



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE KARBAPENEM DİRENÇLİ GRAM
NEGATİF ÇOMAKLARLA İLGİLİ RİSK FAKTÖRLERİ VE YAYILIMININ
ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Gökhan AYGÜN

Dr. Elvin Pazar YILDIRIM

İSTANBUL – 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren derin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin planlanması, yürütülmesi ve yönlendirilmesinde yardımcı olan, akademik desteği dışında manevi desteği, sabrı ve anlayışı için değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Gökhan AYGÜN'e

Eğitimim süresince çok emekleri geçen hocalarımız Sayın Prof.Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK, Prof.Dr. Arif KAYGUSUZ, Prof.Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI, Prof.Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof.Dr. Hırsi BAHAR, Prof.Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Prof.Dr. Sevgi ERGİN, Doç.Dr. Suat SARIBAŞ, Doç.Dr. Erdal POLAT, Dr. Ahmet Mert KUŞKUCU'ya

Tezimin yapılmasında göstermiş olduğu destek ve yardımları için Prof.Dr. Yalım DİKMEN, Doç.Dr. Tuğhan UTKU, Sadi Sun Yoğun Bakım doktorları, hemşireleri ve çalışanlarına

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitimim süresince beraber çalıştığım, tanışmış olmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Büyük bir özveriyle beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olduklarını hissettiğim aileme, eşime ve biricik oğluma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ	iv
TABLO VE FORMLAR LİSTESİ	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları ve Önemi.....	2
2.2. Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları ve Sorun Mikroorganizmalar.....	3
2.3. Yoğun Bakım Ünitelerinde Hastalarda Kolonizasyon.....	5
2.4. Beta-laktam Antibiyotikler.....	7
2.4.1. Beta-laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları.....	7
2.4.2 Beta-laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları.....	9
2.5. Karbapenemler	11
2.6 Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları.....	12
2.7 Yoğun Bakım Ünitelerinde Karbapenem Dirençli Bakteri Sorunu.....	15
3. YÖNTEM VE GEREÇ	17
3.1. Yöntemler	17
3.1.1. Örneklerin Çalışılması ve Değerlendirilmesi.....	22
3.2. Gereçler	24
3.2.1. Kullanılan Besiyerleri.....	24
3.2.1.1. Mueller Hinton Agar Besiyeri.....	24
3.2.1.2. Chromogen Agar Besiyeri.....	24
3.2.1.3. Üç Şekerli Demirli Agar Besiyeri (TSI).....	24
3.2.1.4. Dekstroz (D) Besiyeri.....	24
3.2.1.5. Sitrat Besiyeri.....	25

3.2.1.6. Hareket, İndol, Ornitin Besiyeri (MIO).....	25
3.2.1.7. Triptik Soy Broth.....	26
3.2.2. Bakteri Tanımında Kullanılan Ayıraçlar ve Yapılan Deneyler.....	26
3.2.2.1. Oksidaz Aktivitesinin Gösterilmesi.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	31
6. KAYNAKLAR.....	35



SEMBOLLER /KISALTMALAR LİSTESİ

- APACHE** : Acute Pysiology And Chronic Health Evaluation
- CDC** : Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Önleme Merkezi
- EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- GES** : Guiana extended spectrum
- GİS** : Gastrointestinal Sistem
- GKS** : Glasgow Koma Skoru
- GSBL** : Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
- IMI** : İmipenem-hydrolyzing
- IMVIC** : İndol-Metil kırmızısı-Voges Proskauer-Sitrat Testleri
- KPC** : Klebsiella pneumoniae carbapenemase
- MBL** : Metallo-beta laktamazlar
- MIK** : Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
- MIO** : Hareket, İndol, Ornitin Besiyeri
- MRSA** : Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus
- NDM-1** : New Delhi Metallo-beta-laktamaz
- NMC** : Non-metalloenzyme carbapenemase
- OMP** : Outer Membrane Protein
- PBP** : Penisilin Bağlayan Protein
- RND** : Resistance-Nodulation-Division
- SME** : Serratia marcescens enzyme
- TISS** : Terapötik Girişim Skorlama Sistemi
- TSI** : Üç Şekerli Demirli Besiyeri
- VRE** : Vankomisin Dirençli Enterococcus
- YBÜ** : Yoğun Bakım Ünitesi

FORM VE TABLOLAR LİSTESİ

Form 1: Yoğun Bakım Ünitesi Kolonizasyon Çalışma Formu.....	18
Form 2: Terapötik Girişim Skorlama Sistemi-28 (TISS-28 FORMU).....	19
Form 3: APACHE II Skoru ve Ekleri	20
Tablo 1: Sık rastlanan beta-laktamazlar.....	10
Tablo 2: Karbapenem direnci için disk difüzyon yöntemiyle belirlenen zon çapları.	22
Tablo 3: Yatışta kolonize olan hastaların odak ve etkenlere göre dağılımı.....	27
Tablo 4: Yatışta kolonize olan hastaların özellikleri.....	28
Tablo 5: Yatıştan sonra kolonize hastaların gün ve üreme yerleri dağılımı.....	29
Tablo 6: Yatıştan sonra kolonize olanların günlere göre üreyen bakteriler.....	29
Tablo 7: Yatıştan sonra kolonize olan ve hiç kolonize olmayan hastalar.....	30

ÖZET

Yoğun Bakım Ünitesi(YBÜ)'nde yatan hastalar hastane enfeksiyonu açısından çok büyük bir risk altındadırlar. Karbapeneme dirençli gram negatif çomaklarla kolonizasyon enfeksiyon gelişmesi ve mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Kolonizasyonun belirlenmesi enfeksiyon kontrolü ve uygun antibiyotik tedavisi için önemlidir.

Biz bu çalışmada YBÜ'nde yatan hastalarda karbapenem dirençli gram negatif çomakların kolonizasyon açısından risk faktörlerinin belirlenmesi, epidemiyolojik veri eldesi ile kolonizasyonu belirleyen risk faktörleri ve bakım süreci yoğunluğunun kolonizasyona etkisinin araştırılmasını amaçlanmıştır. Bu amaçla YBÜ'ne yatan 18 yaş üstü ardışık olarak yatan hastalar değerlendirilmiştir. Yatışlarında olgu formu doldurulmuş, ağız/boğaz sürüntüsü (entübe olan hastalarda ETA örneği), cilt sürüntüsü (havuz yöntemi ile: önce sol ve sağ koltuk altı sonra aynı eküvyon sol ve sağ kasık bölgelerinden) ve rektal sürüntü örnekleri alınmıştır. Bu örnekler hastanın yatışının 3. gününde ve haftalık olarak tekrarlanmıştır. Herhangi bir örnekte karbapenem dirençli enterik bakteri, P.aeruginosa ya da A.baumannii saptanan hastalar kolonize olarak tanımlanmıştır. Hastalar Yoğun Bakım Ünitesi Kolonizasyon Çalışma Formu ve TISS-28 formu kayıtlarıyla kontrol edilmiştir. Elde edilen veriler SPSS programı kullanılarak Student-t ve ki-kare testleri ile değerlendirilmiştir.

Değerlendirmeye alınan 36 hastanın 12'sinde (% 33.3) yatışında kolonizasyon saptanmıştır. Kolonizasyon saptanmayan 24 olgunun YBÜ yatışları sırasında sekizinde kolonizasyon saptanmış (% 33.3) ve toplam 16 olguda çalışma sürecinde kolonizasyon hiç saptanmamıştır. Yatışında kolonize olmayan hastaların beşinde üçüncü günde kolonizasyon saptandığı gözlenmiştir. Kolonizasyon saptanan olgularda saptanan enterik bakterilerin tümü Klebsiella cinsi olarak tanımlanmıştır, kolonizasyon alanı olarak en sık rektal bölge olduğu belirlenmiştir. İlk üç gün içinde özellikle Acinetobacter ile kolonizasyon geliştiği özellikle Klebsiella kolonizasyonunun daha geç oluştuğu görülmektedir.

Sonuç olarak YBÜ'nde yatan hastalarda yatışta kolonizasyonun sık olduğu, yatışta kolonize olmayan olgularda ise hızla kolonizasyon geliştiği, kolonizasyon gelişmesinde bakım süreci yoğunluğunun anlamlı bir risk oluşturmadığı bulunmuştur. Bu konuda daha çok olgunun izlenebildiği çalışmalar daha anlamlı veri sağlayabilir.

ABSTRACT

Patients admitted in intensive care unit (ICU) are at great risk for hospital infection. Colonization with carbapenem resistant gram negative bacilli is found to be related with development of infection and mortality. Detection of colonization is important for infection control and antibiotic treatment.

The aim of this study was to determine the risk factors for colonization of gram negative bacilli in the ICU patients, risk factors determining colonization by epidemiological data and the effect of admission period on colonization. For this purpose, consecutively admitted over 18 years ICU patients were evaluated. At admission, case form was filled, mouth/ throat swab (ETA samples in intubated patients), skin swab (by pooling method: left and right axillae first then left and right groins by the same swab) and rectal swab samples were collected. These samples were recollected on the third day of admission and weekly. Patients detected with carbapenem resistant enteric bacteria, *P. aeruginosa* or *A. baumannii* in any sample were identified as colonized. Patients were controlled by intensive care unit colonization study form and TISS-28 form. Collected data were evaluated by student-t and chi square tests by using SPSS program.

In 12 of 36 evaluated patients (33.3 %) colonization was detected at admission. Colonization was detected during ICU admission in 8 of the 24 (33.3 %) non colonized patients and no colonization was detected in 16 patients. It was observed that colonization was detected at the third day of admission in 5 patients were non colonized at admission. All enteric bacteria detected in patients with colonization were defined as *Klebsiella* genus. Rectal region was identified to be the most common colonization field. It's seen that colonization with *Acinetobacter* develops especially in the first three days while colonization with *Klebsiella* develops especially later.

As a result, it was found that colonization was common in ICU patients at admission, colonization developed rapidly in non colonized patients during admission and admission period did not constitute a significant risk for colonization. Studies with more cases may provide more significant data in this subject.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Yoğun bakım ünitelerine (YBÜ) yatırılan hastalar tüm hastaneye yatırılan hastaların % 5-10'dan daha azını oluşturur; fakat nozokomiyal pnömoni ve bakteriyemilerin % 40'ını oluşturur. YBÜ enfeksiyonlarında önemli sorunlardan birisi mikroorganizmalardaki direnç oranıdır. Son yıllarda karbapenem dirençli enterik bakteriler tüm ülkelerde hızla artan bir sorun konumuna gelmiştir. YBÜ'nde yatan hastalar yatıştan kısa bir süre sonra hastane florasını oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmaktadır (1-2).

Kolonizasyon; mikroorganizmaların cilt, mukoza, açık yara, salgı veya sekresyonlarda bulunması, ancak enfeksiyona ait klinik belirti/bulguya neden olmaması durumudur. Uygulanan invaziv girişimler, altta yatan hastalıklar, hastalığın ağırlığı, hastanede yatış süresi kolonizasyonu kolaylaştırır ve kolonizasyon enfeksiyonun öncüsüdür. Yoğun bakım hastalarında orofarenks, gastrointestinal ve üriner sistem en önemli kolonizasyon bölgeleridir. Ayrıca kolonize hastalar mikroorganizmaların diğer hastalara yayılımında kaynak oluştururlar. Endojen kolonizasyona en çok neden olan mikroorganizmalar; enterik bakteriler, *Pseudomonas* spp. ve *Candida* türleridir. Sağlık personelinin elleri ise patojen mikroorganizmaların bulaşmasında temel rolü oynamaktadır (1).

YBÜ'de gelişen nozokomiyal enfeksiyonların en az yarısında öncelikle o etkenle kolonizasyon olduğu belirlenmiştir. Bu risk faktörleri; uzun süre hastanede ve YBÜ'lerde yatış, invaziv girişimler, uzun süreli antibiyotik tedavileri ve gastrointestinal sistem (GİS) ve solunum sistemi florasının geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ile elimine edilmesidir.

Biz çalışmamızda Sadi Sun YBÜ'ne Nisan 2017-Ekim 2017 tarihleri arasında yatırılan hastalarda karbapenem dirençli gram negatif çomakların kolonizasyon açısından risk faktörlerinin belirlenmesi, epidemiyolojik veri eldesi ile kolonizasyonu belirleyen risk faktörleri ve bakım süreci yoğunluğunun kolonizasyona etkisinin araştırılmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları ve Önemi

Yoğun Bakım Ünitesi(YBÜ)'nde yatan hastalar hastane enfeksiyonu açısından çok büyük bir risk altındadırlar. Hastanede gelişen enfeksiyonların % 20-25'i YBÜ'de görülmektedir (1,2). Bu ünitelerde gelişen enfeksiyonlar genelde invaziv uygulamalarla ilişkili enfeksiyonlar şeklindedir. Kateterle ilişkili bakteriyemiler, üriner kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonları ve ventilatör ilişkili pnömoniler hem sıklık hem de mortalite yönünden oluşturdukları riskler nedeniyle önemlidir (3,4).

Bu enfeksiyonların tanımlanmasında ve izleminde Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Önleme Merkezi (CDC) / National Healthcare Safety Network (NHSN) tanımları kullanılmaktadır (5). Bu tanımlar yıllar içinde değişikliklere uğrayarak güncellenmekte ve ülkemizde de bu tanımlar kullanılarak hastane enfeksiyonları sürveyansları yapılmaktadır (6). Bu sürveyans çalışmaları ve çok merkezli sürveyans çalışmaları ülkemizde YBÜ enfeksiyonları ile ilgili büyük sorunlar olduğunu göstermektedir (7). YBÜ, enfeksiyon sorunlarıyla mücadele ederken kendi etkenlerini ve direnç durumlarını bilmek durumundadır. Bu konuda en güvenilir yöntemler invaziv girişimlerle ilişkili olarak saptanan enfeksiyonların izlenmesidir (7,8).

YBÜ enfeksiyonlarında önemli sorunlardan birisi mikroorganizmalardaki direnç oranıdır. Bugüne kadar da en çok rastlanan etkenler arasında Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp., metisiline dirençli Staphylococcus aureus (MRSA), vankomisin rezistan enterokok (VRE), metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokoklar, dirençli enterik bakteriler (özellikle genişlemiş spektrumlu beta laktamaz -GSBL oluşturan) Klebsiella spp. ve Escherichia coli) sayılabilir. Son yıllarda karbapenem dirençli enterik bakteriler tüm ülkelerde hızla artan bir sorun konumuna gelmiştir (9-11).

YBÜ enfeksiyonları ile ilişkili faktörler başlıca üç grupta incelenebilir(1, 3, 12).

1. Hasta İlişkili Faktörler: Altta yatan kronik hastalıklar, uç yaşlar (<1 yaş, >60 yaş), bağışıklığın azalması, steroid ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, malnütrisyon, parenteral beslenme, H₂ bloker kullanımı, travma ve yanıklar, potansiyel patojenlerle kolonizasyon.

2. Mikroorganizma İlişkili Faktörler: Çoğul dirençli/panrezistans bakteri kökenleri ile enfeksiyon, nadir görülen patojenlerin yer aldığı flora değişiklikleri, bakterilerin tıbbi aletler üzerinde veya içinde değişik ortamlarda yaşayabilme özellikleri (Stafilokoklar, Pseudomonas aeruginosa).

3. İnvaziv Girişimler İle İlişkili Faktörler: Tanı ve tedaviye yönelik invaziv girişimler; endoskopi, endotrakeal tüp, mekanik ventilatör, cerrahi girişimler (tipi ve süresi), yaygın katater kullanımı (üriner, intravenöz, pulmoner arter, santral venöz).

2.2. Yoğun Bakım Ünitelerinde Hastalarda Kolonizasyon

YBÜ'nde yatan hastalar yatıştan kısa bir süre sonra hastane florasını oluşturan mikroorganizmalar ile kolonize olmaktadır. Uygulanan invaziv girişimler, altta yatan hastalıklar, hastalığın ağırlığı, hastanede yatış süresi kolonizasyonu kolaylaştırır ve kolonizasyon enfeksiyonun öncüsüdür. Ayrıca, kolonize hastalar mikroorganizmanın diğer hastalara yayılımında önemli bir kaynaktır. Kolonizasyon için risk faktörlerinin bilinmesi enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması için önemlidir. Sağlıklı bireylerde kolonizasyon kolaylıkla gelişmezken, YBÜ hastaları ve immunosüpresif hastalarda kısa sürede kolonizasyon gelişir. YBÜ'lerinde hastalarda kolonizasyondan bir sonraki aşama enfeksiyondur. Kolonizasyon açısından riskli hastaların önceden belirlenmesi ise enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmasını kolaylaştıracaktır (1,13).

Kolonizasyon; mikroorganizmaların cilt, mukoza, açık yara, salgı veya sekresyonlarda bulunması, ancak enfeksiyona ait klinik belirti/bulguya neden olmaması durumudur. Sağlıklı bireylerde patojen olmayan ya da patojenik özelliği az olan pek çok mikroorganizma, konak savunmasında azalma nedeniyle kritik hastalarda daha ciddi enfeksiyonlara yol açabilirler. Hastaneye yatırılan hastalar ciddi enfeksiyonlara yol açabilen mikroorganizmalar ile kolonize olabilirler. Yoğun bakım hastalarında orofarenks, gastrointestinal ve üriner sistem en önemli kolonizasyon bölgeleridir. Endojen kolonizasyona en çok neden olan mikroorganizmalar; enterik bakteriler, Pseudomonas spp. ve Candida türleridir (14). Özellikle MRSA kolonizasyonu ve enfeksiyon ile ilişkisi oldukça iyi bilinen ve araştırılan bir konu olmuştur (15,16). Gram negatif etkenlerin kolonizasyon-enfeksiyon ilişkisi konusunda veriler kısıtlıdır.

Hastanede pnömoni gelişiminde orofarengeal ve gastrointestinal kolonizasyon önemli rol oynar. Kolonize olan hastaların % 23'ünde nozokomiyal pnömoni gelişirken, kolonize olmayan hastaların % 3'ünde gelişmektedir. Üst hava yollarının kolonizasyonu altta yatan hastalıkla ilgili olarak artmaktadır. Solunum yollarında temizlenme süreçlerini etkileyen durumlar, savunma mekanizmasının bozulması ile patojen mikroorganizmaların mukozaya yerleşmesine neden olmaktadır. YBÜ hastalarında özellikle entübe hastalarda epitel yüzeyi hasarlanmakta, mukosilyer klerens bozulmakta, proinflamatuvar süreçler aktifleşmekte ve lokal reseptör yapılarında (fibronektinler, ...) bozulmalar yaşanmaktadır. Ayrıca, YBÜ'de yatan hastaların büyük çoğunluğu sistemik antibiyotik tedavisi almakta, lokal antiseptik uygulamaları yapılmakta ve orofarengeal florada bulunan kommensal flora ortadan kalkmakta, böylece dirençli patojen mikroorganizmaların yerleşmesi kolaylaşmaktadır. Gastrointestinal sistem orofarengeal kolonizasyonda en önemli endojen kaynak oluşturmaktadır. Endojen mikroorganizmalar dışında dış kaynaklı mikroorganizmalar da kolaylıkla bu bölgeye ulaşabilmektedir. Kontamine aletler (mekanik ventilatör devreleri, nazogastrik tüp vs.), kontamine çevre (çarşaf, hasta masaları, lavabolar vs.), YBÜ havası dış kaynaklı bulaşmada rol oynayabilir. Sağlık personelinin elleri ise patojen mikroorganizmaların bulaşmasında temel rolü oynamaktadır (17). Hastanın dirençli Enterobacteriaceae ailesi ile kolonizasyonu genellikle hastaneye kabulünden sonra ilk birkaç gün içinde gerçekleşir. Pnömoni gelişmesinde gastrik kolonizasyonun rolü üzerine çok araştırma yapılmıştır. Ancak bu konu hala tartışılmaktadır. Normalde çok az bakteri içeren midenin, ileri yaş, malnütrisyon, aklorhidri, mide peristaltizminde azalma, gastroduodenal reflü, antiasitler ve H₂ reseptör blokleri ilaçlarla alkalen olması gibi nedenlere bağlı olarak enterik bakterilerle kolonize olduğu gösterilmiştir. Trakea ve farenks kolonizasyonundan önce genellikle gastrik kolonizasyon görülmektedir (4,18).

Hastalarda kolonize olan bakteriler, hastane personelinin elleri aracılığıyla başka hastalara kolayca bulaşabilir ve bu bir kısır döngü olarak devam eder. Pseudomonas ve Acinetobacter türleri hastane ortamında uzun süre canlı kalabilmeleri nedeniyle bulaşmada özel önemi olan bakterilerdir. Trakeostomili ve entübe edilen hastaların sekresyonları yoğun bakım ünitesi havasında bu bakterilerin bulunabileceği gösterilmiş ve havanın gram-negatif bakterilerin bulaşmasında önemli bir yol olabileceği düşünülmektedir (19).

Kolonizasyon enfeksiyon gelişimi için önemli bir basamaktır. Bu süreç organizmaların epitelyal ya da mukozal hücrelere bağlanmalarını, çoğalmalarını ve bu alanda yaşamlarını sürdürmelerini içerir. Risk faktörlerinin etkisiyle kolonizasyonun enfeksiyona nasıl ilerlediği iyi anlaşılammış olmasına rağmen YBÜ'de gelişen nozokomiyal enfeksiyonların en az yarısında öncelikle o etkenle kolonizasyon olduğu belirlenmiştir. Bu risk faktörleri; uzun süre hastanede ve YBÜ'lerde yatış, invaziv girişimler, uzun süreli antibiyotik tedavileri ve gastrointestinal sistem (GİS) ve solunum sistemi florasının geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ile elimine edilmesidir. MRSA ve VRE kolonizasyon-enfeksiyon ilişkisi daha iyi belirlenmiştir (20,21). McConville ve ark. (22) karbapenem ve sefalosporin dirençli bakteri kolonizasyonunun enfeksiyonlar ile ilişkisini incelediği çalışmasında kolonizasyonun karbapenem dirençli etkenle enfeksiyon gelişmesi riskini belirgin olarak (Odds oranı: 10.8) artırdığını göstermişlerdir. Tüm bu bilgiler genelde YBÜ yatışı sürecinde kazanılan etkenlerin izlenmesi ile ortaya konulmuş bilgilerdir. Özellikle hastaların yatışları sürecinde bulunan mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar arasında net ilişki kuran çalışmalar kesin sonuçlara ulaşmamıştır (14).

2.3. Yoğunbakım Ünitesinde Enfeksiyondan Sorumlu Gram Negatif Bakteriler

2.3.1. Enterobacteriaceae

Gram-negatif bakterilerden Enterobacteriaceae'lar klinik örneklerden en sık izole edilen bakteri grubudur. Tüm üriner sistem enfeksiyonlarının % 70'ni, tüm sepsislerin de % 30-35'ini oluşturmaktadır (30). Enterobacteriaceae içerisinde bazı türler insan için her zaman patojendir (Salmonella, Shigella, Yersinia pestis), bazıları ise normal florada bulunur ve fırsatçı enfeksiyonlar oluştururlar (E. coli, K. pneumoniae, P. mirabilis). Bakterilerin bulaşması hayvanlardan ve/veya insanlardan olabilir. Bazen de insanın kendi florasında bulunan mikroorganizmalar endojen enfeksiyonlara yol açarlar (Örneğin E. coli). Enterobacteriaceae üyelerinin bir çoğu etken ya da izolat olarak apse, pnömoni, menenjit, septisemi ve yara, üriner sistem ve barsak enfeksiyonlarından elde edilmiştir.

Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler gram negatif, genellikle homojen boyanan, uçları yuvarlak görümlü, spor oluşturmeyen bakterilerdir. Çoğu hareketli, değişebilen anaeroplardır. Besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Tümü glikozu fermente eder, bazıları gaz oluşturur. Glikoz dışındaki birçok karbonhidratı da asit veya asit ve

gaz oluşturarak fermente ederler. Aminoasitleri dekarboksilasyon yoluyla parçalarlar. Katalaz pozitif ve oksidaz negatiftirler; nitratları nitritlere indirgerler; enterobakteriyel ortak antijen içerirler.

Escherichia içinde insanda en sık hastalık oluşturan tür E. coli'dir. Enterobacteriaceae'ya bağlı infeksiyonların yaklaşık % 20'sinden sorumludurlar. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık soyutlanan bakteridir. Gram-negatif, glikozu fermente eden, oksidaz enzimi negatif basillerdir. Ayrıca peritrik kirpikleri ile hareketlidirler. Birçok suşta polisakkarit yapısında bir kapsül bulunur. Bakteri laktozu asit ve gaz oluşturarak fermente eder, üreaz enzimi ve hidrojen sülfür oluşumu negatif, triptofandan indol oluşumu ise pozitifdir. Neonatal menenjit ve gastroenterit dışındaki infeksiyonları genellikle endojen kaynaklıdır. E.coli, Enterobacteriaceae içinde en sık üriner sistem infeksiyonu, neonatal menenjit, sepsis ve turist diyaresi oluşturan bakteridir. Yara yeri infeksiyonları, immünsüprese hastalarda sağlık hizmeti ilişkili pnömoniler ve peritonitler, sık karşılaşılan infeksiyonları arasındadır. E.coli sağlık hizmeti ilişkili gram-negatif bakterimilerde etken olarak ilk sırayı alır (23).

Klebsiella, geniş polisakkarit kapsülleri sayesinde besiyerlerinde M kolonileri oluşturur ve tümü hareketsizdir. Triptofandan indol oluşumu negatif, laktoz fermentasyonu ve üreaz enzimi pozitif olan ve en sık infeksiyon etkeni olan tür K. pneumoniae'dır. Bu bakteri normalde % 5-38 oranında sağlıklı insanların barsak ve solunum yolu florasında bulunur. Oluşturduğu en önemli hastalık alkoliklerde, akciğer fonksiyonları bozuk olan kişilerde pnömonidir. Tüm pnömonilerin % 2'sinden sorumludur (24).

Enterobacter spp., Serratia spp İse peritrik kirpikleri ile hareketli, sporsuz, hastanede enfeksiyonlar ve sıvıları kontamine ederek salgınlar oluşturan cinsler olarak karşımıza çıkar (24).

2.3.2. Acinetobacter

Acinetobacter cinsi bakteriler nonfermentatif, oksidaz -, Deoxyribonuclease (DNAaz)-, jelatinaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, zorunlu aerop üreyen gram negatif mikroorganizmalardır.  şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar. Bu bakteriler üremenin logaritmik fazında basil, üreme dışında ise kok şeklinde, daha çok

kokobasil, ikişerli, küme halinde veya kısa zincirsel görülürler. Bu yüzden Gram boyalı preparatların incelenmesinde Haemophilus ve Neisseria türleri hatta gram pozitif diplokoklarla karışabilirler (25) .

2.3.3. Pseudomonas

Pseudomonas aeruginosa, çoğu toprak ve suda bulunan, zor koşullarda üreyebilen, nemli ortamlarda uzun süre canlı kalabilen, normal florada bulunabilen bir bakteridir. Gram negatif, hareketli, kapsüllü, oksidaz ve katalaz pozitif, non-fermentatif bir çomaktır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen Gram negatif çomakların yaklaşık beşte birini oluşturmaktadır. Hastane kaynaklı infeksiyonların % 10-15'inden sorumludur. Bakterinin virulansını pili, kapsül, endotoksin, ekzotoksin ve elastaz oluşturur. Bu bakterinin neden olduğu infeksiyonlar çoğunlukla fırsatçı tipte olup, invazif girişimlere, yanıklara, cerrahi girişimlere ve mekanik ventilasyona bağlı olarak karşımıza çıkabilmektedir. Tedavi sırasında antibiyotik direnci geliştirebilme yeteneği nedeniyle yakından izlenmesi gerekir (25,26).

2.4. β -Laktam Grubu Antibiyotikler

2.4.1. β -Laktam Grubu Antibiyotiklerin etki mekanizması:

β -laktam grubu antibiyotikler bakteride hücre duvar yapımını engellemektedirler. Bu antibiyotiklerin hedefi peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazların inhibisyonu ve hücre duvar sentezinin durdurulmasıdır. Hücre duvar sentezinin transpeptidasyon evresini katalize eden "penisilin bağlayan proteinler (PBP)" dir. β -laktam antibiyotikler bu enzimlere bağlanınca enzimin kendi substratına bağlanmasını engellemekte, duvar sentezi inhibe olmakta ve bakteri lizise uğramaktadır.

Bu antibiyotikler başlıca dört grupta toplanmaktadır;

1- Penisilinler

2- Sefalosporinler

3- Monobaktamlar

4- Karbapenemler

Penisilinler: Penisilin G, prokain penisilin, depo penisilin (damariçi/kasiçi) (parenteral) ve penisilin V (ağızdan) (PO): Streptokok enfeksiyonları, sifiliz hastalığı, gibi bir çok durumda uzun yıllardır kullanılan ilk tercih antibiyotikler olmuştur. Gram-negatif bakterilerin çoğu ile stafilokok türlerinin çoğu, özellikle de hastane kökenli izolatlar, penisilinlere dirençlidirler. Daha dayanıklı penisilinler (penisilinaza dirençli) olanlar (kloksasilin, dikloksasilin, fluoksasilin, oksasilin, nafsilin özellikle stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Etki spektrumu genişletilmiş penisilinler: Ampisilin, amoksisilin, toplumda gelişen çok sayıda enfeksiyonda kullanılan antibiyotiklerdir. Bu grup içinde temel yapıya bazı ekler katılarak oluşan Pseudomonas aeruginosa'ya etkili penisilinler de geliştirilmiştir. (Antipseudomonal penisilinler: Karbenisilin, tikarsilin, piperasilin, ...)

Sefalosporinler: Çok geniş bir antibiyotik grubudur. İlk kuşaktakiler özellikle Gram-pozitif bakterilere etkili iken sonrakiler daha geniş spektruma sahip olmuştur. En son geliştirilen ve 5. Kuşak sefalosporin denilen gruptakiler ise beta-laktam antibiyotiklerin hepsine dirençli olan önemli bir enfeksiyon etkeni olan metisilin dirençli S.aureus (MRSA) bakterisine de etkilidir. Sefazolin tüm cerrahi girişimlerde profilaksi için kullanılan temel antibiyotiktir. Seftriakson ise toplumda gelişen önemli enfeksiyonlarda (Pnömoni, menenjit, ...) ilk tercih edilen antibiyotiktir.

Monobaktamlar: Aztreonam; sadece gram (-) bakterilere etkinliği vardır.

Karbapenemler: İmipenem, meropenem, ertapenem. Etki spektrumları en geniş beta laktamlardır. Son dönemlerde yoğun kullanımları nedeniyle karbapenem direnci giderek artan önemli bir sağlık sorunu konumuna gelmiştir.

Beta laktamaz inhibitörleri; Tazobaktam, sulbaktam, klavulanik asit beta laktamazlara bağlanarak onların etkilerin ortadan kaldırıp birarada buldukları beta laktamları aktif kılan yapılardır. Sulbaktam-ampisilin, klavulanat-amoksisilin, piperasilin-tazobaktam, sefaperazon-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat ve son yıllarda merpenem-varobaktam, seftazidim-avibaktam şeklinde yeni beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotikler kullanıma 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, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan β -laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir. 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 (27). Ancak pek çok antibiyotiğe olduğu gibi bu antibiyotiklere karşı da direnç giderek artmaktadır (28).

2.4.2 β -laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları:

Beta-laktam ajanlar hücre duvar sentezinin inhibisyonunda etkin olabilmek için dış zardan ve periplazmik aralıktan geçmesi, hücre zarındaki PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşması ve bağlanması gereklidir. Dirençli bakteriler bu basamakların her birinde beta-laktam ajanlar için bir engel oluşturabilirler. Örneğin, gram-negatif bakteriler porin kanallarını kapatarak geçişi zorlaştırabilir ve/veya periplazmik aralıktaki beta-laktamazlar beta-laktam antibiyotiği parçalayabilir, bazı bakteriler ise beta-laktamların iyi bağlanamadığı yeni veya değişmiş PBP'ler eksprese edebilir, *Pseudomonas aeruginosa* gibi bazı bakteriler ise aktif pompa sistemleri ile beta-laktamları hedefine ulaşmadan atabilirler. Beta-laktam ajanlara direnç üç genel mekanizma ile oluşmaktadır:

1. İlacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşmasının engellenmesi,
2. Hedef PBP moleküllerinin değişmesi,
3. İlacı inaktive eden beta-laktamazların üretimi.

Bu mekanizmalardan birinci ve sonuncusu gram-negatif bakterilerde, ikincisi ise gram-pozitif bakterilerde daha sık görülmektedir. Penisilin dirençli pnömokok, metisilin dirençli stafilokok izolatlarında saptanan direnç mekanizması böyledir. Beta-laktam antibiyotiklere direnç bu üç mekanizmanın birkaçının ortak etkilerinin bir sonucu olarak da ortaya çıkabilir (29).

Beta-laktam direncinde özellikle gram negatif bakterilerde yaygın olan direnç beta-laktamaz üretimidir. Beta laktamazlar en çok amino asit yapıları ile Ambler ve etkinlikleri ve inhibitörleri ile fonksiyonel özellikleri ile Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması ile sınıflanırlar (29-32). En sık rastlanan enzimleri gösteren ortak tablo ektedir.

Tablo-1 Sık rastlanan beta-laktamazlar (29)

Ambler Sınıfı	Bush Jacoby Medeiros sınıfı	Adı	Direnç profili	Örnekler
A	2b	Penisilinaz	penisilin,1.kuşak sefalosporin	TEM-1, SHV-1
A	2be	Genişlemiş spektrumlu (GSBL)	Penisilin, sefalosporinler, aztreonam Beta-laktamaz inhibitörleri etkili	SHV-2, CTX-M
A	2f	Karbapenemaz	Tüm beta laktam ve inhibitörlü kombinasyonlar	KPC
B	3	Metallo betalaktamaz	Aztreonam hariç tüm beta laktamlar, EDTA ile inhibisyon	VIM, IMP, NDM-1
C	1	Sefalosporinaz (indüklenebilir)	Penisilin, sefalosporinler (sefepim az etkilenir) İnhibitörler etkisiz	AmpC
D	2df	Karbapenemaz etkili oksasilinaz	Tüm beta laktamlar	OXA-23,OXA-48, OXA-58

2.5. Karbapenemler ve Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler antibakteriyel spektrumlarının genişliği, bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, beta laktamazlar (Amp C ve GSBL, ...) dayanıklı olma gibi özellikleri nedeniyle çoklu dirençli gram-negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarında ilk tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Karbapenemler geniş spektrumlu bir etki ile pek çok gram-negatif ve gram-pozitif bakteride ve anerop bakterilerde hücre duvarı yapımı için gerekli olan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak, bu enzimleri etkisiz hale getirmektedir. Karbapenemler farklı PBP afiniteleri nedeniyle farklı etkinlik göstermektedir. İmipenem ve meropenem benzer etkinliğe sahipken, imipenem PBP₁ ve PBP₂'ye bağlanırken, meropenem daha çok PBP2 ve PBP3'e seçici olarak bağlanmaktadır. Meropenem, E. coli'deki primer PBP hedeflerini, imipenemden daha düşük konsantrasyonlarda etkiler ve MİK değerleri daha düşüktür. Sefalosporinlerin tersine, PBP-1a ve 1b üzerine de etkinlikleri 'nin daha iyi olması nedeniyle hızlı bir bakterisidal etki yaratırlar. Bu etki ile, endotoksin salınımı da en aza indirgenmektedir Meropenem stabil yapısı nedeniyle uzun süreli infüzyona izin vermesi, merkezi sinir sistemine güçlü penetrasyonu ve çok daha az konvülziyon oluşturma riski nedeni ile imipeneme kıyasla belirli endikasyonlarda (menenjit) daha fazla tercih edilmektedir (33-37).

Antimikrobiyal aktiviteleri farklı karbapenemlerin geliştirilmesi nedeniyle karbapenemler de alt sınıflara ayrılabilir. Aerop ve anaerop patojenlere karşı etkin, ancak anti-psödomonal etkisi olmayan ertapenem, grup 1 karbapenem olarak sınıflanmıştır. Bu aktivite profili ile ertapenem, hastaneye başvuran ciddi toplum kökenli enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde önerilmektedir (38,39). İmipenem, meropenem ve doripenem ise grup 2 karbapenemleri oluşturmaktadır. Grup 2 ajanlar Acinetobacter spp. ve P.aeruginosa gibi etkenleri de kapsayan geniş spektrumlu aktiviteye sahiptir ve nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (44). Doripenem, nozokomiyal pnömoni, komplike intraabdominal ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Doripenem, in vitro olarak birçok gram-pozitif, Enterobacteriaceae ve anaerop patojenler dahil olmak üzere ayrıca P.aeruginosa'ya karşı artmış etkinliğe sahiptir (40,41).

2.6 Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları:

Karbapenemlerin özellikle ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması, karbapenemlere direnç gelişmesine neden olmuştur. Özellikle beta-laktamaz (GSBL, Amp-C) direncinin yaygınlığı karbapenem kullanımını çok büyük ölçüde arttırmış ve karbapenem direnci evrensel, büyük bir sorun olarak karşımıza çıkmıştır (42). Karbapenemlere karşı direnç dört etki mekanizması ile gelişebilmektedir (43,44):

A: Porin değişimleri: Antibiyotiklerin etki gösterebilmesi için hedeflerine ulaşması gereklidir. Örneğin, beta-laktam ajanlar PBP'lere bağlanabilmek için hücre duvarını aşmak vesitoplazmik zarın dış yüzüne ulaşmak zorundadır. Peptidoglikan tabaka, geniş aralıkları nedeniyle antibiyotiklerin hücre girişine engel oluşturmaz. Ancak, gram-negatif bakterilerin dış zarı yarı geçirgendir ve bu gram-negatif bakterilere gram-pozitiflerden farklı bir avantaj verir. Küçük hidrofilik moleküller dış zardan ancak porinler aracılığı ile geçebilir. Bu nedenle, porin proteinlerindeki yapının veya iyonik yükün değişmesi, özel porinlerin kaybı, hidrofilik moleküllerin girişini engellemektedir. Antibiyotiklerin porinlerden geçişi; şekli, büyüklüğü, yükü ve hidrofilik özelliklerine bağlıdır. Dış membranın özel bir beta-laktama karşı geçirgenliğinin az olması porin yapısı nedeniyle doğal olarak gerçekleşebileceği gibi sonradan gelişen bir değişim de oluşabilir. Karbapenemler de bu değişimden etkilenebilirler. Örneğin, *P. aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı sonucunda bu antibiyotiğe karşı direnç gelişmektedir. Porin kaybının tek başına yüksek düzey beta-laktam direncine yol açması nadirdir. Genellikle dirençli suşlarda porin kaybı ile birlikte aktif pompa sistemleri veya beta-laktamazın aşırı üretimi gibi başka bir mekanizma yer alır. *P.aeruginosa*'da Opr kaybı ile oluşan imipenem direnci kromozomal Amp C β -laktamaz varlığında enterik bakterilerde ise porin kaybı ile Amp C (*Enterobacter* spp) ve nadiren GSBL varlığında (*Klebsiella* spp.) gelişebilir. Porin kaybı ile gelişen direnç karbapeneme özgüdür ve diğer karbapenem duyarlı bulunabilir (45).

B. Aktif pompa (efluks) sistemleri: Bazı maddelerin ve bu arada antimikrobiyal ajanların hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa (efluks) sistemleri birçok antibiyotiğe karşı doğal veya kazanılmış dirençte önemlidir. Gram-negatif bakterilerin özellikle farklı grup çeşitli antibiyotiklere karşı direncinde aktif pompa sistemlerinin rolü olduğu belirlenmiştir. Biyolojik membranlar hidrofilik moleküller için etkin bir

bariyer iken, hem hidrofil hem lipofil özellik taşıyan bileşikler için daha geçirgendirler. Bu nedenle bakteriler bu bileşiklerin zararlı etkilerinden korunabilmek için aktif pompa sistemi gibi çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir.

Aktif pompa sistemleri, kullandıkları enerji kaynağı, transport yolu, filogenetik özellikleri, yapısal özellikleri ve substrat profillerine göre gruplara ayrılırlar. Beta-laktam antibiyotikler açısından en önemli grup RND (Resistance-Nodulation-Division) üst ailesidir ve üç proteinden meydana gelir, "Üç elemanlı pompa sistemleri" olarak adlandırılırlar. İç (sitoplazmik) zar üzerindeki pompa proteini, periplazmik aralıktaki bir membran füzyon proteini aracılığıyla dış membrandaki bir kanal sistemi ile ilişkilidir. Bu sistem substratların dışarıdan alındığı gibi tekrar dışarı atılmasını sağlamaktadırlar. *P. aeruginosa*'nın Mex AB-OprM pompa sistemi başta olmak üzere çok sayıda pompa sistemi bulunur, Bu pompa sistemleri uyarıldığında (up-regulation) beta-laktam ve diğer sınıf antibiyotikleri dışarı atabilir. Bu sistemlerin bir ilginç özelliği de substratları olan ilaçlardan herhangi birinin kullanımı ile indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olur. Örneğin, *P. aeruginosa* suşlarında, bir beta-laktam ile tedavi sırasında, MexAB-OprM ve/veya diğer pompa sistemleri aktive olursa sadece beta-laktamlara değil aynı zamanda kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim de direnç kazanabilirler. Buna mar (multiple antibiotic resistance) fenotipi adı verilmektedir. *E. coli* suşlarında da özellikle kinolonların kullanımı ile benzer bir sonuç oluşabilmektedir (46-49) .

C. Penisilin Bağlayan Protein Değişimleri: Hedef PBP'lerin yapısındaki değişim sonucunda beta-laktam antibiyotigin bağlanamaması karbapenemler için kazanılmış değil fakat doğal direncin anlaşılmasında önemli bir mekanizmadır. Bu tip direnç, gram-pozitif bakterilerde özellikle *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *Enterococcus faecium* gibi türlerin beta-laktam ajanlarla (karbapenemle) tedavisinde sorun oluşturmaktadır (50).

D. İlacı İnaktive Eden Enzimlerin Üretimi: Beta-laktamazlar, bu arada karbapenem yıkan enzimler (karbapenemazlar) Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere gram-negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizmadır. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir (51).

Karbapenamazlar: Karbapenamazlar, karbapenem direncine neden olan beta-laktamazlara verilen isimdir. Bu enzimlerin çoğu genelde yalnız karbapeneme değil diğer beta-laktamlara da etkilidirler. Karbapenamazlar intrinsik (kromozomal) veya ekstrinsik (kazanılmış) olabilirler. İntrinsik (kromozomal) karbapenamazlar arasında *Bacillus cereus* II, *Bacteroides fragilis*'in CcrA, *Burkholderia cepacia*'nın PCM-1, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L1, ... enzimleri sayılabilir. Bunların tümü metallo- β -laktamazlardır. Karbapenem hidrolize eden beta-laktamaz genlerinin çoğu kromozomal olarak kodlanır ve yavaş yayılır. Sınıf A, C ve D enzimler aktif bölgelerinde serin, Sınıf B ise aktif bölgesinde çinko içermektedir. Sınıf A, B ve D daha çok plazmid, sınıf C sefalosporinazlar ise çoğunlukla kromozom kontrolünde olan enzimlerdir. Ambler sınıflamasına göre karbapenamaz etkinliği olan enzimler büyük ölçüde A, B ve D grubunda yer alırlar (52):

Sınıf A β -Laktamazlar: TEM, SHV ve CTX-M tipi penisilinaz ve sefalosporinazlar ve karbapenamaz aktiviteli beta laktamaz gruplarına sahiptirler. Karbapenamaz aktiviteli A sınıfı beta laktamazlar, kromozom veya plazmidlerle kodlanabilir. Kromozom kodlu enzimler SME (*Serratia marcescens* enzyme), NMC (non-metalloenzyme carbapenemase) ve IMI (imipenem-hydrolyzing)'dir. IMI ve NMC, *Enterobacter* izolatlarında tanımlanmışken, SME az sayıdaki *S. marcescens* izolatlarında bulunmuştur. Plazmid kodlu enzimler KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) ve GES'i (Guiana extended spectrum) içerir. GES, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'da tanımlanmıştır. Klinik olarak en büyük öneme sahip sınıf A karbapenamaz KPC'dir. Bu enzim aktarılabılır plazmidlerin üzerinde bulunur ve tüm beta laktamlara direnç oluşmasını sağlar. KPC, *Klebsiella* 'dan *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Serratia*, ve *Enterobacter* spp.'ye aktarılabılır (51-53).

Sınıf B β -Laktamazlar: Beta laktamların efektif hidrolizi için çinkoya ihtiyaç duyduklarından metallo-beta-laktamazlar (MBL) olarak bilinirler. EDTA (bir iyon şelatörü) tarafından inhibe edilirken, tazobaktam, klavulanat ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmazlar IMP, VIM, GIM, SPM, ve SIM ortaya çıkmıştır. Metallo-beta-laktamazların hem doğal hem de kazanılmış çeşitleri vardır. Doğal metallo-beta-laktamazlar kromozomlar tarafından kodlanır ve *Aeromonas hydrophilia*, *Chryseobacterium* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*'da tanımlanmıştır. Kazanılmış MBL, türler ve cinsler arasında transfer olabilen büyük

plazmidler üzerindeki integronlar tarafından kodlanır. Hızla farklı türler arasında yayılabilmektedir. Enterobacteriaceae izolatlarının taşıdığı New Delhi metallo-beta-laktamaz (NDM-1) geni ilk defa Aralık 2009'da Hindistan'da Klebsiella pneumoniae'ye bağlı bir enfeksiyon nedeniyle hastanede yatan İsviçreli bir hastada tanımlanmıştır ve büyük bir hızla tüm dünyada, ayrıca diğer bakteri türlerinde yayılmıştır (53,54).

Sınıf D β -Laktamazlar: Penisilinden daha çok oksasilini hidrolize etmeleri nedeniyle OXA-tipi enzimler diye adlandırılmıştır. Klavulanat, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörlerinden etkilenirler. OXA karbapenemazları, Acinetobacter baumannii ve Enterobacteriaceae üyelerinde (özellikle K. pneumoniae, E. coli ve E. cloacae) tanımlanmıştır. Çok sayıda fazla enzim içeren karmaşık OXA grubu içerisinde değişen derecelerde karbapenem hidrolize eden ve karbapenem direncinde rolleri bulunan beş alt aile tanımlanmıştır: OXA-23, OXA-24/OXA-40, OXA-48, OXA-58, and OXA-51. OXA-51, A. baumannii türlerinde kromozomal olarak kodlanırken diğerleri aktarılabilmektedir. A. baumannii izolatlarında OXA-23, OXA -58 tip enzimler ön planda iken, Enterobacteriaceae izolatların OXA-48 tipi enzim karbapenem direnci ile ilişkili bulunmaktadır (53-55).

2.7 Yoğun Bakım Ünitelerinde Karbapenem Dirençli Bakteri Sorunu

YBÜ'nde en sık karşımıza çıkan karbapenem dirençli etkenler Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii ve Pseudomonas aeruginosa olmaktadır. Bu etkenlere karşı kısıtlı tedavi seçenekleri ve tedavi başlamadaki gecikmeler nedeni ile de karbapenem direnci ciddi bir mortalite sebebidir. Yakın gelecekte de bu çoğul dirençli mikroorganizmalar için yeni ve çok etkin bir tedavi seçeneğinin gündeme gelmesi olası gözükmemektedir. Bu bakımdan özellikle sağlık kurumlarında bu gibi dirence sahip kökenlerin yayılımlarının önlenmesi yüksek önem taşımaktadır (56,57).

Bu bakımdan genellikle enterik yolda kolonize olabilen bu etkenlerin yatış ya da başka merkeze (bir servisten diğerine, servisten yoğun bakıma ya da bir hastaneden bir diğer hastaneye) transferden önce taranması ve saptanması, temas önlemlerinin alınması ve izolasyonlarının yapılması yayılımlarının önlenmesi açısından önemli olacaktır. Ek olarak söz konusu kökenler ile gelişebilecek enfeksiyonların ampirik tedavisinde kullanılacak antimikrobiyal ajanlar daha isabetli bir şekilde seçilebilecektir. Bu sayede hızlı ve doğru uygulanacak tedavi ile mortalite oranları azaltılabilir. Bu bakımdan kolonize hastaların aktif surveyans sistemleri ile

taranması hayati önem taşımaktadır. Kolonize hastalarda çok yüksek oranlarda enfeksiyon gelişse de bu hastaların hepsinde enfeksiyon gelişmesi söz konusu değildir (58-60). Karbapenem direnci konusunda hastalığın ağırlığı, immunsupresyon, invaziv girişimler, antibiyotik tedavisi, başka bir birimde yatmış olmak,... gibi kolonizasyon için risk faktörleri tanımlanmıştır (61). Klasik belirtilen risk faktörleri yanında A.baumannii için çevresel kontaminasyon özellikle gündeme gelmektedir (62). Hastalara verilen bakım sıklığı, hastaya temasın artması da kolonizasyon yönünden bir risk yaratabilir. Bu süreci objektif olarak ölçmek için TISS-28 skoru kullanılabilir. Aslında başta hastalık şiddetini yansıtan bir skor olarak geliştirilmiş olmakla birlikte günümüzde daha çok hemşirelik aktivitelerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Yetmişaltı ayrı tedavi girişimini içeren TISS skorunun basitleştirilmesi ve 28 tedavi girişimine indirilmesi ile ortaya çıkarılmıştır ve günlük olarak hesaplanarak hemşirelik aktiviteleri değerlendirilir (63).

Bu çalışmada YBÜ'nde yatan hastalarda karbapenem dirençli gram negatif çomakların kolonizasyon açısından risk faktörlerinin belirlenmesi, epidemiyolojik veri eldesi ile kolonizasyonu belirleyen risk faktörleri ve bakım süreci yoğunluğunun kolonizasyona etkisi araştırılması planlanmıştır. Ciddi mortalite ile seyredilen bu enfeksiyonların yönetiminde izlenebilecek stratejiler ve alınabilecek önlemlere dair kanıta dayalı verilere ulaşmak hedeflenmektedir.

3.YÖNTEM VE GEREÇ

3.1. YÖNTEM

Çalışma 13 yataklı cerrahi ve dahili bir YBÜ olarak hizmet veren Sadi Sun Yoğun Bakım Ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Ünite Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından aktif olarak izlenmekte ve hergün Enfeksiyon Hastalıkları uzmanları tüm hastaları konsülte etmekte ve sürveyans formlarının doldurulmasına yardımcı olmaktadır. Antibiyotik tedavileri Enfeksiyon Hastalıkları uzmanı ve ünite ekibi tarafından birlikte belirlenmekte ve ampirik tedaviler de ortak kararlarla uygulanmaktadır.

Çalışma 01 Nisan–01 Ekim 2017 tarihleri arasında altı aylık periyotta gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresinde üniteye yatan tüm 18 yaş üstü ve 48 saatten fazla yatan hastalar değerlendirmeye alınmıştır. Hastalardan/vekillerinden onay alındıktan sonra sürveyans kültürleri alınıp ve standart bilgiler içeren Kolonizasyon Çalışma Formu (FORM 1) doldurulmuştur. Tüm hastalardan mutlaka en geç ilk 48 saat içerisinde kolonizasyon için ağız/boğaz sürüntüsü (entübe olan hastalarda ETA örneği), cilt sürüntüsü (havuz yöntemi ile: önce sol ve sağ koltuk altı sonra aynı eküvyon sol ve sağ kasık bölgelerinden) ve rektal sürüntü örnekleri alınmıştır. Bu örnekler hastanın yatışının 3. gününde ve haftalık olarak tekrarlanmıştır. Herhangi bir örnekte karbapenem dirençli enterik bakteri, P.aeruginosa ya da A.baumannii saptanan hastalar kolonize olarak tanımlanmıştır.

Hastaların girişim yoğunluğu Terapötik Girişim Skorum Sistemi-28 (TISS-28) formu (FORM 2) kullanılarak izlenmiştir. Bu skorları günlük olarak YBÜ servis hemşiresi doldurmuş sonra üç ve varsa yedi günlük ortalamaları alınarak değerlendirilmiştir.

FORM(1): Yoğun Bakım Ünitesi Kolonizasyon Çalışma Formu

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ KOLONİZASYON ÇALIŞMASI FORMU

Adı-soyadı :

(Yatak) no :

Cinsiyet : E () K ()

Yaş:

Servise Yatış Tarihi :

APACHE II Skoru :

Hastane Yatış Tarihi:

Yatış Tanısı :

.....
Geldiği Yer: Başka hastane () Servis () Toplum ()

Transferde enfeksiyon: Yok () Var ()

ETKEN:

Altta Yatan Hastalık

İnvaziv Girişimler

Böbrek yetmezliği

SVK

Diabetüs mellitüs

ÜRİNER KATETER

Malignite

ENTÜBASYON/MV

KOAH

NAZOGASTRİK TÜP

İmmünespresif tedavi

TORAKS TÜPÜ

Nörolojik bozukluk

DEKÜBİT

Cerrahi Girişim (SON BİR AYDA) : Var () Yok ()

Hastane yatışı (SON BİR YIL) : Var () Yok ()

Antibiyotik kullanımı Son üç ay Var () Yok ()

1.....

2.....

3.....

4.....

SONUÇ: EXİTUS ()

ÇIKIŞ ()

TARİH:

FORM (2): Terapötik Girişim Skorum Sistemi-28 (TISS) Formu

TISS 28 FORMU	Puan	Evet	Hayır
Temel aktiviteler			
Standart monitörizasyon: saatlik vital bulgu, düzenli sıvı takibi ve kaydı	5		
Laboratuvar: biyokimya ve mikrobiyolojik tetkikler	1		
Tek ilaç uygulaması, herhangi bir yol (po, iv, im, vs)	2		
Çoklu intravenöz ilaç uygulaması (puşe ya da sürekli infüzyon)	3		
Düzenli giysi değişimi: bakım, dekübit bakımı, günlük giysi değişimi	1		
Sık giysi değişimi (her shiftte en az bir kez)ve/veya ağır yara bakımı	1		
Drenlerin takibi (gastrik tüp hariç tümü)	3		
Kardiyovasküler destek			
Tek vazoaktif ilaç uygulaması (herhangi biri)	3		
Çoklu vazoaktif ilaç uygulaması (tip ve doz önemsiz)	4		
Ağır sıvı kayıplarında iv replasman (yaklaşık 5 lt/gün, verilen sıvı tipi önemsiz)	4		
Periferik arteriyel kateter	5		
Sol atriyum monitörizasyonu: pulmoner arter kateteri	8		
Santral venöz kateter	2		
Son 24 saat içerisinde kardiopulmoner resüsitasyon	3		
Özel girişimler			
Bir kerelik özel girişimler (entübasyon, pacemaker takılması, kardiyoversiyon, endoskopiler, son 24 saat içerisinde acil cerrahi girişim, gastrik lavaj)	3		
Çoklu özel girişimler (yukarıdakilerden en az ikisi)	5		
YBÜ dışında yapılan girişimler: cerrahi ya da girişimsel	5		
Solunum desteği			
Mekanik ventilasyon: PEEP destekli/desteksiz tüm asiste modlar, PEEP ile spontan solunum	5		
Tamamlayıcı ventilasyon desteği: PEEP olmadan endotrakeal tüp ile spontan solunum, oksijen desteği	2		
Yapay havayolu bakımı: endotrakeal tüp, trakeostomi	1		
Akciğer fonksiyonlarını düzeltmeye yönelik tedavi: göğüs fizyoterapisi, spirometri, inhalasyon tedavisi, intratrakeal aspirasyon	1		
Renal destek			
Hemofiltrasyon	3		
İdrar çıkışı takibi	2		
Aktif diürez uygulaması (furosemid >1tb ya da 2 amp /gün)	3		
Nörolojik destek			
Intrakraniyel basınç ölçümü	4		
Metabolik destek			
Komplike metabolik asidoz/alkaloz tedavisi (pH<7,30 ya da >7,45)	4		
Intravenöz hiperalimentasyon	3		
Enteral besleme (tüp ya da diğer gastrik yollar-gastrostomi ile)	2		
TOPLAM PUAN			

FORM :3 Acute Physiology And Chronic Health Evaluation APACHE II Skoru

Fizyolojik Değişkenler	Yüksek Anormal Değerler				0	Düşük Anormal Değerler			
	+ 4	+ 3	+ 2	+ 1		+ 1	+ 2	+ 3	+ 4
1.Ateş	41>=	39-40,9		38,5-38,9	36.0-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	>29.9
2.Ortalama arterial basınç	>=160	130-159	110-129		70-109		50-69		<=49
3.Kalp hızı	>=180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	<=39
4.Solunum hızı	>=50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<5
5.Oksijenizasyon a:FiO ₂ ≥0.5 üstü (ADO2) b:FiO ₂ < 0.5altı (mmHg)	>=500	350-499	200-349		<200				
					PO ₂ >70	PO ₂ 61-70		PO ₂ 55-60	PO ₂ <55
6.Arterial PH	>=7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7,25-7.32	7.15-7.24	<7.15
7.Serum Na (mMol/L)	>=180	160-179	155-159	140-154	130-139		120-129	111-119	<=110
8.Serum K (mMol/L)	>=7	6-6,9		5.6-5,9	3.5-5,4	3-3,4	2.5-2,9		<2.5
9.Serum Cr (mg/dl)	>=3.5	2-3,4	1.5-1,9		0.6-1,4		<0.6		
10.Hematokrit(%)	>=60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
11.Beyaz küre sayısı	>=40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
12.Glasgow skalası (GKS)			15 Gerçek GKS						

Glasgow Koma Skoru Değerlendirmesi.

GKS (Glasgow Koma Skoru)	GÖZ YANITI	SÖZEL YANIT	MOTOR YANIT
	Spontan 4	Oriyente 5	Emirlere uyuyor 6
	Sözel uyarı 3	Konfüze 4	Ağrıyla lokalize ediyor 5
	Ağrılıuyarı 2	Uygunsuz 3	Çekiyor 4
	Yok 1	Yetersiz 2	Anormal fleksiyon 3
		Yok 1	Anormal ekstansiyon 2
			Yok 1

Yaş Skorlamasının Değerlendirilmesi.

PUAN	0	2	3	5	6
YAŞ	≥44	45-54	55-64	65-74	≤ 75

- Total Akut Fizyolojik Skor: 12 parametrenin puanları toplamıdır.
- Yaş Skoru: Yaş skorlamasında hastalar; <44 yaş, 45-54 yaş, 55-64 yaş, 65-74 yaş ve >75 yaş olarak beş guruba ayrılır ve her birine puan verilir.

3.1.1. Örneklerin Çalışılması ve Değerlendirme

Ağız, endotrakeal aspirat örneği, rektal ve cilt sürüntü (koltuk altı, kasık) örnekleri, steril şartlarda 10 mikrogram meropenem diski (Oxoid) bulunan 5 ml'lik Triptik Soy Broth (TSB)'a konuldu. 35±2°C 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bir gece inkübasyon sonrasında sıvı besiyeri vorteksledi. Bulanık olan süspansiyondan 100µl alınıp Chromogenic agar besiyerine (CHROMagar Orientation [BBL Becton Dickinson, USA]) azaltma yöntemiyle ekimi yapıldı. Bu besiyeri 35±2°C 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bulanık olmayan TSB tüpleri tekrar değerlendirilmek üzere 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Üreyen bakteri kolonilerinden tipik pembe koloniler E.coli olarak kabul edildi. Yeşil-mavi koloniler Klebsiella sp., Enterobacter sp., Serratia sp ayrımı için TSI (Üç Şekerli Demirli Agar) besiyerine, sitrat besiyerine, glukoz besiyerine ve MIO (Hareket, İndol, Ornitin) besiyerine pasajlar alındı. Bir gün sonra pasajlar değerlendirildi. Hareketsiz olanlar Klebsiella spp olarak tanımlandı.

Acinetobacter sp. ve Pseudomonas sp. ayrımı için beyaz ya da saydam-yeşil pigmentli koloniler oksidaz, pigment oluşumu, 37°C ve 42°C'de üreme özellikleriyle tanımlandı.

Tüm bu bakterilerden hazırlanan süspansiyonlar Müller Hinton besiyerine ekildi, disk difüzyon yöntemi ile karbapenem duyarlılıkları yeniden incelendi. Bir gece inkübasyon sonrasında EUCAST kriterlerine uygun olarak değerlendirildi. Bu çalışma sonunda dirençli bulunan izolatlar karbapenem dirençli olarak tanımlandı.

Tablo 2: Karbapenem direnci için Meropenem disk difüzyon yöntemiyle belirlenen zon çapları

Antimikrobiyal İlaç	Disk İçeriği	Bakteri Adı	Dirençli	Duyarlı
Meropenem	10µg	Enterobacteriaceae	≥22	<16
		Acinetobacter	≥21	<15
		Pseudomonas	≥24	<18

Tez projemiz, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 05/04/2017 tarihli ve 132263 sayılı görüşmede onaylandıktan sonra çalışma başlatılmıştır. Onayların alınması ve bilgilendirme çalışması tarafından sağlanmıştır.

Veriler SPSS programı kullanılarak Student-t ve ki-kare testleri ile değerlendirilmiştir. İstatistiki anlamlılık sınırı olarak ($p < 0.05$) belirlenmiştir.



3.2. GEREÇLER:

3.2.1 Kullanılan Besiyerleri

3.2.1.1. Mueller Hinton Agar Besiyeri

Deneylerimizde, üretici firmadan (Oxoid) 500 g'lık kutuda hazır olarak alınan Mueller Hinton agar besiyeri kullanılmıştır. Üzerindeki prosedüre göre 38 g toz, 1000 ml distile suda eritilmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra petri kutularına 4 mm kalınlıkta olacak şekilde dökülmüştür. Bu besiyeri disk difüzyon yöntemi ile duyarlılık testleri için kullanılmıştır.

3.2.1.2. Chromogen Agar Besiyeri

Saf Su

1 Litre

Kromopepton	16,1 g
Kromojen Karışımı	1,3
Agar	15,0

Besiyeri prosedüre uygun olarak hazırlandıktan sonra, pH 6,9'ya ayarlanarak, 121°C' de 15 dakika steril edildi. Besiyeri 45-50°C' ye soğutulduktan sonra, 8 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı.

3.2.1.3. Üç Şekerli Demirli Agar Besiyeri (TSI)

Besiyeri üretici firmadan (Acumedia) 2,5 kg'lık kutuda hazır olarak alınmıştır. Üzerindeki prosedüre göre 60 g toz 1000 ml distile suda eritildi ve tüplere dağıtılmıştır. Tüpler, 121°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra dip kısımda yaklaşık 2,5 cm besiyeri olacak şekilde yatık konumda soğutulmuştur. Bu besiyeri, dekstroz, laktoz ve sükroz fermentasyonu ile hidrojen sülfid üretimi özelliklerinin belirlenerek, Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin tanımlanmasında kullanılmıştır.

3.2.1.4. Dekstroz (D) Besiyeri

Balıklı buyyon (1/5 sulandırılmış)	100 ml
Bromtimol mavisi eriyiği (%0,4)	1 ml
Agar agar	1,5 g
Dekstroz	2 g

İlk üç madde karıştırılarak 100°C'de, 1 saat ısıtılmıştır. İçine 2 g dekstroz katılarak eritilmiştir. Tüplere 5'er ml olarak bölünmüş ve buğu kazanında 100°C'de, 30 dakika ısıtılıp dik olarak soğutulmuştur.

Bu besiyeri, gram negatif çomakların, dekstroza oksitleyici ve fermentleyici etkisinin, asit, gaz ve asetoin yapımının araştırılmasında kullanılmıştır.

3.2.1.5. Sitrata Besiyeri

Agar agar	20 g
Sodyum klor	5 g
Ammonium dihidrojen fosfat	1 g
Dipotasyum fosfat	1 g
Magnezyum sülfat	0,2 g
Sodyum sitrat	3 g
Bromtimol mavisi eriyiği	0,08 g
Distile su	1000 ml
pH	6,8

Maddeler karıştırılıp eritildikten sonra tüplere 5'er ml dağıtılıp 100°C'de 1 saat otoklavda steril edilmiştir. Tüpler, dip kısımda yaklaşık 2,5 cm besiyeri olacak şekilde yatık konumda soğutulmuştur. Bu besiyeri gram negatif bakterilerin karbon kaynağı olarak sitrattan yararlanıp yararlanmadıklarını ortaya çıkarmak için kullanılmıştır.

3.2.1.6. Hareket, İndol, Ornitin Besiyeri (MIO)

Besiyeri üretici firmadan (Becton Dickinson) 500 g'lık kutuda hazır olarak alınmıştır. Üzerindeki prosedüre göre 31 g toz 1000 ml distile suda eritilmiş ve tüplere dağıtılmıştır. Tüpler, 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Bakterinin iğne öze ile besiyerine ekimi ve inkübasyon sonrası ekim hattı ile sınırlı olmayan yaygın üreme hareket varlığını göstermiştir. Dekstrozun fermentasyonu sonucu oluşan sarı rengin, mora dönüşümü ornitin dekarboksilaz varlığında putresin oluşumunu göstermiştir. Kovac ayırıcı eklendiğinde oluşan kırmızı renk indol pozitifliği olarak değerlendirilmiştir. Bu besiyeri Enterobacteriaceae üyelerinin hareket, ornitin dekarboksilaz aktivitesi ve indol üretiminin belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.2.1.7. Triptik Soy Broth

Kazein	17 g
K ₂ HPO ₄	2,5 g
Dekstroz	2,5 g
NaCl	5 g
Soya peptonu	3 g

Besiyeri üretici firmadan (HİMEDİA) 500 g'lık kutuda hazır olarak alınmıştır. Üzerindeki prosedüre göre 30 g toz 1000 ml distile suda eritilmiş ve tüplere dağıtılmıştır. Tüpler, 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Bu besiyeri karbapenamaz üreten Gram-negatif bakterilerin izolasyonu için içerisine 10µg meropenem diski konularak kullanılmıştır.

3.2.2. Bakteri Tanımında Kullanılan Ayıraçlar ve Yapılan Deneyle

3.2.2.1. Oksidaz Aktivitesinin Gösterilmesi

Kovac's ayırıcı (suda %1 tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorür çözeltisi) kullanılmıştır. Bir petri kutusu içine süzgeç kağıdı konup ortasına 2-3 damla ayıraç damlatılmıştır. Bakteri kültüründen steril öze ile alınarak kağıt üzerine sürülmüştür. Koyu mor rengin oluşumu oksitlenmenin varlığını ifade ettiğinden pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Altı aylık periyotta yatan 52 hastadan toplam 36 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Diğer hastalar 48 saatten önce YBÜ'nden ölüm ya da iyileşme nedeniyle ayrılmışlardır. Bu hastalardan 12'sinde (% 33.3) yatışında kolonizasyon saptanmıştır. Kolonizasyon saptanmayan 24 olgunun YBÜ yatışları sırasında sekizinde kolonizasyon saptanmış (% 33.3) ve toplam 16 olguda çalışma sürecinde kolonizasyon hiç saptanmamıştır. Özetle YBÜ yatan hastaların üçte biri yatışta kolonize bulunurken kolonize olmayan hastaların üçte biri YBÜ sürecinde kolonize olmuştur. Kolonizasyon saptanan olgularda saptanan enterik bakterilerin tümü Klebsiella cinsi olarak tanımlanmıştır.

Yatışında kolonizasyon saptanan olguların dördünde bir bölgede, altısında iki bölgede ve ikisinde üç bölgede kolonizasyon saptanmış, kolonizasyon alanı olarak en sık rektal bölge olduğu belirlenmiştir. Bir hastada üç farklı etkenle kolonizasyon varken üç hastada iki etken birlikte saptanmıştır. Etkenler hemen hemen eşit sayılarda bulunmuştur.

Tablo-3 : Yatışta kolonize olan hastaların odak ve etkenlere göre dağılımı

	Yatışta Kolonizasyon			
	Klebsiella	Pseudomonas	Acinetobacter	Toplam
Cilt	2	3	2	7
Rektal	5	4	2	11
Ağız	1	-	2	3
ETA	2	3	3	8
Toplam	10	10	9	29

Yatışında kolonizasyon saptanması ile ilişkili risk faktörlerinin değerlendirilmesi Tablo-4'de verilmiştir.

Tablo-4 : Yatışta kolonize olan hastaların özellikleri

	Yatışta Kolonize Olanlar (12)	Yatışta Kolonize Olmayanlar (24)	p değeri
Yaş	46,42 (18- 96)	62,17 (25 - 91)	0.027
Cinsiyet	K: 5 E: 7	K: 15 E: 9	0.285
APACHE II	20,08 (7- 30)	22,42 (11- 37)	0.368
Yatış Enfeksiyon Tanısı Olan	9	15	0.709
SVK	4	18	0.028
Üriner Kateter	9	21	0.378
Malign Hastalık	3	14	0.058
Exitus	5	14	0.345

Risk faktörleri değerlendirildiğinde ileri yaş ve SVK varlığının kolonizasyon konusunda koruyucu etkisi yönünde anlamlı sonuç olduğu görülmüştür. Bu bulguların örneklem azlığı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Yatışında kolonizasyon saptanmayan 24 olgudan takiplerinde kolonizasyon saptanan sekiz hastanın gün ve kolonizasyon yerine göre dağılımı Tablo-5'de gösterilmiştir.

Tablo-5 : Yatıştan sonra kolonize hastaların gün ve üreme yerleri dağılımı

Yatıştan Sonra Kolonize Olanların Güne Göre Üreme Yerleri					
	0.gün	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün
1			Δ		
2		□○Δ			
3		□○Δ			
4		Δ	Δ□	Δ□	
5			*	○	Δ□○
6		○	○	Δ□	□
7			○□		
8		*Δ□	*Δ□	*Δ□	
<p>□ Rektal * Cilt Δ Ağız ○ ETA</p>					

Hastalardan beşinde üçüncü günde herhangi bir bölgede kolonizasyon saptandığı gözlenmiştir. Yatıştan sonra kolonize olan olgularda gün ve etkenlere göre dağılım Tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo-6 : Yatıştan sonra kolonize olanların günlere göre üreyen bakteriler

Yatıştan sonra Kolonize Olanların Güne Göre Üreyen Bakterileri					
Hasta sayısı	0.gün	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün
1			A		
2		P, A			
3		P, A			
4		A	A	A	
5			K	A, P	A
6		A	A	A	A
7			K		
8		A, K	A, K	P, K	

K = Klebsiella

P = Pseudomonas

A = Acinetobacter

İlk üç gün içinde özellikle Acinetobacter ile kolonizasyon geliştiği özellikle Klebsiella kolonizasyonunun daha geç oluştuğu görülmektedir.

Yatarken kolonizasyon gelişiminde etkili olabilecek faktörler Tablo-7’de incelenmiştir.

Tablo-7: Yatıştan sonra kolonize olan ve hiç kolonize olmayan hastalar :

	Yatıştan Sonra Kolonize Olanlar (8)	Hiç Kolonize Olmayanlar (16)	p- değeri
Yaş	64,25 (25 - 91)	61,31 (29 -86)	0.702
Cinsiyet	K:5/ E:3	K:10/ E:6	NS
APACHE II	24,25 (16 - 37)	21,5 (11 - 29)	0.450
Yatışta Enfeksiyon Tanısı Olan	7	8	0.087
SVK	5	13	0.302
Üriner Kateter	7	14	NS
Maling Hast	3	11	0.203
TISS 3.gün	35,3 (30 - 44)	31,25 (18,6 - 43)	0.126
TISS 7.gün	33,39 (27,5 - 40)	32,65 (22,7- 39,1)	0.236
Exitus	5	9	NS

NS : Not significant (anlamsız)

TARTIŞMA

YBÜ dirençli bakteriler ile gelişen enfeksiyonlar konusunda riskin çok büyük olduğu birimlerdir. Özellikle son yıllarda karbapenem dirençli Gram-negatif çomaklar ilk sıralarda saptanan etkenler olmaktadır. Bu etkenler arasında Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii ve Pseudomonas aeruginosa en önemli sorunlar olarak tanımlanmaktadır (65,66).

Ülkemizde yapılan ve YBÜ bakteriyemi etkenlerini araştıran birçok merkezli çalışmada Klebsiella pneumoniae karbapenem direnci % 40, P.aeruginosa için % 43 ve A.baumannii için % 94 bulunmuş ve karbapenem direnci mortalite için bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (67).

Hastanemizde ise YBÜ'nde karbapenem dirençli A.baumannii sık rastlanan ve salgınlar oluşturan endemik bir etken konumundadır (68). Son yıllarda özellikle karbapenem dirençli K.pneumonia ilişkili enfeksiyonlarda belirgin artış saptanmaktadır (69).

Kolonizasyon ile enfeksiyon ilişkisi VRE, MRSA gibi etkenlerde çok iyi bir şekilde tanımlanmış durumda iken Gram-negatif etkenlerde ve özellikle karbapenem dirençli Gram-negatif çomaklardaki ilişki yeterince tanımlanmamıştır (14,70). Buna rağmen kolonizasyon izlenmesi için aktif sürveyans kültürlerinin alınmasının salgınların önlenmesinde -özellikle temel önlemler etkisiz kaldı ise- etkili olduğu, karbapenem dirençli enterik bakteriler gibi giderek artan ve özellikle öncelikle gastrointestinal sistemde kolonizasyon saptanan etkenlerde başarılı bulunduğu belirtilmektedir (14). Hastanemizde YBÜ ve Hematoloji kliniklerinde aktif sürveyans çalışmaları uzun yıllardır devam etmektedir.

Kolonizasyon-enfeksiyon ilişkisi konusunda Blot ve ark (71), YBÜ'nde izledikleri hastalarda 157 bakteriyemi atağını incelemişler ve bu ataklardan % 74.5'inde bakteriyemi öncesi ki gün içinde etkenin kolonize olarak saptandığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar ampirik antibiyotik tedavisinde kolonizasyon verilerinin faydalı olacağını belirtmektedirler. Papadomichelakis E ve ark. (72) yaptıkları retrospektif değerlendirmede yedi gün öncesine kadar solunum yolunda kolonizasyon saptanan etkenin ventilatör ilişkili pnömonilerde etkeni göstermek için ve sindirim sisteminde kolonize olanların ise bakteriyemi etkenini tahmin etmekte faydalı

olduklarını saptamışlardır. Bu bilgiler ışığında Tacconelli E ve ark. (73) kolonizasyonun ortadan kaldırılmasının enfeksiyon önlemedeki rolünü araştıran araştırmalardan yola çıkarak bir rehber çalışması yapmışlar, bu çalışmada dekolonizasyon ile enfeksiyonların önlenmesi konusunda öneri yapmak için yeterli veri bulunmadığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada öne çıkan bir diğer konu immunsupresif olgularda bu konuda veri oluşmasına gereksinim duyulduğu olmuştur. Çalışmamızda kolonizasyon enfeksiyon ilişkisi konusunda değerlendirme sayı azlığı nedeniyle yapılamamıştır.

Karbapenem dirençli enterik (KDE) bakteriler için risk faktörleri olarak; daha önce antibiyotik kullanılması (karbapenem ya da diğer antibiyotikler), yüksek komorbidite skoru, yatağa/kişiye bağımlı olmak, başka bir merkezde sağlık hizmeti almak, invaziv işlemler ilk sıralarda sayılmaktadır. İleri yaş ve immunsupresyon da risk faktörleri arasında sayılsa da bu konuda çelişkili sonuçlar alınabilmektedir (74). Hangi hastalar için kolonizasyon taraması yapılacağı konusunda ülkeler ve hastaneler farklı davranışlar geliştirmişlerdir. Bazı ülkelerde hastaneye başvuran tüm hastalarda kolonizasyon taraması önerilmişken (75) bir rehberde özellikle KDE için riskli ülke, birimlerden gelenlerin, mahkumların, son altı ayda başka bir hastanede yatanların, yatak/kişi bağımlılığı olanların taraması ön plana alınmaktadır (76).

Kiddee ve ark (77) yaptıkları çalışmada 275 olgunun YBÜ yatışı sırasında karbapenem dirençli bakterilerle kolonizasyonunu araştırmışlar toplam 32 olguda (% 11.6) kolonizasyon saptamışlar ve en sık etkeni olarak A. baumannii olarak saptamışlardır. Kolonizasyon konusunda anlamlı risk faktörü olarak son altı ayda hastane yatışının önemli olduğunu belirlemişlerdir. Papadimitriou-Olivgeris ve ark. (78) Yunanistan'da yaptıkları çalışmada KPC (+) karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae kolonizasyonunu araştırmışlar, 405 hastanın 52'sinde (% 12.8) kolonizasyon saptamışlardır. En önemli risk faktörleri olarak daha önce YBÜ yatışı, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), daha önce hastanede kalış süresi, karbapenem ve beta laktam/beta laktamaz kombinasyonu kullanımını anlamlı risk faktörleri olarak tanımlamışlardır. Çin'de 2015-2017 yıllarında çok merkezli ve 71880 P.aeruginosa izolatının incelendiği bir çalışmada coğrafi ve mevsimsel farklılıklar olduğu saptanmış, 60 yaş üzeri, YBÜ yatışı karbapenem direnci için bir risk olarak tanımlanmıştır (79).

Çalışmamızda yatışta kolonizasyon % 33.3 gibi yüksek bir oran olarak saptanmış; etkenler arasında *K. pneumoniae* (10 izolat), *P.aeruginosa* (10 izolat) ve *A.baumannii* (9 izolat) yaklaşık sayılarda bulunmuştur. Olgularda çok sayıda etkenle kolonizasyon saptanması düşündürücüdür. Çalışmamızda ileri yaş ve SVK varlığı kolonizasyon konusunda koruyucu bir faktör gibi görünmektedir. Bu diğer çalışmalarla çelişen bir veridir. Olgu sayısının azlığı ve YBÜ yatan hasta dağılımının bu sonuç oluşmasında katkısı olduğu düşünülebilir.

Kiddee ve ark (77) çalışmanın devamında YBÜ yatışı sırasında gelişen kolonizasyonu da değerlendirmişlerdir. Çalışma sırasında 206 olgunun 52'sinde (% 25.2) kolonizasyon geliştiğini bulmuşlar en sık etken olarak *A.baumannii* 'yi (28 izolat) saptamışlardır. Yatış sürecinde kolonizasyon gelişmesinde; enteral beslenme tübü olması, üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem kullanımı risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Dantas ve ark (80) Brezilya'da yaptıkları vaka-kontrol temelli çalışmalarında ise yüksek APACHE skoru, ağır KOAH, hemodiyaliz kateteri, santral venöz kateter ya da mekanik ventilasyonu risk faktörü olarak tanımlamışlardır.

Çalışmamızda YBÜ yatışı sırasında kolonizasyon oranı % 33.3 (8/24) bulunmuştur. üç gün içinde kolonizasyon gelişmesi (5/8) ve en çok kolonizasyonun *A.baumannii* ile olması (5/8) ünitede bu etkenle ilgili enfeksiyon kontrolü sorunları olduğunu düşündürmektedir. Yaş, cinsiyet, APACHE II skoru, yatışta enfeksiyon tanısı, SVK, üriner kateter, malign hastalık varlığı, TISS-28 skoru anlamlı bir risk olarak tanımlanmamıştır.

YBÜ invaziv uygulamalar ve altta yatan hastalığın ağırlığı kolonizasyon yönünden risk oluşturmaktadır. Terapötik girişimlerin, hastaya uygulanan bakım ve tedavi girişimlerinin sayısının kolonizasyona etkisi konusunda kesin veriler bulunmamaktadır. Teröpetik girişimlerin yoğunluğu ve hastanın prognozunu ön görmek için TISS skoru kullanılmıştır (81). Bou ve ark (82) *A.baumannii* salgınında bir çok önlemlerle beraber hemşire çalışma yükünü TISS ile izlemiş ve diğer önlemlerle beraber iş yükünü azlatmanın salgın ile mücadele de önemli olduğunu belirlemişlerdir. Girou ve ark (83) yaptıkları araştırmada YBÜ kaynaklı çok sayıda hastane enfeksiyonlarının yüksek TISS skoru ile ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Gastmeier ve ark (84) TISS ve APACHE II skorlarını nozokomiyal enfeksiyon sörveyansı için uygun bir veri olup olamayacağını araştırmışlar ve uygun olmadığını

belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda TISS 3. Ve 7. günlerdeki ölçümler kolonizasyon yönünden anlamlı bir ilişki ortaya koymamıştır. Özellikle 7. Gün yapılan ölçüm sayısı azlığı bu verinin tartışılmasını zorlaştırmaktadır.

Bu çalışmanın birçok kısıtlı yanı bulunmaktadır. Planlanan zaman diliminde çalışmaya uygun hasta başvurusu azlığı nedeniyle çalışma grupları beklenen sayılara ulaşmamıştır. Kolonizasyon enfeksiyon ilişkisi çalışmada yer almamıştır. Çok kompleks hasta grupları varlığı ve ekonomik nedenlerle moleküler tiplendirme ile kolonizasyon-enfeksiyon ilişkisi kurulamayacak olması bu yönden inceleme yapmaya engel olmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda YBÜ yatan hastalarda yoğun karbapenem dirençli Gram-negatif bakteri kolonizasyonu olduğu, kolonize olmayan olguların yaklaşık üçte birinin YBÜ'nde genelde ilk üç içinde ve sıklıkla A.baumannii ile kolonize hale geldiği görülmüştür. Kolonizasyonla ilgili belirgin risk ve özellikle terapötik indeks (TISS) yönünden anlamlı fark saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Pittet D, Harbarth SJ. The intensive care unit: Part A. HAI Epidemiology, risk factors, surveillance, engineering and administrative infection control practice, and impact. In: Jarvis WR (ed.) Hospital Infections. 5th eds., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2007: 373-395.
2. Tabak F. Yoğun bakım Enfeksiyonları: tanımlar ve epidemiyoloji. Köksal İ, Çakar N, Arman D (editörler) Yoğun Bakım Enfeksiyonları kitabında, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005: 45-51.
3. Safdar N, Maki GD. The intensive care unit: Part B. Antibiotic resistance and prevention of CVC-BSIs, catheter-associated urinary tract infections and Clostridium difficile. In: Jarvis WR (ed.) Hospital Infections. 5th eds., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2007: 396-417.
4. Craven DE, Craven KS, Duncan AR. Hospital-acquired pneumoniae. In: Jarvis WR (ed.) Hospital Infections. 5th eds., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2007: 517-539.
5. National Healthcare Safety Network (NHSN) <https://www.cdc.gov/nhsn/index>.
6. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Standartları Rehberi. <https://dosyaism.saglik.gov.tr/Eklenti/15719,ulusal-saglik-hizmeti-iliskili-enf-surveyansi-rehberi.pdf>.
7. Leblebicioğlu H, Rosenthal VD, Arıkan A, et al. Device-associated hospital acquired infection rates in Turkish intensive care units: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). J Hosp Infect 2007;65: 251-257.
8. Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. International Nosocomial Infection Control Consortium. Ann Intern Med 2006;145: 582-591.
9. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med 1991;91: 725-728

- 10.** Flournoy DJ, Reinert RL, Bell-Dixon C, Gentry CA. Increasing antimicrobial resistance in gram-negative bacilli isolated from patients in intensive care units. *Am J Infect Control* 2000;28: 244-250
- 11.** McCann E, Srinivasan A, DeRyke CA, et al. Carbapenem-Nonsusceptible Gram-Negative Pathogens in ICU and Non-ICU Settings in US Hospitals in 2017: A Multicenter Study. *Open Forum Infect Dis.* 2018 5(10):
- 12.** Öztürk R. Yoğun bakım birimlerinde Enfeksiyon kontrolü: 'sıfır Enfeksiyon hedefi'. *Yoğun Bakım Dergisi* 2007;7: 188-193.
- 13.** Viau R, Frank KM, Jacobs MR et al. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. *Clin Microbiol Rev* 2016;29(1): 1-27.
- 14.** Lin MY, Weinstein RA, Hayden MK. Multidrug-resistant Organisms: epidemiology and control. In. Jarwis WR. Bennet &Brachman's Hospital Infectios. 6.th eds., Wolters Kluwer/Lippincott Williams%Wilkins, 2014: 181-207.
- 15.** Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselingh S, Spelman D. Acquisition of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a large intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24: 322-326
- 16.** Öztoprak N, Çevik MA, Akıncı E. ve ark. Yoğun bakım ünitesinde gelişen nazal metisiline dirençli Staphylococcus aureus kolonizasyonu ve risk faktörleri. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi.* 2005;9: 95-100.
- 17.** Alp E. Yoğun Bakımda Kolonizasyon-İnfeksiyon-Salgın: Kolonizasyon. *Yoğun Bakım Dergisi* 2007;7(1): 133-135.
- 18.** Bergmans DC JJ, Bonten MJM. Nosocomial pneumonia. In: Mayhall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control.* 3rd ed. 2004: 311-39.
- 19.** Yakupogullari Y, Otlu B, Ersoy Y, et al. Is airborne transmission of Acinetobacter baumannii possible: A prospective molecular epidemiologic study in a tertiary care hospital. *Am J Infect Control.* 2016;44(12): 1595-1599.

- 20.** Uder RR, Brennen C, Wagener MM, et al. Methicillin- resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility. *Ann Intern Med* 1991;114: 107-112.
- 21.** Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000;13: 686-707.
- 22.** McConville TH, Sullivan SB, Gomez-Simmonds A, Whittier S, Uhlemann AC. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization (CRE) and subsequent risk of infection and 90-day mortality in critically ill patients, an observational study. *PLoS One*. 2017; 12(10):
- 23.** Töreci K. Enterobacteriaceae genel özellikler, In “İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi” Editors, Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. 2002 Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul:1575-1586.
- 24.** Abbott SL. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas ve diğer Enterobacteriaceae. In “Temel ve Klinik Mikrobiyoloji” Editors, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Çeviri Editörü Başustaoğlu A, cilt 1, 9.Baskı, Atlas Kitapçılık. Ankara.2009.
- 25.** Bahar H, Esen N “Acinetobacter ve Diğer nonfermentatif basiller ” In:Topçu A.W., Söyletir G., Doğanay M.(eds), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevleri 2002: 1618-1623.
- 26.** Akova M. Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonları. *Flora* 1997;1: 61-5.
- 27.** Gülay Z. Antibakteriyel ilaçların etki mekanizmaları, ‘Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2008: s.227-243.
- 28.** Slama TG. Gram-negative antibiotic resistance: there is price to pay. *Critical Care* 2008;12: 1-7.
- 29.** Patel G, Bonomo RA. Molecular biology of resistance: a brief history of resistance mechanisms and the discovery of gene transfer. In. Jarwis WR. Bennet & Brachman’s Hospital Infectios. 6.theds., Wolters Kluwer/Lippincott Williams%Wilkins, 2014: 208-219.

- 30.** Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289: 321-31.
- 31.** Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39: 1211-33.
- 32.** Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54: 969-76.
- 33.** Nicolau DP. Carbapenems: a potent class of antibiotics. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9(1): 23-37.
- 34.** Shah PM. Parenteral carbapenems. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl 1): S175-80.
- 35.** Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* 2007;67(7): 1027-52.
- 36.** Mouton JW, Youw DJ, Horrevorts AM et al. Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 2000;39: 185-201.
- 37.** Sumita Y, Fukasawa M, Okuda T. Comparison of two carbapenems, SM-7338 and imipenem: affinities for penicillin-binding proteins and morphological changes. *Journal of Antibiotics (Tokyo)* 1990;43: 314-320.
- 38.** Livermore DM, Sefton AM, Scott GM. Properties and potential of ertapenem. *J Antimicrob Chemother* 2003;52: 331-344.
- 39.** Hammond ML. Ertapenem: a group 1 carbapenem with distinct antibacterial and pharmacological properties. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(Suppl 2): S7-9.
- 40.** Keam SJ. Doripenem: a review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2008;68(14): 2021-57.
- 41.** Dedhia HV, McKnight R. Doripenem: position in clinical practice. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009;7(5):507-14.

- 42.** Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents; epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14: 293-319.
- 43.** Gülay Z. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Çözüm Önerileri: Beta-Laktamlara ve Karbapenemlere Direnç. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2001;5: 210-229.
- 44.** Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 238-53.
- 45.** Nikaido H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33: 1831-6.
- 46.** Nikaido H. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl 1): 32-41.
- 47.** Bambeke FV, Balzi E, Tulkens PM. Antibiotic efflux pumps. *Biochem Pharmacol* 2000;60: 45-70.
- 48.** Li Z, Nikaido H, Poole K. Role of MexA-MexB-OprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39: 1948-53.
- 49.** Pumbwe L, Piddock LJW. Two efflux systems expressed simultaneously in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 2861-4.
- 50.** Chambers HF. Penicillin-binding protein mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *J Infect Dis* 1999;179(Suppl 2): 353-9.
- 51.** Walsh TR. Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21: 367-371
- 52.** Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2007;20(3): 440-458.

- 53.** Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA., Bonomo RA (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55(11): 4943–4960
- 54.** Rossolini, G.M. Acquired metallo-beta-lactamases: an increasing clinical threat. *Clinical infectious Diseases* 2005;41(11): 1557-1558.
- 55.** Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(3): 373-83.
- 56.** Trevino, S E, Kollef MH. Management of Infections with Drug-Resistant Organisms in Critical Care: An Ongoing Battle. *Clin. Chest Med.*2015;36: 531–541.
- 57.** Bowers DR, Huang V. Emerging Issues and Treatment Strategies in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE). *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2016;18, 48-54.
- 58.** Donskey CJ. Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant Gram-negative bacilli *Clin Infect Dis* 2006;43: 62-69.
- 59.** Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *TRENDS in Microbiol* 2006;14: 412-420.
- 60.** Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004;39: 219-226.
- 61.** Safdar N, Maki DG. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant Staphylococcus aureus, enterococcus, gram-negative bacilli, Clostridium difficile, and Candida. *Ann Intern Med* 2002;136: 834-844.
- 62.** Miranda DR, de Rijk A, Schaufeli W. Simplified Therapeutic Intervention Scoring System: The TISS-28 items-results from a multicenter study. *Crit Care Med* 1996;24: 64-73.
- 63.** Murray CK, Hospenthal DR. Acinetobacter infection in the ICU. *Crit Care Clin* 2008;24: 237-248.
- 64.** http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf

- 65.** Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units. *JAMA* 2003;289: 885-888.
- 66.** MacVane SH. Antimicrobial Resistance in the Intensive Care Unit: A Focus on Gram-Negative Bacterial Infections. *J Intensive Care Med.* 2017 Jan;32(1): 25-37.
- 67.** Ergönül Ö, Aydın M, Azap A et al. Healthcare-associated Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. *J Hosp Infect.* 2016;94(4): 381-385.
- 68.** Aygün G, Demirkiran O, Utku T, et al. Environmental contamination during a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2002;52(4): 259-62.
- 69.** Balkan II, Aygün G, Aydın S et al. Blood stream infections due to OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: treatment and survival. *Int J Infect Dis.* 2014;26: 51-6.
- 70.** Bergen GA, Toney JF. Colonization vs infection in the critical care unit. In: Cunha BA (ed). *Infectious Diseases in Critical Care Medicine.* New York: Marcel Dekker, Inc.1998: 17-33.
- 71.** Blot S, Depuydt P, Vogelaers D, et al. Colonization status and appropriate antibiotic therapy for nosocomial bacteremia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria in an intensive care unit *Intensive Care Med.* 2008 Dec;34(12):2169-75. doi:10. 1007/s00134-008-1247-9. Epub 2008 Aug 19.
- 72.** Papadomichelakis E, Kontopidou F, Antoniadou A, et al. Screening for resistant gram-negative microorganisms to guide empiric therapy of subsequent infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26: 575-579.
- 73.** Tacconelli E, Mazzaferri F, de Smet AM et al. ESCMID-EUCIC clinical guidelines on decolonization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriers. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(7): 807-817.
- 74.** Richter SS, Marchaim D. Screening for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Who, When, and How? *Virulence.* 2017 19;8(4): 417-426.

- 75.** Schwaber MJ, Carmeli Y. An ongoing national intervention to contain the spread of carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis* 2014;58: 697-703.
- 76.** Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in acute care facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58: 256-60.
- 77.** Kiddee A, Assawatheptawee K, Na-Udom A et al. Risk Factors for Gastrointestinal Colonization and Acquisition of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria among Patients in Intensive Care Units in Thailand. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;27;62(8): 1-10.
- 78.** Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Fligou F, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. *J Antimicrob Chemother* 2012;67: 2976–2981.
- 79.** Hu YY, Cao JM, Yang Q, et al. Risk Factors for Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Zhejiang Province, China. *Emerg Infect Dis.* 2019 Oct;25(10): 1861-1867.
- 80.** Dantas LF, Dalmas B, Andrade RM, Hamacher S, Bozza FA. Predicting acquisition of carbapenem-resistant Gram-negative pathogens in intensive care units. *J Hosp Infect.* 2019;103(2): 121-127
- 81.** Oliveira AC, Garcia PC, Nogueira LS. Nursing workload and occurrence of adverse events in intensive care: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP.* 2016;50(4): 683-694.
- 82.** Bou R, Gomar S, Hervás F, Amorós A. [Eradication of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections after adjusting nursing workloads and reinforcing specific precautions]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013 Nov;31(9): 584-9.
- 83.** Girou E, Stephan F, Novara A, Safar M, Fagon JY. Risk factors and outcome of nosocomial infections: results of a matched case-control study of ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(4 Pt 1): 1151-8.

84. Gastmeier P, Menzel K, Sohr D, Rüdén H. Usefulness of severity-of-illness scores based on admission data only in nosocomial infection surveillance systems. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007 Apr;28(4): 453-8.

