



T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM HASTALARINDA REKTAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDEN
İZOLE EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* VE
ESCHERİCHİA COLİ SUŞLARININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Özgür EZİN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Diyarbakır-2016



T.C.

DICLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM HASTALARINDA REKTAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNDEN
İZOLE EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* VE
ESCHERİA COLI SUŞLARININ ARAŞTIRILMASI

Özgür EZİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

Diyarbakır-2016

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen başta tez danışmanım Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT hocama, Anabilimdalı Başkanı'mız Prof. Dr. Kadri GÜL hocama, diğer hocalarım Prof. Dr. Mahmut METE'ye, Prof. Dr. Selahattin ATMACA'ya, Prof. Dr. Adnan SUAY'a, Prof. Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ'ye ve Doç. Dr. Mutallip ÇİÇEK'e, her zaman birlikte çalışmaktan mutlu olduğum, bana her aşamada yardımcı olan şef ve asistan arkadaşlarıma ve ismini yazamadığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmamın istatistiksel analiz bölümünde, verilerin değerlendirilmesinde katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. İsmail YILDIZ'a,

Büyük özveri ve fedakârlıklarla beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olduklarını bildiğim, sevgi ve saygı ile andığım anne ve babama, her türlü desteği ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özgür EZİN
Diyarbakır-2016

ÖZET

Hastane enfeksiyonları morbidite ve mortalitesinin yüksek olması, hastanede kalış süresini uzatması ve yüksek tedavi maliyeti nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Son yıllarda özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarından karbapeneme dirençli Enterobacteriaceae (KRE) ve özellikle de *Klebsiella pneumoniae* sık izole edilmeye başlanmıştır. KRE enfeksiyonlarında, özellikle uzun süreli tedaviler esnasında minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerlerinin dikkatle izlenmesi gereklidir.

Bu çalışmaya, Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastaneleri Tıbbi Mikrobiyoloji Kültür Laboratuvarı'na Mart 2014-Mart 2015 tarihleri arasında yoğun bakım ünitelerinden gelen 462 rektal sürüntü örneği dâhil edildi. Ertapenemli EMB besiyerinde üreyen laktoz olumlu bakteriler BD Phoenix (Becton Dickinson, A.B.D) otomatize sisteminde tanımlanarak antimikrobiyal duyarlılık testleri çalışıldı. İzolatlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı ve karbapenem grubu antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon testi (DDT) ile test edildi. E-test yöntemi ile de Ertapenem, Meropenem, İmipenem ve Doripenem antibiyotiklerinin MİK değerleri araştırıldı.

Toplam 462 rektal sürüntü örneğinin 107'sinde (%23.2) Ertapenemli EMB besiyerinde laktoz olumlu üreme saptandı. Phoenix otomatize sistemi ile 107 örneğin 100'ünde ertapenem, 35'inde meropenem direnci saptanırken DDT yönteminde 106'sı ertapenem, 83'ü meropeneme dirençli olarak belirlendi. Referans yöntem olarak alınan gradiyent strip test yönteminde ise izolatların 91'inde ertapenem, 49'unda da meropenem direnci saptandı.

Perianal kültür sürveyansı, KRE enfeksiyon/kolonizasyon takibinde önemli bir enfeksiyon kontrol yöntemidir. Karbapenem direncinin moleküler epidemiyolojisinin ve risk faktörlerinin tespiti için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, ertapenem, meropenem, MİK, gradiyent strip test.

ABSTRACT

Hospital infections are major health problems due to high morbidity and mortality, long hospitalisation and high treatment costs. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE), especially *Klebsiella pneumoniae* has been frequently isolated in hospital infections in last decades. Minimum inhibitory concentration (MIC) values should be carefully monitored in CRE infections, especially during prolonged treatments.

A total of 462 rectal swab samples sent to Culture Laboratory of Dicle University Hospital from intensive care unit patients between March 2014 and March 2015 were included in this study. Lactose-positive bacteria growing in Eosin Metylen Blue agar containing ertapenem (Ertapenem EMB agar) were identified and antimicrobial susceptibility testing were carried out by BD Phoenix (Becton Dickinson, USA) automated system. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) of isolates and carbapenem susceptibility was tested by Kirby-Bauer disk diffusion method. MIC values of ertapenem, meropenem, imipenem and doripenem were studied with gradient test.

Lactose-positive bacteria growing in Ertapenem EMB agar were isolated from 107 (23.2%) of samples. Among 107 isolates, 100 of them were found as resistant to ertapenem and 35 to meropenem by automated system. Ertapenem and meropenem resistant isolates were 106 and 83 by disc diffusion method, respectively. A total of 91 isolates were resistant to ertapenem while 49 to meropenem by the gradient test which was considered as the reference method.

Perianal cultures surveillance is an important infection control method in monitoring CRE infection and colonization incidence. Further research is needed for establishing the risk factors and molecular epidemiology of carbapenem resistance.

Key words: Carbapenem resistant Enterobacteriaceae, ertapenem, meropenem, MIC, gradient strip test.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR.....	VIII
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Enterobacteriaceae.....	4
2.1.1. Mikrobiyoloji ve Patogenez.....	4
2.1.2. Enterobacteriaceae ailesinde antibiyotiklere direnç durumu.....	5
2.1.2.1. Doğal Dirençli Oldukları Antimikrobiyaller.....	5
2.1.2.2. Doğal Olarak Dirençli Olmadıkları Antimikrobiyaller.....	5
2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	5
2.1.4. Klebsiella cinsi bakteriler.....	8
2.2 B-Laktam Grubu Antibiyotikler.....	11
2.2.1 Karbapenemler	13
2.2.1.1. Karbapenemlerin Sınır Değerleri.....	15
2.2.1.2. İmipenem	17
2.2.1.3. Meropenem.....	18
2.2.1.4. Ertapenem.....	19
2.2.1.5. Doripenem.....	19
2.3 Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları.....	20
2.3.1. İntrinsik Direnç (Doğal Direnç).....	20
2.3.2. Kazanılmış Direnç	20
2.3.3. Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç.....	20
2.4 Antibiyotiklere Genetik Direnç Mekanizmaları	21
2.4.1. Kromozomal genlerde mutasyon oluşması.....	21
2.4.2. Direnç genlerinin dışarıdan alınması.....	21
2.4.3. Dışarıdan alınan genlerde mutasyon oluşması.....	22

2.5	Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları.....	22
2.5.1.	İlacın hedef bölgesindeki değişiklikler	22
2.5.2.	Dış membran geçirgenliğinin bozulması	22
2.5.3.	Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi.....	23
2.5.4.	Efluks pompası	23
2.6	Beta-Laktamazlar.....	24
2.7	Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları.....	29
2.7.1.	İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması.....	29
2.7.1.1.	Porin değişimleri.....	29
2.7.1.2.	Aktif pompa sistemlerinin indüklenmesi	29
2.7.1.2.1	Hedef PBP değişimleri	29
2.7.1.2.2	Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin (karbapenemazların) varlığı.....	29
2.7.1.2.2.1	İntrinsik (kromozomal) karbapenemazlar	30
2.7.1.2.2.2	Ekstrinsik (kazanılmış) karbapenemazlar	31
3	MATERYAL ve METOD	33
3.1.	Bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu.....	33
3.2.	Suşların saklanması	33
3.3.	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Saptanması.....	34
3.4	Modifiye Hodge Testi.....	34
3.5	Karbapenem Disk Difüzyon Testi.....	35
3.6	Gradyent Strip (E-Test)Test.....	35
3.7	İstatiksel Analiz.....	36
4	BULGULAR	37
5	TARTIŞMA	43
6	SONUÇ	53
7	KAYNAKLAR	55

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1:	Klebsiellaların Önemli Biyokimyasal Özellikleri	10
Tablo 2:	Karbapenemlerin sınıflandırılması	14
Tablo 3:	2014 CLSI Enterobacteriaceae için karbapenem sınır değerleri	15
Tablo 4:	2014 veya 2015 EUCAST Enterobacteriaceae için karbapenem sınır değerleri.....	16
Tablo 5:	Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae için klinik sınır değerler ve tarama eşik değerleri (EUCAST önerileri kullanıldığında)	16
Tablo 6:	Beta-laktamazların sınıflandırılma şeması	26
Tablo 6:	Beta-laktamazların sınıflandırılma şeması (devamı)	27
Tablo 7:	Güncellenmiş β -laktamaz grupları ve genel özellikleri.....	28
Tablo 8:	Karbapenemazların substrat ve inhibisyon profilleri	32
Tablo 9:	Tarama testi Ertapenemli EMB besiyerinde, DDT, phoenix ve gradiyent strip test yöntemlerinde KRE Pozitif ve Negatifliği.....	37
Tablo 10:	Gradyent strip test meropenem KRE ile diğer yöntemler arasındaki uyumluluk (Toplam 107 hasta üzerinden).....	38
Tablo 11:	Gradyent strip test meropenem direnç varlığının cinsiyetler arasında Pozitif-Negatiflik oranları.....	39
Tablo 12:	Gradyent strip test meropenem direnç varlığının yaşlar arasındaki Pozitif-Negatiflik oranları.	39
Tablo 13:	Gradyent strip test meropenem direnç varlığı ile yoğun bakımlar (YB'lar) arasındaki ilişki	40
Tablo 14:	Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile Modifiye hodge testi (+)/(-) hasta oranları	41
Tablo 15:	Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile GSBL Pozitif- Negatif oranları	41
Tablo 16:	Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalardan izole edilen bakteri türlerin dağılımı.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: EMB agarda metalik refle yapan <i>E. coli</i> kolonileri	6
Şekil 2: EMB' de mukoid yapıda <i>Klebsiella spp.</i>	8
Şekil 3: Beta-laktam halkası ve yan zincir (R).....	12
Şekil 4: Antibiyotik hedef bölgeleri.....	13
Şekil 5: Karapenem yapısı	15



KISALTMALAR

°C	: Santigrad derece
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
GN	: Gram Negatif
GP	: Gram Pozitif
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
EUCAST	: Avrupa antibiyotik duyarlılık testleri komitesi
KRE	: Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae
Spp.	: Türler
mcg	: Mikrogram
mg	: Miligram
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyon
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
Y. B. Ü	: Yoğun bakım ünitesi
DDT	: Disk difüzyon testi
PBP	: Penisilin bağlayan protein
MRSA	: Metisiline dirençli <i>S. aureus</i>
GİS	: Gastrointestinal sistem

1 GİRİŞ ve AMAÇ

Modern dünyada infeksiyon ve ilaç kavramları Robert Koch'un "hastalık" ve "patojen" arasındaki bağlantıyı tarif etmesi ve Sir Alexander Fleming'in 1929'da *Penisilin*'i bulmasıyla başlar. Penisilin'den sonra *sulfonamidler*, *streptomisin*, *kloramfenikol* bulunmuştur ve 20. Yüzyıl'ın ikinci yarısından itibaren birçok antibiyotik kullanılmaya başlanmıştır. Antibiyotiklerin birçok ülkede en sık veya ikinci en sık kullanılan ilaçlar haline gelmesiyle birlikte antibiyotiklere karşı direnç gelişimi dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç ilk olarak 1960'lı yıllarda ortaya çıkmış ve yıllar içerisinde yeni tanımlanan birçok farklı mekanizma ile infeksiyon hastalıklarının tedavisinde problem olarak yer almaya devam etmiştir (1, 2).

İkinci Dünya savaşı sonrasında çok sayıda antibiyotik kullanıma girmiştir. Ancak bu ilaçların geniş ve kontrolsüz kullanımı ile birlikte giderek artan antimikrobiyal direnç sorunu ortaya çıkmıştır. Gram negatif bakteriler, hem toplum kökenli, hem de hastane infeksiyonlarının ciddi nedenleri arasında yerini almaktadır. Günümüzde gram negatif basillerde giderek artan çoklu antibiyotik direnci morbidite ve mortaliteyi artıran önemli bir sorun olarak önümüzde durmaktadır. Karbapenem grubu antibiyotikler uzun yıllar dirençli gram negatif bakterilerin neden olduğu hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde hekimlerin en güçlü ilacı olmuştur (3).

Enterobacteriaceae ailesi çok sayıda gram negatif (GN) basillerin bulunduğu ve gastrointestinal floranın önemli bir kısmını oluşturan bakterilerdir. İnsanlarda üriner sistem, bakteriyemi, solunum sistemi, peritonit, santral sinir sistemi gibi enfeksiyonlara ve asemptomatik kolonizasyona en sık neden olan etkenler arasındadır. Enterobacteriaceae ailesi toplum ve hastane kökenli enfeksiyonların önemli bir kaynağıdır (4). Bu bakterilerdeki antibiyotik direncindeki giderek artış, toplum sağlığı açısından da önemli bir sorun teşkil etmektedir. Özellikle son yıllarda başta çoğunlukla yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve pediatri üniteleri olmak üzere dâhiliye ve cerrahi ünitelerinde ağır morbidite ve mortaliteye neden olan önemli hastane kökenli etkenler olarak saptanmaktadır (5).

Gram negatif bakterilerde beta-laktam direnci ve devamında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretiminin yayılması sebebi ile bu bakterilerin yol açtığı ağır infeksiyonlarda karbapenem grubu antibiyotikleri tedavide en önemli tercih olarak ortaya çıkarmıştır (6). Karbapenem grubu antibiyotiklerin kontrolsüz ve yaygın kullanımını önce, *Acinetobacter spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da, sonrasında da gram negatif enterik

basillerde karbapenem direncinin meydana çıkışı gözlenmiştir (7, 8, 9). Son birkaç yıla kadar nadir olarak bilinen karbapenem direnci maalesef dünyanın birçok bölgesinde Enterobacteriaceae ailesinde özellikle de *Klebsiella pneumoniae*'da giderek artış göstermektedir (10). Karbapenem duyarlı olmayan (orta dirençli veya dirençli) *Escherichia coli*'nin tespiti ve artışı da son yıllarda önemli bir klinik problem olarak ortaya çıkmaktadır (11).

Karbapenemler, günümüzde bilinen en geniş spektrumlu antibiyotik grubudur. Enterobacteriaceae ailesine bağlı enfeksiyonlarla mücadelede daha önceleri ilk tercih olarak beta-laktam grubu antibiyotikler kullanılmaktaydı. Ancak beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç oluşmasında etkili olan beta-laktamaz enzimlerinin meydana çıkışı tedavide yeni tercihlerin araştırılmasını gündeme getirmiştir (12,13). 3. kuşak sefalosporinlerin 1980'li yılların birinci yarısında klinik kullanıma girmesinden sonra, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Klebsiella pneumoniae* dünyada önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır (14,15). Enterobacteriaceae ailesi içinde, özellikle karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşları son yıllarda dünyanın birçok bölgesinde sıklıkla izole edilmektedir (16). Yapılan son çalışmalarda GSBL üreten *K. pneumoniae* prevalansının Kore'de % 30 ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bazı bölgelerde % 50'ye kadar ulaştığı gösterilmiştir. Bu durumda da Enterobacteriaceae ailesindeki hızla artan GSBL aktivitesi karbapenemlerin tedavideki önemini arttırmıştır (17,18).

Karbapenem dirençli *K. Pneumoniae* ve *E. coli* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar ile mücadelede kullanılabilecek antibiyotik seçenekleri son derece kısıtlıdır ve yakın gelecekte bu problemin çözümüne yönelik bir umut ışığı gözükmemektedir. Bu nedenle bir taraftan antibiyotikleri uygun endikasyonda, kısıtlı bir şekilde kullanarak direnç oluşumunu yavaşlatmaya çalışırken, diğer taraftan bu suşların hastane içinde ve hastaneler arası yayılımını önlemek büyük önem taşımaktadır.

“Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) tarafından Mart 2009'da hastanelerde karbapenem dirençli Enterobacteriaceae'nin kontrolüne yönelik öneriler yayınlanmıştır (19).

Çalışmamız da Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi hastaneleri yoğun bakım ünitelerinde karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* bakterilerinin varlığını ve hastanelerimizdeki sıklığını araştırmayı amaçladık. Bu

hastaların izole edilerek enfeksiyonun kontrol altında tutulacağına ve karbapenem direnç artışının hastanemizde engellenebileceğine veya azaltılabileceğine inanıyoruz. Bunun sonucu olarak da gereksiz antibiyotik kullanımı, hastanın iyileşmesinin gecikmesiyle beraber hastanede kalış süresinin uzamasına bağlı artan tedavi maliyeti önlenecek, morbidite ve mortalitenin azaltılmasına katkıda bulunulacaktır.



2 GENEL BİLGİLER

2.1 Enterobacteriaceae

2.1.1. Mikrobiyoloji ve Patogenez

Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan *E. coli*, ilk kez 1884 yılında Teodor Esherich tarafından barsak florasında yer alan bir bakteri olarak tarif etmiştir. *Klebsiella* bakterisi ise, 19.yy'ın son yıllarında, ilk kez Alman mikrobiyolog Edwin Klebs tarafından tarif edilmiştir. Daha sonra Carl Friedlander, *K. pneumoniae*'nin neden olduğu ciddi ve mortal pulmoner enfeksiyon tablosunu detaylı bir şekilde tarif etmiştir. Bu nedenle *K. pneumoniae* uzun yıllar 'Friedlander basili' şeklinde isimlendirilmiştir (20).

Enterik bakteriler şeklinde isimlendirilen Enterobacteriaceae spp. normal barsak florasında yer aldığı gibi, içme suyunda, toprakta ve çürümekte olan gıdalarda da yer alır. Enterik bakteriler içinde bir kısmı insanlar için her zaman patojenken (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* gibi), diğer bir kısmı ise normal florada yer alır. Fakat yer aldıkları vücudun normal bölgelerinden ayrıldıklarında insan vücudunun farklı bölgelerinde fırsatçı enfeksiyonlara yol açmaktadır (*Klebsiella*, *Escherichia* gibi) (21,22). Gram negatif bakterilerden Enterobacteriaceae familyasındaki mikroorganizmalar klinik materyallerden en sık tanımlanan bakterilerdir. Bu bakteriler tüm üriner enfeksiyon etkenlerinin %70'ini, tüm sepsislerin de %30-35'ini oluşturmaktadır (23). Bakterilerin bulaş şekli hayvanlardan insanlara veya insanlardan insanlara şeklindedir. Bazen de insanın kendi florasında yer alan mikroorganizmalar endojen enfeksiyonlara neden olurlar (Örneğin *E. coli*).

Enterobacteriaceae spp. özellikle hastanede yatan hastalarda enfeksiyon etkenleri arasında önemli bir yere sahiptir. Sağlık hizmeti ilişkili üriner sistem enfeksiyonlarının yaklaşık %50'sinden, pnömonilerin %30'undan, bakteremilerin %25'inden, cerrahi alan enfeksiyonlarının %25'inden, menenjitlerin ise %50'sinden Enterobacteriaceae spp. sorumludur (24).

Enterobacteriaceae spp. bakterilerinin hepsi aerob veya fakültatif anaerob, hareketli veya hareketsiz flajellaları olan, glukozu fermente eden (sıklıkla gaz üretimi

ile birlikte), oksidaz negatif, katalaz pozitif, nitratı nitrite indirgeyen, sporsuz, en iyi MacConkey agarında üreyen gram negatif basillerdir (21,22).

2.1.2. Enterobacteriaceae ailesinde antibiyotiklere direnç durumu

2.1.2.1. Doğal Dirençli Oldukları Antimikrobiyaller

Klindamisin, daptomisin, fusidik asit, glikopeptidler, linezolid, makrolidler, quinipristin-dalfopristin, rifampin (25).

2.1.2.2. Doğal Olarak Dirençli Olmadıkları Antimikrobiyaller

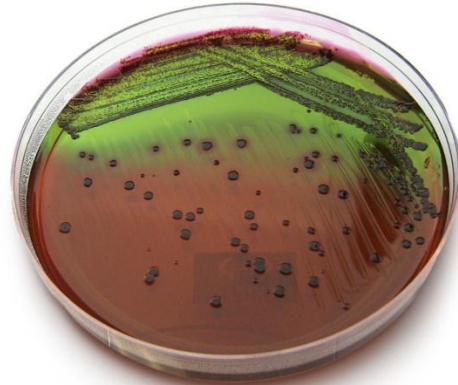
Üçüncü kuşak sefalosporinler, sefepim, aztreonam, tikarsilin/klavulonik asit, piperasilin/tazobaktam, karbapenemler (25).

2.1.3. *Escherichia coli*

E. coli; kuşların ve memelilerin normal barsak florasında bulunur, 2-6 µm boyunda, 1-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak bir gram negatif basildir. Pertirik kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla beraber hareketleri genellikle yavaştır. Bazı suşlarda polisakkarit yapısında kapsül veya mikrokapsül yer almaktadır (26, 27). Enterobacteriaceae spp. familyasında en sık enfeksiyon etkeni *E. Coli*'dir. *E. coli* gram negatif, glukozu ve laktozu (asit ve gaz oluşturarak) fermente eden, triptofandan indol oluşturan, üreaz ve oksidaz enzimi Negatif, hidrojen sülfür oluşturmeyen basillerdir. Toplum kökenli ve hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkenidir (28). Neonatal menenjit ve gastroenterit dışındaki enfeksiyonları genellikle endojen kaynaklıdır yani barsak florasından köken alır. *E. coli* enterobacteriaceae içinde en sık üriner sistem enfeksiyonu, neonatal menenjit, sepsis ve turist diyaresi oluşturan bakteridir. Yara yeri enfeksiyonları, immünsüpre hastalarda sağlık hizmeti ilişkili pnömoniler ve peritonitler, sık karşılaşılan enfeksiyonları arasındadır. *E. coli* sağlık hizmeti ilişkili gram negatif bakterilerde etken olarak ilk sırayı alır (29).

E. coli'ler fakültatif anaerob olup 15-45 derecelerde üreyebilmekle birlikte optimal üreme ısıları 37 °C'dir. Ortalama pH 7-7.2'de, buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Buyyon ve peptonlu suda yoğun üreme gösterirler ve homojen bulanıklık yaparlar. Agarda genellikle 2-3 mm çapında parlak, düzgün kenarlı,

konveks, gri-beyaz renkte S tipi koloniler yaparlar. Tekrarlanan pasajlarda ise kaba-mat ve granüler R tipi koloniler oluştururlar. Bazı kökenler, özellikle idrar yolu infeksiyonlarından izole edilenler kanlı agarda hemoliz yapabilirler. Kapsüllü suşlar ise mukoid koloniler oluşturabilirler. Şekerleri ve diğer karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Laktoza olan etkileri (laktoz Pozitif) ve gaz oluşturması diğer barsak bakterilerinden özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırımında önemli bir özelliktir. Bu nedenle pratikte laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. İçinde laktoz ve eozin metilen mavisi bulunan EMB agarda ve içinde laktoz, sodyum sülfid, diyament füksin içeren Endo agarda mavi- siyah yeşilimsi parlaklık (metalik refle) veren koloniler oluştururken (şekil 1'de) McConkey ve Salmonella-Shigella (SS) agarda kırmızı koloniler oluştururlar (26, 27, 30).



Şekil 1: EMB agarda metalik refle yapan *E. coli* kolonileri

E. coli bakterilerinin IMVIC olarak bilinen biyokimyasal özellikleri (Tryptofandan indol oluşturma, Metil kırmızısı testi, Voges Proskauer testi, sitratı kullanma) (+ + - -) olarak gösterilir. Bazı kökenleri dışında Hidrojen sülfür oluşturamazlar, ancak sisteinli besiyerinde az miktarda H₂S yaptıkları saptanmıştır (26, 27).

E. coli'nin yol açtığı klinik tablolar, gastrointestinal sistem (GİS) enfeksiyonları ve diğer doku enfeksiyonları şeklinde iki sınıfta toplayabiliriz. Daha çok ishal tablosu şeklinde kendini gösteren GİS enfeksiyonları, *E. coli*'nin özel "O" serovarlarına bağlı

gelişir. Küçük çocuklarda meydana gelen diyare tablosu hastane ve kreşlerde salgınlar yapabilir. Büyüklere bulaş genellikle hasta çocuklardan olur. Ciddi diyare vakalarında bu izolatlar çocukların ince barsaklarına hatta duodenuma bol miktarda yerleşirler. Değişik mekanizmalarla diyare tablosu oluşturan *E. coli*'lerin 6 tipi tanımlanmıştır (27, 32, 33, 34).

1. Enterotoksijenik *E. coli*
2. Enterohemorajik *E. coli*
3. Enteroinvazif *E. coli*
4. Enteropatojenik *E. coli*
5. Enteroagregatif *E. coli*
6. Diffüz adeziv *E. coli*

Çocuklarda diyareye neden olan enteropatojenik *E. coli* (EPEC), turist diyaresine neden olan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), hemolitik üremik sendroma neden olabilen verotoksin üreten enterohemorajik *E. coli* (EHEC), *Shigella* benzeri kanlı diyareye neden olan enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve akut/kronik diyare ile besin zehirlenmelerine neden olabilen enteroagregatif *E. coli* (EAEC), diğer *E. coli* alt türleridir (21,22).

E. coli çevre şartlarına dayanıklı bir bakteridir. 55 °C'de bir saat, 60 °C' de 20-30 dakika, 25 °C'de uzun süre canlı kalırlar. Soğuğa rezistans, dezenfektanlara karşı ise duyarlıdır. *E. coli*'de O (somatik), H (kirpik), K (kapsül) antijenleri yer almaktadır. Somatik antijenlerine bağlı gruplara, kirpik ve kapsül antijenlerine göre de serovarlara ayrılır (26, 30). Hastane koşullarına dayanıksız bir bakteri olması sebebiyle bu bakteriye yönelik hastane enfeksiyon olguları çoğu endojendir ve kolon florasından orjin almaktadır. Ancak son zamanlarda multibl rezistans suşlar hastane kökenli enfeksiyon olgularında tespit edilmeye başlamıştır. İlk kez 1940 yılında *E. coli*' de beta-laktam direncine sebep olan ve penisilinaz olarak adlandırılan enzimler elde edilmiştir (35). 1960'ların sonlarında ampisilin ve diğer aminopenisilinlere yönelik *E. coli*'nin rezistans oluşturması hastane kökenli enfeksiyon olgularında sorun olmaya başlamıştır (36, 37). 1965 yılında ilk defa ampisiline rezistans *E. coli* suşları tespit edilmiş ve rezistansa neden olan betalaktamaz TEM-1 olarak isimlendirilmiştir (38). 1980'li yıllara kadar,

mevcut geniş spektrumlu beta-laktamlara karşı rezistansı, geniş spektrumlu beta-laktamazlar olan TEM-1, onun değişkeni TEM-2 ve SHV-1 şeklinde tanımlanmıştır. SHV-1 *Klebsiella pneumoniae*'da genellikle kromozomal, *E. coli*'de ise genellikle plazmidik olarak bulunur. 1980'li yıllarda ise Gram negatif bakteri infeksiyonları için oldukça fazla kullanılan yeni sefalosporinlere ya da üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı GSBL'in üretimi başlamıştır. GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya'da bir *K. pneumoniae* izolatında bildirilen SHV-2 enzimidir (39). Bu enzim daha sonra *E. coli* ve diğer Enterobacteriaceae ailesinde tespit edilmiş sonra çok çeşitli GSBL enzimi tanımlanmıştır (40).

2.1.4. *Klebsiella* cinsi bakteriler

Toprakta, sularda, insan ve hayvanların barsakları ile üst solunum yollarının normal florasında bulunurlar. Enterobacteriaceae ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, çoğunlukla kapsüllü, 0.7- 1.5 x 2.0- 5.0 µm boyutlarında, gram negatif bakterilerdir. Kapsül, organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki bakterilerde geniş ve net bir şekilde görülür. Kanlı, serumlu besiyerlerinde kapsüllerini saklı tutarlar. En iyi glikozlu besiyerlerinde kapsüllenirler (41). Kapsülleri polisakarit yapıda ve geniştir, bu yüzden besiyerlerinde M kolonileri yaparlar (42). Şekil 2' de eozin metilen blue agarda (EMB' de) mukoid yapıda M koloni yapmış klebsiellalar görülmektedir.



Şekil 2: EMB' de mukoid yapıda *Klebsiella* spp.

Klebsiella cinsi, Enterobacteriaceae'nin genel özelliklerine sahiptir. Tümü hareketsizdir. Triptofandan indol oluşumu negatif, laktoz fermantasyonu (laktoz (+)) ve üreaz enzimi Pozitifdir. En fazla enfeksiyona neden olan tür *K. pneumoniae*'dir. Bu bakteri normalde %5-38 oranında sağlıklı insanların barsak ve üst solunum yolu floralarında bulunur. Oluşturduğu en önemli hastalık alkoliklerde, solunum fonksiyonları yetersiz kişilerde pnömonidir. Tüm pnömonilerin %2'sinden sorumludur (42).

Başta glikoz, çoğu kez de laktoz ve sukrozdan gaz da oluşturarak birçok şekeri parçalarlar. Nişastadan gaz oluşturmaları önemli bir özelliktir. Hidrojen sülfür (H₂S) oluşturmazlar. *Klebsiellalar* fenilalanini deamine etmezler. Az bir kısmı dışında jelatinaz, ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar (Tablo1) (41,43).

Klebsiellalar ısıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55 °C'de yarım saatte ölürlür. Ancak kuruluğa karşı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalabilirler. Oda ısısında tutulan kültürlerde haftalarca, +4 °C'de soğukta aylarca canlı kalırlar. Antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidirler ve bu dirençleri *E. coli*'ninkinden fazladır. Hastane kökenli tespit edilen suşlarda dirençlilik düzeyi çok yüksektir. (41).

Klebsiella cinsi, üreaz enzim pozitifliği, hareketsiz oluşu ve fagositozdan korunmasını sağlayan mukoid koloniler oluşturmaya neden olan polisakkarit kapsülü ile *Escherichia*'dan ayrılır. Bu grup içerisinde en sık enfeksiyon ajanı olan *K. pneumoniae* türü, *E. coli* gibi üriner sistem enfeksiyonu ve sepsis etkeni olmakla birlikte özellikle yoğun bakımda ve immünsüprese hastalarda pnömoniye de yol açmaktadır (21, 22, 44).

Tablo 1. *Klebsiellaların* Önemli Biyokimyasal Özellikleri

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella Terrigena</i>	<i>Klebsiella planticola</i>
Metil kırmızısı	-	+	+	-	+	D
İndol	-			+	-	D
Voges-Proskauer	+	-	-	+	+	+
Sitrat	+	D	-	+	+	+
44.5 °C'de laktozdan gaz	+			-	-	-
+10 °C'de üreme	-	-	-	+	+	+
Laktoz	+	G	G	+	+	+
Malonat	+	-	+	D	D	+
Üreaz	+	D	-	+	+	+
Lizin dekarboksilaz	+	D	-	+	+	+
Arginin	-	D	-	-	-	-
H ₂ S	-			-	-	-

Üst solunum yolu ve barsak florasında yer alabilen *Klebsiellaların* buldukları yerde uygun şartların oluşması veya lokalizasyonlarını değiştirerek diğer organ ve sistemlere geçişleri halinde, birçok hastalığa yol açarlar. Son zamanlarda özellikle

hastane ortamlarında antibiyotiklere karşı direnç kazanmış kökenlerin hastane infeksiyonlarına neden olmaları bu bakterilerin önemini artırmıştır. Gram negatif bakteri infeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin (oksiiminosefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinler) oldukça fazla kullanılması genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (GSBL)' in üretilmesine neden olmuştur. Daha önce de bahsedildiği üzere GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* izolatında tespit edilmiş ve SHV-2 enzimi olarak tanımlanmıştır (39).

Klebsiellaların yol açtığı pnömoniler bakteriyel kökenli pnömonilerin %2'sini oluşturur. Çoğunlukla iki yaşından küçük ve 40 yaşından büyük kimselerde görülür. Çeşitli sebeplerle oluşan immunsupresif durumlar, viral kökenliler ağırlıklı olmak üzere çeşitli üst solunum yolu enfeksiyonları predispozan etki yaparlar. *Klebsiellara* bağlı idrar yolu enfeksiyonları da özellikle hastane ortamında artış göstermektedir. Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde ortaya çıkan bu tip enfeksiyonlar tedaviye oldukça direnç göstermektedirler. *Klebsiellalar*, bu hastalıkların dışında ve daha az olmak üzere prostatit, otitis media, sinüzit, kolesistit, peritonit, anjin, menenjit ve daha az olmak üzere sepsis, karaciğer apsesi ve çeşitli organ hastalıkları yaparlar (41).

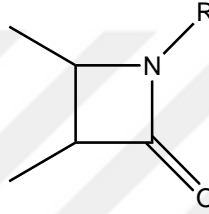
2.2. B-Laktam Grubu Antibiyotikler

Beta-laktamlar, dünyada en çok kullanılan antibiyotiklerdir. Ökaryotik organizmalara karşı olan düşük yan etki insidansı, tüm yaş gruplarında uygulanabilmeleri ve neredeyse tüm bakteriyel kökenli infeksiyonlarda kullanılabilmesi, üstün etkinlikleri, geniş spektrum ve güçlü bakterisit etkilerinin olması bu yoğun tercihin altında yatan sadece birkaç nedendir. Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği ve gerek toplum gerekse hastane kökenli etkenlerde beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmektedir.

Beta-laktam antibiyotikler; antibakteriyel etki alanları, kimyasal yapıları ve farmakokinetik özellikleri farklı birçok antibiyotiğin bulunduğu geniş bir gruptur. Bu grubun üyelerinin ortak özellikleri; tümünün yapısında bir beta-laktam halkası bulunması, etki mekanizmaları ve kendilerine karşı gelişen direnç yollarıdır. Bu grup içinde yer alan antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanırlar:

- 1-Penisilinler
- 2-Sefalosporinler
- 3-Monobaktamlar
- 4-Karbapenemler
- 5-Beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam)

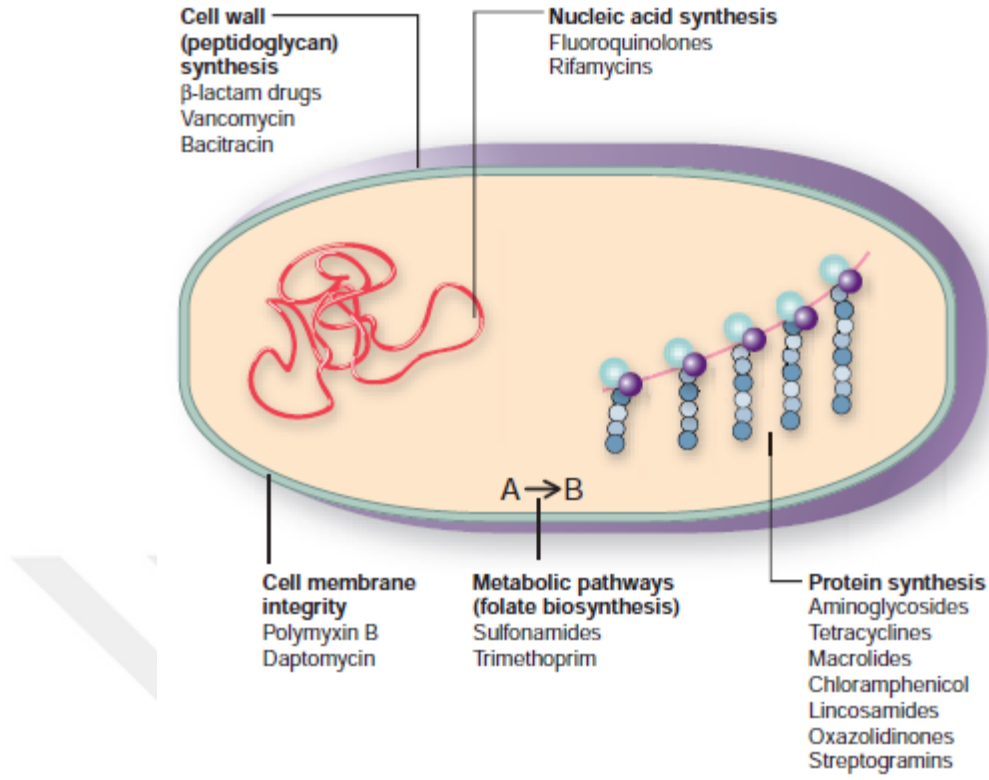
Beta-laktam antibiyotiklerin ortak özellikleri, yapılarında beta-laktam adı verilen 4 atomlu bir yapı taşımalarıdır (Şekil 3). Her grup beta-laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan yan zincire (R zinciri) göre belirlenir.



Şekil 3. Beta-laktam halkası ve yan zincir (R)

β -laktam grubu antibiyotikler bakteride hücre duvar sentezini durdurarak etki gösterirler. Bu etkiyi bakterilerin sitoplazmik membranları üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan aynı zamanda penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak isimlendirilen hedef proteinlere bağlanarak gösterirler. Beta-laktam antibiyotikler tarafından PBP'leri inhibe edilen bakteride peptidoglikan sentezlenemeyeceğinden hücre duvar sentezi de bozulmaktadır. Böylece bakterinin ozmotik dengesinin bozulmasına ve ölümüne neden olmaktadır (45, 46).

β -laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için gram negatif bakterilerde porin (Outer Membrane Protein, OMP) adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, stoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan β -laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir (47). Gram pozitif bakterilerde dış membran bulunmayıp, sitoplazmik membranın üzerinde kalın bir peptidoglikan tabakası bulunmaktadır. β -laktamazlar bu tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer almaktadır (48). Ancak pek çok antibiyotiğe olduğu gibi bu antibiyotiklere karşı da direnç giderek artmaktadır.



Şekil 4: Antibiyotik hedef bölgeleri

2.2.1. Karbapenemler

Sefalosporinlerdeki bir çift bağ içeren 5 üyeli halka yapısında bir metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle diğer beta-laktam ajanlardan ayrılır. Karbapenemler *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen bir bileşik olan tienamisin türevleridir. Beta-laktamların en geniş spektrumlusudur. Mikobakteriler, hücre duvarı olmayan bakteriler ve bazı nonfermentatifler ve *Aeromonas* dışında hemen her bakteriye etkilidir. GSBL ve AmpC enzimini fazla miktarda üreten GN bakterilere karşı son zamanlarda direnç gelişmekle birlikte etkinliklerini korurlar (49). Karbapenemler çok geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye ve klinikte gözlenen birçok beta-laktamaza karşı stabiliteye sahiptir. Ancak sınıf B metallo-beta-laktamazlar dâhil, karbapenemazlar bu antibiyotikleri hidroliz edebilmektedir. Çok geniş etki spektrumu, iyi klinik etkinliği, uygun güvenlik profili ile karbapenemler, ağır infeksiyonların başlangıç tedavisinde ilk tercih edilecek olan antibiyotikler içinde oldukça değerlidir (50).

Karbapenemler beta-laktam grubu içinde en geniş spektrumlu, hızlı bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. Bu grup antibiyotiklerin sınıflaması Tablo 2’ de verilmiştir (51). Birinci grup karbapenemler olan ertapenem ve panipenem özellikle toplumdaki kökenli ciddi enfeksiyonlara karşı, ikinci grup karbapenemler ise aynı zamanda güçlü nonfermantatif etkinliklerinden dolayı hastane kökenli enfeksiyonlara karşı kullanılır. Üçüncü grup karbapenem olan CS-023 ise ikinci grubun etkinliğine ek olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a karşı da etkilidir (52).

Tablo 2. Karbapenemlerin sınıflandırılması

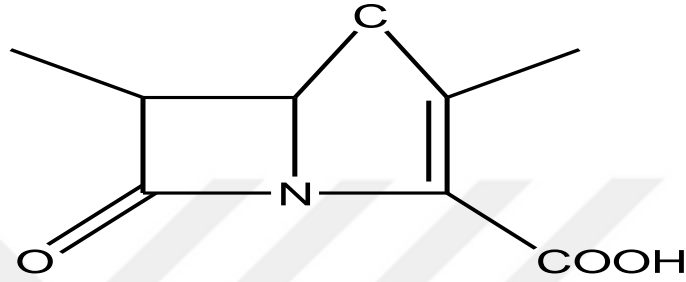
GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3
Ertapenem	İmipenem	CS-023
Panipenem	Meropenem	
	Doripenem	
	Biapenem	

Karbapenemler günümüzde kullanılmakta olan antibiyotiklerden antibakteriyel spektrumu en geniş olanlardır. Temel yapı, penisilin beta laktam halkasına benzemektedir. Ancak bu yapıda, 1. pozisyondaki sülfür yerine karbon bulunmakta ve beş üyeli halkadaki 2. ve 3. karbon atomları arasında doymamış bağ yer almaktadır. Karbapenemlerin pek çoğunun beta laktamaz enzimine dayanıklılığı, hidroksietil yan zincirdeki farklı trans konfigürasyondan kaynaklanmaktadır. Bu yapı tüm karbapenemlerde ortak olmakla birlikte, oral biyoyarlanımı olan faropenem, 1. pozisyondaki sülfür nedeni ile diğer karbapenem sınıfındaki üyelerden farklılık gösterir.

GN ve GP bakterilerin hücre duvarı sentezi için gerekli olan PBP'lere bağlanarak, bu enzimleri inhibe ederler. Başlıca GN bakterilerde; imipenem esas olarak PBP 2'ye daha sonra PBP 1'e (1a ve 1b'ye) bağlanırken PBP 3'e ilgisi azdır. Meropenem ise bu bakterilerdeki PBP 2 ve PBP 3'e yüksek afiniteyle bağlanır (53). Meropenem, *E. coli*'nin önce PBP 2 sonra PBP 3 'üne bağlanır, aynı zamanda PBP 1a

ve 1b'ye de afinitesi iyidir. İmipenem esas olarak PBP 2, sonra 1a ve 1b 'ye bağlanırken PBP 3 'e afinitesi zayıftır (54). Meropenem, *E. coli*'de ki primer PBP hedeflerini, imipenemden daha düşük konsantrasyonlarda doyurmaktadır, bu da MİK değerlerinin daha düşük olmasını açıklamaktadır (55).

Carbapenems (thienamycin)



Şekil 5: Karapenem yapısı

Karbapenemler; bazı *Bacteroides fragilis* suşları ve *Stenotrophomonas maltophilia* tarafından meydana getirilenler dışındaki plazmid ilişkili veya kromozomal olarak üretilen AmpC dâhil olmak üzere birçok beta-laktamaza dayanıklıdır. Karbapenemazlar, karbapenem nükleusunun hidrolize olmasına, bakteri hücre duvarındaki porin kanallarının değişmesine ve ilacın permeabilitesinin azalmasına yol açar (56, 57).

2.2.1.1. Karbapenemlerin Sınır Değerleri

Tablo 3. 2014 CLSI Enterobacteriaceae için karbapenem sınır değerleri (58)

Karbapenemler	Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)			MİK sınır değerleri (mg/L)		
		S	I	R	S	I	R
Ertapenem	10	≥22	19-21	≤18	≤0.5	1	≥2
Doripenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
Meropenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
İmipenem	10	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4

Enterobacteriaceae için 2014 ve 2015 EUCAST rehberine göre; Enterobacteriaceae için belirlenen karbapenem sınır değerleri (karbapenemazların çoğu dâhil olmak üzere) klinik önemi olan tüm direnç mekanizmalarını saptayacaktır. Karbapenemaz üreten bazı kökenler bu sınır değerlerle duyarlıdır ve saptandıkları gibi bildirilmelidirler yani karbapenemazın varlığı veya yokluğu duyarlılık kategorisini tek başına etkilememektedir. Birçok bölgede karbapenemaz saptanması ve özelliklerinin belirlenmesi enfeksiyon kontrolü amacıyla önerilmektedir veya zorunludur (59, 60).

Tablo 4. 2014 veya 2015 EUCAST Enterobacteriaceae için karbapenem sınır değerleri (59,60)

Karbapenemler	Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		MİK sınır değerleri (mg/L)	
		S≥	R<	S≤	R>
Ertapenem	10	25	22	0.5	1
Doripenem	10	24	21	1	2
Meropenem	10	22	16	2	8
İmipenem	10	22	16	2	8

Tablo 5. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae için klinik sınır değerler ve tarama eşik değerleri (EUCAST önerileri kullanıldığında) (61)

Karbapenemler	Disk difüzyon zonları (mm) (10 µg disklerle)		MİK (mg/L)	
	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri
Ertapenem	≥25	<25	≤0.5	>0.12
İmipenem	≥22	<23	≤2	>1
Meropenem	≥22	<25	≤2	>0.12

2.2.1.2. İmipenem

GP, GN, aerob ve anaerob mikroorganizmalar gibi birçok patojen ajana etki eden karbapenem grubundan imipenem, ağır enfeksiyon vakalarında değişik kemoterapötik kombinasyonlarla karşılaştırıldığında son derece etkili bir kemoterapötik ajandır. Bu sebeple ciddi enfeksiyon durumlarında öncelikle GN etkenler olmakla birlikte birçok patojen ajana etki eden imipenemin ampirik olarak tedaviye başlanması kabul görmüş bir yaklaşımdır. Bu nedenle kritik hastalığı olan kişilerde özellikle dirençli GN etkenler veya polimikrobiyal enfeksiyon düşünüldüğünde, kültür ve antibiyogram sonuçlarını beklemeden ampirik olarak başlanabilir (62). Ağır enfeksiyonu olan immünsüprese hastalarda da güvenle tercih edilmesi avantaj oluşturmaktadır (63).

İmipenem diğer beta-laktam antibiyotiklerden farkı beta-laktam halkasındaki sis konfigürasyonunda yer alan amino-açıl yan zincirinin yerine trans konfigürasyonunda hidroksietil yan zinciri yer alır. Trans konformasyonu imipenemin beta-laktamaz enzimine karşı direncini artırır. Penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak 1. pozisyonundaki α halkasında karbon atomu, metilen (-CH₂-) yapısı içeren sülfür ile değişmiştir. Bu yapı karbapenemlerin bakteri hücreesindeki hedef proteinlere bağlanmasını artırır. Bu da antibiyotiğin etki spektrumunu genişletir ve antibakteriyel gücünü artırır. Molekül ağırlığının düşük olması bakterinin hücre membranından girişini kolaylaştırır (64,65).

İmipenem son derece geniş etki spektrumuna ve beta-laktamaz direncine karşın, böbreklerde yüksek düzeyde enzimatik eliminasyona uğrar. Metaboliti nefrotoksik bir ajandır. Bu nedenle tek başına kullanılamaz. Bir dehidropeptidaz-1 (DHP-1) inhibitörü olan silastatin ile 1/1 oranında karıştırılarak kullanılmaktadır. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, geri dönüşümlü ve spesifik inhibitörüdür. Silastatinin antibakteriyel etkinliği ya da beta-laktamazlar üzerine etkisi yoktur. İmipenemin antibakteriyel etkisini azaltmaz (66,67).

Etki mekanizması: Karbapenemler diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre duvar oluşumunu engeller ve bakterisidal etkilidirler. İmipenem GP ve GN bakterilerin PBP'lerine güçlü bir şekilde bağlanır. Bu bağlanma öncelikle PBP2'ye ve sonrasında da PBP1a'ya olur. PBP1'e bağlanması GP ve GN bakterilerin daha hızlı parçalanmasına sebep olur. *E. Coli*'de PBP1a, 1b, 2, 4, 5 ve 6'ya; *P. aeruginosa*'da PBP1a, 1b, 2, 4, 5'e bağlanarak hücre duvar oluşumunu engeller (68,69). GN bakterilerde dış membrana penetrasyonu da daha fazladır (70). Molekül ağırlığının küçük olması ve

zwitteryonik (nötral yük) sebebiyle bakterinin hücre duvarına, diğer beta-laktam antibiyotiklerden daha hızlı bağlanır (71).

Farmakokinetik ve farmakodinamik: İmipenemin plazma yarılanma ömrü yaklaşık bir saattir. Serum proteinlerine bağlanma oranı %10-20 arasında olup, imipenem %20, silastatin ise %40 oranında bağlanır. Yaklaşık 10 saat içinde verilen dozun %70'i idrarda saptanır. Total dozun % 48.6'sı idrarla değişmeden atılmaktadır (72).

Yan etkiler: Enjeksiyon yerinde ağrı, flebit ve tromboflebite (%1.7) en sık görülen yan etkilerdir. GİS ilgili yan etkiler bulantı (%1.4), kusma (%0.9), oral mukozada değişiklikler (%0.3), ishal (%0.9) ve psödomembranöz enterokolit (%0,1) görülmektedir. Ciddi yan etkiler nadirdir. Diğer beta-laktamlara alerjisi olan hastalarda imipeneme karşı da alerjik reaksiyon görülebilir. İmipenem kullanımına bağlı görülebilen çeşitli alerjik reaksiyonlar ateş, kaşıntı, deri döküntüsü, solunum sıkıntısıdır. Santral sinir sistemi üzerine de yan etkiler (konfüzyon, huzursuzluk, konvülziyon, tremor) görülebilir. İnfüzyon hızına bağlı olarak bulantı, kusma, terleme ve halsizlik olabilir. Konvülziyon için önemli risk faktörleri dozun yüksek olması ve hastanın renal yetmezliğinin olmasıdır. Böbrek yetmezliği olan veya santral sinir sistemi patolojisi olanlarda konvülziyona yol açabilmesi, bulantı ve kusma yan etkileri imipenem kullanımını kısıtlamaktadır. Kullanım sırasında infüzyonun yavaş olmasına dikkat edilmelidir (71).

2.2.1.3. Meropenem

Meropenem, imipenemin tersine böbrekte dehidropeptidaz-I (DHP-1) enzimine karşı ileri düzeyde stabilite gösterir. Klinik önemi olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkilidir. İmipenem ve meropenemin en önemli hedefi PBP 2' dir. Ancak meropenem, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'nin PBP 2 ve PBP 3'üne daha yüksek afinite gösterir. Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve GN bakterilerdeki karbapenemazlar dışında diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. Karbapenemlerden GP bakterilere karşı daha etkili olan imipenem iken, GN bakterilere özellikle de *P. aeruginosa*'ya karşı daha etkili olan meropenemdir (73,74).

Meropenem genel olarak 3.kuşak sefalosporinlerden daha güçlü bir indükleyici olmasına karşın, Enterobacter ve *P. aeruginosa* izolatlarındaki grup 1 beta-laktamazlar üzerindeki indükleyici etkisi imipeneme göre daha zayıftır (75,76).

2.2.1.4. Ertapenem

Ertapenem birçok GP ve GN aerobik ve anerobik bakterilere karşı etkilidir ve genellikle toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır (77,78). Diğer karbapenemlerde bulunan birçok yararlı yapısal özellik ertapenemde de bulunur. Ancak ertapenemin plazma proteinlerine bağlanma kapasitesi yüksektir. Bunun sebebi dış membranında benzoik asid yerine meta grubunun geçmesi onu diğer karbapenemlerden ayırır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı ertapenem de % 95 iken imipenem de bu oran %20'dir. Ertapenemin plazma proteinlerine bağlanma oranının yüksek olması sonucunda ertapenemin serbest kısmı azalır ve plazma yarılanma zamanı uzar. Esas olarak renal yoldan atılır ve eliminasyon yarılanma ömrü imipenem ve meropeneme göre belirgin derecede uzar ve bu da uzun etkili sefalosporinlerde olduğu gibi tedavide günde tek doz (1 gr/gün) uygulama avantajı sunar (78,79).

Ertapenem yüksek molekül ağırlığı, lipofilik yapıda olması ve anyonik özelliğinden dolayı bakterinin OprD porininden geçemez. Bu yüzden *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi nonfermantatif GN bakterilere karşı diğer karbapenemlerden daha az etkilidir (80, 81, 82, 83). Ertapenemin metisiline dirençli stafilokok türlerine etkisiz olması PBP'lerdeki değişiklik sonucudur. Ertapenem MBL ve bazı diğer karbapenemazlar hariç GSBL ve AmpC tipi beta-laktamaz üretenler de dahil olmak üzere beta-laktamaz üreten GN bakterilere oldukça etkili bulunmuştur (82,83,84).

2.2.1.5. Doripenem

Doripenem, özellikle dirençli GN bakterilere karşı en etkin antibiyotik grubu olan karbapenemlerin en yeni kuşağıdır. Doripenemin etki mekanizması ve spektrumu meropenem ve imipeneme benzemektedir (85). Bütün beta-laktam antibiyotikler gibi PBP'lere bağlanarak bakterinin hücre duvarı sentezlemesini engeller (86, 87).

Doripenem, etki spektrumu içindeki bakterilerin neden olduğu komplike ve dirençli üriner enfeksiyonların ve batın içi enfeksiyonların, yine dirençli hastane kökenli veya ventilatörle ilişkili pnömoni tedavisinde önerilmiştir (85).

2.3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Antibiyotiklerin uygunsuz, yaygın ve düzensiz kullanımının giderek artması, yoğun bakım ünitelerinde yatan ve immun sistemi baskılanmış hasta sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle bakterilerdeki antibiyotik direnci giderek artmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç probleminin yaygın olarak görüldüğü yerler antibiyotik kullanımının da daha yoğun olması sebebi ile hastanelerdir ve özellikle de hastanelerin yoğun bakımlarıdır. Ülkemizde hastanelerde en sık direnç problemi görülen bakteriler; *Acinetobacter spp.*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* ve enterokoklardır (88, 89). Bakterilerin antibiyotiklere direnci çeşitli sebeplere bağlı gelişmektedir.

2.3.1. İntrinsik Direnç (Doğal Direnç)

Bir bakterinin genetik özelliğine bağlı gelişen antibiyotiklere karşı doğal direncini tanımlar. Antibiyotik kullanılması ile direnç gelişim hızı arasında ilişki yoktur. Örneğin vankomisin molekülü dış membran porlarından geçmek için fazla büyük olduğundan dolayı peptidoglikan tabakaya ulaşamaz ve GN bakterilere etkisiz kalır (90).

2.3.2. Kazanılmış Direnç

Bakterinin genetik yapısındaki birtakım değişikliklerin oluşmasına; kromozom, transpozon veya plazmid DNA'sındaki mutasyonlarla ya da direnç geni taşıyan DNA dizilerinin başka bakterilerden tranformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon mekanizmasıyla aktarılmasına bağlı olarak gelişen dirençtir (90).

2.3.3. Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç

Antibiyotiklerin in vitro ve in vivo etkinliklerinin, çeşitli çevresel şartlara bağlı olarak farklılık göstermesine neden olan dirençtir. Enfeksiyon yerinin asit-baz dengesinin bozulması, enfeksiyon bölgesinin dolaşımının yetersiz olmasına bağlı antibiyotiğin enfeksiyon yerine ulaşamaması ve oksijen basıncı değişiklikleri gibi nedenlerle in vitro testlerde etkili olarak belirlenen antibiyotik in vivo koşullarda beklenen etkiyi göstermeyebilir (90, 91, 92).

2.4. Antibiyotiklere Genetik Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde genel olarak üç genetik mekanizma vardır.

2.4.1. Kromozomal genlerde mutasyon oluşması

DNA replikasyonu sırasında her gende mutasyon oluşabilmektedir. Çoğunlukla antibiyotiklerin bakteri hücreesindeki hedefleri, hücrenin üremesi ve devamı için yaşamsal önemi olan proteinlerdir. Direnç mutasyonları, antibiyotiğin hedefinden başka, bakteride düzenleyici genlerde de oluşabilmektedir. *Enterobacter spp.*'de kromozomal AmpC β -laktamaz üretiminin artışı bu dirence örnektir. Mutasyon ile oluşan direncin kalıcı olması bakterinin buna ne kadar dayanabildiğine bağlıdır. Eğer mutasyon ile gelişen direnç bakteriye zarar vermeden yüksek sıklıkta ortaya çıkıyorsa, o antibiyotik kullanıldığında kısa bir süre içinde direnç gözlenecektir.

2.4.2. Direnç genlerinin dışarıdan alınması

Direnç genlerinin duyarlı bakterilere geçişinde en sık gözlenen mekanizma konjugatif plazmidlerin geçişidir. Bu kromozom dışı replikatif DNA şekilleri, birçok geni kodlamaktadır. Bazı plazmidler konak açısından çok özgül olmasına karşın, bazıları birçok tür bakteriye girip replike olabilmektedir. Plazmidler arasında direnç genleri çoğunlukla transpozonlar tarafından taşınmaktadır. Bunlar direnç genlerini, bir plazmidden başka bir plazmide veya kromozoma ya da kromozomdan plazmide taşıyabilmektedir. Bazı transpozonlar bakteriden bakteriye de geçebilmektedir. Ancak bunlar çoğunlukla gram-Pozitif bakterilerde gözlenmektedir. İntegronlar direnç determinantlarının alınmasını ve ifadesini kolaylaştıran doğal rekombinasyon sistemleridir. Gram negatif bakterilerde, çoğunlukla plazmid ve transpozonlarda çok yaygın olarak bulunmakta ve özellikle sülfonamid ve streptomisine direncin yayılmasında önemli rol oynamaktadırlar. Çeşitli β -laktamazlar ve aminoglikozid değiştirici enzimlere ait genler integronlarda bulunmaktadır. İntegronların direnç genlerinin yayılımı ve ifadesi için önemli bir kapasiteleri olmalarına karşın gram negatif bakterilerde daha yaygın olan genlerin integronlardan çok transpozonlarda taşındığı gözlenmektedir.

2.4.3. Dışarıdan alınan genlerde mutasyon oluşması

Bu mekanizmaya en iyi örnek, gram negatif bakterilerde son yıllarda sayıları artmış olan GSBL enzimleridir. GSBL'lerin plazmid kontrolünde sentezlenen TEM-1 β -laktamazından 1-2 nokta mutasyonu sonucu türediği saptanmıştır (93).

2.5. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

β -laktam antibiyotiklerin etki gösterebilmeleri için dış zardan ve periplazmik aralıktan geçerek PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşması ve bağlanması gerekmektedir. Bakteriler bu basamakların her birinde direnç geliştirebilirler. Bakterilerde β -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 4 yolla gelişebilmektedir.

2.5.1. İlacın hedef bölgesindeki değişiklikler

Beta-laktam antibiyotiklerin hedef bölgesi olan PBP, membrana bağlı proteinlerdir. PBP'lerdeki değişiklikler; kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'nin beta-laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması veya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir (94, 95, 96). *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae*'da gözlenen penisilin direnci ve metisiline dirençli *S.aureus*'da gözlenen direnç PBP'lerdeki değişiklikler ile oluşmaktadır (96). Bu tür direnç, GN bakterilerde nadirdir.

2.5.2. Dış membran geçirgenliğinin bozulması

Hücre zarının geçirgenliğinin azalması gram negatif bakteriler için özellikle önem taşır. Bu bakterilerin membranları gram pozitif bakterilerin membranlarına nazaran daha komplike bir yapıya sahiptir. Gram negatif bakterilerde β -laktam antibiyotikler, dış membrandaki OMP adı verilen porlar yolu ile hücreye girmektedir. β -laktam antibiyotikler dış membrandan porin F ve porin C adı verilen başlıca iki kanal aracılığıyla geçerler. İmipenem dış membrandan ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak da geçer. Dolayısıyla bir gram negatif bakteri porin F ve porin C proteinlerini mutasyona uğratarak tüm β -laktamlara karşı direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalır. Öte yandan, özellikle *P.aeruginosa* ve *Enterobacter* suşlarında dış membrandan D2 proteinin kaYBolması bakteriyi imipeneme dirençli hale getirebilir. Ancak bu tipte direnç geliştiren

bakteri, diğ er β -laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştiremez (97). Porinlerin özellikleri ve sayıları ile antibiyotiğ in özellikleri (yük, çözü nür lük, büyü klük) hücre içine giriş hızını belirlemektedir (98). Çoğ u sefalosporin ve geniş spektrumlu penisilinler moleküler yapılarındaki uzun yan zincirler nedeniyle porinlerden nispeten yavaş geç erler. İ mipenem, diğ er β -laktam antibiyotiklere kıyasla daha kü çü k olduğ undan porinlerden daha hızlı bir geç iç göstermektedir. Geç irgenliğ in azalmasına bağ lı olan direnç enzimatik direnç ile birlikte ise yüksek düzeyde dirence yol açmaktadır. Bu tip direnç özellikle *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suş larında bildirilmiş tir (99). Genel olarak günümüzde dış membran geç irgenliğ inden ç ok gram negatif bakterilerde pompa mekanizmaları daha önemli kabul edilmektedir. Geç irgenliğ i bozulması ve pompa mekanizmaları genellikle birlikte ç alış maktadır (100).

2.5.3. Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi

Beta-laktam antibiyotiklere karşı en ç ok gözlenen direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden beta-laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluş maktadır. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir (101). Beta-laktamazlar GP türlerde doğ rudan dış ortama salınırken GN bakterilerde, dış membran ile stoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Bu nedenle GN bakterilerde beta-laktamazlara bağ lı direnç te sıklıkla antibiyotik geç irgenliğ i ile ilgili mekanizmalar da rol oynamaktadır (102). Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağ larını parç alayarak beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğ ini ortadan kaldıran enzimlerdir. Beta-laktamazlar yapısal olarak PBP'lere benzerler. Beta-laktamazlar; GP, GN ve anaerob bakteriler tarafından sentezlenir. GP bakteriler arasında beta laktamaz ü reten en önemli patojen stafilokoklardır. Anaeroblardan *Clostridium* ve *Fusobacterium*'ların beta-laktamazları esas olarak penisilini parç alırken, *Bacteroides*'ler tarafından ü retilen beta-laktamazlar ise sıklıkla sefalosporinaz etkinliğ i göstermektedir. GN bakteriler, daha ç ok sayıda beta-laktamaz ü retirler. Baş ta *Enterobacteriaceae* ü yeleri olmak üzere GN bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizma beta-laktamaz üretimidir (103).

2.5.4. Efluks pompası

Transport proteinlerinden oluş an efluks pompası da diğ er bir direnç mekanizmasıdır. Antimikrobiklere direnç te en aktif araş tırma alanlarından biri, bakteri hü cresinden bir veya

birden çok antibiyotik grubunu atan pompaların saptanması ve tanımlanmasıdır. Pompalar oldukça seçici olabilir veya geniş bir substrat özgüllüğü gösterebilir. Bu pompaların çoğunluğu sitoplazmik zar da bulunmaktadır (104,105). Bazı durumlarda değişik tipteki pompaların bir araya gelmesi, tek bir pompa ile oluşandan daha yüksek düzeyde bir dirence yol açabilmektedir (104,106)

2.6. Beta-Laktamazlar

β -laktam antibiyotiklerin β -laktam halkasının amid bağınyı parçalayarak antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlere β -laktamaz adı verilir. Bakteriler tarafından ya kromozomlar veya plazmidler ya da transpozon adı verilen transfer edilebilir genetik elemanlar aracılığıyla sentez edilirler.

Abraham ve Chain tarafından 1940'lı yıllarda penisilinazın bulunmasından sonra günümüze kadar 400'den fazla beta-laktamaz enzimi tespit edilmiş ve beta-laktamazların sayı ve çeşitlerindeki artış bu enzimlerin gruplandırılmasını gerekli hale getirmiştir (107, 108, 109). β -laktamazlar, hidrolitik etki spektrumlarına, inhibitörlere karşı duyarlılıklarına, aminoasit ve nükleotid dizilimine, kromozom veya plazmid aracılı olarak kodlanmalarına, biyokimyasal özelliklerine, izoelektrik noktalarına göre sınıflandırılmışlardır (110). Beta-laktamazların sınıflandırılmasında en çok Ambler ve Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmaları kullanılmaktadır. Beta-laktamazlar 1980 yılında Ambler tarafından moleküler yapılarına, enzimleri kodlayan aminoasit ve nükleotid dizilerine göre Sınıf A, B, C ve D olmak üzere 4 sınıfa ayrılmışlardır (111, 112, 113).

Sınıf A: Aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, öncelikle penisilinleri hidroliz eden beta-laktamazlardır. GN bakterilerde en sık bulunan TEM-1 enzimi bu gruba iyi bir örnektir.

Sınıf B: Aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metalloenzimlerdir.

Sınıf C: Aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, öncelikle sefalosporinazlardan oluşan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan enzimlerdir.

Sınıf D: Oksasilini hidroliz eden serin beta-laktamazlardır.

1995 yılında Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından geliştirilmiş olan ikinci sınıflandırma da beta-laktamazları fonksiyonel benzerliklerine göre sınıflandırmışlardır. Fonksiyonel sınıflandırmada kullanılan bazı kriterler, antimikrobiyal substrat profil spektrumu, enzim inhibisyon profili (β -laktamaz inhibitörlerine duyarlılık), enzimin net yükü, hidroliz oranı (V_{max}), bağlanma afinitesi (K_m), izoelektrik noktası, protein moleküler ağırlığı ve amino asit kompozisyonudur. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmasında 4 büyük grup ve çok sayıda alt grup bulunmaktadır (Tablo 6'da). Tablo 6'daki sınıflandırma klinik mikrobiyoloji laboratuvarında antibiyogram değerlendirmede üstünlük sağlarken, tek bir nokta mutasyonu ile substrat özgülüğünün değişebilmesi ise dezavantajdır. Beta-laktamazların nükleotid dizilenmesini esas alan Ambler sınıflaması ise mutasyonlardan etkilenmemektedir (108, 109, 114). Beta-laktamazların özellikleri, amino asit değişiklikleri ve yeni katılan enzimlerin tanıtılması www.lahey.org/studies web adresinden duyurulmaktadır (113,115). 2010 yılında güncellenen bu sınıflama Tablo 7'de verilmiştir. Metin içinde 1995 yılındaki sınıflandırma referans alınmıştır.

Bu grupların genel özellikleri; Grup 1'de klavulanik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlar yer alır. Grup 2'de beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan moleküler sınıf A ve D içinde enzimler yer alır. Grup 3'te EDTA dışındaki beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmayan metallo-beta-laktamazlar ve Grup 4'te ise klavulanik asit ile inhibe olmayan penisilinazlar bulunmaktadır (116).

Grup 1: Bu gruptaki serin β -laktamazların birçoğu kromozomal olarak kodlanan sefalosporinaz enzimleridir. Moleküler sınıflamada sınıf C'de yer alırlar. Kromozomal Amp C enzimleri yanında ayrıca plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BIL-1 gibi β -laktamazlar da bu grupta bulunmaktadır (110). Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler. Klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler, buna karşın aztreonam ve kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Karbapenem karşı da duyarlıdırlar. Grup 1 enzimlerini kodlayan genler plazmidlerde de görülebilmekte ve Enterobacteriaceae arasında transmisyon yoluyla aktarılabilmektedir.

Grup 2: Bu serin β -laktamazlar en geniş kategoriye oluşturmaktadır. Tüm moleküler sınıflandırmaya göre sınıf A ve D'de yer almaktadır. Bu β -laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize etmelerine göre alt gruplara ayrılır (117). Bunların en büyük grubu türler arasında kolayca yayılabilen genişlemiş spektrumlu β -laktamazlardır. Gram negatif bakterilerde β -laktam

antibiyotiklere karşı gelişen direnç büyük oranda plazmid kontrolündeki β -laktamazlara bağlıdır (118).

Grup 3: Metallo- β -laktamazlar. Moleküler sınıflandırmada sınıf B’de yer alan bu enzimler, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize ederler. Aktif merkezlerinde çinko içeren Grup 3 enzimler β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezken, EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) ile inaktive olurlar (119).

Grup 4: Bu grup klavulanik asitle inhibe olmayan penisilinazları içerir. Yapıları tam olarak saptanamamış olan bu enzimler henüz moleküler olarak sınıflandırılmamışlardır. *Burkholderia cepacia*’daki β -laktamazlar bu gruba dahildir (120).

Tablo 6. Beta-laktamazların sınıflandırılma şeması (52)

Grup	Moleküler sınıf	Tercih ettiği substrat	Klavulanat ile inhibisyon	Enzimler
1	C	Sefalosporinler	-	CMY-2-13, LAT-1, MOX-1-2, ACC-1, FOX-1-6, MIR-1, CFE-1, BIL-1
2a	A	Penisilinler	+	Stafilokok penisilinazı
2b	A	Sefalosporin, Penisilin	+	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Penisilinler, Geniş spektrumlu Sefalosporinler, Monobaktamlar	+	TEM-3, TEM-26, SHV-2-6, PER, CTX-M, VEB, GES, IBC-1e (GSBL)
2br	A	Penisilinler	+/-	İnhibitör dirençli TEM enzimleri TEM-30, TEM-36, TRC-1

Tablo 6. Beta-laktamazların sınıflandırılma şeması devamı (52).

Grup	Moleküler sınıf	Tercih ettiği substrat	Klavulanat ile inhibisyon	Enzimler
2c	A	Penisilinler, Karbonisilin	+	Karbesilini hidrolize eden enzimler, PSE-1-3-4, BRO-1,AER-1,SAR-1
2d	D	Penisilinler, Kloksasilin	+/-	Oksasilin ve Karbapenem hidrolize eden enzimler OXA-48, OXA-51
2e	A	Sefalosporinler	+	P. vulgaris'in indüklenebilir sefalosporinazları, CepA, FEC-1, L2
2f	A	Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler	+	NMC, SME, IMI, KPC, GES
3	B	Karbapenemler, Birçok beta-laktam	-	Çinko bağımlı karbapenemazlar; IMP, VIM, GIM.3a, 3b, 3c alt gruplarına ayrılır
4	-	Penisilinler	-	Dizileri bilinmeyen çeşitli enzimler

Tablo 7. Güncellenmiş β -laktamaz grupları ve genel özellikleri

Bush-Jacoby grubu (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros grubu (1995)	Moleküler sınıf (alt sınıf)	Ayrıcı substratlar	Sunlar ile inhibe olurlar	Tanımlayıcı özellikler	Tipik enzimler	
1	1	C	Sefalosporinler	KATZB H	EDTA H	Sefalosporinler benzilpenisilinlerden daha fazla hidrolize olur	<i>E. coli</i> Amp C, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	DE	C	Sefalosporinler	H	H	Seftazidime ve siddikle diğer oksimino- β -laktamların artmış hidrolizi	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penisilinler	E	H	Benzilpenisilinlerin sefalosporinlerden daha fazla hidrolizi	PC1
2b	2b	A	Penisilin, erken sefalosporinler	E	H	Benzilpenisilin ve sefalosporinlerin benzer hidrolizi	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	E	H	Oksimino- β -laktamların (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim, aztreonam) artmış hidrolizi	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penisilinler	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama direnç	TEM-30, SHV-10
2ber	DE	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama dirençle beraber oksimino- β -laktamların artmış hidrolizi	TEM-50
2c	2c	A	Karbenisilin	E	H	Karbenisilin artmış hidrolizi	PSE-1, CARB-3
2ce	DE	A	Karbenisilin, sefepim	E	H	Karbenisilin, sefepim ve sefparomun artmış hidrolizi	RTG-4
2d	2d	D	Kloksasilini	De	H	Kloksasilini ve oksasiline artmış hidrolizi	OXA-1, OXA-10
2de	DE	D	Geniş spektrumlu sefalosporin	V	H	Kloksasilini veya oksasiline ve oksimino- β -laktamları hidrolize eder	OXA-11, OXA-15
2df	DE	D	Karbapenemler	V	H	Kloksasilini veya oksasiline ve karbapenemleri hidrolize eder	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler	E	H	Sefalosporinleri hidrolize eder. Klavulanik asit ile inhibe olur ama aztreonam ile olmaz	CepA
2f	2f	A	Karbapenemler	De	H	Karbapenemler, oksimino- β -laktamlar ve sefamisülinin artmış hidrolizi	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B(B1)	Karbapenemler	H	E	Karbapenemleri içeren ancak monobaktamları içermeyen geniş spektrumlu hidroliz	IMP-1, VIM-1, CtrA, IND-1
3b	3	B(B2)	Karbapenemler	H	E	Karbapenem hidrolizine yatkınlık	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1, CphA, Sth-1
DE	4	Bilinmeyen					

KA: Klavulanik Asit, TZB: Tazobaktam, DE: Daha Edilmiştir, H: Hayır, E:Evet, De: Değişken

2.7. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler; geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliği, amfilik özellikleri nedeniyle bakteriyel membranlardan hızlı bir şekilde geçebilmeleri, AmpC ve GSBL enzimlerine karşı dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle özellikle çoklu dirençli GN bakteri infeksiyonlarında ilk sırada tercih edilen antibiyotik grubudur. Ancak, karbapenemlerin özellikle empirik tedavide yaygın olarak kullanılması, artmış karbapenem direnç oranlarıyla sonuçlanmıştır.

Karbapenemlere karşı bilinen 3 etki mekanizması ile direnç gelişebilmektedir.

2.7.1 İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması

2.7.1.1. Porin değişimleri

Bu, özellikle *P. aeruginosa* suşlarındaki temel direnç mekanizmasıdır. *P. aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı bu grup antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olmaktadır. OprD kaybı özellikle imipenem tedavisi sırasında gelişmektedir (121). *K. pneumoniae*'da ise porin kaybına bağlı ve plazmid aracılıklı AmpC beta-laktamazın (ACT-1) varlığıyla direnç oluşur (122). *Klebsiella spp.*'de porin kaybıyla birlikte SHV GSBL'leri ile ilişkili karbapenem direncine ait birkaç rapor da bildirilmiştir (123).

2.7.1.2. Aktif pompa sistemlerinin indüklenmesi

E. coli'de AcrA-AcrB-TolC, *K. pneumoniae*'da Ram A aktif pompalama sistemine örnektir.

2.7.1.2.1. Hedef PBP değişimleri

Tek başına nadir görülür ancak diğer mekanizmalar ile birlikte.

2.7.1.2.2. Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin (karbapenemazların) varlığı

Karbapenemazlar, karbapenem direnci ile sonuçlanan karbapenem hidrolize edici β -laktamazlardır (124, 125). Yani karbapenemazlar, en geniş spektrumlu antibakteriyel etkili beta-laktam grubundaki karbapenemlerden birini, en azından

imipenem veya meropenemden birini, ciddi şekilde hidrolize eden beta-laktamazlar şeklinde adlandırılır (123). Karbapenemazların çoğu yalnız karbapenem grubuna değil diğer antibiyotiklere karşı da etkilidirler. Bu sebeple sadece karbapenem grubu β -laktamaz ajanlara afinitesi diğer β -laktamlara göre daha fazla olan metalloenzimler “karbapenemaz” şeklinde isimlendirilmiştir. 1990’dan önce varlığı bilinen karbapenemi hidrolize uğratan enzimlerin tamamı kromozomal şekilde bilinmesine rağmen yakın zamanda Japonya’dan plazmid aracılıklı metallo- β -laktamazlar bildirilmiştir (124,125). Bu enzimler *B. fragilis*, *P. aeruginosa* ve en az bir kromozomal enzim üreten *S. marcescens* ve *K. pneumoniae* gibi Enterobacteriaceae ailesi üyelerinde gözlenmektedir (123). Günümüze dek bu karbapenem rezistans bakteriler ve bunlara bağlı plazmidlerin geçişi sınırlı kalmıştır. Yüksek düzey direnç, dış membran proteini D2’nin aynı anda kaybıyla ilişkilidir (126). Karbapenemazlar intrinsik (kromozomal) veya ekstrinsik (kazanılmış) olabilirler.

2.7.1.2.2.1. İntrensik (kromozomal) karbapenemazlar

Stenotrophomonas maltophilia, *Aeromonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Bacteroides fragilis* gibi bazı bakterilerde bulunmuş olup kromozom denetiminde olmaları sebebiyle meydana getirdikleri direnç çok yaygın olmamıştır. Karbapenemleri hidrolize uğratan beta-laktamaz genlerinin çoğunluğu kromozomal şekilde kodlanır. Bu durum bu enzimlerin yavaş yayılımını ve böylece karbapenemlere karşı beta-laktamaza bağlı direnç artışının yavaş gelişmesine yol açmıştır. Yine de direnç paternleri değişebilir. Yani son zamanlarda plazmid denetiminde olan karbapenemazların meydana çıkması artık bu durumu değiştirmeye başlamıştır. Özellikle *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.*’de ve daha nadir olarak *Klebsiella spp.* ve *Serratia marcescens*’de tespit edilmiş olan bu enzimler son yıllarda farklı ülkelerden artan sıklıkta bildirilmektedir (127,128).

Sınıf C beta-laktamazlar: Kromozomal AmpC enzimlerinin fazla üretiminin özellikle dış membran porin değişimleri ile birleştiğinde karbapenem direncine neden olması yüksek ihtimalle en çok bilinen karbapenem direnç mekanizmasıdır. Bu durum *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* gibi birçok türde gösterilmiştir.

2.7.1.2.2.2.Ekstrinsik (kazanılmış) karbapenemazlar

Kazanılmış karbapenemazlar karbapenemlerle birlikte diğer beta-laktam grubu antibiyotikleri de hidroliz edebilme özelliklerine sahiptirler. Ambler sınıf A, B ve D beta-laktamaz üyesidirler (129). Sınıf A karbapenemazları “*Serratia marcescens* enzyme” (SME), “not metalloenzyme carbapenemase” (NMC), “imipenem-hydrolyzing beta-lactamase” (IMI), “*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*” (KPC) ve GES enzimleri oluştururlar. Sınıf B karbapenemazları IPM, “*Verona integron–encoded metallo-beta-lactamase*” (VIM), “*German imipenemase*” (GIM), “Sao Paulo MBL” (SPM), SIM ve “New Delhi metallo-beta-laktamaz” (NDM 1) enzimleri, sınıf D karbapenemazları ise oksasiline hidroliz eden “Oxacillin-hydrolyzing”(OXA) enzimleri oluştururlar (130).

Sınıf A (Bush grup fonksiyonel 2f)’da yer alan karbapenem hidroliz eden enzimler; *E. cloacae*’nin IMI / NMC enzimleri, *S. marcescens*’in SME enzimi ve *K. pneumoniae*’nin KPC enzimi olmak üzere 3 üyeden oluşmaktadır (131). Bunlar, imipenem, meropenem, penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç gelişmesine neden olan ve tazobaktam başta olmak üzere beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimlerdir. Bu sınıfın 4. üyesi olan GES; beta laktamazları; başlangıçta bir GSBL ailesi şeklinde tanımlanırken, zamanla imipenemi zayıf olarak hidrolize ettiği fark edilmiş ve GES enziminin bu subgrubu fonksiyonel grup 2f karbapenemaz sınıfına dahil edilmiştir (130).

Sınıf B metalloenzimler: Sınıf B β -laktamazlar metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak da bilinirler. İlk MBL, IMP-1; 1991 yılında Japonya’dan bildirilmiştir (132). Takibinde, edinilmiş MBL’lerin ek grupları tespit edilmiştir; VIM, GIM, SPM ve SIM (133,134). Her MBL grubunda birkaç adet varyant mevcuttur (IMP-1-18, VIM-1-13, SPM-1, GIM-1). MBL geni transpoze edilebilir (aktarılabılır) bir eleman olan plazmid üzerinde yer alır. *K. pneumoniae*, çoğu geniş spektrumlu serin beta-laktamazın orijinal suşu olmasına rağmen MBL’ların Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyeleri arasında yayılımına katkısı olduğu görülmektedir (123).

Sınıf D oksasilineazlar: OXA-23-27

Karbapenemaz enzimlerinden bazılarının moleküler sınıf ve fonksiyonel gruplarına göre substrat, hidroliz ve inhibisyon profilleri Tablo 8 'de görülmektedir (130, 135, 136, 137, 138).

Tablo 8. Karbapenemazların substrat ve inhibisyon profilleri (130).

Moleküler sınıf	Fonksiyonel grup	Enzim	Hidroliz profilleri ^a				İnhibisyon profilleri ^b		
			Penisilinler	Darspek. SS	Geniş spek.SS	Aztreonam	Karbapenemler	EDTA	Klavulanik asit
A	2f	NMC	+	+	+	+	+	-	+
		IMI	+	+	+	+	+	-	+
		SME	+	+	±	+	+	-	+
		KPC	+	+	+	+	+	-	+
		GES	+	+	+	-	±	-	+
B	3	IPM	+	+	+	-	+	+	+
		VIM	+	+	+	-	+	+	+
		GIM	+	+	+	-	+	+	+
		SPM	+	+	+	-	+	+	+
D	2d	OXA	+	+	±	-	±	-	+

^aSembolleri: +;kuvvetli hidroliz ±;zayıf hidroliz -;hidroliz yok

^bSembolleri: +;inhibisyon mevcut ±;değişken inhibisyon -;inhibisyon yok

3 MATERYAL ve METOD

Çalışmaya; Mart 2014 - Mart 2015 tarihleri arasındaki bir yıllık süre içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri yoğun bakım ünitelerinden, enfeksiyon kontrol komitesi hemşireleri tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji kültür laboratuvarına gönderilen 462 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir.

3.1 Bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu

Tıbbi Mikrobiyoloji kültür laboratuvarına steril stuart taşıma besiyeri (BTR, Türkiye) içinde gönderilen rektal sürüntü örneklerinden bakteri izolasyon ve identifikasyonu üç aşamada gerçekleştirildi.

- 1. Aşama:** Bu yöntem için 1 L EMB agar (distile su ile hazırlanan) otoklavlandı. Agar 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra içerisine 2 mg/L ertapenem (Merck Sharp Dohme, Türkiye) eklendi ve petrilere 4 mm yükseklik olacak şekilde dökülerek donmaya bırakıldı. Steril stuart taşıma besiyeri (BTR, Türkiye) içinde gönderilen 2 mg/L ertapenem içeren EMB agar besiyerine (ertapenemli EMB besiyerine) seyreltme yöntemi ile ekildi.
- 2. Aşama:** Ertapenemli EMB agarda üreyen laktoz Pozitif bakteriler seçilerek normal (ertapenemsiz) EMB agara pasaj yapıp 37 °C'de bir gece inkübasyona bırakıldı.
- 3. Aşama:** Normal (ertapenemsiz) EMB agarda saflaştırılarak üreyen laktoz Pozitif bakteriler identifikasyon ve karbapenem direnci açısından Phoenix™ 100 (Becton-Dickinson, ABD) otomatize sisteme verilmiştir. Tam otomatize sistemde karbapenem dirençli olarak saptanan (*Klebsiella pneumoniae* / *Escherichia coli*) izolatları; GSBL, Modifiye Hodge Testi, Disk Difüzyon Testi (DDT) ve E-test çalışılmak üzere saklanmaya alınmıştır.

3.2 Suşların saklanması

Elde edilen suşlar çalışmamız için hedeflenen sayıya ulaşmaya kadar % 16 gliserollü buyyon içinde -80 °C'de saklanmıştır. Hedeflenen örnek sayısına ulaşıldığında EMB besiyerine tekrar ekim yapıp canlandırılmaları sağlanmıştır. İkinci

kez tekrar EMB besiyerine ekilerek taze ve saf suş elde edilmiş ve çalışmaya hazır hale getirilmiştir.

3.3 Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Saptanması

GSBL tarama ve doğrulama için; kombine disk metodu kullanıldı. Bu metotta sefotaksim (30 mcg) ve sefotaksim / klavulonat (30/10 mcg) içeren diskler disk difüzyon testi (DDT) ile Mueller Hinton agarda çalışılarak zon çaplarının karşılaştırılması yapıldı. Bunun için tam otomatize sistemde karbapenem dirençli olarak saptanan *Klebsiella pneumoniae* veya *Escherichia coli* izolatları 0,5 Mc Farland bulanıklığın da hazırlanan süspansiyonlar Mueller Hinton agar plaklarına (RTA) homojen olarak yayıldı. Sefotaksim (30 mcg) ve sefotaksim / klavulonat (30 / 10 mcg) içeren diskler aralarında en az 25 mm mesafe olacak şekilde yerleştirildi. Daha sonra bu plaklar 35 °C'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonlarını çapları ölçüldü. İnhibitör (klavulonat) eklenmiş taraftaki zon çapının inhibitörsüz olan çaptan >5 mm fazla olması GSBL (+) olarak tanımlandı.

3.4 Modifiye Hodge Testi

Modifiye Hodge testinde kullanılmak üzere imipeneme duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 standart suşu taze pasajlarından elde edilmiştir. 0,5 Mc Farland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonlar 1:10 sulandırılarak standart Mueller Hinton agar plaklarına homojen olarak disk difüzyon yönteminde olduğu gibi yayılmıştır. 15 dakika nemin emilmesi için beklenip plağın ortasına ertapenem (10µg) diski yerleştirilmiştir. Test edilecek olan bakterilerin EMB besiyerindeki taze kültürlerinden steril iğne öze yardımıyla bakteri kolonileri toplanmış ve ertapenem diskinin bir kenarından başlayarak besiyerinin periferine doğru çizgi şeklinde ekildi. Plaklar etüvde 35 °C'de 16–24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir. Test sonuçları ertapenem diskinin etrafındaki inhibisyon zonunun, test edilen mikroorganizmanın bulunduğu çizginin etrafında *E. coli* ATCC 25922 standart suşunun üremesi sonucu yonca yaprağı şeklini alması pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.5 Karbapenem Disk Difüzyon Testi

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril bir pamuklu eküvyon yardımıyla bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspansiyon edildi. Bu süspansiyon yine steril pamuklu eküvyon yardımıyla standart hazır Mueller-Hington agar plağı (RTA) üzerine yayıldı. Plakların kuruması beklendikten sonra üzerlerine ertapenem, meropenem ve doripenem emdirilmiş kâğıt disklerden (Bioanalyse / Türkiye) yerleştirildi. 35 °C'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. Elde edilen sonuçlar EUCAST 2014 / 2015 göre yorumlandı.

3.6 Gradyent Strip (E-Test)Test

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) dikkate alınarak hazır standart Mueller-Hinton agarda yapılmıştır. İnokulum disk difüzyon yöntemindeki gibi hazırlanmıştır.

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril bir pamuklu eküvyon yardımıyla bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspansiyon edildi. Bu süspansiyon yine steril pamuklu eküvyon yardımıyla standart hazır Mueller-Hington agar plağı (RTA) üzerine yayıldı. Plakların kuruması beklendikten sonra üzerlerine antibiyotik emdirilmiş şeritlerden gittikçe artan konsantrasyonlarda 0.002-32 (ertapenem, meropenem ve doripenem) (Biotests-EB test / Türkiye) yerleştirildi. 35 °C'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan her bir antibiyotik için MİK değeri belirlendi.

Gradyent strip test değerlendirilmesinde üremenin strip ile kesiştiği noktadaki, değerler arasındaysa bir üstteki MİK değeri okundu. Keskin sınır varlığında üremenin strip ile kesiştiği nokta, keskin sınır yokluğunda ise buğu şeklindeki üremeler ve mikrokoloniler dikkate alınarak okundu. Değerlendirmeler, iki farklı kişi tarafından çift-kör olarak yapıldı.

3.7 İstatiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) ile sunuldu. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Nitel bağımsız değişkenlerin gruplararası karşılaştırılmasında Chi-kare (χ^2) testi analizi kullanıldı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

$P > 0,05$ ise anlamsız (önemsiz)

$P \leq 0,05$ ise anlamlı

$P \leq 0,01$ ise çok anlamlı

$P \leq 0,001$ ise ileri derecede anlamlı

4 BULGULAR

Çalışmaya; Mart 2014 - Mart 2015 tarihleri arasındaki bir yıllık süre içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri yoğun bakım ünitelerinden, enfeksiyon kontrol komitesi hemşireleri tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji kültür laboratuvarına gönderilen 462 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir. 462 rektal sürüntü örneğinin 107'sinde (%23.16) Ertapenemli EMB besiyerinde üreme olmuştur. Ertapenemsiz (normal) EMB besiyerinde pasajlanıp saflaştırılan 107 örneğin; DDT yönteminde 83'ünde (Toplamda %17.96; 107'de %77.57), phoenix otomatize sisteminde 35'inde (toplamda %7.57; 107'de %32.71), referans yöntem olarak alınan gradiyent strip test yönteminde ise 49'unda (toplamda %10.60; 107'de %45.79) meropenem direnç saptanmıştır. Verilerimiz Tablo 9 ve 10'da gösterilmiştir. Gradiyent strip test meropenem KRE baz alınarak, diğer yöntemler arasındaki karşılaştırılmalı veriler (toplam 107 hasta üzerinden) Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 9. Tarama testi Ertapenemli EMB besiyerinde, DDT, phoenix ve gradiyent strip test yöntemlerinde KRE Pozitif ve Negatifliği

	KRE		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Ertapenemli EMB besiyerinde	107 (%23.2)	355 (%76.8)	462 (%100)
DDT yönteminde meropenem	83 (%18) (107'de %77.6)	379 (%82)	462 (%100)
Phoenix otomatize sisteminde meropenem	35 (%7.6) (107'de %32.7)	427 (%92.4)	462 (%100)
Gradiyent strip test yönteminde meropenem	49 (%10.6) (107'de %45.8)	413 (%92.4)	462 (%100)

Tablo 10. Gradyent strip test meropenem KRE ile diğer yöntemler arasındaki uyumluluk (Toplam 107 hasta üzerinden)

		Gradyent strip test meropenem KRE			
		Pozitif	Negatif	Toplam	P
Gradyent strip test ertapenem	Pozitif	*47 (%52)	44 (%48)	91 (%100)	0.004
	Negatif	2 (%12.5)	14 (%87.5)	16 (%100)	
Gradyent strip test doripenem	Pozitif	*48 (%60)	32 (%40)	80 (%100)	0.000
	Negatif	1 (%3.7)	26 (%96.3)	27 (%100)	
Phoenix ertapenem MİK	Pozitif	*49 (%49)	51 (%51)	100 (%100)	0.012
	Negatif	0 (%0)	7 (%100)	7 (%100)	
Phoenix meropenem MİK	Pozitif	*30 (%85.7)	5 (%14.3)	35 (%100)	0.000
	Negatif	19 (%26.4)	53 (%73.6)	72 (%100)	
Meropenem disk difüzyon	Pozitif	*49 (%59)	34 (%41)	83 (%100)	0.000
	Negatif	0 (%0)	24 (%100)	24 (%100)	
Doripenem disk difüzyon	Pozitif	*49 (%49)	51 (%51)	100 (%100)	0.012
	Negatif	0 (%0)	7 (%100)	7 (%100)	
Ertapenem disk difüzyon	Pozitif	49 (%46.2)	57 (%53.8)	106 (%100)	0.356
	Negatif	0 (%0)	1 (%100)	1 (%100)	

Gradyent strip test meropenem direnç varlığının cinsiyetler arasında Pozitif/Negatiflik oranları tablo 11’da verilmiştir.

Tablo 11. Gradyent strip test meropenem direnç varlığının cinsiyetler arasında Pozitif-Negatiflik oranları

	Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Bayan	21 (%10.2)	184 (%89.8)	205 (%100)
Erkek	28 (%10.9)	229 (%89.1)	257 (%100)
Toplam	49 (%10.6)	413 (%89.4)	462 (%100)

P=0.821

Gradyent strip test meropenem direnç varlığının yaşlar arasındaki Pozitif-Negatiflik oranları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12: Gradyent strip test meropenem direnç varlığının yaşlar arasındaki Pozitif-Negatiflik oranları.

	Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
	Pozitif	Negatif	
0-1 yaş	10 (%11.4)	78 (%88.6)	88 (%100)
2-18 yaş	5 (%6.8)	69 (%93.2)	74 (%100)
19-65 yaş	10 (%7.3)	127 (%92.7)	137 (%100)
66-106 yaş	24 (%14.7)	139 (%85.3)	163 (%100)
Toplam	49 (%10.6)	413 (%89.4)	462 (%100)

P=0.127

Tablo 13’de Gradyent strip test meropenem direnç varlığı ile yoğun bakımlar (YB’lar) arasındaki Pozitif-Negatiflik oranları verilmiştir

Tablo 13. Gradyent strip test meropenem direnç varlığı ile yoğun bakımlar (YB’lar) arasındaki ilişki

	Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Tıbbi Onkoloji YB	1 (%3.1)	31 (%96.9)	32 (%100)
Yenidoğan YB	7 (%13.5)	45 (%86.5)	52 (%100)
Dahiliye YB	9 (%15)	51 (%85)	60 (%100)
Göğüs Tbc YB	12 (%20)	48 (%80)	60 (%100)
Çocuk YB	5 (%6.7)	70 (%93.3)	75 (%100)
Genel Cerrahi YB	3 (%8.3)	33 (%91.7)	36 (%100)
Nefroloji YB	0 (%0)	2 (%100)	2 (%100)
Anestezi YB	4 (%9.1)	40 (%90.9)	44 (%100)
Kardiyoloji YB	2 (%7.1)	26 (%92.9)	28 (%100)
Çocuk Göğüs-Kalp YB	2 (%8.3)	22 (%91.7)	24 (%100)
Nöroloji YB	4 (%10.5)	34 (%89.5)	38 (%100)
Enfeksiyon Hastalıkları YB	0 (%0)	2 (%100)	2 (%100)
Hematoloji YB	0 (%0)	1 (%100)	1 (%100)
Kemik İliği Trans. Ünitesi YB	0 (%0)	7 (%100)	7 (%100)
Nöroşirürji	0 (%0)	1 (%100)	1 (%100)
Toplam	49 (%10.6)	413 (89.4)	462 (%100)

P=0.550

Tablo 14'te Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile Modifiye hodge testi (+)/(-) hasta oranları verilmiştir.

Tablo 14. Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile Modifiye hodge testi (+)/(-) hasta oranları

		Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Modifiye Hodge Testi	Pozitif	44 (%50.6)	43 (%49.4)	87 (%100)
	Negatif	5 (%25)	15 (%75)	20 (%100)
Toplam		49 (%45.8)	58 (%54.2)	107 (%100)

P=0.038

Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile GSBL Pozitif-Negatif oranları tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalar ile GSBL Pozitif-Negatif oranları

		Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
		Pozitif	Negatif	
GSBL	Pozitif	15 (%34.1)	29 (%65.9)	44 (%100)
	Negatif	34 (%54)	29 (%46)	63 (%100)
Toplam		49 (%45.8)	58 (%54.2)	107 (%100)

P=0.042

Tablo 16’da Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalardan izole edilen bakteri türlerin dağılımı verilmiştir.

Tablo 16. Gradyent strip test meropenem KRE (+)/(-) hastalardan izole edilen bakteri türlerin dağılımı

		Gradyent strip test meropenem KRE		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Bakteri türleri	<i>Klepsiella pneumoniae</i>	*45 (%51.1)	43 (%48.9)	88 (%100)
	<i>Escherichia coli</i>	4 (%22.2)	14 (%77.8)	18 (%100)
	<i>Klepsiella oxytoca</i>	0 (%0)	1 (%100)	1 (%100)
	Bakteri üremedi	0 (%0)	355 (%100)	355 (%100)
Toplam		49 (%10.6)	413 (%89.4)	462 (%100)

*P=0.000

5 TARTIŞMA

Antibiyotiklere dirençli hastane patojenlerinin yaygınlığının saptanması, etkili enfeksiyon kontrol stratejilerinin ve uygun antibiyotik kombinasyonlarının belirlenmesi açısından önemlidir. Örneğin vankomisine dirençli enterokokların kontrolü için; Gastrointestinal kolonizasyon tarama ile erken tespit edilmesi, vankomisin kullanımının azaltılması, enfeksiyon kontrol uygulamalarının birlikteliği önerilmektedir (139). Benzer şekilde GSBL üreten *Enterobacteriaceae* familyasının kontrolü için etkili kontrol stratejileri içinde gastrointestinal kolonizasyon taraması yer almaktadır (139, 140).

2000'li yıllardan itibaren karbapenemler dışında tüm sefalosporinlere dirençli kabul edilen GSBL üreten *E. coli* izolatlarının dünyada yaygınlaşması sonucu son seçenek olan karbapenemlerin korunması gerekliliği önem kazanmıştır. Gelecekte karbapenemaz üreten toplum kökenli *E. coli* ve hastane kökenli *K. pneumoniae* izolatlarının ciddi problem olacağı vurgusu otorite tarafından devamlı olarak yapılmaktadır. Bu nedenle karbapenem dirençli bakterilerin erken tanımlanması hastane salgınlarının önlenmesi açısından zorunlu kabul edilmektedir (141, 142). Karbapenem dirençli *enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonlar özellikle kritik hastalarda morbidite ve mortalitesi yüksek hastalıklardır. Karbapenem dirençli izolatlar genellikle sadece β -laktam antibiyotiklere değil aynı zamanda diğer sınıf antibiyotiklerde dirençli etkenlerdir (142, 143, 144). Bu da karbapenem dirençli patojenler ile kolonize hastaların saptanıp, yaygınlaşmasını önlemek için de izole edilmesi gerekliliğini arttırmaktadır.

Bakterilerde karbapenem direnci çeşitli mekanizmalarla oluşmaktadır. Ana mekanizması karbapenemleri hidrolize eden üç farklı sınıf β -laktamazlardır. Karbapenem direnci bakteride plazmid aracılı AmpC β -laktamazlarla birlikte porin kaybı mutasyonlarına bağlı dış membran geçirgenliğinin azalması sonucu da ortaya çıkmaktadır. Moleküler çalışmalar bu çoklu dirençli etkenlerin klonal yayılım ve horizontal plazmid aracılı transfer yoluyla yaygınlaştıklarını göstermiştir (145).

KRE'nin yayılımını kontrol altına almak için önleyici tedbirler gereklidir. Bu amaç doğrultusunda yoğun bakım ünitelerinde alınan 462 hastanın rektal sürüntü örnekleri KRE tespiti için taranmıştır. Ertapenem ilaveli EMB besiyerlerine ekilen

örneklerin %23.2’de (n=107) üreme olmuştur. Doğrulama testi olarak uyguladığımız gradient meropenem testinde 107 izolatın %45.8’nin (n=49) karbapenem dirençli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla 462 örneğimizin %10.6’sında KRE Pozitifliği saptanmıştır. Ülkemizde bu konuyla ilgili 2011 yılında Hacettepe Tıp Fakültesinde yapılan tez çalışması vardır. Toplam 43.312 erişkin hastadan alınan perianal kültürlerin %0.316’da (n=137) karbapenem dirençli gr (-) basıl üremiştir. Çalışmada sürveyans kapsamına erişkin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, iç hastalıkları servislerindeki nütropenik hastalar, kemik iliği ve solid organ nakli yapılan hastalar alınmıştır. 137 izolatın 77’si yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen karbapenem dirençli bakteriler olmuştur (%56.20) (146).

Erciyes üniversitesinde yapılan bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan alınan 801 rektal sürüntü örneğinin 33’ünde (%4.11) KRE saptadıkları bildirilmiştir (147). Ülkemizde bu konuda yapılmış fazla çalışma yoktur.

Yurt dışında, Newyork’da 2005 yılında yapılan bir çalışmada 10 yataklı cerrahi yoğun bakım kliniklerinden 51 hastadan aldıkları rektal sürüntü örneklerinin 8’inde (%15.6) KRE saptamışlardır (139). Amerika’nın Chicago kentinde 2012 yılında iki ayrı üniversite hastanesinde yatan 95 hastadan alınan rektal sürüntü örnekleri çalışılmış ve örneklerin 64’ünde (%67.36) KRE varlığı genotipik yöntemlerle doğrulanmıştır (148).Yine Chicago’da 2010’da yapılan bir çalışmada da 149 örneğin 33’ünde (%22.14) KRE saptanmıştır (149) .

Karbapenem direncinin yaygın olduğu Yunanistan’da 2012 yılı bir çalışmada kolonizasyon açısından riskli hasta gruplarından alınan rektal sürüntü örneklerinin 73’de (%36.5 n=200) KRE suşu fenotipik ve genotipik olarak doğrulanmıştır (150). Yunanistan’da yapılan diğer bir çalışmada; 2010-2012 yılları arasında yüksek riskli 189 hastadan rektal sürüntü örneği alınmış ve 189 örneğin 97’sinde (%51.3) KRE identifiye edilmiştir (151). Karbapenem dirençli bakterilerin zamana paralel olarak artış gösterdiği görülmektedir. Çalışmamızda yüksek riskli gruplar için saptadığımız %10.6 oranı saptanabilen sınırlar içinde olup salgın oluşturma riski açısından önemlidir.

İngiltere’de hematoloji kliniğinde yapılan iki yıllık bir tarama çalışmasında 392 hastanın rektal sürüntü örneklerinin 20’sinde çoğul dirençli, 6’sında (%1.53) KRE

tanımlanmışlardır. Hematoloji kliniğinin 20 yataklı olup 16 yatakla hizmet verdiklerini, tüm alanlarda hepa filitre bulunduğunu ve her odanın kendi içinde lavabo-banyo bulunduğu, tüm koğuşların personel tarafından düzenli temizliğinin yapıldığını belirtmişlerdir (152).

İspanya'da 1100 fekal örnek KRE açısından farklı iki peryotta test edilmiştir. 2006 yılında 600 örnek, 2009-2010 yılları arasında 500 örnek çalışılmıştır. Bu örneklerin %26.8'i hastanede yatan; %73.2'si ise ayaktan tedavi gören hastalardan alınan örneklerden oluşmuştur. Hastanede yatan hastalardan alınan örneklerin 11'inde ayaktan hastalardan alınan fekal örneklerin 3'ünde olmak üzere toplam 14 örnekte (%1.27) KRE saptandığı bildirilmiştir. Araştırmacılar KRE'nin ülkelerinde güney Avrupa ülkelerine örneğin Yunanistan ve İtalya'ya göre daha düşük olduğunu ancak artış gösterme eğiliminde olduğunu, sıkı sürveyans programı yürüttüklerini de bildirmişlerdir (153).

CDC tarafından yayımlanan izolasyon önlemleri klavuzunda (2009) epidemiyolojik önem taşıyan çoğul direçli bakterilerle kolonize veya infekte hastaların temas izolasyonuna alınması önerilmektedir. KRE üyeleri için gasrointestinal bölge önemli bir rezervuardır. Enfeksiyonların önlenmesi programları içerisinde rektal sürüntüden ya da dışkıdan sürveyans kültürleri önerilmektedir (154).

Karbapenem dirençli mikroorganizmaların kolonizasyona/infeksiyona yönelik risk faktörlerini araştıran çeşitli çalışmalar vardır (155).

Çalışmalarda antibiyotik kullanımının seleksiyonu için önemli bir belirleyici olduğu vurgulanırken; ağır hastalarda sık invaziv girişimlerin; örneğin santral venöz kateter takılması, nazogastrik tüp takılması, direnaj kateteri vb. uygulamaların bağımsız risk faktörleri olduğu bildirilmektedir. Özellikle invaziv girişim uygulanan hastalar, sağlık personelinin bakım veya tedavi vermek amacıyla çok sık temas ettiği hastalardır. Başta temas öncesinde el hijyeni olmak üzere, enfeksiyon kontrol önlemlerine yeterince uyulmaması nedeniyle bu hastalara karbapenem dirençli bakterilerin daha kolay bulaştığı ve bu değişkenlerin bağımsız risk faktörü olduğu ifade edilmektedir (146, 155). Hastanemizdeki yoğun bakım ünitelerinde %10.6'lık KRE oranı gerekli önlemler alınmazsa enfeksiyon açısından önemli bir risktir. Karbapenem dirençli *E. coli* veya *K.*

pneumoniae ile kolonizasyon/enfeksiyona yatkınlık yarattığı sonucuna varılması mümkündür.

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'nin çok yaygın olduğu New York'taki bir üniversite hastanesinin 10 yataklı yoğun bakım ünitesinde bu bakterilere yönelik enfeksiyon kontrol programı başlatılmış, program öncesi ve sonrasında saptanan olgu sayısında anlamlı derecede azalma olduğu gözlenmiştir. Program öncesi dönem yeni vaka sayısı 977/1000 hasta günü, program uygulandıktan sonra yeni vaka sayısı 3.7/1000 hasta günü $p < 0.001$ olarak verilmiştir (139).

KRE' nin laboratuvarlarda doğru olarak tanımlanması, önlenmesi için de en önemli adımdır. KRE kolonizasyonunun taranması için ideal anatomik alan rektal ve perianal kültürler olup daha güvenilirdir (156). Çalışmamızda özellikle CDC'nin önerileri doğrultusunda rektal sürüntü örnekleriyle çalışılmıştır (154).

Rektal sürüntü örneklerinden direk ekim üzerine ertapenem diski yöntemi, ertapenem içeren triptik soy buyyonda zenginleştirme, ertapenemli EMB besiyeri, imipenemli besiyeri veya imipenem diski, CHROM agar KPC gibi tarama yöntemler kullanılmaktadır (147).

Karbapenem dirençli suşların fenotipik tanımlama tespitinde; broth mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleri, disk difüzyon, gradiyent strip test ve otomatize sistemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada en duyarlı sonuçların %94-97 oranında dilüsyon yöntemleri ile elde edildiği bildirilmiştir. Gradyent strip testin duyarlılığı %58-90, otomatize sistemler ise %48-98 olarak değerlendirilmiştir. Otomatize sistemler arasında da farklılıklar bulunmaktadır (157, 158).

Çalışmamızda rektal sürüntü örnekleri 2 mg/L ertapenem içeren EMB besiyerine ekilmiştir. Ertapenemli besiyerinde üreyen gr (-), laktoz (+) bakterilerin tanımlanması ve karbapenem direnci Phoenix TM ve ayrıca DDT, Gradyent strip test ile çalışılmıştır. DDT ile 107 suşun;106'sında (%99.06) ertapeneme, 83'ünde (%77.57) meropeneme ve 100 suшта doripeneme (%93.45) direnç saptanmıştır. Tarama testinden sonra DDT uygulayan tez çalışması dışında araştırmaya rastlamadık. Çalışmalarda tarama testinden sonra karbapenem direnci; çift disk sinerji yöntemi, gradiyent strip test, otomatize test

ve PCR yöntemleri ile çalışılmıştır (147). İstanbul Bilim Üniversitesi'nde 2014 yılında bir tez çalışmasında DDT ile ertapeneme 43 suş'un tamamında, meropeneme %95.3, imipeneme de %83.7 oranında direnç saptanmıştır (157). Sonuçlarımız birbirine yakın değerlerdir. Genel olarak karbapenem disk difüzyon zon çapları KRE saptanmasında daha az hassastır. Örneğin meropenem için ≤ 23 mm zon çapının hassasiyeti %84 iken; 0.5 mg/l 'lik MİK değerinin hassasiyeti ise %100 olarak verilmektedir (160). Disk zon çaplarının eşik değerlerinin yükseltilmesinin de yüksek düzeyde yanlış pozitifliklere yol açabileceği bildirilmektedir (159).

Tarama testi olarak ertapenem, sensitivitesinin yüksek olması açısından önerilmekte ancak imipenem ve meropenem ile karşılaştırıldığında spesifikliğin daha düşük olduğu vurgulanmaktadır. Ertapenemin daha az spesifikliğin nedeni AmpC/GSBL'ye sahip ve geçirgenliği azalmış izolatlar için ertapeneme daha yüksek MİK değerleri gerekli olması gösterilmektedir (160, 161). Örneğin; Yunanistan'da toplam 189 rektal sürüntü örneğinde 10 mg'lık ertapenem diski, meropenem kombine disk metodu (meropenem + PBA, meropenem + EDTA, meropenem + EDTA + PBA) ve PCR metodu uygulayıp karşılaştırmışlardır. Üç testin spesifikliğini ertapenem diski, meropenem kombine disk ve PCR için sırasıyla %98.9, %100 ve %100 olarak vermişlerdir. Sensitivite olarak da sırasıyla %96.9, %94.8 ve %94.8 olarak bildirmektedirler (151). Nitekim çalışmamızda fenotipik referans testlerden biri olarak önerilen; gradiyent strip testte de ertapenemli EMB besiyerinde üreyen 107 adet laktoz (+) bakterilerin 49'u (%45.79) meropenem dirençli bulunmuştur.

Erciyes üniversitesinde 801 rektal sürüntü örneği 2 mg/L ertapenem içeren EMB besiyerine ekilmiş olup bu besiyerinden izole edilen 33 (%4.11) suşa gradiyent strip test ve PCR çalışılmıştır. Gradyent strip test ile 19 (%2.37) suşta meropenem ve doripenem direnci saptanmış, PCR ile de 20 (%2.49) suşta KRE varlığı doğrulanmıştır. Çoğu antibiyotikler gibi karbapenemlerde uzun süre beklenildiğinde etkinliğini yitirmekte bu nedenle yanlış pozitifliklere neden olmaktadır. Karbapenemli besiyerlerinin 48 saatten fazla bir süre bekletilmesi önerilmemektedir (147).

Herbir tür izolatin herbir sınıf karbapenemaz için ve diğer direnç mekanizmalarının varlığına bağlı olarak MİK değerlerinin farklı olabileceği bildirilmektedir (160). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda örneğin OX-48/OXA-181

üreten izolatlara GSBL'nin eşlik etmediği gösterilmiştir (140). Genel görüş karbapenem direnci açısından karbapenem hassasiyetinde hafif bir düşüş görülen izolatların karbapenemaz üretimi açısından araştırılmasıdır (162, 163, 164). Ayrıca deneysel bir çalışmada OXA-48 izolatı ile enfekte edilen farelerin, düşük MİK değerlerine rağmen tedavi edilemedikleri bildirilmektedir (165). Yapılan çalışmalar ve klinik deneyimler ertapenem için ≥ 0.5 mg/l ve imipenem ve meropenem için ≥ 1 mg/l MİK değerleri karbapenemaz şüphesi açısından değerlendirilmelidir (165).

Ertapenem'in spesifikliğinin düşüklüğü, imipenemin de bazı enterobakteriyel türlerde farklılık göstermesi nedeniyle meropenem MİK değerlerinin KRE saptanmasında kullanılması önerilmektedir. Moleküler olmayan hiçbir testin spesifik ve sensitivitesi %100 değildir. Karbapenemaz şüpheli bakteriler hangi yöntemle izole edilirlerse edilsin tüm suşlara doğrulama yapılmalıdır, birkaç testle desteklenmelidir. Karbapenem dirençli bakterilerin tanımlanmasında fenotipik tarama, fenotipik doğrulama testleri ve genotipik testler bulunmaktadır. Her testin diğerine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur (165). Çalışmamızda gradiyent strip teste 107 izolatın; 49'u (%45.79) meropeneme, 91'i (%85.04) ertapeneme, 80'i (%74.76) doripeneme dirençli saptanmıştır. Bu direnç oranları meropenem ile karşılaştırıldığında; p değerleri ertapenem için 0.004 ve doripenem için 0.000 olarak bulunmuş olup her ikisi de meropenem'deki Pozitiflik uygunluğu açısından anlamlıdır.

İstanbul Bilim Üniversitesi tez çalışmasında klinik materyaller ve rektal sürüntülerden izole edilmiş ve PCR ile KRE olduğu doğrulanmış 43 izolatın, gradiyent strip testi ile 42'sinde (%97.67) ertapeneme, 39'uda (%90.69) meropeneme direnç saptanmışlardır. Türkiye'de çok merkezli yapılan bir çalışmada 596 klinik izolatın gradiyent strip testi ile doripenem, meropenem ve imipenem için MİK değerleri belirlenmiştir. İzolatlardan 188'i (% 31.54) en az bir karbapeneme dirençli bulunmuştur. Enterobacteriaceae'ya karşı meropenem imipenem ile eşit ya da daha duyarlı bulunurken, doripenem meropenem ile benzer duyarlılık göstermiş olup imipenemden daha aktif olduğu belirtilmiştir (157, 166). Çalışmamız da benzer sonuçlar elde edilmiş olup imipenem MİK çalışılmamıştır.

Otomatik sistemlerin tüm karbapenemaz üretim tiplerini tespit edemediği çelişki oluşturduğu bildirilmektedir. CLSI (USA) karbapenemlerin dirençli suşlarını

kaçırmamak için sınır eşik değeri düşürmüştür. Ertapenemin karbapenemaz üretimi teşhisinde en duyarlı molekül olduğu belirtiliyor ve MİK değeri genellikle diğer karbapenemlerden daha yüksektir. Bununla birlikte Ertapenem'in spesifikliğinin düşük olması dezavantajdır (140). Çalışmamızda phoenix otomatize sistemi ile 107 izolatın; 100'ü (%93.45) ertapenem'e ve 35'i (%32,71) de meropenem'e dirençli bulunmuştur. Bu direnç oranları gradiyent strip testte meropenem direnci ile karşılaştırıldığında; p değerleri ertapenem için 0.012 ve meropenem için 0.000 bulunmuş olup her ikisi de anlamlıdır. Bilim üniversitesi tez çalışmasında 43 KRE suşunun; Otomatize sistem ile meropeneme %90.7 ertapenemde %100 direnç saptanmıştır (157).

Phoenix, vitek ve micro scan otomatize sistemler karbapenem hassasiyeti için meropenem içeren panelleri tercih ederler. Panellerdeki en düşük konsantrasyonun meropenem için 0.25 mg/l ve imipenem için 1 mg/l olması önerilir. Ertapenem kullanılması durumunda en düşük MİK değerinin 0.25 mg/l olması önerilmektedir (160). EUCAST'a göre MİK değeri 0.5, 1 ve 2 mg/l meropenem için duyarlı; 2 mg/l imipenem için duyarlıdır. Ancak yine de karbapenemaz gen çalışması önerilmektedir. Otomatize sistemlerin verdiği dirençli MİK değerlerinin meropenem ve imipenem gradiyent strip testi ile doğrulanması önerilmektedir (160). Ancak çalışmamızda ve diğer çalışmalar da görüldüğü gibi çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Örneğin meropenem MİK dirençli 14 suş otomotize sistemde duyarlı görülmektedir. Karbapenem direnç tesbiti ile ilgili fenotipik standart bir metot bulunmadığı ayrıca henüz ortaya konulamamış direnç mekanizmalarının ve karbapenemazların olduğu üzerinde durulmaktadır. Doğrulama için moleküler yöntemler önerilmekte olup buda mevcut gen dizileri için geçerli olmaktadır (140, 142, 160).

İngiltere'de 2010 yılında yapılmış bir çalışmada phoenix, vitek, Micro scan semens ve Microscan UK otomatize sistemleri karbapenem direnci saptamada duyarlılıkları açısından karşılaştırılmışlardır (167). Bir referans laboratuvarında genotip olarak doğrulanmış KRE dirençli toplam 55 suş çalışılmış otomatize sistemlerin sensitivite / spesifite sırasıyla BD phoenix %100 / %0, Microscan %82 ile 85 / %6 ile 19, vitek %74 / %38 olarak saptanmıştır. Bakterilerin 19'u nonmetalloenzimli KRE, 20'si metalloenzimli KRE ve 16'sı karbapenemaz enzimi olmaksızın GSBL porin kaybı birlikteliği ve AmpC ve/veya GSBL + porin kaybı mekanizması mevcut

Enterobacteracea suşu ile çalışılmıştır. Phoenix, suşların hepsini karbapenemaz enzim Pozitif olarak verirken GSBL, porin kaybı ve/veya AmpC geni uyarımı vermemiştir. Dolayısıyla sensitivitesi %100 değerlendirilirken spesifikliği %0 olarak verilmiştir. Vitek-2, 55 suştan sadece 39 suşu KRE olarak bildirmişken sensitiviteyi %74 spesifikliği ise %38 olarak saptanmıştır. Microscan sistemle 45 suş KRE olarak tespit edilmiştir. Karbapenem direnci saptamada tüm sistemlerin özellikle metaloenzimleri saptamada güvenilir olduğu ancak mutlaka sistemlerin uyarı (bayrak) işaretlerine dikkat edilmesi gerektiği vurgusu yapılmaktadır. Uyarılar doğrultusunda gerekli doğrulama testlerinin yapılması önerilmektedir (167).

Fenotipik doğrulama testleri arasında modifiye Hodge testi de bulunmaktadır. Ancak GSBL suşlarında yanlış pozitif sonuçlar bildirilmiştir (141,147). Köseoğlu ve arkadaşlarının çalışmalarında karbapenemaz geni pozitif yedi izolattan sadece birinde MHT'nin pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. MHT'nin yanlış pozitif ve/veya negatif sonuç vermesi özellikle fenotipik AmpC varlığı ve bla-GSBL, bla-AmpC gen pozitifliği gibi farklı direnç mekanizmalarının olabileceğine bağlanmıştır (141). Bu nedenle artık doğrulama testi olarak MHT önerilmemektedir (160). Çalışmamızda MHT uyguladığımız 107 örneğin 87 tanesi (%81,30) pozitif olarak saptanmış olup, bunlarından 44 suşta (%41.12) aynı zamanda gradiyent strip test ile meropenem direnci mevcuttur, (p=0.038).

Çalışmamızda 107 örnekten gradiyent strip test ile meropenem direnci saptadığımız 49 (%45.79) suşun, 15'inde (%30.61) aynı zamanda GSBL pozitifliği saptanmıştır, (p=0.042, tablo 13). İstatistiksel olarak anlamsız olmakla beraber çoğul dirençli Enterobacteracea kolonizasyonu infeksiyon açısından risk oluşturmaktadır. Baykal ve arkadaşları yaptığı çalışmada 70 GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşundan birinde ertapenem direnci saptamışlardır (168). Terzi ve arkadaşları 2013 yılı çalışmalarında çoğunu yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta materyallerinden izole ettikleri 71 GSBL (+) *Klebsiella spp.* suşlarından 15'nin (%21.12) karbapenem dirençli olduğunu bildirmişlerdir (169). Eser ve arkadaşları 2014 yılı çalışmalarında GSBL (+) 210 izolattın 23'ünde (%10.95) karbapenem direnci saptamışlardır (141). 2009 yılı çalışmalarında Yılmaz ve arkadaşları klinik materyallerden izole edilen 390 GSBL (+) *K. pneumoniae* / *E. coli* suşunun 22'sinde (%5.64) karbapenem direnci bildirilmiştir

(170). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada KPC-2 ile birlikte GSBL enzimleri tespit edilmiştir (168). Bu suşların kontrol altına alınması açısından izlenmesi önerilmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde çoklu antibiyotik kullanımına paralel olarak artış gösteren çoklu antibiyotiklere dirençli bakterilerle kolonizasyon /enfeksiyon riski artmaktadır.

Enterobacteriaceae üyeleri hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumludur. Bu grup içinde karbapenem direnci son 10 yılda gittikçe artmaktadır. Amerikan yıllık raporlardan birinde klinik izolatlardan *K. pneumoniae*'da karbapenem direncinin 2004' te %0.6'dan 2008'de %5.6'ya çıktığını bildirmiştir (156). 2001 yılında birçok bölgede özellikle KPC enzim varlığına bağlı olarak *K. pneumoniae*'nın karbapenem dirençli suşlarında artış olduğu bildirilmektedir (139, 156). Hacettepe üniversitesinde yapılan tez çalışmasında sürveyans kültürlerinin 100'ünde karbapenem dirençli *K. pneumoniae*, 37'sinde *E. coli* izole etmişlerdir (146, 155). Bizim sonuçlarımızda da 107 KRE örneğinin, 45'inde (%42.05) *K. pneumoniae*, 4'ünde de (%3.73) *E. coli* suşu izole edilmiştir (p=0.000). Enterobacteriaceae içinde karbapenem üreten en yaygın bakteri *K. pneumoniae* karbapenemazlarıdır (148). Chicago hastanesinde alınan 95 rektal sürüntü örneğinin 66'sında (%69.47) karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'da bulunan KPC genleri dirençten sorumlu genler olup dünyada özellikle hastanede yatan hastalar arasında hızlı bir şekilde yayılmaktadır (148). OXA-48 karbapenem pozitif *K. pneumoniae* suşuda ilk defa Türkiye'den İstanbul'da bir üniversite hastanesinde salgından bildirilmiştir (171).

Çalışmamızda sadece yoğun bakım ünitelerine yatan hastalardan toplamda 462 örnek alınmıştır. Örneklerin 257'si erkek, 205'i ise bayan hastalardan alınmış olup gradient strip test meropeneme göre KRE (+)'liğinde cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark (p=0.821) görülmemiştir. KRE pozitifliği bayanların 21'de (%10.2) erkeklerin 28'inde (%10.9) saptanmıştır (Tablo 10). Hastaların yaş aralığı 0-106 olup yaş grupları arasında KRE pozitifliği açısından da anlamlı bir fark yoktur (P=0.127). Fakat KRE pozitifliği en fazla 66-106 (%14.7) yaş aralığındaki hastalarda saptanmıştır. Diğer bir tez çalışmasında (Bilim Üniv.) karbapenem dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonu olan hastalarda bağımsız risk faktörleri araştırılmış ve yoğun bakım hastalarının çoklu ilaç kullanımı, invaziv girişimler, immün supresyon, transplantasyon ve bunlar içinde yaş bağımsız faktörler olarak değerlendirilmiştir (156, 157, 172).

KRE pozitifliği ile yoğun bakım üniteleri arasındaki ilişkiyi değerlendirdiğimizde(Tablo13); üniteler arasında anlamlı bir fark görülmezken (P=0.550) 49 KRE Pozitifliği içinde Göğüs-Tbc yoğun bakım 12 (%20), dâhiliye yoğun bakım 9 (%15) ve yenidoğan yoğun bakım 7 (%13.5) ile ilk üç sırayı almıştır. Bilim üniversitesi tez çalışmasında klinik örneklerden 43 suşun; 14'ü (%32.5) cerrahi yoğun bakım, 13'ü (%30.2) dâhili yoğun bakım ilk iki sırada yer almıştır. Hacettepe Üniversitesi'nde Cinel M.'nin tez çalışmasında da 130 örneğin; 35'i (%26.9) nöroloji yoğun bakım, 19'u (%14.6) genel cerrahi yoğun bakım ilk iki sırayı almıştır (155). Çalışmalar özellikle mevcut hastaların klinik durumlarına göre değişiklik gösterebiliyor; ilerlemiş yaş altta yatan immüsupresyon, mekanik ventilasyon hastanede kalış süresi, organ transplantasyonu gibi (172). Ankara Hacettepe Üniversitesi 2011 yılı bir tez çalışmasında dahiliye yoğun bakım, nöroloji yoğun bakım servislerinde yatmış olmanın KRE ile infeksiyon/kolonizasyon riskini 1-3 kat artırdığı bildirmiştir (155).

6 SONUÇ

-KRE tarama amaçlı, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalara ait 462 rektal sürüntü örneğın 107'sinde(%23,2) ertapenemli besiyerinde gram negatif basil üremiştir.

-Gram ve laktoz negatif izolatlar; Phoenix otomatize sisteminde tanımlanmış ve MİK değerleri belirlenmiştir. *K. pneumoniae* (n=88), *E. coli* (18) ve *K. oxytoca* (n=1) olarak saptanan izolatların 35'inde (toplamda %7.6; 107'de %32.7; 49'da %71.42) karbapenem direnci saptanmıştır.

- DDT ile 107 izolatların 83'ünde (Toplamda %18; 107'de %77.6), meropenem direnç saptandı

-Fenotipik doğrulama testi olarak kullandığımız meropenem gradiyent strip test sonucunda 107 izolatın 49'una (%45.8) direnç saptanmıştır. Hastanemizde 462'örnekte KRE oranımız %10.6 bulunmuştur.

- 49 (%45.79) suşun, 15'inde (%30.61) aynı zamanda GSBL pozitifliği saptanmıştır (p=0.042). İstatistiksel olarak anlamsız olmakla beraber çoğul dirençli Enterobactercea kolonizasyonu infeksiyon açısından risk oluşturmaktadır.

-MHT uyguladığımız 107 örneğın 87 tanesi (%81.30) pozitif olarak saptanmış olup, bunların 44 'ünde (%41.12) gradiyent strip test ile meropenem direnci mevcuttur (p=0.038).

- Örneklerin 257'si erkek, 205'i ise bayan hastalardan alınmış olup gradiyent strip test meropenem göre KRE (+)'liğinde cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark (p=0.821) görülmemiştir.

- Hastaların yaş aralığı 0-106 olup yaş grubları arasında KRE pozitifliği açısından da anlamlı bir fark yoktur (P=0.127). Fakat KRE pozitifliği en fazla 66-106 (%14.7) yaş aralığındaki hastalarda saptanmıştır.

- Yoğun bakım üniteleri arasında KRE pozitifliği açısından anlamlı bir fark görülmezken (P=0.550) 49 KRE pozitifliği içinde, Göğüs-tbc yoğun bakım 12 (%20),

dahiliye yoğun bakım 9 (%15) ve yenidoğan yoğun bakım 7 (%13.5) ile ilk üç sırayı almıştır.

-Gradyent strip test meropenem KRE baz alındığında bu test ile; Gradyent strip test ertapenem P=0.004, Gradyent strip test doripenem P=0.000, Phoenix ertapenem MİK P=0.012, Phoenix meropenem MİK P=0.000, Meropenem disk difüzyon P=0.000, Doripenem disk difüzyon P=0.012 uyumlu bulunmuş olup; Ertapenem disk difüzyon P=0.356 istatistiksel olarak uyumlu bulunmamıştır.



7 KAYNAKLAR

1. Clardy, J., Fischbach M., Currie C., *The Natural History Of Antibiotics*. Curr Biol, 2009. **19**(11): p. 437-441.
2. Tanır G., G.N., *Antibiyotik Direnci*. Klimik Dergisi, 1999. **12**(2): p. 47-54.
3. Chang, H.J., Hsu, P.C., Yang, C.C., Kuo, A.J., Chia, J.H., Wu, T.L. ve diğerleri. (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.
4. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 2011;17:1791-1798.
5. Ben-Hamouda T, Foulon T, Ben-Cheikh-Masmoudi A, Fendri C, Belhadj O, Ben-Mahrez K. Molecular epidemiology of an outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae* in a Tunisian neonatal ward. *J Med Microbiol* 2003;52:427-433.
6. Jacoby, G.A. and L.S. Munoz-Price, *The new beta-lactamases*. N Engl J Med, 2005. 352(4): p. 380-91.
7. Peleg, A.Y. and D.C. Hooper, *Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria*. N Engl J Med, 2010. 362(19): p. 1804-13.
8. MacKenzie, F.M., et al., *Emergence of a carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*. Lancet, 1997. 350(9080): p. 783.
9. Hong, T., et al., *Escherichia coli: development of carbapenem resistance during therapy*. Clin Infect Dis, 2005. 40(10): p. e84-6.
10. Kim, S.Y., et al., *Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in Klebsiella pneumoniae isolates*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007. 57(1):p.85-91.
11. Min-Hyok Jeona, S.-H.C., Yee Gyung Kwakbc, Jin-Won Chungbc, Sang-Oh Leebc, Jin-Yong Jeongbcd, Jun Hee Woobc, Yang Soo Kim, *Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant Escherichia coli among hospitalized patients*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2008. 62(4): p. 402-406.
12. Poole K. Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci* 2004;61: 2200-2223.
13. Gupta V. An update on newer beta-lactamases. *Indian J Med Res* 2007;126:417-427.

14. Yu WL, Chuang YC, Walther-Rasmussen J. Extended-spectrum beta-lactamases in Taiwan: epidemiology, detection, treatment and infection control. *J Microbiol Immunol Infect* 2006;39:264-277.
15. Kim SY, Park YJ, Yu JK, Kim HS, Park YS, Yoon JB, *et al.* Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:85-91.
16. Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Activity, Epidemiology, and Laboratory Detection. *Clinical Microbiology Newsletter* 2009;31:55-62.
17. Jeong SH, Bae IK, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ, *et al.* Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean nationwide survey. *J Clin Microbiol* 2004; 42:2902-2906.
18. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, *et al.* Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med* 2005;165:1430-1435.
19. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. (2009) *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 58 (10), 256-260.
20. Einstein B I, Zalesnik D F. *Enterobacteriaceae*. In: Mandell G L, Bennett J E, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles on practice of infectious diseases*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone. 2000:2294 – 2301.
21. *Enterobacteriaceae*, in *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, G.F. Brooks, Butel, J.S, Morse, S.A, Editor 2004, The McGraw - Hill Companies: Boston. p. 248-262.
22. *The Enterobacteriaceae: An Overview*, in *Microbiology*, R.W. Bauman, Editor 2004, Pearson Education: San Francisco. p. 571-576.
23. PR Murray, K.R., MA Pfaller. (2009) *Medical Microbiology*. 6.
24. Hariharan, H., Weinstein, R.A, *Enterobacteriaceae*, in *Hospital Epidemiology and Infection Control*, C.G. Mayhall, Editor 1996, Williams&Wilkins: Baltimore, Maryland. p. 345-363.
25. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyansı Bakteri Tanımlama ve ADT Standart Uygulama Prosedürleri. Revizyon No.1, Ocak 2014;24.

26. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. (1994). Enterobacteriaceae. "Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology" Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Editörler). Mosby, Baltimore. 362-387.
27. Bilgehan H. (1992). Enterobacteriaceae. "Klinik Mikrobiyolojik Tanı" Fakülteler Kitabevi, Ankara. 387-411.
28. Friedman, N.D., et al., *Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections*. Ann Intern Med, 2002. **137**(10): p. 791-7.
29. Friedman, N.D., Kaye, K.S., Stout, J.E., McGarry, S.A., Trivette, S.L., Briggs, J.P. ve diğerleri. (2002) Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Annals of internal medicine*, 137 (10), 791-797.
30. Ryan KJ. (1994). Enterobacteriaceae. "Sherris medical Microbiology (an Introduction to Infectious Diseases)" Ryan KJ (Editör). Prentice-Hall International, Montreal. 323-29.
31. Echeverria P., Sethabutr O., Pitarangsi C.: Microbiology and Diagnosis of Infections with Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli. Rev Infect Dis 1991;13 (Suppl 4): 220-225.
32. Riley L. W.: The Epidemiological, Clinical and Microbiological Features of Hemorrhagic Colitis. Ann Rev Microbiol 1987; 41: 383-407.
33. Thielman N. M.: Enteric Escherichia coli Infection. Curr Opinion Infect Dis 1994; 7: 582-591.
34. Vial P. A., Browne R., Lior H.: Characterization of Enteroadherent Aggregative Escherichia coli, a Putative Agent of Diarrheal Disease. JID 1998; 158:70-79.
35. Medeiros AA. Beta-lactamases. Br Med Bull 1984; 40:18-27.
36. Sanders CC. Beta-lactamases of gram-negative bacteria: New challenges for new drugs. Clin Infect Dis 1992;14:1089-99.
37. Neu HC. Beta-lactamases: A perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance. Postgraduate Medicine 1984;7-21.
38. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R-factors in Enterobacteriaceae. Nature 1965;208:239-41.

39. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorf-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chem* 1985;28:302-7.
40. Sirot D. Extended- spectrum plasmid-mediated beta-lactamases, *J Antimicrob Chemother* 1995; 36 (Suppl A): 19-34.
41. Bilgehan H.: Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları Kitabı, (Derleyen) Bilgehan H., İzmir, 2000, 1-103.
42. Podschun, R., Ullmann, U. (1998) *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology reviews*, 11 (4), 589-603.
43. Ewing, W. H.: The Genus *Klebsiella*. Identification of Enterobacteriaceae, (Eds) Edwards, P.R., Ewing, W.H., Fourth Edition, New York, Amsterdam, Oxford, Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1986, 365-380.
44. Linares, L., et al., *Klebsiella pneumoniae* infection in solid organ transplant recipients: epidemiology and antibiotic resistance. *Transplant Proc*, 2010. **42**(8): p. 2941-3.
45. Essack SY. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. *Pharm Res* 2001;18:1391-1399.
46. Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M, eds. Enfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. baskı. Nobel tıpkitapevleri, 2002; cilt1:sayfa182-93.
47. D, G. (1997) hastane enfeksiyonlarında önem kazanan gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *hastane enfeksiyonları*, 1, 38-45.
48. Opal SM, M.A. (2005) molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *principles and practice of infectious diseases*, 6, 243-270.
49. Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting?. *Curr Opin Microbiol* 2000;3:489-95.
50. Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002;11(4):529-44.
51. Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem* 2009;16:564-575.

52. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-1233.
53. Mouton JW, Touzw DJ, Horrevorts AM, Vinks AA. Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 2000;39:185-201.
54. Sumita Y, Fukasawa M, Okuda T. Comparison of two carbapenems, SM-7338 and imipenem: affinities for penicillin-binding proteins and morphological changes. *J Antibiot (Tokyo)* 1990;43:314-320.
55. Livermore DM, Sefton AM, Scott GM. Properties and potential of ertapenem. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:331-344.
56. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* 2007;67:1027-1052.
57. Thomson JM, Bonomo RA. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: beta-lactams in peril! *Curr Opin Microbiol* 2005;8:518-524.
58. Clinical and Laboratory Standards Institute, M100-S24 performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement January 2014;55.
59. Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi, MİK ve zon çapı değerlendirmek için sınır değer tabloları 01.01.2014;4.0:5.
60. Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi, MİK ve zon çapı değerlendirmek için sınır değer tabloları 01.01.2015;5.0:5.
61. Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Komitesi (EUCAST) klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama klavuzu, temmuz 2013;1.0:4.
62. Basoli A, Meli EZ, Mazzocchi P, Speranza V. Imipenem/cilastatin (1.5 g daily) versus meropenem (3.0 g daily) in patients with intra-abdominal infections: results of a prospective, randomized, multicentre trial. *Scand J Infect Dis* 1997;29:503-508.
63. Basoli A, Az M, Mazzocchi P, Speranza V, and study group. Imipenem/cilastatin (1,5 g daily) versus Meropenem (3,0 g daily) in patients with intraabdominal infections: Results of prospective, randomized, multicentre trial. *Scand J Infect Dis* 1997;29:503-8.

64. Birnbaum J, Kahan FM, Kropp H, MacDonald JS. Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Discovery and development of imipenem/cilastatin. *Am J Med* 1985;78:3-21.
65. Bimbaum J, Kahan FM, Kroop H. Carpapenems, a new class of beta-lactam antibiotics: Discovery and development of imipenem-cilastatin. *Am J Med* 1985;78(Suppl 6A):3-21.
66. Nikaido H. Role of permeability barriers in resistance to beta-lactam antibiotics. *Pharmacol Ther* 1985;27:197-231.
67. Endtz HP, Dijk WC, Verbrugh HA and Mustin Study Group. Comparative in vitro activity of meropenem against selected pathogens from hospitalized patients in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:149-56.
68. Yang Y, Bhached N, Bush K. Biochemical comparison of imipenem, meropenem and biapenem: Permeability, binding to penicillin-binding proteins, and stability to hydrolysis by beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:75-84.
69. Jackson JJ, Kroop H. Beta-lactam antibiotics induced release of free endotoxin: In vitro comparison of penicillin-binding protein (PBP)2-specific imipenem and PBP3-specific ceftazidim. *J Infect Dis* 1992;165:1033-41.
70. Gudmundsson S, Erlendsdttir H, Gattfrendsson M, Gudmundsson A: The postantibiotics effect induced by antiMikrobial combinations. *Scand J Infect Dis* 1990;74:80-93.
71. Yoshimura F, Nikaido H. Diffusion of beta-lactam antibiotics. *Pharmacol Ther* 1985;27:197-231.
72. Dreetz M, Hamacher J, Eller J, et al. Serum bactericidal activities and comparative pharmacokinetics of meropenem and imipenem-cilastatin. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:105-9.
73. White R, Friedrich L, Burgess D, Warkentin D, Bosso J. Comparative in vitro pharmacodynamics of imipenem and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:904-908.
74. Edwards JR. Meropenem: a Microbiological overview. *J Antimicrob Chemother* 1995;36 Suppl A:1-17.
75. Yang YJ, Livermore DM. Interactions of meropenem with class I chromosomal beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1989;24 Suppl A:207-217.
76. Gür D. Beta-laktamazlar. *Flora* 1997;283:3-16.

77. Gill CJ, Jackson JJ, Gerckens LS, Pelak BA, Thompson RK, Sundelof JG, *et al.* In vivo activity and pharmacokinetic evaluation of a novel long-acting carbapenem antibiotic, MK-826 (L-749,345). *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1996-2001.
78. Keating GM, Perry CM. Ertapenem: a review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2005;65:2151-2178.
79. El-Gamal MI, Oh CH. Current status of carbapenem antibiotics. *Curr Top Med Chem* 2010;10:1882-1897.
80. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against clinical bacterial isolates from 11 North American medical centers. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1915-1918.
81. Yellin AE, Hassett JM, Fernandez A, Geib J, Adeyi B, Woods GL, *et al.* Ertapenem monotherapy versus combination therapy with ceftriaxone plus metronidazole for treatment of complicated intra-abdominal infections in adults. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20:165-173.
82. Hernandez JR, Velasco C, Romero L, Martinez-Martinez L, Pascual A. Comparative in vitro activity of ertapenem against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:457-459.
83. Saba R, Usluer G. Ertapenem *FLORA* 2008; 13(ek5): 3-19.
84. Lee SC, Huang SS, Lee CW, Fung CP, Lee N, Shieh WB, *et al.* Comparative antimicrobial susceptibility of aerobic and facultative bacteria from community-acquired bacteremia to ertapenem in Taiwan. *BMC Infect Dis* 2007;7:79.
85. Başaran S, Korten V. Doripenem: Klinik Uygulamada Yeni Bir Karbapenem. *Klimik Journal/Klimik Dergisi* 2010,23.
86. Bazan JA, Martin SI, Kaye KM. Newer beta-lactam antibiotics: doripenem, ceftobiprole, ceftaroline, and cefepime. *Infect Dis Clin North Am* 2009;23:983-996, ix.
87. Matthews SJ, Lancaster JW. Doripenem monohydrate, a broad-spectrum carbapenem antibiotic. *Clin Ther* 2009;31:42-63.
88. Yucesoy M, Yulug N, Kocagoz S, Unal S, Cetin S, Calangu S. Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: comparison to previous three years. *J Chemother* 2000;12:294-298.
89. Usluer G. Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol. *Flora* 2002;7:135-141.

90. Gülay Z. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. In Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. 1999;91-108.
91. Cunha BA. Antibiotic resistance. *Med Clin North Am* 2000;84:1407-1429.
92. Mayer K, Opal JM H, Medeiros A. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Churhcill livingstone; 1994;1015–1018.
93. d, g. (2004) gram negatif bakterilerde antibakteriyel direnç mekanizmaları. önemli ve sorunlu gram negatif bakteri infeksiyonları, 69-83.
94. Malouin F, Bryan LE. Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of beta-lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1986,30:1-5.
95. Spratt BG. Resistance to beta-lactam antibiotics mediated by alterations of penicillin binding proteins. In Bryan LE, eds. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer-Verlag; 1989; 77-100.
96. Livermore DM. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis Suppl* 1991;78:7-16.
97. Sanders, C.C. (1992) beta-Lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 14 (5), 1089-1099.
98. Livermore, D.M. (1991) Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum*, 78, 7-16.
99. B, Y. (1999) beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 6 (2), 176-182.
100. (2003) *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51, 9-11.
101. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21 st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbial Rev* 2001;14:933-51.
102. Cornaglia G, Mazzariol A, Fontana R. The astonishing complexity of antibiotics resistance. *Clin Mmicrobial Infect* 2000;6(Suppl 3):93-4.
103. Pool K. Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:2200-23.

104. Murray PR Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, MİKhael AP. Antibakteriyel İlaçlara Direnç Mekanizmaları. In: Murray PR Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenenbaum RC eds. *Klinik Mikrobiyoloji*. 9 ed. Washington DC: ASM.2009; 1114-1145.
105. Murakami S, Nakashima R, Yamashita E, Yamaguchi A. Crystal structure of bacterial multidrug efflux transporter AcrB. *Nature* 2002;419:587-593.
106. Lee A, Mao W, Warren MS, Mistry A, Hoshino K, Okumura R, *et al*. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. *J Bacteriol* 2000;182:3142-3150.
107. Bradford PA. What's New in beta-lactamases? *Curr Infect Dis Rep* 2001;3:13-19.
108. Bush K. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:259-263.
109. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. *Flora Dergisi* 1996;1: 80–86.
110. Livermore, D.M. (1995) beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology reviews*, 8 (4), 557-584.
111. Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In:Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. eds. *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel tıp kitapçevleri; 2008.Cilt,1: 243-257.
112. Pitout JD. Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs* 2010;70:313-333.
113. Rpenfe'd, L.G. (1980) the structure of b-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 289, 321-331.
114. Yüce A. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. *Klinik Dergisi* 2001; 14(2):42-46.
115. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-951, table of contents.
116. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.

117. Medeiros, A.A. (1997) Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 24 Suppl 1, S19-45.
118. D, G. (1997) hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram olumsuz bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *Hastane infeksiyonları*, 1, 38-45.
119. Shibata, N., Doi, Y., Yamane, K., Yagi, T., Kurokawa, H., Shibayama, K. ve diğerleri. (2003) PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *Journal of clinical Microbiology*, 41 (12), 5407-5413.
120. Webber, M.A., Piddock, L.J. (2003) The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 51 (1), 9-11.
121. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Disease* 1989;27(Suppl 1): 93-9.
122. Bradford PA, Urban C, Mariano N, et al. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:563-9.
123. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41: 223-32.
124. Nordmann, P., Poirel, L. (2002) 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.
125. SGB, A. (1997) carbapenemases. *ANKEM*, 11, 221-225.
126. Minami S, Akama M, Araki H, et al. Imipenem and cephem resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying plasmids coding for class B beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*.1996;37:433-4.
127. Wei ZQ, Du XX, Yu YS, Shen P, Chen YG, Li LJ. Plasmid-mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from China. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:763-765.

128. Tsakris A, Kristo I, Poulou A, Markou F, Ikonomidis A, Pournaras S. First occurrence of KPC-2-possessing *Klebsiella pneumoniae* in a Greek hospital and recommendation for detection with boronic acid disc tests. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1257-1260.
129. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:223-232.
130. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:440-458, table of contents.
131. Ambler RP, Coulson AF, Frere JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, *et al.* A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem J* 1991;276 (Pt 1):269-270.
132. Watanabe, M., Iyobe, S., Inoue, M., Mitsuhashi, S. (1991) Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35 (1), 147-151.
133. Walsh, T.R., Toleman, M.A., Poirel, L., Nordmann, P. (2005) Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clinical Microbiology reviews*, 18 (2), 306-325.
134. Poirel, L., Nordmann, P. (2006) Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12 (9), 826-836.
135. Queenan AM, Torres-Viera C, Gold HS, Carmeli Y, Eliopoulos GM, Moellering RC, Jr., *et al.* SME-type carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamases from geographically diverse *Serratia marcescens* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3035-3039.
136. Alba J, Ishii Y, Thomson K, Moland ES, Yamaguchi K. Kinetics study of KPC-3, a plasmid-encoded class A carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49: 4760-4762.
137. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005;18: 306-325.
138. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:373-383.

139. D. Landman,* J. K. Salvani, S. Bratu, and J. Quale Evaluation of Techniques for Detection of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Stool Surveillance Cultures *Journal Of Clinical Microbiology*, Nov. 2005, Vol. 43, No. 11,p. 5639–5641.
140. P. Nordmann, M. Gniadkowski, C. G. Giske, L. Poirel, N. Woodford, V. Review. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae 2012 *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 432–438.
141. İnvazif Enfeksiyonlara Neden Olan GSBL Pozitif Enterobacteriaceae İzolatlarında Karbapenem Direnci. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(1): 59-69 Carbapenem Resistance in GSBL Positive Enterobacteriaceae Isolates Causing Invasive Infections Özgen KÖSEOĞLU ESER, Hatice ALTUN ULUDAĞ, Alper ERGİN, Barış BORAL, Burçin ŞENER, Gülşen HASÇELİK
142. Evaluation of CHROMagar™ KPC for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in rectal surveillance cultures Theofano Panagea, Irene Galani, Maria Souli, Panagiota Adamou, Anastasia Antoniadou, Helen Giamarellou *International Journal of Antimicrobial Agents* 37 (2011) 124–128.
143. Schwaber MJ, Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a potential threat. *JAMA* 2008;300:2911–3.
144. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. *MMWR Morb Mort Wkly Rep* 2009;58: 256–60.
145. Vered Schechner, MD; Tali Kotlovsky, BSc, MHA; Jalal Tarabeia, RN, PhD; Meital Kazma, MSc; David Schwartz, PhD; Shiri Navon-Venezia, PhD; Yehuda Carmeli, MD, MPH1 Predictors of Rectal Carriage of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) among Patients with Known CRE Carriage at Their Next Hospital Encounter *infection control and hospital epidemiology* may 2011, vol. 32, no. 5.
146. ATMIŞ V. Karbapenem Dirençli *Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* ile İnfeksiyon veya Kolonizasyon İçin Risk Faktörleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2011.

147. Duygu PERÇİN, Selcan ÇOLAKOĞLU, Süleyman DURMAZ, Pınar EKİNCİOĞLU Rektal Sürüntü Örneklerinde Karbapeneme Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Taranmasında Klasik Yöntemlerle Ertapenemli EMB Besiyerinin Karşılaştırılması *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(4): 546-552.
148. Kamaljit Singh,^a Kathy A. Mangold,^b Kody Wyant,^a Donna M. Schora,^b Barbara Voss,^b Karen L. Kaul,^b Mary K. Hayden,^a Vishnu Chundi,^c and Lance R. Peterson^b Rectal Screening for *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases: Comparison of Real-Time PCR and Culture Using Two Selective Screening Agar Plates *Journal of Clinical Microbiology* p. 2596–2600 August 2012 Volume 50 Number 8.
149. Karen Lolans, Karen Calvert, Sarah Won, James Clark, and Mary K. Hayden Direct Ertapenem Disk Screening Method for Identification of KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Surveillance Swab Specimens_ *Journal Of Clinical Microbiology*, Mar. 2010, p. 836–841 Vol. 48, No. 3
150. Georgia Vrioni, Ioannis Daniil, Evangelia Voulgari, Kyriaki Ranellou, Vasiliki Koumaki, Sandrine Ghirardi, Maria Kimouli, Gilles Zambardi, and Athanassios Tsakrisa Comparative Evaluation of a Prototype Chromogenic Medium (ChromID CARBA) for Detecting Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Surveillance Rectal Swabs June 2012 Volume 50 Number 6 *Journal of Clinical Microbiology* p. 1841–1846.
151. Spyros Pournaras, Olympia Zarkotou, Aggeliki Poulou, Ioulia Kristo, Georgia Vrioni, Katerina Themeli-Digalaki, Athanassios Tsakrisa A Combined Disk Test for Direct Differentiation of Carbapenemase- Producing Enterobacteriaceae in Surveillance Rectal Swabs *Journal of Clinical Microbiology* p. 2986–2990 September 2013 Volume 51 Number 9.
152. Donald Inverarity, Elizabeth Kilgour, Caroline Dunn, Linda Thomas, Richard Fox, Lindsay Mitchell, Pamela Paterson Screening haematology patients for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* *Journal of Infection Prevention* March 2014 VOL. 15 NO. 2.
153. Desirée Gijón, Tânia Curiao, Fernando Baquero, Teresa M. Coque, and Rafael Cantóna, Fecal Carriage of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Hidden Reservoir in Hospitalized and Nonhospitalized Patients *Journal of Clinical Microbiology* p. 1558–1563.

154. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. , 2009: MMWR. Morbidity and mortality weekly report. p. 256-260.
155. CİNEL M. Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinde Yatan Karbapenem Dirençli Escherichia Coli ve Klebsiella Pneumoniae ile İnfekte veya Kolonize Olan Hastaların Tanımlayıcı Özellikleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2011.
156. Neil Gupta, Brandi M. Limbago, Jean B. Patel, and Alexander J. Kallen Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and Prevention *Clinical Infectious Diseases* 2011;53(1):60–67.
157. Dr. Ayşe Tekin. Enterobacteriaceae Suşlarında Karbapenem Direncinin Fenotipik ve Genotipik Olarak Tanımlanması İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi İstanbul, 2014.
158. Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, Biddle J, Jensen B, McDougal LK, et al. Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2007;45:2723-2725.
159. <http://www.eucast.org>
160. James Cohen Stuarta, Maurine A. Leverstein-Van Halla, Review. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae Review *International Journal of Antimicrobial Agents* 36 (2010) 205–210.
161. Woodford N, Dallow JW, Hill RL, Palepou MF, Pike R, Ward ME, et al. Ertapenem resistance among Klebsiella and Enterobacter submitted in the UK to a reference laboratory. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29:456–9.
162. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase- producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1791–1798.
163. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D et al. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006–2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 1274–1278.
164. Potron A, Nordmann P, Lafeuille E et al. Characterization of OXA- 181, a carbapenem-hydrolyzing class D b-lactamase from Klebsiella pneumoniae. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 4896–4899.

165. Mimoz O, Gre'goire N, Poirel L et al. Broad-spectrum b-lactam antibiotics for treating experimental peritonitis in mice due to a *Klebsiella pneumoniae* producing the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 (in press).
166. Korten V, Söyletir G, Yalçın A. Karbapenemlerin gram Negatif patojenlere karşı in vitro aktivitelerinin karşılaştırmalı değerlendirmesi: COMPACT çalışması Türkiye verisi. *Mikrobiyol Bül.*2011; 45(2): 197-209.
167. Neil Woodford, Anne T. Eastaway, MİKhael Ford, Alistair Leanord, Chloe Keane, Reinhard M. Quayle, Jane A. Steer, Jiancheng Zhang,¹ and David M. Livermore¹ Comparison of BD Phoenix, Vitek 2, and MİKroScan Automated Systems for Detection and Inference of Mechanisms Responsible for Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae_ *Journal Of Clinical Microbiology*, Aug. 2010, p. 2999–3002 Vol. 48, No. 8.
168. Atakan BAYKAL, Nilay ÇÖPLÜ, Hüsniye ŞİMŞEK, Berrin ESEN, Deniz GÜR Kan İzolatı *E.coli* ve *K.pneumoniae* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz, KPC-Tip Karbapenemaz ve Plazmid Aracılı AmpC Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2012-46-2-159-169.htm.
169. Hüseyin Agah Terzi, Engin Karakeçe, İhsan Hakkı Çiftci *Klebsiella spp.* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirmesi *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* Cilt: 4, Sayı: 2, Nisan 2013.
170. Nisel Yılmaz, Neval Ağuş, Şükran Köse, Süreyya Gül Yurtsever, Özlem Öner Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz Salgılayan *Escherichia Coli* Ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının Ertapenem Ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılıkları *Türk Mikrobiyol Cem Derg* (2009) 39 (3-4): 80-84.
171. Ame'lie Carre'r, Laurent Poirel, Haluk Eraksoy, A. Atahan Cagatay, Selim Badur, and Patrice Nordmann Spread of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Istanbul, Turkey *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, Aug. 2008, p. 2950–2954 Vol. 52, No. 8.
172. Akova, G. L. Daikos, L. Tzouveleki and Y. Carmeli Review. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 439–448 M.