Özgün Araştırma / Original Article

DOI: 10.14235/bas.galenos.2018.2675
Bezmialem Science 2019;7(3):186-90

Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Karbapenemaz Varlığının ve Klonal İlişkinin Araştırılması

Investigation of Carbapenemase Genes and Clonal Relationship in Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains

Mustafa SAMASTI[1], Mücahide Esra KOÇOĞLU[1], İsmail DAVARCI[2], Haluk VAHABOĞLU[3], Hülya ÇAŞKURLU[3]

[1]İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[2]Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye
[3]İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: Sağlıkla ilişki enfeksiyonlardan izole edilen dirençli Gram-negatif bakteriler dünya çapında sorun oluşturmaktadır. Özellikle genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* ailesi bakterilerin neden olduğu enfeksiyon sıklığının giderek artması karbapenem grubu antibiyotiklerin daha fazla kullanılmasına ve bu antibiyotiklere karşı da direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) suşlarındaki karbapenem direnç oranları, mekanizmaları ve dirençli suşlar arasındaki klonal ilişki değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Yöntemler: Laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli 91 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Bakterilerin tanımlanması Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu (bioMérieux, Marcy-I'Étoile, Fransa) ile antimikrobiyal duyarlılığı VITEK-2 (bioMérieux) ile yapılmış, karbapenem direnci ertapenem E-test (bioMérieux) ile doğrulanmıştır. Karbapenemaz üretimine sebep olan genlerin (bla_{OXA-48}, bla_{NDM-1}, bla_{KPC}, $bla_{IMP,}$ bla_{VIM-1}) araştırılmasında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılmıştır. İzolatlar arasındaki klonal ilişki pulsed-field jel elektroforez ile araştırılmıştır.

Bulgular: Karbapenem dirençli suşlarda bla_{OXA-48} pozitifliği %55, bla_{NDM-1} pozitifliği %37,4, bla_{KPC} ve bla_{VIM-1} pozitifliği %1,1 olarak tespit edilmiştir. Toplam 10 suşta farklı direnç genlerinin birlikteliği tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen suşların 73'ünde klonal ilişkiye bakılmış olup 16 farklı grup saptanmıştır. Yirmi suş ise

ABSTRACT

Objective: Resistant Gram-negative bacteria isolated from health-related infections are a worldwide problem. Increasing frequency of infections particularly caused by *Enterobacteriaceae* producing expanded spectrum beta lactamase, leads to the use of more carbapenem group antibiotics which, in turn, leads to bacterial resistance. In this study, we aimed to evaluate carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) isolates, the mechanisms causing this resistance and the clonal relationship between these isolates.

Methods: Ninety one *K. pneumoniae* strains isolated from clinical samples obtained in our laboratory were included to the study. The identification of the bacteria was performed with Matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (bioMérieux, Marcy-I'Étoile, France) and antimicrobial susceptibility with VITEK-2 (bioMérieux), and the carbapenem resistance was confirmed by ertapenem E-test (bioMérieux). Reverse transcription polymerase chain reaction method was used for the investigation of genes causing carbapenemase production (bla_{OXA-48}, bla_{NDM-1}, bla_{KPC}, $bla_{IMP,}$ bla_{VIM-1}). The clonal relationship between isolates was investigated by pulsed-field jel elektroforez.

Results: In carbapenem resistant isolates, bla_{OXA-48} positivity was found to be 55%, bla_{NDM-1} positivity 37.4%, bla_{KPC} and bla_{VIM-1} positivity 1.1%. A total of 10 isolates was identified with different resistance genes. In 73 of the isolates included in the study, the clonal relationship was examined, and 16 different groups were identified.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Mücahide Esra KOÇOĞLU, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Tel.: +90 542 342 91 49 **E-posta:** kocogluesra@yahoo.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-2860-1794

Geliş Tarihi/Received: 02.07.2018
Kabul Tarihi/Accepted: 19.09.2018

Atıf: Samastı M, Koçoğlu ME, Davarcı İ, Vahaboğlu H, Çaşkurlu H. Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Karbapenemaz Varlığının ve Klonal İlişkinin Araştırılması. Bezmialem Science 2019;7(3):186-90.

©Telif Hakkı 2019 Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi
Bezmiâlem Science, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

başka hiçbir suş ile klonal olarak ilişkili bulunmamıştır. Karbapenem direncine neden olan en yaygın direnç geni, Türkiye'de endemik olduğu bilinen bla_{OXA-48} geniydi.

Sonuç: Sonuç olarak, çalışmamızda %3,13 olarak bulduğumuz karbapenem direnci ülkemizde henüz yüksek seviyede değildir. Ancak karbapenem direnç genlerinin suşlar arasında yayılabilmesi yakın bir gelecekte önemli bir sorun oluşturabilir. Moleküler yöntemler karbapenemaz tespitinde altın standarttır ama maliyeti yüksek olduğundan rutin olarak laboratuvarlarda kullanılamamaktadır. Modifiye Hodge testi ya da karbapenemaz inaktivasyon testi gibi daha az maliyetli testler karbapenemaz tespitinde alternatif testlerdir.

Anahtar Sözcükler: Direnç geni, karbapenem, *Klebsiella pneumoniae*, pulsed-field jel elektroforez

Twenty isolates were not clonally associated with any other isolates. The most common resistance mechanism causing the carbapenem resistance was bla_{OXA-48} gene that is known to be endemic in Turkey.

Conclusion: As a result, the carbapenem resistance that we found as 3.13% in our study is similar to the rates obtained in other studies performed in our country which indicates that this resistance is not at a high level yet in our country. However, the ability of carbapenem resistance genes to spread between strains can be a major problem in the near future. Molecular methods are gold standard in carbapenemase detection, but because of having high cost they can not be used in laboratories routinely. Modified Hodge test or carbapenemase inactivation test are alternative tests with low costs that can be used in the determination of carbapenemase.

Keywords: Resistance gene, carbapenem, *Klebsiella pneumoniae*, pulsed-field gel electrophoresis

Giriş

Sağlıkla ilişki enfeksiyonlarda izole edilen dirençli Gram-negatif bakteriler dünya çapında sorun oluşturmaktadır. (1) Özellikle genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ailesi bakterilerin etken olarak izole edildiği enfeksiyonların sıklığının giderek artması, karbapenem grubu antibiyotiklerin daha fazla kullanılmasına yol açmaktadır (2).

Karbapenem direnci başlıca iki mekanizma ile olmaktadır: (i) Porin kaybı ile birlikte GSBL ve/veya AmpC'nin aşırı üretimi, (ii) karbapenemaz üretimi. Karbapenemazlarda Ambler sınıflandırılmasına göre sınıf A (bla_{KPC} vb.), B (bla_{VIM-1}, bla_{IMP}, bla_{NDM-1} vb.) ve D'de (bla_{OXA-48} vb.) yer almaktadır (3,4). Karbapenem üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin fenotipik olarak tespiti, karbapenemlerin minimum inhibitör konsantrasyonları düşük olabileceğinden zordur. Bu nedenle, karbapenemaz üreten genlerinin genotipik olarak tespiti altın standarttır (5).

Bu çalışmada, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) suşlarındaki karbapenem direncini, bu dirence neden olan direnç genlerinin tespitini ve dirençli suşlar arasındaki klonal ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntemler

Bakteri Suşları

Çalışmaya hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında izole edilen 2903 adet *K. pneumoniae* suşu arasından karbapeneme dirençli olan 91 suş dahil edilmiştir. Bakterilerin tanımlanması Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu (bioMérieux, Marcy-I'Étoile, Fransa) ile yapılmıştır. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu karar no: 2016/0034, tarih 09.02.2016.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

İzole edilen suşların antimikrobiyal (Kolistin, ampisilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, seftriakson, ertapenem, meropenem, imipenem, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, amikasin ve trimetoprim/sülfametoksazol) duyarlılığı VITEK-2 (bioMérieux, Marcy-I'Étoile, Fransa) otomatize sistem ile çalışılmıştır. Karbapenemlerden herhangi birine azalmış duyarlılık ya da dirençli bulunan suşların doğrulaması ertapenem E-test (bioMérieux) ile yapılmıştır. Sınır değerler Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'nin (EUCAST) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (16). Kalite kontrol suşu olarak *K. pneumoniae* Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (ATCC) 700603 kullanılmıştır.

Karbapenemaz Üreten Genlerin Araştırılması

DNA ekstraksiyonu, bakterilerin 18-24 saatlik kültüründen QIAmp DNA mini kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) kullanılarak, üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Karbapenemaz üretimine sebep olan genler (bla_{OXA-48}, bla_{NDM-1}, bla_{KPC}, $bla_{IMP,}$ bla_{VIM-1}) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile Rotor-Gene Q cihazında (Qiagen, Germany) çalışılmıştır. Çalışmada incelenen genlerin varlığı, ticari olarak üretilmiş olan microbial DNA qPCR Assay (REF 330025)(Qiagen, USA) kitleri kullanılarak araştırılmıştır. PCR sonuçlarından elde edilen veriler yeşil kanal eşiği (threshold) 0,02 mutlak değerine ayarlanarak analiz edilmiştir.

Pulsed-field Jel Elektroforez (PFGE)

Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) suşlarının epidemiyolojik ilişkisi Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda pulsed-field jel elektroforez (PFGE) kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde Bionumerics programı 7.1 sürümü kullanılmıştır. "matematiksel ortalama alma ile ağırlıksız çift grup yöntemi" kullanılarak kümeleşme analizi yapılmıştır. "Dice" benzerlik katsayısına göre suşlar arasındaki ilişki belirlenmiştir. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında tolerans %1,5 ve optimizasyon %1 olarak alınmıştır. PFGE tipleri, Tenover ve ark.'nın (7) tanımladığı kriterlere uygun olarak DNA bantlama paternlerine göre tanımlanmış olup %85 ve üzeri benzerliği olan suşlar ilişkili olarak değerlendirilmiştir. *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşu kullanılarak normalizasyon yapılmıştır.

Bulgular

Laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan toplam 2903 *K. pneumoniae* suşunun 91'i (%3,13) karbapenem grubundan en az bir antimikrobiyale dirençli bulunmuştur.

Karbapenem dirençli suşların %49,5'i yoğun bakım ünitesinden, %12,1'i dahiliye, %11'i genel cerrahi, %8,8'i beyin cerrahisi ve %8,8'i çocuk sağlığı ve hastalıkları servisinden, %9,8'i ise diğer servislerden (acil servis, enfeksiyon hastalıkları, nöroloji ve üroloji) izole edilmiştir. Dirençli suşların %58,2'si kan, %19,8'i trakeal aspirat, %11'i derin doku aspiratı, %8,8'i idrar ve %2,2'si balgam kültüründen izole edilmiştir. Suşların tamamı ertapeneme, %93,3'ü meropeneme, %91,1'i ise imipeneme dirençli bulunmuştur. Ayrıca KDKp suşlarının tamamı piperasilin/tazobaktam ve ampisilin/sulbaktama, %95,6'sı seftazidim ve seftriaksona, %86,7'si siprofloksasin ve levofloksasine, %82,2'si trimetoprim/sülfametoksazole dirençli bulunmuştur. Kolistin, amikasin ve gentamisin sırasıyla %9, %42,2 ve %62,2 direnç oranlarıyla nisbeten duyarlı antibiyotikler olarak dikkat çekmiştir.

Tüm suşlar bla_{OXA-48}, bla_{NDM-1}, bla_{KPC}, bla_{IMP} ve bla_{VIM-1} direnç genleri açısından taranmış olup, en çok bla_{OXA-48} (%55) ve bla_{NDM-1} (%37,4) pozitifliği bulunmuştur (Şekil 1). Toplam 15 suşta direnç geni saptanmamış, 10 suşta iki farklı direnç geni tespit edilmiştir.

Bakterilerin canlandırılması aşamasında yaşanan teknik problemlerden dolayı çalışmaya dahil edilen 91 KDKp suşunun 73'ü PFGE ile klonal ilişki bakımından incelenebilmiştir. Bunların 20'sinde klonal bir ilişki saptanmadığı halde diğerleri klonal olarak 16 grup oluşturmuştur (Şekil 2). Aynı direnç genini taşıyan *K. pneumoniae* suşlarının farklı gruplarda bulunabilmesi, bu direnç genlerini taşıyan mobil genetik elemanların yatay olarak transfer olabildiğini düşündürmektedir.

Tartışma

Karbapenem direnci son zamanlarda hızla yayılmakta ve halk sağlığını tehdit eden önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sorunun çözümü en başta direnç mekanizmalarını açıklayacak çalışmaları ve karbapenem direncini hızlı ve kolay şekilde saptayacak yöntemlerin geliştirilmesini gerektirmektedir (3,8)

EUCAST, *Enterobacteriaceae*'lerde karbapenem direncini tespit etmede, ertapenemin yüksek duyarlılık, düşük özgüllüğe sahip olduğunu; meropenemin ise duyarlılık-özgüllük dengesinin iyi olduğunu belirtmektedir (9). Bu nedenle çalışmamızda karbapenem direncini doğrulamak için ertapenem E-test kullanılmıştır. Bütün suşlar ertapeneme dirençli, bazı suşlar ise hem meropenem hem de imipeneme duyarlı bulunmuştur. Bizim bulgularımız karbapenem direnç tespitinde ertapenem kullanımının daha uygun olduğunu desteklemektedir.

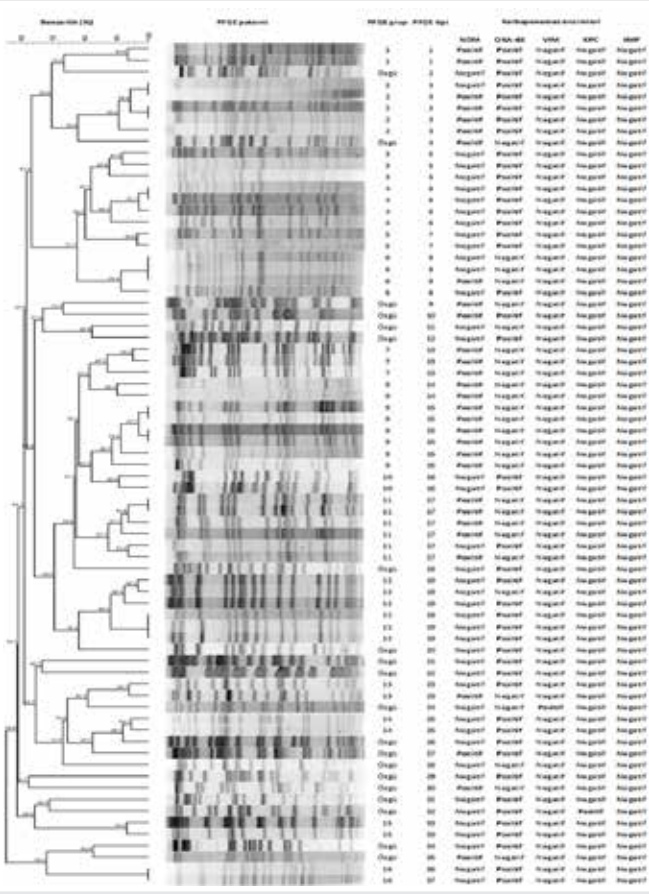
Amerika Birleşik Devletleri'nde 2007-2009 yılları arasında yapılan çok merkezli SENTRY çalışmasında *K. pneumoniae* suşlarındaki karbapenem direnci %6,1 olarak bulunmuştur (10). Söz konusu direnç Avrupa'da yapılan Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetleme Sistemi-2008 çalışmasında %1-5; Türkiye'de yapılan yüksek yoğunluklu interval antrenman-2 çalışmasında ise %3,2 olarak belirlenmiştir (11,12). Çalışmamızda saptanan karbapenem direnci (%3,13) Avrupa ve Türkiye verileriyle uyumlu bulunmuştur.

KDKp suşları en sık yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiş olup, ülkemizde yapılan bir başka çalışma ile uyumludur (3). Mekanik ventilasyon, uzamış entübasyon zamanı, paralitik ajanların kullanılması ve ileri yaşın enfeksiyon riskini artırdığı tespit edilmiştir. Yoğun bakım ünitesinde bulunmak bile tek başına bir risk faktörü olarak belirtilmiştir (13).



Şekil 1. Karbapenem dirençli 91 izolatın direnç geni dağılımı

KPC: *Klebsiella pneumoniae* karbapenem, OXA: Oksasilin sodyum, NDM: New Delhi Metallo-Beta-laktamaz, VIM: Vimentin



Şekil 2. Pulsed-field jel elektroforez ile 73 izolatın klon analizi sonuçları

PFGE: Pulsed-field jel elektroforez

KDKp suşları ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarında incelenen suşların tümünün ertapeneme dirençli olduğu, bununla birlikte en duyarlı antimikrobiyalin kolistin olduğu raporlanmıştır (3,14). Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler de aynı durumu göstermektedir.

Karbapenemaz direnci ilk defa *Enterobacter clocae* suşunda tanımlanmış olup üzerinden 20 yıldan fazla zaman geçmiştir. Bu süre boyunca dünyanın pek çok ülkesinden farklı bakterilerde, değişik direnç mekanizmaları gösteren çok sayıda karbapenem direnci rapor edilmiştir (15).

Çalışmamızda saptadığımız karbapenem direnç genleri arasında en fazla %55 ve %37,4 oranlarıyla sırasıyla bla_{OXA-48} ve bla_{NDM-1} tespit edilmiştir. Türkiye'de bla_{OXA-48} taşıyan K. pneumoniae suşlarının endemik olduğu kabul edilmektedir (3,16,17). Avrupa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada karbapeneme azalmış duyarlılığa sahip *K. pneumoniae* suşlarında bla_{OXA-48} pozitifliği Türkiye için %79 olarak saptanmıştır (18). Tekintaş ve ark.'nın (19) 2017 yılında yayınladıkları bir çalışmada 54 KDKp suşunun 52'sinde (%96,3) bla_{OXA-48} pozitifliği saptanmıştır.

bla_{NDM-1} pozitif *K. pneumoniae* için endemik bir bölge tespit edilmemiş olup, 2015'de İsveç'te görülmüş, ondan daha önce de Hindistan'da 2009 yılında bir hastadan izole edilmiştir (17,20). Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarında bla_{NDM-1} pozitifliği Türkiye'de ilk defa 2011 yılında kemik iliği nakli yapılmış lösemili bir hastada saptanmıştır (3). 2017 yılında yayınlanmış çok merkezli bir çalışmada Türkiye'de bla_{NDM-1} pozitifliği KDKp suşlarında %7,3 olarak bildirilmiştir (18). Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda %38,9 ve %29,5 gibi bla_{NDM-1} pozitifliği raporlanmıştır (19,21). Bu oranlar bizim bulgularımızla örtüşmektedir.

Çalışmamızda bla_{KPC} ve bla_{VIM-1} genleri birer hastada saptanmış, bla_{IMP} geni saptanmamıştır. Türkiyede *K. pneumoniae* suşlarında bla_{IMP}, bla_{VIM-1} ve bla_{KPC} genlerinin varlığı ilk olarak sırasıyla 2003, 2005 ve 2014 yıllarında tesbit edilmiştir (22-24). Ülkemizde 2016 yılında yapılan bir çalışmada 279 KDKp suşunun sadece birinde bla_{IMP} geni bulunmuştur (25). Henüz yaygınlık kazanmamış olan bu genler İtalya, Yunanistan gibi bazı ülkelerde endemik olarak bulunmaktadır (15,17).

Çalışmamızda Türkiye'de en sık rastlanan beş karbapenemaz enzimi dışında diğer direnç genlerine bakılmamış olması çalışmamızın kısıtlılığını oluşturmaktadır. Toplam 73 KDKp izolatının PFGE paternleri farklılıklar göstermiştir. Grup 1'deki suşların izole edilme zamanları birbirlerine yakın olmasına rağmen izole edildikleri servisler farklıdır. Grup 2, 7, 9, 11 ve 15'teki suşların aynı servisten farklı zamanlarda izole edilmiş olması bir sağlık çalışanının ya da materyalin rezervuar olabileceğini düşündürmüştür. Diğer gruplarda ise suşların izole edildikleri servislerin izole edildikleri zaman açısından birbirlerinden farklı olduğu görülmüştür. Aynı direnç genini taşıyan *K. pneumoniae* suşlarının farklı gruplarda bulunabilmesi, hatta hiçbir gruba dahil olmaması bu direnç genlerini taşıyan mobil genetik elemanların bakteriler arasında yatay olarak transfer olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, ülkemizde karbapenem direnci henüz yüksek seviyede değildir. Çalışmamızda bu oran %3,13 olarak bulunmuştur. Fakat karbapenem direncine sebep olan genlerin suşlar arasında yatay yayılabilmesi yakın bir gelecekte önemli bir sorun oluşturabilir. KDKp ile gelişen enfeksiyonların daha ölümcül seyretmesi ve tedavi seçeneklerinin az olması nedeniyle direnç durumunun tesbitinde kullanılabilecek hızlı ve güvenilir testlere ihtiyaç vardır (26-28). Karbapenemaz tespitinde moleküler yöntemler altın standart olmakla birlikte maliyetinin yüksek olması nedeniyle her laboratuvarda rutin olarak yapılamamaktadır. Alternatif olarak modifiye hodge testi ya da karbapenemaz inaktivasyon testi gibi daha az maliyetli pratik yöntemler karbapenemaz tespitinde kullanılabilir.

Etik

Etik Kurul Onayı: İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu karar no: 2016/0034, tarih 09.02.2016.

Hasta Onayı: Çalışmamız *in vitro* bir çalışmadır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: M.S., İ.D., M.E.K., Dizayn: İ.D., M.E.K., Veri Toplama veya İşleme: İ.D., M.E.K., Analiz veya Yorumlama: İ.D., M.E.K., Literatür Arama: H.Ç., İ.D., M.E.K., H.D., Yazan: İ.D., M.E.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. Ann Intern Med 2001;134:298-314.
2. Gülmez D, Woodford N, Palepou MF, Mushtaq S, Metan G, Yakupogullari Y, et al. Carbapenem-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. Int J Antimicrob Agents 2008;31:523-6.
3. Baran I, Aksu N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceaein a tertiary-level reference hospital in Turkey. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2016;15:20.
4. Lascols C, Peirano G, Hackel M, Laupland KB, Pitout JD. Surveillance and Molecular Epidemiology ofKlebsiella pneumoniae Isolates That Produce Carbapenemases: First Report of OXA-48-Like Enzymes in North America. Antimicrob Agents Chemother 2013;57:130-6.
5. Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. Int J Antimicrob Agents 2010;36:205-10.

6. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ , EUCAST Breakpoint Tables v 7.1 , Aralık 2017.
7. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Infect Control Hosp Epidemiol 1997;18:426-39.
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;14:572-6.
9. http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/ Temmuz 2017.
10. Kaiser RM, Castanheira M, Jones RN, Tenover F, Lynfield R. Trends in Klebsiella pneumoniae carbapenemase-positive K.pneumoniae in US hospitals: report from the 2007-2009 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;76:356-60.
11. 11.https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/1011_SUR_annual_EARS_Net_2008.pdf
12. Gur D, Hascelik G, Aydin N, Telli M, Gültekin M, Ogunc D et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. J Chemother 2009;21:383-9.
13. Rodríguez-Acelas AL, de Abreu Almeida M, Engelman B, Cañon-Montañez W. Risk factors for health care–associated infection in hospitalized adults: Systematic review and meta-analysis. Am J Infect Control 2017;45:e149-e156.
14. Lascols C, Peirano G, Hackel M, Laupland KB, Pitout JD. Surveillance and molecular epidemiology of Klebsiella pneumoniae isolates that produce carbapenemases: first report of OXA-48-like enzymes in North America. Antimicrob Agents Chemother 2013;57:130-6.
15. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae worldwide. Clin Microbiol Infect 2014;20:821-30.
16. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:15-22.
17. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL ve group., European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. Euro Surveill 2015;20: doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062.
18. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae and. Escherichia coli in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. Lancet Infect Dis 2017;17:153-63.
19. Tekintaş Y, Çilli F, Eraç B, Yaşar M, Aydemir SŞ, Hoşgör Limoncu M. Comparison of phenotypic methods and polymerase chain reaction for the detection of carbapenemase production in clinical Klebsiella pneumoniae isolates. Mikrobiyol Bul 2017;51:269-76.
20. Rolain JM, Parola P, Cornaglia G. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemia? Clin Microbiol Infect 2010;16:1699-701.
21. Haciseyitoglu D, Dokutan A, Abulaila A, Erdem F, Cag Y, Ozer S et al. The First Enterobacter cloacae Co-Producing NDM and OXA-48 Carbapenemases and Interhospital Spread of OXA-48 and NDM-Producing Klebsiella pneumoniae in Turkey. Clin Lab 2017;1:1213-22.
22. Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglü S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing Klebsiella pneumoniae, finally targeting Turkey. New Microbes New Infect 2014;2:50-1.
23. Yildirim I, Ceyhan M, Gur D, Mugnaioli C, Rossolini GM. First detection of VIM-1 type metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolate from Turkey also producing the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase. J Chemother 2007;19:467-8.
24. Aktaş Z, Poirel L, Salcioğlu M, Ozcan PE, Midilli K, Bal C, et al. First IMP-1-producing Klebsiella pneumoniae isolate in Turkey. Clin Microbiol Infect 2006;12:695-6.
25. Zarakolu P, Eser OK, Aladag E, Al-Zahrani IA, Day KM, Atmaca O et al. Epidemiology of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae colonization: a surveillance study at a Turkish university hospital from 2009 to 2013. Diagn Microbiol Infect Dis 2016;85:466-70.
26. Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne JP. Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii in Mediterranean Countries. Biomed Res Int 2014;2014:305784.
27. Sahin K, Tekin A, Ozdas S, Akın D, Yapislar H, Dilek AR et al. Evaluation of carbapenem resistance using phenotypic and genotypic techniques in Enterobacteriaceae isolates. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2015;14:44.
28. Pollett S, Miller S, Hindler J, Uslan D, Carvalho M, Humphries RM. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a health care system in Los Angeles, California, from 2011 to 2013. J Clin Microbiol 2014;52:4003-9.