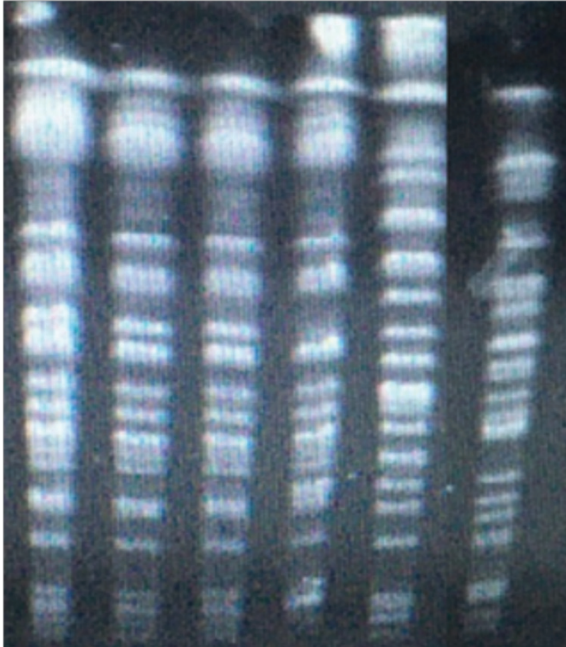
TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç, bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de ciddi bir sağlık sorunudur⁽¹⁷⁾. Çoklu dirence sahip *K. pneumoniae* izolatları, hastanelerde hızlı yayılım göstererek karbapenemaz genlerini hareketli genetik elemanlar yoluyla diğer Gram negatif bakterilere de aktarmaktadır⁽¹⁰⁾. Özellikle hastane enfeksiyon etkeni olarak görülen *Enterobacterales* bakterilerinde hızlı yayılım ve aktarım sonucu artan karbapenem direnci, salgınlara, uzun hastane yatışlarına ve mortaliteye neden olmaktadır^(10,17). Farklı hastanelerde yatış, yoğun bakım ünitelerinde uzun süreli kalma, katater kullanımı, antibiyotik kullanımı ve altta yatan hastalıklar karbapenem direnci için risk faktörlerini oluşturmaktadır⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Türkiye'de 2000-2003 yılları arası izole edilen izolatlarla yapılan antimikrobiyal direnç surveyans çalışmasında (MYSTIC) imipenem ve meropenem Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında kullanılabilir en etkili ilaçlar olduğu belirtilmiş ve izolatların çoğunlukla meropenem ve imipeneme duyarlı olduğu gösterilmiştir⁽²¹⁾. Bununla beraber, 2007 yılında, hastane izolatı olan Gram negatif bakteriler ile yapılan antimikrobiyal surveyans (HITIT-2) çalışmasında imipeneme dirençli *K. pneumoniae* izolatları tanımlanmış ve karbapeneme dirençli izolatların ortaya çıktığı ve hızla artış göstereceği vurgulanmıştır⁽²²⁾. Daha sonra yapılan çalışmalarda da karbapenem dirençli izolat sayısında artış olduğu gösterilmiştir⁽⁵⁻¹⁰⁾.

Karbapenem direncine neden olan karbapenemaz genleri, farklı tarih ve bölgelerde, farklı bakterilerde ortaya çıkmıştır. İlk MBL çevrede bulunan ve fırsatçı olan *Bacillus cereus*, *Aeromonas spp.* ve *Stenotrophomonas maltophilia* bakterilerinden izole edilmiştir. IMP-1; ilk defa *Serratia marcescens* bakterisinde 1991 yılında Japonya'da tanımlanmıştır. Daha

A A A A B C



Şekil 2. KPC geni taşıyan *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının PFGE görüntüsü.

sonra 33 IMP varyantı gösterilmiş ve IMP tipi karbapenemazlar dünyanın birçok bölgesinde görülmeye başlanmıştır. IMP tipi enzimler Tayvan'da, Japonya'da ve Çin'in doğusunda endemik olarak rapor edilmektedir. MBL ailesinin diğer bir geni olan VIM-1 ilk defa 1997 yılında İtalya'da tanımlanmıştır. Kısa bir süre sonra varyantı olan VIM-2, Fransa'da *Pseudomonas aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır. VIM-2 dünya çapında en çok rapor edilen MBL'dir ve Güney Avrupa ile Güneydoğu Asya'da endemik olarak tanımlanmaktadır⁽²⁰⁾. NDM-1 ise ilk defa 2008 yılında daha önce Hindistan'da New Dehli'de yatan ve İsveç'e gelen bir hastadan izole edilmiştir⁽¹⁾. Sıklıkla Birleşik Krallık, Hindistan ve Pakistan'da görülse de yapılan çalışmalarda, dünyanın birçok yerinde NDM-1 varlığı gösterilmiştir. Diğer bir karbapenemaz geni olan KPC, ilk defa 1996 yılında bir *K. pneumoniae* izolatında ABD'de tanımlanmıştır⁽²⁾. Kuzeydoğu Amerika'da endemik olan KPC karbapenemaz geni⁽¹⁷⁾ birkaç yıl içinde Yunanistan, İsrail ve Çin gibi ülkelerde de gösterilmiş ve yapılan birçok çalışmada, KPC geni taşıyan izolatlar ile ilgili salgınlar rapor edilmiştir^(1,20,23,24). Türkiye'de ilk defa 2003 yılında *K. pneumoniae* bakterisinden izole edilen OXA-48, daha sonra hastane enfeksiyon salgınlarının kaynağı olarak yaygın bir şekilde görülmeye başlanmış ve güncel yayınlarda da en sık görülen karbapenemaz geni olma özelliğini taşıdığı gösterilmiştir^(12,25). OXA-48 geni, ilk tanımlamadan sonra Avrupa'nın bazı ülkelerinde, Afrika'da, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada da rapor edilmiştir⁽¹⁾. Türkiye'de endemik olarak görülen OXA-48 daha sonra yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir^(5-10,18,19,25). Bütün bu karbapenemaz genlerinin tanımlanması ve yayılmasından sonra; karbapenemaz üreten *Enterobacterales* izolatlarının, diğer karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatlarına göre virülansının yüksek olduğu ve artan mortalite ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur⁽²⁶⁾. Mortalite ile ilişkilendirilen karbapenemaz genlerinin bu hızlı yayılımı göz önüne alındığında, karbapenem dirençli izolatların moleküler tayini daha da önem kazanmaktadır. Çalışmamızda, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında; OXA-48, NDM, KPC, IMP ve VIM direnç genleri araştırılmıştır. Ülkemizde endemik olan OXA-48 karbapenemaz geni, çalışma sonuçlarımız ile benzer olarak yapılan birçok çalışmada⁽⁵⁻

10,18,19,27). *Enterobacterales* izolatlarında en çok tanımlanan gen olmuştur. Türkiye'de *bla*_{NDM} ilk defa 2011 yılında genç bir hastanın kan kültüründen izole edilen *K. pneumoniae* izolatında tanımlanmıştır⁽²⁸⁾. Daha sonra yapılan çalışmalarda, Türkiye'de en çok izole edilen ikinci karbapenemaz geni durumuna gelmiştir^(5,7,10,18,27). Çalışmamızda da OXA-48 geninden sonra en çok tanımlanan karbapenemaz geni NDM'dir. Ülkemizde IMP tipi karbapenemaz ilk defa 2003 yılında, VIM tipi karbapenemazlar ise 2005 yılında *Enterobacter cloacae* izolatlarında tanımlanmıştır^(29,30). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise IMP ve VIM geni taşıyan az sayıda bakteri tanımlanmıştır^(7,10,18). Çalışmamızda ise, yapılan bazı araştırmalara benzer olarak^(5,8,19) izole edilen *Enterobacterales* izolatlarında IMP ve VIM genleri tanımlanmamıştır.

*bla*_{KPC} ülkemizde ilk defa 2012 yılında Romanya'dan gelen bir kadın hastanın endotrakeal aspirat örneğinden izole edilen *K. pneumoniae* izolatında gösterilmiştir⁽³¹⁾. Daha sonra 2013 yılında karbapenem dirençli 22 *Enterobacterales* izolatı ile yapılan çalışmada, iki *K. pneumoniae* izolatında KPC geni tanımlanmıştır⁽⁹⁾. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, Mart 2011–Mayıs 2012 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 24 karbapenem dirençli *E. coli* izolatının ikisinde KPC geni tanımlanmıştır⁽⁸⁾. Ege bölgesinde bulunan 11 merkezden alınan toplam 164 *Enterobacterales* üyesinde karbapenem genleri araştırılmış ve Afyon Kocatepe Üniversitesi'nden gönderilen aynı hastaya ait iki izolatta KPC geni tanımlanmıştır⁽³²⁾. Yapılan birçok çalışmada ise, KPC karbapenemaz geni bildirilmemiştir^(5-7,18). Yine 2014 yılında, 18 merkezden toplanan karbapenem dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatları ile yapılan çalışmada, KPC geni hiçbir izolatta görülmemiştir⁽³⁾. 2019 yılında yapılan çok merkezli diğer bir çalışmada ise karbapenem dirençli izolatların %16'sında yalnızca KPC genini, %2.8'inin ise hem NDM hem de KPC genlerini taşıdığı gözlenmiştir⁽²⁵⁾. Çalışmamızda ise, 48 *Enterobacterales* bakterisinin %14.7'sinde KPC geni belirlenmiştir. Geriye yönelik yapılan PCR çalışmasına göre, *bla*_{KPC} hastanemizde ilk defa 15 Eylül 2018 tarihinde yatan bir hastanın kan kültüründen izole edilen *K. pneumoniae* izolatında ortaya çıktığı görülmüştür.

PFGE analizine göre, aynı klona ait üç *K. pneumoniae* izolatının yakın tarihlerde anestezi yoğun bakımda yatan hastalardan izole edildiği görülmüştür. Takip eden aylarda KPC geninin farklı klonlar arasında ve başka servislere yatan hastalar arasında yatay geçiş ile yayıldığı düşünülmektedir.

Salgınlara neden olan karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatları sağlık açısından ciddi tehdit oluşturmaktadır. Bu izolatların takibi karbapenemaz genlerinin yayılımının engellenmesi ve hastane salgınlarının önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Çalışmamızla KPC geni hastanemizden ilk kez bildirilmiştir. Özellikle bu tür direnç genlerinin yayılımında horizontal geçiş riskinin olması İzmir'deki hastanelerde ortak klonların ortaya çıkması olasılığını kuvvetlendirmektedir. Bu nedenle KPC geni taşıyan izolatlarla karşı hastanelerdeki ilgili birimlerin dikkatli olması önerilmektedir.

Etik Kurulu Onayı: Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (02.12.2019 tarih ve 2019/29-34 karar No.) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This study was conducted with the approval of Dokuz Eylül University, Noninvasive Research Ethics Committee (12.02.2019/2019/29-34).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(10):1791-8. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>
2. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(4):228-36. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70054-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70054-4)
3. Çakar A, Akyön Y, Gür D ve ark. Türkiye'de 2014 yılı içinde izole edilen karbapenem dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(1):21-33. <https://doi.org/10.5578/mb.10695>
4. Suay-García B, and Pérez-Gracia MT. Present and future of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) infections. *Antibiotics*. 2019;8(3):122. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030122>
5. Sahin K, Tekin A, Ozdas S, et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in *Enterobacteriaceae* isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015;14:44. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0105-1>
6. Çiftçi İH, Karakeçe E, Aşık G, Demiray T, Er H. Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarında OXA-48 ve KPC varlığının araştırılması. *ANKEM Derg*. 2013;27(2):49-54. <https://doi.org/10.5222/ankem.2013.049>
7. Davarci I, Senbayrak S, Aksaray S, Kocoglu ME, Kuskucu MA, Samasti M. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Anadolu Klin*. 2019;24(1):1-7. <https://doi.org/10.21673/anadoluklin.423081>
8. Kuskucu MA, Karakullukcu A, Ailiken M, Otlu B, Mete B, Aygun G. Investigation of carbapenem resistance and the first identification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzyme among *Escherichia coli* isolates in Turkey: A prospective study. *Travel Med Infect Dis*. 2016;14(6):572-6. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2016.11.006>
9. Poirel L, Yilmaz M, Istanbulu A, et al. Spread of NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* in a neonatal intensive care unit in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2929-33. <https://doi.org/10.1128/AAC.02047-13>
10. Alp E, Perçin D, Colakoğlu S, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary university hospital in Turkey. *J Hosp Infect*. 2013;84(2):178-80. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.03.002>
11. Samuelsen Ø, Thilesen CM, Heggelund L, Vada AN, Kümmel A, Sundsfjord A. Identification of NDM-1-producing *Enterobacteriaceae* in Norway. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(3):670-2. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq483>
12. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(1):15-22. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.15-22.2004>
13. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol*.

- 2005;43(7):3129-35.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3129-3135.2005>
14. Kamel NA, El-tayeb WN, El-Ansary MR, Mansour MT, Aboshanab KM. Phenotypic screening and molecular characterization of carbapenemase producing Gram-negative bacilli recovered from febrile neutropenic pediatric cancer patients in Egypt. *PLoS One*. 2018;13(8):1-12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202119>
 15. CDC. Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Center for Disease Control and Prevention, 2017. [<https://www.cdc.gov/pulsenet/PDF/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>] (Erişim tarihi:10.Haziran.2020)
 16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995;33(9):2233-9.
<https://doi.org/10.1128/jcm.33.9.2233-2239.1995>
 17. Lutgring JD. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: An emerging bacterial threat. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36(3):182-6.
<https://doi.org/10.1053/j.semmp.2019.04.011>
 18. Baran I, Aksu N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a tertiary-level reference hospital in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016;15:20.
<https://doi.org/10.1186/s12941-016-0136-2>
 19. Cetinkol Y, Yildirim AA, Telli M, Calgin MK. The investigation of oxacillinase/ metallo-beta-lactamase genes and clonal analysis in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infez Med*. 2016;24(1):48-53.
 20. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!. *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263-72.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.03.003>
 21. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000–2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;59(4):453-7.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.06.016>
 22. Gur D, Hascelik G, Aydin N, et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. *J Chemother*. 2009;21(4):383-9.
<https://doi.org/10.1179/joc.2009.21.4.383>
 23. Hong SK, Yong D, Kim K, et al. First outbreak of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 in a hospital in South Korea. *J Clin Microbiol*. 2013;51(11):3877-9.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01730-13>
 24. Chi X, Hu G, Xu H, et al. Genomic analysis of A KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 outbreak from a teaching hospital in Shandong Province, China. *Infect Drug Resist*. 2019;12:2961-9.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S221788>
 25. Süzük Yıldız S, Şimşek H, Bakkaloğlu Z ve ark. Türkiye’de 2019 yılı içinde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz epidemiyolojisi. *Mikrobiyol Bul*. 2021;55(1):1-16.
<https://doi.org/10.5578/mb.20124>
 26. Tamma PD, Goodman KE, Harris AD, et al. Comparing the outcomes of patients with carbapenemase-producing and non carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2017;64(3):257-64.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciw741>
 27. Tekintaş Y, Çilli F, Eraç B, Yaşar M, Aydemir SŞ, Hoşgör Limoncu M. Klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz üretiminin saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu ve fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bul*. 2017;51(3):269-76.
<https://doi.org/10.5578/mb.57333>
 28. Poirel L, Özdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoglu S, Ozer UG, and Nordmann P. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(5):2784-5.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00150-12>
 29. Gacar GG, Midilli K, Kolaylı F, et al. Genetic and enzymatic properties of metallo-lactamase VIM-5 from a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(10):4400-3.
<https://doi.org/10.1128/AAC.49.10.4400-4403.2005>
 30. Aktas Z, Bal C, Midilli K, Poirel L, Nordmann P. First IMP-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolate in Turkey. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(7):695-6.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01480.x>
 31. Labarca J, Poirel L, Özdamar M, Turkoglu S, Hakkı E, and Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes New Infect*. 2014;2(2):50-1.
<https://doi.org/10.1002/nmi2.42>
 32. Telli M, Uçal S, Biçmen M ve ark. Ege bölgesi hastanelerinden elde edilen karbapenem dirençli enterik bakterilerde karbapenemaz direnç genlerinin araştırılması. 12. Antimikrobiyal Kemoterapi Günleri, 01-03 Nisan 2016, İstanbul; 2016: TPS-90.